

低强度脉冲超声的生物物理学效应及相关机制的研究进展

郭霜¹, 满江位¹, 姜春倩², 李选鹏¹, 王华彬¹, 任小山¹, 韩渊明¹, 王诚³, 付生军¹, 杨立¹

1. 兰州大学泌尿外科研究所/兰州大学第二医院泌尿外科/甘肃省泌尿系统疾病临床医学中心/甘肃省泌尿系统疾病研究重点实验室, 甘肃 兰州 730030; 2. 兰州大学第二医院儿科, 甘肃 兰州 730030; 3. 四川大学华西第二医院病理科, 四川 成都 610041

【摘要】低强度脉冲超声(LIPUS)的能量强度较低($<3 \text{ W/cm}^2$)并以脉冲波形式输出,作为一种非侵入性的治疗方法现已逐渐用于临床。LIPUS由于其低强度脉冲输出模式而具有的热效应非常小,主要依靠其非热效应发挥治疗作用。此外,LIPUS相应的分子生物学机制主要包括其相关的信号传导通路、基因表达、血管生成和干细胞分化等。目前,LIPUS的具体机制较复杂,本研究就LIPUS的生物物理学效应及其相关机制作一综述,旨在为LIPUS在更多疾病中的广泛应用提供相应的理论基础和最新的研究进展。

【关键词】低强度脉冲超声;空化效应;生物物理学效应;生物学机制

【中图分类号】R35

【文献标志码】A

【文章编号】1005-202X(2019)05-0605-05

Progress in biophysical effects of low-intensity pulsed ultrasound and related mechanisms

GUO Shuang¹, MAN Jiangwei¹, JIANG Chunqian², LI Xuanpeng¹, WANG Huabin¹, REN Xiaoshan¹, HAN Yuanming¹, WANG Cheng³, FU Shengjun¹, YANG Li¹

1. Gansu Key Laboratory of Urinary System Disease Research/Gansu Clinical Medicine Center of Urinary System Disease/Department of Urinary Surgery, Lanzhou University Second Hospital/Institute of Urinary Surgery, Lanzhou University, Lanzhou 730030, China; 2. Department of Paediatrics, Lanzhou University Second Hospital, Lanzhou 730030, China; 3. Department of Pathology, West China Second University Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

Abstract: As a non-invasive treatment approach, low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) which has low energy intensity ($< 3 \text{ W/cm}^2$) and outputs in pulse waves is gradually used in clinic. LIPUS has an insignificant thermal effect due to its low intensity pulse output mode, and the therapeutic effect of LIPUS mainly depends on its non-thermal effect. The corresponding molecular biological mechanisms of LIPUS mainly include related signal transduction pathways, gene expression, angiogenesis and stem cell differentiation. At present, the specific mechanism of LIPUS is very complex. Herein the biophysical effects and mechanisms of LIPUS are reviewed, so as to provide the corresponding theoretical basis and the latest research progress for the widespread application of LIPUS in more diseases.

Keywords: low-intensity pulsed ultrasound; cavitation; biophysical effect; biological mechanism

前言

超声波是指频率在 $2 \times 10^4 \sim 2 \times 10^9 \text{ Hz}$ 的机械振动,它可在弹性介质中连续性横向或纵向传播,具有方向性好、穿透能力强、易于获得、能量集中的优点。超声波既是一种波动形式又是一种能量形式(声能)。作为波动,它可以探测负载信号;作为能量,它可以改变媒介

的结构和性状^[1]。超声作为一种诊断及治疗的工具,现已广泛应用于医学领域,传统上被应用于成像医学,直到1927年才首次发现其具有生物学效应^[2]。低强度脉冲超声(Low-Intensity Pulsed Ultrasound, LIPUS)是超声波的一种形式,常用于康复医学治疗,与传统超声相比,其具有低能量强度($<3 \text{ W/cm}^2$)并以脉冲波形式输出的特点。LIPUS作为一种低成本、非侵袭性和安全的生物物理治疗手段,正逐渐应用于临床,用于促进骨折愈合,加速软组织再生和抑制炎症反应等。目前公认的超声波治疗主要通过热效应和非热效应,但其在疾病防治中的具体作用机制尚不明确。本研究主要对LIPUS的生物物理学效应及其可能的作用机制作一综述。

