

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.04.041

超声靶向微泡破坏与载药 / 载基因纳米粒联合应用的生物物理学机制及应用研究进展 *

邹朋林¹ 陈惠莉¹ 郑林丰² 张焱锋¹ 史秋生^{1△}

(1 上海交通大学附属第一人民医院超声医学科 上海 200080; 2 上海交通大学附属第一人民医院放射科 上海 200080)

摘要: 超声靶向微泡破坏 (ultrasound-targeted microbubble destruction, UTMD) 能够安全、高效、简便地递送药物与基因, 是当前超声医学领域的研究热点, 其机制主要涉及超声辐照微泡引起的空化效应及其二级效应、内吞作用与声辐射力。近年来, 随着生物医学材料科学迅猛发展, 纳米载药系统取材更加广泛, 制备方法愈发精良, 载药量日益提高。将纳米载药系统与 UTMD 进行联合, 可以扬长避短, 为肿瘤等多种疾病的治疗带来新的思路与希望。本文旨在对 UTMD 与载药 / 载基因纳米粒联合应用的生物物理学机制及应用研究进行综述并提出展望。

关键词: 超声; 微泡; 纳米粒

中图分类号: R445.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2019)04-789-05

Progress in Biophysical Mechanism and Application of Ultrasound-targeted Microbubble Destruction in Combination with drug-and gene-loaded Nanoparticles*

ZOU Peng-lin¹, CHEN Hui-li¹, ZHENG Lin-feng², ZHANG Yan-feng¹, SHI Qiu-sheng^{1△}

(1 Department of Ultrasound, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai, 200080, China;

2 Department of Radiology, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai, 200080, China)

ABSTRACT: Ultrasound-targeted microbubble destruction (UTMD) can deliver drugs and genes safely, efficiently and conveniently, which has already become present research focuses. Its mechanism is mainly related to cavitation effect and its secondary effects, endocytosis and acoustic radiation. In recent years, with the rapid development of biomedical materials science, the nanocarrier drug delivery system has become more extensive, the preparation methods have become more sophisticated, and the drug loading has increased. The combination of nanocarrier drug delivery system and UTMD can help circumvent weaknesses and bring new ideas and hopes for the treatment of tumors and other diseases. The purpose of this paper is to review the biophysical mechanisms and applications of UTMD combined with drug-and gene-loaded nanoparticles and to provide a perspective.

Key words: Ultrasound; Microbubble; Nanoparticle

Chinese Library Classification(CLC): R445.1 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)04-789-05

前言

以含气微泡 (microbubble) 作为对比剂的超声造影技术首现于 1968 年, 它的出现显著改善了超声影像对比质量, 成为超声成像技术发展的一个里程碑。数十年来, 含气微泡经历了三个发展阶段, 目前国内使用的主要是第二代造影剂 SonoVue 微泡——脂质膜包裹惰性气体六氟化硫形成的微小气泡, 平均直径 2.5 μm 。研究发现, 超声与微泡不仅能够进行声学成像, 还可以实现药物与基因的靶向递送, 该技术被称为超声靶向微

泡破坏 (ultrasound-targeted microbubble destruction, UTMD)。将纳米粒 (nanoparticle) 作为药物与基因的载体并与 UTMD 进行联合, 不仅可以继承 UTMD 安全、高效、便捷的优点^[1], 还可以进一步增强递送的靶向性并改善 UTMD 难以实现控释的缺点^[2,3]。

1 UTMD 的生物物理学机制

UTMD 递送药物与基因的生物物理学机制尚未完全阐明, 目前认为主要涉及空化效应 (cavitation) 及其二级效应、内吞作用 (endocytosis) 与声辐射力 (acoustic radiation force)。

* 基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81571677)

作者简介: 邹朋林 (1991-), 硕士研究生, 主要研究方向: 介入超声, 基因递送与靶向治疗, 电话: 18238668731, E-mail: 842252026@qq.com

