

王佩瑶,王灿,孙瑶琪,等. 超声微泡技术在动物实验的应用[J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(5): 727-732.
Wang PY, Wang C, Sun YQ, et al. Application of ultrasound-stimulated microbubbles in zoopery [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2022, 30(5): 727-732.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2022.05.018

超声微泡技术在动物实验的应用

王佩瑶¹,王灿¹,孙瑶琪²,秦杨阳¹,黄猛^{1,3*}

(1. 安徽医科大学第一附属医院,合肥 230022;2. 安徽医科大学附属巢湖医院,安徽 巢湖 238000;3. 安徽医科大学第一附属医院东城院区/肥东县人民医院,合肥 231600)

【摘要】 低频超声激发微泡技术在临床中的应用越来越常见,主要包括靶向输送药物、增强免疫治疗、介导基因转染、开放血脑屏障、损伤肿瘤血管、辅助血栓消融。本文总结了超声微泡的制备、超声微泡技术在动物实验的应用,旨在为临床超声微泡技术的实际应用提供理论参考。

【关键词】 低频超声;微泡;制备;动物实验

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2022) 05-0727-06

Application of ultrasound-stimulated microbubbles in zoopery

WANG Peiyao¹, WANG Can¹, SUN Yaoqi², QIN Yangyang¹, HUANG Meng^{1,3*}

(1. the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022, China. 2. Chaohu Hospital of Anhui Medical University, Chaohu 238000. 3. East District of First Affiliated Hospital of Anhui Medical University/Feidong People's Hospital, Hefei 231600)

Corresponding author: HUANG Meng. E-mail: 353867450@qq.com

【Abstract】 Ultrasound-stimulated microbubble technology is becoming increasingly more common in the clinical setting. Its uses mainly include targeted drug delivery, enhanced immunotherapy, gene transfection, opening of the blood-brain barrier, damaging tumor blood vessels, and assisting in thrombus ablation. In this paper, the preparation of ultrasonic microbubbles and the application of ultrasonic microbubbles in zoopery are summarized with the aim of providing a theoretical reference for the practical application of ultrasonic microbubbles in clinical practice.

【Keywords】 low-intensity ultrasound; microbubbles; preparation; zoopery

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

近年来,随着超声新技术的发展、造影剂的完善,低频超声联合微泡的应用研究在临床治疗中引起了广泛关注。超声微泡技术可为疾病提供一种无创、靶向、可逆的治疗新方案:(1)可以使细胞膜产生瞬时孔,让外来物质通过孔进入细胞^[1],却没有在病理上造成靶器官的损伤,具有无创性;(2)不仅可以提高人体免疫反应强度,而且可以提高免疫

治疗药物传递的效率^[2],实现局部区域的治疗,具有靶向性;(3)可用于短暂和可逆的血脑屏障破坏,显著促进脑内给药^[3],短暂开放组织屏障后依然能重新恢复,具有可逆性。基于这些优于传统治疗方法的独特优势,研究学者们将其应用在动物模型上,进行了一系列的探索。现对其应用进展综述如下。

【基金项目】 安徽医科大学第一附属医院东城院区/肥东县人民医院内科科研项目(Ky2022019)。

Funded by Research Project of East District of First Affiliated Hospital of Anhui Medical University/Feidong People's Hospital (Ky2022019).

【作者简介】 王佩瑶(1996—),女,硕士研究生,研究方向:超声医学。Email:wpay_ay@163.com

【通信作者】 黄猛(1976—),男,硕士生导师,研究方向:超声影像诊断及治疗。Email:353867450@qq.com

1 超声微泡的制备

1.1 超声仪器和使用试剂

超声微泡 (low-intensity ultrasound with microbubbles, USMB) 是一种非侵入性、靶向性的治疗方法^[4], 通过在低频超声 (low-intensity ultrasound, US) 作用下让通过外周循环静脉注射的微泡 (microbubbles, MB) 发生一系列生物物理效应。

US 是频率低、功率小的超声波, 具有穿透力强、探测深度深、探测范围广的特点^[5]。MB 是由蛋白质、脂质或聚合物外壳及稳定的气体核心组成一种微米大小的球体^[6]。由于造影时间、稳定性、安全性的需要, 外壳主要应用脂质、聚合物^[7]。气体核心多采用高分子量、低血液溶解度、低弥散度的氟化气体^[8]。