【收稿日期】2018-12-25

【基金项目】甘肃省自然科学基金(17JR5RA237)

【作者简介】郭霜,硕士,研究方向:泌尿外科,E-mail: guosh16@lzu.edu.cn

【通信作者】杨立,研究方向:泌尿外科,Email: yuze250@163.com

1 生物物理学效应

超声波的生物物理效应被分为热效应和非热效应,这两个效应是不可分离的,而体外碎石术的机械生物效应仅为非热效应。对于所有其他情况,非热效应总是伴随着一些热效应^[3]。然而,不同组织对超声波的吸收能力不同。具有高蛋白质含量和低含水量的组织(如韧带和肌腱)将在更大程度上吸收超声波能量;相反,高含水量和低蛋白质含量(如血液和脂肪)的组织对超声波能量吸收较少^[4]。根据组织对能量吸收程度进行排名,能量吸收最高的为软骨和骨骼,其次为肌腱、皮肤、肌肉、神经、脂肪和血液^[5]。组织吸收超声波能量是发挥其生物物理学效应的基础,只有超声波能量更好地被组织吸收才能更好地发挥其生物物理效应。

1.1 热效应

当超声波穿过组织时,其一部分会被吸收,导致在该组织内产生热量。吸收热量的大小取决于组织的性质、血管化程度及超声波使用的频率。具有高蛋白质含量的组织更容易吸收超声波,然而其温度也不会一直升高,因为体内存在的稳态机制将趋向于抵消组织的温度上升。任何温度变化都将自动启动稳态调控机制,温度动态平衡调节的成功与否主要取决于热增加和热损失之间的平衡。如果组织的温度升高到40~45℃,则可以实现至少5 min的显著热效应。因此,控制组织加热温度保持在适当水平是非常重要的。对于LIPUS而言,由其低强度脉冲输出模式而产生的热效应是相当小的,甚至可以忽略不计。

1.2 非热效应

LIPUS的热效应非常小,发挥作用主要依靠其非热效应,因此诱导组织变化的非热效应是大多数研究关注的重点。非热效应分为空化效应和其他机械效应。**1.2.1 空化效应** 通常的术语“空化”可用于描述任何气泡现象,但在超声中将用于表示声空化,即声场内气泡的行为。超声波空化作用是指存在于液体中的微气核空化泡在声波作用下振动,当声压达到一定值时发生的生长和崩溃的动力学过程。空化是超声波在组织或液体中形成气体填充空隙的能力,具有两种形式,即稳定的空化和不稳定的空化。稳定的空化发生在治疗能量级别的超声波,气泡经过1 000个循环以达到其最大尺寸,主要应用在强化药物输送和治疗领域^[6];而不稳定的空化通常发生在具有非常高强度($\geq 1\ 000\ \text{W}/\text{cm}^2$)的聚焦超声,可以产生瞬间组织坏死,气泡崩溃迅速释放大量能量^[7],主要应用于癌症消融和姑息治疗。保持稳定的空化才能更好地发挥其治疗作用。

1.2.2 其他机械效应 (1)声流。声流是振动气泡周围

流体中局部液体的流动。由于宏流的机械能力远不如微流强,因此正确区分宏流和微流尤为重要。宏流是当超声波在液体中传播,并且流体沿单个方向移动时发生的大量流动;微流是与振荡源相邻的涡流,属于微小的流动。微流与空化相关并且在空化中继发出现,微流具有足够强度以改变膜渗透性,并在细胞膜和组织液边界发生时刺激细胞活性的唯一类型的声流^[3],其可以影响扩散速率和膜通透性,可改变蛋白质合成和细胞分泌过程^[5]。稳定的空化和声流对LIPUS应用其非热效应尤其重要。

