

靶向超声微泡造影剂增强肿瘤显像的研究进展

田南, 屈亚威, 刘海峰

背景资料
早发现、早诊断、早治疗是诊治早期肿瘤的关键, 影像学检查对肿瘤的早期发现起着重要作用, 超声造影剂的出现使超声这种传统的影像学检查推进了新的发展阶段。

田南, 屈亚威, 刘海峰, 中国人民武装警察部队总医院消化内科 北京市 100039
作者贡献分布: 本文综述由田南与屈亚威共同完成; 刘海峰审校。
通讯作者: 刘海峰, 教授, 主任医师, 100039, 北京市海淀区永定路69号, 中国人民武装警察部队总医院消化内科。
haifengliu333@163.com
电话: 010-57976101
收稿日期: 2014-07-14 修回日期: 2014-09-23
接受日期: 2014-10-15 在线出版日期: 2014-11-28

Targeted ultrasound microbubble contrast agents for enhanced tumor imaging

Nan Tian, Ya-Wei Qu, Hai-Feng Liu

Nan Tian, Ya-Wei Qu, Hai-Feng Liu, Department of Gastroenterology, General Hospital of Chinese People's Armed Police Forces, Beijing 100039, China
Correspondence to: Hai-Feng Liu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, General Hospital of Chinese People's Armed Police Forces, 69 Yongding Road, Haidian District, Beijing 100039, China. haifengliu333@163.com
Received: 2014-07-14 Revised: 2014-09-23
Accepted: 2014-10-15 Published online: 2014-11-28

Abstract

In the field of medical ultrasound, ultrasound microbubbles are a new class of ultrasound contrast agents. Ultrasound microbubbles can be divided into two types: ordinary and targeted microbubbles. Ordinary microbubbles have been widely used in clinical practice. Targeted microbubbles are a special class of contrast agents and can be divided into micron- and nano-scale targeted microbubbles according to particle size. The former cannot pass through the endothelial gap due to the larger particle size, while the latter can pass through the vascular endothelium and allows for imaging of the extravascular tissues. Ultrasound combined with targeted microbubbles in enhancing tumor imaging shows greater advantages and has become an important topic of research; however, its unknown toxicity limits its wider application. In addition, ultrasound parameters still need to be optimized.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Targeted; Ultrasound microbubble; Enhanced; Tumor Imaging

Tian N, Qu YW, Liu HF. Targeted ultrasound microbubble contrast agents for enhanced tumor imaging. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(33): 5100-5105
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5100.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i33.5100>

摘要

在医学超声领域, 超声微泡是发展较快的一种新型超声造影剂。超声微泡可分为普通微泡和靶向微泡, 普通微泡已广泛应用于临床, 靶向微泡是一类特殊造影剂, 根据粒径大小, 可分为微米级靶向微泡和纳米级靶向微泡, 前者由于粒径较大, 不能穿过血管内皮间隙, 仅能进行血池显影, 后者则可透过血管内皮间隙对血管外组织进行显影, 由于对特定组织或器官具有靶向性, 超声联合靶向微泡在增强肿瘤显像方面显示出了较大的优势, 已经成为一个重要的研究领域。但由于其生物毒性未知, 在应用方面还存有较大的局限性, 超声参数也需进一步优化。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 靶向; 超声微泡; 增强; 肿瘤显像

核心提示: 文章重在讲述靶向超声微泡对早期胃癌的诊治以及纳米级超声微泡的优势。

田南, 屈亚威, 刘海峰. 靶向超声微泡造影剂增强肿瘤显像的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(33): 5100-5105 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5100.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i33.5100>

0 引言

超声检查由于无创伤、无痛苦、无辐射的优势, 在医学检查中发挥着越来越重的作用, 超声造影技术则是超声发展进程中的一大变革。近些年来, 超声微泡造影剂得到了突飞猛进的发展, 靶向超声微泡造影剂在增强肿瘤显像方面吸引了越来越多的关注, 本文就靶向超声微泡造影

同行评议者
杨薇, 副教授, 副主任医师, 北京大学肿瘤医院超声科

剂在增强肿瘤显像方面做一概述。

1 超声造影剂

超声微泡(ultrasound microbubble, UM)是近年来发展较迅速的一种超声造影剂(ultrasound contrast agent, UCA), UM始于1968年, Gramiak等^[1]报道了注射造影剂的生理盐水后发现人体超声心动图显像增强, 之后UCA开始逐渐应用于临床。

