

DOI:10.16781/j.0258-879x.2021.09.1037

• 综述 •

## 低强度脉冲超声在脊髓损伤神经修复中的研究进展

段煜东, 张子程, 李 博, 程亚军, 陈绍丰, 李 明, 周潇逸, 魏显招\*  
海军军医大学(第二军医大学)长海医院骨科, 上海 200433

**[摘要]** 脊髓损伤在临床医疗中倍受关注。作为一种致残率极高的中枢神经系统创伤性疾病, 脊髓损伤可以导致严重的运动、感觉和自主功能障碍。目前仍未发现令人满意的治疗方法。低强度脉冲超声(LIPUS)作为物理治疗的一种方式, 可非侵入性地传输能量, 被应用于骨折愈合、肌肉损伤及组织修复等过程中。实验研究发现LIPUS可在脊髓损伤中发挥重要作用, 有研究在细胞学和分子生物学等层面对其作用机制进行了探索, 本文就此进行综述。

**[关键词]** 脊髓损伤; 低强度脉冲超声; 神经修复; 神经干细胞

**[中图分类号]** R 651.21 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2021)09-1037-07

### Low-intensity pulsed ultrasound in nerve repair of spinal cord injury: research progress

DUAN Yu-dong, ZHANG Zi-cheng, LI Bo, CHENG Ya-jun, CHEN Shao-feng, LI Ming, ZHOU Xiao-yi, WEI Xian-zhao\*  
Department of Orthopaedics, Changhai Hospital, Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

**[Abstract]** Spinal cord injury has attracted much attention in clinical treatment. As a traumatic disease of central nervous system with high disability rate, spinal cord injury can lead to severe motor, sensory and autonomic dysfunction. And no satisfactory treatment has been found so far. As a physical therapy, low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) can transfer energy non-invasively and has been applied in fracture healing, muscle injury and tissue repair. Experimental studies have found that LIPUS could play an important role in spinal cord injury, and some studies have explored its mechanism in cytology and molecular biology. The research progress was reviewed in this paper.

**[Key words]** spinal cord injuries; low-intensity pulsed ultrasound; nerve repair; neural stem cells

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2021, 42(9): 1037-1043]

脊髓损伤根据病因分为非外伤性和外伤性, 前者常见于脊髓血管堵塞、血管肿瘤或退行性改变引发的病变, 后者一般是由外界暴力作用于脊柱引起骨折并累及脊髓神经节而造成的神经性损伤。在青少年体育运动相关性脊髓损伤中, 自行车骑行事故为首要原因, 占46.9%<sup>[1]</sup>。导致脊髓损伤的原发性损伤一般由机械打击直接造成, 而继发性损伤则包括炎症反应、毒性反应、过氧化反应、自由基和细胞通道损坏等一系列变化的序贯性级联式放大免疫反应, 后者的特征为缺血、促凋亡信号转导和外周炎症细胞浸润等<sup>[2]</sup>。临床研究表明, 脊髓损伤患者

平均住院时间长达3周, 在住院初期易发生呼吸系统感染和颅脑损伤等并发症, 严重时可能需要机械通气辅助呼吸, 且有超过一半的患者在出院后不能完全恢复其四肢肌力<sup>[3]</sup>。这导致患者及医护人员的身心健康和心理健康受到长期困扰, 并极大地增加了社会公共医疗资源压力。

一般来说, 在脊髓损伤发生后应尽早干预。外科手术作为治疗手段之一, 可较好地恢复脊柱正常结构、解除脊柱变形产生的压迫、加速血液的流通和代谢废物的运出, 从而促进脊髓神经功能恢复。但损伤造成的脊髓空洞及星形胶质细胞增殖形成的

**[收稿日期]** 2020-09-25 **[接受日期]** 2021-05-07

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81900809), 上海市卫生系统优秀人才培养计划(2018YQ26), 海军军医大学(第二军医大学)长海医院青年启动基金(2018QNA013), 全军青年科技英才计划。Supported by National Natural Science Foundation of China (81900809), Outstanding Talent Training Plan of Health System of Shanghai (2018YQ26), Youth Initial Fund of Changhai Hospital of Naval Medical University (Second Military Medical University) (2018QNA013), and Youth Scientific and Technical Talent Plan of PLA.

