调控生物腺苷释放的装置、方法和应用

技术领域

本发明涉及腺苷调控领域，尤其涉及调控生物腺苷释放的装置、方法和应用。

背景技术

腺苷（adenosine）及其衍生物广泛存在于自然界中，并在多种生物行为调节中起着不可或缺的作用。早在 1997 年 McCharty 团队首先在“Science”报道胞外腺苷浓度随着机体睡眠-觉醒的不同状态而变化，而腺苷浓度的累积会增加睡眠压力，从而导致睡眠。但目前为止，腺苷类抗失眠药物的开发因全身组织器官腺苷受体表达多，副反应大、特异性差以及激动剂的脱敏/耐受性等问题并未有实质性进展。

中国睡眠研究会 2021 年调查报告显示，目前我国总人口中约有四成人患有不同程度的睡眠障碍，慢性、严重的失眠会大幅损害患者的工作效率和身心健康，每年由于睡眠障碍引发的各种意外和事故所造成的损失则多达数千亿元。长期失眠还是多种神经精神疾病的重要诱发因素。随着我国经济的快速发展，睡眠障碍的发生呈现普遍化和年轻化趋势。

目前临床上治疗失眠的手段主要为药物治疗，但存在用药持续性、药物依赖性和外周副反应等关键问题。除药物治疗外，失眠的治疗还有认知行为治疗和强光治疗物理治疗。认知行为治疗效果有局限性且起效缓慢；而强光治疗效果较弱。

发明内容

本发明要解决的技术问题是：目前尚无提高生物腺苷浓度或者精准改善睡眠障碍的安全有效策略。

本发明人为解决上述技术问题，发现闪光刺激能够有效提高脑内腺苷浓度，进而对睡眠障碍的改善提供有效策略。

具体来说，本发明提出了如下技术方案：

本发明的一个方面，提供了一种调控生物腺苷释放的装置，包括用于产生 1-100 Hz 声音和/或用于产生 1-100 Hz 闪光和/或全屏视觉刺激的刺激发生器。

本发明所述的装置，其中，所述刺激发生器包括闪光等视觉刺激发生器和/或声音刺激发生器。

可选地，所述视觉发生器发射 20-80 Hz 视觉刺激。

可选地，所述视觉刺激频率包括 20 Hz、25 Hz、30 Hz、35 Hz、40 Hz、45 Hz、50 Hz、55 Hz、60 Hz、65 Hz、70 Hz、75 Hz 和 80 Hz 中的一种或两种以上。

可选地，所述视觉刺激的频率包括 30-60 Hz。

可选地，所述视觉刺激频率包括 30 Hz、35 Hz、40 Hz、45 Hz、50 Hz、55 Hz 和 60 Hz 中的一种或两种以上。

可选地，所述视觉刺激频率包括 35-45 Hz。

可选地，所述视觉刺激频率包括 35 Hz、40 Hz 和 45 Hz 中的一种或两种以上。

可选地，所述视觉刺激频率为 40 Hz。

可选地，所述视觉刺激的白光光照度 2000lux 以上。

可选地，所述视觉刺激的单色光波长为 480~530nm。

可选地，所述视觉刺激的占空比为 20%-80%，优选 30%-70%，或 40%-70%，或 45-55%。

可选地，所述视觉刺激的占空比选自 20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%和 80%中的一种或二种以上。

可选地，所述视觉刺激的占空比为 50%。

本发明所述的装置，其中，所述视觉刺激发生器包括灯和/或显示屏。

可选地，所述灯包括 CCFL 灯、LED 灯和/或 OLED 灯。

可选地，所述显示屏包括 CCFL 显示屏、LED 显示屏和/或 OLED 显示屏。

可选地，所述灯发射白光和/或单色光。

可选地，所述单色光包括紫外光、蓝光、绿光、红光和近红外线中的一种或两种以上；优选蓝光和/或绿光。

可选地，所述紫外光中心波长为 315-400 nm；例如 320-395 nm、或 325-390 nm、或 330-385 nm，优选 380 nm。

可选地，所述蓝光中心波长为 450~490nm；例如 455~488nm、或 460~485nm，优选 480 nm。

可选地，所述绿光中心波长为 500nm~560nm；例如，505nm~555nm、或 510nm~550nm、或 515nm~545nm、或 520nm~540nm、或 525nm~545nm、或 530nm~535nm，优选 530 nm。

可选地，所述红光中心波长为 600~680 nm；例如，595~675 nm、或 590~670 nm、或 585~665 nm、或 580~650 nm，优选地，650 nm。

可选地，所述近红外线中心波长为 780~1100 nm；例如，790~1090 nm、或 800~1080 nm、或 810~1070 nm、或 820~1060 nm、或 830~1050 nm、或 840~1040 nm、或 850~1030 nm，优选 850 nm。

可选地，所述白光照度为 2-6000 Lux。

可选地，所述单色光照度为 2-500 Lux。

可选地，所述灯发射的白光的光照度为 500-3000Lux。

可选地，所述灯发射的白光的光照度包括 500 Lux，1000 Lux，2000 Lux 和 3000 Lux 中的一种或两种以上。

可选地，所述显示屏显示光栅图像。

可选地，所述光栅图像对比度为 10% -100%。

可选地，所述光栅图像包括运动光栅图像、闪烁光栅图像、闪烁栅格图像和翻转光栅图像中的一种或两种以上。

可选地，所述运动光栅对比度为 10%-100%。

可选地，所述运动光栅朝向为 0-180° 。

可选地，所述运动光栅图像空间频率为 0.05-30 cycle/deg；例如，0.05-10 cycle/deg。

可选地，所述运动光栅图像运动速度为 1-10 Hz。

可选地，所述翻转光栅对比度为 10%-100%。

可选地，所述翻转光栅的翻转频率为 20-60 Hz 或 30-50Hz，优选 40Hz。

可选地，所述翻转光栅的空间频率为 0.1-30 cpd、或 0.1 cpd。

可选地，所述翻转光栅的对比度为 10%-100%、70-90%，优选 80%。

可选地，所述翻转光栅的平均亮度为 100~500 cd/m^2、或 140-180 cd/m^2、或 150-170 cd/m^2，或 160 cd/m^2。

可选地，所述闪烁栅格图像对比度为 10%-100%。

可选地，所述闪烁栅格图像频率为 1-100 Hz。

可选地，所述闪烁栅格图像栅格大小为 0.5-10 deg。

本发明所述的装置，其中，所述装置包括手机、平板、或便携穿戴设备。

可选地，所述便携穿戴设备选自眼镜、眼罩、面罩、帽子、头带、头盔、手镯或手表；可选地，所述眼镜包括 VR 眼镜。

本发明所述的装置，其中，所述便携穿戴设备包括镜框；可选地，所述便携穿戴设备还包括镜腿或头箍。

可选地，所述镜框包围的镜片边缘位置设有灯。可选地，所述灯包括 CCFL 灯、LED 灯和/或 OLED 灯。

可选地，所述镜框包围的镜片中心位置设有显示屏。可选地，所述显示屏包括 CCFL 显示屏、LED 显示屏和/或 OLED 显示屏。

本发明所述的装置，其中，所述灯包括单色光灯和白光灯。

可选地，所述单色光灯照度为 2-500 lux。

可选地，所述白光灯照度为 2-6000 lux。

可选地，所述灯包括蓝光灯、绿光灯、红光灯和白光灯。

本发明所述的装置，其中，所述显示屏显示光栅图像，所述光栅图像包括垂直运动光栅、水平运动光栅和/或闪烁栅格。

可选地，所述垂直运动光栅参数为朝向 0°；可选地，所述垂直运动光栅空间频率 0.2 cpd；可选地，所述垂直运动光栅时间频率 1 Hz；可选地，所述垂直运动光栅对比度 50%。

可选地，所述水平运动光栅参数为朝向 90°；可选地，所述水平运动光栅空间频率 0.2 cpd；可选地，所述水平运动光栅时间频率 1 Hz；可选地，所述水平运动光栅对比度 50%。

本发明的另一个方面，还提供了上述任一种装置的用途，所述用途包括用于促进生物腺苷释放。

可选地，所述用途包括用于提高生物体内腺苷浓度。

可选地，所述用途包括用于提高神经元胞外腺苷浓度。

可选地，所述用途包括用于治疗神经类疾病、心血管疾病和/或眼科疾病。

可选地，所述神经类疾病包括帕金森病、抑郁、焦虑、痴呆、阿尔茨海默氏病、创伤后应激障碍、多动症、小孩孤独症和/或注意力不集中。

可选地，所述心血管疾病包括冠心病和/或心律失常。

可选地，所述眼科疾病包括近视、斜弱视、老年性视网膜病变等。

可选地，所述用途包括用于改善睡眠障碍。可选地，通过 20-80 Hz 视觉刺激改善睡眠障碍。可选地，通过 30-60 Hz 视觉刺激改善睡眠障碍。可选地，通过 35-45 Hz 视觉刺激改善睡眠障碍。可选地，通过 40 Hz 视觉刺激改善睡眠障碍。

