

基于机械敏感离子通道的超声神经调制研究进展

王伯展¹, 栗鑫¹, 杨佳佳^{2,3}, 田裕涛^{1,3*}

1 天津大学医学工程与转化医学研究院, 天津 300072

2 天津大学精密仪器与光电子工程学院, 天津 300072

3 天津市脑科学与神经工程重点实验室, 天津 300072

王伯展, 栗鑫, 杨佳佳, 田裕涛. 基于机械敏感离子通道的超声神经调制研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(10): 4029-4045.
WANG Bozhan, LI Xin, YANG Jiajia, TIAN Yutao. Advances of ultrasonic neuromodulation based on mechanosensitive channels[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(10): 4029-4045.

摘要: 机械敏感离子通道(mechanosensitive channels, MSCs)是一类分布于各种细胞膜上可将细胞受到的机械刺激转化为电信号或化学信号的特殊膜蛋白。由于机械敏感通道所具有的特性,使其成为超声调控的重要潜在靶点。超声由于具有良好的空间分辨率和聚焦效果,并且理论上可实现无创条件下的全脑范围定位,具有用于进行物理性神经调制和治疗神经系统疾病的潜力。近年来,越来越多的离子通道被鉴定出具有机械敏感特性,但其中有明确报道可以被超声激活的依然数量较少。此外,现阶段超声激励下机械敏感通道的开放过程和机制仍未被阐明。本文着重介绍了大电导机械敏感通道、瞬时受体电位通道、退化蛋白/上皮钠通道、双孔钾通道和 Piezo 通道等机械敏感离子通道在超声神经调制中的研究进展及其应用,为未来超声神经调制的深入研究和临床应用提供参考。

关键词: 离子通道; 神经调制; 机械敏感性; 超声; 神经生理学

Advances of ultrasonic neuromodulation based on mechanosensitive channels

WANG Bozhan¹, LI Xin¹, YANG Jiajia^{2,3}, TIAN Yutao^{1,3*}

1 Academy of Medical Engineering and Translational Medicine, Tianjin University, Tianjin 300072, China

2 School of Precision Instrument and Opto-electronics Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072, China

3 Tianjin Key Laboratory of Brain Science and Neural Engineering, Tianjin 300072, China

Abstract: Mechanosensitive channels (MSCs) are special membrane proteins that can convert

资助项目: 国家自然科学基金(32071103, 81871517, 82001420)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32071103, 81871517, 82001420).

*Corresponding author. Tel: +86-22-83612122, E-mail: yutao.tian@tju.edu.cn

Received: 2023-03-28; Accepted: 2023-05-22; Published online: 2023-06-26

mechanical stimulation into electrical or chemical signals. These channels have become potential targets for ultrasonic neuromodulation due to their properties. The good spatial resolution and focusing effect of ultrasound make it theoretically possible to achieve non-invasive whole-brain localization. Therefore, ultrasonic neuromodulation is a promising method for performing physical neuromodulation and treating neurological disorders. To date, only a few ion channels have been reported to be activated by ultrasound, while recent research has identified more channels with mechanosensitive properties. Moreover, the opening process and mechanism of MSCs under ultrasound excitation remain unknown. This review provides an overview on recent research advances and applications in MSCs, including large conductance mechanosensitive channels, transient receptor potential channels, degenerated protein/epithelial sodium channels, two-pore potassium channels, and piezo channels. These findings will facilitate future studies and applications of ultrasonic neuromodulation.

Keywords: ion channels; neuromodulation; mechanosensitive; ultrasound; neurophysiology

对脑功能的探索是神经科学的重要目标,也是治疗神经系统疾病的重要途径^[1]。作为探索脑功能一类重要手段,神经调制目前包括有创的深部脑刺激、迷走神经刺激技术以及无创的经颅磁刺激、经颅直流电刺激等^[2]。目前这些技术取得了巨大的进步,但仍存在一定局限性,如无创的经颅磁、电刺激技术靶向性较差;深部脑刺激、光遗传等技术只具有较高时空分辨率,手术植入电极或光纤过程存在风险。相较于上述已经应用于临床或科研的神经调制技术,超声具有聚焦效果好、可全脑定位等优点,有望成为实现精准无创神经调制的技术方法。

对超声神经调制技术的探索可以追溯到20世纪初,1929年Harvey^[3]发现超声可以调节神经元活动。自20世纪50年代以来,超声调节神经元活动一直是神经调制领域的重要研究方向。Fry等^[4]报道当改变超声刺激参数(如频率、强度等)时,神经元活性将发生改变。随着技术不断进步,研究人员对超声神经调制研究逐渐深入。最初Foster等^[5]发现刺激猫的耳蜗和听觉神经会产生动作电位并引起神经元的活化;Legon等^[6]利用聚焦超声刺激初级躯体感觉皮层进而影响人的感官辨别能力等大脑活

动;Wang等^[7]深入探讨了低强度聚焦超声治疗血管性痴呆等神经疾病的机制。

随着超声神经调制的机制逐渐被阐明,该项技术越来越多应用于对神经系统功能的调控和治疗相关神经系统疾病。例如,Fomenko等^[8]将低强度经颅超声作用于人脑运动皮质,测试发现超声可以抑制经颅磁刺激诱发的运动皮质活动,且具备一定生物安全性;Cain等^[9]发现使用超声刺激意识障碍患者的丘脑后,患者的神经行为评分有显著改善,表明了低强度聚焦超声在意识障碍治疗方面具有潜力^[10],上述实验结果均展现了超声作为一种无创神经调控策略的可能性。2021年,Lim等^[11]报道低强度超声能够激活小鼠大脑中的神经元,并且超声重复刺激可导致特定脑区的神经发生。Cotero等^[12]在2型糖尿病小鼠和大鼠模型上使用超声激活特定神经元使症状得到改善,为2型糖尿病和类似代谢疾病提供了一种潜在的、可能的治疗方法;Zhang等^[13]通过激活机械敏感通道触发离子流入,并诱导细胞内调节剂的激活,从而影响骨代谢,为骨质减少等疾病的治疗提供了新的靶点;Pan等^[14]借助Piezo1通道,利用远程控制机械遗传(remote-controlled mechanogenetics,

ReCoM)系统实现超声信号到细胞调控的转换,进一步证实 ReCoM 可以有效控制嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR)在 T 细胞中的表达,指导肿瘤细胞的识别和根除,为实现可控的癌症免疫治疗提供一种有效方法,说明了超声神经调制技术具有潜在的研究价值和临床价值。此外,先前有研究证实低强度聚焦超声可以通过提高脑血流量和改善神经炎症恢复血管性痴呆大鼠的神经元生存环境,提高其生存能力和突触功能,有效改善了血管性痴呆诱导的基于奖励的空间工作记忆和恐惧工作记忆功能障碍,表明了超声对精神类疾病具有一定治疗效果^[15]。另一项研究报道了低强度聚焦超声可以有效改善社交障碍小鼠的社交回避行为^[7],证明了超声神经调制在临床应用方面的价值。

随着研究数量的不断积累,人们注意到高强度和高频率超声可能会引起大脑非靶区的损伤,超声安全性问题逐渐凸显^[16]。因此,探索精准超声神经调制技术对实现特异性高时空分辨率的神经调制技术具有重要意义。

实现高时空分辨率的超声神经调制需要超声敏感元件。超声作为一种物理形式刺激,目前较明确的生物学效应有 3 种作用形式,分别是机械效应、热效应和空化效应。离子通道是镶嵌在细胞膜上的蛋白,是各种离子和有机物进出的通道。基于超声热效应实现超声神经调控需要热敏通道,而热敏通道的激活阈值普遍较高,如 TRPV1 可以被 42 °C 以上的高温激活^[17],高于人体正常体温,不满足临床使用条件。而超声的空化效应是指液体内的气体在超声波振荡拉伸和压缩作用下会形成微小气泡,而后它们会在合适的超声参数下出现稳态振荡或膨胀破裂现象,从而对周围组织或细胞产生影响^[18],但这种气泡的尺寸难以穿透血脑屏障,因此较难应用于临床治疗。

因此目前主要通过超声的机械效应进行神经调控。离子通道根据门控机制分为电压门控离子通道、配体门控离子通道和机械敏感离子通道(mechanosensitive channels, MSCs)^[19],其中机械敏感离子通道可感受细胞外的压力、渗透压变化等信息,并最终将其转化为电化学信号^[20]。当超声传导至细胞或神经元时可产生某种机械作用,使细胞膜产生形变,进而引起膜上离子通道的构象变化。如图 1 所示,离子通道在可兴奋细胞中扮演重要角色,当其感受刺激开放时,离子通过孔径进出细胞膜形成电流,引发膜电位超极化、去极化,进而引发动作电位,调控生理活动。机械敏感通道具有较好的机械力响应特征,是近年来超声敏感元件的重要候选目标^[21]。它们在多个人体组织和器官中均有表达,为超声神经调制提供了合适的介入靶点,使其变得简单且高效;当对缺少靶点的目标进行治疗时,通过将超声敏感通道异源性表达于目标细胞或组织也是实现精准超声神经调制的理想治疗方法。