1.1 超声微泡定义及分类 UM由外壳及内充气体两部分组成, 通过改变超声的相关特性对所检组织进行超声分子成像。UM的发展经历了三个阶段: 第一代是内充空气, 在血循环中持续时间较短, 以Levovist为代表; 第二代主要内充含氟碳气体或六氟化硫等高分子惰性气体, 外壳为白蛋白、脂质或表面稳定剂, 微泡更加稳定, 持续时间更长, 以普通微泡(Sonovue)为代表; 第三代主要用于靶向诊断与治疗, 是在微泡表面连接特异性配体, 使微泡可以特异性聚集并长时间停留于靶组织或靶器官产生显像。根据微泡对组织显影特异性不同, 超声微泡可分为普通微泡和靶向微泡两种。前者已广泛用于临床的诊断与治疗, 有研究^[2]表明, UM造影技术能有效增强实质器官的显像, 提高肿瘤分辨率, 对肿瘤良恶性的鉴别诊断有重大意义。后者由于生物毒性未知, 目前仍处于临床前实验阶段。

1.2 普通微泡增强肿瘤显像的应用 诊断用普通超声造影剂有两类, 一是血管内造影, 即经周围静脉或心导管注射微泡造影剂后, 显示某些病变组织及边界; 二是非血管造影, 即把液体造影剂通过口服、灌肠或其他途径引入人体的管道、体腔, 利用液体的无回声区或悬浮于液体中的微小粒子的散射回声做对比, 如胃肠、宫腔、尿道造影等。

血管内造影最初用于实质性器官的检查, 对于空腔脏器的探查研究相对较少。Hohmann等^[3]证实对比增强超声造影(contrast-enhanced ultrasonography, CEUS)对结肠癌肝转移患者远处转移情况的探测是可行的。随后Torzilli等^[4]研究证实CEUS比常规超声检查能更准确地提供癌变有无转移信息。Nakano等^[5]证实对结肠癌肝转移患者术中CEUS, 有助于发现未知的转移。对于空腔脏器的检查, Iordache等^[6]证实了CEUS能评估胃癌患者的肿瘤血管, 并与新生血管的病理学检测具有相关性。

超声在实质性器官造影方面表现出了明显优势, 为了增强超声对体腔脏器的成像, 超声双重造影(口服及静脉注射造影剂)(double contrast-enhanced ultrasonography, DCEUS)逐渐在临床发挥起越来越大的作用。彭成忠等^[7]发现, DCEUS能清晰显示直肠癌的边界、形态和微循环灌注情况, 对术前肿瘤T分期有较高的准确性。Pan等^[8]证明对术前进展期胃癌的Borrmann分类, DCEUS可作为一种准确、无创的诊断方法应用于临床。Shiyan等^[9]证实DCEUS产生的对比增强声强度与微血管密度(microvessel density, MVD)有明显的线性关系, 为评估胃癌的新生血管及生物学行为提供了一种新的指征。系列研究表明了DCEUS在空腔脏器检查方面逐渐凸显优势, 便于临床医师的诊治。

UCA在二维超声成像中不断凸显优势的同时, 三维超声成像逐渐成为许多研究者的热点。Shi^[10]证实通过DCEUS, 与二维超声相比, 三维超声检查对胃损伤的解剖及血流灌注情况能提供更多的附加信息。谢晓红等^[11]在研究中得出, 实时三维超声造影可以实时动态显示肾透明细胞癌的血供和空间立体关系, 较常规超声具有更好地病灶空间整体评估能力, 为术前准确评估肿瘤血供及体积提供了新方法。

2 靶向超声微泡增强肿瘤显像的应用

普通微泡明显提高了超声成像的清晰度, 但对于肿瘤的早期诊断没有特异靶向性, 为了提高UCA对早期肿瘤的诊断, 研究者逐渐构建出靶向超声微泡, 并进行了大量的实验研究。

靶向微泡与普通微泡不同的是, 在其表面连接有针对特定组织特异性受体的配体或是针对特异性抗原的抗体, 微泡到达靶区后可特异性的与病灶相应受体结合, 增强靶区超声回波信号, 利于局部组织疾病的诊断。靶向超声微泡外壳表面与配体的链接主要有两种基本方法: 生物素-亲和素非共价链接和直接共价键链接^[12]。根据微泡粒径的大小不同可分为微米级靶向超声微泡和纳米级靶向超声微泡。前者粒径大小约2-6 μm , 可以在血液中自由循环, 不产生肺阻塞, 但不可以穿过血管内皮间隙, 只能进行血池内显影^[13,14]。纳米级超声微泡, 粒径较小, 穿透性较强, 在微泡粒径<700 nm时, 即可穿过血管内皮间隙, 进行组织显影^[15]。