**[作者简介]** 段煜东, 硕士生. E-mail: 15949648968@163.com

\*通信作者( Corresponding author). Tel: 021-31161697, E-mail: weixianzhao@126.com

胶质瘢痕会构成阻碍神经轴突生长的物理屏障,使脊柱手术难以完全修复损伤。因此,手术常用于解决急性症状,预后往往不佳。在药物治疗方面,丁酸钠因其神经保护作用和抗炎特性被认为是潜在的脊髓损伤急性期治疗药物<sup>[4]</sup>;而右美托咪定作为一个高选择性 $\alpha_2$ -肾上腺素能受体激动剂,可减少损伤部位的活化巨噬细胞数量从而防止过度激活的炎症反应<sup>[5]</sup>,也被纳入脊髓损伤治疗药物范围。此外,机械辅助步态训练可改善脊髓损伤患者的站立平衡和步频、步速,有利于慢性脊髓损伤的预后<sup>[6]</sup>。但目前上述手段的疗效仍未达到预期,研发一种新型有效的治疗手段极为迫切。低强度脉冲超声(low-intensity pulsed ultrasound, LIPUS)作为一种新型医疗手段,比传统超声能量强度低,以脉冲波形式输出,可以非侵入性地将能量集中在靶组织,可用于治疗肌肉损伤<sup>[7]</sup>、视网膜神经性疾病<sup>[8]</sup>、血管性痴呆<sup>[9]</sup>、乳腺癌<sup>[10]</sup>、骨折及骨不连<sup>[11]</sup>等。研究表明,LIPUS在神经修复方面有潜在治疗作用<sup>[12-13]</sup>,现对LIPUS在脊髓损伤修复中的研究进展进行综述。

## 1 LIPUS对间充质干细胞的作用

间充质干细胞在细胞再生和组织修复方面的功能早已被大众熟知,但早期研究集中于小动物模型,近期有meta分析指出间充质干细胞移植治疗对大动物脊髓损伤有明显修复作用<sup>[14]</sup>。另一研究在细胞和动物整体层面证明LIPUS可增强外源注射到骨缺损小鼠体内的骨髓间充质干细胞(bone marrow-derived mesenchymal stem cell, BMSC)的归巢和修复能力<sup>[15]</sup>。

在确定LIPUS有效作用的基础上,人们进一步探索了其发挥作用的最佳参数。有研究通过蛋白质印迹法检测发现,LIPUS促进了PI3K/Akt通路蛋白磷酸化和细胞周期蛋白D1的表达,使BMSC从G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期进入S期和G<sub>2</sub>/M期,缩短了细胞分化进程,加快了脊髓损伤修复;并且这一效应在50或60 mW/cm<sup>2</sup>强度下每天LIPUS处理5~10 min时最为显著<sup>[16]</sup>。蒋璟玮等<sup>[17]</sup>对实验组和对照组BMSC施以不同声强的LIPUS干预,通过细胞划痕实验及Transwell迁移实验发现LIPUS可促进BMSC体外迁移,从而加速脊髓损伤修复,且声强为30 mW/cm<sup>2</sup>时促进效应最明显;不足之处在于此次实验仅对

BMSC的体外迁移能力进行了检测,其在实验动物及人体内是否具有相同的生物效应仍需证实。还有研究发现,每天5 min低强度(30 mW/cm<sup>2</sup>)的LIPUS处理可提高人脂肪间充质干细胞的存活率,保持其在未分化状态下的干细胞特性并持续增殖<sup>[18]</sup>。但该实验未说明LIPUS对细胞的促分化作用,且推断其对神经损伤的疗效仍有欠缺。

在前期获得最佳作用参数的基础上,Ning等<sup>[19]</sup>着眼于寻找LIPUS治疗脊髓损伤的直接证据。在其研究中,将LIPUS处理过的BMSC注射至损伤脊髓的中心区域,发现细胞存活率和神经营养因子表达明显升高,且坏死空腔面积明显减少,局部皮质和白质结构恢复良好,这一结果证明了LIPUS对脊髓损伤的治疗作用。

以上结果表明LIPUS对BMSC具有剂量依赖作用,在用于治疗脊髓损伤时,采取低强度(60 mW/cm<sup>2</sup>左右)、短时间、间歇规律的照射治疗可能安全、有效。

## 2 LIPUS对神经干细胞的作用

早期人们就观察到神经干细胞在大鼠脊髓损伤模型和脊髓损伤患者中的治疗作用<sup>[20-21]</sup>,从动物模型实验和临床对照试验等方面论证了神经干细胞移植治疗脊髓神经损伤是安全、可行的。之后学者们在这一基础上对LIPUS作用于神经干细胞的最佳参数进行了研究。

