仿生嗅觉感知技术及其在嗅觉障碍疾病筛查中的研究进展

庄柳静^{1,2†}, 刘梦雪^{1†}, 姜楠¹, 魏鑫伟¹, 潘宇祥^{1,3}, 余逸群⁴, 王平^{1,2*}

1. 浙江大学生物医学工程与仪器科学学院, 生物传感器国家专业实验室, 生物医学工程教育部重点实验室, 杭州 310027;

2. 中国科学院传感技术联合国家重点实验室, 上海 200050;

3. 之江实验室, 杭州 311121;

4. 复旦大学附属眼耳鼻喉科医院, 耳鼻喉科研究院, 上海 200050

† 同等贡献

* 联系人, E-mail: cnpwang@zju.edu.cn

2020-05-22 收稿, 2020-07-30 修回, 2020-07-31 接受, 2020-08-03 网络版发表

国家自然科学基金(31627801)、国家自然科学基金国际合作与交流项目(31661143030)、国家自然科学基金青年科学基金(31800826)和中国博士后科学基金(2020M671728)资助

摘要 嗅觉障碍是多种疾病的早期症状, 如新型冠状病毒感染的症状之一是嗅觉丧失, 阿尔茨海默病和帕金森病患者通常伴有嗅觉降低或丧失。研究基于嗅觉功能检测的早期疾病筛查和诊断技术对控制患者病情、改善人类健康具有重要意义。目前嗅觉功能障碍的检测与评价方法尚不能有效地筛查和诊断各类嗅觉障碍相关疾病, 而仿生嗅觉感知技术在模拟人类嗅觉感知系统方面具备一定的灵敏度、选择性和准确度, 因此在嗅觉障碍相关疾病筛查中具有广阔的应用前景。本文介绍了目前国内外嗅觉功能障碍相关疾病的研究现状, 分析了仿生嗅觉感知技术的原理及其在嗅觉障碍与疾病相关性检测与诊断中的研究进展。随着生物医学工程领域多学科交叉融合的发展, 细胞网络芯片、类器官仿生芯片以及脑机交互技术的转化应用将促进仿生嗅觉感知技术在嗅觉障碍相关疾病研究中的发展以及临床疾病诊断技术的革新。

关键词 仿生嗅觉感知技术, 嗅觉障碍性疾病, 嗅觉功能检测, 细胞与类器官芯片, 脑机交互技术

哺乳动物的嗅觉系统能够感知并辨别大量气味。从进化角度来看, 嗅觉是最古老的感觉, 动物通过嗅觉寻找食物、躲避天敌、沟通、繁衍等, 而人类甚至可以通过分辨气味质量来避免潜在的危害^[1]。嗅觉功能障碍或嗅觉紊乱是一种常见的疾病, 影响着全球约1/5的人口(2014年报道)^[2]。普通人很难想象没有嗅觉的生活方式, 医生面对嗅觉功能障碍的患者也很难给出合理的建议。嗅觉功能的丧失会在多个方面影响患者的生活质量, 如无法享受美味带来的快乐, 难以感知到变质的食物, 无法感知到瓦斯、有毒气体等, 甚至还会在

一定程度上影响患者的社交活动和日常工作^[3]。

1837年, 第一例创伤性嗅觉缺失病例被报道, 随后的研究认为这种结果由头部创伤导致^[4]。之后, 其他嗅觉障碍和嗅觉丧失的相关病例在临床中被发现, 但由于对嗅觉系统的认识不充分, 导致对嗅觉障碍病理机制的研究缺失。自1991年Buck和Axel^[5]发现嗅觉受体基因超家族以来, 关于嗅觉系统的相关研究取得了重大进展, 人们对嗅觉传导和感知机制有了深入理解, 嗅觉功能障碍的生理机制也被进一步明确。众多研究表明, 嗅觉障碍除了对个人的生活质量产生重大影响外,

引用格式: 庄柳静, 刘梦雪, 姜楠, 等. 仿生嗅觉感知技术及其在嗅觉障碍疾病筛查中的研究进展. 科学通报, 2021, 66: 1886–1899

Zhuang L J, Liu M X, Jiang N, et al. Advances in the bioinspired olfactory sensing technology for screening of olfactory dysfunction (in Chinese). Chin Sci Bull, 2021, 66: 1886–1899, doi: [10.1360/TB-2020-0622](https://doi.org/10.1360/TB-2020-0622)

还可能预示着神经退行性疾病、精神类疾病等众多潜在疾病^[6-9]。相比于视觉和听觉,临床上用于检测嗅觉功能的技术仍无法满足准确评估。因此,进一步发展嗅觉功能障碍的早期筛查及诊断技术,不仅可以辅助筛查嗅觉障碍相关疾病,有效控制和延缓患者的病情,还可以降低治疗成本。本文基于嗅觉功能障碍发生的生理机制,重点介绍了仿生嗅觉感知技术应用于嗅觉功能检测的原理和技术方案,并结合在神经网络生物芯片、类器官芯片和脑机交互式生物电子鼻方面的研究工作,对其在临床上实现快速、可靠的早期嗅觉障碍相关疾病筛查和诊断的应用前景进行了展望。

1 嗅觉障碍及其相关疾病

哺乳动物的嗅觉系统由嗅上皮、嗅球、皮层三部分组成。嗅上皮含有大量嗅感觉神经元,每个嗅感觉神经元表达一种气味受体^[10],气味分子与受体结合后,气味信息以动作电位的方式传递到嗅球。嗅球是气味信息传递和整合的一级中转站^[11],气味信号在嗅球中修饰处理后,由僧帽/丛状细胞传出纤维传递到嗅皮层,在嗅皮层解码后形成不同的气味感知^[12]。嗅皮层包括梨状皮层(前/后梨状皮层)、嗅叶(前嗅核、盖带、背侧脚皮质)、嗅节结、皮质杏仁核(外侧嗅束核、前/后外侧皮质杏仁核)以及外侧内嗅皮层^[13,14](图1)。嗅皮层将嗅觉信息传输到更高级的关联区域,如外侧内嗅皮层的轴突投射到海马,将嗅觉信息传入海马;梨状皮层和皮质杏仁核与杏仁核互相连接,将嗅觉信息传入杏仁核;梨状皮层与其他嗅皮层区域的神经元也投射到外侧下丘脑,将嗅觉信息传入下丘脑。从生物学角度看,

嗅觉信息不仅反映了环境化学成分状态,与动物觅食、逃生、求偶等行为相关,还能产生基于嗅觉感知的学习、记忆、情绪等相关行为。

嗅觉障碍相关疾病是病程中出现部分或全部嗅觉功能下降、丧失或异常的疾病总称。嗅觉功能障碍根据病理学特征可分为两类^[16]:一类是传导性嗅觉障碍(conductive olfactory disorders),主要是由于阻塞性因素,气味分子难以到达嗅上皮区域,如鼻腔狭窄、鼻息肉、过敏性鼻炎、鼻部肿瘤等;另一类是感觉神经性嗅觉障碍(sensory-neural olfactory disorders),通常是由于嗅黏膜或嗅觉传感通路发生病变或损伤所引起的,如颅脑外伤、神经退行性疾病等。在这两大类中,对造成嗅觉障碍疾病的原因进一步细分,可分为:(1)上呼吸道感染^[17],多由病毒感染造成,其发病机理在于上呼吸道感染时鼻腔黏膜充血肿胀以致到达嗅区的气流量相应减少,引起嗅觉减退;(2)鼻或鼻窦疾患,其主要包括鼻息肉、过敏性鼻炎^[18]、慢性鼻炎^[19]、鼻窦炎^[20]、鼻腔的良/恶性肿瘤;(3)创伤性脑损伤^[21];(4)先天畸形;(5)全身性疾病,如糖尿病、神经退行性疾病、甲亢、精神分裂症等。

