

· 综述 ·

超声分子成像在肝癌诊治中的研究进展

汤阳 综述 王文平 审校
复旦大学附属中山医院超声科, 上海 200032

【摘要】 肝细胞癌是我国常见的消化系统恶性肿瘤, 超声分子成像能监测特定分子在时间及空间上的分布及细胞的生物学行为, 对肝癌的早期诊断、精确定位及疗效监测具有潜在的应用前景。本文就近年来超声分子成像在肝癌诊治中的研究进展作一综述。

【关键词】 肝细胞癌; 超声; 分子成像

中图分类号: R445.1 文献标志码: A 文章编号: 1008-617X(2015)02-0148-06

Molecular ultrasound imaging of hepatocellular carcinoma TANG Yang, WANG Wenping (Department of Ultrasound, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Correspondence to: WANG Wenping E-mail: puguang61@126.com

【Abstract】 Hepatocellular carcinoma (HCC) is one of the most common tumors in China. Molecular ultrasound imaging can detect temporal and spatial distribution of target molecules and cellular processes at the molecular level. It is a potential imaging technique in early diagnosis, accurate positioning and monitoring therapeutic efficacy of HCC. The progress on molecular ultrasound imaging used in the diagnosis and therapy of HCC is reviewed in the present paper.

【Key words】 Hepatocellular carcinoma; Ultrasound; Molecular imaging

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是常见的消化系统恶性肿瘤, 全球发病率超过62.6万人/年, 每年约60万人死于该病, 而我国HCC患者占全球55%^[1]。其早期诊断困难、转移复发率高、预后差, 严重危害人民的健康。包括HCC在内的绝大多数肿瘤的恶性转变有生长信号自我补充、生长抑制信号敏感性下降、凋亡回避、不断增殖的潜能及持续血管生成等特点, 乃至出现组织侵犯及转移^[2]。这些不同的病理变化会导致不同的特异性抗原或受体分子在肿瘤组织中高表达, 而正常组织中低表达, 甚至不表达^[3]。超声分子成像技术即是将这些高表达的抗原或受体分子的特异性配体包被于超声造影剂表面, 将制成的靶向造影剂注入活体后与体内相应受体结合并停留聚集于靶组织中^[4-5], 增强信号被超声仪器采集和记录, 用以监测特定分子在时间和空间上的分布及细胞的生物学行为。与其他分子成像技术相比, 超声分子成像具有高分辨率、实时成像、无创、低价、无辐射、易普及等优势^[6], 在

HCC的早期诊断、精确定位及疗效监测中具有潜在的应用前景。

1 用于HCC分子成像的超声造影剂及其应用

根据粒径大小, 超声造影剂分为微米级和纳米级超声造影剂。

1.1 微米级超声造影剂及其应用

常见的超声造影剂多为微米级, 是一种用微囊固定气体的微泡, 可大大增强超声的背向散射^[7]。肿瘤血管内皮孔径为380~780 nm^[8], 而微泡直径多在1~5 μm, 不能穿过血管内皮孔进入组织间隙, 因此严格分布在血管内保证了其血池显影剂的特点, 有效避免了微泡在组织间隙非特异性聚积, 降低了非特异性背景信号的干扰。但其仅能标记血管内皮靶点, 从而限制了应用范围^[9]。因此, 近年来的相关研究主要用于集中在肿瘤血管生成及抗血管生成的治疗方面。

新生血管的形成对于体积超过数立方毫米的肿瘤继续生长至关重要, 而微血管密度的增高使肿瘤细胞更易侵入血循环而促进远处转移的发

生^[10]。靶向新生血管并定量探测肿瘤血管不仅能作为肿瘤良恶性程度的判断依据,还可用于直接观察抗肿瘤血管生成的治疗效果,避免了常规方法通过测量肿瘤大小间接判断疗效导致的延迟,以便于早期发现抗血管生成治疗有反应者和无反应者,及时调整治疗方案^[11]。