本发明的另一个方面，还提供了一种调控生物腺苷释放方法，包括如下步骤：

利用本发明上述任一种装置，向受试者递送 1-100 Hz 的刺激，所述递送为无创递送。可选地，所述刺激包括视觉刺激和/或声音刺激。

可选地，所述视觉刺激频率为 1-100Hz；可选地，所述视觉刺激频率为 20-80 Hz。

可选地，所述视觉刺激频率包括 20 Hz、25 Hz、30 Hz、35 Hz、40 Hz、45 Hz、50 Hz、55 Hz、60 Hz、65 Hz、70 Hz、75 Hz 和 80 Hz 中的一种或两种以上。

可选地，所述视觉刺激的频率包括 30-60 Hz。

可选地，所述视觉刺激频率包括 30 Hz、35 Hz、40 Hz、45 Hz、50 Hz、55 Hz 和 60 Hz 中的一种或两种以上。

可选地，所述视觉刺激频率包括 35-45 Hz。

可选地，所述视觉刺激频率包括 35 Hz、40 Hz 和 45 Hz 中的一种或两种以上。

可选地，所述视觉刺激频率为 40 Hz。

可选地，所述视觉刺激的白光光照度 2000lux 以上。

可选地，所述视觉刺激的单色光波长为 480~530nm。

可选地，所述视觉刺激的占空比为 20%-80%，优选 30%-70%，或 40%-70%，或 45-55%。

可选地，所述视觉刺激的占空比选自 20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%和 80%中的一种或二种以上。

可选地，所述视觉刺激的占空比为 50%。

本发明所述的方法，其中，所述视觉刺激包括闪光刺激和/或图像刺激。

可选地，所述闪光包括白光和/或单色光。

可选地，所述图像包括光栅图像。

本发明所述的方法，其中，所述单色光包括紫外光、蓝光、绿光、红光和近红外线中的一种或两种以上，优选蓝光和/或绿光。

可选地，所述紫外光中心波长为 315~400nm。可选地，所述蓝光中心波长为 450~490nm。可选地，所述绿光中心波长为 500nm~560nm。可选地，所述红光中心波长为 600~680nm。可选地，所述近红外线中心波长为 780~1100nm。

可选地，所述紫外光中心波长为 320-395 nm、或 325-390 nm、或 330-385 nm。

可选地，所述蓝光中心波长为 455~488nm、或 460~485nm。

可选地，所述绿光中心波长为 505nm~555nm、或 510nm~550nm、或 515nm~545nm、或 520nm~540nm、或 525nm~545nm、或 530nm~535nm。

可选地，所述红光中心波长为 595~675 nm、或 590~670 nm、或 585~665 nm、或 580~650 nm。

可选地，所述近红外线中心波长为 790~1090 nm、或 800~1080 nm、或 810~1070 nm、或 820~1060 nm、或 830~1050 nm、或 840~1040 nm、或 850~1030 nm。

可选地，所述紫外光中心波长为 380 nm；所述蓝光中心波长为 480 nm；所述绿光中心波长为 530 nm；所述红光中心波长为 650 nm；所述近红外线中心波长为 850 nm。

可选地，所述白光照度为 2-6000 Lux。

可选地，所述单色光照度为 2-500 Lux。

可选地，所述灯发射的光的白色光光照度为 500-3000Lux，可选地，所述灯发射的光的白光的光照度包括 500 Lux，1000 Lux，2000 Lux 和 3000 Lux 中的一种或两种以上。

本发明所述的方法，其中，所述光栅图像对比度为 10% -100%。

可选地，所述光栅图像包括运动光栅图像、闪烁光栅图像、闪烁栅格图像、翻转光栅图像中的一种或两种以上。

可选地，所述运动光栅对比度为 10%-100%。

可选地，所述运动光栅朝向为 0-180 °。

可选地，所述运动光栅图像空间频率为 0.05-30 cycle/degree。

可选地，所述运动光栅图像运动速度为 1-10 Hz。

可选地，所述翻转光栅对比度为 10%-100%。

可选地，所述翻转光栅的翻转频率为 20-60 Hz 或 30-50Hz，优选 40Hz。

可选地，所述翻转光栅的空间频率为 0.1-30 cpd、或 0.1 cpd。

可选地，所述翻转光栅的对比度为 10%-100%、70-90%，优选 80%。

可选地，所述翻转光栅的平均亮度为 100~500 cd/m^2、或 140-180 cd/m^2、或 150-170 cd/m^2，或 160 cd/m^2。

可选地，所述闪烁栅格图像对比度为 10%-100%。

可选地，所述闪烁栅格图像频率为 1-100 Hz。

可选地，所述闪烁栅格图像栅格大小为 0.5-10 degree。

本发明的另一方面，还提供了一种药物或医疗器械治疗效果评估方法，包括分析生物体内腺苷浓度变化。

本发明所述的评估方法，所述药物或医疗器械用于治疗神经类疾病、治疗心血管疾病和/或改善睡眠障碍。

可选地，所述神经类疾病包括帕金森病、抑郁、焦虑、痴呆、阿尔茨海默氏病、创伤后应激障碍、多动症、小孩孤独症和/或注意力不集中。

可选地，所述心血管疾病包括冠心病和/或心律失常。

可选地，本发明所述的评估方法，包括分析神经元胞外腺苷浓度变化。

本发明的有益效果包括：

（1）本发明提供了腺苷释放调控的全新策略，具有无创、副作用小、耐受性好和疗效好的潜在优势；

（2）本发明提供了改善睡眠障碍的全新策略，通过腺苷促进睡眠对大脑神经中枢的作用范围相对较小，效果温和，相对安全性好且中枢副反应概率低。

（3）本发明提供了便携穿戴设备，方便受试者随时随地使用。

附图说明

图 1：示出实施例 1 中超高效液相色谱法分析 40Hz 的闪光光照对于视皮层初级视皮层 (visual primer cortex, V1)腺苷的总浓度的促进作用。

图 2：示出实施例 1 中不同频率闪光刺激对 V1 区腺苷释放的影响；A，闪光刺激后检测视皮层 V1 区腺苷信号实验示意图；B，40 Hz 闪光能有效诱发视皮层 V1 区 γ 振荡；C，光遗传（40 Hz）激活视皮层 V1 区(Parvalbumin, PV)阳性神经元有效增加腺苷释放；D，不同频率（20 Hz, 40 Hz, 80 Hz）闪光刺激下，视皮层 V1 区的时间-腺苷释放量对应曲线图 (n=3-5/组)。

图 3：示出实施例 2 中闪光刺激对于初级视皮层（V1）脑区的神经调质五羟色胺和乙酰胆碱的浓度的影响。

图 4：示出实施例 3 中 40 Hz 闪光增加腺苷释放具有脑区特异性。A，40 Hz 闪光刺激 30 min 后基底前脑(BF)，视皮层 V1 区，伏隔核(Nucleus accumbens, NAc)，中脑腹侧被盖区(Ventral

tegmentalnucleus,VTA)，上丘（Superior colliculus, SC)，内侧前额叶皮质（Medial prefrontal cortex, mPFC)，海马（Hippocampus, HPC)， 背内侧纹状体（Dorsomedial striatum, DMS）等 8 个脑区的时间-腺苷浓度变化曲线图。

图 5：示出实施例 4 中不同视觉刺激模式增加视皮层胞外腺苷特异性。A，40 Hz 不同波长的闪光刺激在视皮层 V1 区对腺苷释放的时间-浓度对应曲线；B，闪烁光耙（翻转光栅）的视觉刺激能够显著增加视皮层 V1 区腺苷释放；A-C 每组 n=3-5；C，不同运动光栅视觉刺激模式下视皮层 V1 区腺苷释放的时间-浓度对应曲线，圆形图例表示在垂直正交抑制运动光栅刺激模式下视皮层 V1 腺苷释放伴随刺激迅速增加，方形图例表示全屏 90° 方位运动光栅刺激模式下视皮层 V1 区腺苷释放缓慢增加，Random 表示全屏随机方位运动光栅刺激模式下腺苷释放无增加。阴影部分为视觉刺激时间，每组 n=3。

图 6：示出实施例 5 中不同占空比的 40Hz 频闪对视皮层胞外腺苷的影响。

图 7：示出实施例 6 中不同光照度的 40Hz 频闪对视皮层胞外腺苷的影响。

图 8：示出实施例 6 中不同光波长的 40Hz 频闪对视皮层胞外腺苷的影响。

图 9：示出实施例 7 中 40 Hz 通过腺苷信号显著降低小鼠夜间运动活性；A-C，正常白光、20 Hz、40 Hz 和 80 Hz 闪光 30 分钟后小鼠在夜间的时间-运动量对应曲线图；D-F，正常白光、20 Hz、40 Hz 和 80 Hz 闪光 30 分钟后小鼠在夜间前 7 小时内的运动量统计分析图；G.腹腔注射平衡型核苷转运载体（equilibrate nucleotide transporter, ENT）抑制剂 dipyridamole (dipyr, 15mg/kg) 阻断 40 Hz 闪光对 CD73-KO 小鼠的运动抑制效应；H，腹腔注射腺苷 A1 受体活性拮抗剂 DPCPX（6mg/kg）阻断 40 Hz 闪光引起的运动抑制效应。 n=8/组，*p<0.05,**p<0.01 v 正常白光组。