(2)传质强化。超声波通过促进质量转移和反应速率来提高液体介质的运动,这也发生在用LIPUS处理的细胞和靶组织中。一般来说,传质强化主要发生在3个领域:细胞膜、胞质溶胶和边界层。通过振动气泡产生声场周围的微流,将试剂引导到酶的活性位点或细胞,同时生物制品被释放到发生生物效应的介质中^[8]。传质强化是LIPUS发挥其非热效应的重要组成部分。

2 LIPUS设备参数

目前,治疗超声设备工作频率通常为1或3 MHz,而LIPUS设备工作频率通常为1.5 MHz,某些设备还提供了0.75 MHz的选择,可对更深的病变部位有效^[7,9],已有1.7 MHz频率的LIPUS用于改善大鼠糖尿病勃起功能障碍(Erectile Dysfunction, ED)模型的阴茎勃起功能,并有望成为治疗ED的一种新方法^[1],其他频率是否有效还有待进一步验证。目前常用的脉冲超声波设备通常以1:4的1 000 Hz脉冲发送超声波,即200 μs 超声波作用时间和800 μs 间歇时间,每秒1 000次循环。根据暴露强度,治疗超声可分为低强度超声($< 3\ \text{W}/\text{cm}^2$)和高强度超声($\geq 3\ \text{W}/\text{cm}^2$)。低强度超声的剂量可进一步分为低剂量($< 1\ \text{W}/\text{cm}^2$)、中剂量(1~2 W/cm^2)和高剂量(2~3 W/cm^2)。在临床应用中,施加的超声强度范围为0.03~1.00 W/cm^2 ^[7]。多数研究中的LIPUS都使用30 mW/cm^2 强度声波,1 000 Hz的脉冲比率为1:4,频率为1.5 MHz^[10]。

3 分子生物学机制

3.1 LIPUS相关的信号传导通路

3.1.1 细胞增殖相关传导通路 2004年,Zhou等^[11]通过LIPUS对原代人包皮成纤维细胞增殖的影响研究发现,LIPUS能通过激活整合素受体和Rho/ROCK/Src/ERK信号通路以促进细胞增殖。LIPUS也可促进软骨细胞增殖,降低软骨细胞的凋亡率^[12]。Ryohei等^[13]研究LIPUS对软骨细胞增殖的影响,发现LIPUS通过促进整合素/磷脂酰肌醇3-OH激酶/Akt通路信号转导与细胞增殖相

关而不是通过整合素/MAPK通路转导,然而其机制是复杂的,不同通路之间可能有些部分是相通的。未来对其机制的研究还需进一步完善。

3.1.2 细胞外基质(Extracellular Matrix, ECM)相关传导通路 ECM在维持器官和组织正常的形态和功能中是非常重要的。有研究发现LIPUS对正常软骨细胞可以通过调节整合素/FAK/PI3K/Akt通路以促进ECM的生成^[14]。Cheng等^[15]研究发现整合素FAK-PI3K/Akt通路在骨性关节炎的病理过程中起着重要作用,并且发现LIPUS对骨性关节炎的软骨细胞的保护作用是由整合素-FAK-PI3K/Akt信号通路介导。Zhang等^[16]研究LIPUS对人退变髓核细胞的ECM合成的影响,将细胞暴露于平均时间强度为30 mW/cm²,频率为1.5 MHz的LIPUS,20 min/d,持续1周。结果发现,与对照组相比,LIPUS治疗组显著上调了聚集蛋白聚糖、胶原蛋白II、Sox9和金属蛋白酶组织抑制因子的表达,并抑制了基质金属蛋白酶-3的分泌。该研究进一步证实LIPUS可通过激活FAK/PI3K/Akt通路,使聚集蛋白聚糖,胶原蛋白II和Sox9的表达上调,进一步促进人退变髓核细胞ECM的合成。张晓军等^[17]也发现LIPUS能通过PI3K/Akt信号途径促进立体培养的人退变髓核细胞合成ECM。LIPUS可以减轻关节软骨ECM的损伤程度,其作用与LIPUS治疗后关节软骨中p38和ERK1/2表达下调有关^[18]。夏鹏等^[19]发现LIPUS体外辐射可抑制OA软骨细胞II型胶原、蛋白多糖降解及MMP-13表达,同时还能促进整合素BI表达及FAK磷酸化,抑制p38、ERK1/2、JNK磷酸化,提示LIPUS可能通过启动整合素-FAK-MAPK-信号转导通路诱导软骨ECM发生改变。通过对ECM相关机制的深入探讨,丰富了LIPUS在治疗方面的机制研究,并为LIPUS更好地应用于临床提供理论依据。