机械敏感离子通道种类和亚型较多,细菌中的机械敏感离子通道主要包括大电导机械敏感离子通道(mechanosensitive channel of large conductance, MscL)^[22]、小电导机械敏感离子通道^[23]、极小电导机械敏感离子通道和机械敏感钾离子通道;哺乳动物细胞中的机械敏感离子通道主要包括瞬时受体电位离子通道家族(transient receptor potential channels, TRPs)、退化蛋白/上皮钠离子通道家族[degenerins (DEGs)/epithelial amiloride-sensitive Na⁺ channels, ENaCs]、K2P 通道家族(channels of the two-pore-domain potassium family, K2P)和 Piezo 通道家族。由于该领域发展时间较短,目前只有 MscL、TRPs、DEGs/ENaCs、K2P 和 Piezo 共 5 类通道家族成员有响应超声激励的相关报道。从图 2 可以发

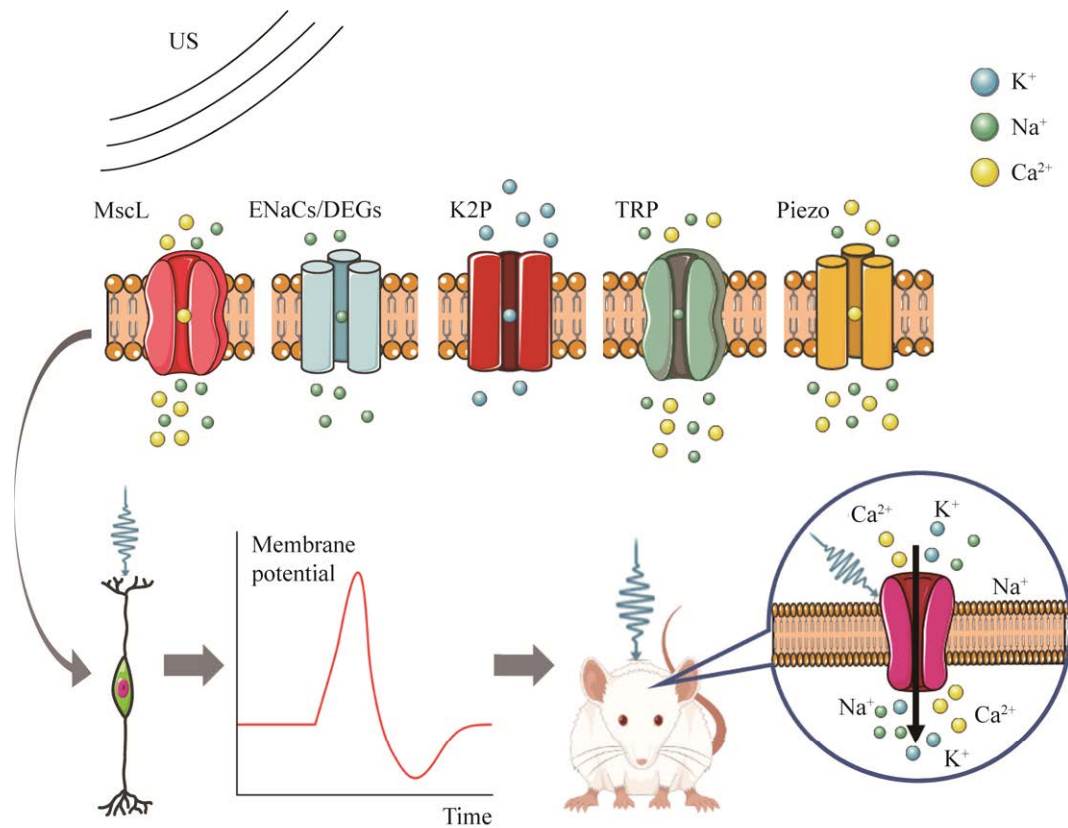


图 1 基于机械敏感通道实现超声神经调制

Figure 1 The schematic diagram of ultrasound neuromodulation based on mechanosensitive channel.

现, 5 类通道的结构相差较大, 每种通道都有自己响应超声刺激的独特结构域和独特机制。本文对这几类机械敏感通道在超声神经调制中的研究进展进行汇总, 为未来超声神经调制发展提供参考。

1 大电导机械敏感离子通道

MscL 最早在大肠杆菌中被发现, 随着相关研究的进展, 发现其分布广泛, 在各类细菌中均有表达。MscL 属于同源五聚体(图 2A), 不同种属基因所编码单一亚基的氨基酸序列包含 120–159 个氨基酸位点, 每个亚基上存在 2 个跨膜螺旋区(TM1 和 TM2), 5 个亚基的 TM1 共同围成了孔道, 允许离子通过^[29]。此外有研究

发现 5 个亚基中的 TM2 也会共同围成一个“门”, 与通道开放机制密切相关^[30]。

MscL 不具有离子选择性, 处于开放态时孔道直径约为 2.8 nm, 此时直径小于 2.8 nm 的离子、小分子等有机物可以通过^[31]。MscL 的主要生理功能是感受周围环境的渗透压变化, 当渗透压突然降低时, 细胞膜张力发生变化, 细菌通过激活 MscL 通道释放 Ca^{2+} 、 K^+ 等溶质, 降低内环境的渗透压, 避免由渗透压快速失衡造成肿胀破裂^[32]。

经过多年工作积累, MscL 的开放机制和结构-功能关系逐渐被揭示, 是研究机械敏感离子通道的良好模板。MscL 可在感受膜张力后开放, 关于细胞膜感受机械刺激后如何带动通

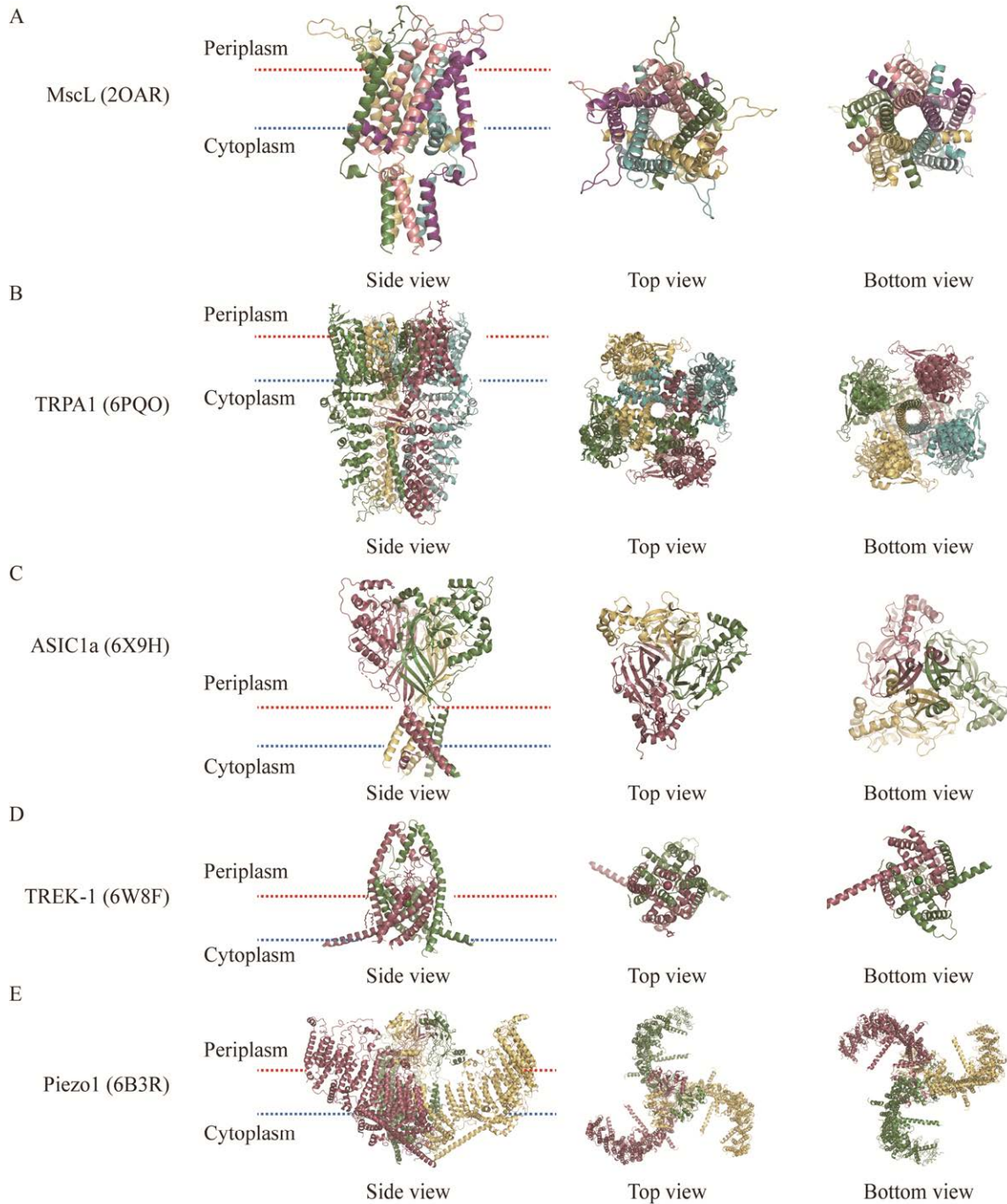


图2 五类机械敏感通道家族中代表性通道的结构^[24-28] A: MscL 的结构(PDB: 2OAR)^[24]. B: TRP 通道家族中 TRPA1 的结构(PDB: 6PQO)^[25]. C: DEGs/ENaCs 通道家族中 ASIC1a 的结构(PDB: 6BQN)^[26]. D: K2P 通道家族中 TREK-1 的结构(PDB: 6W8F)^[27]. E: Piezo 通道家族中 Piezo1 的结构(PDB: 6B3R)^[28].
 Figure 2 The structure of representative channels in five types of mechanosensitive channel families^[24-28]. A: The structure of MscL^[24]. B: The structure of TRPA1 in TRP family^[25]. C: The structure of ASIC1a in DEGs/ENaCs family^[26]. D: The structure of TREK-1 in K2P family^[27]. E: The structure of Piezo1 in Piezo family^[28].