1.2 制备超声微泡的技术参数设定

微泡、超声实验参数的不同可能会导致不一样的实验结果。直径约 1 μm 的 MB 与全氟碳芯和较长链的脂质壳在 4 MHz 的超谐波成像中表现最好^[9]。低机械指数 (< 0.2)、低声压 ($< 0.15 \text{ MPa}$) 超声下微泡以稳态空化为主, 随着机械指数、声压增高, 微泡以稳态空化和瞬态空化两种方式并存, 当达到一定机械指数 (> 0.3)、声压 ($> 0.2 \text{ MPa}$) 时, 微泡以瞬态空化为主^[10]。开放组织屏障的机械指数最低为 0.3, 而高达 0.7 可以不引起明显的出血或组织损伤^[11]。

由于各项参数之间相互影响, 以及不同实验条件下存在不同的最佳参数, 所以仍需对微泡和超声的参数以及安全性、可行性进行进一步探索。

1.3 超声微泡的制备

薄膜水化法和冷冻干燥法为国内外制备 MB 的常用方法, 用超声处理和机械振荡作为形成气泡所需的能量输入方式, 使含有壳膜材料的液体与气体相混合^[12]。具体制备方法如下。

1.3.1 薄膜水化法-声振法

称取一定比例的壳膜材料、靶向修饰物溶解于氯仿 (1 mL), 得到的溶液蒸发形成薄膜, 用水合液 (1 mL) 水合, 真空干燥 12 h, 在 55℃ 的培养箱中保持 60 min 来得到脂质体。然后, 将脂质体转移到 EP 管 (1.5 mL), 加入氟化气体。最后, 在 95 W 超声下振 8 s, 获得脂质纳米级气泡, 通过低速离心分离形成薄层。在 4℃ 下用 PBS 处理脂质纳米级气泡 30 min, 即获得靶向纳米级微泡超声造影剂^[13]。

1.3.2 冷冻干燥-机械振荡法

称取一定比例的壳膜材料、靶向修饰物、D-葡萄糖 (低温保护剂) 混合在西林瓶 (3 mL) 中形成混悬液, 冷冻干燥后加入溶媒液 (由甘油、丙二醇及去离子水按一定的比例混合制备), 加入氟化气体。密闭后在机械振荡仪上按设定的功率及时间进行充分混悬, 即制备得到脂质微泡超声造影剂初品, 将初品高速离心后, 弃上清, 取乳白色液体层, 移于新的西林瓶中, 钴 60 辐照灭菌^[14]。

冷冻干燥-机械振荡法制备的 MB 粒径分布较均一、浓度高、用时短, 薄膜水化-声振法制备的 MB 更易负载脂溶性药物、荧光染料^[15]。此外, 机械振荡法相较于声振法在制备携带质粒 DNA 分子的 MB 时, 可以避免对 DNA 的损伤^[16]。这两种方法各有其优点和弊端, 因此, 在制备 MB 时要根据具体要求再做选择。

2 USMB 技术在动物实验的应用

USMB 在动物实验中的应用主要有以下几个方面。

2.1 靶向输送药物

晚期癌症一般手术效果不佳, 只能通过药物治疗。若是采用化疗往往因缺乏靶向性而导致药物分布于全身, 一方面会因药物蓄积不足而治疗效果不佳, 另一方面会导致全身毒副作用。而低频超声可通过空化效应让细胞膜产生一过性空隙, 通透性增加, 使药物进入细胞^[17]。

USMB 可以产生一种高效的药物传递系统^[18]。MB 可在超声的辐射引导下, 将药物选择性的释放在靶器官部位, 加强细胞对药物的吸收, 从而在不减弱疗效的同时, 减少用药剂量、降低副作用^[19]。Li 等^[20]建立裸鼠肝细胞癌模型, 将其随机分为 A 组 (NS)、B 组 (5-FU 纳米气泡)、C 组 (非低频超声纳米气泡)、D 组 (5-FU 低频超声纳米气泡), 通过超声观察治疗前后裸鼠的肿瘤大小、绘制生存曲线、定量分析细胞凋亡指数、计算肿瘤微血管密度, 结果发现 D 组肿瘤生长速度最慢、肿瘤抑制率和凋亡指数最高、肿瘤微血管密度降低, 表明 USMB 负载 5-FU 可以进一步提高药物的靶向性, 进而抑制移植瘤的生长。

