

❖ 实验研究

Preparation of nanoparticle combining with high intensity focused ultrasound for treating three negative breast cancer: *In vitro* experiment

KANG Zhengyue, FENG Xiaoling, LIAO Hongjian, ZHANG Zhifei, DU Yonghong*

(College of Biomedical Engineering, Chongqing Medical University, State Key

Laboratory of Ultrasound in Medicine and Engineering, Chongqing Key

Laboratory of Biomedical Engineering, Chongqing 400016, China)

[Abstract] **Objective** To prepare nanoparticle (NP) AS1411/PFH-NP that specifically targeting triple negative breast cancer (TNBC), and to observe the value of AS1411/PFH-NP combining with high intensity focused ultrasound (HIFU) for treating TNBC. **Methods** The liquid fluorocarbon (PFH) was loaded into PLGA@PEG using double emulsification method, and the aptamer AS1411 was connected with PFH-NP to prepare AS1411/PFH-NP. The physical properties, targeting ability and ultrasonic imaging ability of AS1411/PFH-NP were observed. The value of HIFU combining with AS1411/PFH-NP for ablation of isolated bovine liver and killing MB-231 TNBC cells were analyzed. **Results** AS1411/PFH-NP was successfully prepared, which had good morphology and good targeting ability to MB-231 TNBC cells. The gray value of CEUS of AS1411/PFH-NP group was higher than that of phosphate buffer solution (PBS) group and NP group ($t=17.24, 5.60$, both $P<0.05$). The volume of coagulation necrosis in bovine liver tissue after HIFU+AS1411/PFH-NP ablation was larger than that after HIFU+PBS ($t=7.99, P<0.01$) and HIFU+NP ($t=4.33, P<0.05$) ablations, and the energy efficiency factor of HIFU+AS1411/PFH-NP ablation was significantly lower than that of HIFU+PBS ($t=5.41, P<0.01$) and HIFU+NP ($t=4.82, P<0.01$) ablations. The apoptosis rate of MB-231 cells of HIFU+AS1411/PFH-NP group was higher than that of the other groups (all $P<0.05$). **Conclusion** AS1411/PFH-NP that specifically targeting TNBC could improve the ablation efficiency of HIFU *in vitro*.

[Keywords] triple negative breast neoplasms; nanoparticles; perfluorooctylbromide; high-intensity focused ultrasound ablation; ultrasonography

DOI:10.13929/j.issn.1003-3289.2022.07.001

制备纳米粒联合高强度聚焦超声治疗 三阴性乳腺癌:体外实验

康正樾,冯潇铃,廖洪建,张志飞,杜永洪*

(重庆医科大学生物医学工程学院 超声医学工程国家重点实验室

重庆市生物医学工程学重点实验室,重庆 400016)

[摘要] **目的** 制备特异性靶向三阴性乳腺癌(TNBC)纳米粒(NP)AS1411/PFH-NP,评估其联合高强度聚焦超声(HIFU)治疗TNBC的价值。**方法** 以双乳化法将十四氟己烷(PFH)装载于PLGA@PEG,以AS1411核酸适配体与

[基金项目] 重庆市技术创新与应用发展专项(cstc2019jscx-msxmX0255)。

[第一作者] 康正樾(1996—),男,四川达州人,在读硕士。研究方向:超声生物学效应。E-mail: 979973876@qq.com

[通信作者] 杜永洪,重庆医科大学生物医学工程学院 超声医学工程国家重点实验室 重庆市生物医学工程学重点实验室,400016。

E-mail: duyonghong@cqmu.edu.cn

[收稿日期] 2021-11-03 **[修回日期]** 2022-03-06

PFH-NP 连接,制备 AS1411/PFH-NP,观察其物理特性、靶向能力及体外超声显像能力,评价 HIFU 联合 AS1411/PFH-NP 消融离体牛肝组织及杀伤 MB-231 TNBC 细胞的价值。**结果** 成功制备 AS1411/PFH-NP,其形态较佳,对 MB-231 TNBC 细胞具有良好靶向能力。AS1411/PFH-NP 组 CEUS 图像灰度值大于磷酸盐缓冲液(PBS)组及 NP 组($t=17.24$ 、 5.60 , P 均 <0.05)。经 HIFU+AS1411/PFH-NP 消融后,牛肝组织凝固性坏死体积大于经 HIFU+PBS($t=7.99$, $P<0.01$)及 HIFU+NP 消融后($t=4.33$, $P<0.05$);且 HIFU+AS1411/PFH-NP 消融能效因子显著低于 HIFU+PBS($t=5.41$, $P<0.01$)及 HIFU+NP 消融($t=4.82$, $P<0.01$)。HIFU+AS1411/PFH-NP 组 MB-231 细胞凋亡率高于其他组(P 均 <0.05)。**结论** 特异性靶向 TNBC AS1411/PFH-NP 可提高 HIFU 体外消融效率。

【关键词】 三阴性乳腺癌;纳米微粒;液态氟碳;高强度聚焦超声消融术;超声检查

【中图分类号】 R737.9; R445.1 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-3289(2022)07-0961-07

目前临床对三阴性乳腺癌(triple negative breast cancer, TNBC)多采用联合治疗^[1]。高强度聚焦超声(high intensity focused ultrasound, HIFU)将超声波聚焦于体内病灶靶点区,通过热效应、机械效应和空化效应对病灶进行消融^[2];但长时间 HIFU 辐照可致机体升温,并存在声通道损伤等安全问题。液态氟碳纳米粒(nanoparticle, NP)可于 HIFU 辐照下发生液气相变而产生空化核,降低空化效应阈值,增强其生物学效应^[3]。本研究制备包载 PFH 并与 AS1411 适配体连接的特异性靶向 TNBC 可降解 AS1411/PFH-NP^[4],观察其与 HIFU 联合治疗 TNBC 的价值。