Lee等<sup>[22]</sup>研究发现,在100~500 mW/cm<sup>2</sup>强度时,LIPUS暴露组的神经突厚度增加,神经干/祖细胞分化程度和神经网络密集度均增强。同时还发现该组内神经递质一氧化氮释放量显著上升。结果表明100~500 mW/cm<sup>2</sup>强度的LIPUS可促进神经元突起产生和神经干/祖细胞分化,诱导多能干细胞来源的神经干细胞。Wu等<sup>[23]</sup>研究发现,69.3 mW/cm<sup>2</sup>强度的LIPUS处理后神经干细胞的增殖程度显著增加,Notch信号通路相关受体1和发状分裂相关增强子1表达水平显著升高,表明LIPUS可能是通过调节Notch信号通路促进神经干细胞的增殖和分化,从而帮助脊髓损伤的神经修复。另有研究以单频、双频LIPUS分别循环刺激神经干细胞一段时间后进行形态学和免疫染色测定,结果显示超声能刺激神经干细胞分化且双频LIPUS组的细胞分化程度更高,形成密集度和

复杂度均高于单频 LIPUS 组的神经网络<sup>[24]</sup>。随后的机制研究表明,与单频比较,双频 LIPUS 可能产生了更稳定的空化作用,刺激更多的细胞膜机械通道开放和钙离子流入,从而更大程度地刺激了神经干细胞分化<sup>[24]</sup>。但此项研究仅以单双频模式进行对比分析,对 LIPUS 作用强度的研究甚少。翟翠静等<sup>[25]</sup>通过贝索-比蒂-布雷斯纳汉(Basso-Beattie-Bresnahan)评分和皮质体感诱发电位检查发现所有脊髓损伤的实验大鼠中,LIPUS(2.0 W/cm<sup>2</sup>, 0.8 MHz)联合神经干细胞移植治疗组大鼠损伤脊髓运动和传导功能的恢复都优于对照组。电子显微镜观察发现联合治疗组神经干细胞与宿主融合较好,髓鞘细胞变性及瘢痕组织程度较轻,损伤区可见束状排列的再生轴突及神经元,大鼠的脊髓功能仅有部分恢复,远未达到正常状态。这在一定程度上表明神经干细胞移植联合应用 LIPUS 能促进损伤脊髓神经功能的恢复。

以上结果提示,双频模式下特定强度的 LIPUS 对神经干细胞的促进作用在脊髓损伤的治疗中是可行的,但仍需更深入、更细致的探索研究。

### 3 LIPUS 对神经元的作用

在脊髓损伤发生后,脊髓组织内受损细胞主要集中在神经元,故针对神经元本体的修复格外重要。在 Bobola 等<sup>[26]</sup>的研究中聚焦超声以猝发形式刺激受损神经,发现其超声敏感强度远低于完整神经。Liu 等<sup>[27]</sup>的研究也证明 LIPUS 在轴突再生网络中的调控作用,这为 LIPUS 用于脊髓损伤神经修复提供了理论依据。在 LIPUS 作用于神经元的参数负荷研究方面,Chen 等<sup>[28]</sup>构建了小鼠创伤性脑损伤和脑水肿模型,采取功率放大器使 LIPUS 空间峰值-时间平均强度达 528 mW/cm<sup>2</sup> 并保持刺激一定时长。结果显示 LIPUS 处理后的 4 d 内,小鼠颅内中性粒细胞浸润显著减少,脑水肿和神经元死亡现象得到改善,且这一治疗作用持续 5 个月。由此证实 LIPUS 对受损中枢神经的治疗作用,并一定程度上为 LIPUS 用于脊髓损伤提供了佐证。Ventre 等<sup>[29]</sup>用低(200 mV)、中(500 mV)、高(800 mV)3 种电压设定下的 LIPUS 刺激从新生大鼠背根神经节分离出的神经元,实验结果显示与未受刺激的对照组相比,低电压组神经突分支表现与之相当,而高电压组神经突分支均增加了 2.25 倍,中电压组

增加了 2.83 倍。表明 LIPUS 刺激能够促进轴突生长和次级轴突分支,且在声强不变的前提下,声功率在一定范围越高突起生长越积极。此外还有证据显示,适当调整超声装置的电压强度和细胞浓度等参数可影响神经元定向生长的模式与性质<sup>[30]</sup>。

以上结果表明,LIPUS 具备对神经元突起再生的促进作用,且高强度、高功率的 LIPUS 作用效果更明显。

### 4 LIPUS 对胶质细胞的作用

当脊髓损伤发生后,胶质细胞的调节和再生是机体必需组成部分之一,对于患者的康复具有重要意义。多项研究发现星形胶质细胞膜上的 N 型钙通道穿过细胞膜的流入量和细胞内钙储存量会因为 LIPUS 产生的微空化效应而改变,并由此提高星形胶质细胞的活力,促进中枢神经系统的重建<sup>[31-32]</sup>。