因此, USMB 治疗可以介导药物高效、靶向运输至病灶区域, 增加特定区域的药物浓度。

2.2 增强免疫治疗

肿瘤细胞在生长过程中,常通过抑制免疫系统介导肿瘤免疫逃逸。对于常规的手术、放化疗,肿瘤容易复发、产生耐药性和不良反应。而超声微泡的空化效应可以改变肿瘤微环境,增强免疫激活,抑制肿瘤生长^[21]。

USMB 可以输送免疫刺激物质,实现了抗肿瘤免疫反应^[22]。张蔚等^[23]将小鼠脱颈椎处死、骨髓腔冲洗和尼龙毛柱法得到其骨髓源性树突状细胞(DCs)、脾源性 T 淋巴细胞,来与小鼠前列腺癌 RM-1 细胞进行体外培养,一方面实验分组为对照组(DCs + T)、共同培养组(DCs + T + RM-1)、超声微泡组(DCs + T + 实验前 24 h 采用 USMB 辐照后的 RM-1),实验前后用流式细胞仪检测表型对比发现共同培养组 DCs 的分化受抑制、超声微泡组 T 淋巴细胞比例增加,说明体外小鼠前列腺癌微环境中 DCs 和 T 细胞的分化受抑制,而 USMB 可以促进免疫细胞(DCs 和 T 细胞)的分化;另一方面实验分组为对照组(RM-1)、超声微泡组(实验前 24 h 采用 USMB 辐照后的 RM-1)、免疫组(DCs + T + RM-1)、超声微泡联合免疫组(DCs + T + 实验前 24 h 采用 USMB 辐照后的 RM-1),24 h 后运用划痕试验、CCK-8 试验、Transwell 试验分别检测得出各组迁移、增殖、侵袭能力,发现对照组能力最强、超声微泡联合免疫组能力最弱,表明 USMB 可以协同抗肿瘤免疫反应。

因此,USMB 治疗可以通过激活免疫系统、递送免疫调节物质,活化免疫系统,抑制肿瘤的发生发展。

2.3 介导基因转染

基因治疗具有高序列特异性、高选择性等特点,是生物研究的热点。若是采用放、化疗,不仅毒副作用大,且疗效也不明显。而超声的惯性空化作用可使细胞膜形成暂时性小孔,促进细胞对物质的摄取,来提高基因转染效率^[24]。

US 介导的基因传递可以在不引起机体免疫反应和病毒载体突变的情况下,安全高效的进行基因转染。它是通过将外源性 DNA 或 RNA 结合到 MB 外壳或包裹在内,再经 US 破坏,将其释放到靶器官区域^[25]。程祖胜等^[26]将实验大鼠随机分为 7 组,正常组正常饲养,其余各组给予肝纤维化诱导,对照组(NS)、CTGF-siRNA 质粒组(NS + 质粒)、超声联合微泡组(USMB)、超声联合微泡介导基因组(不

同浓度梯度的低、中、高剂量质粒 + USMB),运用超声及病理切片 HE 染色评价肝纤维化程度、反转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测肝组织中 CT-GF、I 型和 III 型胶原的 mRNA 表达、Masson 染色观察胶原纤维含量,显示含质粒的分组超声及病理切片纤维化程度降低、超声联合微泡介导基因组 CT-GF、I 型、III 型胶原的 mRNA 表达以及胶原纤维含量明显降低且随着质粒剂量增大而减少,因此,在 USMB 作用下 CTGF-siRNA 基因能特异地作用于靶位点进行转染,有效抑制肝纤维化进程。

因此,USMB 治疗可以有效提高非病毒性载体转染率,通过载体将基因安全高效地传递到靶器官。

2.4 开放血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)

中枢神经系统中 BBB 使大部分治疗性药物难以进入颅内病灶部位,严重影响了临床治疗效果。若是采用药物或外科手术只能部分缓解脑部疾病症状,且运动和神经功能也会受损。而超声微泡可以产生空化效应,打开内皮细胞间的紧密连接,随着血脑屏障的开放,载药微泡可靶向输送至颅内特定部位^[27]。