△ 通讯作者: 史秋生 (1963-), 硕士生导师, 主任医师, 主要研究方向: 介入超声, 基因递送与靶向治疗,

电话: 13311986321, E-mail: sqs19631989@163.com

(收稿日期: 2018-07-23 接受日期: 2018-08-18)

1.1 空化效应及其二级效应

在超声辐照下,液体中的微小气泡会发生膨胀、收缩与破裂,该过程被称为空化效应。上个世纪 30 年代,Monnesco 和 Frenzel 等发现声光效应后,为探索发光起因而开始了对气泡空化行为的研究。时至今日,对“单泡空化^[4]”与“多泡空化^[5]”均进行了大量探索,但理论拟合结果与实际结果仍存在较大差距,说明气泡空化行为非常复杂,至今尚无理论能够圆满地对其进行解释^[6]。目前的研究认为空化效应分为稳态空化与瞬态空化两种:前者是指微泡随声场的声压变化而交替地膨胀-收缩;后者是指在较高声压的超声辐照下,微泡经过数微秒的振荡后发生破裂^[7,8]。稳态空化会产生剪切力较小的微环流(microstreaming)^[4],而对于瞬态空化,微泡破裂的瞬间会产生极高的温度与压力,继而产生与剪切力较大的微射流(microjets)^[9]与过氧化氢等化学活性物质^[10]。

微环流与微射流对周围的细胞膜与血管壁施加剪切力,导致其通透性增大并形成孔隙,这个过程就是声穿孔效应(sonoporation)^[11,12]。声穿孔效应分为可修复性与不可修复性两种,是同一机制作用程度不同的两种表现形式^[12]。研究表明,微泡浓度(与微泡和细胞的间距成反比)和超声参数是区分二者的主要因素:当微泡与细胞相距较远或超声强度较低时,细胞膜的损伤程度较小,孔隙可在数十秒至数小时后重新封闭,细胞可以继续存活,此为可修复性声穿孔效应;而提升微泡浓度或超声强度会使孔隙存续存在,导致细胞死亡,该种情况为不可修复性声穿孔效应。大量研究表明,可修复性声穿孔效应是 UTMD 介导物质递送的主要机制,药物与基因便是在孔隙封闭之前经此进入细胞质或血管外组织间隙。而致死性声穿孔效应不仅具有肿瘤抑制作用^[13],还可能带来溶血^[14]、内皮细胞死亡^[15]等副反应。

Juffermans 等^[16]以荧光染料 Di-4-ANEPPS 检测 UTMD 处理的 H9c2 大鼠心肌细胞的膜电位变化,发现瞬态空化产生的过氧化氢可引起钙离子内流,内流的钙离子激活钙离子依赖性钾通道,进而使细胞膜产生局部超极化。这种超极化可能会促进细胞对大分子物质的摄取^[17]。

1.2 内吞作用

内吞作用(endocytosis)又称入胞作用或胞吞作用,是通过质膜的变形运动将细胞外物质转运入细胞内的过程。Lentacker 等^[18]以 UTMD 递送聚乙二醇化脂质体复合物,发现复合物进入细胞的过程不涉及内吞作用。Meijering 等^[19]则发现小分子葡聚糖主要通过声致孔隙进入细胞,而大分子葡聚糖主要通过内吞作用被细胞摄取。因此,内吞作用是否参与 UTMD 介导物质递送的过程,目前尚有争议。

1.3 声辐射力

声辐射力又称 Bjerknes 力,是指在流体中传播的声波入射到某一障碍物上时,对障碍物产生的前向压力,其方向与声波的传播方向一致。声辐射力有助于增强 UTMD 的递送效果。一方面,垂直于血管的声辐射力会将微泡推向血管壁,引起微泡的局部聚集^[20,21];另一方面,当药物与基因附着于微泡上时,微泡聚集也会增加二者的局部浓度。