道开放的动态过程, 学者们提出了 3 种猜想: (1) TM1 结构感受压力后旋转带动孔径增大, 通道开放; (2) TM1 结构感受张力后发生旋转, 拉大 5 个亚基中的 TM2 共同构成的“第二扇门”, 孔径增大, 通道开放; (3) TM1 结构感受压力后旋转, 拉动细胞膜向两侧移动使细胞膜变薄, 孔径增大, 离子更容易通过孔道进出细胞^[30,33-36]。

已有研究初步探索了 MscL 对超声刺激的响应特征。Doerner 等^[37]最先在 HEK-293 细胞中成功表达了 MscL 野生型和 MscL-G26C 突变体, 并提出 MscL 将成为介导生物活性分子进入细胞的有效工具。Heureaux 等^[38]在 HEK-293 上表达 MscL 和 MscL-G22S 突变体, 使用靶向微泡介导超声, 成功激活 MscL-G22S 通道。这也是关于 MscL 响应超声的首次报道, 为后续研究开创了先河(图 3)。

随着对 MscL 门控机制和超声机制研究的不断深入, Ye 等^[39]报道大鼠海马神经元上过

表达 MscL-I92L 突变体并发现其对超声敏感(图 3), 在较低声压下通过膜片钳记录到了动作电位。2020 年, Qiu 等^[40]在 HEK-293T 细胞和小鼠神经元上表达 MscL-G22S 突变体, 通过光学手段记录钙信号表征通道开放情况, 证明 0.5 MHz、0.15 MPa 的超声可以激活 HEK-293T 细胞上的 MscL-G22S 通道, 通道对超声刺激的响应具有声压依赖性, 随声压升高而增强; 0.05–0.35 MPa 的超声可以激活表达在神经元上的通道, 响应具有可重复性。

通过对实验中使用的参数和实验方法进行整理分析(表 1), 发现 MscL 响应的超声频率范围较宽, 从 0.5 MHz 到 30 MHz 均有文献报道, 且可被较低强度超声激活, 这有利于实现低强度超声神经调制。MscL 的超声敏感性可能是由于其细胞膜受力面积较大, 较小的机械力即可激活通道^[20]。此外 MscL 通道中还有一些位点可以影响通道的超声敏感性, 除了 G22 位点外^[60],

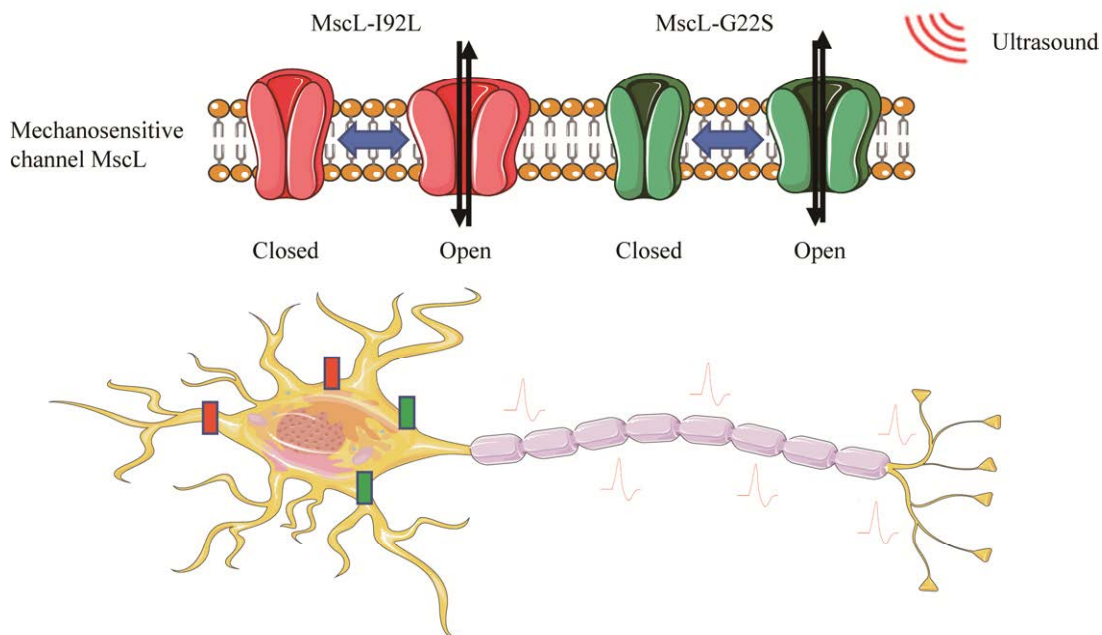


图 3 超声激活 MscL 通道调控神经元活动的机制

Figure 3 The mechanism of ultrasonic regulation of neuronal activity by activating MscL.

表 1 超声激活机械敏感通道的超声刺激参数及实验方法

Table 1 Ultrasonic parameters and experimental methods of mechanosensitive channels activated by ultrasound

Channel	Ultrasound activation conditions				Measurements	References
	Exposure time (s)	Frequency (MHz)	Pressure/ Intensity	Duty cycle and pulse repetition frequency		
MscL-G22S	10	10	0.095 MPa	25%, 5 Hz	<i>In vitro</i> calcium imaging	[38]
MscL-I92L	1	29.92	0.45 MPa	/	Patch clamp	[39]
MscL-G22S	0.5	0.5	0.45 MPa	40%, 1 kHz	<i>In vitro</i> calcium imaging	[40]
TRP-4	0.01	2.25	0.9 MPa	Continuous waves	Fraction of worms with reversal behaviors in response to ultrasound, <i>in vivo</i> calcium imaging	[41]
TRPC1	3	1.12	/	/, /	<i>In vitro</i> calcium imaging, <i>in vitro</i> sodium imaging	[42]
TRPC1	0.5	0.3	0–15 W/cm ²	Continuous waves	<i>In vitro</i> calcium imaging	[43]
TRPA1	0.1	7	2.5 MPa	Continuous waves	<i>In vitro</i> calcium imaging	[44]
TRPA1	0.1	0.43	67.3 kPa	50%, 2 kHz	<i>In vitro</i> calcium imaging	[45]
TRPP1	0.5	0.3	0–15 W/cm ²	Continuous waves	<i>In vitro</i> calcium imaging	[43]
TRPP2	0.5	0.3	0–15 W/cm ²	Continuous waves	<i>In vitro</i> calcium imaging	[43]
TRPM4	0.5	0.3	0–15 W/cm ²	Continuous waves	<i>In vitro</i> calcium imaging	[43]
TRPM7	/	3	15 W/cm ²	50%, /	<i>In vitro</i> calcium imaging	[46]
TRPV1	30	1.7	1 MPa	40%, 10 Hz	<i>In vitro</i> calcium imaging	[47]
MEC-4	0.2	10	1 MPa	50%, 1 kHz	Response frequency of reversal moving, <i>in vivo</i> calcium imaging	[48]
MEC-4	0.006 4	27.4	3 MPa	/	Response frequency of reversal moving, <i>in vivo</i> calcium imaging	[49]
MEC-6	0.006 4	27.4	3 MPa	/	Response frequency of reversal moving, <i>in vivo</i> calcium imaging	[49]
ASIC1a	5	1	12 kPa	20%, 1 kHz	<i>In vitro</i> calcium imaging	[11]
ASIC3	/	1	11.7 kPa	1.5%, 1 kHz	<i>In vitro</i> calcium imaging	[50]
TREK-1	1	10	0.5–2.0 W/cm ²	Continuous waves	Patch clamp	[51]
TREK-2	1	10	0.5–2.0 W/cm ²	Continuous waves	Patch clamp	[51]
TRAAK	1	10	0.5–2.0 W/cm ²	Continuous waves	Patch clamp	[51]
TRAAK	0.01	4.78	0.3–1.2 W/cm ²	Continuous waves	Patch clamp	[52]
Piezo1	60.0	30	1.6 MPa	20%, 2 Hz	<i>In vitro</i> calcium imaging	[53]
Piezo1	0.2	43	250 W/cm ²	Continuous waves	Patch clamp	[54]
Piezo1	0.2	0.5	0.3 MPa	40%, 1 kHz	<i>In vitro</i> calcium imaging, <i>in vivo</i> calcium imaging	[55]
Piezo1	180.0	2.25	/	20%, 1 Hz	<i>In vitro</i> calcium imaging	[56]
Piezo1	0.3	2	0.17 MPa	50%, 1 kHz	<i>In vitro</i> calcium imaging	[57]
Piezo1	5.0	2	0.6 MPa	10%, 5 Hz	<i>In vitro</i> calcium imaging	[14]
Piezo1	10.0	1	/	/	<i>In vitro</i> calcium imaging	[58]
Piezo2	0.1	0.08	8.91 W/cm ²	Continuous waves	<i>In vitro</i> calcium imaging	[59]

/: This parameter is not mentioned in the article.