大量研究证实,血管内皮细胞表达血管内皮生长因子受体2(vascular endothelial growth factor receptor 2, VEGFR2)^[12]、整合素 $\alpha_v\beta_3$ ^[13]、血管细胞黏附分子1(vascular cellular adhesion molecule-1, VCAM-1)^[14]、P选择素^[15]等,与肿瘤血管生成相关。VEGFR2和整合素 $\alpha_v\beta_3$ 是血管生成过程中最具特征性的两个分子标记。VEGFR2是内皮细胞特异性的受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase, RTK), VEGF/VEGFR2轴的激活可触发多种信号通路,引起内皮细胞存活、分裂、迁移和分化,并改变血管通透性^[16], VEGF及其受体在恶性肿瘤中过表达并与临床预后相关。整合素 $\alpha_v\beta_3$ 是多种细胞外基质分子的异二聚体跨膜受体,介导细胞与细胞外基质分子的黏附。与VEGFR2类似,其在新生血管内皮细胞表面大量表达而在静止的内皮细胞极少表达^[17]。另外,在炎症和血管形成过程中内皮因子表达上调,同时对血管生成与重塑、内稳态的维持也有重要作用。对不同实体肿瘤患者的研究发现,内皮因子阳性血管的数量与肿瘤的侵袭和转移相关,与患者的总生存率呈负相关^[18]。Willmann等利用生物素-链霉亲和素相互作用制成携VEGFR2单克隆抗体(简称单抗)靶向微泡造影剂,体外细胞实验显示其与VEGFR2阳性细胞的结合率显著高于非靶向微泡造影剂($P<0.001$),且显著高于与VEGFR2阴性细胞的结合率($P<0.001$)^[19]。除单一靶向造影剂,以VEGFR2与整合素 $\alpha_v\beta_3$ ^[16]、VCAM-1与P选择素^[20]等为靶点的双靶向超声造影剂已研制成功,其与靶细胞亲和力及在肿瘤组织中的增强强度均显著高于单靶点超声造影剂。Sorace等制成同时针对VEGFR2、整合素 $\alpha_v\beta_3$ 及P选择素三靶点超声造影剂,用于早期评价贝伐单抗抑制肿瘤血管生成的疗效。给药第3天造影结果显示,与基线水平相比,治疗组瘤内增强减低15.4%,而对照组则增加56.4%,组间有显著性差异

($P=0.01$)^[21]。

以往的靶向超声造影剂多通过生物素-亲和素桥接法连接特异性抗体与微泡。Pochon等创新性地将VEGFR2特异性异二聚体多肽偶联在脂质微泡表面,制成平均直径1.5 μm 的新型造影剂BR55,不但避免了亲和素和抗体的免疫原性,在体外与多种高表达VEGFR2细胞系均具有高亲和力,而且与VEGFR2在各系细胞表面的分布密度高度一致。将BR55注入荷瘤鼠体内,观察肿瘤组织的超声增强效果,注入10 min后循环中的微泡基本清除,而瘤体仍表现为增强的高亮图像,提示BR55能特异性聚集于靶组织^[22]。Grouls等建立转基因小鼠肝脏不典型增生模型,应用BR55和商业化的临床超声造影剂SonoVue进行肝脏造影。结果显示,肝脏不典型增生BR55的增强强度显著高于正常肝脏($P=0.005$),与免疫组化VEGFR2高表达相一致($P=0.02$),而SonoVue造影表现在不典型增生肝脏与正常肝脏中无显著差异($P>0.99$)^[23]。

1.2 纳米级超声造影剂及其应用

纳米级超声造影剂通常是粒径 $<1\ 000\ \text{nm}$ 的超声造影剂,包括纳米级脂质体造影剂(liposomal agent)、纳米级氟碳乳剂(perfluorocarbon-emulsion nanoparticle)及纳米级微泡造影剂(nano-scale microbubble contrast agent)^[24],能穿过血管内皮进入组织间隙,使血管外靶组织显像成为可能,极大地扩大了超声分子成像的应用范围及临床价值。另一方面,肿瘤周围组织的渗透性比正常组织大,大分子物质较易进入并积聚于肿瘤细胞附近,实现肿瘤的被动靶向,称为高通透性和滞留(enhanced permeability and retention, EPR)效应^[25],纳米级造影剂能通过这种作用产生更好的增强效应。同时,越来越多的研究显示,直接对肿瘤细胞及其微环境显像有重要意义。血液、淋巴管、基质细胞和细胞外基质共同构成肿瘤微环境,支持着肿瘤细胞的存活、侵袭和远处转移,因此识别有转移倾向肿瘤的特异性微环境和分子通路进行生物标记就可能对有利于转移的微环境进行成像^[26]。绝大多数HCC细胞表面蛋白在肿瘤侵袭和转移过程中均出现糖基化修饰,因此细胞表面糖蛋白能提供HCC诊断和