对 LIPUS 刺激胶质细胞的参数设置也有相关研究,Yang 等<sup>[33]</sup>利用平均强度 110 mW/cm<sup>2</sup> 的 LIPUS 处理大鼠模型,发现其星形胶质细胞数量增加,且脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)表达量有所上升,与对照组的差异有统计学意义,表明 LIPUS 可刺激星形胶质细胞发挥神经保护作用,这一过程可能与 BDNF 的表达量升高有关。此外,Liu 等<sup>[34]</sup>研究发现,平均强度为 110 mW/cm<sup>2</sup> 的 LIPUS 可能通过酪氨酸激酶 B 和钙调蛋白依赖激酶信号通路调节 BDNF 表达水平,加强营养星形胶质细胞和促进神经修复,但该实验仅分析了 BDNF 表达水平的变化,对细胞应用的实际效果不够准确。周家兴等<sup>[35]</sup>采用平均强度为 150 mW/cm<sup>2</sup> 的 LIPUS 处理发现,小鼠海马区小胶质细胞数量较对照组显著增加,进一步为 LIPUS 可促进胶质细胞在中枢神经系统的产生提供了有力证据。

以上结果表明,较高强度(10~150 mW/cm<sup>2</sup> 左右)的 LIPUS 可基于对胶质细胞的刺激作用促进神经网络的重建,参与修复脊髓损伤。

### 5 LIPUS 对细胞因子的作用

5.1 对营养因子的作用 对于神经元而言,营养因子的作用毋庸置疑。在神经元受损后,营养因子在修复过程中更是具有不可替代的正性作用。Zhao 等<sup>[36]</sup>在其研究中分别采用神经生长因子(nerve

growth factor, NGF) (100 ng/mL) 单独干预及 LIPUS (50 mW/cm<sup>2</sup>) 和 NGF (50 ng/mL) 联合干预嗜铬细胞瘤 PC12 细胞, 发现联合干预组的神经突增生显著, 且与单独干预组的增生程度相当。联合干预组 ERK1/2 和环磷酸腺苷效应元件结合蛋白 (cyclic adenosine monophosphate-response element binding protein, CREB) 的磷酸化水平及硫氧还蛋白 1 的表达水平均增高。而当激活的离子通道和相关信号通路被钆制品阻断后, 这一作用被抑制, 表明 LIPUS 可通过机械转导介导的 ERK1/2-CREB-硫氧还蛋白 1 信号通路增强 NGF 诱导的神经突生长, 并有助于脊髓损伤的修复。在一项人为造成小鼠神经损伤构建创伤性脑损伤 (traumatic brain injury, TBI) 模型的研究中, 每天采用对应于 528 mW/cm<sup>2</sup> 的空间峰值-时间平均强度的 LIPUS 对皮质撞击损伤区域进行照射治疗, 治疗后第 4 天 BDNF 和血管内皮生长因子的表达水平较未治疗组显著升高<sup>[37]</sup>。同时酪氨酸激酶 B、Akt 和 CREB 磷酸化水平也增强, 提示 LIPUS 的神经保护作用可能与酪氨酸激酶 B-Akt-CREB 信号通路活性提高有关。也有研究发现 LIPUS 可通过递送 NGF 和 BDNF 治疗急性脊髓损伤<sup>[38-39]</sup>, 这进一步为 LIPUS 在治疗临床脊髓损伤时的参数设置提供了理论依据和参考。

5.2 对炎症因子的作用 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  共同参与了炎症反应的调控, 改变受损处组织细胞外基质, 故减少炎症因子在脊髓损伤中的负性作用或许有助于患者的神经修复。Yang 和 Chen 等<sup>[40]</sup> 利用 LIPUS 连续处理神经炎症小鼠模型 7 d, 发现从 LIPUS 作用的第 6 天起, 小鼠 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6 等炎症标志物表达水平下降、Morris 水迷宫实验评分显著上升。Chen 等<sup>[41]</sup> 在采用脂多糖诱导构建神经炎症小鼠模型的研究中, 连续 1 周每天对小鼠进行 LIPUS 处理, 然后用蛋白质印迹法检测和行为学评估方法分别评测小鼠脑组织中炎症标志物表达水平和 LIPUS 对小鼠的神经保护作用。结果显示 LIPUS 处理显著降低了脂多糖诱导的神经炎症小鼠脑组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6 的表达水平, 并有效保护神经功能免受过度激活免疫反应的杀伤效应。上述 2 项研究中, LIPUS 均设置为对应于 528 mW/cm<sup>2</sup> 的空间峰值-时间平均强度, 表明此强度的 LIPUS 可以减轻脊髓神经受损部位的炎症