3.1.3 干细胞/祖细胞系的多向分化相关传导通路 Kusuyama等^[20]将LIPUS应用于脂肪生成的祖细胞和间充质干细胞(Mesenchymal Stem Cell, MSC)系,分析细胞分化如何受影响。研究发现,LIPUS抑制了两种细胞类型的脂肪形成和分化,其脂滴出现受损表现;LIPUS通过诱导Runt相关转录因子2(Runx2)和骨钙素的表达,将MSC分化为成骨细胞;LIPUS可以诱导Osaka甲状腺致癌基因磷酸化/肿瘤进展位点2(Cot/Tpl2)激酶的磷酸化表达,增强MEK1和p44/p42胞外信号通路的磷酸化过程,并调节ERK表达。因此,LIPUS可能通过Rho相关激酶Cot/Tpl2-MEK-ERK的信号通路抑制脂肪形成并促进MSC的成骨。Xia等^[21]研究也发现LIPUS能促进TGF- β 1诱导的骨髓MSC软骨形成,并使COL2、aggrecan和SOX9基因表达增加,降低COL1的表达,然而添加整合素和mTOR抑制剂后,这些作用消失。因

此得出结论:LIPUS能通过整合素-mTOR信号传导途径促进TGF- β 1诱导的骨髓MSC软骨形成。

3.1.4 其他相关传导通路 Xue等^[22]通过在大鼠正畸牙运动模型中的研究发现,LIPUS能通过刺激HGF/Runx2/BMP-2信号通路和增加NF- κ B配体的受体激活剂的表达来促进牙槽骨重塑,且LIPUS能通过Runx2调节增加BMP-2表达。王飞等^[23]发现LIPUS在牙本质损伤修复早期可上调TGF- β 1和Smad2,3的表达,提示TGF- β 1/Smad2,3信号通路可能参与了牙本质损伤的修复过程。

FBXL2介导的TRAF6泛素化和降解在无菌性炎症性假体周围松动过程中起重要作用。Zhao等^[24]发现LIPUS能诱导FBXL2的表达,抑制TRAF6的功能,并最终防止无菌性炎症性假体周围松动。

对糖尿病ED大鼠动物模型进行研究发现,经声波固有频率1.7 MHz、脉冲频率1 kHz和输出间歇比为1:4的LIPUS治疗后,糖尿病ED大鼠阴茎海绵体内的压力和阴茎海绵体组织病理变化明显改善,阴茎海绵体内纤维化相关信号通路转化生长因子-B/Smad蛋白表达下调,内皮型一氧化氮合酶和神经元型一氧化氮合酶表达明显升高^[1]。有研究还发现,LIPUS改善ED患者的症状与阴茎组织中TGF- β 1/Smad/CTGF信号通路的下调相关^[25]。

总之,LIPUS发挥其作用与细胞增殖、ECM和干细胞/祖细胞系的多向分化等相关传导通路有关,其机制是多方面的,然而在不同的细胞或组织,其发挥的生理作用可能不尽相同,并且其机制探讨缺乏更多的动物实验及临床试验的验证,详细具体的机制还需要进一步探讨。