图 10：示出实施例 8 中 40 Hz 闪光显著增加小鼠夜间睡眠量；A-B， 小鼠白天阶段最后 30 分钟接受光处理后在夜间的脑电和肌电波谱示意图；C， 40 Hz 闪光显著增加小鼠夜间睡眠量的时间-睡眠量对应曲线；D，光处理后黑夜阶段前 3 小时睡眠量统计图；E，光处理后夜间小鼠的睡眠能量波谱密度分布图显示：40 Hz 闪光增加小鼠睡眠量且不影响波谱能量密度；n=7, **p<0.01, ***p<0.001, vs 正常白光组；F-G: 20Hz 和 80Hz 闪光治疗不会显著增加小鼠睡眠量。

图 11：示出实施例 8 中视皮层注射腺苷可浓度依赖性提高小鼠总睡眠量。

图 12：示出实施例 9 中耐受性评分分布图。

图 13：示出实施例 10 中 40 Hz 闪光对于患者慢性失眠患者包括睡眠潜伏期，总睡眠时间，入睡后的清醒时间等多项睡眠参数的改善。

图 14：示出实施例 11 中足底电击后，与对照侧（AAV2/9-GfaABC1D-mCherry）相比，星形胶质细胞反应性显著降低 40%，说明 AAV2/9-GfaABC1D-mCherry-hPMCA2w/b 病毒确实可以降低星形胶质细胞的活性。

图 15：示出实施例 11 中 40 Hz 闪光刺激对星形胶质细胞胞外腺苷浓度的影响。

图 16：示出实施例 11 中 40Hz 闪光刺激对神经元胞外腺苷浓度的影响。

图 17：示出实施例 12 中便携式视觉刺激装置示意图。

图 18：运动光栅刺激模式示意图，光栅为黑白交替条纹，沿着图中箭头的方向运动。

图 19：翻转光栅图像变化示意图：光栅局部亮暗（以虚线为例）以 40Hz 的频率发生交替；屏幕刷新率为 120Hz。

图 20：闪烁栅格示意图。

具体实施方式

如上所述，本发明的目的在于提供调控生物腺苷释放的装置，以解决目前尚无提高生物腺苷浓度或者精准改善睡眠障碍的安全有效策略的技术问题。

下面将对本发明的技术方案进行清楚、完整地描述。显然，基于本发明中的具体实施方式，本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施方式，都属于本发明保护的范围。

需要注意的是，本文所使用的术语仅是为了描述具体实施方式，而非意图限制根据本发明的示例性实施方式。

冷阴极荧光灯管（Cold Cathode Fluorescent Lamp. CCFL）具有高功率、高亮度等优点，广泛应用于显示器、照明等领域。

发光二极管（light-emitting diode, LED）是一种常用的发光器件。

有机发光二极管（Organic Light-Emitting Diode, OLED）属于一种电流型的有机发光器件。

本发明提供了一种调控生物腺苷释放的装置，包括用于产生 1-100 Hz 声音和/或用于产生 1-100 Hz 闪光和/或全屏视觉刺激的刺激发生器。所述刺激发生器可包括例如闪光刺激（可通过频闪或光栅装置发出）发生器、视觉刺激发生器和/或声音刺激发生器。可选地，所述视觉发生器发射 20-80 Hz 视觉刺激，例如可发射 30-60 Hz 视觉刺激，例如可发射 35-45 Hz 视觉刺激，例如可发射包括 20 Hz、25 Hz、30 Hz、35 Hz、40 Hz、45 Hz、50 Hz、55 Hz、60 Hz、65 Hz、70 Hz、75 Hz 和 80 Hz 中的一种或两种以上的视觉刺激。可选地，所述视觉刺激频率为 40 Hz。可选地，所述视觉刺激的白光光照度 2000lux 以上；可选地，所述视觉刺激的单色光波长为 480~530nm；可选地，所述视觉刺激的占空比为 20%-80%，优选 30%-70%，或 40%-70%，或 45-55%；可选地，所述视觉刺激的占空比选自 20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%和 80%中的一种或二种以上；可选地，所述视觉刺激的占空比为 50%。

提供视觉刺激的发生器包括灯和/或显示屏；可选地，所述灯包括 CCFL 灯、LED 灯和/或 OLED 灯；可选地，所述显示屏包括 CCFL 显示屏、LED 显示屏和/或 OLED 显示屏。

根据本发明提供的装置，其中，刺激发生器可发射白光和/或单色光；可选地，所述单色光包括

紫外光、蓝光、绿光、红光和近红外线中的一种或两种以上；可选地，所述紫外光中心波长为 315-400 nm、320-395 nm、或 325-390 nm、或 330-385 nm； 优选 380 nm；所述蓝光中心波长为 450~490nm、或 455~488nm、或 460~485nm；优选 480 nm；所述绿光中心波长为 500nm~560nm、或 505nm~555nm、或 510nm~550nm、或 515nm~545nm、或 520nm~540nm、或 525nm~545nm、或 530nm~535nm；优选 530 nm；所述红光中心波长为 600~680 nm、或 595~675 nm、或 590~670 nm、或 585~665 nm、或 580~650 nm；优选地，650 nm；所述近红外线中心波长为 780~1100 nm、或 790~1090 nm、或 800~1080 nm、或 810~1070 nm、或 820~1060 nm、或 830~1050 nm、或 840~1040 nm、或 850~1030 nm；优选 850 nm；可选地，所述白光照度为 2-6000 Lux，所述单色光照度为 2-500 Lux。可选地，所述灯发射的白光的光照度为 500-3000Lux，可选地，所述灯发射的白光的光照度包括 500 Lux，1000 Lux，2000 Lux 和 3000 Lux 中的一种或两种以上。

不同颜色的光、不同波段的光将产生不同的刺激效果，通过调整装置发射的光的颜色、波长、频率等参数，可用于治疗不同的疾病。

根据本发明提供的装置，其中，刺激发生器可发射光栅图像刺激；可选地，所述光栅图像对比度为 10% -100%；可选地，所述光栅图像包括运动光栅图像、闪烁光栅图像、闪烁栅格图像和翻转光栅图像中的一种或两种以上；可选地，所述运动光栅对比度为 10%-100%；可选地，所述运动光栅朝向为 0-180°；可选地，所述运动光栅图像空间频率为 0.05-30 cycle/deg；例如，0.05-10 cycle/deg；可选地，所述运动光栅图像运动速度为 1-10 Hz；

可选地，运动光栅可包括垂直运动光栅，或者可包括水平运动光栅。所述垂直运动光栅参数为朝向 0°，空间频率 0.2 cpd, 时间频率 1 Hz，对比度 50%；所述水平运动光栅参数为朝向 90°，空间频率 0.2 cpd, 时间频率 1 Hz，对比度 50%。可选地，所述闪烁栅格图像对比度为 10%-100%；可选地，所述闪烁栅格图像频率为 1-100 Hz；可选地，所述闪烁栅格图像栅格大小为 0.5-10 deg。

如图 17-图 19 所示，本发明提供了不同的光栅。图 17 为本发明提供的运动光栅刺激模式示意图，可变参数包括：100~500 堪德拉每平米(cd/m^2)，朝向（0-180°），空间频率（0.2-30 cycle/degree 即 cpd, 单个光栅宽度），时间频率（1-10Hz，光栅运动速度），对比度（1-100%），刺激范围大小（0-30°或全屏刺激），正交刺激（中心感受野 5°，外周感受野 15°）。

图 18 为本发明提供的翻转光栅刺激模式示意图，可变参数包括：100~500 堪德拉每平米(cd/m^2)，朝向（0-180°），空间频率（0.1-30 cycle/degree 即 cpd, 单个光栅宽度），闪烁频率（1~100Hz），对比度（1-100%），刺激范围大小（0-30°或全屏刺激）。

图 19 为本发明提供的闪烁栅格刺激模式意图，显示屏以棋盘格光栅模式呈现，可变参数：单个黑/白栅格为长宽（1°~5°），对比度（1%~100%），闪烁频率（1~100Hz）。其中，对比度指的是一幅图像中明暗区域最亮的白和最暗的黑之间不同亮度层级的测量，差异范围越大代表对比越大（如对比度 100%），差异范围越小代表对比越小（如对比度 10%）。对比度越高，对我们肉眼而言更容易辨

别。

本发明提供了一种调控生物腺苷释放的装置，其中，所述装置包括手机、平板、或便携穿戴设备。其中，所述便携穿戴设备可以是例如眼镜、眼罩、面罩、帽子、头带、头盔、手镯或手表；可选地，所述眼镜包括 VR 眼镜。可选地，所述便携穿戴设备包括镜框；可选地，所述便携穿戴设备还包括镜腿或头箍；可选地，所述镜框包围的镜片边缘位置设有灯；可选地，所述灯包括 CCFL 灯、LED 灯和/或 OLED 灯；可选地，所述镜框包围的镜片中心位置设有显示屏；可选地，所述显示屏包括 CCFL 显示屏、LED 显示屏和/或 OLED 显示屏。

