

超声造影剂在肾细胞癌中的研究进展

葛胜东¹ 邵胜^{1△}

[摘要] 肾细胞癌是常见的泌尿系统恶性肿瘤。目前肾细胞癌的诊断、治疗主要通过 CT 检查、外科手术及术后化疗等方法实现。肾细胞癌超声微泡造影剂具有器官或组织靶向性、增强显像和血管穿透性。可以携带药物或基因穿过肿瘤血管外组织并且诱导释放,有效地增强传递同时减少不良反应,促进了肾细胞癌在分子水平治疗的发展。

[关键词] 超声;微泡造影剂;肾细胞癌;诊断;治疗

DOI:10.13201/j.issn.1001-1420.2021.04.018

[中图分类号] R737.11 **[文献标志码]** A

Advance of ultrasound microbubble contrast agents in renal cell carcinoma

GE Shengdong TAI Sheng

(Department of Urology, First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei, 230000, China)

Corresponding author: TAI Sheng, E-mail: taishengwk@163.com

Abstract Renal cell carcinoma is a common malignant tumor of the urinary system. At present, the diagnosis and treatment of renal cell carcinoma are mainly achieved by CT examination, surgery, and postoperative chemotherapy. Renal cell carcinoma ultrasound microbubble contrast agent has organ or tissue targeting, enhanced imaging, and strengthened vascular permeability. It can carry drugs or genes through the extravascular tissue of tumors and induce release, effectively enhance delivery and reduce side effects, and promote the development of renal cell carcinoma treatment at the molecular level.

Key words ultrasound; microbubble contrast agent; renal cell carcinoma; diagnosis; treatment

肾细胞癌(renal cell carcinoma, RCC)是一种常见的泌尿系恶性肿瘤。其发病率在男性和女性肿瘤中分别位居第 6 位和第 10 位,以男性为主,男女比例为 1.5 : 1.0,在 60~70 岁时达到高峰^[1]。具有典型临床症状的 RCC 患者不多,导致患者在确诊时有多达 17% 的患者已有远处转移^[2]。尽管在过去的数十年里 RCC 的诊断和治疗有了明显的提升,但对于晚期或远处转移的 RCC 患者,放化疗的敏感性差,治疗难度大且预后差。因此当前迫切需要新的方法和技术来提升 RCC 的诊断和治疗水平。随着超声技术和分子生物学的不断发展,超声造影剂作为一种超声显像工具被应用于超声治疗检测当中,增强了医学成像能力,并提高了超声造影诊断的可信度和精准度^[3]。载化疗药物的微泡作为一种新型的超声造影剂,通过超声破坏微泡,靶向释放药物的高度特异性的靶向治疗方法使其应用前景十分广阔。鉴于超声介导微泡给药技术的安全性、低毒性和高效性,使得超声成像技术在肿瘤诊断、治疗中的应用研究也越来越广泛^[4]。因此,本文将重点综述超声微泡造影剂在 RCC 的诊断和治疗中的研究现状,并进行总结和进一步

展望。

1 超声微泡造影剂

微泡(microbubbles, MBs)是近几十年来出现的一种有前途的超声造影剂和药物载体。是目前应用于临床的超声造影剂使用最多的载体。与其他造影剂载体相比,MBs 结合超声的优点是能够精确地释放治疗药物到肿瘤部位。经超声照射后,产生“空化效应”,导致 MBs 的破裂,从而在肿瘤部位释放药物,使药物疗效最大化同时降低药物毒性^[5]。MBs 主要是通过外壳稳定,通常 MBs 的外壳主要是由蛋白质、脂质或聚合物组成。传统的脂质 MBs 药物包封率较差,不稳定,在血液中停留时间短,且载药量低^[6]。有研究报道了添加聚合物能提高 MBs 的稳定性,但其在对比成像和超声触发药物释放方面能力较弱^[7-9]。近年来,各种更持久、稳定的新型超声造影剂被研发出来。Chen 等^[10]研发了一种新型的载阿霉素多孔脂质与 PLGA 混合型 MBs,获得了较高的药物包封率,通过将脂质与碳酸氢铵结合软化外壳,使其更容易受到超声辐照。在带瘤小鼠体内成功实现了超声实时跟踪药物递送和实时控制药物释放。Luo 等^[11]制备了包裹 pH 敏感纳米颗粒的 MBs 复合物,结果表明该 pH 敏感性纳米颗粒稳定性能较好,且在抑制细胞增殖、诱导细胞凋亡和抗肿瘤血管生成的实验中具有较高的肿瘤生长抑制率。最近,各种碳纳米材料