嗅觉障碍是许多潜在性疾病的早期症状。研究发现,嗅觉障碍极大可能是阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)^[22]、帕金森病(Parkinson's disease, PD)^[23]、亨廷顿病(Huntington's disease, HD)^[24]、肌萎缩性脊髓侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)^[25]和特发性快速眼动睡眠行为障碍^[26]等神经系统疾病的临床或临床前征兆。在AD中,很可能是神经元缺失、淀粉样蛋白沉积以及神经纤维缠结^[27]等因素

图1 (网络版彩色)哺乳动物嗅觉系统结构^[15]。(a)人的嗅觉系统;(b)小鼠的嗅觉系统

Figure 1 (Color online) Structure of olfactory system in mammals^[15]。(a) Human olfactory system; (b) mouse olfactory system

影响了与嗅觉传导、处理相关的大脑区域,从而导致嗅觉功能损伤.在PD中,目前主要认为,由于 α -突触核蛋白的扩散,如路易体(Lewy bodies)和路易神经突(Lewy neurites)病理机制^[28]影响了嗅球区域和杏仁核的正常功能,最终致使嗅觉功能障碍.此外,研究表明,精神分裂症(schizophrenia, SZ)^[8]、自闭症(autism)^[9]等精神类疾病也与嗅觉障碍存在相关性.受到精神类疾病困扰的受试者在暴露于不同味道时,其嗅觉感知能力如气味敏感性、识别和辨别力会有所衰退^[29,30].

新型冠状病毒肺炎(COVID-19)患者诊疗过程中,嗅觉异常作为早期症状表现之一也引起了极大的关注和重视.来自中国^[31]、德国^[32]、英国^[33]、伊朗^[34]、意大利^[35]和美国^[36]的当地COVID-19疾病报告调查显示,具有嗅觉丧失症状的患者占COVID-19阳性患者的34%~68%.依据耳鼻喉科的临床患者统计数据表明,嗅觉丧失或许是COVID-19感染的有力预测指标之一,Moein等人^[37]对60例确诊的COVID-19住院患者进行气味识别测试以定量检测其嗅觉能力,发现98%的COVID-19患者表现出嗅觉功能障碍,其中58%表现为嗅觉丧失或严重嗅觉减退.该定量气味识别测试表明,嗅觉障碍是SARS-CoV-2感染后患有COVID-19的主要标志之一,该测试将有助于识别和预测需要早期治疗的COVID-19患者.尽管已经充分确定病毒和其他异源生物会破坏嗅上皮神经的正常功能,但目前SARS-CoV-2引起嗅觉丧失的依据和原因尚不清楚.

尽管嗅觉功能障碍有多种发生机制且对应不同的疾病,但由于其一般发生在病理过程早期,因此,早期的嗅觉障碍筛查将有助于诊断相关疾病,对人类健康和疾病的预防和治疗具有十分重要的意义.

2 常规嗅觉功能检测手段

目前,嗅觉功能检测技术有主观检测方法和客观检测方法.主观检测方法主要是嗅觉神经心理学测试,客观检测方法主要包括电生理检测、嗅觉结构或功能成像等.

2.1 嗅觉神经心理学测试

针对嗅觉功能障碍的临床表现,嗅觉功能的主观检测方法主要包括气味阈值测试、气味识别测试、气味区分测试和气味记忆测试,主要通过受试者对气味刺激的感知来判定其嗅觉功能^[38].20世纪70年代,日本第一个标准化的以气味的稀释梯度(10^{-n})作为定量分析

依据的嗅觉检测方法诞生,并以设计与完善该方法的两位学者Toyota和Takagi的姓氏缩写命名为T&T嗅觉量度测试(T&T olfactometer test)^[39].80年代初,Doty等人^[40]开发了宾夕法尼亚大学嗅觉识别测试(University of Pennsylvania Smell Identification Test, UPSIT)——一种包含40种气味的刮擦闻测试方法,通过该测试可以将个体的嗅觉功能分为嗅觉正常、嗅觉轻度下降、嗅觉中度下降、嗅觉重度下降、嗅觉丧失或伪失嗅6类.此外,康涅狄格化学感觉临床研究中心(Connecticut Chemosensory Clinical Research Center, CCCRC)嗅觉测试利用嗅觉刺激物和三叉神经刺激物,分别测试嗅觉察觉阈和识别阈,通过计算两者的平均值实现嗅觉障碍程度的判定^[41].90年代末,Hummel等人^[42]提出了嗅探棒嗅觉测试(sniffin' sticks test),用于评估嗅觉阈值、气味识别和区分.这种嗅探棒类似于毡尖笔,内部含有特定浓度的不同气味剂.尽管嗅觉功能主观检测方法已在嗅觉功能障碍研究中发挥重要作用,但是由于受到不同个体背景差异,或者同一个体在不同时间、环境间差异的多种主观因素影响,限制了该测试方法的稳定性和可比性.

2.2 电生理检测技术

电生理检测是指受试者受到气味刺激后记录到的相关电生理变化,主要有嗅电图(electroolfactogram, EOG)、脑电图(electroencephalogram, EEG)和嗅觉事件相关电位(olfactory event-related potential, OERP).EOG反映了气味诱发的嗅上皮中嗅觉感觉神经元群电位变化总和,其响应强度一定程度上与刺激强度成正比^[43].但是受个体差异影响,不同测试者对同种或不同气味诱发的电位响应模式不统一,这种记录方法的可靠性和稳定性较低. EEG反映的是嗅觉刺激的间接影响,在嗅觉功能检查的临床实践和研究环境中并不常用. OERP通过在头皮特定部位Fz、Cz、Pz、C3、C4^[44]记录诱发电位,应用计算机叠加技术获得特定性的气味响应电位信号,反映了嗅觉信号产生、传导及整合的电生理过程,其主要分析指标为N1~N2、P1~P3波以及迟发正电位复合波^[45].研究认为, N1~N2、P1~P2波的潜伏期和振幅反映气味信息的初级处理过程, P3及复合波反映对气味的认知过程. AD患者P2和P3波潜伏期比正常对照组长,其异常程度与痴呆评价量表评分相关^[46].实际上,由于电生理检测技术是基于生物反应得到的相关电生理变化,相对于嗅觉功能的

主观检测方法,其检测结果更加客观可靠。但是在临床领域,由于检测时间长、操作性低且花费高,电生理检测尚未得到普遍应用。

2.3 脑影像技术

嗅觉影像学检测主要包括结构影像和功能影像。结构影像如结构性磁共振成像(structural magnetic resonance imaging, sMRI)、计算机断层(computerised tomography, CT)扫描通过观察嗅觉系统或大脑中枢结构的体积和形态变化评估嗅觉功能。结构影像常见的检测结果为许多脑区具有局部灰质损失,如杏仁核、海马、海马旁回体积减小、内侧额颞叶厚度变薄等^[47],但脑结构或脑体积的评价仍不能满足临床需求。功能影像技术如功能性磁共振成像(functional magnetic resonance imaging, fMRI)被认为具有更好的应用前景。fMRI利用血流进入脑细胞的磁场变化,检测脑功能区血流量的改变。研究表明,轻度AD患者额叶与内侧额叶皮质区的激活强度小于正常对照组,且在海马等脑区的激活区域显著缩小^[48,49]。此外,Poulin等人^[50]发现,杏仁核的萎缩在AD早期很明显,并且与AD症状的严重程度有关。嗅觉fMRI通过检测神经退行性疾病患者嗅觉相关脑区的神经细胞活动水平^[51,52],有助于AD、PD或其他神经退行性疾病得到早期诊断。