治疗的重要信息,也是潜在的生物标记和治疗靶点^[27]。然而,纳米级造影剂用于HCC的分子成像还处于初步研究阶段。Li等自制得到平均直径507.9 nm的纳米泡(nanobubble),在体外能产生明显增强的超声图像,因其稳定性的限制在体内仅表现为轻度增强^[28]。Mai等将Cy5.5纳米泡用于裸鼠肝癌H22细胞皮下移植瘤模型的肿瘤选择性成像,注入纳米泡后能特异性地在肿瘤组织聚集并出现环状增强的表现,增强时间维持2 h以上^[29]。尽管研究者们对纳米级超声造影剂的应用进行了多方面尝试,但纳米泡的体内稳定性、声学特性、表面修饰靶向亲和分子及向临床应用的转化等还有待进一步研究。

1.3 相变超声造影剂及其应用

纳米级氟碳乳剂在血液中流动时仅表现为回声极低的细微散射体,大量聚集于靶病灶中才能产生明显增强的回声^[30],单靠这种聚集显像并不能呈现理想的超声增强效果。因此,国内外研究者提出利用液态氟碳的声致相变(acoustic droplet vaporization, ADV)增强回声信号,并展开了针对相变造影剂(phase-change contrast agent, PCCA)的研究^[31-32]。相变超声造影剂通常由纳米级或微米级的包裹液态氟碳的微球组成,在足够的声能量作用下发生液气相转变形成气态微泡而增强超声显像效果。相变造影剂因其独特的性质既可用于血管内显像,又可进入血管外间隙对肿瘤间质进行显像^[33]。Asami等将对新生血管和肿瘤细胞均有亲和力的抗体V1-24-1与相变纳米颗粒(phase-change nanoparticle, PCNP)相连,观察体外与体内的显像,发现靶向相变纳米颗粒在体外能与内皮细胞选择性结合。将靶向和非靶向相变纳米颗粒分别注入荷瘤CDF-1小鼠体内,与非靶向组相比,靶向组注射5 min后在聚焦超声辐照下能诱导产生更多微泡,且显像时间窗延长85%^[34]。Sheeran等利用微泡冷凝技术制成由低沸点氟碳构成并靶向 $\alpha_v\beta_3$ 的纳米级相变造影剂,在体外与靶细胞特异性结合且激活后能被临床超声仪器检出,并能达到非靶向相变造影剂6倍、基线水平50倍的增强强度^[35],为血管内及血管外组织间隙的超声分子成像奠定了基础。

2 HCC的多模态超声分子成像研究进展

多模态超声分子成像是将超声造影剂与另外一种或多种显像功能的分子探针相结合并注入机体,通过超声等多种成像技术的检测,以获得病变部位分子水平的结构、功能及代谢等多种信息,不仅能从分子和细胞水平对肿瘤的各种病理生理变化进行定性和定量检测,还能将各种成像技术进行优势互补以达到最佳诊断效能^[36]。此外,微泡破坏引发的声致孔隙(声孔)效应能提高结合在微泡表面的其他成像技术特异性分子的增强效果及显像范围(如穿透血脑屏障及细胞膜等)。同时,其他成像技术中多数能全身显像并定量,可用于研究完整微泡及其碎片的生物分布与清除。

