载多西紫杉醇脂质微泡制备及特性考察 *

郑宏志[1] 刘 阳[1] 周晓东[2] 张军千[3]

（1 中国人民解放军 96606 部队医院肿瘤血液与职业病治疗科 河南 洛阳 471000；2 西安国际医学中心医院超声诊疗科 陕西 西安 710100；3 河南科技大学第一附属医院肿瘤医院消化肿瘤内科 河南 洛阳 471000）

摘要 目的：制备纳米级载多西紫杉醇脂质微泡（DLLM），表征其理化性质，并评估其生物安全性及体外抗肿瘤效果，探讨其作为化疗药物靶向递送系统的潜力。**方法：**采用薄膜水化法制备 DLLM；利用透射电子显微镜、扫描电子显微镜和粒径分析仪表征其形态、粒径及分布，采用高效液相色谱法测定药物包封率；以人肝癌 HepG2 细胞为模型，设置对照组（Control 组）、多西紫杉醇组（DOC 组）、载多西紫杉醇脂质微泡组（DLLM 组）及载多西紫杉醇脂质微泡 + 超声组（DLLM+US 组），通过光学显微镜观察细胞形态，CCK-8 法检测细胞存活率，流式细胞术检测细胞凋亡，评估微泡的生物相容性及其介导的超声增效抗肿瘤作用。**结果：**制备的 DLLM 呈规则球形，粒径分布范围为 200-600 nm，平均粒径为 380 nm，包封率 80.3%± 2.6%。DOC 组和 DLLM+US 组细胞存活率显著低于 Control 组（$P<0.01$），凋亡率显著升高（$P<0.01$）。DLLM+US 组细胞存活率低于 DOC 组（$P<0.05$），凋亡率高于 DOC 组（$P<0.05$）。DLLM 组与 Control 组相比，细胞存活率及凋亡率均无显著性差异（$P>0.05$）。**结论：**本实验制备的纳米级 DLLM，其粒径均一、包封率高、稳定性及生物相容性良好。DLLM 在超声辐照触发下可增强多西紫杉醇对 HepG2 细胞的杀伤及促凋亡作用。

关键词：多西紫杉醇；脂质微泡；HepG2 细胞

中图分类号：R329.2；R445.1；R735.7；R914 **文献标识码：**A **文章编号：**1673-6273（2025）18-2890-07

DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2025.18.002

Preparation and Characterization of Docetaxel-loaded Lipid Microbubbles*

ZHENG Hong-zhi[1], LIU Yang[1], ZHOU Xiao-dong[2], ZHANG Jun-qian[3]

(1 Department of Tumor Blood and Occupational Disease Treatment, 96606 Military Hospital of Chinese People's Liberation Army, Luoyang, Henan, 471000, China; 2 Department of Ultrasound Diagnosis and Treatment, Xi'an International Medical Center Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710100, China; 3 Department of Gastroenterology and Oncology, Cancer Hospital, First Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan, 471000, China)

* 基金项目：国家自然科学基金项目（81071169）；河南省医学科技攻关计划项目（LHGJ20230478）

作者简介：郑宏志（1975-），男，硕士，主治医师，主要研究方向：超声介入诊断与治疗，E-mail: zhenghz534@163.com

作者贡献：郑宏志负责研究的实施，撰写论文；刘阳负责数据的收集与整理，数据统计学分析；周晓东负责研究的选题与设计；张军千参与撰写文章，负责文章的质量控制与审查。

利益冲突：所有作者均声明不存在利益冲突 伦理审查：不需要 知情同意：不需要

引用本文：郑宏志, 刘阳, 周晓东, 等. 载多西紫杉醇脂质微泡制备及特性考察 [J]. 现代生物医学进展, 2025, 25(18): 2890-2896.