3.2 LIPUS影响的潜在基因

Tabuchi等^[26]通过微阵列分析发现,细胞经LIPUS处理后,有38个基因上调2倍,37个基因下调1.5倍以上;其中17个基因通过实时定量PCR检测验证,与微阵列数据一致。在75个基因中,Mmp13和Dmp1表示与LIPUS有关。LIPUS(30 mW/cm²,20 min/d)显著增加了第10天MC3T3-E1细胞培养物中和第3天的髓核HNPSV-1细胞培养物中Mmp13 mRNA的表达。然而,也有研究显示,LIPUS(30 mW/cm²)治疗组和对照组在对体外培养的牙本质-牙髓复合物的Dmp1表达上没有统计学差异^[27],因此还需要更多研究进一步验证。包含属于螺旋-环-螺旋(HLH)转录因子的Id1、Id2和Id3的分化抑制剂(Id)基因可以在基本的HLH转录因子中形成异源二聚体,这些基因可能参与LIPUS诱导的组织愈合的加速^[8]。Kobayashi等^[28]应用cDNA芯片来评估体外受LIPUS影响的基因。cDNA微阵列结果证实,LIPUS显著刺激生长因子的表达,包括BMP2、FGF7、

TGF β R1、EGFRF1 和血管内皮生长因子 (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF) 及其受体。Lü 等^[29]发现 LIPUS 增强了雪旺细胞特异性标志物 (S100b 和 GFAP) 的基因和蛋白表达水平。LIPUS 影响的潜在基因比较广泛, 还需要更多的研究完善 LIPUS 潜在基因的影响。

3.3 LIPUS 通过 VEGF 促进血管生成

超声具有刺激血管生成因子的作用, 能促进 IL-8、bFGF 和 VEGF 的生成。VEGF 是特别有效的血管生成因子, 超声处理成纤维细胞、单核细胞和成骨细胞这 3 种细胞类型时, VEGF 都显著增强。LIPUS 可增加 NO 合成酶的活性, 提高 NO 水平, 促进 VEGF-A 基因表达, 从而有利于血管内皮细胞的生成, 促进血管再生^[30]。Hanawa 等^[31]评估 VEGF 在人脐静脉内皮细胞中的表达, 证实 LIPUS 在培养的人内皮细胞中会显著上调 VEGF 的 mRNA 表达。他们还研究了 LIPUS 在左心室射血分数降低的慢性心肌缺血猪模型中的体内作用, 结果表明, 与对照组相比, LIPUS 实验组缺血区域毛细血管密度明显升高, 心肌血流量显著增加, 并且仅在 LIPUS 组中发现 VEGF、内皮型一氧化氮合酶和 bFGF 均显著上调。Ogata 等^[32]也发现 LIPUS 能通过增强心肌血管生成和减轻血管周围纤维化来改善长期压力超负荷心脏的收缩功能障碍, LIPUS 可能是治疗慢性压力超负荷引起的心脏功能障碍的非侵入性治疗手段。LIPUS 在心血管疾病中可能具有较大的潜力, 需更多临床试验以进一步验证。

3.4 LIPUS 对干细胞体外分化的影响

Lü 等^[29]研究 LIPUS 对诱导多能干细胞-衍生神经嵴干细胞 (Induce Pluripotent Stem Cells-Derived Neural Crest Stem Cells, iPSCs-NCSCs) 的细胞增殖、细胞活力和分化的影响, 发现 LIPUS (500 mW/cm²) 增强了 iPSCs-NCSCs 治疗两天后的生存力和增殖能力, 并上调了 iPSCs-NCSCs 中 GFAP、S100 β 、Tuj1 和 NF-M 的表达。LIPUS 治疗后 7 天, 只有 GFAP、NF-M 和 S100 β 上调。LIPUS 可能是一种经济而有效的方法来增强体外细胞增殖、细胞活力和神经分化。通过 LIPUS 和 iPSCs-NCSCs 修复大鼠横断坐骨神经模型研究发现, 每天应用 LIPUS (0.3W/cm²) 5 min, 共治疗两周可显著改善坐骨神经功能指数, 而组织学分析也显示出新的血管和新的神经丝, 在 LIPUS 实验组中刺激 iPSCs-NCSCs 发现 β -III 微管蛋白 (Tuj1) 的表达较高^[33]。综上所述, LIPUS 可能为周围神经组织损伤的治疗提供新的思路。