USMB 可无创、局部、可逆地打开 BBB,为治疗中枢神经系统和颅内疾病提供了新策略^[28]。Wang 等^[29]建立大鼠阿尔茨海默病模型、制备载脑源性神经生长因子(brain-derived nerve growth factor, BDNF)逆转录病毒(pLXSN)的微泡(MpLXSN-BDNF)及载增强绿色荧光蛋白(enhanced green fluorescent protein, EGFP)的微泡(MpLXSN-EGFP),随机分为对照组(NS)、MpLXSN-EGFP + US 组(经尾静脉注射 MpLXSN-EGFP, US 辐照脑区)、MpLXSN-BDNF + US 组(经尾静脉注射 MpLXSN-BDNF, US 辐照脑区)、MB + pLXSN-BDNF + US 组(经尾静脉注射 MB 和 pLXSN-BDNF, US 辐照脑区),并在 MRI 引导下用 US 照射大鼠海马,采用免疫组化和高效液相色谱分别测定脑组织中乙酰胆碱酯酶阳性细胞的数量和乙酰胆碱的含量、突触棘 IF 染色和 Western Blot 检测突触密度恢复,结果在 MRI 图像上可以观察到 BBB 破坏部位的信号强度增强、治疗组脑内乙酰胆碱酯酶阳性细胞和乙酰胆碱含量明显减少、MpLXSN-BDNF + US 组较其他治疗组突触损失恢复地更好,表明 USMB 技术可以辐照开放大鼠海马区。

因此,USMB 治疗可以安全、高效地开放 BBB,使药物能在颅内局部达到有效浓度。

2.5 损伤肿瘤血管

与正常细胞相比,肿瘤细胞需要血管提供充足的营养物质、氧气,而通过抑制新生血管可减少肿瘤细胞的增殖。若是用化学方法去攻击肿瘤血管的特异性靶点,副作用大,疗效也不理想。而肿瘤组织新生血管的管壁薄弱,对微泡介导的超声空化效应尤为敏感^[30]。

USMB 可诱导明显的微血管损伤,导致细胞坏死或凋亡^[31]。Shen 等^[32]构建裸鼠皮下前列腺肿瘤模型,随机分组为对照组(假治疗)、US 组(US)、USMB 组(USMB),采用彩色多普勒血流成像、HE 染色、免疫印迹和透射电镜,发现 USMB 组肿瘤坏死(肿瘤体积明显减小、细胞核消失、胞浆空泡化增加、核周池扩张)、血管管腔闭塞、血流信号消失、COX-2 和血管内皮生长因子的强度明显降低,而在对照组和 US 组肿瘤有完整的血管内皮和血管腔,因此,得出 USMB 可能导致裸鼠皮下肿瘤的血管闭塞和生长抑制作用。

因此,USMB 治疗可以导致广泛的内皮细胞死亡,从而导致肿瘤血管系统的机械性破坏。

2.6 辅助血栓消融

血栓脱落可能会导致急性脑梗死,最应采取的措施是使阻塞的血管早期再通、及时恢复供血。若是采用药物只能治疗超早期脑梗死,而且具有出血危险性高及治疗时间窗短等因素限制的影响。而超声波可以利用其机械效应,帮助溶栓药物扩散到血凝块中,并机械地分解血凝块,提高超声溶栓的效果^[33]。

USMB 不仅可以达到对靶向血管内血栓的完全溶解,同时也能达到预防微循环的再栓塞作用^[34]。王蕊等^[35]制备大鼠下肢微动脉血栓栓塞模型,随机分为对照组(持续泵入 MB)、治疗组 1(1000 周期低频长脉冲治疗超声+持续泵入 MB)、治疗组 2(5000 周期低频长脉冲治疗超声+持续泵入 MB),并同时连续成像超声观察、重复再灌注微血栓悬液,留取栓塞前、栓塞后、治疗 1 min、治疗 10 min 下肢再灌注成像图像,描绘视频强度-时间曲线,对比栓塞前后下肢微血管血流容积,结果发现治疗组的溶栓效果显著高于对照组,得出低频长脉冲治疗超声联合 MB 对大鼠下肢微动脉血栓栓塞有良好的治疗效果。