嗅觉功能障碍的预后取决于病因,与感觉神经性嗅觉障碍相比,传导性嗅觉障碍在干预后显示出更好的治疗效果。然而,目前的嗅觉测试方法不能区分传导性和感觉神经性嗅觉障碍。为此,需要结合多学科的理论 and 方式,对嗅觉障碍疾病的筛查与诊断进行进一步的突破。

3 仿生嗅觉感知技术的原理和应用

在哺乳动物嗅觉系统中,气味分子进入鼻腔,首先与嗅上皮中嗅觉感觉神经元上的嗅觉受体结合,并由嗅觉感觉神经元的轴突将嗅觉信息传递到上级皮层。哺乳动物的气味受体是一种G蛋白偶联受体(G protein-coupled receptor, GPCR),由7个跨膜螺旋结构和多肽链组成,表达GPCR的基因多达1000种。当气味与受体特异性结合后,G蛋白被激活,进而激活核苷酸环化酶,使细胞内大量ATP水解成环状AMP(cAMP)。cAMP浓度升高后,嗅觉感觉神经纤维膜上的环核苷酸门控阳离子通道便被打开,使得 Na^+ 、 Ca^{2+} 内流。胞内 Ca^{2+} 浓度升高后,再打开 Ca^{2+} 门控的 Cl^- 通道,引起 Cl^- 外流。正常的嗅觉感觉神经元细胞膜静息电位为 -65 mV ,而 Na^+ 、

Ca^{2+} 内流导致细胞内膜电压增加,膜内外电压差减少。当离子通道持续打开,正离子持续内流,膜电位去极化达到阈值 -45 mV 后,引发神经元动作电位,动作电位沿着轴突传递到嗅球^[11]。在这一过程中,气味化学信号被转换成神经活动信号。

嗅觉受体与气味分子之间的结合通常不存在一一对应的关系,而是以一种“交叉响应”的方式识别气味分子,即通常一种嗅觉受体能与多种气味分子结合,而一种气味分子也能与多种嗅觉受体结合^[53]。正是依赖于这种机制,动物的嗅觉系统能利用1000多种受体识别远多于受体种类数量的气味分子。研究认为,人类的嗅觉系统能检测到超过40万种气味分子^[54],甚至有研究预测人类理论上能区分超过1万亿种气味^[55]。30年前,受到生物嗅觉的启发,Persaud和Dodd^[56]提出了“仿生电子鼻”的概念。他们通过分析3种不同的金属氧化物气体传感器输出的稳态信号,实现了不同气体的区分。这项工作的最初目的是希望能通过仪器实现气味的感官评价,如果香味、青草味、泥土味、麦芽味等。但是,电子鼻在综合性能上相较于生物鼻尚有差距,因此,Göpel等人^[57]提出了生物电子鼻(bioelectronic nose)的概念,即在生物传感器表面修饰特殊的生物分子作为敏感材料,以提高传感器的灵敏性和选择性。生物电子鼻传感器一般包含两部分:生物敏感材料和非生物换能器。生物敏感材料针对检测目标,可以选择多肽或蛋白分子(主要是嗅觉受体或嗅觉结合蛋白)、表达嗅觉受体蛋白的细胞(如嗅觉感觉神经元)、纳米囊泡,甚至组织(如嗅黏膜)。换能器根据生物敏感材料产生的信号可以选择微电极阵列(microelectrode array, MEA)、电化学阻抗谱(electrochemical impedance spectroscopy, ECIS)、石英晶振微天平(quartz-crystal microbalance, QCM)、场效应管(field-effect transistor, FET)、表面等离子共振(surface plasmon resonance, SPR)传感器等。

3.1 离体仿生嗅觉感知系统的研究

(1) 基于细胞的体外仿生嗅觉感知系统。表达嗅觉受体的细胞在受到气味刺激时,会产生一系列的电信号,这些信号可以通过传感器(二级换能器)检测到,也可以通过荧光探针使用光学手段检测^[58]。1988年,Hafeman等人^[59]将表面光伏测量技术引入电解液/绝缘层/半导体结构,提出了光寻址电位传感器(light addressable potentiometric sensor, LAPS)芯片传感器。它最早作为微生理计,对细胞代谢引起的胞外微环境pH进行检测

测,被用于检测细胞的代谢率^[60].这种芯片的结构特点是采用一束很细的被调制的激光束,对LAPS芯片表面任何所需测试点都可以用扫描寻址的方式检测.由于激光束可聚焦为直径为10 μm 的圆点,约为一个细胞的尺寸大小,因此可以对单个细胞的胞外电位进行检测^[61].本课题组Wu等人^[62]基于LAPS开发出一种新型单细胞仿生嗅觉传感器,将大鼠幼崽的嗅感觉神经元培养在LAPS芯片表面检测神经元动作电位(图2(a), (b)),对25 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的丁二酮、乙酸做出响应,并且成功记录到抑制剂对信号的抑制效应和增强剂对信号的增强效应,适合用于嗅觉信号传导机理的研究.实际上,嗅感觉神经元的分离和体外培养十分困难,因此使用嗅感觉神经元的生物电子鼻很少.利用基因工程使嗅觉受体表达在其他细胞上,并将其培养在芯片表面,可以得到类似于嗅感觉神经元的功能,其产生的电信号与嗅感觉神经元几乎一致,这些细胞有稳定的细胞株,易于在体外培养,是嗅感觉神经元的可靠替代品.

(2) 基于组织的体外仿生嗅觉感知系统.哺乳动物鼻腔中的嗅黏膜含有大量嗅感觉神经元,气味刺激可激活多个神经元,因此,它也可以作为感知气味的敏感材料.本课题组将动物嗅黏膜固定于64通道MEA表面,由于嗅黏膜上有大量的嗅感觉神经元,当受到气味刺激时,多个神经元甚至神经元群被激活,这些电生理信号可被MEA实时记录(图2(c)).利用这种传感器检测香水存在时臭味气体分子(如二甲基二硫,口臭主要成分)对嗅觉的影响,进而分析香水对臭味的掩蔽效果.结果显示,在臭味存在时,嗅黏膜可被大范围激活,而加入香水成分(如香茅醇)时,其发放强度减弱,且被激活的区域数量减少(图2(d)),说明香味可以抑制嗅上皮对臭味的响应.基于组织的生物电子鼻不仅充分利用现有的动物嗅觉组成从而省去了复杂的细胞制备过程,而且实现了多检测对象的功能.相比于传统的仿生电子鼻,新型的生物电子鼻集成多种广谱响应的嗅感觉神经元来检测多种气味,在灵敏度、特异性和响应时间上有明显优势.

3.2 基于脑机交互的在体仿生嗅觉感知系统的研究

利用细胞培养和器件微加工技术将嗅觉神经元或组织培养于神经芯片表面,构建仿生嗅觉传感器,可以实现对气味的快速、灵敏、特异检测.然而,体外培养不能保证细胞组织长时存活,因此会影响传感器的使用寿命,不能实现长时、重复检测.此外,体外培养也破坏了嗅觉系统的完整性,改变了神经元正常的气味

图2 (网络版彩色) 离体仿生嗅觉感知技术. (a) LAPS芯片实物图; (b) 嗅感觉神经元培养于LAPS芯片表面; (c) 基于哺乳动物嗅黏膜的生物电子鼻系统; (d) 生物电子鼻气味响应信号

Figure 2 (Color online) Bio-inspired olfactory sensing technology *in vitro*. (a) Physical product of LAPS chip; (b) olfactory sensory neurons cultured on LAPS chip; (c) bio-electronic nose system based on mammalian olfactory epithelium; (d) odor response signal of bio-electronic nose

响应模式.脑机接口技术出现于20世纪70年代,通过解码脑电信号实现脑与计算机或其他电子设备通讯和控制,用于修复甚至扩展人体的生理功能^[63],并被广泛应用于脑科学研究.脑机接口按是否侵入大脑可分为植入式脑机接口和非植入式脑机接口.非植入式脑机接口,典型的如脑电图等,其对生物体的损伤小,对设备的生物相容性要求低,但是信号质量低,空间和时间分辨率也较低.与此相反,植入式脑机接口需要将电极植入到脑表面或内部,虽然电极植入需进行外科手术,具有一定的风险,但所采集的神经信号质量好,时空分辨率高,具有更高的信号解码准确度^[64].随着植入式神经信号记录技术的发展,在体长时记录感觉或运动系统的电生理活动已不难实现^[65,66].