反应和细胞坏死程度, 有利于脊髓损伤的治疗。

## 6 LIPUS 的其他作用

LIPUS 可增加细胞表面承受的机械压, 促进细胞膜结构变化和细胞内细胞器变形从而改变离子通道结构, 并利用蛋白酶 C 与细胞外钙离子介导参与激发膜信号, 经信号转导激活第二信使进入细胞核结合核受体, 调控相关 DNA 的激活和转录, 从而上调软骨、骨基因及聚合素基因产物的表达量, 显著增加细胞质基质的生成和细胞质流动, 最终促进神经营养供给和神经元生长<sup>[42]</sup>。此外, LIPUS 可诱导神经组织相关血管再生, 增加血流和淋巴循环, 加快营养物质的输入和有害物质的运出; 并可在与受损组织互相作用时产生非破坏性脉冲聚焦, 促进细胞营养相关整联蛋白的表达和加强巨噬细胞的活化而减轻炎症, 构建良好的神经元再生环境, 加速再生细胞归巢从而帮助突触建立和轴索再生<sup>[43-46]</sup>。另外, 通过组织学和放射学分析发现 LIPUS 可通过促进 H 型微血管和新生骨的生成促进外伤性椎体骨折愈合, 加快脊髓损伤修复<sup>[47]</sup>。

LIPUS 可向机体组织深处传输能量, 机制主要包括热效应和非热效应。在日常使用中, 机体几乎不会因 LIPUS 处理而升温, 故热效应常被忽略, 而非热效应主要分为空化效应和声流效应等<sup>[32]</sup>。其中, 空化效应是指 LIPUS 处理后, 微气核空化泡振动并在组织内形成气体填充间隙。在经一定次数的超声循环处理后, 达到气体最大尺寸, 并在这一过程中传递能量。而声流效应是指继发于空化效应产生的细小液体涡流, 带动能量改变细胞膜通透性, 进而影响细胞分泌过程。He 等<sup>[48]</sup> 研究发现在 LIPUS 和 BMSC 细胞分化的协同作用下, BMSC 细胞膜上的相应受体接收来自超声的非热效应产生的能量, 并将其传递至细胞骨架而使骨架重排, 从而促进细胞迁移至脊柱创伤部位, 参与骨愈合, 帮助神经功能恢复。

LIPUS 在治疗脊髓损伤时与其他方法也具有协同作用。阳小云等<sup>[49]</sup> 研究发现超声合并低频磁疗可促进缺血性脑卒中后神经功能恢复。同时, LIPUS 与磁疗协同作用时治疗性纳米粒子将会更快、更精准地到达中枢神经系统的病变部位<sup>[50]</sup>。LIPUS 与胶原/透明质酸支架联合使用时, 比单独作用显示出更好的脂肪干细胞促血管生成作用<sup>[51]</sup>。而在模拟微重

力条件的加持下,改良的LIPUS也表现出更强的增强人间充质干细胞的成骨分化和增殖作用<sup>[52]</sup>。

## 7 小结和展望

LIPUS具有便携、安全、操作方便等特点,近年来逐渐成为超声治疗和疾病康复的新兴手段之一,应用方向逐渐多元化,被认为是使用范围最广的治疗性超声波,在脊髓损伤神经修复和促细胞再生方面有巨大应用潜力。例如LIPUS可通过提高Akt和发状分裂相关增强子1等的表达量调节神经干细胞在其细胞周期中的分裂行为,从而促进神经干细胞增殖和迁移,并分化为神经元修复脊髓损伤<sup>[23]</sup>;另一方面,其可刺激胶质细胞就位和神经相关血管细胞再生,增强神经元轴突和分支的建立,扩大神经的重建和交通程度<sup>[47]</sup>;此外,其还可提高神经营养因子的表达并抑制局部炎症风暴,传递能量,加快神经组织的自我恢复,治疗脊髓损伤<sup>[41]</sup>。除上述机制外,其他信号通路和细胞诱导等方面的机制也逐渐被人们所了解。

与此同时,LIPUS的应用也存在诸多问题,例如:LIPUS促进损伤周围神经胶质细胞尤其施万细胞增殖、活化的具体机制尚不完全清楚;有关LIPUS的研究结果大多处于动物实验阶段,而实验动物与人类脊髓解剖结构和神经组织构成存在差异,LIPUS的设置参数在患者中应用时需要更直接的临床论证和综合考量,且这些参数也尚未得到业界的一致认可;在LIPUS使用过程中产生的额外机械效应和不良反应存在争议,需要开展大动物临床前期实验进一步评估LIPUS在脊髓损伤神经修复方面的疗效,以求从实验操作过渡至临床辅助治疗。随着研究的不断开展,深入挖掘LIPUS在脊髓损伤神经修复方面的作用机制及明确其作用相关基因和表达调控方式,有望使LIPUS在人类疾病治疗和超声应用中做出更大贡献。