2 载药 / 载基因纳米粒

纳米技术是在纳米尺度(1-100 nm)上研究并利用物质的科学。实际上,载药 / 载基因纳米粒与纳米技术的科学内涵有着一定差异:①关于纳米载药的研究始于上个世纪 70 年代,早于“纳米技术”概念的出现^[22];②药物递送领域所用的纳米粒实际上是亚微米尺度的粒子^[23];③药物与基因在纳米载药体中多以分子状态存在,难以表现出量子隧穿效应等纳米尺度物质的独有性质。目前,载药 / 载基因纳米粒的研究主要关注于改善生物相容性、提升负载量、提高靶向性、同时实现物质递送与多模态成像等方面。载药 / 载基因纳米粒的理化性质各不相同,但生物相容性高与载药性能好是最基本的要求。目前与 UTMD 联合应用的主要是脂质体纳米粒^[24]、树状大分子^[25]、聚合物纳米粒^[26]等。

2.1 脂质体

脂质体纳米粒是由磷脂自组装形成的球形囊泡。磷脂的两亲性使脂质体纳米粒不仅可以亲水性药物和 siRNA 包裹于囊泡中心,还可以将疏水性药物容纳于壳层中。虽然可以负载两种性质的药物,但脂质体纳米粒的载药量相对较小^[27]。虽然脂质体的生物安全性已经得到反复验证,但有研究发现静脉注射脂质体可诱发“补体活化相关的过敏反应”^[28],引起明显的肺动脉高压,这可以通过调整脂质体结构和给药方法来预防。此外,用聚乙二醇等亲水性材料对脂质体纳米粒进行表面修饰,可以增强其稳定性,并降低网状内皮系统的摄取活性^[6]。

2.2 树状大分子

树状大分子由 Tomalia 在上个世纪 80 年代开发出来,是一种由中心引发核出发,通过连续可控的聚合反应向外重复生长,形成高度支化结构的三维大分子。作为药物与基因载体应用时,树状大分子具有明显的优势^[6]:①粒径微小、均匀且高度可控;②内部空腔大,载药量高,可包裹难溶性药物或易分解的基因;③端基官能团(terminal functional groups)数量多且化学反应性强,能够与多种药物、基因、抗体相连接。虽然可通过调整聚合反应代数来精确控制树状大分子的粒径,但多步合成会增加生产成本^[27],且目前的合成方法较为复杂,限制了其工业化应用,需要进一步简化。此外,虽然树状大分子的生物毒性较,但仍然存在^[29],可以采用化学修饰等方法进行改善。

2.3 聚合物纳米粒

聚合物纳米粒是纳米尺度的球形聚合物颗粒,药物与基因可包埋于聚合物基质或内部空腔中,也可通过共价键与聚合物表面相连接。该纳米粒的原材料分为天然聚合物与合成聚合物两种^[27]。天然聚合物包括壳聚糖、葡聚糖、肝素、海藻酸盐等,具有安全无毒、价格低廉与生物可降解的优点,但因为使用前需要提纯与药物释放迅速等原因,所以应用较少。合成聚合物不仅易于制备,而且可通过修饰和改性实现药物缓释^[30,31],常用的包括聚乙二醇(PEG)、聚乳酸(PLA)、聚乳酸-羟基乙酸(PLGA)等。

3 UTMD 与载药 / 载基因纳米粒的联合应用

传统 UTMD 技术多直接递送游离药物和基因,或将药物和基因载于微泡上后再进行递送,而联合纳米材料的新型 UTMD 技术则是以纳米粒为载体,二者既有相同点,又有不同之处。