本发明提供的装置可用于促进生物腺苷释放；例如用于提高生物体内腺苷浓度；特别地，用于提高神经元胞外腺苷浓度。

腺苷及其受体可以用于治疗神经系统和心血管系统中的很多疾病，已被广泛研究和认知。其中，神经类疾病包括帕金森病、抑郁、焦虑、痴呆、阿尔茨海默氏病、创伤后应激障碍、多动症、小孩孤独症、注意力不集中等；心血管疾病包括冠心病、心律失常等。由于本发明的装置能够有效提高生物体脑内腺苷浓度，因此可预期利用本发明的装置，同样能够用于治疗神经系统和心血管系统中的很多疾病。

本发明的装置可用于治疗神经类疾病、心血管疾病和/或眼科疾病；可选地，所述神经类疾病包括帕金森病、抑郁、焦虑、痴呆、阿尔茨海默氏病、创伤后应激障碍、多动症、小孩孤独症和/或注意力不集中；可选地，所述心血管疾病包括冠心病和/或心律失常；可选地，所述眼科疾病包括近视、斜弱视、老年性视网膜病变等。本发明提供的装置可用于改善睡眠障碍，可选地，通过 20-80 Hz 视觉刺激改善睡眠障碍，通过 30-60 Hz 视觉刺激改善睡眠障碍，可选地，通过 35-45 Hz 视觉刺激改善睡眠障碍，可选地，通过 40 Hz 视觉刺激改善睡眠障碍。

本发明提供了调控生物腺苷释放方法，包括如下步骤：

利用本发明提供的装置，向受试者递送 1-100 Hz 的刺激，所述递送为无创递送；可选地，所述刺激包括视觉刺激和/或声音刺激。可选地，所述视觉刺激频率为 1-100Hz，可选地，所述视觉刺激频率为 20-80 Hz，例如 30-60 Hz，例如 35-45 Hz；所述视觉刺激频率包括 20 Hz、25 Hz、30 Hz、35 Hz、40 Hz、45 Hz、50 Hz、55 Hz、60 Hz、65 Hz、70 Hz、75 Hz 和 80 Hz 中的一种或两种以上。可选地，所述视觉刺激频率为 40 Hz。可选地，所述视觉刺激的白光光照度 2000lux 以上；可选地，所述视觉刺激的单色光波长为 480~530nm ；可选地，所述视觉刺激的占空比 为大于 10%；可选地，所述视觉刺激的占空比为 20%-80%，优选 30%-70%，或 40%-70%，或 45-55%；可选地，所述视觉刺激的占空比选自 20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%和 80%中的一种或二种以上；可选地，所述视觉刺激的占空比为 50%。

可选地，本发明的调控生物腺苷释放方法，其中，所述视觉刺激包括闪光刺激和/或图像刺激；可选地，所述闪光包括白光和/或单色光；可选地，所述图像包括光栅图像。可选地，所述单色光包

括紫外光、蓝光、绿光、红光和近红外线中的一种或两种以上；可选地，所述紫外光中心波长为 315~400 nm；可选地，所述紫外光中心波长为 320-395 nm、或 325-390 nm、或 330-385 nm；所述蓝光中心波长为 450~490nm；可选地，所述蓝光中心波长为 455~488nm、或 460~485nm；所述绿光中心波长为 500nm~560 nm；可选地，所述绿光中心波长为 505nm~555nm、或 510nm~550nm、或 515nm~545nm、或 520nm~540nm、或 525nm~545nm、或 530nm~535nm；所述红光中心波长为 600~680 nm；可选地，所述红光中心波长为 595~675 nm、或 590~670 nm、或 585~665 nm、或 580~650 nm；所述近红外线中心波长为 780~1100 nm；可选地，所述近红外线中心波长为 790~1090 nm、或 800~1080 nm、或 810~1070 nm、或 820~1060 nm、或 830~1050 nm、或 840~1040 nm、或 850~1030 nm。可选地，所述紫外光中心波长为 380 nm；所述蓝光中心波长为 480 nm；所述绿光中心波长为 530 nm；所述红光中心波长为 650 nm；所述近红外线中心波长为 850 nm；可选地，所述白光照度为 2-6000 Lux，所述单色光照度为 2-500 Lux。可选地，所述灯发射的光的白色光光照度为 500-3000Lux，可选地，所述灯发射的白光的光照度包括 500 Lux，1000 Lux，2000 Lux 和 3000 Lux 中的一种或两种以上。可选地，所述光栅图像对比度为 10% -100%；可选地，所述光栅图像包括运动光栅图像、闪烁光栅图像、闪烁栅格图像、翻转光栅图像中的一种或两种以上；可选地，所述运动光栅对比度为 10%-100%；可选地，所述运动光栅朝向为 0-180 °；可选地，所述运动光栅图像空间频率为 0.05-30 cycle/degree；可选地，所述运动光栅图像运动速度为 1-10 Hz；可选地，所述闪烁栅格图像对比度为 10%-100%；可选地，所述闪烁栅格图像频率为 1-100 Hz；可选地，所述闪烁栅格图像栅格大小为 0.5-10 degree。可选地，本发明调控生物腺苷释放方法可以提高神经元胞外腺苷浓度。

本发明提供了一种药物或医疗器械治疗效果评估方法，包括分析生物体内（例如，脑视皮层(V1)、基底前脑(BF)、上丘(SC)等脑区和/或神经元等细胞的细胞内外）腺苷浓度变化。所述药物或医疗器械用于治疗神经类疾病、治疗心血管疾病和/或改善睡眠障碍；可选地，所述神经类疾病包括帕金森病、抑郁、焦虑、痴呆、阿尔茨海默氏病、创伤后应激障碍、多动症、小孩孤独症和/或注意力不集中；可选地，所述心血管疾病包括冠心病和/或心律失常。

下面通过具体实施例来说明本发明的腺苷调控装置和睡眠障碍改善方案。

实施例 1. 40 Hz 闪光刺激频率依赖性增加 V1 区腺苷浓度

1）超高效液相色谱法分析表明 40Hz 的闪光光照能显著增高 V1 腺苷的总浓度

用超高效液相色谱法检测了小鼠视皮层区腺苷的总浓度（文献报道提示包括 95%细胞外腺苷和 5%细胞内腺苷）。在光照前 30 分钟，腹腔注射用 0.5%的甲基纤维素溶解的 6 mg/kg 腺苷转运体抑制剂双嘧达莫（Dipyridamole, Dipyr），对照组给予 0.5%的甲基纤维素。注射 30 分钟后，采用光照度 3000 lux，占空比 50%，频闪 40Hz 闪光刺激（以下均称“40Hz 闪光刺激”）给予空白对照组和双嘧达莫组进行光照 30 分钟。光照后立即取材，称重，放入液氮中急速冻存。样品处理好，参考标准品参数，上机后检测在 2.0 左右的尖峰值，采用此刻的曲线下面积作为样品腺苷浓度，最后在核对样品质量进

行校准得到腺苷浓度。

结果如图 1 所示，发现用闪光刺激后，腺苷浓度显著升高（p=0.0245, n=7），而双嘧达莫可以有效抑制细胞内外腺苷总浓度；40Hz 的闪光光照 30 分钟能后，双嘧达莫对细胞内外腺苷总浓度的抑制被有效逆转（p=0.0431, n=7）。这表明 40Hz 的闪光光照 30 分钟能显著增高 V1 区腺苷浓度，也能显著增高双嘧达莫组腺苷浓度。

2）频率依赖性

本实验采用具有高特异性和高时间分辨率的新型遗传编码的腺苷探针研究不同脑区在不同频率下的腺苷动力学变化。新型腺苷探针的工作原理为：在细胞腺苷 G 蛋白偶联受体激活时，通过绿色荧光蛋白的荧光强度来测量胞外腺苷的浓度变化。如图 2A 所示，我们将腺苷探针(AAV2/9-hsyn-GRABAdo1.0，武汉枢密脑科学技术有限公司，PT-1348)和腺苷探针对照组突变体(AAV2/9-hsyn-GRABAdo-mut，武汉枢密脑科学技术有限公司，PT-1348)病毒对照脑立体定位注射于小鼠初级视皮层（V1）脑区（前开 3.6 微米,旁开±2.4 微米，深度-0.6 μm）。小鼠回笼饲养 3 周后，暴露于 20 Hz、40 Hz 和 80 Hz (12.5 毫秒灯开，12.5 毫秒灯关，即占空比为 50%，3000 勒克斯，60 瓦)的闪光环境 30 min，并比较腺苷浓度在闪光暴露前后的变化。