（收稿日期：2025-07-14）

ABSTRACT Objective: To prepare nanoscale docetaxel-loaded lipid microbubbles (DLLM), characterize their physical and chemical properties, evaluate their biosafety and anti-tumor effects in vitro, and explore their potential as a targeted delivery system for chemotherapeutic drugs. **Methods:** DLLM was prepared by thin film hydration method. The morphology, particle size and distribution were characterized by transmission electron microscopy, scanning electron microscopy and particle size analyzer. The drug encapsulation efficiency was determined by high performance liquid chromatography. Human hepatoma HepG2 cells were used as a model to set up the control group (Control group), the docetaxel group (DOC group), the docetaxel-loaded lipid microbubbles group (DLLM group) and the docetaxel-loaded lipid microbubbles+ ultrasound group (DLLM+ US group). The cell morphology was observed by optical microscope, the cell survival rate was detected by CCK-8 method, and the apoptosis was detected by flow cytometry. The biocompatibility of microbubbles and their mediated ultrasound-enhanced anti-tumor effect were evaluated. **Results:** The prepared DLLM was regular spherical, with a particle size distribution range of 200-600 nm, an average particle size of 380 nm, and an encapsulation efficiency of 80.3%± 2.6%. The cell viability of the DOC group and the DLLM+US group was significantly lower than that of the Control group ($P<0.01$), and the apoptosis rate was significantly increased ($P<0.01$). The cell viability of the DLLM+US group was lower than that of the DOC group ($P<0.05$), and the apoptosis rate was higher than that of the DOC group ($P<0.05$). There was no significant difference in cell viability and apoptosis rate between the DLLM group and the Control group ($P>0.05$). **Conclusions:** The nano-scale DLLM prepared in this experiment has uniform particle size, high encapsulation efficiency, good stability and biocompatibility. DLLM can enhance the killing and pro-apoptotic effects of docetaxel on HepG2 cells under ultrasound irradiation.

Key words: Docetaxel; Lipid microbubbles; HepG2 cells

前言

超声微泡造影剂通常由具有生物相容性的外壳包裹惰性气体组成，其独特的声学特性可显著增强超声成像对比度，并具有良好的临床应用安全性[1]。近年来，通过改造微泡壳层或内核载药，微泡已发展为重要的药物和基因递送载体[2]。微泡在超声辐照下发生空化效应，瞬时释放高能量，产生局部冲击波、微射流、高温高压等物理效应，利用此特性可实现药物的精准定位释放，增加局部药物浓度，增强杀伤效力[3,4]。然而，传统微米级微泡受限于尺寸难以有效穿透血管内皮间隙到达深部组织，限制了其作为载体的递送效率[5]。因此，开发纳米级载药超声微泡已成为肿瘤靶向治疗领域的发展方向[6]。由磷脂材料制备的脂质微泡具有粒径小、稳定性高的优势，同时具备良好的药物包载能力，脂溶性药物可包载于双分子层中，而亲水性药物则可包载于内部[7]。多西紫杉醇（docetaxel, DOC）是一种高效的紫杉烷类抗肿瘤药物，对多种肿瘤疗效显著[8-10]，但由于脂溶性强，水溶性差的特点，使其临床应用中常需依赖聚山梨酯 80 和无水乙醇作为增溶剂，易引发过敏反应。此外，药物固有的细胞毒性与增溶系统带来的不良反应相互叠加，进一步制约了该药物的临床应用范围与患者耐受性[11]。基于此，本研究选用生物相容性磷脂材料，制备纳米级载多西紫杉醇脂质微泡（docetaxel-loaded lipid microbubble, DLLM），并考察超声介导下 DLLM 的抗肿瘤效果。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

二棕榈酰磷脂酸（dipalmitoyl phosphatidic acid, DPPA）、二棕榈酰磷脂酰胆碱（dipalmitoyl phosphatidyl choline, DPPC）、二棕榈酰磷脂酰乙醇胺（dipalmitoyl phosphatidyl ethanolamine, DPPE）（西安瑞禧生物有限公司），DOC（大连美仑生物科技有限公司），旋转蒸发仪（上海亚荣生化仪器厂），粒径分析仪（美国 Beckman Coulter 公司），透射电子显微镜（美国 FEI 公司），扫描电子显微镜（日本 Hitachi 公司），高效液相色谱仪（日本 Shimadzu 公司），光学显微镜（日本 Olympus 公司），酶标仪（美国 Thermo 公司），流式细胞仪（美国 BD 公司），彩色超声仪（意大利 Esaote 公

司),人肝癌 HepG2 细胞(空军军医大学西京消化医院实验中心)。

1.2 薄膜水化法制备 DLLM

按优化比称取 DPPC、DPPE、DPPA、胆固醇及 DOC,溶于适量氯仿于圆底烧瓶中。利用 50℃水浴进行旋转蒸发以除去有机溶剂,在瓶内获得均匀的脂质薄膜。向含脂质膜的烧瓶中加入含甘油的磷酸盐缓冲液(pH 7.4)。在 40℃水浴中温和搅拌水化 60 min,形成粗脂质体悬液。将悬液转移至密闭玻璃瓶,用全氟丙烷气体置换瓶内空气。使用机械振荡器在设定的频率和时间内振荡,形成 DLLM 悬液。