3.1 靶向递送方法

UTMD 联合纳米粒可通过局部靶向、感应靶向、物理靶向、化学靶向和生物靶向五种途径实现药物与基因的靶向递送。局部靶向是指将微泡与载药/载基因纳米粒局部施用,物质的释放和作用亦仅发生于局部区域,如玻璃体内注射^[30]。感应靶向是指利用微泡与纳米粒对力、磁、电、热的感应性,使负载物质于靶区释放,如热敏脂质体^[31]。由此看来,声场压力使微泡发生空化效应进而释放所负载的纳米粒,也属于感应靶向的范畴。物理靶向是依据机体不同组织对纳米粒的阻留而建立的靶向,例如直径 0.5-5 μm 的微粒易阻留于网状内皮系统丰富的组织(肝、脾等)。Hobbs 等^[32]对多种肿瘤组织进行研究,发现肿瘤微血管的内皮间隙约 380-780 nm。因此,小于 380 nm 的纳米粒难以透入正常组织,却可通过肿瘤血管。化学靶向是指利用目标区域的化学环境使物质定点释放,例如 pH 敏感性纳米粒适用于酸性的肿瘤微环境^[33]。生物靶向是利用配体-受体结合等生物特异性相互作用构建的靶向系统。要实现生物靶向,受体分子应在靶区特异性表达并暴露于血管内皮表面,此外还应考虑靶区的血流剪切力、配体与受体的亲和力等因素^[35]。

许多研究表明,将上述多种途径联合应用可以进一步增强递送的靶向性。Heun 等^[36]将 UTMD 与氧化铁磁性纳米粒两种感应靶向途径联合,成功提升了慢病毒对小鼠主动脉的转染率。Luo 等^[37]将叶酸、cRGD 两种配体以 pH 响应性胺键链接,制备出具有两种生物靶向和一种感应靶向的载阿霉素纳米粒,细胞与动物实验均表明,UTMD 能进一步提升该纳米粒的递送率。但 Shi 等^[38]却发现:体外细胞实验中,UTMD 提高了非靶向纳米粒聚乙二醇-聚乳酸羟基乙醇酸-聚左旋赖氨酸(mPEG-PLGA-PLL, mPPP)的递送效率,而靶向纳米粒聚乙二醇-聚乳酸羟基乙醇酸-聚左旋赖氨酸-cRGD(mPEG-PLGA-PLL-cRGD, mPPPC)的递送效率略有降低,但裸鼠移植瘤体内实验显示,UTMD 可提升两种纳米粒的递送效率。这可能是因为体外实验中,超声辐照微泡产生的二级非线性效应将浓集于细胞外的靶向纳米粒冲开,导致在声穿孔存在的时间,孔隙周围的纳米粒减少;而对于递送效率提升的实验,虽然这种“冲开效应”依然存在,但起主导作用的仍是 UTMD 引起的细胞摄取增加^[37]。但目前尚无对该现象的确切解释。

3.2 给药方式

给药方式主要有 4 种^[39]: ①将微泡与游离纳米粒共同注射;②将微泡与游离纳米粒互为先后进行注射;③将纳米粒与微泡壳连接后注射;④将纳米粒嵌入微泡壳中再进行注射。尚未发现有研究对 4 种方法进行比较,但 Lin 等^[38]使用脂质包被的量子点方法①与方法②进行了对比,发现肿瘤组织内的量子点积累量无明显差异。方法③的使用需要在注射前将纳米粒与微泡壳相连接,最常用的连接手段是生物素-亲和素桥接法,但这易诱发免疫应答,故而可以用安全性更高的马来酰亚

胺共轭法^[39]与静电吸附法^[40]作为替代。方法④的主要限制是微泡壳对纳米粒的负载量较小,此时可考虑选用高负载量的聚合物微泡^[4]。

3.3 应用研究

1998 年,Price 等^[41]首次报道了 UTMD 与纳米粒在活体动物模型上的联合应用:超声辐照微泡引起大鼠骨骼肌血管破裂后,粒径 100-500 nm 的无负载荧光微球从破裂口处渗漏至肌肉间隙。之后,Chappell 等^[42]以 UTMD 将载成纤维细胞生长因子-2 的 PLGA 纳米粒递送至后肢缺血小鼠模型,发现小鼠内收肌的小动脉总数增加,以及原有的侧支动脉与横向小动脉显著扩张。同年,UTMD 介导载基因纳米粒的转染也获得了成功^[43]。这证明了 UTMD 联合载药/载基因纳米粒的应用前景,此后相关报道逐年增多。