研发前沿
此文重在讲述靶向超声微泡在肿瘤显影中的可行性及优势, 以及未应用于临床的局限性。

创新盘点
重在总结靶向超声微泡的临床前实验的成就及面临的问题。由普通微泡到靶向微泡、有微米级到纳米级,逐步深入展开讲述。

2.1 微米级靶向超声微泡增强肿瘤显像的应用

Lindner等^[16]研究发现,靶向超声微泡可以用于新生血管的评估。在肿瘤新生血管形成过程中,整合素是介导细胞与细胞外基质、细胞间黏附作用的主要因子,起着不可或缺的作用。其中以整合素 $\alpha v\beta 3$ 与肿瘤血管生成的关系最为密切,在肿瘤的血管生成研究中具有重要价值。Ellegata等^[17]通过应用偶联有 $\alpha v\beta 3$ 抗体的脂质微泡,证实了在肿瘤血管显像方面的有效性。此外还证实,靶向超声微泡可以非侵入性的诊断肿瘤^[18]。刘俭等^[19]发现与对照微泡相比,携抗整合素 $\alpha v\beta 3$ 单抗靶向微泡在人肝癌皮下移植瘤裸鼠模型中对肿瘤新生血管具有明显的靶向效应。Jun等^[20]得出通过整合素 $\alpha v\beta 3$ 的表达量可以估测抗肿瘤及抗血管新生治疗的疗效,发现靶向整合素 $\alpha v\beta 3$ 的超声微泡在肿瘤新生血管显像中的有效性。Otani等^[21]通过连接有磷脂酰丝氨酸的微泡和乳黏素的复合体,在整合素 $\alpha v\beta 3$ 表达阳性的人脐静脉内皮细胞上检测到较高的复合体超声信号,得出该复合体有望转向临床用于检测新生血管。实验研究从异种移植瘤裸鼠模型逐渐到人脐静脉内皮细胞,都显示出该整合素在肿瘤的血管新生中具有重要意义,同时为转向临床实验奠定基础。

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)及其受体在病理性血管生成中过表达,目前认为VEGF在血管生成过程中处于核心地位,是已知活性最强、专属性最高的血管生成因子,在肿瘤生长的各个环节中起着重要作用。最初研究者就血管内皮生长因子受体-2(vascular endothelial growth factor receptor 2, VEGFR-2)单靶点超声微泡进行实验研究,随后双靶点超声微泡的制备又进一步增强了肿瘤显影。Deshpande等^[22]证明靶向VEGFR-2的超声微泡在皮下异种移植瘤生长过程中聚焦于肿瘤,达到理想的肿瘤显影效果。Pochon等^[23]发现靶向VEGFR-2的超声微泡能更好地显示肿瘤血管,为肿瘤治疗效果的评估提供客观评价。Willmann等^[24,25]证实利用靶向于血管内皮生长因子的超声微泡可评价肿瘤的治疗效果,估测预后。此外,该研究者制备了靶向于VEGFR-2及整合素 $\alpha v\beta 3$ 的双靶点靶向超声微泡,通过人卵巢癌小鼠异种移植瘤证明该靶向微泡更多的聚集于肿瘤,达到更好地肿瘤显像效果。有研究者采用荧光标记靶向超声微泡

对肿瘤进行显像,并取得理想的效果。Liao等^[26]采用人乳腺癌小鼠异种移植瘤动物模型,制备了¹⁸F标记的靶向VEGFR-2微泡,结果显示,靶向微泡在肿瘤中的信号远高于对照组,显示该靶向微泡对肿瘤新生血管的黏附具有特异性。为进一步增强实验的可信度,有研究者通过病理学检测、对照微泡与靶向微泡的显像进行对比实验研究。Mancini等^[27]在人甲状腺癌异种移植瘤小鼠体内,注射靶向VEGFR-2的超声微泡,检测到肿瘤中靶向微泡声信号较高,且与组织中VEGFR-2的表达成正相关关系。Wei等^[28]在人肾细胞癌异种移植瘤小鼠中,注射靶向VEGFR-2的超声微泡,得到与Mancini同样的结果。Grouls等^[29]采用转基因小鼠注射靶向VEGFR-2的超声微泡(BR55)及普通微泡(Sonovue),得到靶向微泡的超声分子信号显著高于对照微泡。Bachawal等^[30]通过转基因小鼠制作了乳腺癌及乳腺导管原位癌的动物模型,采用靶向VEGFR-2的超声微泡及普通微泡进行肿瘤的超声分子成像,得出靶向VEGFR-2的超声微泡有望成为监测乳腺癌早期病变的诊断方法。Denbeigh等^[31]采用小鼠胚胎,向其体内注入靶向VEGFR-2的超声微泡、同型抗体微泡、对照微泡进行新生血管的超声分子成像,结果显示靶向微泡有助于血管内皮生物标志物的表达、新生血管及疾病的诊断及检测。