生物嗅觉系统的独特之处在于鼻腔中的单个嗅感觉神经元虽然只表达一种特定的气味受体,但它能对带有同种配体的不同种气味做出响应.不同的嗅感觉神经元种类对不同的气体分子响应是特定的,因此,对一种被测气味,嗅上皮的嗅感觉神经元总体响应是特定的.嗅上皮的嗅觉信息以电化学形式传递给嗅球,并

经嗅球编码后传递到大脑皮层形成嗅觉感知。期间,嗅球及嗅皮层中的神经元产生特定的电生理活动,其信号携带了大量用于区分气味的信息。基于此,本课题组Zhuang等人^[67,68]在国际上率先提出了基于生物完整嗅觉系统和脑机接口的在体生物电子鼻(*in vivo bioelectronic nose*)概念(图3),将哺乳动物的嗅上皮作为初级气味感受器产生响应信号,信号在嗅球和嗅皮层中进行修饰处理,将植入式微电极阵列包埋于嗅觉通路中,同步记录多个神经元嗅觉电生理信号,通过模式识别算法,对信号进行解码,从而提取出气味相关信息,实现气味检测。该方法稳定高效,具有较高的灵敏性、特异性和可重复性,且利用了整个嗅觉系统,因此具有极广泛的检测范围。

4 基于仿生嗅觉感知技术的嗅觉功能检测研究

4.1 基于嗅觉神经网络的仿生嗅觉感知芯片

嗅觉信息通过以嗅球为中枢的神经通路进行传递,信号被转换为嗅球的信息输出到相应区域,该过程由局部神经元传导通路精确调节,然后传递到相关的嗅觉皮层和皮层下区域,其神经元的电活动可直接反映嗅觉通路中信息处理的能力。根据信号特征,神经元电活动信号分为锋电位(spike, 500~7500 Hz)和局部场电位(local field potential, LFP, 0.1~200 Hz)。锋电位信号代表单个神经元兴奋引起的细胞外膜电位变化;LFP由局部神经元群细胞外膜电位叠加产生,根据频率范围可分为 θ 振荡(4~12 Hz), β 振荡(15~30 Hz)和 γ 振荡

(40~120 Hz),在嗅觉系统中,还存在与呼吸周期同步的低频振荡,被称为呼吸节律(1~12 Hz)^[69]。

嗅觉障碍的发生,尤其是感觉神经性嗅觉障碍会影响嗅觉通路中发生变化,如病理性蛋白在嗅觉相关区域中的堆积^[70], Ca^{2+} 、 K^{+} 等离子在细胞内外的移动,造成神经元数量以及电生理活动的异常、神经元之间突触连接的缺失,甚至造成神经元本身的凋亡。在AD、PD和额颞叶性痴呆(frontotemporal dementia, FTD)研究中均发现^[71],在发生嗅觉障碍后,嗅球中多巴胺能的球周神经元数量增加,这预示着嗅觉功能障碍的发病机制可能是兴奋性-抑制性神经网络失衡。在AD啮齿动物模型^[72]以及AD患者^[73]的研究中,均观察到异常的兴奋性神经元活动,这些神经元的异常活动可能会影响突触可塑性,进而导致AD相关的神经网络功能障碍。此外,在发生创伤性脑损伤后,发生嗅觉障碍的原因常在于嗅上皮神经的再生失败,这直接影响到嗅球的信号传输。特别是,嗅感觉神经元的轴突再生会受到创伤程度的严重影响^[74],因为这会严重损害嗅球中嗅神经层的长度^[75]。另一项研究报道,精神分裂症患者的特征是鼻上皮神经元分化异常^[76],这表明神经发育障碍可能是嗅觉功能障碍的原因。这些神经元电生理活动的异常可以通过仿生嗅觉传感技术的一些手段来进行及时的检测和探究。因此,近年来利用仿生感知技术研究早期嗅觉障碍的机理和相关检测越来越受到重视。通过电生理活动的变化,能够更直接、实时地得到其嗅觉信息处理能力的变化。

虽然在神经退行性疾病以及精神类疾病的早期嗅觉障碍中,相关的嗅觉系统神经通路改变的机制仍不

图3 (网络版彩色)基于脑机交互的在体仿生嗅觉感知系统^[68](a)及其气味识别结果(b)

Figure 3 (Color online) Bionic olfactory sensing system based on brain-computer interaction^[68] (a) and its odor recognition results (b)

明确,但研究发现嗅觉神经元活动在这些潜在疾病的早期已发生变化.利用Tg2576的AD小鼠模型,Wesson等人^[77]发现,3~4月龄动物的嗅球和梨状皮层自发局部场电位(local field potentials, LFP)活动异常,其中 β 和 γ 频段的能量高于阴性对照组,且海马自发LFP各频段的能量与对照组没有显著性差异.Li等人^[78]将不同年龄段的APP/PS1转基因小鼠嗅球切片贴附到微电极阵列MEA芯片上,观察到3~4月龄的转基因小鼠作为早期嗅觉障碍模型已经出现 γ 振荡的增强.Alvarado等人^[79]通过对小鼠的嗅球切片进行实时的 β 淀粉样蛋白(amyloid beta, A β)诱导前后的细胞外信号记录,发现A β 能够可逆地改变嗅球切片的活性,且嗅球网络活动受到A β 诱导后的抑制情况是时间和浓度依赖性的.此外,Hu等人^[80]对大鼠嗅球切片进行膜片钳电生理记录,探究 β 淀粉样蛋白寡聚体(amyloid beta oligomers, A β Os)对MC兴奋性输出的抑制作用以及对MC局部中间神经元的抑制调节,其研究表明,A β Os会破坏MC的自发活动,并参与MC兴奋性输出的干扰,此发现预示着抑制性神经传递的上调可能会改善嗅觉功能障碍,为AD的早期

发展提供潜在的治疗策略.

本课题组基于多年的仿生嗅觉传感器和神经退行性疾病研究经验,开发了嗅觉神经网络芯片(图4).通过在微电极阵列芯片上培养嗅球神经网络并进行A β Os诱导,构建出AD早期嗅觉障碍体外模型;同时进行胞外电信号的实时长期检测,在电生理方面模拟嗅球神经网络在A β Os诱导后受到的影响.实验发现,嗅球神经网络在经过诱导后,其spike的发放模式随着诱导时间的延长发生变化,呈现出发放频率先逐渐增加后明显下降,直至最终spike发放完全消失的一致规律.此规律与现有已知的AD疾病的生理机理和神经病理机制^[81]相符合,由此也证实了该AD嗅觉障碍模型的合理性和适用性.该模型将有助于了解发生AD早期嗅觉功能障碍的细胞和突触机制,并有利于AD病程的阶段判定,为AD的早期诊断、相关药物筛选以及有效治疗方法提供潜在的可能性.