¹ 安徽医科大学第一附属医院泌尿外科(合肥,230000)

[△] 审校者

通信作者:邵胜, E-mail: taishengwk@163.com

造影剂被广泛研发,由于其氧化官能团具有优异的水溶性和良好的理化稳定性,且制造成本低而受到学者们的喜爱^[12-14]。这些新型载药 MBs 造影剂性能越来越全面,不仅具有良好的稳定性和药物包封率,同时解决了对比成像和药物释放率差的问题。

2 超声联合 MBs 造影剂的增益

2.1 增强显像

在过去二十年里,MBs 造影剂的快速发展增强了超声成像的能力。多项研究表明超声造影剂显著地增强了超声显像能力。Zullino 等^[15]的研究表明,纳米级 MBs 造影剂能够从肿瘤血管中渗出增多导致信号增加,从而使得肿瘤显像时间更长。阳孟君等^[16]进行了携带 G250 单克隆抗体的纳米 MBs 靶向 RCC 的体内外实验研究,结果表明靶向纳米 MBs 相较于空白 MBs 在 RCC 的裸鼠模型的显影效果存在着显著性差异,G250 纳米 MBs 能特异性的结合 G250 表达阳性的 RCC 细胞,明显的增强肿瘤超声显影。Li 等^[17]探究了低强度聚焦超声 (low-intensity focused ultrasound, LIFU) 辐射联合靶向纳米粒子超声分子成像,证明了 LIFU 诱导的相移 PFP/PLGA-PEG-FA 纳米级造影剂可以显著增强超声成像。随着各种超声 MBs 造影剂性能的全面提升,不仅增强了超声成像的分辨率,而且显著延长了超声显像的时间。

2.2 递送药物

超声 MBs 造影剂作为抗肿瘤药物的治疗载体进行体内药物传递的研究发展迅速,在超声的辅助下通过可控方式来实现定向给药,提高局部药物浓度,减少不良反应^[18]。研究表明,超声介导靶向给药 (ultrasound-mediated targeted delivery, UMTD) 是一种无创的新型的给药的方式,能将药物/基因从 MBs 中释放出来,从而获得更高的局部组织药物或基因浓度,实现有效的药物或基因递送^[19]。Min 等^[20]制备了靶向肿瘤的乙二醇壳聚糖纳米颗粒 MBs 造影剂,其内包裹了一种抗肿瘤药物和全氟戊烷。发现该纳米颗粒具有明显的靶向肿瘤的能力。最近,有研究表明用低频超声进行抗血管生成药物的递送,可有效提升抗肿瘤能力。Zhu 等^[21]成功地研发了一种新型靶向载药相变纳米颗粒 (tLyP-1-10-HCPT-PFP NPs),建立了三维球状体来模拟实体瘤的微环境。在生理温度下,液态纳米滴转化为 MBs,利用低强度聚焦超声照射纳米颗粒靶向释放药物,结果表明药物深入血管外肿瘤组织,穿透细胞外基质和细胞膜进入细胞质,显著增加了肿瘤内的药物积聚。这些研究表明超声联合 MBs 造影剂技术能够实现定向给药、提高局部给药浓度和减少不良反应,已成为药物给药领域的研究热点。