3.5 LIPUS 相关的抗炎作用

3.5.1 TLR4 相关的抗炎作用 Nakao 等^[34]研究 LIPUS 如何影响脂多糖 (Lipopolysaccharide, LPS) 诱导的成骨细

胞的炎症反应, 结果发现, LPS 在小鼠成骨细胞系和颅骨源性成骨细胞中迅速诱导包括 CCL2、CXCL1 和 CXCL10 在内的几种趋化因子的 mRNA 表达; LIPUS 治疗显著抑制 LPS 诱导 CXCL1 和 CXCL10 的 mRNA 表达, LIPUS 处理的成骨细胞中 ERKs、p38 激酶、MEK1/2、MKK3/6、IKKs、TBK1 和 Akt 的磷酸化水平降低。此外, LIPUS 通过 LPS 抑制 NF- κ B 应答元件和干扰素敏感应答元件的转录激活。在瞬时转染实验中, LIPUS 会显著抑制 TLR4-MyD88 复合物的形成。因此, LIPUS 可通过抑制 TLR4 信号转导, 对 LPS 诱导的成骨细胞发挥抗炎作用。

3.5.2 COX-2 相关的抗炎作用 Iwabuchi 等^[35]研究 LIPUS 对环氧合酶-2 (COX-2) 表达及相关机制的影响发现, 用 IL-1 β 处理源自猪下颌髌培养的关节软骨细胞后, COX-2 的 mRNA 水平上调, 应用 LIPUS 会显著抑制 COX-2 的 mRNA 表达 ($P < 0.01$)。并且发现 LIPUS 是通过整合素 β 1 受体及随后 ERK1/2 的磷酸化来抑制 IL-1 β 诱导的 COX-2 表达。据报道, LIPUS 处理 MRL/lpr 小鼠所引起的组织学损伤显著较低。经 LIPUS 处理的动物中, COX-2 阳性细胞也显著降低^[36]。因此, LIPUS 治疗可能是炎症性疾病的有效治疗方法。

4 结论与展望

LIPUS 作为一种低成本、非侵袭性、安全的生物物理治疗手段, 主要通过其非热效应发挥作用。LIPUS 相应的分子生物学机制主要表现在与其相关的信号传导通路、基因表达、血管生成和干细胞分化等, 然而其作用机制仍不是十分明确, 因此, 人们对于 LIPUS 的认识还需进一步深化, 对于其相关的基础研究还需进一步深入, 对于其临床应用的探索还需更加规范, 对于其疗效还需进一步验证。相信随着对 LIPUS 相关的生物学机制和临床研究的不断深入, LIPUS 将会得到更加广泛的应用, 并有望成为防治疾病的新方法。

【参考文献】

- [1] 郭应禄, 辛钟成, 李辉喜, 等. 迎接生命科学第三次革命重视微能量医学发展[J]. 北京大学学报(医学版), 2015, 47(4): 559-565.
GUO Y L, XIN Z C, LI H X, et al. Welcome the third revolution of life sciences and attach importance to the development of microenergy medicine [J]. Journal of Peking University (Health Sciences), 2015, 47(4): 559-565.
- [2] TER H G. Therapeutic ultrasound[J]. Eur J Ultrasound, 1999, 9(1): 3.
- [3] BAKER K G, ROBERTSON V J, DUCK F A. A review of therapeutic ultrasound: biophysical effects[J]. Phys Ther, 2001, 81(7): 1351-1358.
- [4] WATSON T. Electrotherapy and tissue repair[J]. Sportex Med, 2006, 29: 7.
- [5] WATSON T. Ultrasound in contemporary physiotherapy practice[J].