1 材料与方法

1.1 主要材料与设备 聚乳酸-羟基乙酸共聚物[poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA]-PEG50/50-COOH(济南岱罡生物科技有限公司);CHCl₃,异丙醇(重庆市川东有限公司);聚乙烯醇(polyvinyl alcohol, PVA),十四氟己烷(perfluorohexane, PFH),1,1-dioctadecyl-3,3,3',3'-tetramethylindocarbocyanine perchlorate(DiI),4',6-diamidino-2-phenylindole(DAPI),1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide(EDC),N-hydroxysuccinimide(NHS),琼脂糖(Sigma);MES(Thermo Fisher Scientific);核酸适配体 AS1411, FAM 荧光标记核酸适配体 AS1411-FAM[生工生物工程(上海)股份有限公司]。细胞计数试剂盒(cell counting kit-8, CCK-8, Dojindo),XL2020 型声振仪(Sonics),透射电镜(transmission electron microscope, TEM, Hitachi),马尔文激光粒度仪(Zetasizer),光学显微镜(Olympus),激光共聚焦显微镜(confocal laser scanning microscope, CLSM, Nikon),CytoFLEX(Beckman Counter, Inc.),聚焦超声肿瘤治疗系统(JC200 型,重庆海扶医疗科技股份有限公司),Mylab 90(Esaote),ImageJ 软件(美国国立卫生研究院),多功能酶标记仪器(ThermoFisher)。

1.2 制备 AS1411/PFH-NP 取 40 mg PLGA-PEG50/50-COOH 完全溶解于 2 ml CHCl₃ 溶液作为油相,加入 200 ml PFH 作为水相,在冰浴中采用声振仪乳化得到初乳,再加入 4% PVA 溶液 4 ml,继续在冰浴中以声振仪乳化形成复乳,之后加入 8 ml 异丙醇溶液并搅拌、离心、洗涤,冻干后得到 PFH/PLGA@NP。采用碳二亚胺法称取 20 mg PFH/PLGA@NP 完全重悬于 5 ml MES 中(pH 为 5.5, 0.1 mol/L),并按 PFH/PLGA@NPs:EDC:NHS=1:2:2 比例加入 EDC、NHS,充分活化后重悬于 5 ml MES 中(pH 为 8.0, 0.1 mol/L),加入 1 ml AS1411(1 μmol/L)后置入摇床上振荡过夜,经离心(10 000 rpm, 10 min)洗涤后得到靶向 AS1411/PFH-NP。以双蒸水为水相,采用双乳化法得到空白 NP。

1.3 检测物理特性 采用马尔文粒径仪检测 AS1411/PFH-NP 粒径和 Zeta 电位,以 TEM 观察其形态。以上述方法制备 DiI 荧光标记的 AS1411-FAM/PFH-NP 后,采用 CLSM 观察经 FAM 绿色荧光修饰的核酸适配体 AS1411 与经 DiI 红色荧光标记的 AS1411/PFH-NP 的连接情况,以流式细胞仪定量检测其连接率。将 1 ml AS1411/PFH-NP 悬液(1 mg/ml)置于 1.5 ml EP 管,分别置于 37、58 及 80℃ 水浴中 30 s,以光学显微镜观察其相变能力。

1.4 检测细胞毒性 将处于对数生长期的 MB-231 TNBC 细胞和 LO-2 人正常肝脏细胞以 2×10^4 /孔接种于 96 孔培养板并孵育 24 h(37℃, 5% CO₂),去除培养基后,以无血清细胞培养基(100 μl/孔)将消毒的 AS1411/PFH-NP 配制为不同浓度溶液(0.25、0.50、1.00、2.00、4.00、8.00 mg/ml),置于 96 孔培养板中,各设 6 个重复孔;孵育 24 h 后,以磷酸盐缓冲液(phosphate buffer solution, PBS)洗涤;再向每孔中加入含 10% CCK-8 试剂的无血清培养基 100 μl,孵育 4 h 后,以多功能酶标记仪器检测细胞在 450 nm 波长下的吸光度,即光密度(optical density, OD),计算各

浓度下细胞存活率:细胞存活率 = $(OD_{NP} - OD_{blank}) / (OD_{control} - OD_{blank}) \times 100\%$; 其中 NP 表示含细胞、培养基及 AS1411/PFH-NP, blank 表示含培养基、不含细胞及 AS1411/PFH-NP, control 表示含细胞及培养基、不含 AS1411/PFH-NP。

1.5 检测 MB-231 TNBC 细胞靶向能力 以 1×10^5 / 孔将 MB-231 细胞接种于 CLSM 培养皿中孵育 24 h; 按照上述方法分别制备 DiI 荧光标记的 PFH-NP 和 AS1411/PFH-NP; 将所有细胞分为 2 组: ① 非靶向组, 含 DiI 荧光标记 PFH-NP 的培养基 (2 mg/ml); ② 靶向组, 含 DiI 荧光标记 AS1411/PFH-NP 的培养基 (2 mg/ml)。将 2 组细胞分别与相应培养基共孵育 4 h 后, 以 4% 多聚甲醛固定细胞 15 min, 再以 DAPI 进行细胞核染色 10 min; 每个步骤结束后均以 PBS 洗涤细胞 3 次。最后在 CLSM 下观察 NP 与细胞的结合情况。