3 超声 MBs 造影剂在 RCC 中的研究进展

3.1 诊断和治疗的监测

RCC 有 4 种主要的亚型:透明细胞癌、乳头状 I 型、乳头状 II 型和嫌色细胞癌,以透明细胞性 RCC 最常见,约占 75%^[22]。由于不同的亚型有不同的预后,且涉及不同的治疗方案。因此诊断 RCC 亚型也是临床的需要。虽然 CT 和 MRI 可以用于评估实体肿块的恶性程度等,但不能充分解决多种类型的肾脏肿瘤的组织学特征,包括肿瘤中血管和囊性病变、坏死、碎片和出血区域等。对比增强超声 (contrast-enhanced ultrasound, CEUS) 是一种安全、低成本且广泛应用的技术。目前的证据表明,CEUS 可准确鉴别实性与囊性肾肿块,恶性与良性肾损害;非常适用于显示与肾肿块相关的肿瘤微血管分布,是常规超声的有效补充^[23-25]。此外,先前的研究^[26-29]表明,CEUS 是区分 RCC 不同亚型肿瘤的一种有效方法。

当前 RCC 的治疗监测手段匮乏,没有特定的客观检测标准及生物标志物。Calio 等^[30]通过二维和三维 CEUS 对消融后 RCC 复发的监测效果进行了研究,结果显示 CEUS 成功的鉴别出了所有复发的 RCC 的病例,证明了 CEUS 有望成为 RCC 治疗的监测手段。有学者建立了一种动态对比增强超声 (dynamic contrast-enhanced ultrasound, DCE-US) 的 RCC 微血管灌注模型,用于监测抗血管生成治疗的效果^[31-32]。可以非侵袭性的描述癌变的血管结构,通过测量血容量的变化来预测接受抗血管新生治疗的转移性 RCC 患者的预后情况,从而调整和改善预后较差患者的临床治疗方案。此外,有学者研究在 MBs 造影剂的外壳上添加抗体或多肽等靶向配体,可以实现超声分子成像 (ultrasound molecular imaging, USMI)。并且发现 USMI 能够监测癌症抗血管生成治疗的反应^[33-35]。虽然以上研究结果均支持超声联合 MBs 造影剂可用作 RCC 患者的预后监测,但目前尚处于基础研究阶段,多用于动物实验,在应用于临床之前还需要进行更多的研究来进一步提高 CEUS 在肿瘤治疗监测方面的有效性和准确性。

3.2 治疗

传统药物疗法的一个重要挑战是细胞毒性药物在体内的非特异性分布,导致治疗效果下降和全身不良反应。超声联合 MBs 造影剂能够精准地在血管病理部位实施靶向给药,提高局部给药效果,获得较高的精确度和准确性。同时减少了化疗药物使用量,显著降低了药物剂量和毒性^[3]。这项技术也越来越多地被应用于 RCC 的治疗研究中。

3.2.1 超声 MBs 载化疗药物靶向治疗 RCC

RCC 的特征是基因突变导致的血管生成增加,同时上调了多种促血管生成因子。因此,抗血管生成

药物是 RCC 最常见的治疗药物之一。化疗药物在肿瘤组织中的有效浓度会直接影响化疗的效果。虽然化疗能够有效抑制肿瘤细胞的生长,但由于血液循环,在体内排泄迅速。因此静脉给药量通常较大,全身不良反应大。舒尼替尼具有抗肿瘤和抗血管生成的作用,可用于转移性 RCC 的治疗。然而舒尼替尼具有许多药物不良反应,如血液毒性、皮肤毒性和胃肠道反应等,很大程度上影响了舒尼替尼的临床应用。近年来,超声介导 MBs 给药在肿瘤靶向化疗中的应用的的发展有助于改善舒尼替尼的临床使用情况。在应用于临床之前,对载舒尼替尼 MBs 的研究是必要的。有研究表明,载舒尼替尼的脂质体 MBs 对 RCC 株 GRC-1 具有明显的生长抑制和诱导肿瘤细胞凋亡的作用^[36]。Hu 等^[37]进行了载舒尼替尼 MBs 靶向治疗 RCC 疗效的研究,将 GRC-1 细胞系用于体外研究,裸鼠肿瘤模型用于体内评估。结果表明该方法在体内外均能显著地抑制 RCC 的发生。同时验证了通过超声照射,实现载舒尼替尼聚合物 MBs 的靶向释放用于肿瘤治疗的有效性和可行性。由此可见,超声联合 MBs 给药可增强药物递送效率的同时降低了使用化疗药物的不良反应,明显的抑制 RCC 的肿瘤细胞生长。由于大大减少了药物的使用剂量,此方法可潜在的适用于肾衰竭的患者,但需要进一步的实验验证。超声联合 MBs 给药是一种安全有效的治疗方法,对于 RCC 的治疗有潜在的广泛应用前景。