4.2 基于类器官的仿生嗅觉感知芯片

类器官是微型的体外培养组织模型,它依赖于三

图4 (网络版彩色)嗅觉神经网络芯片示意图及AD早期嗅觉障碍体外模型的建立和分析。(a)嗅球神经网络的培养流程图;(b)嗅球神经网络在经过A β Os诱导后,spike信号发放的变化规律

Figure 4 (Color online) Schematic diagram of the olfactory neuronal network chip and the establishment and analysis of olfactory dysfunction model in the early stage of AD *in vitro*. (a) Flow chart of olfactory bulb neural network cultivation; (b) changes in spike firing of olfactory bulb neural network after induced by A β Os

维培养环境,是由干细胞或者祖细胞单独扩增并且分化的具有器官特异性的上皮结构^[82]。不同来源的干细胞可以增殖分化并自组装成特定的类器官,相比于传统的2D细胞培养和动物模型,类器官具有更接近在体器官的结构和功能,可以更好地反映生物系统的生理特性,是新型的疾病建模、药物筛选、药效评价等方面良好模型^[83]。嗅觉感觉神经元(olfactory sensory neurons, OSNs)死亡是引起嗅觉障碍的一种可能机制,而它是可以再生的,当嗅上皮或嗅觉感觉神经元受到损伤时,神经干细胞会被激活并分化形成神经元,重新填充嗅上皮并重建与嗅球的连接,恢复嗅觉功能^[84]。因此,可以通过基因调控或药物刺激诱导嗅上皮干细胞分化形成新的感觉神经元甚至构建嗅觉类器官,为嗅觉障碍研究提供疾病模型和药物筛选平台,有利于探究其机制和有效的治疗手段。Dai等人^[85]利用小鼠嗅上皮干细胞成功培养了嗅觉类器官,并通过免疫荧光证实其表达了嗅觉标记蛋白,即成熟的嗅觉感觉神经元。Kurténbach等人^[86]诱导构建了一种遗传性嗅觉减退的小鼠模型,在其嗅上皮上植入球状基底细胞(globose basal

cells, GBCs)以产生OSNs,从而恢复一定程度的嗅觉功能,对某些气味刺激做出响应。

利用三维培养技术,结合类器官与微流控芯片构建的类器官芯片,可以对培养环境中的生化分子浓度、营养供应和生物物理环境进行精确的控制。进一步,将类器官芯片与生物传感器结合构建类器官传感芯片,在精确控制环境的同时,可实现对类器官的生长状态、电生理活动、代谢活动等参数进行动态检测^[87,88]。本课题组前期通过提取正常小鼠和AD小鼠(APP-PS1)嗅上皮中的干细胞,成功培养出正常嗅觉类器官和AD嗅觉类器官(图5(a))。进一步,基于类器官培养技术和微纳加工技术,提出了一种用于类器官动态监测的三维多参数集成传感芯片。该集成芯片包括MEA和ECIS两部分。MEA可用于监测和评价嗅觉类器官的电生理活动,记录与离子跨膜电流有关的细胞外电位(图5(b)),通过分析神经信号对刺激物的响应模式,提取响应幅值、时程、耦合强度等特征值;同时也可以作为电化学传感器,用于特定分子或蛋白物质的检测,如检测AD标志物A β 。ECIS可用于检测贴壁细胞

图5 (网络版彩色)基于嗅觉类器官的仿生传感芯片示意图^[89]。(a) 嗅觉类器官培养流程; (b) 嗅觉类器官培养于MEA芯片表面; (c) 3D-ECIS芯片示意图和实物图

Figure 5 (Color online) Schematic diagram of bionic sensing chip based on olfactory organoid^[89]. (a) Process of olfactory organoid culture; (b) olfactory organoid cultured on the surface of MEA chip; (c) schematic and physical products of the 3D-ECIS chip

的生长状态、黏附能力、形态等参数(图5(c)). 初步结果显示, AD嗅觉类器官的生长速度小于正常嗅觉类器官. 尽管这类器官集成传感芯片研究仍处于探索阶段, 但这种技术将为进一步开发临床上基于嗅觉功能检测的早期疾病筛查和诊断方法提供技术支持和实验依据.

4.3 基于植入式脑机接口技术的嗅觉检测方法

在生物嗅觉系统中, 嗅觉信息通过神经元电活动的方式从嗅上皮传递到大脑皮层. 在不受气味刺激时, 嗅觉系统中自发的神经元活动反映了神经回路连接状态. 类比于心脏电生理检查, 功能正常的心脏产生节律性电活动, 而在功能异常时, 电活动也表现出异常. 通过将植入式神经探针植入到哺乳动物嗅球, 提取出自发的LFP信号并进行解码, 本课题组Zhuang等人^[90]发现, 正常小鼠嗅球自发的神经信号中存在两种特征波形: 呼吸节律和 γ 振荡, 并且 γ 振荡选择性地出现于呼吸节律的特定相位, 即两者存在耦合关系, 且不同动物个体的呼吸节律- γ 振荡耦合模式固定不变. 进一步, 用塑料管将小鼠一侧鼻腔堵住构建传导型嗅觉障碍模型鼠;

在小鼠两侧鼻腔分别灌入浓度为0.17 mol/L的 ZnSO_4 溶液, 造成嗅上皮组织大面积腐蚀, 嗅感觉神经元坏死, 构建感觉神经障碍模型鼠. 结果显示, 嗅觉障碍鼠嗅球中的呼吸节律消失, 并且 γ 振荡显著减弱, 呼吸节律与 γ 振荡的耦合强度也显著减弱(图6).

为此, 不同于常规的使用气味刺激进行嗅觉功能检测, 本课题组提出一种新型的基于脑机交互技术的嗅觉功能检测方法: 通过植入式神经探针提取嗅觉系统中自发的、非气味诱导的神经电活动信号、通过研究神经活动与嗅觉功能的对应关系, 提取可表征嗅觉功能的特征信号, 并结合神经解码将特征信号转化成检测参数, 实现嗅觉功能的定量检测, 进而建立嗅觉相关疾病检测模型. 特征信号分析包括利用频谱分析、频带能量分析、时频变换等方法提取LFP的相位、幅值、相位-幅值耦合关系, spike的发放频率, 与LFP相位耦合关系等. 通过建立神经电活动与嗅觉功能的关联性, 以及实现基于神经电活动解码的嗅觉功能量化描述, 建立嗅觉障碍筛查诊断模型. 这些研究将为临床上实现可准确量化和定性分析的嗅觉障碍相关疾病早期筛查和诊断提供理论技术支持和实验依据.

图 6 (网络版彩色)植入式脑机接口技术的嗅觉检测方法. (a) 在体嗅觉神经信号采集示意图; (b) 嗅觉障碍模型神经信号提取分析
Figure 6 (Color online) Olfactory detection method of implanted brain-computer interface technology. (a) Schematic diagram of olfactory neuronal signal acquisition *in vivo*; (b) extraction and analysis of neuronal signal in the olfactory dysfunction model

5 展望

临床上嗅觉障碍是多种疾病的一种症状,如鼻腔狭窄、鼻息肉、过敏性鼻炎、鼻部肿瘤、颅脑外伤、神经退行性疾病等。因此,嗅觉功能检测有助于相关疾病的早期筛查和诊断。已有的嗅觉功能检测技术有嗅觉神经心理学测试、电生理检测、嗅觉结构或功能成像等,尽管这些技术已在嗅觉功能障碍研究中发挥重要作用,但是目前并未建立标准化的检测指标。因此,建立基于嗅觉功能检测的早期疾病诊断技术需从原理上和技术上另辟蹊径。随着细胞组织工程、微纳加工、脑机接口等技术的迅速发展,新型仿生传感技术在生物医学领域受到广泛关注。基于对嗅觉功能障碍产生机制的理解和归纳,本课题组致力于突破传统的用气味诱导的嗅觉功能检测方法,结合仿生嗅觉感知技术,提出了嗅觉神经网络芯片、嗅觉类器官芯片和