因此,USMB 治疗可以通过超声聚焦于血栓部位,加用溶栓剂辅助血栓消融实现超声溶栓。

3 问题与展望

众多的研究均表明,利用 USMB 治疗能无创、靶向、可逆地靶向输送药物、增强免疫治疗、介导基因转染、开放血脑屏障、损伤肿瘤血管、辅助血栓消融,为疾病的治疗提供新途径、新思路。虽然目前在动物实验方面已有不少研究表明 USMB 技术的应用广泛,但是实际应用于临床却仍需完善诸多问题:(1)明确不同生物物理效应相对应的具体作用原理,提高临床治疗效率;(2)恰当利用超声的热效应,减少不必要损伤;(3)提升微泡制备技术,兼顾考虑载体半衰期和穿透效率;(4)加强微泡稳定性,延长在靶器官区域停留时间;(5)探究不同疾病的最佳超声参数,做到有针对性地治疗。

针对 USMB 技术的应用研究,无论是动物实验方面,还是实际临床方面,超声新技术的发展、造影剂的完善都面临着诸多挑战。这不仅需要临床供给指引,还需要多学科合作。尽管存在许多问题,但已取得的研究成果充分显示了 USMB 技术潜在优势,随着对其在动物实验方面应用的深入研究,USMB 将广泛应用于临床,对临床治疗作出巨大贡献。

参 考 文 献(References)

- [1] Meng L, Liu X, Wang Y, et al. Sonoporation of cells by a parallel stable cavitation microbubble array [J]. Adv Sci (Weinh), 2019, 6(17): 1900557.
- [2] Shi G, Zhong M, Ye F, et al. Low-frequency hifu induced cancer immunotherapy: tempting challenges and potential opportunities [J]. Cancer Biol Med, 2019, 16(4): 714-728.
- [3] Wang F, Dong L, Wei X, et al. Effect of gambogic acid-loaded porous-lipid/plga microbubbles in combination with ultrasound-triggered microbubble destruction on human glioma [J]. Front Bioeng Biotechnol, 2021, 9: 711787.
- [4] 林晨, 陈叶梓, 刘朝奇, 等. 超声微泡介导的载药系统在肿瘤靶向治疗的研究进展 [J]. 中国药理学杂志, 2021, 56(17): 1368-1371.
Lin C, Chen YZ, Liu CQ, et al. Recent advances of ultrasound microbubble-mediated drug delivery system in tumor targeted therapy [J]. Chin Pharm J, 2021, 56(17): 1368-1371.
- [5] 姚志伟, 黄桂芬, 陈锦婷. 高频、低频彩色多普勒超声检查与血浆 PCT 对阑尾炎的诊断价值 [J]. 海南医学, 2022, 33(6): 769-772.
Yao ZW, Huang GF, Chen PT. Diagnostic value of high-frequency and low-frequency color Doppler ultrasound combined with plasma procalcitonin in appendicitis [J]. Hainan Med J, 2022, 33(6): 769-772.
- [6] Sharma D, Giles A, Hashim A, et al. Ultrasound microbubble