除了靶向VEGFR及整合素 $\alpha v\beta 3$ 的超声微泡,有研究者对其他靶点也做过类似的研究。Harvey等^[32]采用对肝脏有特异性的超声微泡诊断肝细胞癌。Lindner等^[33]通过将偶联有血小板糖蛋白抗体的超声微泡用于血栓性疾病的研究取得显著进展后,也着手于对混合有血小板的癌栓进行研究。Xing等^[34]制备了靶向叶酸受体的超声微泡,观察到靶向微泡对人卵巢癌SKOV3细胞表现出高亲和力,为叶酸受体阳性肿瘤的进一步研究提供帮助。Wang等^[35]制备了携抗(prostate-specific membrane antigen, PSMA)单抗靶向超声微泡,超声示能很好地显示肿瘤血管,为前列腺癌的诊断及靶向治疗打下基础。Foygel等^[36]制作了人胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)异种移植瘤小鼠模型,通过靶向PDAC血管系统的一种标志性分子(thymocyte differentiation antigen 1, Thy1)的超声微泡,证实靶向Thy1的超声微泡有望成为PDAC的早期诊断方法。Westwood等^[37]制备了

可特异性结合人工肝癌细胞(SMMC-7721)的携抗HAb18单抗靶向微泡, 证实有助于肝癌的诊断, 尤其是肿瘤的早期阶段. Negishi等^[38]在原位移植瘤小鼠中, 采用靶向AG73(在血管内皮高表达的多配体蛋白聚糖-2的一种配体)的超声微泡(AG73-BLS), 认为该超声对比剂有望为临床提供一种诊断方法. Fokong等^[39]采用靶向E-选择素的超声微泡对人卵巢癌异种移植瘤裸鼠进行成像, 得出该靶向微泡有望转向临床. Tsuruta等^[40]制备了血管肉瘤裸鼠模型, 采用靶向人分泌型卷曲相关蛋白2(secreted frizzled related protein-2, SFRP2)是血管肉瘤中的一种肿瘤血管内皮标志物)的超声微泡, 得出该靶向微泡是靶向于肿瘤新生血管, 为检测血管肉瘤治疗效果及其他表达SFRP2分子的肿瘤早期提供一种新方法. Lutz等^[41]采用表达有人卵巢癌CD276的皮下移植瘤小鼠模型及普通人卵巢癌异种移植瘤模型, 得出靶向CD276的超声微泡可作为一种新的靶向肿瘤新生血管的临床前研究探针. Yan等^[42]观察到靶向微泡在乳腺癌细胞表面高浓聚.

2.2 纳米级超声微泡在肿瘤成像方面的应用 微米级靶向超声微泡只能进行血管内显像, 且新生血管靶点有限, 而纳米级超声微泡的问世使血管外显像成为可能. Wu等^[43]在研究中发现纳米级微泡在微泡的浓聚高峰方面与微米级微泡没有显著性差别, 但在其稳定性及声学属性方面优于微米级微泡, 在对比剂的溶出度方面慢于微米级微泡, 体现了纳米级微泡的优势. 纳米级微泡化学性能的稳定性为后续研究打下基础. 景周宏等^[44]制备了可特异性结合肝癌细胞的载磷脂酰肌醇蛋白聚糖3(glypican 3, GPC3)抗体的新型纳米级靶向超声微泡, 并达到靶向识别的效果, 为微泡的靶向诊断及治疗研究提供基础. 王翠薇等^[45]制备了携抗VEGFR2抗体的聚乳酸-羟基乙酸共聚物(poly lactic-co-glycolic acid, PLGA)纳米级靶向超声微泡造影剂, 证实可在体外与血管肉瘤内皮细胞具有特异性靶向结合效果. 此外, 还制备了携抗Her-2抗体的PLGA纳米级靶向超声微泡造影剂, 且在体外显像效果较好^[46]. 此后, 张劲宜等^[47]制备了靶向卵巢癌的纳米级超声微泡, 且能体外靶向高效结合人卵巢癌细胞. 陈松等^[48]制备了纳米液态靶向氟碳球囊, 在体内外试验中得到了明显的靶向显影效果. 丁璐等^[49]通过制备纳米级脂质超声微泡, 在体外实验中

获得显著的靶向显影效果. Fan等^[50]在人胃癌异种移植瘤裸鼠模型中采用纳米微泡进行超声显像, 证实了纳米微泡可进入组织间隙, 为靶向肿瘤血管外的超声诊治打下基础. 然而应用纳米级微泡对未形成血管的早期肿瘤的显像实验研究尚未见报道, 这或许是纳米级微泡的发展新方向.