位于通道孔隙最窄处的对称位点 L19 位点与 V23 位点会形成疏水门，阻碍离子通过影响通道门控^[30]，对这些位点进行特定突变也是得到超声灵敏元件的一大方向。相较于其他机械敏感通道，MscL 的序列结构、遗传背景等已经研究得比较透彻，目前有较多关于其结构-功能关系的文章被发表。另一方面，MscL 的基因序列短，蛋白相对分子质量小，在真核细胞中易表达。根据相关研究，MscL 存在大量功能获得性和缺失性突变，

可以提供广泛的梯度机械敏感性^[61]，这些都是 MscL 可以作为超声敏感元件的独特优势。

2 TRP 通道家族

TRP 家族由 28 个不同基因编码^[62]，依据氨基酸序列分为 7 个亚家族：TRPCs、TRPVs、TRPMs、TRPPs、TRPMLs、TRPA 和 TRPN^[63] (图 4)，其中 TRPN 目前存在于无脊椎动物和鱼类中。TRP 族中成员大多数为非选择性阳离子

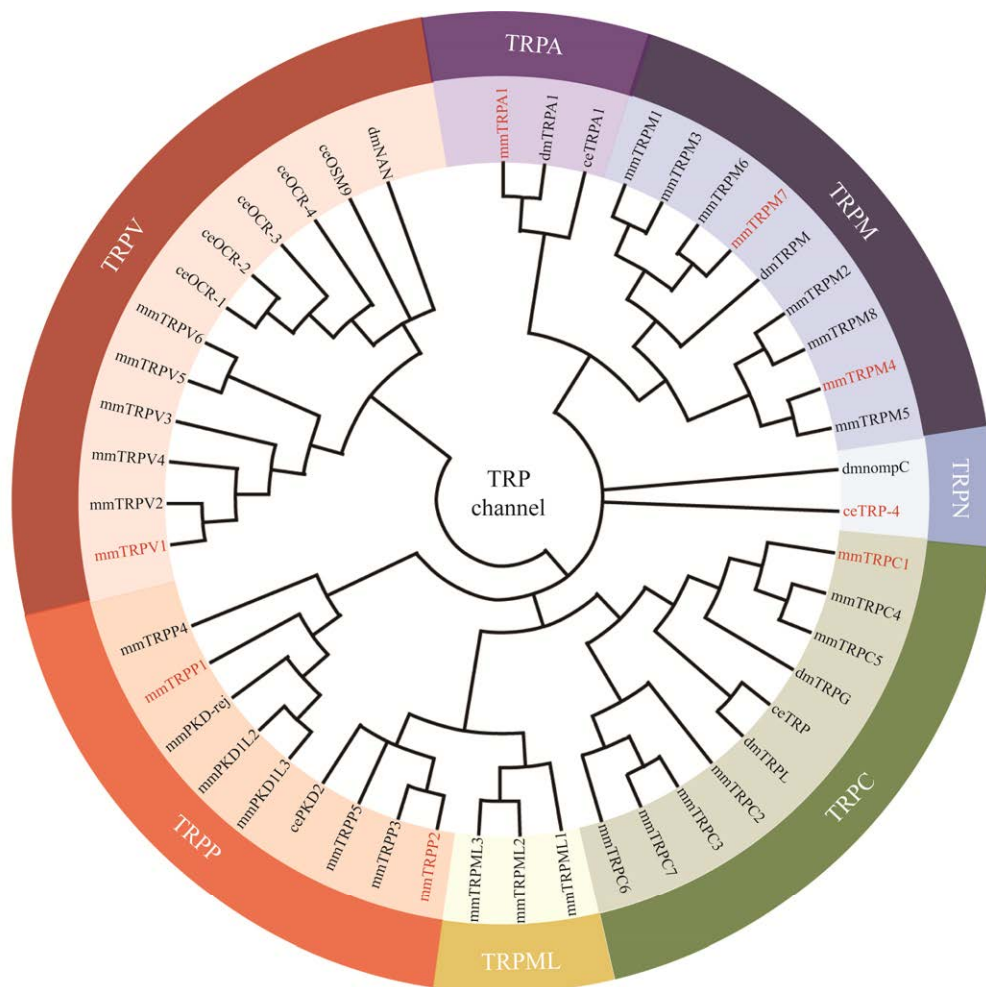


图 4 TRP 通道家族的系统进化树型图 图中标红的为已经有明确报道可以被超声激活的离子通道。小鼠种属用 mm 表示，果蝇种属用 dm 表示，线虫种属用 ce 表示

Figure 4 Phylogenetic tree of TRP channel family. The ion channels that have been clearly reported to be activated by ultrasound are shown in red. The mouse species are represented by mm, the *Drosophila* species are represented by dm, and the *C. elegans* species are represented by ce.

通道,少部分对钙离子具有高度选择性,如 TRPV5 和 TRPV6;少部分具有钠离子选择性,如 TRPM4 和 TRPM5^[64]。

TRP 通道于 1975 年被发现^[65],研究人员对已解析出的蛋白结构和预测结构加以整合分析,推测 TRP 家族成员具有类似的结构(图 2B),TRP 通道属于同源四聚体,每个亚基包含 6 个跨膜结构域(S1-S6),孔道位于 S5 和 S6 之间^[64]。TRP 通道可被多种机制调控,涉及配体结合、电压变化和温度变化等^[63]。通道开放可引起细胞膜去极化,激活其他电压门控通道,导致胞内 Ca^{2+} 浓度发生变化,具有重要的调节作用。

TRP 族中多个通道被鉴定出具有机械敏感性,如 TRPV1、TRPV4、TRPC1 和 TRPM7 等^[66-67]。Li 等^[68]和 Ibsen 等^[41]陆续报道将线虫的 *trp-4* 基因突变后,线虫在运动过程中会出现头部弯曲、身体反向运动的现象,证明 TRP-4 通道在线虫中作为机械感受器介导本体感觉。2019 年, Burks 等^[42]报道聚焦超声通过激活肾脏和骨骼肌中的 TRPC1,细胞膜去极化产生后

激活电压门控钙通道,实现对相关生理活动的调控。Yoo 等^[43]首次对 TRP 家族中几种具有机械敏感特性的通道进行了超声扫描测试,借助特异性阻断剂测试每种通道对超声的响应情况。他们使用 0.3 MHz、15 W/cm² 的超声连续刺激 500 ms,发现小鼠神经元上的 TRPC1、TRPP1、TRPP2 和 TRPM4 通道可被超声激活,并明确超声主要通过由特定机械敏感钙通道介导的机制使神经元兴奋。这些通道的激活导致神经元内钙离子积聚,这种积聚效应被其他钙通道和电压门控通道进一步放大,最终使神经元产生暴发式放电反应(图 5)。

2021 年, Yang 等^[47]将 TRPV1 通道过表达于小鼠的初级躯体感觉皮层,借助在体双光子成像手段证实 1.7 MHz 的聚焦超声可以激活通道,通过后续实验发现 TRPV1 很可能是被超声产生的热效应激活。TRPV1 作为热敏感离子通道可被 40 °C 以上的高温激活,作为辣椒素 (capsaicin)受体还可被辣椒素特异性激活^[69]。此外,已有大量研究报道了 TRPV1 的激动剂和抑

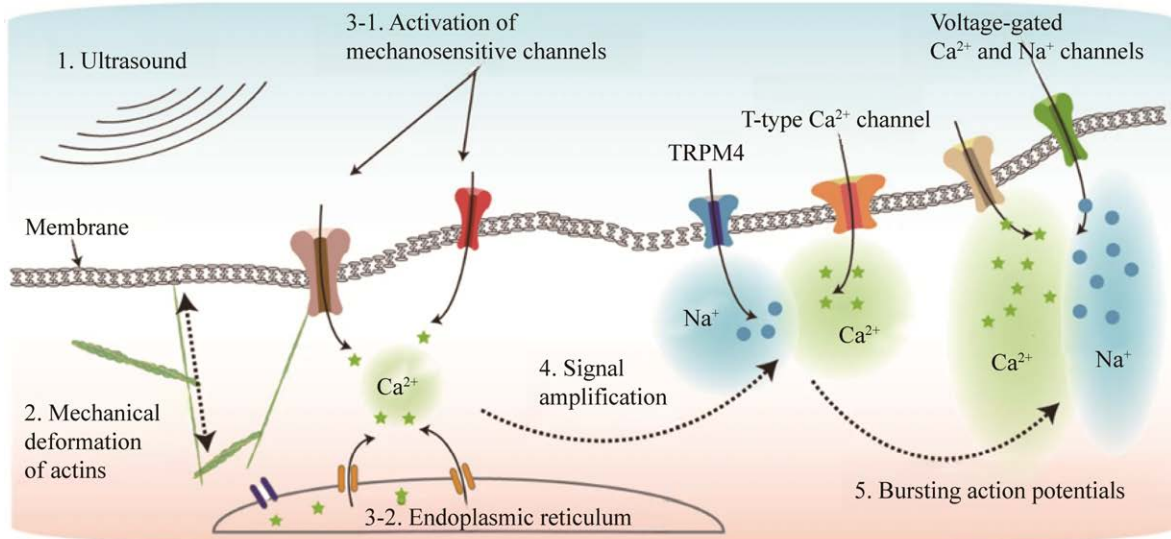


图 5 基于 TRP 通道的神经元对超声的响应被钙离子门控通道和电压门控离子通道放大^[43]

Figure 5 TRP channel-based neuronal response to ultrasound is amplified by calcium-gated and voltage-gated ion channels^[43].