多模态超声分子成像的实现及向临床应用的转化依赖多模态超声微泡和疾病分子探针的研发。近年来,国内外研究者制备出融合有各种其他显像剂的超声微泡。微泡进入血循环,形成气液交界面,能产生较大的局部磁化率差异而用于增强MRI。利用聚焦超声击破微泡而减少这种磁化率差异,能实现对MRI信号在时间和空间上的操控。基于以上假设,Chow等应用实验室制备的白蛋白微泡和SonoVue分别对大鼠肝脏进行MRI,证实在7.0T的磁域中具有与常见的MRI血池对比剂相似的T2加权相;进一步将单晶氧化铁纳米粒子与微泡相结合,体外实验显示微泡的敏感性显著提高,且使用剂量相应降低^[37]。Yang等利用超顺磁性氧化铁颗粒(superparamagnetic iron oxide, SPIO)嵌入超声微泡高分子外囊并充以氦气核心,制成平均直径约3.98 μm 的MRI-超声双模态造影剂。随着嵌入的SPIO浓度增高,超声微泡的体外回声先增强后减弱。将其用于大鼠肝脏MRI,增强信号在注入60 min后达峰值,至70 min开始缓慢下降,较未嵌入SPIO微泡者增强时间明显延长,且微泡在体内破坏释放的SPIO在肝脏中积聚,进一步延长增强持续时间^[38]。Mai等研制的Cy5.5纳米泡超声-荧光双模态显像剂,用于裸鼠肝癌H22细胞皮下移植瘤模型的肿瘤选择性成像。静脉注入Cy5.5纳米泡后观察,发现肿瘤特异性的回波信号能维持2 h,同时荧光信号持续至24 h,整个移植瘤或孤立的肿瘤组织均能见到显著增强的荧光信号,而肝脏组

织未见明显荧光信号。进一步体外细胞实验证实, Cy5.5荧光染料在肿瘤细胞的聚积源自纳米泡独特的壳聚糖-维生素C交联结构(crosslinked chitosan-vitamin C lipid system)^[29]。Song等通过简易的自制途径制备Fe₃O₄纳米粒子多聚物混合微泡。该途径由两步构成: 氧化铁纳米粒子多聚体混合物微囊的自制过程, 以及充气步骤产生最终的微泡。体内外实验证实, 该新型微泡对T2加权增强MRI和超声造影均有较好的显像效果^[39]。Huynh等首次制备成功同时具有超声成像、光声成像及荧光显像特性的三模态微泡, 其成像效果在荷瘤鼠中得到证实, 并具有向MRI和核显像领域拓展的潜力^[40]。另外, Ke等则对HCC的多模态分子成像探针进行初步研究, 将用于新生血管(RGD肽)、基质金属蛋白酶和葡萄糖转运(¹⁸F-FDG)成像的各种显像剂制成的混合物用于HCC的体内和体外多模态显像研究。结果显示, 同一HCC移植瘤包含多种分子标记, 且每种显像剂均能与其中的一种特异性结合; 另外, 这些分子标记在同一肿瘤中呈不均匀分布, 在全身和肿瘤结节内的分布也不同^[41]。

3 超声分子成像在HCC治疗中的应用

靶向超声造影剂不仅参与多模态成像以弥补各成像技术的不足, 利用各种成像技术的优势以获得更多的生物学信息, 还能作为运载药物和治疗基因的载体, 选择性滞留于目标组织形成较高的药物浓度以增强疗效。另外, 大量研究证实声波照射能提高感兴趣区内细胞对药物和基因的摄取, 在有微泡存在的情况下这种效应尤其明显^[42-44]。Ren等将自制的载多西紫杉醇微泡和SonoVue分别用于动物肝脏超声造影, 结果显示两种超声微泡造影剂在肝脏中的增强相似, 但自制载药微泡的灌注时间和达峰时间均早于SonoVue, 从循环中清除的时间则晚于SonoVue。进一步的体外实验发现, 低频超声照射载多西紫杉醇微泡治疗组对肿瘤细胞的抑制作用显著强于单独多西紫杉醇治疗或低频超声照射单纯微泡组($P < 0.002$)^[45]。此外, Tang等通过构建裸鼠HCC皮下移植瘤模型, 瘤内注射自杀基因KDR-TK、AFP-TK和微泡后进行超声治疗, 并注入前药更昔洛韦和5-氟胞嘧