## [参考文献]

- [1] GUPTA S, HAUSER B M, ZAKI M M, XU E, COTE D J, LU Y, et al. Morbidity after traumatic spinal injury in pediatric and adolescent sports-related trauma[J/OL]. *J Neurosurg Spine*, 2019: 1-7. DOI: 10.3171/2019.10.Spine19712.
- [2] AHUJA C S, NORI S, TETREAU L, WILSON J, KWON B, HARROP J, et al. Traumatic spinal cord injury—repair and regeneration[J]. *Neurosurgery*, 2017, 80(3S): S9-S22.
- [3] 贺宝荣,郑博隆.中国脊髓损伤规范化治疗和修复机制研究概况[J].*中华创伤杂志*,2020,36:289-292.
- [4] LANZA M, CAMPOLO M, CASILI G, FILIPPONE A, PATERNITI I, CUZZOCREA S, et al. Sodium butyrate exerts neuroprotective effects in spinal cord injury[J]. *Mol Neurobiol*, 2019, 56: 3937-3947.
- [5] GAO J, SUN Z, XIAO Z, DU Q, NIU X, WANG G, et al. Dexmedetomidine modulates neuroinflammation and improves outcome via alpha2-adrenergic receptor signaling after rat spinal cord injury[J]. *Br J Anaesth*, 2019, 123: 827-838.
- [6] KANAZAWA A, YOSHIKAWA K, KOSEKI K, TAKEUCHI R, MUTSUZAKI H. A consecutive 25-week program of gait training, using the alternating Hybrid Assistive Limb (HAL<sup>®</sup>) robot and conventional training, and its effects on the walking ability of a patient with chronic thoracic spinal cord injury: a single case reversal design[J/OL]. *Medicina (Kaunas)*, 2019, 55: 746. DOI: 10.3390/medicina55110746.
- [7] 张子程,胡建辉,杨依林,周潇逸,魏显招,李明.低强度脉冲超声在肌肉骨骼疾病中的研究进展[J].*第二军医大学学报*,2020,41:194-199.
- [8] ZHANG Z C, HU J H, YANG Y L, ZHOU X Y, WEI X Z, LI M. Research progress of low-intensity pulsed ultrasound in the treatment of musculoskeletal diseases[J]. *Acad J Sec Mil Med Univ*, 2020, 41: 194-199.
- [9] MENZ M D, YE P, FIROUZI K, NIKOOZADEH A, PAULY K B, KHURI-YAKUB P, et al. Radiation force as a physical mechanism for ultrasonic neurostimulation of the *ex vivo* retina[J]. *J Neurosci*, 2019, 39: 6251-6264.
- [10] SHINDO T, SHIMOKAWA H. Therapeutic angiogenesis with sound waves[J]. *Ann Vasc Dis*, 2020, 13: 116-125.
- [11] KATIYAR A, OSBORN J, DASBANERJEE M, ZHANG L G, SARKAR K, SARKER K P. Inhibition of human breast cancer cell proliferation by low-intensity ultrasound stimulation[J]. *J Ultrasound Med*, 2020, 39: 2043-2052.
- [12] LEIGHTON R, WATSON J T, GIANNOUDIS P, PAPA KOSTIDIS C, HARRISON A, STEEN R G. Healing of fracture nonunions treated with low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS): a systematic review and meta-analysis[J]. *Injury*, 2017, 48: 1339-1347.
- [13] DAESCHLER S C, HARHAUS L, SCHOENLE P, BOECKER A, KNESER U, BERGMESTER K D. Ultrasound and shock-wave stimulation to promote axonal regeneration following nerve surgery: a systematic review and meta-analysis of preclinical studies[J/OL]. *Sci Rep*, 2018, 8: 3168. DOI: 10.1038/s41598-018-21540-5.