3 结论

经过多年的实验研究, 超声微泡已广泛用于临床及实验, 并取得了令人瞩目的成果. 近年来, 靶向超声微泡的应用前景逐渐成为研究热点, 但在其应用方面仍有较多局限性. (1)靶向超声微泡的生物毒性未知, 目前只能处于临床前动物试验阶段; (2)试验阶段中动物肿瘤模型的机体状态与人体生理状态仍有很大差异, 在实验中获得实验结果不一定适用于临床试验; (3)现有的超声探测仪器的空间分辨率相对较低, 不能对机体微血管进行准确的定位; (4)超声操作者的主观性较强, 容易干扰实验结果; (5)一次操作只能对一处病变进行实时观测, 不能对整体进行宏观把握. 随着分子生物学和医学超声成像技术的发展, 或许可以通过改善不同材质微泡壳膜的球囊的制备和显影特性等方面, 球囊的靶向修饰、球囊粒径的大小与超声散射的关系体内超声造影增强的效果、生物分布和生物安全性等方面, 增强信噪比等逐步完善微泡的各种相关声学特性, 使其能逐步应用于临床, 为临床上相关重大疾病的诊断及治疗提供更好的应用价值.

4 参考文献

- 1 Gramiak R, Shah PM. Echocardiography of the aortic root. *Invest Radiol* 1968; 3: 356-366 [PMID: 5688346 DOI: 10.1097/00004424-196809000-00011]
- 2 张森, 郭燕丽, 谭开彬. 自制纳米级超声微泡体外基本特征和肿瘤造影增强显影的实验研究. *中华超声影像学杂志* 2011; 20: 894-897
- 3 Hohmann J, Müller C, Oldenburg A, Skrok J, Frericks BB, Wolf KJ, Albrecht T. Hepatic transit time analysis using contrast-enhanced ultrasound with BR1: A prospective study comparing patients with liver metastases from colorectal cancer with healthy volunteers. *Ultrasound Med Biol* 2009; 35: 1427-1435 [PMID: 19540656 DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2009.04.002]
- 4 Torzilli G, Del Fabbro D, Palmisano A, Donadon M, Bianchi P, Roncalli M, Balzarini L, Montorsi M. Contrast-enhanced intraoperative ultrasonography during hepatectomies for colorectal cancer liver metastases. *J Gastrointest Surg* 2005; 9: 1148-153; dis-

应用要点
靶向超声微泡可逐渐应用于临床早期肿瘤的诊治, 靶向识别提高早期胃癌的诊断率.

名词解释

靶向微泡: 在其表面连接有针对特定组织特异性受体的配体或是针对特异性抗原的抗体。微泡到达靶区后可特异性的与病灶相应受体结合, 增强靶区超声回波信号, 利于局部组织疾病的诊断。