- Ultrasonics, 2008, 48(4): 321-329.
- [6] AZAGURY A, KHOURY L, ENDEN G, et al. Ultrasound mediated transdermal drug delivery[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2014, 72: 127.
- [7] XIN Z, LIN G, LEI H, et al. Clinical applications of low-intensity pulsed ultrasound and its potential role in urology[J]. *Transl Androl Urol*, 2016, 5(2): 255.
- [8] LIN G, REED-MALDONADO A B, LIN M, et al. Effects and mechanisms of low-intensity pulsed ultrasound for chronic prostatitis and chronic pelvic pain syndrome[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(7): 1057.
- [9] HAAR G T. Therapeutic applications of ultrasound[J]. *Prog Biophys Mol Biol*, 2007, 93(1-3): 111-129.
- [10] WU J, NYBORG W L. Ultrasound, cavitation bubbles and their interaction with cells[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008, 60(10): 1103-1116.
- [11] ZHOU S, SCHMELZ A, SEUFFERLEIN T, et al. Molecular mechanisms of low intensity pulsed ultrasound in human skin fibroblasts[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(52): 54463-54469.
- [12] 成吉华, 赵丹, 郭杨, 等. 低强度脉冲超声治疗骨关节炎的应用进展[J]. *临床超声医学杂志*, 2014, 16(7): 475-477.
- CHENG J H, ZHAO D, GUO Y, et al. A review of low-intensity pulsed ultrasound in the treatment of osteoarthritis[J]. *Journal of Clinical Ultrasound in Medicine*, 2014, 16(7): 475-477.
- [13] RYOHEI T, AKIHIDE R, NORIKO K, et al. Low-intensity pulsed ultrasound activates the phosphatidylinositol 3 kinase/Akt pathway and stimulates the growth of chondrocytes in three-dimensional cultures: a basic science study[J]. *Arthritis Res Ther*, 2008, 10(4): 1-11.
- [14] WHITNEY N P, LAMB A C, LOUW T M, et al. Integrin-mediated mechanotransduction pathway of low-intensity continuous ultrasound in human chondrocytes[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2012, 38(10): 1734.
- [15] CHENG K, XIA P, LIN Q, et al. Effects of low-intensity pulsed ultrasound on integrin-FAK-PI3K/Akt mechanochemical transduction in rabbit osteoarthritis chondrocytes[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2014, 40(7): 1609-1618.
- [16] ZHANG X J, HU Z M, HAO J, et al. Low intensity pulsed ultrasound promotes the extracellular matrix synthesis of degenerative human nucleus pulposus cells through FAK/PI3K/Akt pathway[J]. *Spine*, 2015, 41(5): e248-e254.
- [17] 张晓军, 胡侦明, 郝杰, 等. 低强度脉冲超声通过PI3K/Akt通路促进人退变髓核细胞合成细胞外基质[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2013, 29(1): 34-38.
- ZHANG X J, HU Z M, HAO J, et al. Low-intensity pulsed ultrasound stimulates the extracellular matrix synthesis of human degenerative nucleus pulposus cells via activating PI3K/Akt pathway[J]. *Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology*, 2013, 29(1): 34-38.
- [18] 高明霞, 程凯, 林强, 等. 低强度脉冲超声波对早中期兔膝骨性关节炎软骨细胞外基质及MAPKs信号通路的影响[J]. *中国康复医学杂志*, 2013, 28(7): 593-599.
- GAO M X, CHENG K, LIN Q, et al. Effect of low-intensity pulsed ultrasound on extracellular matrix and MAPKs signaling pathways in early and medium term of rabbit knee osteoarthritis model[J]. *Chinese Journal of Rehabilitation Medicine*, 2013, 28(7): 593-599.
- [19] 夏鹏, 李雪萍, 林强, 等. 低强度脉冲超声对兔膝骨性关节炎软骨细胞整合素-局部粘着斑激酶-促分裂原活化蛋白激酶力化学转导通路相关蛋白表达的影响[J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2014, 36(3): 165-170.
- XIA P, LI X P, LIN Q, et al. The effects of low intensity pulsed ultrasound on expression of mechanochemical transduction pathway-related protein of integrin-focal adhesion kinase-mitogen-activated protein kinases in the chondrocytes of rabbits with knee osteoarthritis[J]. *Chinese Journal of Physical Medicine and Rehabilitation*, 2014, 36(3): 165-170.