1.6 体外超声成像 预先制备 3% 琼脂糖凝胶体膜, 内有 1.5 ml 离心管形状的半开放凹槽, 用于盛放样品液。将 1 ml PBS、1 ml 空白 NP (2 mg/ml) 及 1 ml AS1411/PFH-NP (2 mg/ml) 分别置于 3% 琼脂糖凝胶体模中, 即 PBS 组、NP 组及 AS1411/PFH-NP 组; 以 HIFU 辐照凹槽中心处 (距开口 20 mm, 100 MHz, 120 W/cm², 5 s)。于 B-Mode 和增强超声造影 (contrast enhanced ultrasound, CEUS) 模式下以 MyLab90 采集超声图像, 以 ImageJ 软件定量测量 CEUS 图像中的 ROI (HIFU 辐照焦点及凹槽内垂直于声束方向的圆形截面, $\Phi = 12.7$ mm) 的平均灰度值。

1.7 HIFU 联合 AS1411/PFH-NP 消融离体牛肝组织 以真空脱气装置去除 3 块长方体离体牛肝组织 (12 cm × 10 cm × 8 cm) 中的空气, 分别针对超声聚焦超声换能器声束方向距牛肝组织表面 4 cm 处 (即消融区) 注射 200 μ l PBS、200 μ l 空白 NP (2 mg/ml) 及 200 μ l AS1411/PFH-NP (2 mg/ml) 后行 HIFU 辐照, 消融点间距 > 3 cm; 采用机载超声诊断仪监测消融区 HIFU 辐照前、后图像平均灰度值变化。之后沿平行于声束方向切开牛肝组织, 以 ImageJ 软件计算 3 块牛肝组织的消融体积和超声能效因子 (energy efficiency factor, EEF)^[5]: 消融体积 = $\pi/6 \times$ 消融后凝固性坏死区长度 $\times$ 凝固性坏死区宽度 $\times$ 凝固性坏死区厚度; $EEF = \eta Pt / V$, 其中 $\eta = 0.7$, 为换能器聚焦系数, P 为总辐照声功率 (W), t 为总辐照时间 (s), V 为凝固性坏死体积 (mm³)。

1.8 HIFU 联合 AS1411/PFH-NP 杀伤体外 MB-231 TNBC 细胞 将处于对数生长期的 MB-231 细胞以 1×10^6 / 孔接种于 6 孔板中并孵育 24 h 并分为 HIFU 组、AS1411/PFH-NP 组、HIFU + AS1411/PFH-NP 组及未干预组; 清除培养基后, 对 HIFU 组和未干预组均加入不含 AS1411/PFH-NP 的无血清培养基, 对 AS1411/PFH-NP 组和 HIFU + AS1411/PFH-NP 组均加入含 AS1411/PFH-NP (2 mg/ml) 的无血清培养基, 共同孵育 4 h 后以 PBS 清洗并以 0.25% 胰酶 (不含 EDTA) 消化 3 min, 加入 PBS 制成细胞悬液并转移至 1.5 ml 离心管中; 对 HIFU 组和 HIFU + AS1411/PFH-NP 组以 HIFU 辐照 (100 MHz, 120 W/cm², 5 s) 离心管中心处, 对 AS1411/PFH-NP 组和未干预组不作辐照处理; 对各组以 1 000 rpm 离心 5 min、洗涤 2 次, 最终分别将 1×10^6 个细胞重悬于 PBS (pH 为 7.2) 500 μ l 中备用。采用流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

1.9 统计学分析 采用 GraphPad Prism 8.0 统计分析软件。以 $\bar{x} \pm s$ 表示符合正态分布的计量资料, 采用单因素方差分析进行多组间比较, 以 Dunnett 法进行 2 组间比较, 针对差异有统计学意义的数据行 t 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AS1411/PFH-NP 物理特性 透射电镜下 AS1411/PFH-NP 呈球形, 形态良好、大小均一, 分散性较佳 (图 1A), 粒径为 (249.70 ± 4.72) nm, Zeta 电位为 (-3.46 ± 0.77) mV (图 1B、1C)。光镜下观察, 37℃ 条件下 AS1411/PFH-NP 未见明显相变, 58℃ 及 80℃ 条件下均可见显著相变, 且程度随温度升高而增加 (图 1D~1F), 表明 PFH 成功包载。

CLSM 下, FAM 修饰的核酸适配体 AS1411 呈绿色荧光 (图 2A), DiI 标记的 AS1411/PFH-NP 呈红色荧光 (图 2B), 并见显著荧光重叠 (图 2C); 流式细胞仪检测显示二者连接良好, 连接率 58.11% (图 2D)。

2.2 AS1411/PFH-NP 细胞毒性 共孵育的 AS1411/PFH-NP 浓度为 0.25 ~ 2.00 mg/ml 时, 不同浓度下 LO-2 人正常肝脏细胞活性无明显差异; 浓度升至 4.00 mg/ml 时, LO-2 细胞活性降低 ($t = 2.335$, $P < 0.05$, 图 3A); 与浓度 0.25 mg/ml 相比, AS1411/PFH-NP 浓度为 2.00 mg/ml 时, TNBC MB-231 细胞活性降低 ($t = 2.952$, $P < 0.05$, 图 3B), 故本研究以 2.00 mg/ml 为 AS1411/PFH-NP 最适浓度进行后续实验。