- potentiated enhancement of hyperthermia-effect in tumours [J]. PLoS One, 2019, 14(12): e226475.
- [7] 鲁众阳, 周亚婷. 超声造影剂专利分析 [J]. 中国科技信息, 2020, 16: 17-18.
- Lu ZY, Zhou YT. Patent analysis of ultrasound contrast agent [J]. Chin Sci Tech Inform, 2020, 16: 17-18.
- [8] Nanda NC, Wistran DC, Karlsberg RP, et al. Multicenter evaluation of sonovue for improved endocardial border delineation [J]. Echocardiography, 2002, 19(1): 27-36.
- [9] Newsome IG, Kierski TM, Dayton PA. Assessment of the superharmonic response of microbubble contrast agents for acoustic angiography as a function of microbubble parameters [J]. Ultrasound Med Biol, 2019, 45(9): 2515-2524.
- [10] 位红芹, 马穗红, 柳建华. 诊断超声及低声压治疗超声对微泡的作用效果研究 [J]. 广州医药, 2021, 52(2): 33-36.
- Wei HQ, Ma SH, Liu JH. Study of diagnostic ultrasound and low acoustic pressure therapy on microbubbles [J]. Guangzhou Med, 2021, 52(2): 33-36.
- [11] Cammalleri A, Croce P, Lee W, et al. Therapeutic potentials of localized blood-brain barrier disruption by noninvasive transcranial focused ultrasound: a technical review [J]. J Clin Neurophysiol, 2020, 37(2): 104-117.
- [12] Unga J, Kageyama S, Suzuki R, et al. Scale-up production, characterization and toxicity of a freeze-dried lipid-stabilized microbubble formulation for ultrasound imaging and therapy [J]. J Liposome Res, 2020, 30(3): 297-304.
- [13] Fu YR, Chen F, Luo Y, et al. Nanoscale bubble ultrasound contrast agents-mediated suicide gene therapy system, nanoscale bubble-LV5-YCD-TK/GCV/5-FC, effectively inhibits bladder cancer cell growth [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(1): 75-86.
- [14] 张萍, 高云华, 刘平, 等. 冷冻干燥法制备载紫杉醇脂质微泡的实验研究 [J]. 中国超声医学杂志, 2008, 24(4): 290-292.
- Zhang P, Gao YH, Liu P, et al. Preparation of paclitaxel-loaded liposome microbubbles using lyophilization: an experimental study [J]. Chin J Ultrasound Med, 2008, 24(4): 290-292.
- [15] 郑剑, 王平, 尹庭辉, 等. 机械振荡法与声振法制备纳米级微泡超声造影剂效能比较 [J]. 中华超声影像学杂志, 2012, 21(12): 1078-1081.
- Zheng J, Wang P, Yin TH, et al. Comparison of preparation efficiency of nanometer microbubble ultrasound contrast agent by mechanical vibration method and acoustic vibration method [J]. Chin J Ultrasonogr, 2012, 21(12): 1078-1081.
- [16] 江琼超, 智慧. 脂质微泡造影剂的制备方法及其应用的研究进展 [J]. 中国介入影像与治疗学, 2010, 7(5): 576-578.
- Jiang QC, Zhi H. Methods of preparation for lipid microbubble contrast media and advances in the application [J]. Chin J Interv Imaging Ther, 2010, 7(5): 576-578.
- [17] Zhang L, Yin T, Li B, et al. Size-modulable nanoprobe for high-performance ultrasound imaging and drug delivery against cancer [J]. ACS Nano, 2018, 12(4): 3449-3460.
- [18] Lee S, Jeon H, Shim S, et al. Preclinical study to improve microbubble-mediated drug delivery in cancer using an ultrasonic probe with an interchangeable acoustic lens [J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 12654.
- [19] 杜宇翎, 陈思瑶, 周野, 等. 基于微流控技术制备微泡的研究进展 [J]. 科技创新与应用, 2021, 11(30): 121-124.
- Du YL, Chen SY, Zhou Y, et al. Research progress in preparation of microbubbles based on microfluidic technology [J]. Technol Innovation Appl, 2021, 11(30): 121-124.
- [20] Li Q, Li H, He C, et al. The use of 5-fluorouracil-loaded nanobubbles combined with low-frequency ultrasound to treat hepatocellular carcinoma in nude mice [J]. Eur J Med Res, 2017, 22(1): 48.
- [21] Ho YJ, Li JP, Fan CH, et al. Ultrasound in tumor immunotherapy: current status and future developments [J]. J Control Release, 2020, 323: 12-23.
- [22] 谢茜, 刘小慧, 刘朝奇, 等. 超声微泡介导肿瘤免疫治疗的机制及其应用 [J]. 实用医学杂志, 2020, 36(13): 1849-1853.
- Xie Q, Liu XH, Liu ZQ, et al. The mechanism and application of ultrasound microbubble mediated tumor immunotherapy [J]. J Practical Med, 2020, 36(13): 1849-1853.
- [23] 张蔚, 白文坤, 孟哲颖, 等. 低频超声联合微泡提高小鼠前列腺癌微环境中抗肿瘤免疫的体外实验研究 [A]. 中国超声医学工程学会第五届全国介入超声医学学术交流大会 [C]; 2019.
- Zhang W, Bai WK, Meng ZY, et al. *In vitro* experimental study of low frequency ultrasound combined with microbubbles to improve anti-tumor immunity in mouse prostate cancer microenvironment [A]. The 5th national academic exchange conference of interventional ultrasound medicine of chinese society of ultrasonic medical engineering [C]; 2019.
- [24] 黄叶, 陈巍, 田海. 超声波靶向微泡击碎技术在心脏病基因治疗中的现状与前景 [J]. 疑难病杂志, 2021, 20(9): 948-952.
- Huang Y, Chen W, Tian H. Current status and prospect of ultrasonic-targeted microbubble destruction in gene therapy of cardiac disease [J]. Chin J Difficult Cas Complicated Cases, 2021, 20(9): 948-952.
- [25] Qian L, Thapa B, Hong J, et al. The present and future role of ultrasound targeted microbubble destruction in preclinical studies of cardiac gene therapy [J]. J Thorac Dis, 2018, 10(2): 1099-1111.
- [26] 程祖胜, 夏国园, 钱彩艳, 等. 超声作用下 CTGF-siRNA 对大鼠肝纤维化基因治疗的实验研究 [J]. 中国超声医学杂志, 2021, 37(1): 93-96.
- Cheng ZS, Xia GY, Qian CY, et al. The experimental study of CTGF-siRNA gene therapy for liver fibrosis in rats under ultrasound [J]. Chin J Ultrasound Med, 2021, 37(1): 93-96.
- [27] 钟林宏, 祝兴宇, 张渝, 等. 超声联合微泡开放血脑屏障的研究进展 [J]. 临床超声医学杂志, 2021, 23(12): 934-937.