啶, 监测肿瘤体积、抑瘤率、生存时间、肿瘤细胞凋亡。结果显示, 治疗组与对照组的肿瘤大小和生存时间无显著差异($P > 0.05$), 而治疗组抑瘤率和凋亡细胞数显著高于对照组($P < 0.05$)^[46]。杨健等应用生物素-亲和素桥接法制备了携肝癌DR5单抗的载多西紫杉醇靶向脂质微泡(docetaxel-loaded lipid microbubble, DLLM), 该载药微泡平均粒径为1 232 nm, 平均载药量可达25.3%。体外寻靶实验显示, DR5-DLLM能紧密结合于HepG2细胞周围, 而非靶向DLLM与HepG2细胞无明显特异性结合。因此, DR5-DLLM可作为一种新型高效的HCC超声分子成像的靶向药物载体, 用于HCC的诊治^[47]。Wang等构建了以液态全氟化碳为核心的聚乳酸羟基乙酸[poly(lactide-co-glycolic acid), PLGA]超声相变造影剂, 对肿瘤的光声成像进行初步尝试^[48]。光声成像是基于光声效应的混合模式生物医学成像方法, 以短脉冲激光照射成像部位, 部分被吸收的光能转化为热能, 使组织发生热弹性膨胀, 形成的MHz级宽带超声波发射可被超声换能器检测^[49]。Wang等通过激光辐照包含在全氟化碳液滴中的光吸收体, 诱导PLGA粒子气化产生光声信号。结果显示, 激光通量的增加较气化反应更能增强光声信号强度, 而聚焦荧光显像观察发现PLGA粒子能进入肿瘤细胞内部并气化形成气泡, 导致肿瘤细胞破坏, 为光声成像及光学激发的给药系统开辟了一条新思路。

综上所述, 超声分子成像用于HCC的诊治还处于初步研究阶段, 关键在于特异性分子探针的研发和靶向超声造影剂的构建, 以及安全性、有效性的检验。既往研究已取得许多突破性进展, 包括新型多功能多模态超声造影剂的制备、HCC特异性靶点的识别、超声微泡介导下的给药系统等, 超声分子成像技术正逐步向HCC诊治的临床实际应用转化。

参考文献

- [1] 中国抗癌协会肝癌专业委员会, 中国抗癌协会临床肿瘤学协作委员会, 中华医学会肝病学会分会肝癌学组. 原发性肝癌规范化诊治专家共识 [J]. 临床肿瘤学杂志, 2009, 14(3): 259-269.
- [2] TÁRNOK A, BOCSI J, BROCKHOFF G, et al.