3.2.2 超声 MBs 介导基因治疗 RCC 近年来,随着基因工程的不断发展和肿瘤分子发病机制的逐步研究,基因治疗已成为一种有希望的且有效的肿瘤治疗策略。可通过将外源治疗性基因转染到肿瘤细胞或选择性沉默癌基因改变基因表达从而治疗肿瘤^[38-39]。基因治疗也逐渐开始被广泛应用于 RCC 的治疗研究之中^[40]。在基因治疗中,转基因载体是必不可少的,要求其具有高转染效率、低毒性、不良反应小及稳定转染基因表达的能力;成功的关键取决于转染效率和将遗传物质顺利地转入细胞。已有学者研究表明^[41],UMTD 用于基因靶向治疗可以显著增强基因转染效率,提高特定组织的基因表达水平和药物浓度,是一种安全、简便、高效的靶向性基因转染及药物治疗的新方法。其原理是将基因插入或连接到 MBs 表面相结合形成复合体,然后将其注入体循环,然后用超声照射靶区,促进基因载体进入组织。有相关文献报道了此方法可通过转染病毒和非病毒载体来进行 RCC 的治疗^[41]。

重组腺相关病毒 (adeno-associated virus, rAAV) 是一种低免疫原性、表达稳定的转基因治疗病毒载体。但是 rAAV 在非扩增转移至 RCC 的效率较低,限制了其在 RCC 中的应用。Li 等^[42]通

过用 rAAV2 对 RCC 细胞在不同条件下进行 UTMD 处理,分析其病毒转移效率核细胞活力。然而,发现联合 UTMD 治疗后,病毒转移效率提高了 2~3 倍的,并提高了病毒基因组 DNA 9 倍多,且不影响细胞活力;体外研究也显示了 rAAV2 在肿瘤中的转移显著地增加,导致肿瘤生长受到明显抑制。该研究提示了 UTMD 介导基因治疗未来有可能成为 RCC 有效治疗手段之一^[43]。

非病毒载体具有非免疫原性、毒性低、使用简单等优点,是抑制内源性蛋白表达最有效的方法之一。然而大多数非病毒载体的缺点是其转染效率极低、表达时间短和靶向性差^[44-45]。超声造影技术可以利用超声波进行基因传递,具有显著改善靶向性和控制释放的潜力。能通过短暂性的打开孔膜及瞬时增加生物膜的通透性,从而促进 DNA 进入肿瘤细胞,显著地提高转染效率。Suzuki 等^[46]评估了 UMTD 传递 IL-12 系质粒 DNA 的有效性,结果显示在局部肿瘤组织中实现了 IL-12 的高浓度聚集。Zhou 等^[47]成功的通过阳离子 MBs 转染 CD105 基因,研究发现载 CD105 抗体的 MBs 能够很容易的靶向肿瘤细胞,进而抑制肿瘤新生血管形成。Park 等^[48]使用超声造影剂评估了 ANT2 shRNA 递送的抗肿瘤效果,结果表明超声联合造影剂的使用明显提高了 ANT2 shRNA 复合物在体内的传递效率,有效地抑制了肿瘤生长;他们同时评估了使用药物和材料的急性肝、肾毒性,证明了实验所用的所有材料均在正常范围内,不会造成组织损伤。Kopechek 等^[49]成功地将阳离子脂质 MBs 与信号转换器和转录激活因子 STAT3 基因结合。在乙二醇修饰基因后,他们将核酸与 MBs 混合在磷脂酰胆碱溶液中,并进行了体内外实验。结果得出,前者显示 MBs 抑制了肿瘤细胞 STAT3 信号通路,后者表明显著地抑制了小鼠肿瘤生长。UMTD 技术是一种高效的非病毒的转染方法,可以将治疗基因以一种简单的、非侵入性的方式靶向转移到肿瘤部位,显著地提高了肿瘤治疗效率。

4 总结与展望

综上所述,超声联合 MBs 介导的载药/基因的靶向治疗不仅可以明显提高治疗 RCC 药物的递送有效率和准确率,且能够增强 RCC 的超声显影时间。疗效明显、靶向性强且大大降低了药物的不良反应。在 RCC 的诊断、治疗和治疗后监测等方面具有显著的应用前景。随着越来越多的新型全面超声造影剂的研发和超声机器的升级,这项技术会逐渐趋于成熟,有望在临床疾病诊断和治疗中发挥十分重要的价值。

参考文献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019 [J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69(1): 7-34.