2.3 以 AS1411/PFH-NP 检测 MB-231 细胞靶向能力

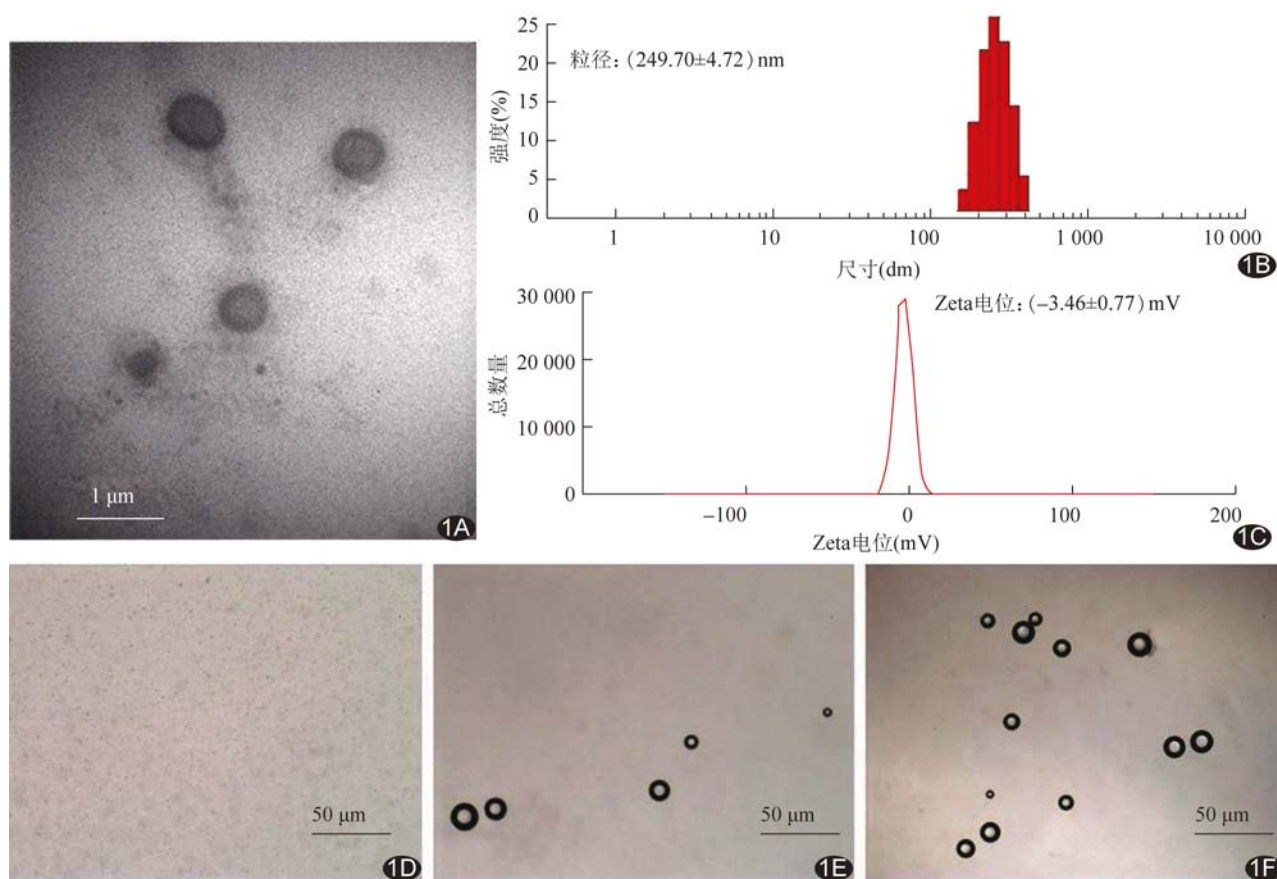


图1 AS1411/PFH-NP 物理特性 A. 透射电镜下 AS1411/PFH-NP 形态($\times 20\ 000$); B、C. AS1411/PFH-NP 粒径(B)及 Zeta 电位图(C); D~F. 光镜所见 AS1411/PFH-NP 于 37℃(D)、58℃(E)及 80℃(F)下的形态($\times 200$)

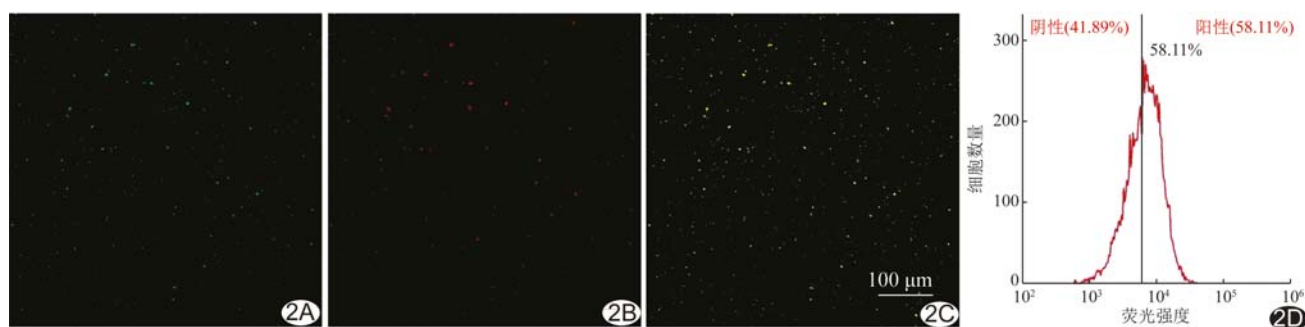


图2 适配体与 AS1411/PFH-NP 连接 A~C. CLSM($\times 200$)显示经 FAM 修饰的核酸适配体 AS1411(A)、DiI 标记的 AS1411/PFH-NP (B)及二者连接(C); D. 流式细胞仪所示适配体与 AS1411/PFH-NP 连接率图