1.3 微泡理化性质表征

1.3.1 形态学与粒径分析 透射电镜:在铜网上滴加稀释的 DLLM 悬液,随后用滤纸吸去多余液体。用 3 %磷钨酸溶液负染 2 min,自然干燥后观察微泡形态并测量粒径。扫描电镜:将稀释的 DLLM 悬液滴加至导电胶上,干燥。经喷金处理后,加速电压 5 kV 观察微泡形态并测量粒径。粒径分析仪:将 DLLM 悬液用磷酸盐缓冲液适当稀释,经水浴超声分散后,使用粒径分析仪测定微泡的平均粒径和粒径分布,每个样品重复测定三次后取平均值。

1.3.2 检测 DLLM 包封率 包封率采用高效液相色谱法测定,实验用 DOC 标准品和 DLLM 样品浓度均为 50 μg/mL。色谱条件:色谱柱:Agilent HC-C_{18}(250 mm × 4.6 mm,5 μm);柱温:室温;流动相:甲醇 - 水 - 乙腈; 检测波长:227 nm。分别取 DOC 标准品溶液与 DLLM 样品溶液注入液相色谱仪,考察色谱峰的分离度、保留时间及干扰情况。依据标准品的峰面积计算样品中 DOC 的浓度,进而求得总药物量。采用反透析法分离游离 DOC[12],收集袋内液体,利用高效液相色谱法测定其中游离 DOC 的浓度,计算游离药物量。包封率(%)按公式计算:[(总药物量 - 游离药物量)/ 总药物量]× 100 %。

1.4 HepG2 细胞实验

1.4.1 细胞培养与分组 人肝癌 HepG2 细胞置于 37℃、5 % CO_2 培养箱中培养。实验使用对数生长期的细胞,将细胞以 1.0× 10^5/mL 密度接种于培养板。随机分为 4 组:对照组(Control 组):仅加培养基。多西紫杉醇组(DOC 组):加入含 DOC(终浓度 10 nmol/L)的培养基。载多西紫杉醇脂质微泡组(DLLM 组):加入含等效 DOC 浓度(10 nmol/L)的 DLLM 悬液的培养基。载多西紫杉醇脂质微泡＋超声组(DLLM+US 组):加入含等效 DOC 浓度(10 nmol/L)的 DLLM 悬液的培养基,并立即从培养板底部施加超声辐照(辐照参数为 1 W/cm^2,每孔辐照时长 30 s)。

1.4.2 细胞形态学观察 各组处理 48 h 后,采用光学显微镜观察细胞形态结构变化。

1.4.3 检测细胞存活率 应用 CCK-8 法测定存活率,各组细胞处理 48h 后,每孔加入 CCK-8 试剂 10 μL,再孵育 2 h, 于 450 nm 波长处酶标仪测定吸光度(A 值),细胞存活率(%)按公式计算:(实验组 A 值 / 对照组 A 值)× 100 %。

1.4.4 检测细胞凋亡情况 采用流式细胞术测定凋亡,各组细胞处理 48 h 后,消化、洗涤及离心,收集细胞沉淀并以磷酸盐缓冲液洗涤两次,调整细胞浓度重悬后,加入 Annexin V-FITC 和 PI 溶液,流式细胞仪进行检测分析。

1.5 统计学分析

数据采用 SPSS 21.0 软件进行统计分析, 计量资料符合正态分布用 $\bar{x}\pm s$ 表示, 各组间的比较采用单因素方差分析,两组间的比较采用 LSD 法。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 DLLM 的理化性质表征

透射电镜与扫描电镜观察显示(图 1、图 2),制备的 DLLM 呈形态规则、分散性良好的球形结构,粒径分布范围为 200-600 nm。粒径分析仪测定 DLLM 的平均粒径为 380 nm (约 80%范围为 300-500 nm),表明微泡粒径均一、稳定性良好。高效液相色谱法分析表明, 在选定的色谱条件下,DOC 色谱峰分离良好,保留时间约 7.9 min,峰形对称,微泡辅料及溶剂无干扰(图 3),包封率测定结果为 80.3%± 2.6%。