制剂, 如吴茱萸碱^[70]、胡椒碱^[71]等化学物质可以激活 TRPV1, 拮抗剂为辣椒平、类肽化合物等^[72]。TRPV1 在突触传递、体温调节、痛觉的调制和细胞凋亡等方面起重要作用^[73], 近年发现 TRPV1 在中枢也参与呕吐、呼吸、心率及血压的调节^[74]。此发现证明了通过超声激活 TRPV1 通道进而实现对特定生理活动的调控这一方法的可行性和科学性, 未来可以对通过基于 TRP 通道的超声神经调制实现调控生理功能这一研究方向进行深入探究。

Oh 等^[45]发现 TRPA1 是低强度低频率超声的潜在分子传感器或换能器, 超声通过激活星形胶质细胞中 TRPA1 实现神经调制。TRPA1 通道在特定参数的超声激励下开放, 介导胞外 Ca^{2+} 通过 TRPA1 孔道进入细胞, 导致胞内 Ca^{2+} 浓度上升, 引发后续一系列生理活动。2022 年, Duque 等^[44]将 hTRPA1 分别表达于 HEK-293T 细胞、小鼠原代神经元和小鼠运动皮层神经元, 发现 hTRPA1 在 3 种环境下均可被超声激活且对 7 MHz 超声响应最强, 实验结果从离体和在大鼠层面验证了 TRPA1 的超声敏感性。

综上所述, TRP 家族中许多成员可以被超声激活^[46], 此外还有许多具有机械敏感特性的成员也具备响应超声激励的可能性^[66]。TRP 家族具有重要的生理功能, 如 Liao 等^[75]证实 TRPV4 参与了超声打通血脑屏障的过程; 在骨生理学中 TRPC3、TRPC6 等通道可调控骨吸收和成骨细胞功能^[13]; Sadowska 等^[76]发现椎间盘退化与 TRPC6、TRPM2 等通道的表达水平有关。上述研究表明 TRP 通道在生理活动中扮演着关键角色, 在未来临床应用中具有重要价值。通过表 1 的总结, TRP 通道对低频超声较敏感, 实验中使用的超声频率大多小于 3 MHz, 此频率偏好特性有利于临床应用。TRP 通道需要较高的声压激活, 为了实现低强度神经调制, 未

来研究中需要使用突变扫描或蛋白质工程的方法对其超声敏感性进行改进, 找到一些超声激活阈值较低的突变体; 此外, 使用高声压、短刺激时间参数组合的超声刺激也是未来临床应用的一大方向。

3 DEGs/ENaCs 通道家族

DEGs/ENaCs 通道家族主要包括秀丽隐杆线虫中的异常机械感受器家族(mechanosensory abnormal, MECs)、退化蛋白家族(degenerins, DEGs)、哺乳动物中的上皮钠通道家族(epithelial sodium channels, ENaCs)、酸敏感离子通道家族(acid-sensing ion channels, ASICs)以及果蝇和软体动物中的肽激活钠通道家族(FMRF amide-activated Na^+ channel, FaNaC)^[77]。

家族中 ENaC 通道由 3 个同源亚基 α 、 β 和 γ 组成, 每个亚基中包括细胞内的氨基和羧基末端、2 个跨膜结构域和 1 个糖基化细胞外环^[78-79]。ASIC 和 ENaC 拥有相似的胞外结构, 外型像一个“帽子”(图 2C), 这能够更好地感受机械力、低 pH 值环境等多种刺激^[11]。在此家族中, MEC-4、DEG-1 和 ENaC 最早被鉴定出机械敏感特性^[77]。此外, 多项研究表明 ENaC 可以响应多种机械作用, 如由渗透压^[80-81]、静水压力^[82-83]和层流剪切力^[84-85]引起的机械力。

2018 年, Kubanek 等^[48]发现线虫对脉冲超声的行为响应取决于 MEC-4 通道的表达情况, 当 MEC-4 不表达时, 10 MHz 超声刺激下线虫的行为学表现会显著降低。Zhou 等^[49]分析蛋白敲除后线虫的行为学, 证明了在 27.4 MHz 的超声刺激下, 只有 MEC-4 和 MEC-6 被敲除后会显著改变线虫的活动方式, 进而证明 MEC-4 和 MEC-6 可产生响应。ASICs 也被证明可被超声激活。2021 年, Chu 等报道髓核(nucleus pulposus, NP)细胞上表达的 ASIC3 通道可被 1 MHz 的低

强度超声激活^[50], 这些发现丰富了 DEGs/ENaCs 家族的超声响应案例。

综上所述, 目前在 DEGs/MECs 通道家族中只有 MECs 和 ASICs 中有通道成员被报道可以被超声刺激激活, 其中激活 MECs 家族中的通道使用的超声声压和中心频率较高, 较难应用于临床。ASICs 可被较低强度超声激活, 且所使用的超声参数符合临床条件。但 ASICs 同样对剪切力敏感^[86], 其可被较低声压激活很可能与超声产生的层流剪切力相关, 未来需开发出能同时产生可控的超声与剪切力的超声发射装置。

针对以上问题, 未来的研究方向可关注以下几点: 一是使用更低中心频率和更低强度的超声; 二是探索 DEG/ENaC 家族中其他成员的超声敏感性, 提供更多选择; 三是使用线虫的行为学表征通道响应情况存在局限性, 需找到更好的方式反映通道的开放情况。

4 K2P 通道家族

1996 年, Lesage 等^[87]发现了一种新的 K^+ 通道, 并将其命名为弱内向整流钾通道 1 (tandem of pore domains in a weak inward rectifier K^+ channel 1, TWIK1), 研究人员陆续鉴定出其他同源的通道, 并将整个家族命名为 K2P 家族^[88]。K2P 家族均为二聚体通道(图 2D), 研究人员根据蛋白序列将 K2P 家族分为 6 类, 其中较重要的有 TWIK、TWIK 相关的双孔钾通道 (TWIK-related K^+ channel, TREK)^[89]。相关研究发现, K2P 家族中目前有 3 种通道被鉴定出具有机械敏感特征, 分别为 TREK-1、TREK-2 和 TRAAK^[88-90]。

2016 年, Kubanek 等^[51]使用 10 MHz 超声激活表达在非洲爪蟾卵母细胞上的 TREK-1、TREK-2 和 TRAAK 通道。Sorum 等^[52]证明

4.78 MHz、声强 1.25 W/cm^2 的聚焦超声使表达在非洲爪蟾卵母细胞中的 TRAAK 通道开放, 使用全细胞膜片钳记录超声激励下通道的开放电流, 发现电流随声强升高而增大。作者还在小鼠体内过表达 TRAAK 通道并最终证明超声可调控小鼠脑中的 TRAAK。上述实验中使用的超声参数强度和中心频率均较高, 目前较难应用于临床治疗, 但将机械敏感离子通道异源表达于啮齿类动物在该领域具有创新性和必要性, 该项技术使机械敏感通道介导的超声神经调制技术为未来临床应用提供了一定的理论支撑。

5 Piezo 通道家族

Piezo 通道在多种哺乳动物细胞内表达, 且在人体内分布广泛^[91]。作为非选择性通道, Piezo 通道开放时 K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 等离子可以通过, 离子选择性为 $Ca^{2+} > K^+ > Na^+ > Mg^{2+}$ ^[92]。Piezo 通道家族中的 2 个成员 Piezo1 和 Piezo2, 其序列和结构十分相似, 均由 2 500 个左右的氨基酸组成^[93-94]。Piezo 族成员普遍包含 24–36 个跨膜结构域(图 2E), 是目前拥有最多跨膜域的通道家族^[95]。

Piezo 具有较好的机械敏感性。2018 年分别有 2 MHz 和 43 MHz 超声激活通道的报道^[14,54], 体现出 Piezo1 对超声的响应范围较宽。2019 年, Qiu 等^[55]首次通过超声刺激激活了异源表达在 HEK-293T 细胞上的小鼠种属的 Piezo1 通道和胚胎小鼠皮层初级神经元上的内源性 Piezo1 通道(图 6)。Zhang 等^[58]首次使用 0.17 MPa 的低强度超声激活 Piezo1, 大幅降低了声压阈值; 同年 Shen 等^[57]将激活阈值降至 0.11 MPa, 占空比为 50%。但在这项研究中 Shen 等^[57]将占空比降到了 10%, 而此时需要 0.6 MPa 的超声才可激活 Piezo1, 意味着超声刺激参数相互影响, 低声压高占空比的超声刺激和高声压低占空比的超

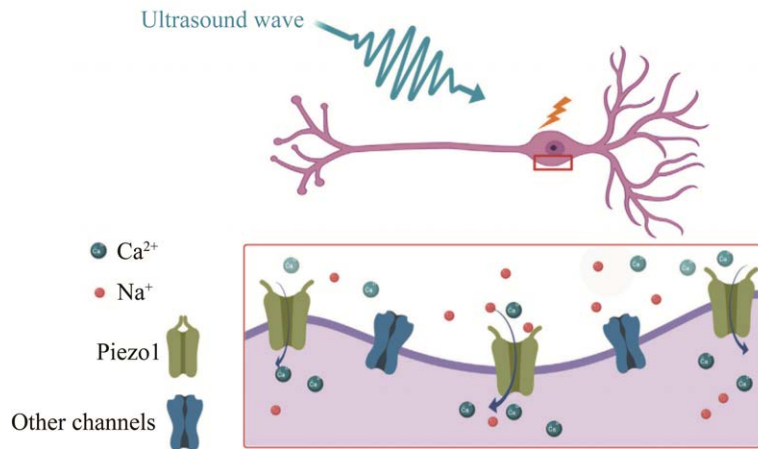


图6 超声通过激活 Piezo1 通道进行神经调制的机制^[55]

Figure 6 The mechanism of ultrasound neuromodulation by activation of Piezo1 channel^[55].