- [2] Capitanio U, Montorsi F. Renal cancer[J]. *Lancet*, 2016, 387(10021):894-906.
- [3] Sennoga CA, Kanbar E, Auboire L, et al. Microbubble-mediated ultrasound drug-delivery and therapeutic monitoring[J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2017, 14(9): 1031-1043.
- [4] Hull TD, Agarwal A, Hoyt K. New Ultrasound Techniques Promise Further Advances in AKI and CKD [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2017, 28(12):3452-3460.
- [5] Sennoga CA, Kanbar E, Auboire L, et al. Microbubble-mediated ultrasound drug-delivery and therapeutic monitoring[J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2017, 14(9): 1031-1043.
- [6] Mullick Chowdhury S, Lee T, Willmann J K. Ultrasound-guided drug delivery in cancer[J]. *Ultrasonography*, 2017, 36(3):171-184.
- [7] Min HS, Son S, You DG, et al. Chemical gas-generating nanoparticles for tumor-targeted ultrasound imaging and ultrasound-triggered drug delivery[J]. *Biomaterials*, 2016, 108:57-70.
- [8] Cao Y, Chen Y, Yu T, et al. Drug Release from Phase-Changeable Nanodroplets Triggered by Low-Intensity Focused Ultrasound [J]. *Theranostics*, 2018, 8(5): 1327-1339.
- [9] Roovers S, Segers T, Lajoie G, et al. The Role of Ultrasound-Driven Microbubble Dynamics in Drug Delivery; From Microbubble Fundamentals to Clinical Translation [J]. *Langmuir*, 2019, 35(31): 10173-10191.
- [10] Chen Y, Liang Y, Jiang P, et al. Lipid/PLGA Hybrid Microbubbles as a Versatile Platform for Noninvasive Image-Guided Targeted Drug Delivery[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11(45):41842-41852.
- [11] Luo W, Wen G, Yang L, et al. Dual-targeted and pH-sensitive Doxorubicin Prodrug-Microbubble Complex with Ultrasound for Tumor Treatment[J]. *Theranostics*, 2017, 7(2):452-465.
- [12] Lu N, Wang L, Lv M, et al. Graphene-based nanomaterials in biosystems[J]. *Nano Res*, 2019, 12(2):247-264.
- [13] Kim H, Kim J, Lee M, et al. Stimuli-Regulated Enzymatically Degradable Smart Graphene-Oxide-Polymer Nanocarrier Facilitating Photothermal Gene Delivery [J]. *Adv Healthc Mater*, 2016, 5(15):1918-1930.
- [14] Kalluru P, Vankayala R, Chiang CS, et al. Nano-graphene oxide-mediated In vivo fluorescence imaging and bimodal photodynamic and photothermal destruction of tumors[J]. *Biomaterials*, 2016, 95:1-10.
- [15] Zullino S, Argenziano M, Stura I, et al. From Micro-to Nano-Multifunctional Theranostic Platform; Effective Ultrasound Imaging Is Not Just a Matter of Scale[J]. *Mol Imaging*, 2018, 17:1536012118778216.
- [16] 阳孟君, 王洛夫, 郭燕丽, 等. 携载 G250 单克隆抗体的纳米微泡靶向于肾细胞癌的体内外实验研究[J]. 第三军医大学学报, 2016, 38(2):112-118.