2.2 细胞形态学变化

Control 组:细胞生长状态良好,贴壁紧密,形态饱满且伸展充分,呈典型的梭形或多角形。DOC 组:细胞大量脱落、悬浮,形态由梭形或多角形变为圆形,体积明显缩小,出现皱缩现象。培养液内观察到细胞碎片和颗粒状悬浮物。DLLM 组:细胞形态与 Control 组相似, 贴壁良好, 未观察到明显的形态学改变。DLLM+US 组:细胞损伤最为严重,脱落细胞数量多于 DOC 组,绝大多数细胞失去原有形态,严重皱缩、变圆、体积缩小,培养液中细胞碎片及颗粒状悬浮物多于 DOC 组。见图 4。

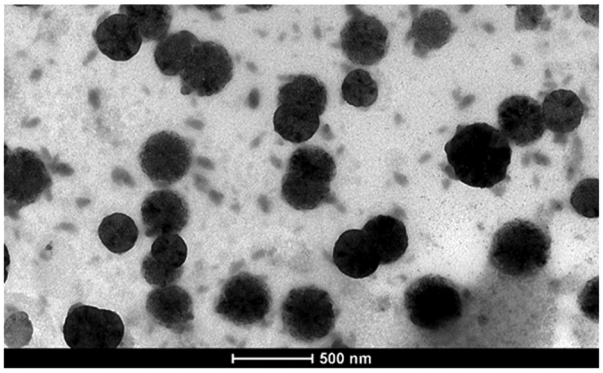

图 1 DLLM 透射电镜图(20 000×)

Fig. 1 DLLM transmission electron microscopy (20 000×)

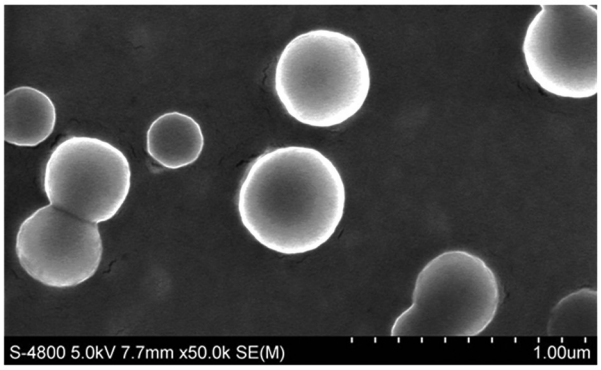

图 2 DLLM 扫描电镜图(50 000×)

Fig. 2 DLLM scanning electron microscope (50 000×)

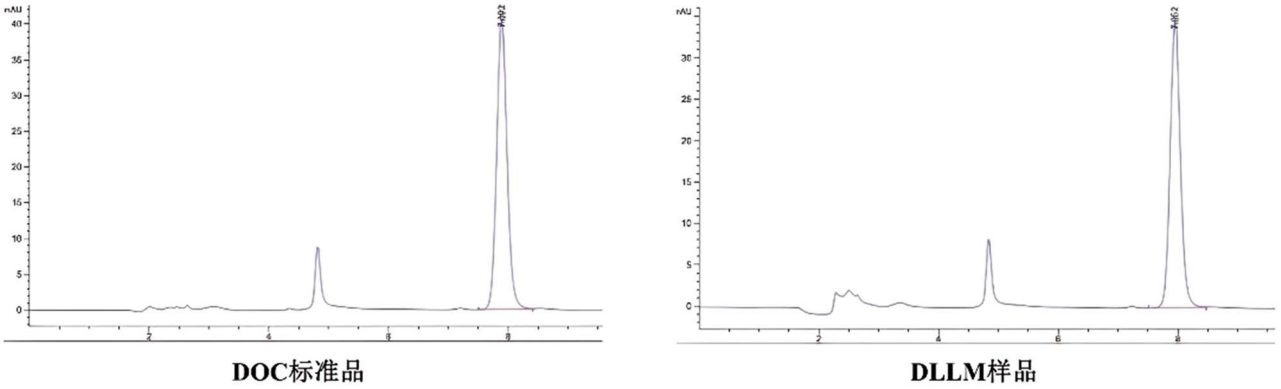

图 3 高效液相色谱法色谱图

Fig. 3 High performance liquid chromatography chromatogram

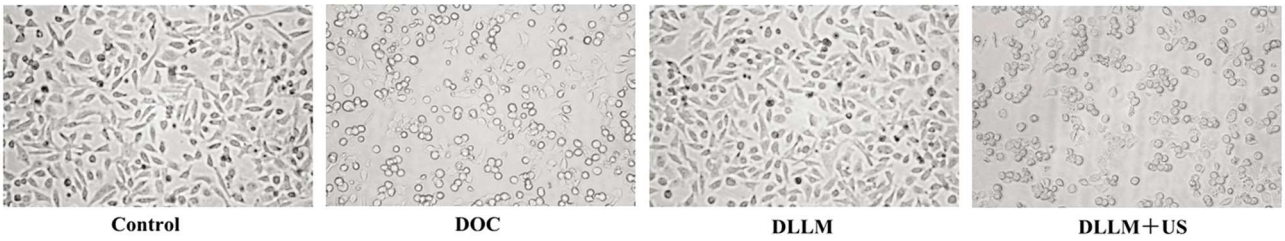

图 4 光学显微镜下各组 HepG2 细胞形态(200×)