CLSM 示 MB-231 细胞核呈蓝色荧光,所制 DiI 荧光标记 PFH-NP 和 DiI 荧光标记 AS1411/PFH-NP 均呈红色荧光;靶向组见 AS1411/PFH-NP 显著聚集于细胞核及细胞周围,非靶向组未见明显红色荧光聚集,表明 AS1411/PFH-NP 对 MB-231 乳腺癌细胞具有良好靶向能力。见图 4。

2.4 体外超声成像 AS1411/PFH-NP 组 CEUS 图像灰度值大于 PBS 组及 NP 组($t=17.24$ 、 5.60 , P 均

<0.05)。见图 5。

2.5 HIFU 联合 AS1411/PFH-NP 消融离体牛肝组织 经 HIFU+AS1411/PFH-NP 消融后,牛肝组织凝固性坏死区体积大于 HIFU+PBS($t=7.99$, $P<0.01$)及 HIFU+NP 消融($t=4.33$, $P<0.05$);经 HIFU+AS1411/PFH-NP 后,消融区 EEF 显著小于 HIFU+PBS($t=5.41$, $P<0.01$)及 HIFU+NP 消融区($t=4.82$, $P<0.01$)。见表 1 及图 6。

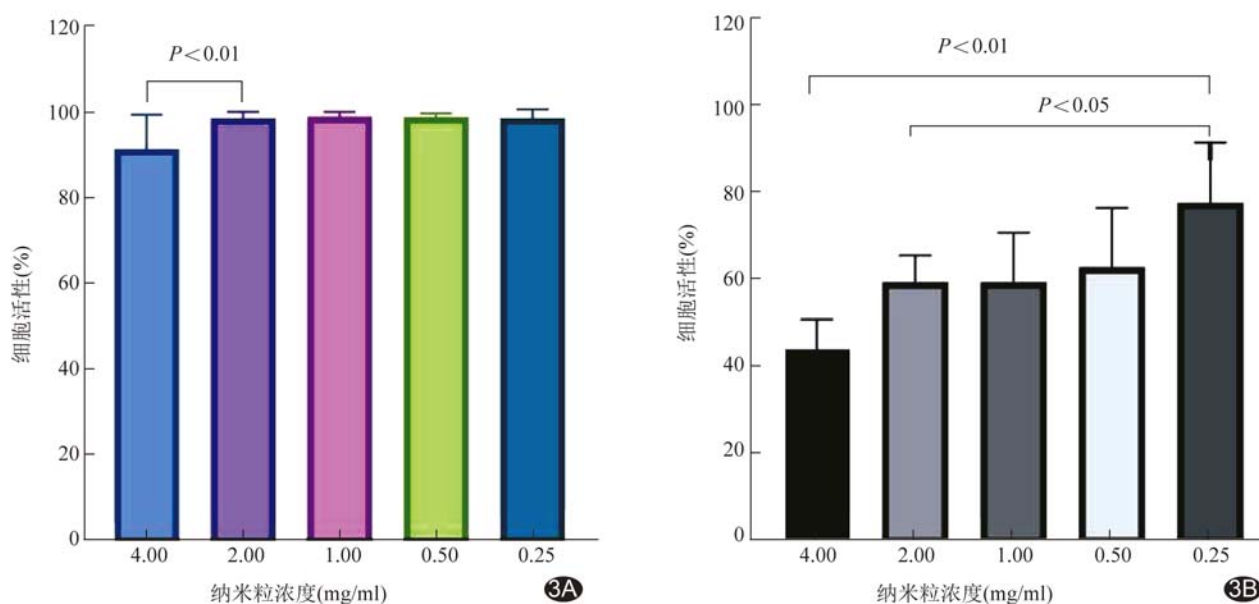


图3 与不同浓度 AS1411/PFH-NP 共孵育 24 h 后的细胞活性 A. L-O2 细胞; B. MB-231 细胞

2.6 HIFU 联合 AS1411/PFH-NP 杀伤 MB-231 乳腺癌细胞
流式细胞仪检测结果显示, HIFU + AS1411/PFH-NP 组 MB-231 细胞凋亡率高于其他组 (P 均 < 0.05)。见图 7 及表 2。

3 讨论

应用 HIFU 协同增效剂可提高 HIFU 消融效率及安全性。传统微泡造影剂成像效果虽佳, 但无法透过血管内皮细胞间隙, 故不能用于细胞水平成像及治疗, 且其热、化学稳定性差, 难以实现临床转化。液态氟碳具有化学和生物学惰性等特殊理化性质, 且能降低空化效应阈值, 加强 HIFU 对靶区组织的杀伤效果^[6]。PLGA 生物安全性良好, 已用于临床^[7]。本研究制备的载 PLGA 的 AS1411/PFH-NP 可于 HIFU 辐照下发生液气相变, 增加空化核, 提高 HIFU 消融效率及杀伤肿瘤细胞效果。