- AIYER R, NOORI S, et al. The regenerative potential of therapeutic ultrasound on neural tissue: a pragmatic review[J]. *Pain Med*, 2020, 21: 1494-1506.
- [14] 孔德胜,何晶晶,冯宝峰,郭瑞云,AMPONSAH A E,吕飞,等.间充质干细胞修复大动物模型脊髓损伤疗效评价的Meta分析[J].*中国组织工程研究*,2021,25:1142-1148.
- [15] CHEN J, JIANG J, WANG W, QIN J, CHEN J, CHEN W, et al. Low intensity pulsed ultrasound promotes the migration of bone marrow-derived mesenchymal stem cells via activating FAK-ERK1/2 signalling pathway[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2019, 47: 3603-3613.
- [16] XIE S, JIANG X, WANG R, XIE S, HUA Y, ZHOU S, et al. Low-intensity pulsed ultrasound promotes the proliferation of human bone mesenchymal stem cells by activating PI3K/Akt signaling pathways[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120: 15823-15833.
- [17] 蒋璟玮,刘宝茹,梁丹丹,汪威,罗东,陈俊林,等.不同声强低强度脉冲超声对SD大鼠骨髓间充质干细胞迁移的影响[J].*中国介入影像与治疗学*,2018,15:357-362.
- [18] HUANG D, GAO Y, WANG S, ZHANG W, CAO H, ZHENG L, et al. Impact of low-intensity pulsed ultrasound on transcription and metabolite compositions in proliferation and functionalization of human adipose-derived mesenchymal stromal cells[J/OL]. *Sci Rep*, 2020, 10: 13690. DOI: 10.1038/s41598-020-69430-z.
- [19] NING G Z, SONG W Y, XU H, ZHU R S, WU Q L, WU Y, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells stimulated with low-intensity pulsed ultrasound: better choice of transplantation treatment for spinal cord injury: treatment for SCI by LIPUS-BMSCs transplantation[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2019, 25: 496-508.
- [20] 吴燕峰,贺晓玉,唐勇,刘晓梅,叶记超,史玉朋,等.人神经干细胞移植修复大鼠脊髓损伤的实验研究[J].*中国医药*,2008,3:385-387.
- [21] 段建刚,赵斌,宋宇锋.35例脊髓损伤患者神经干细胞移植临床疗效研究[J].*中外医疗*,2016,35:70-71.
- [22] LEE I C, LO T L, YOUNG T H, LI Y C, CHEN N G, CHEN C H, et al. Differentiation of neural stem/progenitor cells using low-intensity ultrasound[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2014, 40: 2195-2206.
- [23] WU Y, GAO Q, ZHU S, WU Q, ZHU R, ZHONG H, et al. Low-intensity pulsed ultrasound regulates proliferation and differentiation of neural stem cells through Notch signaling pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 526: 793-798.
- [24] LEE I C, WU H J, LIU H L. Dual-frequency ultrasound induces neural stem/progenitor cell differentiation and growth factor utilization by enhancing stable cavitation[J]. *ACS Chem Neurosci*, 2019, 10: 1452-1461.
- [25] 翟翠静,曹友德,刘帅,于廷和.低强度超声联合神经干细胞移植对大鼠脊髓损伤功能恢复的影响[J].*中国超声医学杂志*,2008,24:976-980.
- [26] BOBOLA M S, EZEOKIKE C K, KUZNETSLOVA K, LAHTI A C, LOESER J D, OLMSTEAD T A, et al. A pre-clinical study of the response threshold of intact and transected nerves to stimulation by transcutaneous intense focused ultrasound[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2019, 45: 2094-2103.
- [27] LIU C, XU Y, YANG H, ZHANG J. Establishment of axon regeneration regulatory network and the role of low intensity pulsed ultrasound in the network[J]. *Saudi J Biol Sci*, 2019, 26: 1922-1926.
- [28] CHEN S F, SU W S, WU C H, LAN T H, YANG F Y. Transcranial ultrasound stimulation improves long-term functional outcomes and protects against brain damage in traumatic brain injury[J]. *Mol Neurobiol*, 2018, 55: 7079-7089.
- [29] VENTRE D, PUZAN M, ASHBOLT E, KOPPEL A. Enhanced total neurite outgrowth and secondary branching in dorsal root ganglion neurons elicited by low intensity pulsed ultrasound[J/OL]. *J Neural Eng*, 2018, 15: 046013. DOI: 10.1088/1741-2552/aabeba.
- [30] COHEN S, SAZAN H, KENIGSBURG A, SCHORI H, PIPERNO S, SHPAISMAN H, et al. Large-scale acoustic-driven neuronal patterning and directed outgrowth[J/OL]. *Sci Rep*, 2020, 10: 4932. DOI: 10.1038/s41598-020-60748-2.
- [31] CHEN B, TIAHJA J, MALLA S, LIEBMAN C, CHO M. Astrocyte viability and functionality in spatially confined microcavitation zone[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11: 4889-4899.
- [32] O'BRIEN W D. Ultrasound-biophysics mechanisms[J]. *Prog Biophys Mol Biol*, 2007, 93: 212-255.
- [33] YANG F Y, LU W W, LIN W T, CHANG C W, HUANG S L. Enhancement of neurotrophic factors in astrocyte for neuroprotective effects in brain disorders using low-intensity pulsed ultrasound stimulation[J]. *Brain Stimul*, 2015, 8: 465-473.
- [34] LIU S H, LAI Y L, CHEN B L, YANG F Y. Ultrasound enhances the expression of brain-derived neurotrophic factor in astrocyte through activation of TrkB-Akt and calcium-CaMK signaling pathways[J]. *Cereb Cortex*, 2017, 27: 3152-3160.
- [35] 周家兴,余晓娇,陈西,林森,叶剑.低频脉冲超声对小鼠海马区小胶质细胞的影响[J].*局解手术学杂志*,2018,27:235-240.
- [36] ZHAO L, FENG Y, HU H, SHI A, ZHANG L, WAN M. Low-intensity pulsed ultrasound enhances nerve growth factor-induced neurite outgrowth through mechanotransduction-mediated ERK1/2-CREB-Trx-1