3.3.1 肿瘤的治疗 近年来,UTMD 联合载药/载基因纳米粒已在多种肿瘤的细胞与动物实验中获得了良好的治疗效果,包括胰腺癌^[44,45]、乳腺癌^[34]、肝癌^[46]、前列腺癌^[47]、结肠癌^[48]、胶质母细胞瘤^[49]等。由于血脑屏障的存在,常规药物治疗对中枢神经系统恶性肿瘤的治疗效果较差。早有研究表明,UTMD 能够可逆地开放血脑屏障并促进化疗药物对脑部肿瘤的渗透,而纳米载体的引入可进一步提升治疗效果。Zhao 等^[50]以明胶和泊洛沙姆 188 接枝肝素共聚物纳米粒负载整合素 $\alpha v\beta 3$ 抑制剂西仑吉肽(CGT)后,用 UTMD 将之递送至大鼠 C6 胶质瘤模型中,发现和对照组(中位生存期 16.5 $\pm$ 2.1 天)与 CGT 组(中位生存期 30.4 $\pm$ 2.9 天)相比,UTMD+CGT 纳米粒组的中位生存期高达 81.2 $\pm$ 1.7 天。上述肿瘤治疗实验的成功,不仅源于药物与基因的治疗效果,UTMD 本身的肿瘤抑制作用也起到一定的贡献^[50]。

3.3.2 其他疾病的治疗 此外,UTMD 联合纳米粒在心血管疾病^[36,51]、视网膜疾病^[30]、中枢神经系统疾病^[52]的治疗领域也展现出了一定的潜力。Xin 等^[53]将改构型酸性成纤维细胞生长因子(maFGF)负载于肝素-泊洛沙姆共聚物纳米粒上,再与 SonoVue 微泡经大鼠尾静脉共同注射,随后给予超声辐照,发现 UTMD 联合载 maFGF 纳米粒可有效预防阿霉素诱导的心肌损伤,并保护心肌损伤大鼠的左心室收缩功能,其机制包括延缓心肌纤维化、减少氧化应激和抑制心肌细胞凋亡等。Du 等^[30]以标记 Cy3 的 mPEG-PLGA-PLL 纳米粒负载针对血小板源性生长因子-BB(PDGF-BB)基因序列的 siRNA,再将载基因纳米粒与 SonoVue 微泡共同注射入大鼠的玻璃体腔内,继而进行超声辐照,发现该方法可以在不损伤大鼠视网膜的前提下,显著提升 siRNA 的转染率并降低 PDGF-BB 的表达水平。

3.3.3 诊疗一体化 微泡是超声成像的良好介质,因此有微泡参与的 UTMD 不仅可以介导物质递送,还可同时实现超声成像。而纳米粒除负载药物与基因外,还能够实现多模态成像^[4]。将 UTMD 与纳米粒联合应用,可更好地构建诊疗一体化平台。Song 等^[31]将超顺磁性氧化铁纳米粒嵌入 PEG-PLGA 纳米气泡的壳层中,不仅提升了赫赛汀与紫杉醇的递送率,还同时实现了超声、光声与 MRI 三模态成像。

4 结语与展望

虽然纳米材料的引入为 UTMD 技术带来了更广阔的发展空间,但目前的研究仍停留于细胞和动物实验阶段,在向临床转化的道路上尚有许多问题需要解决,例如:① UTMD 介导物质递送的确切生物物理学机制尚未完全阐明;② 超声对纳米粒的作用,以及载于微泡上的纳米粒如何解离仍不明确;③ 递送效率受到多种因素影响,参数优化的过程较为繁冗;④ 需要开发专用的超声设备。相信随着研究的不断深入,UTMD 与纳米粒的联合应用将为临床医学开辟新的天地。