Fig. 4 The morphology of HepG2 cells in each group under optical microscope (200×)

2.3 细胞存活率

DOC 组和 DLLM+US 组细胞存活率显著低于 Control 组（$P<0.01$）;DLLM+US 组细胞存活率低于 DOC 组（$P<0.05$）。DLLM 组细胞存活率与 Control 组相比无显著差异($P>0.05$)。见图 5。

2.4 细胞凋亡情况

流式细胞术检测结果(图 6、图 7)显示:DOC 组和 DLLM+US 组细胞总凋亡率显著高于 Control 组($P<0.01$);DLLM+US 组细胞总凋亡率高于 DOC 组($P<0.05$)。DLLM 组总凋亡率与 Control 组相比无显著差异($P>0.05$)。

3 讨论

传统的超声微泡由脂质、白蛋白等可生物降解材料构成的外壳包裹低溶解度、高分子量的惰性气体组成,这一结构设计提高了微泡在体内的稳定性和安全性[13,14]。超声微泡的核心作用是增强超声显影。然而,通过对其外壳或内部结构进行改造,微泡可被赋予药物携载能力,成为药物载体。药物可通过内核包封、嵌入壳层或借助配体 - 受体连接等方式搭载于微泡之上[15-17]。作为药物载体,超声微泡代表了肿瘤靶向治疗领域的一项创新技术。该技术将药物附着或包裹于微

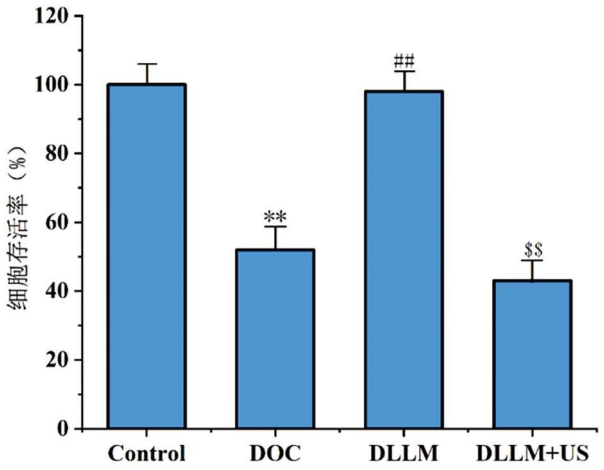

图 5 各组细胞存活率

Fig. 5 Cell viability of each group

数据以 $\bar{x}\pm$ SD 表示，n = 6。与 Control 比较，$P<0.01$，$^{\$\$}P<0.01$，$^{\#\#}P>0.05$；与 ** 比较，$^{\$\$}P<0.05$。**

Note: Data were expressed as $\bar{x}\pm$ SD, n = 6. **$P<0.01$, $^{\$\$}P<0.01$, $^{\#\#}P>0.05$, Comparison with Control; $^{\$\$}P<0.05$, Comparison with **.

泡，并在靶组织内利用超声波触发药物释放，有效克服了部分药物单独应用时的局限性，如不良反应、难以维持有效浓度以及穿透生物屏障困难等。这种靶向递送方式提升了药物在局部的渗透、沉积和激活效率，从而优化了药代动力学，实现了更高的治疗指数和更低的不良事件风险[18-20]。此外，超声微泡还具有促进药物向深层组织传递、并精确调控药物释放速率，使其能够在保护全身免疫水平的同时，精准杀伤肿瘤区域细胞并缓解化疗引起的免疫缺陷[21,22]。

本实验以磷脂为膜材制备纳米级 DLLM，粒径范围在 200-600 nm 之间，平均粒径为 380 nm，小于传统微米级微泡。与传统微米级微泡相比，纳米级超声微泡在肿瘤治疗中展现出两大优势：首先，纳米级微泡的尺寸与肿瘤组织特有的血管内皮间隙（100-2000 nm）相匹配，由于肿瘤血管生成异常，其内皮细胞连接松散、间隙增宽，而正常组织的血管内皮间隙通常