- Cytomics—importance of multimodal analysis of cell function and proliferation in oncology [J]. *Cell Prolif*, 2006, 39(6): 495–505.
- [3] 靳玉慎, 柯亨特, 戴志飞. 多功能超声造影剂 [J]. *化学进展*, 2012, 24(12): 2424–2430.
- [4] PATEL R M. Microbubble: a potential ultrasound tool in molecular imaging [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2008, 9(5): 406–410.
- [5] 缪昭华, 李光明, 柯亨特, 等. 超声分子成像的研究进展 [J]. *现代生物医学进展*, 2014, 14(27): 5372–5376.
- [6] DESHPANDE N, NEEDLES A, WILLMANN J K. Molecular ultrasound imaging: current status and future directions [J]. *Clin Radiol*, 2010, 65(7): 567–581.
- [7] ZHANG J. 超声造影剂SonoVue [J]. *中国医疗器械信息*, 2004, 10(3): 14–15.
- [8] HOBBS S K, MONSKEY W L, YUAN F, et al. Regulation of transport pathways in tumor vessels: role of tumor type and microenvironment [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(8): 4607–4612.
- [9] KIESSLING F, FOKONG S, BZYL J, et al. Recent advances in molecular, multimodal and theranostic ultrasound imaging [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2014, 72: 15–27.
- [10] CHU S C, YU C C, HSU L S, et al. Berberine reverses epithelial-to-mesenchymal transition and inhibits metastasis and tumor-induced angiogenesis in human cervical cancer cells [J]. *Mol Pharmacol*, 2014, 86(6): 609–623.
- [11] BEX A, FOURNIER L, LASSAU N, et al. Assessing the response to targeted therapies in renal cell carcinoma: technical insights and practical considerations [J]. *Eur Urol*, 2014, 65(4): 766–777.
- [12] ZHONG L, FU X Y, ZOU C. A preclinical evaluation of a novel multikinase inhibitor, SKLB-329, as a therapeutic agent against hepatocellular carcinoma [J]. *Int J Cancer*, 2014, 135(12): 2972–2983.
- [13] STOELTZING O, LIU W, REINMUTH N, et al. Angiogenesis and antiangiogenic therapy of colon cancer liver metastasis [J]. *Ann Surg Oncol*, 2003, 10(7): 722–733.
- [14] BAILEY R L, HERBERT J M, KHAN K, et al. The emerging role of tetraspanin microdomains on endothelial cells [J]. *Biochem Soc Trans*, 2011, 39(6): 1667–1673.
- [15] TRANQUART F, ARDITI M, BETTINGER T, et al. Ultrasound contrast agents for ultrasound molecular imaging [J]. *Z Gastroenterol*, 2014, 52(11): 1268–1276.
- [16] WILLMANN J K, LUTZ A M, PAULMURUGAN R, et al. Dual-targeted contrast agent for US assessment of tumor angiogenesis in vivo [J]. *Radiology*, 2008, 248(3): 936–944.
- [17] SOMANATH P R, MALININ N L, BYZOVA T V. Cooperation between integrin alphavbeta3 and VEGFR2 in angiogenesis [J]. *Angiogenesis*, 2009, 12(2): 177–185.
- [18] LÓPEZ-NOVOA J M, BERNABEU C. The physiological role of endoglin in the cardiovascular system [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2010, 299(4): H959–H974.
- [19] WILLMANN J K, PAULMURUGAN R, CHEN K, et al. US imaging of tumor angiogenesis with microbubbles targeted to vascular endothelial growth factor receptor type 2 in mice [J]. *Radiology*, 2008, 246(2): 508–518.
- [20] FERRANTE E A, PICKARD J E, RYCHAK J, et al. Dual targeting improves microbubble contrast agent adhesion to VCAM-1 and P-selectin under flow [J]. *J Control Release*, 2009, 140(2): 100–107.
- [21] SORACE A G, SAINI R, MAHONEY M, et al. Molecular ultrasound imaging using a targeted contrast agent for assessing early tumor response to antiangiogenic therapy [J]. *J Ultrasound Med*, 2012, 31(10): 1543–1550.
- [22] POCHON S, TARDY I, BUSSAT P, et al. BR55: a lipopeptide-based VEGFR2-targeted ultrasound contrast agent for molecular imaging of angiogenesis [J]. *Invest Radiol*, 2010, 45(2): 89–95.
- [23] GROULS C, HATTING M, RIX A, et al. Liver dysplasia: US molecular imaging with targeted contrast agent enables early assessment [J]. *Radiology*, 2013, 267(2): 487–495.
- [24] 张勇, 王志刚. 纳米级超声造影剂的研究进展 [J]. *临床超声医学杂志*, 2007, 9(2): 105–106.
- [25] KOBAYASHI H, WATANABE R, CHOYKE P L. Improving conventional enhanced permeability and retention (EPR) effects; what is the appropriate target? [J]. *Theranostics*, 2013, 4(1): 81–89.
- [26] BHUJWALLA Z M. Imaging the tumor microenvironment: an ever-changing landscape [J]. *J Nucl Med*, 2013, 54(1): 28–29.
- [27] MI W, JIA W, ZHENG Z. Surface glycoproteomic analysis of hepatocellular carcinoma cells by affinity enrichment and mass spectrometric identification [J]. *Glycoconj J*, 2012, 29(5–6): 411–424.
- [28] LI C F, WU K Z, LI J, et al. A preliminary evaluation of self-made nanobubble in contrast-enhanced ultrasound imaging [C]. *Proceedings of SPIE*, San Diego, CA: SPIE, 2014.
- [29] MAI L Y, YAO A, LI J, et al. Cyanine 5.5 conjugated nanobubbles as a tumor selective contrast agent for dual