结果如图 2 所示，如图 2B 所示，40 Hz 闪光能有效诱发 V1 区 γ 振荡。如图 2C 所示，40 Hz 闪光刺激光照后，腺苷浓度的变化显著升高。图 2D 为不同频率（20 Hz, 40 Hz, 80 Hz） 闪光刺激下，V1 区的时间-腺苷释放量对应曲线图 (n=3-5/组)。小鼠在 80 Hz 闪光刺激下腺苷信号略有增加，但 20 Hz 却并未见腺苷浓度变化，该结果说明 40 Hz 闪光频率依赖性激活 V1 区细胞释放腺苷。综上，胞外腺苷释放可能与特定的光照频率有关，这将为探究视觉刺激改善睡眠和认知障碍等提供重要的神经化学基础。

实施例 2. 闪光刺激特异改变初级视皮层（V1）脑区的腺苷，不改变初级视皮层（V1）脑区的神经调质五羟色胺和乙酰胆碱

神经递质和神经调质是神经元之间信息沟通的关键媒介分子，进行有效的信息传递和整合。为了验证 40 Hz 闪光刺激是否是特异性地改变初级视皮层（V1）脑区的腺苷，我们利用基因编码的荧光探针结合光纤记录系统，分别检测了五羟色胺（5-HT）和乙酰胆碱（ACh）在 40Hz 闪光刺激中的动态变化。

我们使用 AAV9-hsyn-GRAB$_{5\text{-}HT3.5}$ 和 AAV9-hsyn-GRAB$_{5HT2.1\text{-}mut}$、AAV9-hsyn-GRAB$_{ACh3.0}$ 和 AAV9-hSyn-GRAB$_{ACh3.0\text{-}mut}$ 分别注射于小鼠视皮层左右侧（图 3A-B），待病毒表达 2 周后，进行 40 Hz 闪光干预并实时记录五羟色胺和乙酰胆碱的浓度变化。实验结果如图 3C-D 所示，40 Hz 闪光刺激后，视皮层（V1）的 5-HT 和 Ach 均没有明显的变化。

实施例 3. 40 Hz 闪光刺激可以有效提高 V1、BF、mPFC 和 SC 等脑区腺苷释放水平，该现象存在脑区特异性

本实验在视皮层(V1)，基底前脑(BF)，伏隔核(NAc)，中脑腹侧被盖区(VTA)，上丘(SC)，前额叶皮层(mPFC)，海马(HPC)，背内测纹状体（DMS）等脑区采用新型遗传编码的腺苷探针检测腺苷释放水平。如图 4 所示，在给予 40 Hz 闪光刺激 30min 后,记录腺苷信号，我们发现 V1，SC，BF，mPFC 和 HPC 等脑区的腺苷释放水平显著提高，而在对照组中注射的 AAV2/9-hsyn-Mut 病毒 （武汉枢密脑科学技术有限公司, PT-1348），并未发现腺苷信号的增加。腺苷升高的脑区中，与视觉信息编码的相关脑区如 V1 和 SC 脑区的腺苷信号最强；与睡眠觉醒相关 BF 脑区的腺苷信号也有明显的增强；与认知相关脑区如 mPFC，HPC 的腺苷信号略有增强。这些结果表明这种 40 Hz 无创闪光刺激模式可以用于提高睡眠相关脑区的腺苷水平来调节睡眠。

实施例 4. 不同视觉刺激模式增加 V1 腺苷释放水平

1）40Hz 闪光刺激

如图 5A 所示，在 40Hz 闪光刺激条件下不同波长下 V1 区腺苷释放水平的差异性，仅在波长为 480 纳米的蓝光和 530 纳米的绿光可以显著的增加 V1 区腺苷浓度，而其他波长（380nm, 650nm, 850nm 等）的闪光刺激并没有增加 V1 区腺苷浓度。

2）运动光栅的影响

如图 5C 所示，采用水平运动光栅刺激（图 18 左侧，箭头表示运动方向），激参数为：光栅在高对比度(80%)下全屏呈现(屏幕平均亮度为 160 cd/m^2)，以保证小鼠在整个实验过程中都能看到刺激。水平运动光栅的空间频率为 0.2 cpd，时间频率为 1-10Hz (即光栅运动速度)。同时，在中心 5° 大小水平运动光栅，外周 15° 垂直运动光栅（中心-外周垂直运动光栅，图 18 由此）所形成的组合刺激下，检测小鼠 V1 区腺苷水平的变化。

结果发现，二种运动光栅能够显著增加 V1 腺苷，但水平运动光栅比中心-外周垂直运动光栅增加的幅度较小 (图 5C, ΔF/F 值在水平运动光栅为 5%，而中心-外周垂直运动光栅为 8%)，这表明大范围光栅刺激对细胞外腺苷的产生具有重要影响。

3）垂直翻转光栅的影响

如图 5B 所示，在保持光强不变的情况下，采用 40 Hz 频率下的垂直翻转光栅刺激，激参数为：垂直正弦翻转光栅的空间频率为 0.1 cpd，翻转频率为 40Hz (即一个黑色光栅和一个白色光栅交替闪烁，图 19)，并且在特定的时间周期内(经过 Gamma 校正以消除屏幕的亮度非线性)，平均光强没有变化。光栅在高对比度(80%)下全屏呈现(屏幕平均亮度为 160 cd/m^2)，以保证小鼠在整个实验过程中都能看到刺激。

结果发现，垂直翻转光栅能够显著增加 V1 腺苷，但比 40Hz 闪光刺激增加的幅度较小 (图 5B, ΔF/F

值在翻转光栅为 5%，而 40Hz 闪光刺激为 15-20%)，这表明光照强度对细胞外腺苷的产生具有重要影响。

实施例 5. 不同占空比的 40Hz 闪光刺激对视皮层胞外腺苷的影响

考虑到白色闪光刺激的照度（总能量）对胞外腺苷浓度的影响，而不同占空比（1%，10%，50%）频闪 40Hz（同一照度 3000lux）产生总能量不同。因此，我们检测了不同占空比（1%，10%，50%）条件下，频闪 40Hz（同一照度 3000lux）刺激 30 分钟对 V1 区的腺苷水平的作用。

结果如图 6 所示，可见 1%占空比条件下和 10%占空比条件下，V1 腺苷增加水平的峰值ΔF/F 分别在 5 和 10，相比于 50%占空比刺激（峰值ΔF/F 为 25）较低，表明白色闪光刺激在 50%占空比时能使 V1 腺苷水平显著增加。因此在同一照度（3000lux），40Hz 频率的白色闪光刺激以占空比（1%，10%，50%）依赖（特异）的方式增加胞外腺苷浓度，50%占空比时 40Hz 频闪对增加 V1 腺苷水平最为显著。

实施例 6. 不同光照强度、光波长的 40Hz 频闪对视皮层胞外腺苷的影响

1）光照强度的影响

采用不同光照度(50 Lux、500 Lux，1000 Lux，2000 Lux 和 3000 Lux)的 40Hz 白色闪光刺激，研究不同光照度对视觉皮层腺腺苷生成的影响。如图 7 所示，我们发现低光强(500 Lux)的 40Hz 闪烁诱导的腺苷水平较低，高光强(3000 Lux)的 40Hz 白色闪光刺激所增加的腺苷水平峰值ΔF/F 在 20 处，且光照度在 2000 Lux 以上的 40Hz 闪光刺激均可以显著增加 V1 区的腺苷浓度。总之，这些来自不同光照度和垂直光栅的白光增加 V1 区腺苷的研究发现表明，光照强度是产生大脑初级视皮层细胞外腺苷水平的关键因素。

2）光波长的影响

如图 8 所示，在光照度为 500 Lux 的 40Hz 单色光闪光刺激下，波长为 480 纳米的蓝光和 530 纳米的绿光，在 40Hz 频闪条件下可以显著的增加 V1 区腺苷浓度，而其他波长（380nm, 650nm, 850nm 等）的闪光刺激并没有增加 V1 区腺苷浓度。值得注意的是，这种单波长增加 V1 腺苷浓度的动力学基本相似（从 10 分钟开始增减，30 分钟到达最高浓度，并持续 2-3 小时）。

实施例 7. 40 Hz 闪光刺激抑制小鼠夜间的运动活性

前期工作基础中，我们发现 40 Hz 闪光刺激可以显著提高 BF 区的腺苷浓度，而 BF 在睡眠和觉醒调节中发挥重要作用，因此我们推测 40 Hz 闪光能够调节睡眠节律。我们首先采用不同频率的闪光在白天阶段最后 30 分钟对野生型 C57BL/6J 小鼠进行照射（19:30-20:00），然后监测小鼠在夜间的运动活性，以此间接反映小鼠的睡眠觉醒状态。如图 9 所示，在给予小鼠 40 Hz 闪光刺激 30 min 后，其运动活性被抑制长达 8 小时；但 20 Hz 和 80 Hz 的闪光刺激均对小鼠的运动活性没有显著性影响，