- signaling[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2016, 42: 2914-2925.
- [37] SU W S, WU C H, CHEN S F, YANG F Y. Transcranial ultrasound stimulation promotes brain-derived neurotrophic factor and reduces apoptosis in a mouse model of traumatic brain injury[J]. *Brain Stimul*, 2017, 10: 1032-1041.
- [38] SONG Z, YE Y, ZHANG Z, SHEN J, HU Z, WANG Z, et al. Noninvasive, targeted gene therapy for acute spinal cord injury using LIFU-mediated BDNF-loaded cationic nanobubble destruction[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 496: 911-920.
- [39] SONG Z, WANG Z, SHEN J, XU S, HU Z. Nerve growth factor delivery by ultrasound-mediated nanobubble destruction as a treatment for acute spinal cord injury in rats[J]. *Int J Nanomedicine*, 2017, 12: 1717-1729.
- [40] YANG F Y, CHEN T T. Transcranial ultrasound improves behavioral performance via anti-neuroinflammation[J]. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc*, 2018, 2018: 6056-6059.
- [41] CHEN T T, LAN T H, YANG F Y. Low-intensity pulsed ultrasound attenuates LPS-induced neuroinflammation and memory impairment by modulation of TLR4/NF- $\kappa$ B signaling and CREB/BDNF expression[J]. *Cereb Cortex*, 2019, 29: 1430-1438.
- [42] 叶栋, 陶军. 低强度脉冲超声波对骨折愈合的影响[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2011, 15: 690-694.
- [43] LV Y, ZHAO P C, CHEN G B, SHA Y Q, YANG L. Effects of low-intensity pulsed ultrasound on cell viability, proliferation and neural differentiation of induced pluripotent stem cells-derived neural crest stem cells[J]. *Biotechnol Lett*, 2013, 35: 2201-2212.
- [44] KANE N M, XIAO Q, BAKER A H, LUO Z, XU Q, EMANUELI C. Pluripotent stem cell differentiation into vascular cells: a novel technology with promises for vascular re(generation)[J]. *Pharmacol Ther*, 2011, 129: 29-49.
- [45] HANAWA K, ITO K, AIZAWA K, SHINDO T, NISHIMIYA K, HASEBE Y, et al. Low-intensity pulsed ultrasound induces angiogenesis and ameliorates left ventricular dysfunction in a porcine model of chronic myocardial ischemia[J/OL]. *PLoS One*, 2014, 9: e104863. DOI: 10.1371/journal.pone.0104863.
- [46] ZIADLOO A, BURKS S R, GOLD E M, LEWIS B K, CHAUDHRY A, MERINO M J, et al. Enhanced homing permeability and retention of bone marrow stromal cells by noninvasive pulsed focused ultrasound[J]. *Stem Cells*, 2012, 30: 1216-1227.
- [47] WU S, XU X, SUN J, ZHANG Y, SHI J, XU T. Low-intensity pulsed ultrasound accelerates traumatic vertebral fracture healing by coupling proliferation of type H microvessels[J]. *J Ultrasound Med*, 2018, 37: 1733-1742.
- [48] HE R X, ZHOU W C, ZHANG Y, HU S, YU H S, LUO Y P, et al. Combination of low-intensity pulsed ultrasound and C3H10T1/2 cells promotes bone-defect healing[J]. *Int Orthop*, 2015, 39: 2181-2189.
- [49] 阳小云, 李熔, 陈莹. 超声并低频磁疗促进脑梗塞后神经功能恢复[J]. *现代康复*, 1999, 3: 1044-1045.
- [50] FISHER D G, PRICE R J. Recent advances in the use of focused ultrasound for magnetic resonance image-guided therapeutic nanoparticle delivery to the central nervous system[J/OL]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 1348. DOI: 10.3389/fphar.2019.01348.
- [51] KANG P L, HUANG H H, CHEN T, JU K C, KUO S M. Angiogenesis-promoting effect of LIPUS on hADSCs and HUVECs cultured on collagen/hyaluronan scaffolds[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2019, 102: 22-33.
- [52] UDDIN S M, QIN Y X. Enhancement of osteogenic differentiation and proliferation in human mesenchymal stem cells by a modified low intensity ultrasound stimulation under simulated microgravity[J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8: e73914. DOI: 10.1371/journal.pone.0073914.

[本文编辑] 杨亚红