- 5 Nakano H, Ishida Y, Hatakeyama T, Sakuraba K, Hayashi M, Sakurai O, Hataya K. Contrast-enhanced intraoperative ultrasonography equipped with late Kupffer-phase image obtained by sonazoid in patients with colorectal liver metastases. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 3207-3211 [PMID: 18506927 DOI: 10.3748/wjg.14.3207]
- 6 Iordache S, Filip MM, Georgescu CV, Angelescu C, Ciurea T, Săftoiu A. Contrast-enhanced power Doppler endosonography and pathological assessment of vascularization in advanced gastric carcinomas—a feasibility study. *Med Ultrason* 2012; 14: 101-107 [PMID: 22675709]
- 7 彭成忠, 范小明, 王力. 超声双重造影评估直肠癌术前T分期的价值. *中华超声影像学杂志* 2014; 4: 312-315
- 8 Pan M, Huang P, Li S, Chen J, Wei S, Zhang Y. Double contrast-enhanced ultrasonography in pre-operative Borrmann classification of advanced gastric carcinoma: comparison with histopathology. *Sci Rep* 2013; 3: 3338 [PMID: 24275807 DOI: 10.1038/srep03338]
- 9 Shiyan L, Pintong H, Zongmin W, Fuguang H, Zhiqiang Z, Yan Y, Cosgrove D. The relationship between enhanced intensity and microvessel density of gastric carcinoma using double contrast-enhanced ultrasonography. *Ultrasound Med Biol* 2009; 35: 1086-1091 [PMID: 19419811 DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2009.03.010]
- 10 Shi H, Yu XH, Guo XZ, Guo Y, Zhang H, Qian B, Wei ZR, Li L, Wang XC, Kong ZX. Double contrast-enhanced two-dimensional and three-dimensional ultrasonography for evaluation of gastric lesions. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 4136-4144 [PMID: 22919245 DOI: 10.3748/wjg.v18.i31.4136]
- 11 谢晓红, 马苏亚, 徐萍. 实时三维超声造影对肾透明细胞癌的评估价值. *中华超声影像学杂志* 2014; 4: 320-324
- 12 Klivanov AL. Ligand-carrying gas-filled microbubbles: ultrasound contrast agents for targeted molecular imaging. *Bioconjug Chem* 2005; 16: 9-17 [PMID: 15656569 DOI: 10.1021/bc049898y]
- 13 王志刚. 超声分子影像学研究进展. *中国医学影像技术* 2009; 6: 921-924
- 14 Postema M, Gilja OH. Contrast-enhanced and targeted ultrasound. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 28-41 [PMID: 21218081 DOI: 10.3748/wjg.v17.i1.28]
- 15 张勇, 王志刚. 纳米级超声造影剂的研究进展. *临床超声医学杂志* 2007; 2: 105-107
- 16 Lindner JR, Song J, Christiansen J, Klivanov AL, Xu F, Ley K. Ultrasound assessment of inflammation and renal tissue injury with microbubbles targeted to P-selectin. *Circulation* 2001; 104: 2107-2112 [PMID: 11673354 DOI: 10.1161/hc4201.097061]
- 17 Ellegala DB, Leong-Poi H, Carpenter JE, Klivanov AL, Kaul S, Shaffrey ME, Sklenar J, Lindner JR. Imaging tumor angiogenesis with contrast ultrasound and microbubbles targeted to alpha(v)beta3. *Circulation* 2003; 108: 336-341 [PMID: 12835208]
- 18 Leong-Poi H, Christiansen J, Klivanov AL, Kaul S, Lindner JR. Noninvasive assessment of angiogenesis by ultrasound and microbubbles targeted to alpha(v)-integrins. *Circulation* 2003; 107: 455-460 [PMID: 12551871]
- 19 刘俭, 李军华, 杨莉, 曹世平, 滕中华, 赵元平, 赵宗磊, 廖禹林, 廖旺军, 宾建平. 携抗 $\alpha v \beta 3$ -整合素单抗靶向微泡对肿瘤新生血管靶向效应的研究. *临床超声医学杂志* 2012; 6: 361-365