声刺激可能会导致相似的响应结果。因此，通过提高占空比等方式实现离子通道在低强度超声刺激下被激活为临床应用提供了新的发展方向。

家族另一成员 Piezo2 被证明也可响应超声刺激^[59]。总体来看，Piezo 家族对超声敏感且响应频率范围广，未来可以进一步研究 Piezo 对不同频率超声的响应差异性，为实现不同类型的临床治疗方式提供理论基础。目前 Piezo 缺乏超声特异性，在短时间高强度超声激励下可能有其他机械敏感通道被激活；另一个不足是基因序列较长，在表达和突变方面存在一定难度，未来需对此进行优化。许多文章报道了超声调控 Piezo 通道的治疗意义和临床应用，如 Singh 等^[96]证实可通过超声激活 Piezo1 通道引发 Ca^{2+} 内流，进而造成钙蛋白酶裂解导致微管破坏，最终杀死癌细胞。

6 展望

本文对近 10 年基于机械敏感通道的超声神经调制方面的工作和应用进行了总结。基于借助细胞钙成像和电生理记录技术获得的大量实验结果，目前已有 15 种通道可明确响应超

声。目前的研究均是基于某一通道家族成员的超声响应特性进行深入探究，还尚无证据表明不同离子通道家族的作用是独立、叠加还是存在抑制关系，未来可以对此方向进行深入探究，尝试将不同家族的机械敏感离子通道共表达于目标组织以实现效果更好的超声神经调制结果。这些通道在细菌和哺乳动物中均有表达，提供了广泛的接入靶点，通过选择合适的内源性通道或将超声敏感通道异源表达于治疗靶区是超声神经调制临床应用的两大方向。

超声神经调制具有其独特优势，如非侵入性、可刺激深部脑区、可实现精准聚焦等，但目前仍缺乏理想的超声敏感元件，且报道中作者使用的参数较单一，缺乏规律性和指导意义。虽然目前在实验层面取得一定进展，但由于实验结果大多源于低等动物，缺乏啮齿动物和人的实验结果，目前该技术还远未达到临床应用水平。超声神经调制技术尚不成熟，机械敏感通道对超声的响应机制未被完全阐明，需对响应过程和机制有更深入的理解，对作为治疗靶点的机械敏感通道与相关生理疾病、神经系统疾病之间的生理联系有更深刻的把握。

超声神经调制最终要应用于人类神经系统疾病的临床治疗,但目前实验研究阶段机械敏感通道介导的精准神经调制需将目的基因通过AAV病毒作为载体过表达于神经元上。在生物安全性及医学伦理方面,此技术的发展及应用必将伴随巨大挑战。

REFERENCES

- [1] POPE M, FUKUSHIMA M, BETZEL RF, SPORNS O. Modular origins of high-amplitude co-fluctuations in fine-scale functional connectivity dynamics[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2021, 118(46): e2109380118.
- [2] BOYDEN ES, ZHANG F, BAMBERG E, NAGEL G, DEISSEROTH K. Millisecond-timescale, genetically targeted optical control of neural activity[J]. *Nature Neuroscience*, 2005, 8(9): 1263-1268.
- [3] HARVEY EN. The effect of high frequency sound waves on heart muscle and other irritable tissues[J]. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 1929, 91(1): 284-290.
- [4] FRY FJ, ADES HW, FRY WJ. Production of reversible changes in the central nervous system by ultrasound[J]. *Science*, 1958, 127(3289): 83-84.
- [5] FOSTER KR, WIEDERHOLD ML. Auditory responses in cats produced by pulsed ultrasound[J]. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 1978, 63(4): 1199-1205.
- [6] LEGON W, SATO TF, OPITZ A, MUELLER J, BARBOUR A, WILLIAMS A, TYLER WJ. Transcranial focused ultrasound modulates the activity of primary somatosensory cortex in humans[J]. *Nature Neuroscience*, 2014, 17(2): 322-329.
- [7] WANG YM, BAI Y, XIAO X, WANG L, WEI GJ, GUO MK, SONG XZ, TIAN YT, MING D, YANG JJ, ZHENG CG. Low-intensity focused ultrasound stimulation reverses social avoidance behavior in mice experiencing social defeat stress[J]. *Cerebral Cortex*, 2022, 32(24): 5580-5596.
- [8] FOMENKO A, CHEN KH S, NANKOO JF, SARAVANAMUTTU J, WANG YQ, EL-BABA M, XIA X, SEERALA SS, HYNYNEN K, LOZANO AM, CHEN R. Systematic examination of low-intensity ultrasound parameters on human motor cortex excitability and behavior[J]. *eLife*, 2020, 9: e54497.
- [9] CAIN JA, SPIVAK NM, COETZEE JP, CRONE JS, JOHNSON MA, LUTKENHOFF ES, REAL C, BUITRAGO-BLANCO M, VESPA PM, SCHNAKERS C, MONTI MM. Ultrasonic thalamic stimulation in chronic disorders of consciousness[J]. *Brain Stimulation*, 2021, 14(2): 301-303.
- [10] 李英伟, 常慧贤, 王乾, 李正迁. 低强度脉冲超声在神经调控中的应用进展[J]. *中国医学前沿杂志(电子版)*, 2022, 14(12): 57-62.
LI YW, CHANG HX, WANG Q, LI ZQ. Application progress of low intensity pulsed ultrasound in neuromodulation[J]. *Chinese Journal of the Frontiers of Medical Science (Electronic Version)*, 2022, 14(12): 57-62 (in Chinese).
- [11] LIM J, TAI HH, LIAO WH, CHU YC, HAO CM, HUANG YC, LEECH, LIN SS, HSU S, CHIEN YC, LAI DM, CHEN WS, CHEN CC, WANG JL. ASIC1a is required for neuronal activation via low-intensity ultrasound stimulation in mouse brain[J]. *eLife*, 2021, 10: 61660.
- [12] COTERO V, GRAF J, MIWA H, HIRSCHSTEIN Z, QANUD K, HUERTA TS, TAI NW, DING YY, JIMENEZ-COWELL K, TOMAIO JN, SONG WG, DEVARAJAN A, TSAAVA T, MADHAVAN R, WALLACE K, LOGHIN E, MORTON C, FAN Y, KAO TJ, AKHTAR K, et al. Stimulation of the hepatoportal nerve plexus with focused ultrasound restores glucose homeostasis in diabetic mice, rats and swine[J]. *Nature Biomedical Engineering*, 2022, 6(6): 683-705.
- [13] ZHANG K, LIU XN, WANG LF, LIU ZC, YI Q, GENG B, CHEN XY, YU DC, XIA YY. The mechanosensory and mechanotransductive processes mediated by ion channels and the impact on bone metabolism: a systematic review[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2021, 711: 109020.
- [14] PAN YJ, YOON S, SUN J, HUANG ZL, LEE CY, ALLEN M, WU YQ, CHANG YJ, SADELAIN M, SHUNG KK, SHU CE, WANG YX. Mechanogenetics for the remote and noninvasive control of cancer immunotherapy[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(5): 992-997.
- [15] WANGFQ, WANG Q, WANG L, REN J, SONG XZ, TIAN YT, ZHENG CG, YANG JJ, MING D. Low-intensity focused ultrasound stimulation ameliorates working memory dysfunctions in vascular dementia rats via improving neuronal environment[J].