- ultrasound-fluorescence imaging in a mouse model [J]. PLoS One, 2013, 8(4): e61224.
- [30] 李奥, 王志刚. 液态氟碳纳米粒——一种多功能影像学造影剂 [J]. 临床超声医学杂志, 2008, 10(12): 830-832.
- [31] SHEERAN P S, ROJAS J D, PUETT C, et al. Contrast-enhanced ultrasound imaging and in vivo circulatory kinetics with low-boiling-point nanoscale phase-change perfluorocarbon agents [J]. Ultrasound Med Biol, 2015, 41(3): 814-831.
- [32] DOINIKOV A A, SHEERAN P S, BOUAKAZ A, et al. Vaporization dynamics of volatile perfluorocarbon droplets: a theoretical model and in vitro validation [J]. Med Phys, 2014, 41(10): 102901.
- [33] SHEERAN P S, DAYTON P A. Improving the performance of phase-change perfluorocarbon droplets for medical ultrasonography: current progress, challenges, and prospects [J]. Scientifica (Cairo), 2014, 2014: 579684.
- [34] ASAMI R, AZUMA T, YOSHIKAWA H. Tumor enhanced imaging and treatment with targeted phase-change nano particles [C]. Ultrasonics Symposium Proceedings, New York, NY: IEEE, 2007.
- [35] SHEERAN P S, STREETER J E, MULLIN L B, et al. Toward ultrasound molecular imaging with phase-change contrast agents: an in vitro proof of principle [J]. Ultrasound Med Biol, 2013, 39(5): 893-902.
- [36] 周晖, 吴俊娇, 范洁琳, 等. 多模态分子影像技术应用于肿瘤的研究进展 [J]. 中国医学影像学杂志, 2011, 10: 794-797.
- [37] CHOW A M, CHEUNG J S, WU E X. Gas-filled microbubbles—a novel susceptibility contrast agent for brain and liver MRI [J]. Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc, 2009, 2009: 4049-4052.
- [38] YANG F, LI Y, CHEN Z, et al. Superparamagnetic iron oxide nanoparticle-embedded encapsulated microbubbles as dual contrast agents of magnetic resonance and ultrasound imaging [J]. Biomaterials, 2009, 30(23-24): 3882-3890.
- [39] SONG S, GUO H, JIANG Z, et al. Self-assembled Fe_3O_4 /polymer hybrid microbubble with MRI/ultrasound dual-imaging enhancement [J]. Langmuir, 2014, 30(35): 10557-10561.
- [40] HUYNH E, JIN C S, WILSON B C, et al. Aggregate enhanced trimodal porphyrin shell microbubbles for ultrasound, photoacoustic, and fluorescence imaging [J]. Bioconj Chem, 2014, 25(4): 796-801.
- [41] KE S, ZHANG F, WANG W, et al. Multiple target-specific molecular imaging agents detect liver cancer in a preclinical model [J]. Curr Mol Med, 2012, 12(8): 944-951.
- [42] FERRARA K, POLLARD R, BORDEN M. Ultrasound microbubble contrast agents: fundamentals and application to gene and drug delivery [J]. Annu Rev Biomed Eng, 2007, 9: 415-447.
- [43] FERRARA K W. Driving delivery vehicles with ultrasound [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2008, 60(10): 1097-1102.
- [44] VAN WAMEL A, BOUAKAZ A, VERSLUIS M, et al. Micromanipulation of endothelial cells: ultrasound-microbubble-cell interaction [J]. Ultrasound Med Biol, 2004, 30(9): 1255-1258.
- [45] REN S T, LIAO Y R, KANG X N, et al. The antitumor effect of a new docetaxel-loaded microbubble combined with low-frequency ultrasound in vitro: preparation and parameter analysis [J]. Pharm Res, 2013, 30(6): 1574-1585.
- [46] TANG Q, HE X, LIAO H, et al. Ultrasound microbubble contrast agent-mediated suicide gene transfection in the treatment of hepatic cancer [J]. Oncol Lett, 2012, 4(5): 970-972.
- [47] 杨健, 康娟, 曾妍. 载多烯紫杉醇靶向脂质微泡的制备及其体外寻靶能力 [J]. 中国生物制品学杂志, 2012, 25(7): 873-876.
- [48] WANG Y J, STROHM E M, SUN Y, et al. PLGA/PFC particles loaded with gold nanoparticles as dual contrast agents for photoacoustic and ultrasound imaging [C]. Proceedings of SPIE, San Francisco, CA: SPIE, 2014.
- [49] 王志刚. 超声分子成像研究进展 [J]. 中国医学影像技术, 2014, 30(8): 1125-1126.

(收稿日期: 2015-03-03 修回日期: 2015-03-24)