使 NP 具有主动靶向性有助于 HIFU 增效剂尽可能聚集于乳腺癌靶区、延长 NP 在肿瘤组织中的滞留时间。本研究以核酸

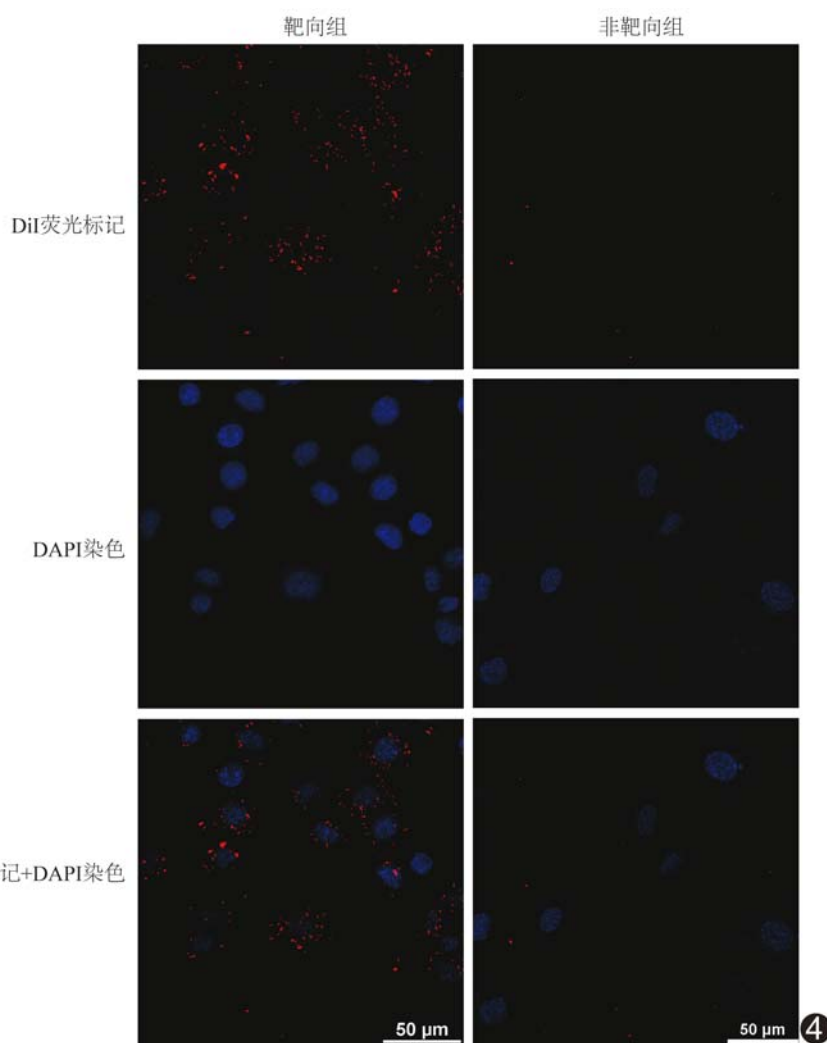


图4 CLSM 示 AS1411/PFH-NP 靶向 MB-231 细胞 ($\times 600$)

适配体 AS1411 修饰载 PFH 的 NP,使其可借助 AS1411 与 MB-231 细胞连接并被摄取入胞,MB-231 细胞活力在与 AS1411/PFH-NP 结合 24 h 后下降,考虑主要原因在于 TNBC 细胞表面过表达核仁素,可特异性识别适配体 AS1411,后者对不同肿瘤细胞均有抑制生长作用^[8]。

超声观察显示,AS1411/PFH-NP 组均可见细小点状中等回声信号,PBS 组及 NP 组均见弱回声,且 AS1411/PFH-NP 组 CEUS 图像灰度值显著大于 PBS 组及 NP 组,表明 AS1411/PFH-NP 具有良好超声显影能力,

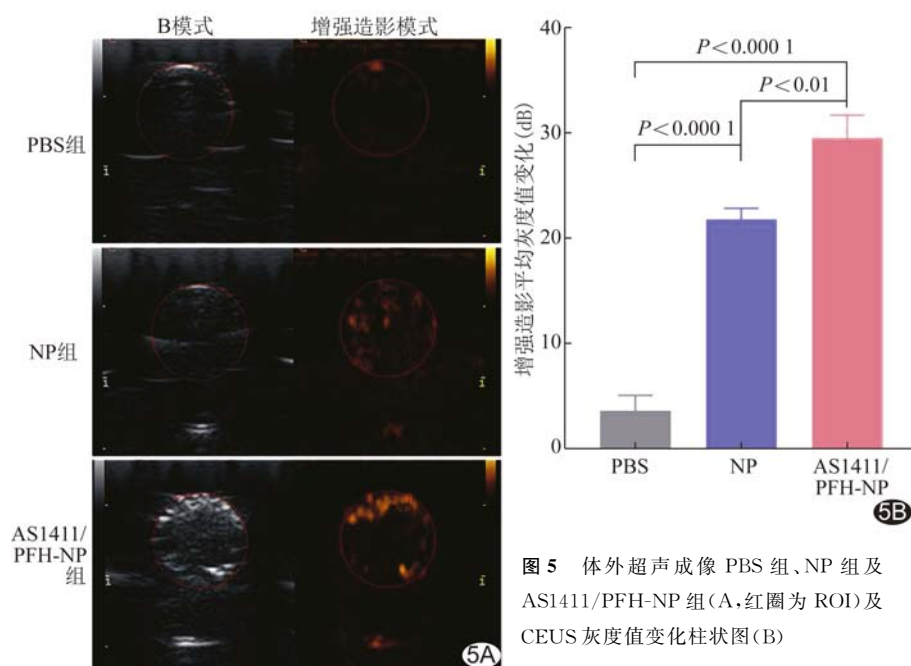


图5 体外超声成像 PBS 组、NP 组及 AS1411/PFH-NP 组(A,红圈为 ROI 及 CEUS 灰度值变化柱状图(B)