- [17] Li M, Luo H, Zhang W, et al. Phase-shift, targeted nanoparticles for ultrasound molecular imaging by low intensity focused ultrasound irradiation [J]. *Int J Nanomedicine*, 2018, 13:3907-3920.
- [18] Fan Z, Kumon RE, Deng CX. Mechanisms of microbubble-facilitated sonoporation for drug and gene delivery[J]. *Ther Deliv*, 2014, 5(4):467-86.
- [19] Tian Y, Liu Z, Tan H, et al. New Aspects of Ultrasound-Mediated Targeted Delivery and Therapy for Cancer[J]. *Int J Nanomedicine*, 2020, 15:401-418.
- [20] Min H S, You D G, Son S, et al. Echogenic Glycol Chitosan Nanoparticles for Ultrasound-Triggered Cancer Theranostics [J]. *Theranostics*, 2015, 5(12): 1402-1418.
- [21] Zhu L, Zhao H, Zhou Z, et al. Peptide-Functionalized Phase-Transformation Nanoparticles for Low Intensity Focused Ultrasound-Assisted Tumor Imaging and Therapy[J]. *Nano Lett*, 2018, 18(3):1831-1841.
- [22] Turajlic S, Swanton C, Boshoff C. Kidney cancer; The next decade [J]. *J Exp Med*, 2018, 215(10): 2477-2479.
- [23] Hudson JM, Bailey C, Atri M, et al. The prognostic and predictive value of vascular response parameters measured by dynamic contrast-enhanced-CT, -MRI and-US in patients with metastatic renal cell carcinoma receiving sunitinib[J]. *Eur Radiol*, 2018, 28(6): 2281-2290.
- [24] Stock K, Kübler H, Maurer T, et al. CEUS-diagnosis of solid renal tumors[J]. *Radiologe*, 2018, 58(6):553-562.
- [25] Rübenthaler J, Negrão de Figueiredo G, Mueller-Peltzer K, et al. Evaluation of renal lesions using contrast-enhanced ultrasound (CEUS); a 10-year retrospective European single-centre analysis[J]. *Eur Radiol*, 2018, 28(11):4542-4549.
- [26] Tordjman M, Dbjay J, Chamouni A, et al. Clear Cell Papillary Renal Cell Carcinoma; A Recent Entity With Distinct Imaging Patterns[J]. *AJR Am J Roentgenol*, 2020, 214(3):579-587.
- [27] Jorge S, Pereira K, López-Fernández H, et al. Ultrasonic-assisted extraction and digestion of proteins from solid biopsies followed by peptide sequential extraction hyphenated to MALDI-based profiling holds the promise of distinguishing renal oncocytoma from chromophobe renal cell carcinoma[J]. *Talanta*, 2020, 206:120180.
- [28] Mueller-Peltzer K, Negrão de Figueiredo G, Graf T, et al. Papillary renal cell carcinoma in contrast-enhanced ultrasound (CEUS)-A diagnostic performance study [J]. *Clin Hemorheol Microcirc*, 2019, 71(2):159-164.
- [29] Thaiss WM, Bedke J, Kruck S, et al. Can contrast-enhanced ultrasound and acoustic radiation force impulse imaging characterize CT-indeterminate renal masses?