- Frontiers in Aging Neuroscience, 2022, 14: 814560.
- [16] TUFAIL Y, YOSHIHIRO A, PATI S, LI MM, TYLER WJ. Ultrasonic neuromodulation by brain stimulation with transcranial ultrasound[J]. Nature Protocols, 2011, 6(9): 1453-1470.
- [17] KWON DH, ZHANG F, FEDOR JG, SUO Y, LEE SY. Vanilloid-dependent TRPV1 opening trajectory from cryoEM ensemble analysis[J]. Nature Communications, 2022, 13: 2874.
- [18] WU JR, NYBORG WL. Ultrasound, cavitation bubbles and their interaction with cells[J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2008, 60(10): 1103-1116.
- [19] BURKE R. Investigating the role of voltage-gated ion channels in pulsed electric field effects in excitable and non-excitable cell lines[D]. Limoges: Université de Limoges, 2017.
- [20] JIN P, JAN LY, JAN YN. Mechanosensitive ion channels: structural features relevant to mechanotransduction mechanisms[J]. Annual Review of Neuroscience, 2020, 43: 207-229.
- [21] MARTINAC B. Mechanosensitive ion channels[J]. Channels, 2012, 6(4): 211-213.
- [22] MARTINAC B, BUECHNER M, DELCOUR AH, ADLER J, KUNG C. Pressure-sensitive ion channel in *Escherichia coli*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1987, 84(8): 2297-2301.
- [23] SUKHAREV SI, BLOUNT P, MARTINAC B, BLATTNER FR, KUNG C. A large-conductance mechanosensitive channel in *E. coli* encoded by *mscL* alone[J]. Nature, 1994, 368(6468): 265-268.
- [24] LI J, GUO JL, OU XM, ZHANG MF, LI YZ, LIU ZF. Mechanical coupling of the multiple structural elements of the large-conductance mechanosensitive channel during expansion[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2015, 112(34): 10726-10731.
- [25] PAULSEN CE, ARMACHE JP, GAO Y, CHENG YF, JULIUS D. Structure of the TRPA1 ion channel suggests regulatory mechanisms[J]. Nature, 2015, 520(7548): 511-517.
- [26] NORENG S, BHARADWAJ A, POSERT R, YOSHIOKA C, BACONGUIS I. Structure of the human epithelial sodium channel by cryo-electron microscopy[J]. eLife, 2018, 7: 39340.
- [27] NATALE AM, LORENZ LOLICATO MG, ABDEREMANE-ALI F, CROTTÈS D, CAPPONI S, DUMAN R, WAGNER A, ROSENBERG JM, GRABE M, MINOR DL. K2PChannel C-type gating involves asymmetric selectivity filter order-disorder transitions[J]. Biophysical Journal, 2021, 120(3): 111a-112a.
- [28] GUO YR, MACKINNON R. Structure-based membrane dome mechanism for Piezo mechanosensitivity[J]. eLife, 2017, 6: 33660.
- [29] OAKLEY AJ, MARTINAC B, WILCE MC. Structure and function of the bacterial mechanosensitive channel of large conductance[J]. Protein Science: a Publication of the Protein Society, 1999, 8(10): 1915-1921.
- [30] GULLINGSRUD J, SCHULTEN K. Gating of MscL studied by steered molecular dynamics[J]. Biophysical Journal, 2003, 85(4): 2087-2099.
- [31] MARTINAC AD, BAVI N, BAVI O, MARTINAC B. Pulling MscL open via N-terminal and TM1 helices: a computational study towards engineering an MscL nanovalve[J]. PLoS One, 2017, 12(8): e0183822.
- [32] COX CD, BAVI N, MARTINAC B. Bacterial mechanosensors[J]. Annual Review of Physiology, 2018, 80: 71-93.
- [33] SUKHAREV S, DURELL SR, GUY HR. Structural models of the MscL gating mechanism[J]. Biophysical Journal, 2001, 81(2): 917-936.
- [34] RAJESHWAR T R, ANISHKIN A, SUKHAREV S, VANEGAS JM. Mechanical activation of MscL revealed by a locally distributed tension molecular dynamics approach[J]. Biophysical Journal, 2021, 120(2): 232-242.
- [35] YEFIMOV S, van der GIESSEN E, ONCK PR, MARRINK SJ. Mechanosensitive membrane channels in action[J]. Biophysical Journal, 2008, 94(8): 2994-3002.
- [36] SAWADA Y, SOKABE M. Molecular dynamics study on protein-water interplay in the mechanogating of the bacterial mechanosensitive channel MscL[J]. European Biophysics Journal, 2015, 44(7): 531-543.
- [37] DOERNER JF, FEBVAY S, CLAPHAM DE. Controlled delivery of bioactive molecules into live cells using the bacterial mechanosensitive channel MscL[J]. Nature Communications, 2012, 3(990).
- [38] HEUREAUX J, CHEN D, MURRAY VL, DENG CX, LIU AP. Activation of a bacterial mechanosensitive channel in mammalian cells by cytoskeletal stress[J]. Cellular and Molecular Bioengineering, 2014, 7(3): 307-319.
- [39] YE J, TANG SY, MENG L, LI X, WEN XX, CHEN SH, NIU LL, LI XY, QIU WB, HU HL, JIANG MZ,

- SHANG SQ, SHU Q, ZHENG HR, DUAN SM, LI YZ. Ultrasonic control of neural activity through activation of the mechanosensitive channel MscL[J]. *Nano Letters*, 2018, 18(7): 4148-4155.
- [40] QIU ZH, KALA S, GUO JH, XIAN QX, ZHU JJ, ZHU T, HOU XD, WONG KF, YANG MY, WANG HR, SUN L. Targeted neurostimulation in mouse brains with non-invasive ultrasound[J]. *Cell Reports*, 2020, 32(7): 108033.
- [41] IBSEN S, TONG AD, SCHUTT C, ESENER S, CHALASANI SH. Sonogenetics is a non-invasive approach to activating neurons in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Nature Communications*, 2015, 6: 8264.
- [42] BURKS SR, LORSUNG RM, NAGLE ME, TU TW, FRANK JA. Focused ultrasound activates voltage-gated calcium channels through depolarizing TRPC1 sodium currents in kidney and skeletal muscle[J]. *Theranostics*, 2019, 9(19): 5517-5531.
- [43] YOO S, MITTELSTEIN DR, HURT RC, LACROIX J, SHAPIRO MG. Focused ultrasound excites cortical neurons via mechanosensitive calcium accumulation and ion channel amplification[J]. *Nature Communications*, 2022, 13: 493.
- [44] DUQUE M, LEE-KUBLI CA, TUFAIL Y, MAGARAM U, PATEL J, CHAKRABORTY A, MENDOZA LOPEZ J, EDSINGER E, VASAN A, SHIAO R, WEISS C, FRIEND J, CHALASANI SH. Publisher correction: sonogenetic control of mammalian cells using exogenous transient receptor potential A1 channels[J]. *Nature Communications*, 2022, 13: 1130.
- [45] OH SJ, LEE JM, KIM HB, LEE J, HAN S, BAE JY, HONG GS, KOH W, KWON J, HWANG ES, WOO DH, YOUN I, CHO IJ, BAE YC, LEE S, SHIM JW, PARK JH, LEE CJ. Ultrasonic neuromodulation via astrocytic TRPA1[J]. *Current Biology*, 2020, 30(5): 948.
- [46] YAO H, ZHANG L, YAN SJ, HE YM, ZHU H, LI YS, WANG D, YANG K. Low-intensity pulsed ultrasound/nanomechanical force generators enhance osteogenesis of BMSCs through microfilaments and TRPM7[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2022, 20(1): 1-20.
- [47] YANG YH, PACIA CP, YE DZ, ZHU LF, BAEK H, YUE YM, YUAN JY, MILLER MJ, CUI JM, CULVER JP, BRUCHAS MR, CHEN H. Sonothermogenetics for noninvasive and cell-type specific deep brain neuromodulation[J]. *Brain Stimulation*, 2021, 14(4): 790-800.
- [48] KUBANEK J, SHUKLA P, DAS A, BACCUS SA, GOODMAN MB. Ultrasound elicits behavioral responses through mechanical effects on neurons and ion channels in a simple nervous system[J]. *The Journal of Neuroscience*, 2018, 38(12): 3081-3091.
- [49] ZHOU W, WANG XH, WANG KY, FAROOQ U, KANG LJ, NIU LL, MENG L. Ultrasound activation of mechanosensory ion channels in *Caenorhabditis elegans*[J]. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, 2022, 69(2): 473-479.
- [50] CHU YC, LIM J, LAI CH, TSENG MC, CHU YS, WANG JL. Elevation of intra-cellular calcium in nucleus pulposus cells with micro-pipette-guided ultrasound[J]. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 2021, 47(7): 1775-1784.
- [51] KUBANEK J, SHI JY, MARSH J, CHEN D, DENG CR, CUI JM. Ultrasound modulates ion channel currents[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 24170.
- [52] SORUM B, RIETMEIJER RA, GOPAKUMAR K, ADESNIK H, BROHAWN SG. Ultrasound activates mechanosensitive TRAAK K⁺ channels through the lipid membrane[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2021, 118(6): e2006980118.
- [53] LIAO DF, LI FF, LU D, ZHONG P. Activation of Piezo1 mechanosensitive ion channel in HEK293T cells by 30 MHz vertically deployed surface acoustic waves[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2019, 518(3): 541-547.
- [54] PRIETO ML, FIROUZI K, KHURI-YAKUB BT, MADUKE M. Activation of Piezo1 but not NaV_{1.2} channels by ultrasound at 43 MHz[J]. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 2018, 44(6): 1217-1232.
- [55] QIU ZH, GUO JH, KALA S, ZHU JJ, XIAN QX, QIU WB, LI GF, ZHU T, MENG L, ZHANG R, CHAN HC, ZHENG HR, SUN L. The mechanosensitive ion channel Piezo1 significantly mediates ultrasonic stimulation of neurons[J]. *iScience*, 2019, 21: 448-457.
- [56] ZHANG GD, LI XF, WU L, QIN YX. Piezo1 channel activation in response to mechanobiological acoustic radiation force in osteoblastic cells[J]. *Bone Research*, 2021, 9: 16.
- [57] SHEN XL, SONG ZQ, XU EJ, ZHOU J, YAN F. Sensitization of nerve cells to ultrasound stimulation through Piezo1-targeted microbubbles[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2021, 73: 105494.