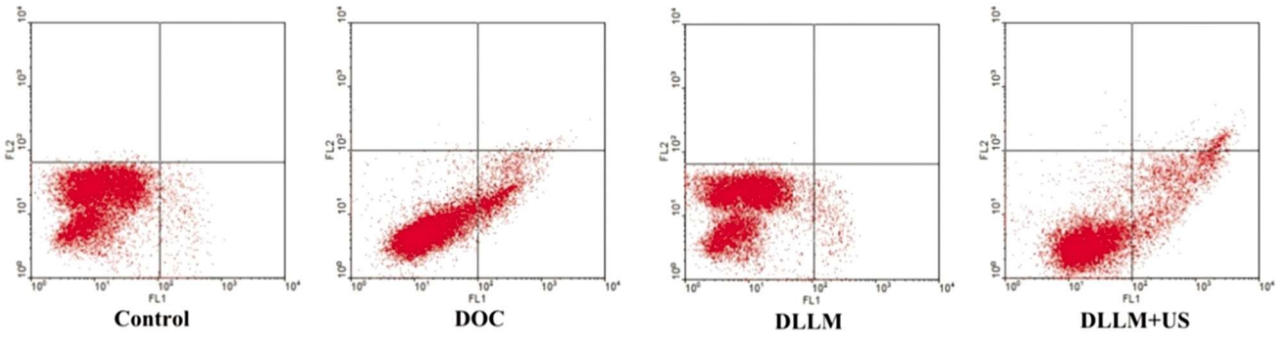

图 6 各组 HepG2 细胞凋亡情况

Fig. 6 Apoptosis of HepG2 cells in each group

<10 nm，当纳米微泡通过血液循环到达肿瘤部位时，可高效穿透这些宽大的内皮间隙，实现血管外渗和肿瘤组织靶向蓄积[23,24]；其次，肿瘤组织缺乏功能性淋巴引流系统，导致外渗的纳米微泡难以被有效清除，从而在肿瘤部位形成被动靶向的“高浓度药物蓄积池”，这种效应被称为“增强渗透与滞留效应”，是纳米药物载体实现肿瘤靶向的重要机制[23-25]。包封率是评估超声微泡制备工艺优劣和微泡质量的关键指标，本实验采用高效液相色谱法测定微泡包封率，该方法具有分辨率高、精密度好且受辅料干扰小的优势，结果显示，DLLM 包封率达到 80.3%± 2.6%，表明了该工艺的合理性与可行性。体外细胞实验结果表明，在无超声辐照条件下，DLLM 本身对 HepG2 细胞的存活率和凋亡率均无显著影响，表明所用磷脂材料及空白微泡载体具有良好的生物安全性，具有优异的生物相容性。此外，脂质双分子层结构为脂溶性药物 DOC 提供了理想的包裹环境，有效解决了其溶解性问题。这一特性避免了使用聚山梨酯 80 和无水乙醇等增溶剂，可降低临床应用中的过敏风险[26,27]。

体外细胞实验发现 DLLM+US 组对 HepG2 细胞的杀伤及促凋亡作用强于 DOC 组。其可能的机制在于超声触发的微泡空化效应，当超声波作用于 DLLM 时，微泡在声压作用下发生剧烈振荡、膨胀和内爆性塌陷，瞬间释放巨大能量[28]。这一过程产生多重协同效应，物理机械效应：空化产生的局部冲击波、微射流和高剪切力可直接破坏肿瘤细胞膜结构，增加其通透

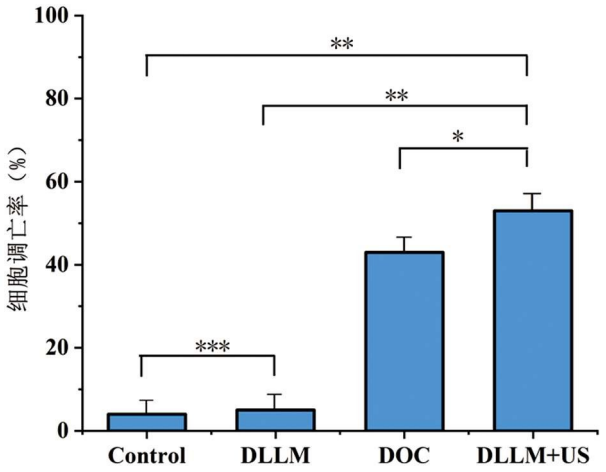

图 7 各组 HepG2 细胞凋亡量化情况

Fig. 7 Quantification of apoptosis of HepG2 cells in each group

数据以 $\bar{x}\pm$ SD 表示，n=6。**$P<0.01$, *$P<0.05$, ***$P>0.05$.