- [20] KUSUYAMA J, BANDOW K, SHAMOTO M, et al. Low intensity pulsed ultrasound (LIPUS) influences the multilineage differentiation of mesenchymal stem and progenitor cell lines through ROCK-Cot/Tpl2-MEK-ERK signaling pathway[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(15): 10330.
- [21] XIA P, WANG X, QU Y, et al. TGF- β 1-induced chondrogenesis of bone marrow mesenchymal stem cells is promoted by low-intensity pulsed ultrasound through the integrin-mTOR signaling pathway[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8: 281.
- [22] XUE H, ZHENG J, CUI Z, et al. Low-intensity pulsed ultrasound accelerates tooth movement via activation of the BMP-2 signaling pathway[J]. *PLoS One*, 2013, 8(7): e68926.
- [23] 王飞, 左静, 李月恒, 等. 低强度脉冲超声对牙本质损伤修复过程中TGF- β 1/Smads表达的作用[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2017, 42(9): 1030-1036.
- WANG F, ZUO J, LI Y H, et al. Effect of low intensity pulsed ultrasound on expression of TGF- β 1 and Smads during dentin injury and repair[J]. *Journal of Central South University (Medical Science)*, 2017, 42(9): 1030-1036.
- [24] ZHAO X, ZHAO G, SHI Z, et al. Low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) prevents periprosthetic inflammatory loosening through FBXL2-TRAF6 ubiquitination pathway[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 45779.
- [25] LEI H, XIN H, GUAN R, et al. Low-intensity pulsed ultrasound improves erectile function instreptozotocin-induced type I diabetic rats[J]. *Urology*, 2015, 86(6): 11-18.
- [26] TABUCHI Y, SUGAHARA Y, IKEGAME M, et al. Genes responsive to low-intensity pulsed ultrasound in MC3T3-E1 preosteoblast cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(11): 22721.
- [27] AL-DAGHREER S, DOSCHAK M, SLOAN A J, et al. Long term effect of low intensity pulsed ultrasound on a human tooth slice organ culture[J]. *Arch Oral Biol*, 2012, 57(6): 760-768.
- [28] KOBAYASHI Y, SAKAI D, IWASHINA T, et al. Low-intensity pulsed ultrasound stimulates cell proliferation, proteoglycan synthesis and expression of growth factor-related genes in human nucleus pulposus cell line[J]. *Eur Cells Mater*, 2009, 17(1): 15.
- [29] LÜ Y, ZHAO P, CHEN G, et al. 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(12): 2201-2212.
- [30] 柯丹, 李发琪, 刁庆春. 低强度脉冲超声波对细胞增殖及生物合成的影响[J]. *临床超声医学杂志*, 2007, 9(5): 299-301.
- KE D, LI F Q, DIAO Q C. The effect of low intensity pulsed ultrasound on cell proliferation and protein synthesis[J]. *Journal of Ultrasound in Clinical Medicine*, 2007, 9(5): 299-301.
- [31] HANAWA K, ITO K, AIZAWA K, et al. Low-intensity pulsed ultrasound induces angiogenesis and ameliorates left ventricular dysfunction in a porcine model of chronic myocardial ischemia[J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e104863.
- [32] OGATA T, ITO K, SHINDO T, et al. Low-intensity pulsed ultrasound enhances angiogenesis and ameliorates contractile dysfunction of pressure-overloaded heart in mice[J]. *PLoS One*, 2017, 12(9): e0185555.
- [33] LÜ Y, NAN P, CHEN G, et al. *In vivo* repair of rat transected sciatic nerve by low-intensity pulsed ultrasound and induced pluripotent stem cells-derived neural crest stem cells[J]. *Biotechnol Lett*, 2015, 37(12): 1-10.
- [34] NAKAO J, FUJII Y, KUSUYAMA J, et al. Low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) inhibits LPS-induced inflammatory responses of osteoblasts through TLR4-MyD88 dissociation[J]. *Bone*, 2014, 58(1): 17.
- [35] IWABUCHI Y, TANIMOTO K, TANNE Y, et al. Effects of low-intensity pulsed ultrasound on the expression of cyclooxygenase-2 in mandibular condylar chondrocytes[J]. *J Oral Facial Pain Headache*, 2014, 28(3): 261-268.
- [36] NAKAMURA T, FUJIHARA S, YAMAMOTONAGATA K, et al. Low-intensity pulsed ultrasound reduces the inflammatory activity of synovitis[J]. *Ann Biomed Eng*, 2011, 39(12): 2964-2971.

(编辑:谭斯允)