参考文献(References)

- [1] Mullick CS, Lee T, Willmann JK. Ultrasound-guided drug delivery in cancer[J]. *Ultrasonography*, 2017, 36(3): 171-184
- [2] Tay LM, Xu C. Coating microbubbles with nanoparticles for medical imaging and drug delivery[J]. *Nanomedicine*, 2017, 12(2): 91-94
- [3] Danhier F, Feron O, Préat V. To exploit the tumor microenvironment: Passive and active tumor targeting of nanocarriers for anti-cancer drug delivery [J]. *Journal of Controlled Release*, 2010, 148 (2): 135-146
- [4] Collis J, Manasseh R, Liovic P, et al. Cavitation microstreaming and stress fields created by microbubbles [J]. *Ultrasonics*, 2010, 50(2): 273-279
- [5] Fan Z, Chen D, Deng CX. Characterization of the Dynamic Activities of a Population of Microbubbles Driven by Pulsed Ultrasound Exposure in Sonoporation[J]. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 2014, 40 (6): 1260-1272
- [6] 赵应征. 超声介导药物靶向递送系统 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2010
- [7] Ferrara KW, Borden MA, Zhang H. Lipid-shelled vehicles: engineering for ultrasound molecular imaging and drug delivery [J]. *Cheminform*, 2009, 40(47): 881
- [8] Chomas JE, Dayton PA, May D, et al. Optical observation of contrast agent destruction[J]. *Applied Physics Letters*, 2000, 77(7): 1056-1058
- [9] Prentice P, Cuschieri A, Dholakia K, et al. Membrane disruption by optically controlled microbubble cavitation[J]. *Nature Physics*, 2005, 1(2): 107
- [10] Suslick KS. Sonochemistry[J]. *Science*, 2004, 35(23): 1439-1445
- [11] Mehierhumbert S, Bettinger T, Yan F, et al. Plasma membrane poration induced by ultrasound exposure: implication for drug delivery[J]. *Journal of Controlled Release*, 2005, 104(1): 213-222
- [12] Wu J, Ross JP, Chiu JF. Repairable sonoporation generated by microstreaming [J]. *Journal of the Acoustical Society of America*, 2002, 111(3): 1460-1464
- [13] 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]. *Journal of Gene Medicine*, 2014, 16(1-2): 28-39
- [14] Dalecki D, Raeman CH, Child SZ, et al. Hemolysis in vivo from exposure to pulsed ultrasound [J]. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 1997, 23(2): 307-313
- [15] Kobayashi N, Yasu T, Yamada S, et al. Endothelial cell injury in venule and capillary induced by contrast ultrasonography [J]. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 2002, 28(7): 949-956
- [16] Juffermans LJM, Kamp O, Dijkman PA, et al. Low-Intensity Ultrasound-Exposed Microbubbles Provoke Local Hyperpolarization of the Cell Membrane Via Activation of BK Ca²⁺ Channels[J]. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 2008, 34(3): 502-508