Note: Data were expressed as $\bar{x}\pm$ SD, n=6. **$P<0.01$, *$P<0.05$, ***$P>0.05$.

性，促进了药物的跨膜转运和细胞内摄取[29-31]；物理化学效应：空化产生的局部瞬时高温高压环境，可进一步破坏细胞膜、细胞骨架甚至细胞器[32]；生化效应：空化过程可诱导细胞内产生大量活性氧自由基，引起氧化应激，导致 DNA 损伤、蛋白质失活及线粒体功能障碍，最终协同触发细胞凋亡级联反应[33-35]。这些由超声空化介导的物理、化学和生化效应的协同作用，可能是 DLLM+US 组展现出最强抗肿瘤效果的原因。

本实验结果表明，DLLM 可作为 DOC 的一种有效递送载体，并在超声触发下表现出显著的体外增效作用。该系统结合了纳米尺寸的穿透优势、磷脂载体的良好生物相容性与安全性，以及超声空化效应的靶向触发与增效能力，为肿瘤的靶向治疗提供了新思路与研究基础。本研究为体外细胞水平实验，后续研究需深入评估 DLLM 在荷瘤动物模型中的药代动力学、靶向蓄积效率及抗肿瘤疗效。

参 考 文 献（References）

[1] Jangjou A, Meisami A H, Jamali K, et al. The promising shadow of microbubble over medical sciences: From fighting wide scope of prevalence disease to cancer eradication [J]. J Biomed Sci, 2021, 28(1): 49.

[2] Stride E, Segers T, Lajoinie G, et al. Microbubble agents: New directions[J]. Ultrasound Med Biol, 2020, 46(6): 1326-1343.

[3] Wischhusen J, Padilla F. Ultrasound-targeted microbubble destruction (UTMD) for localized drug delivery into tumor tissue[J]. IRBM, 2018, 40(1): 10-15.

[4] Tu J, Yu A C H. Ultrasound-mediated drug delivery: Sonoporation mechanisms, biophysics, and critical factors [J]. BME Front, 2022, 2022: 9807347.

[5] 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.

[6] 刘姝伶, 郭大静, 冉海涛, 等. 诊疗一体化胶质瘤靶向纳米粒增效声动力治疗及多模态显像: 体外实验研究 [J]. 中国医学影像技术, 2021, 37(5): 641-647.

[7] 陈庆华, 张强. 药物微囊化新技术及应用[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 205-231.

[8] 胡米, 刘歆春. 吡柔比星联合多西紫杉醇治疗中晚期乳腺癌的临床疗效及安全性 [J]. 临床合理用药, 2024, 17 (6): 95-97.

[9] 姚璐, 段智君, 鲁婷婷, 等. 信迪利单抗联合紫杉醇和顺铂方案治疗晚期食管癌患者的效果 [J]. 中国药物应用与检测, 2024 , 21(2): 97-101.

[10] 周进, 罗宏, 左颖, 等. 吡咯替尼联合多西他赛治疗 HER2 阳性晚期乳腺癌患者的疗效及对 T 淋巴细胞亚群水平的影响[J]. 中国医学创新, 2022, 19(30): 1-5.

[11] 兰双, 严珍, 奉建芳, 等. 多载药纳米递药系统用于提高多西紫杉醇抗肿瘤疗效的研究进展 [J]. 沈阳药科大学学报, 2024, 41(01): 140-148.

[12] 葛亮, 钱海, 高昊, 等. N- 酸化壳聚糖的合成及其修饰多西紫杉醇脂质体的体外性质研究 [J]. 中国药科大学学报, 2009, 40(6): 519-523.

[13] Abenojar E C, Nittayacharn P, De L A C, et al. Effect of bubble concentration on the in vitro and in vivo performance of highly stable lipid shell-stabilized micro-and nanoscale ultrasound contrast agents [J]. Langmuir, 2019, 35 (31): 10192-10202.

[14] Sirsi S, Borden M. Microbubble compositions, properties and biomedical applications[J]. Bubble Sci Eng Technol, 2009, 1 (1-2): 3-17.

[15] Lin L, Du Y, Hao J, et al. UTMD inhibits pancreatic cancer growth and metastasis by inducing macrophage polarization and vessel normalization [J]. Biomed Pharmacother, 2023, 160: 114322.