神经交互式嗅觉功能检测技术三种原创性方法。这三种技术本质上是通过构建离体或在体的嗅觉神经系统,利用传感技术检测神经系统发生病变时对应的生理信号变化。其难点在于如何确定特征生理信号、如何建立特征信号与嗅觉障碍程度的关联性,以及如何进一步通过检测参数筛选其对应的相关疾病。这些问题的阐明和研究的深入开展将推动嗅觉功能检测技术的革新和发展,为开发临床上基于嗅觉功能检测的早期疾病筛查和诊断方法提供可靠的理论技术支持和实验依据。此外,这些问题的阐明和研究的深入开展有利于明确不同嗅觉障碍患者的具体发病机制,从而对因治疗,达到个体的精准化治疗;为嗅觉障碍不可逆患者建立可替代嗅觉功能,重建嗅觉感受通路提供可能;从嗅觉障碍角度入手,开拓神经退行性疾病的治疗新思路,可以早期发现甚至通过嗅觉功能检测形成疾病预警模型。

参考文献

- 1 Rawal S, Hoffman H J, Bainbridge K E, et al. Prevalence and risk factors of self-reported smell and taste alterations: Results from the 2011–2012 US National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). *Chem Senses*, 2015, 41: 69–76
- 2 Croy I, Nordin S, Hummel T. Olfactory disorders and quality of life—An updated review. *Chem Senses*, 2014, 39: 185–194
- 3 Doty R L. Olfactory dysfunction and its measurement in the clinic. *World J Otorhinolaryngol Head Neck Surg*, 2015, 1: 28–33
- 4 Sumner D. Post-traumatic anosmia. *Brain*, 1964, 87: 107–120
- 5 Buck L, Axel R. A novel multigene family may encode odorant receptors: A molecular basis for odor recognition. *Cell*, 1991, 65: 175–187
- 6 Doty R L. Olfactory dysfunction in neurodegenerative diseases: Is there a common pathological substrate? *Lancet Neurol*, 2017, 16: 478–488
- 7 Kohli P, Soler Z M, Nguyen S A, et al. The association between olfaction and depression: A systematic review. *Chem Senses*, 2016, 41: 479–486
- 8 Turetsky B I, Hahn C G, Borgmann W K, et al. Scents and nonsense: Olfactory dysfunction in schizophrenia. *Schizophr Bull*, 2009, 35: 1117–1131
- 9 Tonacci A, Billeci L, Tartarisco G, et al. Olfaction in autism spectrum disorders: A systematic review. *Child Neuropsychol*, 2017, 23: 1–25
- 10 Mombaerts P, Wang F, Dulac C, et al. Visualizing an olfactory sensory map. *Cell*, 1996, 87: 675–686
- 11 Firestein S. How the olfactory system makes sense of scents. *Nature*, 2001, 413: 211–218
- 12 Lledo P M, Gheusi G, Vincent J D. Information processing in the mammalian olfactory system. *Physiol Rev*, 2005, 85: 281–317
- 13 Wilson D A, Sullivan R M. Cortical processing of odor objects. *Neuron*, 2011, 72: 506–519
- 14 Igarashi K M, Ieki N, An M, et al. Parallel mitral and tufted cell pathways route distinct odor information to different targets in the olfactory cortex. *J Neurosci*, 2012, 32: 7970–7985
- 15 Rotermund N, Schulz K, Hirnet D, et al. Purinergic signaling in the vertebrate olfactory system. *Front Cell Neurosci*, 2019, 13: 112–125
- 16 Holbrook E H, Leopold D A. Anosmia: Diagnosis and management. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*, 2003, 11: 54–60
- 17 Burdach K J, Doty R L. The effects of mouth movements, swallowing, and spitting on retronasal odor perception. *Physiol Behav*, 1987, 41: 353–356
- 18 Klimek L, Eggers G. Olfactory dysfunction in allergic rhinitis is related to nasal eosinophilic inflammation. *J Allergy Clin Immunol*, 1997, 100: 158–164
- 19 Ahmed O G, Rowan N R. Olfactory dysfunction and chronic rhinosinusitis. *Immunol Allerg Clin North Am*, 2020, 40: 223–232
- 20 Ciofalo A, de Vincentiis M, Zambetti G, et al. Olfactory dysfunction in acute rhinosinusitis: Intranasal sodium hyaluronate as adjuvant treatment. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryn*, 2017, 274: 803–808
- 21 Proskynitopoulos P J, Stippler M, Kasper E M. Post-traumatic anosmia in patients with mild traumatic brain injury (MTBI): A systematic and illustrated review. *Surg Neurol Int*, 2016, 7: 263–275
- 22 Sohrabi H R, Bates K A, Rodrigues M, et al. Olfactory dysfunction is associated with subjective memory complaints in community-dwelling elderly individuals. *J Alzheimers Dis*, 2009, 17: 135–142