- [17] Zupancic G, Ogden D, Magnus CJ, et al. Differential exocytosis from human endothelial cells evoked by high intracellular Ca²⁺ concentration[J]. *Journal of Physiology*, 2002, 544(Pt 3): 741
- [18] Lentacker I, Wang N, Vandenbroucke RE, et al. Ultrasound exposure of lipoplex loaded microbubbles facilitates direct cytoplasmic entry of the lipoplexes[J]. *Molecular Pharmaceutics*, 2009, 6(2): 457
- [19] Meijering B, Juffermans LWA, Henning R, et al. Ultrasound and Microbubble-Targeted Delivery of Macromolecules Is Regulated by Induction of Endocytosis and Pore Formation [J]. *Circulation Research*, 2009, 104(5): 679-687
- [20] Dayton P, Klivanov A, Brandenburger G, et al. Acoustic radiation force in vivo: a mechanism to assist targeting of microbubbles[J]. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 1999, 25(8): 1195-1201
- [21] 杨阳, 乔璐, 严飞, 等. 超声辐射力推移靶向微泡的参数设置研究 [J]. *中国超声医学杂志*, 2015, 31(2): 170-173
- [22] 平其能. 纳米药物和纳米载体系统[J]. *中国新药杂志*, 2002, 11(1): 42-46
- [23] Mullin LB, Phillips LC, Dayton PA. Nanoparticle delivery enhancement with acoustically activated microbubbles[J]. *IEEE Transactions on Ultrasonics Ferroelectrics & Frequency Control*, 2013, 60 (1): 65-77
- [24] 张明, 赵应征, 马卫成, 等. FGF1 纳米脂质体结合超声靶向微泡爆破技术治疗糖尿病心肌病的实验研究 [J]. *中华心血管病杂志*, 2017, 45(5): 427-433
- [25] Lin L, Fan Y, Gao F, et al. UTMD-Promoted Co-Delivery of Gemcitabine and miR-21 Inhibitor by Dendrimer-Entrapped Gold Nanoparticles for Pancreatic Cancer Therapy [J]. *Theranostics*, 2018, 8(7): 1923-1939
- [26] Shi Q, Liu P, Sun Y, et al. siRNA delivery mediated by copolymer nanoparticles, phospholipid stabilized sulphur hexafluoride microbubbles and ultrasound[J]. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 2014, 10(3): 436-444
- [27] Pérezherrero E, Fernándezmedarde A. Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of chemotherapy [J]. *European Journal of Pharmaceutics & Biopharmaceutics*, 2015, 93: 52-79
- [28] Szebeni J, Baranyi L, Savay S, et al. Liposome-induced pulmonary hypertension: properties and mechanism of a complement-mediated pseudoallergic reaction[J]. *Ajp Heart & Circulatory Physiology*, 2000, 279(3): H1319-28
- [29] 沈楠, 朱宏. 药物载体 PAMAM 树状大分子的毒理 [J]. *材料导报*, 2012, 26(19): 72-77
- [30] Du J, Sun Y, Li FH, et al. Enhanced delivery of biodegradable mPEG-PLGA-PLL nanoparticles loading Cy3-labelled PDGF-BB siRNA by UTMD to rat retina[J]. *Journal of Biosciences*, 2017, 42(2): 299
- [31] Song W, Luo Y, Zhao Y, et al. Magnetic nanobubbles with potential