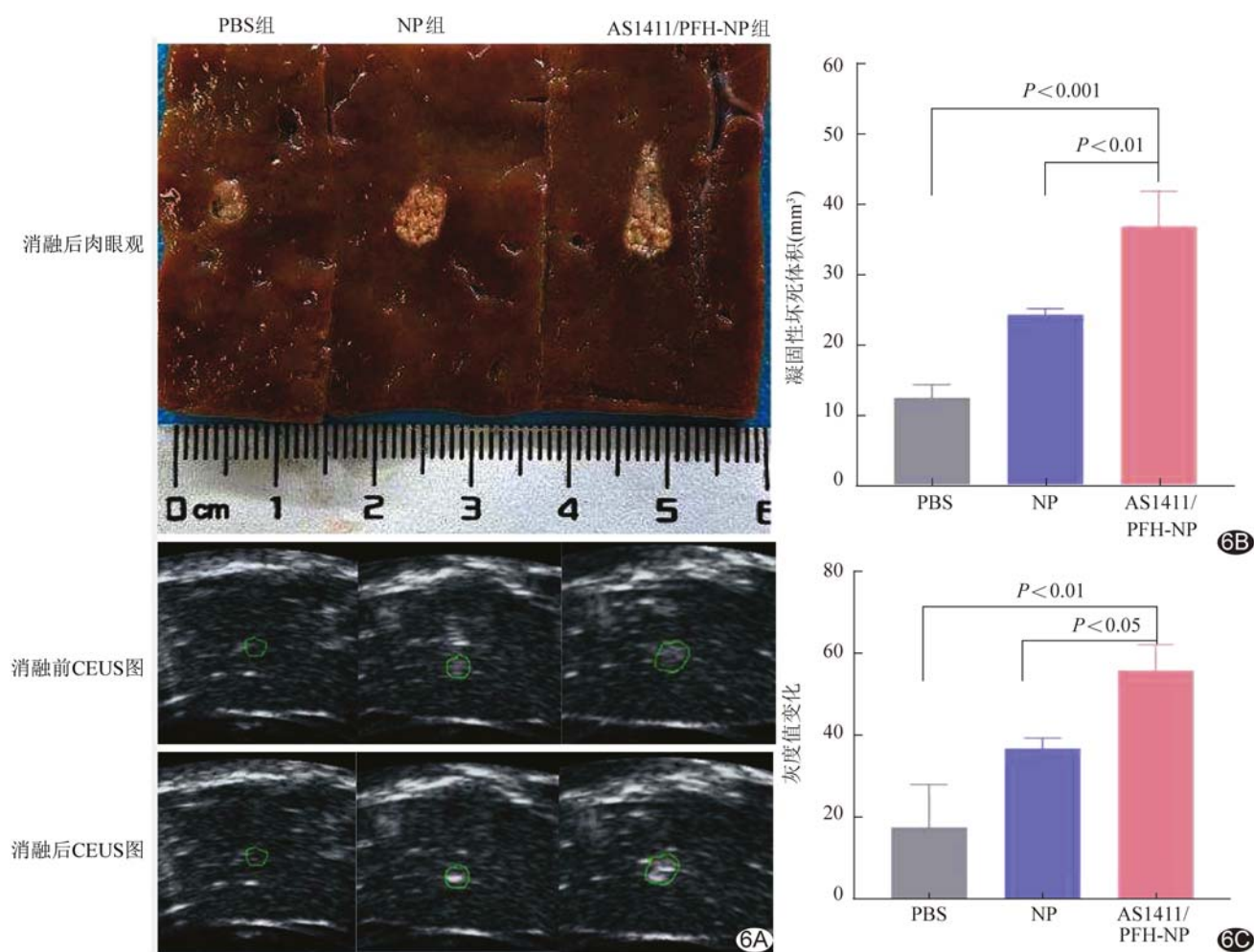


图6 体外 HIFU 联合不同方法消融牛肝组织 A~C. 凝固性坏死肉眼观、消融区 CEUS 变化(A)及体积直方图(B)、CEUS 灰度直方图(C)

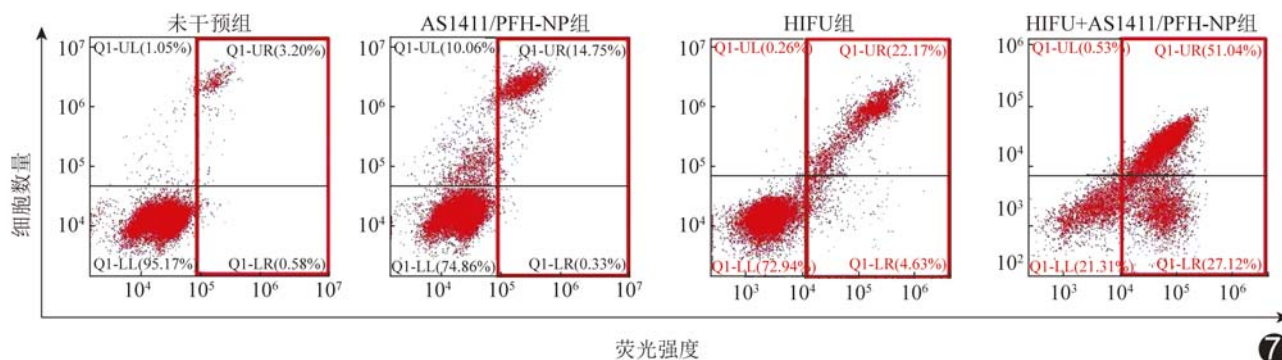


图 7 流式细胞仪所示 MB-231 细胞凋亡情况 (红方框表示细胞凋亡占比)