[16] 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.

[17] Qin D W, Li HG, Xie H L. Ultrasound-targeted microbubble destruction-mediated miR-205 enhances cisplatin cytotoxicity

in prostate cancer cells [J]. Mol Med Rep, 2018, 18 (3): 3242-3250.

[18] Smeenge M, Tranquart F, Mannaerts C K, et al. First-in-human ultrasound molecular imaging with a VEGFR2-specific ultrasound molecular contrast agent (BR55) in prostate cancer: a safety and feasibility pilot study [J]. Invest Radiol, 2017, 52 (7): 419-427.

[19] Willmann J K, Bonomo L, Testa A C, et al. Ultrasound molecular imaging with BR55 in patients with breast and ovarian lesions: first-in-human results[J]. J Clin Oncol, 2017, 35 (19): 2133-2140.

[20] Kim D, Lee J H, Moon H, et al. Development and evaluation of an ultrasound-triggered microbubble combined transarterial chemoembolization (TACE) formulation on rabbit VX2 liver cancer model[J]. Theranostics, 2021, 11(1): 79-92.

[21] Ianni D T, Bose J R, Sukumar K U, et al. Ultrasound/microbubble-mediated targeted delivery of anticancer microRNA-loaded nanoparticles to deep tissues in pigs[J]. J Control Release, 2019, 309: 1-10.

[22] Lee J H, Moon H, Han H, et al. Antitumor effects of intra-arterial delivery of albumin-doxorubicin nanoparticle conjugated microbubbles combined with ultrasound-targeted microbubble activation on VX2 rabbit liver tumors [J]. Cancers (Basel), 2019, 11(4): 581.

[23] Sirsi R S, Borden A M. State-of-the-art materials for ultrasound-triggered drug delivery [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2014, 72: 3-14.

[24] Hideaki N, Jun F, Fang J, et al. Development of next-generation macromolecular drugs based on the EPR effect: challenges and pitfalls [J]. Expert Opin Drug Deliv, 2015, 12(1): 53-64.

[25] Torchilin V. Tumor delivery of macromolecular drugs based on the EPR effect [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2010, 63 (3): 131-135.

[26] Zhang Y, Chang R, Li M, et al. Docetaxel-loaded lipid microbubbles combined with ultrasound-triggered microbubble destruction for targeted tumor therapy in MHCC-H cells[J]. OncoTargets Ther, 2016, 9: 4763-4771.

[27] 常瑞姣, 张悦, 周晓东, 等. 超声辐照载多西紫杉醇微泡对肝癌细胞裸鼠成瘤以及 PCNA 蛋白的影响[J]. 中国超声医学杂志, 2021, 37(7): 822-826.

[28] Chowdhury S M, Abouelkacem L, Lee T, et al. Ultrasound and microbubble mediated therapeutic delivery: Underlying mechanisms and future outlook [J]. J Control Release, 2020, 326: 75-90.

[29] Deprez J, Lajoinie G, Engelen Y, et al. Opening doors with ultrasound and microbubbles: beating biological barriers to promote drug delivery [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2021, 172: 9-36.

[30] Kooiman K, Roovers S, Langeveld S A G, et al. Ultrasound-responsive cavitation nuclei for therapy and drug delivery[J]. Ultrasound Med Biol, 2020, 46(6): 1296-1325.

[31] 张楚君, 刘朝奇, 赵云. 超声靶向微泡破坏用于肝脏疾病研究进展[J]. 中国介入影像与治疗学, 2024, 21(11): 708-711.

[32] Tang N, Tang J, Tang J, et al. Sononeoperfusion: a new therapeutic effect to enhance tumour blood perfusion using diagnostic ultrasound and microbubbles [J]. Cancer Imaging, 2023, 23(1): 29.

[33] Liu S, Zhang Y, Liu Y, et al. Ultrasound-targeted microbubble destruction remodels tumour microenvironment to improve immunotherapeutic effect [J]. Br J Cancer, 2023, 128(5): 715-725.

[34] Li Y, Lin L, Xie J, et al. ROS-triggered self-assembled nanoparticles based on a chemo-sonodynamic combinational therapy strategy for the noninvasive elimination of hypoxic tumors [J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2023, 15 (12): 15893-15906.

[35] Chen Y, Luo X, Liu Y, et al. Targeted Nanobubbles of PD-L1 mAb Combined with Doxorubicin as a Synergistic Tumor Repressor in Hepatocarcinoma [J]. Int J Nanomedicine, 2022, 17: 3989-4008.