表明闪光刺激抑制小鼠夜间的运动活性具有频率特异性。为了进一步明确 40 Hz 闪光刺激所产生的腺苷来源，我们首先采用 CD73-KO 小鼠进行 40 Hz 光照实验，发现 40 Hz 闪光刺激依然显著降低 CD73-KO 小鼠夜间的运动活性，这表明胞外 ATP 代谢途径并非该表型中腺苷的主要来源。我们此后对 CD73-KO 小鼠腹腔注射核苷酸转运体抑制剂双嘧达莫（Dipyridamole, Dipyr）15mg/kg，结果发现，40 Hz 闪光引起的运动抑制效应完全消失，这提示胞内腺苷通过核苷酸转运体转运至胞外是该表型中 40 Hz 闪光刺激腺苷释放的主要机制。同时，我们还对 CD73-KO 小鼠腹腔注射腺苷 A1 受体活性拮抗剂 1,3-二丙基-8-环戊基黄嘌呤（8-Cyclopentyl-1,3-dipropyl-1H-purine-2,6(3H,7H)-dione, DPCPX）6mg/kg，结果发现，DPCPX 也能够阻断 40 Hz 闪光引起的运动抑制效应。

实施例 8. 40 Hz 闪光刺激 30min 能够通过增强皮层细胞外腺苷信号显著增加小鼠的睡眠量

1）40 Hz 闪光 30min 能够显著增加小鼠的睡眠量

为了验证 40 Hz 闪光对小鼠睡眠的调节作用，我们使用多导睡眠记录系统，通过记录小鼠脑电波和肌电，根据不同睡眠觉醒时相的特征，准确判断并统计小鼠的睡眠觉醒情况。本实验中，我们使用自身对照的方法，第一天在白天阶段最后 30 分钟给予小鼠正常白光照，之后记录并分析夜间睡眠量。第二天在白天阶段最后 30 分钟给予小鼠 40 Hz 闪光，之后记录并分析夜间睡眠量。如图 10A-E 所示，通过对比两天夜间小鼠的睡眠量，我们发现 40 Hz 闪光后能够显著增加夜间小鼠的 NREM 量，且不影响 NREM 睡眠中的慢波活动。这些结果提示 40 Hz 闪光是一种良好的、能促进生理性睡眠的无创性促眠手段。

2）闪光刺激显著增加小鼠的睡眠量也具备频率特异性

我们进一步证明了闪光促进睡眠的作用是频率特异性的。首先在第 1 天记录了整个黑暗阶段（19:00 pm-7:00 am）小鼠正常白天光照后基础值脑电波 EEG/肌电 EMG，然后在第 2、9、16 天光照阶段的最后 30 分钟（7:00 am-19:00 pm 光照阶段中的 6:30-7:00 pm）分别将小鼠暴露于 3 种不同频率（20Hz，40Hz 和 80Hz；3000lux；50%占空比）闪光刺激 30 分钟，并在随后的黑暗阶段记录了 EEG/EMG。

通过比较不同处理后黑暗阶段的睡眠量，发现 30 分钟的 40 Hz 闪光会对小鼠产生强烈的促睡眠作用。这种显著促进睡眠的作用主要发生在前 2 个小时。重要的是，20Hz 和 80Hz 闪光治疗不会显著增加睡眠量（图 10 F-G），证明闪光促进睡眠的作用是频率特异性。

3）视皮层注射腺苷可浓度依赖性提高小鼠总睡眠量

通过在小鼠 V1 皮层局部注射腺苷，以阐明视皮层部位的腺苷浓度增加能够提高小鼠睡眠量。在 C57BL/6J 小鼠双侧 V1 脑区埋植给药套管，待 10 天左右手术恢复后，将小鼠放入睡眠记录笼中。适应 3 天后，在黑夜阶段开始时分别在第 1、4、7 天向 V1 视皮层微量注射人工脑脊液（ACSF），腺苷 1.5nmol/侧或腺苷 4.5nmo/侧（给药顺序随机，注射量 2 μl/侧），并记录小鼠的 EEG/EMG。

通过比较小鼠不同处理后的睡眠量，如图 11 所示，发现腺苷注射 4.5nmol/侧剂量组的小鼠在黑暗阶段非快动眼睡眠量达 3 个小时，相比于对照组显著提高；而腺苷注射 1.5nmol/侧剂量组相比于对照组有促进睡眠趋势但无显著性差异。这说明视皮层局部给予腺苷促进睡眠的作用具有剂量或浓度依赖性，实验表明提高小鼠总睡眠量需要视皮层局部腺苷水平提高达到一定阈值。

通过以上实验，根据对腺苷生成和睡眠量的频率特异性影响，支持 40Hz 闪光刺激通过增强皮层细胞外腺苷信号来促进睡眠。

实施例 9. 40 Hz 闪光刺激在健康受试者中具有良好的耐受性和安全性

为推进 40 Hz 闪光刺激在临床实验中的应用，我们首先招募了 15 位健康的志愿者，测试了 40 Hz 便携式闪光装置在健康受试者身上的耐受性与安全性。本实验中，受试者在前一日早晨 8 点未进食早餐的情况下，测量血压和心电图，并采集血液样本，化验血常规和肝肾功能指标。翌日早晨 7 点 30 分给予 40 Hz 便携式闪光装置闪光 30 分钟，测量血压和心电图并采集血压样本，化验血常规和肝肾功能指标，并填写不良反应问卷量表。如图 12 所示，与未闪光相比，40 Hz 闪光刺激并未显著引起眼鼻等感官系统和大脑神经中枢的不良反应，说明 40 Hz 闪光刺激和便携式装置具有较好的耐受性。血压和血液检查也并未发现相关指标有显著异常改变。以上结果表明 40 Hz 闪光以及便携式装置在健康受试者身上具有良好的耐受性和安全性。

表 1 健康受试者临床资料 (n=16)

临床指标	均值±标准差/频数（百分比）
年龄(岁)	24.69±1.89
女性(%)	10 (62.5)
BMI（kg/m2）	20.95±1.89
受教育年限(年)	18±1.37
日常饮茶(%)	3 (18.75)
日常饮咖啡(%)	9 (56.25)
SF-36 评分	125.39±6.69
PSQI 评分	4.50±2.73
Ess 评分	6.94±3.21
*闪光的耐受性评分	1.75±0.58

注：数据以均值土标准差/数量（百分比）展示。

*闪光的耐受性评分，满分 5 分，值越低，耐受性越好。

缩写：BMI: body mass index, 体重指数； SF-36: the MOS-36 item short form health survey, 36 项健康调查简表； PSQI,Pittsburgh sleep quality index, 匹兹堡睡眠质量指数； Ess,Epworth Sleepiness Scale, 爱泼沃斯嗜睡量表。

表 2 安全性评价表 （血液与心电图化验检查）

	闪光前(n=16)	闪光后(n=16)	***p* 值**
心率(bpm),mean±SD	71.13±9.86	69.94±11.86	**0.534**
血压(mmHg),mean±SD			
收缩压	106.94±8.68	106.06±8.85	**0.614**
舒张压	67.81±6.56	67.25±6.99	**0.736**
高脂血症,n(%)	9(56.25)	9(56.25)	**1**
高尿酸血症,n(%)	4(25.00)	5(31.25%)	**1**
血糖异常,n(%)	0(0)	0(0)	**1**
肝功能不全,n(%)	0(0)	0(0)	**1**
肾功能不全,n(%)	0(0)	0(0)	**1**
贫血,n(%)	1(6.25)	1(6.25)	**1**
严重心率失常,n(%)	0(0)	0(0)	**1**
痫性发作,n(%)	0(0)	0(0)	**1**

备注： 数据以均值(mean)±标准差(SD)/频数（百分比）展示。根据数据类型使用配对 t 或者卡方检验统计。

表 3 不良反应事件总结表

事件	出现次数	严重程度	与闪光的相关程度
腹泻	1	轻度	不相关
眼部干涩	2	轻度	可能相关
头晕	2	轻度	可能相关
流泪	1	轻度	可能相关
窦性心动过缓	2	轻度	不相关
T 波改变	1	轻度	不相关
ST 段抬高（心室早期复极）	1	轻度	不相关

实施例 10. 40hz 闪光刺激改善患者慢性失眠患者包括睡眠潜伏期，总睡眠时间，入睡后的清醒时间等多项睡眠参数

研究目的：本研究拟招募慢性失眠的患者，评价 40Hz 闪光刺激对慢性失眠患者的治疗效果。

研究方案：本研究于 2022 年 2 月至 2022 年 12 月，从温州医科大学附属第二医院招募了符合睡眠障碍国际分类(ICSD3) 慢性失眠诊断标准的患者，采用多导睡眠监测（PSG）记录患者睡眠，本研究为自身对照设计，第一天晚上记录睡眠基线，第二天进行 40Hz 闪光刺激（3000lux；50%占空比）