表 1 HIFU 联合不同方法体外消融离体牛肝组织效果比较 ($n=3$)

HIFU 联合方案	牛肝组织消融体积(mm^3)	EEF(J/mm^3)
PBS	12.48 ± 1.88	34.17 ± 5.02
NP	$24.32 \pm 0.87^*$	$17.29 \pm 0.61^*$
AS1411/PFH-NP	$36.89 \pm 5.00^{* \#}$	$11.53 \pm 1.65^{* \#}$
F 值	46.62	44.07
P 值	<0.001	<0.001

注: *: 与 PBS 组比较 $P<0.05$; #: 与 NP 组比较 $P<0.05$ 表 2 各组处理人乳腺癌 MB-231 细胞后的细胞凋亡率($\%$, $n=3$)

组别	细胞凋亡率
HIFU 组	28.00 ± 1.49
AS1411/PFH-NP 组	$15.17 \pm 0.99^*$
HIFU+AS1411/PFH-NP 组	$71.23 \pm 8.80^{* \#}$
未干预组	$3.39 \pm 0.21^{* \# \&}$
F 值	134.2
P 值	<0.0001

注: *: 与 HIFU 组比较 $P<0.05$; #: 与 AS1411/PFH-NP 组比较 $P<0.05$; &: 与 HIFU+AS1411/PFH-NP 组比较 $P<0.05$

有助于监控 HIFU 消融;这是由于 AS1411/PFH-NP 直径较大,具有液态氟碳内核的空腔结构,可于超声作用下产生背向反射^[9]。

本研究以离体牛肝组织作为实验对象检测 AS1411/PFH-NP 联合 HIFU 消融效果,发现经 HIFU+AS1411/PFH-NP 消融后,牛肝组织凝固性坏死体积显著大于 HIFU+PBS 及 HIFU+NP 消融后,而 HIFU+AS1411/PFH-NP 消融区 EEF 显著低于 HIFU+PBS 及 HIFU+NP 消融区,表明 AS1411/PFH-NP 联合 HIFU 可提高消融能力;分析原因,主要在于 HIFU 辐照使 PFH 发生液气相变,改变了局部声学环境,导致能量沉积增加^[10],且外来空化核亦可增强 HIFU 生物学效应。HIFU 联合 AS1411/PFH-NP 亦能协同杀伤体外 MB-231 细胞、促进肿瘤细胞凋亡,可能由于 AS1411/PFH-NP 增强 HIFU 空化效应、热效应及机械效应,且伴随空化效应产生的高速微射流及剪切力

亦对杀灭肿瘤细胞具有一定作用^[11]。

综上所述,本研究制备的特异性靶向 TNBC AS1411/PFH-NP 可提高体外 HIFU 消融效率。

[参考文献]

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3):209-249.
- [2] FERIL L B, FERNAN R L, TACHIBANA K. High-intensity focused ultrasound in the treatment of breast cancer[J]. Curr Med Chem, 2021, 28(25):5179-5188.
- [3] 陈澄, 宫玉萍, 王志刚, 等. 制备包裹吲哚菁绿和液态氟碳的纳米级双模态造影剂[J]. 中国医学影像技术, 2015, 31(2):186-190.
- [4] GARRIDO-CASTRO A C, LIN N U, POLYAK K. Insights into molecular classifications of triple-negative breast cancer: Improving patient selection for treatment[J]. Cancer Discov, 2019, 9(2):176-198.
- [5] GONG C, YANG B, SHI Y, et al. Factors influencing the ablative efficiency of high intensity focused ultrasound (HIFU) treatment for adenomyosis: A retrospective study[J]. Int J Hyperthermia, 2016, 32(5):496-503.
- [6] 陈杰, 易华容, 王彬, 等. 高强度聚焦超声治疗中的空化及其与回声、热效应之间的关系[J]. 中国医学影像技术, 2009, 25(10):1896-1898.
- [7] ACHARYA S, SAHOO S K. PLGA nanoparticles containing various anticancer agents and tumour delivery by EPR effect[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2011, 63(3):170-183.
- [8] YAZDIAN-ROBATI R, BAYAT P, OROOJALIAN F, et al. Therapeutic applications of AS1411 aptamer, an update review[J]. Int J Biol Macromol, 2020, 155:1420-1431.
- [9] ALIABOUZAR M, KRIPFGANS O D, WANG W Y, et al. Stable and transient bubble formation in acoustically-responsive scaffolds by acoustic droplet vaporization: Theory and application in sequential release[J]. Ultrason Sonochem, 2021, 72:105430.
- [10] 张婷, 李发琪. HIFU 治疗中的空化效应及其应用[J]. 中国医学影像技术, 2007, 23(7):1097-1099.
- [11] CARLISLE R, CHOI J, BAZAN-PEREGRINO M, et al. Enhanced tumor uptake and penetration of virotherapy using polymer stealthing and focused ultrasound[J]. J Natl Cancer Inst, 2013, 105(22):1701-1710.