- 20 Jun HY, Park SH, Kim HS, Yoon KH. Long residence time of ultrasound microbubbles targeted to integrin in murine tumor model. *Acad Radiol* 2010; 17: 54-60 [PMID: 19815430 DOI: 10.1016/j.acra.2009.07.017]
- 21 Otani K, Yamahara K. Feasibility of lactadherin-bearing clinically available microbubbles as ultrasound contrast agent for angiogenesis. *Mol Imaging Biol* 2013; 15: 534-541 [PMID: 23539172 DOI: 10.1007/s11307-013-0630-2]
- 22 Deshpande N, Ren Y, Foygel K, Rosenberg J, Willmann JK. Tumor angiogenic marker expression levels during tumor growth: longitudinal assessment with molecularly targeted microbubbles and US imaging. *Radiology* 2011; 258: 804-811 [PMID: 21339349 DOI: 10.1148/radiol.10101079]
- 23 Pochon S, Tardy I, Bussat P, Bettinger T, Brochot J, von Wronski M, Passantino L, Schneider M. BR55: a lipopeptide-based VEGFR2-targeted ultrasound contrast agent for molecular imaging of angiogenesis. *Invest Radiol* 2010; 45: 89-95 [PMID: 20027118 DOI: 10.1097/RLI.0b013e3181c5927c]
- 24 Willmann JK, Paulmurugan R, Chen K, Gheysens O, Rodriguez-Porcel M, Lutz AM, Chen IY, Chen X, Gambhir SS. US imaging of tumor angiogenesis with microbubbles targeted to vascular endothelial growth factor receptor type 2 in mice. *Radiology* 2008; 246: 508-518 [PMID: 18180339]
- 25 Willmann JK, Lutz AM, Paulmurugan R, Patel MR, Chu P, Rosenberg J, Gambhir SS. Dual-targeted contrast agent for US assessment of tumor angiogenesis in vivo. *Radiology* 2008; 248: 936-944 [PMID: 18710985]
- 26 Liao AH, Wu SY, Wang HE, Weng CH, Wu MF, Li PC. Evaluation of 18F-labeled targeted perfluorocarbon-filled albumin microbubbles as a probe for microUS and microPET in tumor-bearing mice. *Ultrasonics* 2013; 53: 320-327 [PMID: 22832082 DOI: 10.1016/j.ultras.2012.06.014]
- 27 Mancini M, Greco A, Salvatore G, Liuzzi R, Di Maro G, Vergara E, Chiappetta G, Pasquinelli R, Brunetti A, Salvatore M. Imaging of thyroid tumor angiogenesis with microbubbles targeted to vascular endothelial growth factor receptor type 2 in mice. *BMC Med Imaging* 2013; 13: 31 [PMID: 24028408 DOI: 10.1186/1471-2342-13-31]
- 28 Wei S, Fu N, Sun Y, Yang Z, Lei L, Huang P, Yang B. Targeted contrast-enhanced ultrasound imaging of angiogenesis in an orthotopic mouse tumor model of renal carcinoma. *Ultrasound Med Biol* 2014; 40: 1250-1259 [PMID: 24613557 DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2013.12.001]
- 29 Grouls C, Hatting M, Rix A, Pochon S, Lederle W, Tardy I, Kuhl CK, Trautwein C, Kiessling F, Palmowski M. Liver dysplasia: US molecular imaging with targeted contrast agent enables early assessment. *Radiology* 2013; 267: 487-495 [PMID: 23360735 DOI: 10.1148/radiol.13120220]
- 30 Bachawal SV, Jensen KC, Lutz AM, Gambhir SS, Tranquart F, Tian L, Willmann JK. Earlier detection of breast cancer with ultrasound molecular imaging in a transgenic mouse model. *Cancer Res* 2013; 73: 1689-1698 [PMID: 23328585 DOI: 10.1158/0008-5472.