干预 30 分钟后再次记录睡眠。主要终点为:睡眠潜伏期显著缩短，睡眠效率显著提高。次要终点观测：总睡眠时间显著延长，入睡后的清醒时间和次数显著减少。

研究结果：本研究一共纳入了 27 名患者，年龄 9.4±3.1 岁，BMI 15.40（14.50-17.90）kg/m^2，女性 14 名（51.85%）。

研究发现：40Hz 闪光刺激治疗相比于基线期显著减少了睡眠潜伏期（分）（18.5 (10-29.5) vs. 32.50 (15-49.5), p =0.0233）(图 13A)。同时 40Hz 显著延长了总睡眠时间（分）（528 (502-560) vs. 459 (411.5-497), p =0.0002）（图 13B），和入睡后清醒时间（分）(35.5 (28-51) vs. 57.5 (40-128.5), p =0.0012）（图 13C），并且显著提升了睡眠效率（%）（89.3 (84.8-82.5) vs. 79.6 (73.2-87.5), p =0.0003）（图 13D）。显著减少快动眼睡眠（REM）睡眠潜伏期（分）（139.5 (107-182.5) vs. 199 (156.5-239.5), p =0.0004）（图 13F），增加 REM 睡眠占比（%）（20.2 (17-21.3) vs. 17.4 (11-20.3), p =0.0038）（图 13I）。对于醒转次数，浅睡和深睡时期占睡眠总时间的占比，没有显著影响（均 p > 0.05）（图 13E,G,H）

研究结论：在此项慢性失眠患者自身对照的临床研究中，睡前 30 分钟的 40hz 闪光刺激显著缩短睡眠潜伏期，显著延长总睡眠时间，显著减少入睡后的清醒时间和次数。因此睡前 30 分钟的 40hz 闪光刺激可以显著改善慢性失眠患者的睡眠启动和睡眠维持问题。

实施例 11. 40Hz 闪光刺激诱发产生胞外腺苷的主要细胞来源研究

正常状态下，胞外腺苷的产生可能来源于星型胶质细胞或神经元。首先，利用病毒介导敲减星型胶质细胞质膜 Ca^{2+}泵 PMCA2 来明确星型胶质细胞是否是 40 Hz 闪光刺激促进腺苷释放的主要细胞来源。 hPMCA2w/b 是质膜 Ca^{2+}泵 PMCA 的亚型，功能是组成性挤出胞浆 Ca^{2+}，能够减少星形胶质细胞的 Ca^{2+}信号，降低其活性（如图 14A）。我们将 AAV2/9-GfaABC1D-mCherry-hPMCA2w/b 和 AAV2/9-ShortGFAP-Gcamp6 按 1:1 混合后注射至小鼠 V1 区，待病毒表达 2 周后。然后采用足底电击（shock）的实验方法（如图 14B），验证该病毒介导敲减星型胶质细胞质膜 Ca^{2+}泵 PMCA2 的可行性。实验结果发现，足底电击后，与对照侧（AAV2/9-GfaABC1D-mCherry）相比，星形胶质细胞反应性显著降低 40%，说明该病毒确实可以降低星形胶质细胞的活性（如图 14C）。

为了探究星形胶质细胞是否在 40 Hz 闪光中促进腺苷的释放，将注射了 AAV2/9-GfaABC1D-mCherry-hPMCA2w/b 病毒的小鼠同时在 V1 区注射 AAV2/9-GfaABC1D-mCherry-hPMCA2w/b 和 AAV2/9-hsyn-GRABAdo1.0（按 1:1 混合，图 15A），待病毒表达 2 周后，进行 40 Hz 闪光刺激并实时记录腺苷的浓度变化。实验结果发现 40 Hz 闪光刺激后，降低小鼠 V1 区星形胶质细胞的活性腺苷浓度的升高和变化特征在实验组（质膜 Ca^{2+}泵 PMCA2 敲减小鼠）和对照小鼠（质膜 Ca^{2+}泵 PMCA2 正常小鼠）几乎完全一致（图 15B-C），说明 40 Hz 闪光刺激增加的细胞外腺苷不是主要来源于星形胶质细胞。

为了阐明神经元是 40Hz 闪光刺激诱发胞外腺苷水平的主要细胞来源，我们通过 Caspase-3 特异

性损毁 V1 区神经元，测量在 40Hz 闪光刺激过程中腺苷浓度的变化。将 AAV2/9-hsyn-GRABAdo1.0 和 rAAV-hSyn-taCasp3-T2A-TEVp 按 1:1 混合后注射至小鼠 V1 区，待病毒表达 2 周后，通过荧光染色观察到 V1 区神经元数量显著减少。然后进行 40 Hz 闪光刺激并实时记录腺苷的浓度变化。实验结果发现，对照组小鼠（V1 区神经元正常）在 40Hz 闪光刺激中胞外腺苷显著增加，而 V1 区神经元缺失的小鼠在 40Hz 闪光刺激干预中胞外腺苷并未有任何增加（图 16A-B）。证明 V1 区神经元对 40Hz 闪光刺激提高胞外腺苷浓度增加起重要调节作用。

实施例 12. 调控腺苷释放眼镜

如图 17 所示，主要设备构件包括：微型 LED 显示屏、外壳、柔性电路板、内盖、左右鬓夹等。设备整体为眼镜形状，主要是实现两个功能：（A）不同波段的 LED 灯组固定夹持于眼镜外壳与内盖之间，同时采用柔性电路板沿镜框边沿分布于显示屏四周，可以自由调节不同波段、频率、光强及时间等多种闪光刺激组合。（B）微型 LED 显示屏配置覆盖于眼镜的镜片位置，用于显示基于视觉刺激-腺苷浓度-睡眠变化筛选的最佳视觉刺激图像。这两种模式将优于市场上固定闪光强度及频率的视觉刺激装置，极大的减小单纯闪光刺激所造成的不适影响，首次开创视觉刺激图像治疗睡眠障碍的新方向。

权 利 要 求 书

1. 一种调控生物腺苷释放的装置，其特征在于，包括用于产生 1-100 Hz 声音和/或用于产生 1-100 Hz 闪光和/或全屏视觉刺激的刺激发生器。

2. 根据权利要求 1 所述的装置，其中，所述刺激发生器包括视觉刺激发生器和/或声音刺激发生器；

可选地，所述视觉发生器发射 20-80 Hz 视觉刺激；可选地，所述视觉刺激频率包括 20 Hz、25 Hz、30 Hz、35 Hz、40 Hz、45 Hz、50 Hz、55 Hz、60 Hz、65 Hz、70 Hz、75 Hz 和 80 Hz 中的一种或两种以上；

可选地，所述视觉刺激的频率包括 30-60 Hz；可选地，所述视觉刺激频率包括 30 Hz、35 Hz、40 Hz、45 Hz、50 Hz、55 Hz 和 60 Hz 中的一种或两种以上；

可选地，所述视觉刺激频率包括 35-45 Hz；可选地，所述视觉刺激频率包括 35 Hz、40 Hz 和 45 Hz 中的一种或两种以上；

可选地，所述视觉刺激频率为 40 Hz；

可选地，所述视觉刺激的白光光照度 2000lux 以上；

可选地，所述视觉刺激的单色光波长为 480~530nm；

可选地，所述视觉刺激的占空比为 20%-80%，优选 30%-70%，或 40%-70%，或 45-55%；

可选地，所述视觉刺激的占空比选自 20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%和 80%中的一种或二种以上；

可选地，所述视觉刺激的占空比为 50%。

3. 根据权利要求 2 所述的装置，其中，所述视觉刺激发生器包括灯和/或显示屏；

可选地，所述灯包括 CCFL 灯、LED 灯和/或 OLED 灯；

可选地，所述显示屏包括 CCFL 显示屏、LED 显示屏和/或 OLED 显示屏。

4. 根据权利要求 3 所述的装置，其中，所述灯发射白光和/或单色光；

可选地，所述单色光包括紫外光、蓝光、绿光、红光和近红外线中的一种或两种以上，优选蓝光和/或绿光；

可选地，所述紫外光中心波长为 315-400 nm、320-395 nm、或 325-390 nm、或 330-385 nm； 优选 380 nm；

可选地，所述蓝光中心波长为 450~490nm、或 455~488nm、或 460~485nm；优选 480 nm；

可选地，所述绿光中心波长为 500nm~560nm、或 505nm~555nm、或 510nm~550nm、或 515nm~545nm、或 520nm~540nm、或 525nm~545nm、或 530nm~535nm；优选 530 nm；

可选地，所述红光中心波长为 600~680 nm、或 595~675 nm、或 590~670 nm、或 585~665 nm、

或 580~650 nm；优选地，650 nm；

可选地，所述近红外线中心波长为 780~1100 nm、或 790~1090 nm、或 800~1080 nm、或 810~1070 nm、或 820~1060 nm、或 830~1050 nm、或 840~1040 nm、或 850~1030 nm；优选 850 nm；

可选地，所述白光照度为 2-6000 Lux，所述单色光照度为 2-500 Lux；

可选地，所述灯发射的白光的光照度为 500-3000Lux，可选地，所述灯发射的白光的光照度包括 500 Lux，1000 Lux，2000 Lux 和 3000 Lux 中的一种或两种以上。