- Zhong LH, Zhu XY, Zhang Y, et al. Research progress of ultrasound combined with microbubbles to open the blood-brain barrier [J]. J Clin Ultrasound Med, 2021, 23(12): 934-937.
- [28] Sierra C, Acosta C, Chen C, et al. Lipid microbubbles as a vehicle for targeted drug delivery using focused ultrasound-induced blood-brain barrier opening [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2017, 37(4): 1236-1250.
- [29] Wang F, Wei XX, Chang LS, et al. Ultrasound combined with microbubbles loading bdnf retrovirus to open bloodbrain barrier for treatment of Alzheimer's disease [J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 615104.
- [30] 韩璐, 郭凯, 郑瑜, 等. 微泡介导超声空化联合自然杀伤细胞对兔肝 VX2 肿瘤热消融的增效作用 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(11): 16-21.
- Han L, Guo K, Zheng Y, et al. Microbubble-enhanced ultrasound cavitation combined with natural killer cells augmented microwave ablation of rabbit liver VX2 tumors [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(11): 16-21.
- [31] Hou R, Xu Y, Lu Q, et al. Effect of low-frequency low-intensity ultrasound with microbubbles on prostate cancer hypoxia [J]. Tumour Biol, 2017, 39(10): 1-9.
- [32] Shen ZY, Shen E, Diao XH, et al. Inhibitory effects of subcutaneous tumors in nude mice mediated by low-frequency ultrasound and microbubbles [J]. Oncol Lett, 2014, 7(5): 1385-1390.
- [33] Goel L, Jiang X. Advances in sonothrombolysis techniques using piezoelectric transducers [J]. Sensors (Basel), 2020, 20(5): 1288.
- [34] 阿丽米娜·阿文, 穆玉明. 靶向微泡携带药物联合低频超声溶栓的研究进展 [J]. 中国医药导报, 2015, 12(30): 34-37.
- Alimina AW, Mu YM. Reseach progress of targeted microbubble with low-frequency ultrasound in thrombolysis [J]. Chin Med Herald, 2015, 12(30): 34-37.
- [35] 王蕊, 杨莉, 陈向辉, 等. 长脉冲超声联合声学微泡治疗大鼠下肢微动脉血栓栓塞的实验研究 [J]. 中国超声医学杂志, 2017, 33(12): 1127-1130.
- Wang R, Yang L, Chen XH, et al. Long-pulsed ultrasound mediated microbubbles effects for the treatment of hind limb micro-artery thromboembolism in a rat model [J]. Chin J Ultrasound Med, 2017, 33(12): 1127-1130.

[收稿日期] 2022-04-28

《中国实验动物学报》刊期变更通知

为缩短出版周期,及时反映本学科最新科技动态,应广大读者、作者要求,本刊向主管部门及北京市新闻出版局提出申请变更刊期。经批准《中国实验动物学报》自 2022 年 8 月份起由双月刊变更为月刊。从 2023 年期起全年共 12 期。

欢迎读者积极订阅! 欢迎各位学者踊跃投稿!