- CAN-12-3391]
- 31 Denbeigh JM, Nixon BA, Hudson JM, Puri MC, Foster FS. VEGFR2-targeted molecular imaging in the mouse embryo: an alternative to the tumor model. *Ultrasound Med Biol* 2014; 40: 389-399 [PMID: 24342913 DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2013.09.022]
- 32 Harvey CJ, Lim AK, Blomley MJ, Taylor-Robinson SD, Gedroyc WM, Cosgrove DO. Detection of an occult hepatocellular carcinoma using ultrasound with liver-specific microbubbles. *Eur Radiol* 2002; 12 Suppl 3: S70-S73 [PMID: 12522608]
- 33 Lindner JR. Detection of inflamed plaques with contrast ultrasound. *Am J Cardiol* 2002; 90: 32L-35L [PMID: 12459425 DOI: 10.1016/S0002-9149(02)02961-2]
- 34 Xing W, Zhigang W, Bing H, Haitao R, Pan L, Chuanshan X, Yuanyi Z, Ao L. Targeting an ultrasound contrast agent to folate receptors on ovarian cancer cells: feasibility research for ultrasonic molecular imaging of tumor cells. *J Ultrasound Med* 2010; 29: 609-614 [PMID: 20375379]
- 35 Wang L, Li L, Guo Y, Tong H, Fan X, Ding J, Huang H. Construction and in vitro/in vivo targeting of PSMA-targeted nanoscale microbubbles in prostate cancer. *Prostate* 2013; 73: 1147-1158 [PMID: 23532872 DOI: 10.1002/pros.22663]
- 36 Foygel K, Wang H, Machtaler S, Lutz AM, Chen R, Pysz M, Lowe AW, Tian L, Carrigan T, Brentnall TA, Willmann JK. Detection of pancreatic ductal adenocarcinoma in mice by ultrasound imaging of thymocyte differentiation antigen 1. *Gastroenterology* 2013; 145: 885-894.e3 [PMID: 23791701 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.06.011]
- 37 Westwood M, Joore M, Grutters J, Redekop K, Armstrong N, Lee K, Gloy V, Raatz H, Misso K, Severens J, Kleijnen J. Contrast-enhanced ultrasound using SonoVue® (sulphur hexafluoride microbubbles) compared with contrast-enhanced computed tomography and contrast-enhanced magnetic resonance imaging for the characterisation of focal liver lesions and detection of liver metastases: a systematic review and cost-effectiveness analysis. *Health Technol Assess* 2013; 17: 1-243 [PMID: 23611316]
- 38 Negishi Y, Hamano N, Tsunoda Y, Oda Y, Choi-jamts B, Endo-Takahashi Y, Omata D, Suzuki R, Maruyama K, Nomizu M, Emoto M, Aramaki Y. AG73-modified Bubble liposomes for targeted ultrasound imaging of tumor neovasculature. *Biomaterials* 2013; 34: 501-507 [PMID: 23088840 DOI: 10.1016/j.biomaterials.2012.09.056]
- 39 Fokong S, Fragoso A, Rix A, Curaj A, Wu Z, Lederle W, Iranzo O, Gätjens J, Kiessling F, Palmowski M. Ultrasound molecular imaging of E-selectin in tumor vessels using poly n-butyl cyanoacrylate microbubbles covalently coupled to a short targeting peptide. *Invest Radiol* 2013; 48: 843-850 [PMID: 23857137 DOI: 10.1097/RLI.0b013e31829d03ec]
- 40 Tsuruta JK, Klauber-DeMore N, Streeter J, Samples J, Patterson C, Mumper RJ, Ketelsen D, Dayton P. Ultrasound molecular imaging of secreted frizzled related protein-2 expression in murine angiosarcoma. *PLoS One* 2014; 9: e86642 [PMID: 24489757 DOI: 10.1371/journal.pone.0086642]
- 41 Lutz AM, Bachawal SV, Drescher CW, Pysz MA, Willmann JK, Gambhir SS. Ultrasound molecular imaging in a human CD276 expression-modulated murine ovarian cancer model. *Clin Cancer Res* 2014; 20: 1313-1322 [PMID: 24389327 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-1642]
- 42 Yan F, Li X, Jiang C, Jin Q, Zhang Z, Shandas R, Wu J, Liu X, Zheng H. A novel microfluidic chip for assessing dynamic adhesion behavior of cell-targeting microbubbles. *Ultrasound Med Biol* 2014; 40: 148-157 [PMID: 24210864 DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2013.09.001]
- 43 Wu H, Rognin NG, Krupka TM, Solorio L, Yoshiara H, Guenette G, Sanders C, Kamiyama N, Exner AA. Acoustic characterization and pharmacokinetic analyses of new nanobubble ultrasound contrast agents. *Ultrasound Med Biol* 2013; 39: 2137-2146 [PMID: 23932272 DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2013.05.007]
- 44 景周宏, 何承俊, 潘万龙, 丁雄, 刘长安, 李生伟, 薛强, 龚建平. 载肝癌细胞GPC3抗体的纳米级脂质超声微泡制备及体外寻靶研究. *重庆医科大学学报* 2013; 5: 449-453
- 45 王翠薇, 杜晶, 杨仕平, 胡鹤, 李凤华. 携抗VEGFR2抗体PLGA靶向超声造影剂的制备及体外寻靶实验. *上海交通大学学报(医学版)* 2014; 6: 772-776
- 46 王翠薇, 杜晶, 杨仕平, 胡鹤, 李凤华. 携抗HER-2抗体PLGA高分子纳米超声造影剂的制备及其体外寻靶实验. *肿瘤影像学* 2014; 2: 106-109
- 47 张劲宜, 张丽平, 朱元方, 李文娟, 黄舒颖, 赵雅静, 李攀, 王志刚. 靶向卵巢癌的纳米超声微泡造影剂的制备及其体外寻靶研究. *第三军医大学学报* 2013; 23: 2551-2554
- 48 陈松, 康娟, 王志刚, 李攀, 伍星, 许川山. 纳米液态氟碳脂质微球超声造影剂的制备及体外聚集实验研究. *第三军医大学学报* 2008; 23: 2161-2163
- 49 丁璐. 纳米级脂质超声微泡造影剂在超声显像及介导基因转染中的应用研究. 武汉: 华中科技大学, 2013
- 50 Fan X, Wang L, Guo Y, Tong H, Li L, Ding J, Huang H. Experimental investigation of the penetration of ultrasound nanobubbles in a gastric cancer xenograft. *Nanotechnology* 2013; 24: 325102 [PMID: 23868030]

同行评价
有一定的临床参
考价值。

编辑 郭鹏 电编 都珍珍