- for targeted drug delivery and trimodal imaging in breast cancer: an in vitro study[J]. *Nanomedicine*, 2017, 12(9): 991-1009
- [32] 张桐民, 曹兵生, 王志媛, 等. 高强度聚焦超声协同紫杉醇热敏脂质体治疗小鼠 Lewis 肺癌 [J]. *中华临床医师杂志 (电子版)*, 2012, 06(4): 852-856
- [33] Hobbs SK, Monsky WL, Yuan F, et al. Regulation of transport pathways in tumor vessels: role of tumor type and microenvironment[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1998, 95(8): 4607-4612
- [34] 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
- [35] Mayer CR, Geis NA, Katus HA, et al. Ultrasound targeted microbubble destruction for drug and gene delivery[J]. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 2008, 5(10): 1121-1138
- [36] Heun Y, Hildebrand S, Heidsieck A, et al. Targeting of Magnetic Nanoparticle-coated Microbubbles to the Vascular Wall Empowers Site-specific Lentiviral Gene Delivery in vivo[J]. *Theranostics*, 2017, 7(2): 295
- [37] 史秋生, 孙颖, 张会萍, 等. 超声靶向微泡破碎和生物可降解纳米粒双靶向递送 siRNAs 的实验研究[J]. *中华超声影像学杂志*, 2011, 20(5): 445-450
- [38] Lin CY, Huang YL, Li JR, et al. Effects of Focused Ultrasound and Microbubbles on the Vascular Permeability of Nanoparticles Delivered into Mouse Tumors[J]. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 2010, 36(9): 1460-1469
- [39] Geers B, Lentacker I, Sanders NN, et al. Self-assembled liposome-loaded microbubbles: The missing link for safe and efficient ultrasound triggered drug-delivery[J]. *Journal of Controlled Release*, 2011, 152(2): 249-256
- [40] Seo M, Gorelikov I, Williams R, et al. Microfluidic assembly of monodisperse, nanoparticle-incorporated perfluorocarbon microbubbles for medical imaging and therapy[J]. *Langmuir the Acs Journal of Surfaces & Colloids*, 2010, 26(17): 13855
- [41] Price RJ, Skyba DM, Kaul S, et al. Delivery of colloidal particles and red blood cells to tissue through microvessel ruptures created by targeted microbubble destruction with ultrasound [J]. *Circulation*, 1998, 98(13): 1264-1267
- [42] Chappell JC, Song J, Burke CW, et al. Targeted delivery of nanoparticles bearing fibroblast growth factor-2 by ultrasonic microbubble destruction for therapeutic arteriogenesis [J]. *Small*, 2008, 4 (10): 1769-1777
- [43] Lentacker I, Vandenbroucke RE, Lucas B, et al. New strategies for nucleic acid delivery to conquer cellular and nuclear membranes[J]. *Journal of Controlled Release*, 2008, 132(3): 279
- [44] Ma J, Xing LX, Shen M, et al. Ultrasound contrast-enhanced imaging and in vitro antitumor effect of paclitaxel-poly (lactic-co-glycolic acid)-monomethoxypoly (ethylene glycol) nanocapsules with ultrasound-targeted microbubble destruction [J]. *Molecular Medicine Reports*, 2015, 11(4): 2413-2420
- [45] Xing L, Shi Q, Zheng K, et al. Ultrasound-Mediated Microbubble Destruction (UMMD) Facilitates the Delivery of CA19-9 Targeted and Paclitaxel Loaded mPEG-PLGA-PLL Nanoparticles in Pancreatic Cancer[J]. *Theranostics*, 2016, 6(10): 1573-1587
- [46] Gong Y, Wang Z, Dong G, et al. Low-intensity focused ultrasound mediated localized drug delivery for liver tumors in rabbits [J]. *Drug Delivery*, 2016, 23(7): 2280-2289
- [47] Huang WC, Shen MY, Chen HH, et al. Monocytic delivery of therapeutic oxygen bubbles for dual-modality treatment of tumor hypoxia [J]. *Journal of Controlled Release*, 2015, 220(Pt B): 738-750
- [48] Wang TY, Choe JW, Pu K, et al. Ultrasound-guided delivery of microRNA loaded nanoparticles into cancer [J]. *Journal of Controlled Release*, 2015, 203: 99
- [49] Zhao YZ, Lin Q, Wong HL, et al. Glioma-targeted therapy using Cilengitide nanoparticles combined with UTMD enhanced delivery [J]. *Journal of Controlled Release*, 2016, 224: 112-125
- [50] Lin CY, Tseng HC, Shiu HR, et al. Ultrasound sonication with microbubbles disrupts blood vessels and enhances tumor treatments of anticancer nanodrug[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2012, 7(2): 2143-2152
- [51] Tian XQ, Ni XW, Xu HL, et al. Prevention of doxorubicin-induced cardiomyopathy using targeted MaFGF mediated by nanoparticles combined with ultrasound-targeted MB destruction [J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2017, 12: 7103-7119
- [52] Mead BP, Mastorakos P, Suk JS, et al. Targeted Gene Transfer to the Brain via the Delivery of Brain-Penetrating DNA Nanoparticles with Focused Ultrasound [J]. *Journal of Controlled Release*, 2016, 223: 109-117