- 23 Doty R L, Shaman P, Applebaum S L, et al. Smell identification ability: Changes with age. *Science*, 1984, 226: 1441–1443
- 24 Lazic S E, Goodman A O G, Grote H E, et al. Olfactory abnormalities in Huntington's disease: Decreased plasticity in the primary olfactory cortex of R6/1 transgenic mice and reduced olfactory discrimination in patients. *Brain Res*, 2007, 1151: 219–226
- 25 Hawkes C H, Shephard B C, Geddes J F, et al. Olfactory disorder in motor neuron disease. *Exp Neurol*, 1998, 150: 248–253
- 26 Postuma R B, Gagnon J F, Vendette M, et al. Olfaction and color vision identify impending neurodegeneration in rapid eye movement sleep behavior disorder. *Ann Neurol*, 2011, 69: 811–818
- 27 Hyman B T, van Hoesen G W, Damasio A R, et al. Alzheimer's disease: Cell-specific pathology isolates the hippocampal formation. *Science*, 1984, 225: 1168–1170
- 28 Duda J E, Shah U, Arnold S E, et al. The expression of α -, β -, and γ -synucleins in olfactory mucosa from patients with and without neurodegenerative diseases. *Exp Neurol*, 1999, 160: 515–522
- 29 Turetsky B I, Moberg P J. An odor-specific threshold deficit implicates abnormal intracellular cyclic amp signaling in schizophrenia. *Am J Psychiat*, 2009, 166: 226–233
- 30 Robabeh S, Mohammad J M, Reza A, et al. The evaluation of olfactory function in patients with schizophrenia. *Glob J Health Sci*, 2015, 7: 319–330
- 31 Mao L, Jin H, Wang M, et al. Neurologic manifestations of hospitalized patients with Coronavirus disease 2019 in Wuhan, China. *JAMA Neurol*, 2020, 77: 683–690
- 32 Lüers J C, Klußmann J P, Guntinas L O. The COVID-19 pandemic and otolaryngology: What it comes down to? *Laryngorhinootologie*, 2020, 99: 287–291
- 33 Menni C, Valdes A M, Freidin M B, et al. Real-time tracking of self-reported symptoms to predict potential COVID-19. *Nat Med*, 2020, 26: 1037–1040
- 34 Bagheri S H, Asghari A, Farhadi M, et al. Coincidence of COVID-19 epidemic and olfactory dysfunction outbreak in Iran. *Med J Islam Repub Iran*, 2020, 34: 446–452
- 35 Giacomelli A, Pezzati L, Conti F, et al. Self-reported olfactory and taste disorders in patients with severe acute respiratory coronavirus 2 infection: A cross-sectional study. *Clin Infect Dis*, 2020, 71: 889–890
- 36 Yan C H, Faraji F, Prajapati D P, et al. Association of chemosensory dysfunction and COVID-19 in patients presenting with influenza-like symptoms. *Int Forum Allergy Rhinol*, 2020, 10: 806–813
- 37 Moein S T, Hashemian S M R, Mansourafshar B, et al. Smell dysfunction: A biomarker for COVID-19. *Int Forum Allergy Rh*, 2020, 10: 944–950
- 38 Eibenstein A, Fioretti A B, Lena C, et al. Modern psychophysical tests to assess olfactory function. *Neurol Sci*, 2005, 26: 147–155
- 39 Takagi S F. Standardized olfactometries in japan—A review over ten years. *Chem Senses*, 1989, 14: 25–46
- 40 Doty R L, Shaman P, Dann M. Development of the university of pennsylvania smell identification test: A standardized microencapsulated test of olfactory function. *Physiol Behav*, 1984, 32: 489–502
- 41 Cain W S, Goodspeed R B, Gent J F, et al. Evaluation of olfactory dysfunction in the connecticut chemosensory clinical research center. *Laryngoscope*, 1988, 98: 83–88
- 42 Hummel T, Sekinger B, Wolf S R, et al. 'Sniffin' sticks': Olfactory performance assessed by the combined testing of odour identification, odor discrimination and olfactory threshold. *Chem Senses*, 1997, 22: 39–52
- 43 Scott J W, Scott-Johnson P E. The electroolfactogram: A review of its history and uses. *Microsc Res Tech*, 2002, 58: 152–160
- 44 Evans W J, Cui L, Starr A. Olfactory event-related potentials in normal human subjects: Effects of age and gender. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 1995, 95: 293–301
- 45 Woodman G F. A brief introduction to the use of event-related potentials in studies of perception and attention. *Attent Percept Psychophys*, 2010, 72: 2031–2046
- 46 Morgan C D, Murphy C. Olfactory event-related potentials in Alzheimer's disease. *J Int Neuropsychol Soc*, 2002, 8: 753–763
- 47 Apostolova L G, Thompson P M. Mapping progressive brain structural changes in early Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neuropsychologia*, 2008, 46: 1597–1612
- 48 Jin M, Pelak V S, Cordes D. Aberrant default mode network in subjects with amnesic mild cognitive impairment using resting-state functional MRI. *Magn Reson Imaging*, 2012, 30: 48–61
- 49 Li S J, Li Z, Wu G, et al. Alzheimer disease: Evaluation of a functional mr imaging index as a marker. *Radiology*, 2002, 225: 253–259
- 50 Poulin S P, Dautoff R, Morris J C, et al. Amygdala atrophy is prominent in early Alzheimer's disease and relates to symptom severity. *Psychiatry Res Neuroimaging*, 2011, 194: 7–13
- 51 Li W, Howard J D, Gottfried J A. Disruption of odour quality coding in piriform cortex mediates olfactory deficits in Alzheimer's disease. *Brain*, 2010, 133: 2714–2726
- 52 Wang J, Eslinger P J, Doty R L, et al. Olfactory deficit detected by fmri in early Alzheimer's disease. *Brain Res*, 2010, 1357: 184–194

- 53 Araneda R C, Kini A D, Firestein S. The molecular receptive range of an odorant receptor. *Nat Neurosci*, 2000, 3: 1248–1255
- 54 Mori K, Takahashi Y K, Igarashi K M, et al. Maps of odorant molecular features in the mammalian olfactory bulb. *Physiol Rev*, 2006, 86: 409–433
- 55 Bushdid C, Magnasco M O, Vosshall L B, et al. Humans can discriminate more than 1 trillion olfactory stimuli. *Science*, 2014, 343: 1370–1372
- 56 Persaud K, Dodd G. Analysis of discrimination mechanisms in the mammalian olfactory system using a model nose. *Nature*, 1982, 299: 352–355
- 57 Göpel W. Chemical imaging: I. Concepts and visions for electronic and bioelectronic noses presented in part as plenary talk at EUROSENSORS 1997 (Warsaw, pl). *Sens Actuators B Chem*, 1998, 52: 125–142
- 58 Lee J Y, Ko H J, Lee S H, et al. Cell-based measurement of odorant molecules using surface plasmon resonance. *Enzyme Microb Technol*, 2006, 39: 375–380
- 59 Hafeman D, Parce J, McConnell H. Light-addressable potentiometric sensor for biochemical systems. *Science*, 1988, 240: 1182–1185
- 60 Owicki J C, Parce J W, Kercso K M, et al. Continuous monitoring of receptor-mediated changes in the metabolic rates of living cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, 87: 4007–4011
- 61 Ismail A B M, Yoshinobu T, Iwasaki H, et al. Investigation on light-addressable potentiometric sensor as a possible cell-semiconductor hybrid. *Biosens Bioelectron*, 2003, 18: 1509–1514
- 62 Wu C, Chen P, Yu H, et al. A novel biomimetic olfactory-based biosensor for single olfactory sensory neuron monitoring. *Biosens Bioelectron*, 2009, 24: 1498–1502
- 63 Wolpaw J R, Birbaumer N, Heetderks W J, et al. Brain-computer interface technology: A review of the first international meeting. *IEEE Trans Rehab Eng*, 2000, 8: 164–173
- 64 Zhuang L J, Cao D X, Guo T T, et al. The research progress of *in vivo* bioelectronic nose based on implantable brain-computer interface (in Chinese). *Life Sci Instru*, 2014, 12: 5–11 [庄柳静, 曹端喜, 郭添添, 等. 基于植入式脑机接口的在体生物电子鼻研究进展. *生命科学仪器*, 2014, 12: 5–11]
- 65 Bhalla U S, Bower J M. Multiday recordings from olfactory bulb neurons in awake freely moving rats: Spatially and temporally organized variability in odorant response properties. *J Comput Neurosci*, 1997, 4: 221–256
- 66 Ferro M D, Melosh N A. Electronic and ionic materials for neurointerfaces. *Adv Funct Mater*, 2018, 28: 1704335
- 67 Zhuang L J, Zhou J, Dong Q, et al. The research progress of using the mammalian olfaction for cancer diagnosis (in Chinese). *Chin Sci Bull*, 2013, 58: 1369–1378 [庄柳静, 周俊, 董琪, 等. 利用动物嗅觉诊断癌症技术的研究进展. *科学通报*, 2013, 58: 1369–1378]
- 68 Zhuang L, Guo T, Cao D, et al. Detection and classification of natural odors with an *in vivo* bioelectronic nose. *Biosens Bioelectron*, 2015, 67: 694–699
- 69 Kay L M, Beshel J, Brea J, et al. Olfactory oscillations: The what, how and what for. *Trends Neurosci*, 2009, 32: 207–214
- 70 Rey N L, Wesson D W, Brundin P. The olfactory bulb as the entry site for prion-like propagation in neurodegenerative diseases. *Neurobiol Dis*, 2018, 109: 226–248
- 71 Mundiñano I C, Caballero M C, Ordóñez C, et al. Increased dopaminergic cells and protein aggregates in the olfactory bulb of patients with neurodegenerative disorders. *Acta Neuropathol*, 2011, 122: 61–74
- 72 Palop J J, Chin J, Roberson E D, et al. Aberrant excitatory neuronal activity and compensatory remodeling of inhibitory hippocampal circuits in mouse models of Alzheimer's disease. *Neuron*, 2007, 55: 697–711
- 73 De Simone R, Puig X S, Gélisse P, et al. Senile myoclonic epilepsy: Delineation of a common condition associated with Alzheimer's disease in Down syndrome. *Seizure*, 2010, 19: 383–389
- 74 Costanzo R M. Regeneration and rewiring the olfactory bulb. *Chem Senses*, 2005, 30: 133–134
- 75 Doty R L, Yousem D M, Pham L T, et al. Olfactory dysfunction in patients with head trauma. *Arch Neurol*, 1997, 54: 1131–1140
- 76 Arnold S E, Han L Y, Moberg P J, et al. Dysregulation of olfactory receptor neuron lineage in schizophrenia. *Arch Gen Psychiat*, 2001, 58: 829–835
- 77 Wesson D W, Borkowski A H, Landreth G E, et al. Sensory network dysfunction, behavioral impairments, and their reversibility in an Alzheimer's β -amyloidosis mouse model. *J Neurosci*, 2011, 31: 15962–15971
- 78 Li W, Li S, Shen L, et al. Impairment of dendrodendritic inhibition in the olfactory bulb of APP/PS1 mice. *Front Aging Neurosci*, 2019, 11: 2
- 79 Alvarado-Martinez R, Salgado-Puga K, Pena-Ortega F. Amyloid beta inhibits olfactory bulb activity and the ability to smell. *PLoS One*, 2013, 8: 75745
- 80 Hu B, Geng C, Hou X Y. Oligomeric amyloid- β peptide disrupts olfactory information output by impairment of local inhibitory circuits in rat olfactory bulb. *Neurobiol Aging*, 2017, 51: 113–121
- 81 Crews L, Masliah E. Molecular mechanisms of neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet*, 2010, 19: 12–20
- 82 Sato T, Vries R G, Snippert H J, et al. Single *lgr5* stem cells build crypt-villus structures *in vitro* without a mesenchymal niche. *Nature*, 2009, 459: 262–265
- 83 Lancaster M A, Knoblich J A. Organogenesis in a dish: Modeling development and disease using organoid technologies. *Science*, 2014, 345:

1247125

- 84 Schwob J E, Costanzo R M, Youngentob S L, Regeneration of the olfactory epithelium. *Ref Mod Neurosci Biobehav Psychol*, 2019, 39: 814–832
- 85 Dai Q, Duan C, Ren W, et al. Notch signaling regulates Lgr5⁺ olfactory epithelium progenitor/stem cell turnover and mediates recovery of lesioned olfactory epithelium in mouse model. *Stem Cells*, 2018, 36: 1259–1272
- 86 Kurtenbach S, Goss G M, Goncalves S, et al. Cell-based therapy restores olfactory function in an inducible model of hyposmia. *Stem Cell Rep*, 2019, 12: 1354–1365
- 87 Zhang Y S, Aleman J, Shin S R, et al. Multisensor-integrated organs-on-chips platform for automated and continual in situ monitoring of organoid behaviors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114: 2293–2302
- 88 Wu Q, Pan Y X, Wan H, et al. Research progress of organoids-on-chips in biomedical application (in Chinese). *Chin Sci Bull*, 2019, 64: 902–910 [吴谦, 潘宇翔, 万浩, 等. 类器官芯片在生物医学中的研究进展. *科学通报*, 2019, 64: 902–910]
- 89 Pan Y, Jiang D, Gu C, et al. 3D microgroove electrical impedance sensing to examine 3D cell cultures for antineoplastic drug assessment. *Microsyst Nanoeng*, 2020, 6: 23
- 90 Zhuang L, Zhang B, Qin Z, et al. Nasal respiration is necessary for the generation of γ oscillation in the olfactory bulb. *Neuroscience*, 2019, 398: 218–230

Summary for “仿生嗅觉感知技术及其在嗅觉障碍疾病筛查中的研究进展”

Advances in the bioinspired olfactory sensing technology for screening of olfactory dysfunction

Liuqing Zhuang^{1,2†}, Mengxue Liu^{1†}, Nan Jiang¹, Xinwei Wei¹, Yuxiang Pan^{1,3}, Yiqun Yu⁴ & Ping Wang^{1,2*}

¹ Key Laboratory for Biomedical Engineering of Education Ministry, Biosensor National Special Laboratory, College of Biomedical Engineering & Instrument Science, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China;

² State Key Laboratory of Transducer Technology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200050, China;

³ Zhejiang Lab, Hangzhou 311121, China;

⁴ Department of Otolaryngology, Eye, Ear, Nose & Throat Hospital, Shanghai Key Clinical Disciplines of Otorhinolaryngology, Fudan University, Shanghai 200050, China

† Equally contributed to this work

* Corresponding author, E-mail: cnpwang@zju.edu.cn

The mammalian olfactory system enables to sense and distinguish a large number of odors, which is essential to find food, avoid predators, communicate and reproduce, while the human olfactory system can even avoid potential hazard by discriminating the smell quality. Olfactory dysfunction is a common disease symptom which seriously affects the life quality of patients. In addition, many studies have revealed that olfactory dysfunction can also indicate many other potential diseases, such as neurodegenerative diseases and mental diseases. Olfactory dysfunction is an early common symptom of a variety of diseases, such as inflammation, viral infection, neurodegenerative diseases, and the current epidemic of COVID-19. Researchers have indicated that some patients with certain diseases already have suffered from symptoms of olfactory dysfunction early in the clinic. For instance, one of the early clinical symptoms of SARS-CoV-2 virus infection is the loss of smell. Besides, patients suffered from Alzheimer's disease and Parkinson's disease usually have an increased threshold of olfactory perception and even endure anosmia. Therefore, research on early screening and diagnosis of dysosmia diseases on the basis of olfactory function detection is of great significance to control and slow the disease's progression and to improve the health of human body. At present, olfactory function detection technologies mainly contain olfactory neuropsychological testing, electrophysiological detection, olfaction system structure or functional imaging, etc. Although these technologies have played an important role in the study of dysosmia, there have been no standardized detection indicators established so far. Therefore, the establishment and improvement of early olfactory dysfunction disease diagnosis technology based on the detection of olfactory function requires a novel approach in principle and technology. By utilizing the bionic olfactory sensing technologies such as bioelectronic noses, the olfactory analog sensing system with high sensitivity, high specificity and short response time, and even simulating biological olfactory systems, can be expected to be realized. Based on the current understanding of the mechanism of olfactory dysfunction, our team is committed to breaking through the traditional odor-induced olfactory function detection method. By combining with the bionic olfactory perception technology, three original methods which include olfactory neural network chip, organoid chip and neural interactive olfaction detection technology have been proposed. These three technologies essentially construct and simulate the olfactory nervous system *in vitro* or *in vivo*, by means of the sensing technique to detect physiological signals changes that correspond with the alternations in the nervous system. However, the difficulties currently lie in how to determine the characteristic physiological signal, and how to establish the correlation between the characteristic signals and the degree of dysosmia for the ultimate goal of further screening the olfactory dysfunction related diseases through the detection parameters. The clarification of these difficulties and in-depth progress of research will promote the innovation and development of olfactory function detection technology, and provide reliable theoretical technical support and experimental basis. This review comprehensively interpreted the current research status of dysosmia diseases, as well as analyzed the principles of bionic olfactory perception technology and its research progress in the detection and diagnosis of dysosmia and related diseases. With the development of multidisciplinary intersection in the field of biomedical engineering, the transformation and application of cell network chips, organoid bionic chips and brain-computer interaction technology will promote the progress of bionic olfactory perception technology in the research of olfactory dysfunction diseases and the innovation of clinical diseases diagnosis.

bioinspired olfactory sensing technology, olfactory dysfunction, olfactory function measurement, cell and organoid on chip, brain-computer interface technology

doi: [10.1360/TB-2020-0622](https://doi.org/10.1360/TB-2020-0622)