5. 根据权利要求 3 或 4 所述的装置，其中，所述显示屏显示光栅图像；可选地，所述光栅图像对比度为 10% -100%；

可选地，所述光栅图像包括运动光栅图像、闪烁光栅图像、闪烁栅格图像和翻转光栅图像中的一种或两种以上；

可选地，所述运动光栅对比度为 10%-100%；可选地，所述运动光栅朝向为 0-180 °；可选地，所述运动光栅图像空间频率为 0.05-30 cycle/deg；例如，0.05-10 cycle/deg；可选地，所述运动光栅图像运动速度为 1-10 Hz；

可选地，所述翻转光栅对比度为 10%-100%；可选地，所述翻转光栅的翻转频率为 20-60 Hz 或 30-50Hz，优选 40Hz；可选地，所述翻转光栅的空间频率为 0.1-30 cpd、或 0.1 cpd；可选地，所述翻转光栅的对比度为 10%-100%、70-90%，优选 80%；可选地，所述翻转光栅的平均亮度为 100~500 cd/m^2、或 140-180 cd/m^2、或 150-170 cd/m^2，或 160 cd/m^2；

可选地，所述闪烁栅格图像对比度为 10%-100%；可选地，所述闪烁栅格图像频率为 1-100 Hz；可选地，所述闪烁栅格图像栅格大小为 0.5-10 deg。

6. 根据权利要求 1-5 任一项所述的装置，其中，所述装置包括手机、平板、或便携穿戴设备。

7. 根据权利要求 6 所述的装置，其中，所述便携穿戴设备选自眼镜、眼罩、面罩、帽子、头带、头盔、手镯或手表；可选地，所述眼镜包括 VR 眼镜。

8. 根据权利要求 7 所述的装置，其中，所述便携穿戴设备包括镜框；可选地，所述便携穿戴设备还包括镜腿或头箍；

可选地，所述镜框包围的镜片边缘位置设有灯；可选地，所述灯包括 CCFL 灯、LED 灯和/或 OLED 灯；

可选地，所述镜框包围的镜片中心位置设有显示屏；可选地，所述显示屏包括 CCFL 显示屏、LED 显示屏和/或 OLED 显示屏。

9. 根据权利要求 8 所述的装置，其中，所述灯包括单色光灯和白光灯；

可选地，所述单色光灯照度为 2-500 lux；可选地，所述白光灯照度为 2-6000 lux；

可选地，所述灯包括蓝光灯、绿光灯、红光灯和白光灯。

10. 根据权利要求 8 或 9 所述的装置，其中，所述显示屏显示光栅图像，所述光栅图像包括垂直

运动光栅、水平运动光栅和/或闪烁栅格；

可选地，所述垂直运动光栅参数为朝向0°；可选地，所述垂直运动光栅空间频率0.2 cpd；可选地，所述垂直运动光栅时间频率1 Hz；可选地，所述垂直运动光栅对比度 50%；

可选地，所述水平运动光栅参数为朝向90°；可选地，所述水平运动光栅空间频率0.2 cpd；可选地，所述水平运动光栅时间频率1 Hz；可选地，所述水平运动光栅对比度 50%。

11. 权利要求1-10任一项所述的装置的用途，包括用于促进生物腺苷释放；

可选地，所述用途包括用于提高生物体内腺苷浓度；

可选地，所述用途用于提高神经元胞外腺苷浓度。

12. 根据权利要求11所述的用途，包括用于治疗神经类疾病、心血管疾病和/或眼科疾病；

可选地，所述神经类疾病包括帕金森病、抑郁、焦虑、痴呆、阿尔茨海默氏病、创伤后应激障碍、多动症、小孩孤独症和/或注意力不集中；

可选地，所述心血管疾病包括冠心病和/或心律失常；

可选地，所述眼科疾病包括近视、斜弱视、老年性视网膜病变。

13. 根据权利要求11所述的用途，包括用于改善睡眠障碍，可选地，通过20-80 Hz视觉刺激改善睡眠障碍，通过30-60 Hz视觉刺激改善睡眠障碍，可选地，通过35-45 Hz视觉刺激改善睡眠障碍，可选地，通过40 Hz视觉刺激改善睡眠障碍。

14. 一种调控生物腺苷释放方法，包括如下步骤：

利用权利要求1-10任一项所述的装置，向受试者递送1-100 Hz的刺激，所述递送为无创递送；可选地，所述刺激包括视觉刺激和/或声音刺激。

15. 根据权利要求14所述的方法，其中，所述视觉刺激频率为1-100Hz，可选地，所述视觉刺激频率为20-80 Hz；所述视觉刺激频率包括20 Hz、25 Hz、30 Hz、35 Hz、40 Hz、45 Hz、50 Hz、55 Hz、60 Hz、65 Hz、70 Hz、75 Hz和80 Hz中的一种或两种以上；

可选地，所述视觉刺激的频率包括30-60 Hz；可选地，所述视觉刺激频率包括30 Hz、35 Hz、40 Hz、45 Hz、50 Hz、55 Hz和60 Hz中的一种或两种以上；

可选地，所述视觉刺激频率包括35-45 Hz；可选地，所述视觉刺激频率包括35 Hz、40 Hz和45 Hz中的一种或两种以上；

可选地，所述视觉刺激频率为40 Hz；

可选地，所述视觉刺激的白光光照度2000lux以上；

可选地，所述视觉刺激的单色光波长为480~530nm；

可选地，所述视觉刺激的占空比为20%-80%，优选30%-70%，或40%-70%，或45-55%；

可选地，所述视觉刺激的占空比选自20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%和80%中的一种或二种以上；

可选地，所述视觉刺激的占空比为 50%。

16. 根据权利要求 15 所述的方法，其中，所述视觉刺激包括闪光刺激和/或图像刺激；

可选地，所述闪光包括白光和/或单色光；

可选地，所述图像包括光栅图像。

17. 根据权利要求 16 所述的方法，其中，所述单色光包括紫外光、蓝光、绿光、红光和近红外线中的一种或两种以上，优选蓝光和/或绿光；

可选地，所述紫外光中心波长为 315~400 nm；所述蓝光中心波长为 450~490nm；所述绿光中心波长为 500nm~560 nm；所述红光中心波长为 600~680 nm；所述近红外线中心波长为 780~1100 nm；

可选地，所述紫外光中心波长为 320-395 nm、或 325-390 nm、或 330-385 nm。

可选地，所述蓝光中心波长为 455~488nm、或 460~485nm。

可选地，所述绿光中心波长为 505nm~555nm、或 510nm~550nm、或 515nm~545nm、或 520nm~540nm、或 525nm~545nm、或 530nm~535nm。

可选地，所述红光中心波长为 595~675 nm、或 590~670 nm、或 585~665 nm、或 580~650 nm。

可选地，所述近红外线中心波长为 790~1090 nm、或 800~1080 nm、或 810~1070 nm、或 820~1060 nm、或 830~1050 nm、或 840~1040 nm、或 850~1030 nm。可选地，所述紫外光中心波长为 380 nm；所述蓝光中心波长为 480 nm；所述绿光中心波长为 530 nm；所述红光中心波长为 650 nm；所述近红外线中心波长为 850 nm；

可选地，所述白光照度为 2-6000 Lux，所述单色光照度为 2-500 Lux；

可选地，所述灯发射的光的白色光光照度为 500-3000Lux，可选地，所述灯发射的白光的光照度包括 500 Lux，1000 Lux，2000 Lux 和 3000 Lux 中的一种或两种以上。

18. 根据权利要求 16 或 17 所述的方法，其中，所述光栅图像对比度为 10% -100%；

可选地，所述光栅图像包括运动光栅图像、闪烁光栅图像、闪烁栅格图像、翻转光栅图像中的一种或两种以上；

可选地，所述运动光栅对比度为 10%-100%；可选地，所述运动光栅朝向为 0-180 °；可选地，所述运动光栅图像空间频率为 0.05-30 cycle/degree；可选地，所述运动光栅图像运动速度为 1-10 Hz；

可选地，所述翻转光栅对比度为 10%-100%；可选地，所述翻转光栅的翻转频率为 20-60 Hz 或 30-50Hz，优选 40Hz；可选地，所述翻转光栅的空间频率为 0.1-30 cpd、或 0.1 cpd；可选地，所述翻转光栅的对比度为 10%-100%、70-90%，优选 80%；可选地，所述翻转光栅的平均亮度为 100~500 cd/m^2、或 140-180 cd/m^2、或 150-170 cd/m^2，或 160 cd/m^2；

可选地，所述闪烁栅格图像对比度为 10%-100%；可选地，所述闪烁栅格图像频率为 1-100 Hz；可选地，所述闪烁栅格图像栅格大小为 0.5-10 degree。

19. 一种药物或医疗器械治疗效果评估方法，包括分析生物体内腺苷浓度变化。

20. 根据权利要求 19 所述的评估方法，所述药物或医疗器械用于治疗神经类疾病、治疗心血管疾病和/或改善睡眠障碍，

可选地，所述神经类疾病包括帕金森病、抑郁、焦虑、痴呆、阿尔茨海默氏病、创伤后应激障碍、多动症、小孩孤独症和/或注意力不集中；

可选地，所述心血管疾病包括冠心病和/或心律失常。