- [58] ZHANG LG, LIU XJ, GAO L, JI Y, WANG LL, ZHANG C, DAI LP, LIU JJ, JI ZY. Activation of Piezo1 by ultrasonic stimulation and its effect on the permeability of human umbilical vein endothelial cells[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2020, 131: 110796.
- [59] LI J, LIU S, SONG CM, HU Q, ZHAO ZK, DENG TT, WANG Y, ZHU T, ZOU LZ, WANG SF, CHEN JF, LIU L, HOU HQ, YUAN KX, ZHENG HR, LIU ZY, CHEN XW, SUN WZ, XIAO BL, XIONG W. PIEZO2 mediates ultrasonic hearing via cochlear outer hair cells in mice[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2021, 118(28): e2101207118.
- [60] YOSHIMURA K, BATIZA A, SCHROEDER M, BLOUNT P, KUNG C. Hydrophilicity of a single residue within MscL correlates with increased channel mechanosensitivity[J]. *Biophysical Journal*, 1999, 77(4): 1960-1972.
- [61] 洪非凡, 李月舟. 超声遗传学技术中的机械敏感性离子通道[J]. *浙江大学学报(医学版)*, 2019, 48(1): 34-38.
HONG FF, LI YZ. Application of mechanosensitive channels in sonogenetics[J]. *Journal of Zhejiang University (Medical Sciences)*, 2019, 48(1): 34-38 (in Chinese).
- [62] YANG H, LOPES LT, BARIONI NO, ROESKE J, INCOGNITO AV, BAKER J, RAJ SR, WILSON RJA. The molecular makeup of peripheral and central baroreceptors: stretching a role for Transient Receptor Potential (TRP), Epithelial Sodium Channel (ENaC), Acid Sensing Ion Channel (ASIC), and Piezo channels[J]. *Cardiovascular Research*, 2022, 118(15): 3052-3070.
- [63] NILIUS B, OWSIANIK G. The transient receptor potential family of ion channels[J]. *Genome Biology*, 2011, 12(3): 218.
- [64] CLAPHAM DE. TRP channels as cellular sensors[J]. *Nature*, 2003, 426(6966): 517-524.
- [65] MINKE B, WU CF, PAK WL. Induction of photoreceptor voltage noise in the dark in *Drosophila* mutant[J]. *Nature*, 1975, 258(5530): 84-87.
- [66] CHRISTENSEN AP, COREY DP. TRP channels in mechanosensation: direct or indirect activation?[J]. *Nature Reviews Neuroscience*, 2007, 8(7): 510-521.
- [67] RANADE SS, SYEDA R, PATAPOUTIAN A. Mechanically activated ion channels[J]. *Neuron*, 2015, 87(6): 1162-1179.
- [68] LI W, FENG ZY, STERNBERG PW, SHAWN XU XZ. A *C. elegans* stretch receptor neuron revealed by a mechanosensitive TRP channel homologue[J]. *Nature*, 2006, 440(7084): 684-687.
- [69] BRAGA FERREIRA LG, FARIA JV, dos SANTOS JPS, FARIA RX. Capsaicin: TRPV1-independent mechanisms and novel therapeutic possibilities[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2020, 887: 173356.
- [70] PEARCE LV, PETUKHOV PA, SZABO T, KEDEI N, BIZIK F, KOZIKOWSKI AP, BLUMBERG PM. Evodiamine functions as an agonist for the vanilloid receptor TRPV1[J]. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 2004, 2(16): 2281-2286.
- [71] LIRL, LU YQ, ZHANG QD, LIU WJ, YANG RN, JIAO J, LIU J, GAO G, YANG H. Piperine promotes autophagy flux by P2RX4 activation in *SNCA*/ α -synuclein-induced Parkinson disease model[J]. *Autophagy*, 2022, 18(3): 559-575.
- [72] 戴冬艳, 张惠斌, 钱海, 黄文龙. 治疗疼痛新途径: 瞬时受体电位香草酸亚型 1 拮抗剂的研究进展[J]. *中国药科大学学报*, 2010, 41(1): 11-19.
DAI DY, ZHANG HB, QIAN H, HUANG WL. A novel approach to pain therapy: development of transient receptor potential vanilloid 1 antagonists[J]. *Journal of China Pharmaceutical University*, 2010, 41(1): 11-19 (in Chinese).
- [73] 周开升, 赵光海, 南伟, 张海鸿. TRPV1 通道在病理性疼痛中的研究进展[J]. *中国疼痛医学杂志*, 2021, 27(11): 841-844, 850.
ZHOU KS, ZHAO GH, NAN W, ZHANG HH. Research progress of TRPV1 channel in pathological pain[J]. *Chinese Journal of Pain Medicine*, 2021, 27(11): 841-844, 850 (in Chinese).
- [74] 李佳, 刘霞, 白占涛. TRPV1 通道的药物靶点及多肽类毒素调制剂[J]. *延安大学学报(自然科学版)*, 2016, 35(2): 50-54.
LI J, LIU X, BAI ZT. Peptide toxins targeting to TRPV1 channel[J]. *Journal of Yanan University (Natural Science Edition)*, 2016, 35(2): 50-54 (in Chinese).
- [75] LIAO WH, HSIAO MY, KUNG Y, LIU HL, BÉRA JC, INSERRA C, CHEN WS. TRPV4 promotes acoustic wave-mediated BBB opening via Ca^{2+} /PKC- δ pathway[J]. *Journal of Advanced Research*, 2020, 26: 15-28.
- [76] SADOWSKA A, HITZL W, KAROL A, JASZCZUK P, CHERIF H, HAGLUND L, HAUSMANN ON, WUERTZ-KOZAK K. Differential regulation of TRP

- channel gene and protein expression by intervertebral disc degeneration and back pain[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9: 18889.
- [77] WALDMANN R, LAZDUNSKI M. H⁺-gated cation channels: neuronal acid sensors in the NaC/DEG family of ion channels[J]. *Current Opinion in Neurobiology*, 1998, 8(3): 418-424.
- [78] KWEON HJ, SUH BC. Acid-sensing ion channels (ASICs): therapeutic targets for neurological diseases and their regulation[J]. *BMB Reports*, 2013, 46(6): 295-304.
- [79] ALTHAUS M, BOGDAN R, CLAUSS WG, FRONIUS M. Mechano-sensitivity of epithelial sodium channels (ENaCs): laminar shear stress increases ion channel open probability[J]. *The FASEB Journal*, 2007, 21(10): 2389-2399.
- [80] JI HL, FULLER CM, BENOS DJ. Osmotic pressure regulates $\alpha\beta\gamma$ -rENaC expressed in *Xenopus* oocytes[J]. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 1998, 275(5): C1182-C1190.
- [81] AWAYDA MS, SUBRAMANYAM M. Regulation of the epithelial Na⁺ channel by membrane tension[J]. *The Journal of General Physiology*, 1998, 112(2): 97-111.
- [82] PALMER LG, FRINDT G. Gating of Na channels in the rat cortical collecting tubule: effects of voltage and membrane stretch[J]. *Journal of General Physiology*, 1996, 107(1): 35-45.
- [83] AWAYDA MS, ISMAILOV II, BERDIEV BK, BENOS DJ. A cloned renal epithelial Na⁺ channel protein displays stretch activation in planar lipid bilayers[J]. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 1995, 268(6): C1450-C1459.
- [84] SATLIN LM, SHENG SH, WODA CB, KLEYMAN TR. Epithelial Na⁺ channels are regulated by flow[J]. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 2001, 280(6): F1010-F1018.
- [85] CARATTINO MD, SHENG SH, KLEYMAN TR. Epithelial Na⁺ channels are activated by laminar shear stress[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(6): 4120-4126.
- [86] LAMBERT S, OBERWINKLER J. Characterization of a proton-activated, outwardly rectifying anion channel[J]. *The Journal of Physiology*, 2005, 567(1): 191-213.
- [87] LESAGE F, GUILLEMARE E, FINK M, DUPRAT F, LAZDUNSKI M, ROMÉY G, BARHANIN J. TWIK-1, a ubiquitous human weakly inward rectifying K⁺ channel with a novel structure[J]. *The EMBO Journal*, 1996, 15(5): 1004-1011.
- [88] RENIGUNTA V, SCHLICHTHÖRL G, DAUT J. Much more than a leak: structure and function of K_{2P}-channels[J]. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, 2015, 467(5): 867-894.
- [89] PATEL AJ, LAZDUNSKI M, HONORÉ E. Lipid and mechano-gated 2P domain K⁺ channels[J]. *Current Opinion in Cell Biology*, 2001, 13(4): 422-428.
- [90] FELICIANGELI S, CHATELAIN FC, BICHET D, LESAGE F. The family of K_{2P} channels: salient structural and functional properties[J]. *The Journal of Physiology*, 2015, 593(12): 2587-2603.
- [91] COSTE B, MATHUR J, SCHMIDT M, EARLEY TJ, RANADE S, PETRUS MJ, DUBIN AE, PATAPOUTIAN A. Piezo1 and Piezo2 are essential components of distinct mechanically activated cation channels[J]. *Science*, 2010, 330(6000): 55-60.
- [92] WU J, LEWIS AH, GRANDL J. Touch, tension, and transduction—the function and regulation of piezo ion channels[J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2017, 42(1): 57-71.
- [93] COSTE B, XIAO BL, SANTOS JS, SYEDA R, GRANDL J, SPENCER KS, KIM SE, SCHMIDT M, MATHUR J, DUBIN AE, MONTAL M, PATAPOUTIAN A. Piezo proteins are pore-forming subunits of mechanically activated channels[J]. *Nature*, 2012, 483(7388): 176-181.
- [94] SOATTIN L, FIORE M, GAVAZZO P, VITI F, FACCI P, RAITERI R, DIFATO F, PUSCH M, VASSALLI M. The biophysics of piezo1 and piezo2 mechanosensitive channels[J]. *Biophysical Chemistry*, 2016, 208: 26-33.
- [95] 宋朋飞, 蒋诗超, 程艳彬, 林志刚, 张昊, 房敏. Piezo 机械敏感性离子通道研究进展[J]. *中华中医药杂志*, 2017, 32(4): 1669-1673.
- SONG PF, JIANG SC, CHENG YB, LIN ZG, ZHANG H, FANG M. Research progress in the Piezo mechanosensitive channels[J]. *China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy*, 2017, 32(4): 1669-1673 (in Chinese).
- [96] SINGH A, TIJORE A, MARGADANT F, SIMPSON C, CHITKARA D, LOW BC, SHEETZ M. Enhanced tumor cell killing by ultrasound after microtubule depolymerization[J]. *Bioengineering & Translational Medicine*, 2021, 6(3): e10233.

(本文责编 郝丽芳)