- A prospective evaluation with histological confirmation[J]. *World J Urol*, 2019, 37(7):1339-1346.
- [30] Calio BP, Lyshchik A, Li J, et al. Long Term Surveillance of Renal Cell Carcinoma Recurrence Following Ablation using 2D and 3D Contrast-Enhanced Ultrasound[J]. *Urology*, 2018, 121:189-196.
- [31] Hudson JM, Williams R, Karshafian R, et al. Quantifying vascular heterogeneity using microbubble disruption-replenishment kinetics in patients with renal cell cancer[J]. *Invest Radiol*, 2014, 49(2):116-23.
- [32] Hudson JM, Bailey C, Atri M, et al. The prognostic and predictive value of vascular response parameters measured by dynamic contrast-enhanced-CT,-MRI and-US in patients with metastatic renal cell carcinoma receiving sunitinib[J]. *Eur Radiol*, 2018, 28(6):2281-2290.
- [33] Wang H, Lutz AM, Hristov D, et al. Intra-Animal Comparison between Three-dimensional Molecularly Targeted US and Three-dimensional Dynamic Contrast-enhanced US for Early Antiangiogenic Treatment Assessment in Colon Cancer [J]. *Radiology*, 2017, 282(2):443-452.
- [34] Eschbach RS, Clevert DA, Hirner-Eppeneder H, et al. Contrast-Enhanced Ultrasound with VEGFR2-Targeted Microbubbles for Monitoring Regorafenib Therapy Effects in Experimental Colorectal Adenocarcinomas in Rats with DCE-MRI and Immunohistochemical Validation[J]. *PLoS One*, 2017, 12(1):e0169323.
- [35] Baetke SC, Rix A, Tranquart F, et al. Squamous Cell Carcinoma Xenografts: Use of VEGFR2-targeted Microbubbles for Combined Functional and Molecular US to Monitor Antiangiogenic Therapy Effects[J]. *Radiology*, 2016, 278(2):430-440.
- [36] 胡劼, 苏海砾, 宗瑜瑾, 等. 利用载舒尼替尼的多聚体微泡实现超声介导的靶向药物运输: 实验研究[J]. *中国医学影像技术*, 2013, 29(2):161-164.
- [37] Hu J, Zong Y, Li J, et al. In Vitro and In Vivo Evaluation of Targeted Sunitinib-Loaded Polymer Microbubbles Against Proliferation of Renal Cell Carcinoma [J]. *J Ultrasound Med*, 2016, 35(3):589-97.
- [38] Mullick Chowdhury S, Wang TY, Bachawal S, et al. Ultrasound-guided therapeutic modulation of hepatocellular carcinoma using complementary microRNAs [J]. *J Control Release*, 2016, 238:272-280.
- [39] Wang TY, Choe JW, Pu K, et al. Ultrasound-guided delivery of microRNA loaded nanoparticles into cancer [J]. *J Control Release*, 2015, 203:99-108.
- [40] Husain SR, Han J, Au P, et al. Gene therapy for cancer: regulatory considerations for approval[J]. *Cancer Gene Ther*, 2015, 22(12):554-563.
- [41] Huang S, Ren Y, Wang X, et al. Application of Ultrasound-Targeted Microbubble Destruction-Mediated Exogenous Gene Transfer in Treating Various Renal Diseases[J]. *Hum Gene Ther*, 2019, 30(2):127-138.
- [42] Li F, Jin L, Wang H, et al. The dual effect of ultrasound-targeted microbubble destruction in mediating recombinant adeno-associated virus delivery in renal cell carcinoma: transfection enhancement and tumor inhibition[J]. *J Gene Med*, 2014, 16(1-2):28-39.
- [43] Rothe M, Schambach A, Biasco L. Safety of gene therapy: new insights to a puzzling case[J]. *Curr Gene Ther*, 2014, 14(6):429-36.
- [44] Doi K, Takeuchi Y. Gene therapy using retrovirus vectors: vector development and biosafety at clinical trials [J]. *Uirusu*, 2015, 65(1):27-36.
- [45] Tse LV, Moller-Tank S, Asokan A. Strategies to circumvent humoral immunity to adeno-associated viral vectors[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2015, 15(6):845-855.
- [46] Suzuki R, Namai E, Oda Y, et al. Cancer gene therapy by IL-12 gene delivery using liposomal bubbles and tumoral[J]. *J Control Release*, 2010, 142(2):245-250.
- [47] Zhou Y, Gu H, Xu Y, et al. Targeted antiangiogenesis gene therapy using targeted cationic microbubbles conjugated with CD105 antibody compared with untargeted cationic and neutral microbubbles[J]. *Theranostics*, 2015, 5(4):399-417.
- [48] Park DH, Jung BK, Lee YS, et al. Evaluation of in vivo antitumor effects of ANT2 shRNA delivered using PEI and ultrasound with microbubbles [J]. *Gene Ther*, 2015, 22(4):325-332.
- [49] Kopeček JA, Carson AR, Mctiernan CF, et al. Ultrasound Targeted Microbubble Destruction-Mediated Delivery of a Transcription Factor Decoy Inhibits STAT3 Signaling and Tumor Growth[J]. *Theranostics*, 2015, 5(12):1378-1387.

(收稿日期:2020-04-09)