

# 载 10-羟基喜树碱靶向相变纳米粒联合高强度聚焦超声治疗裸鼠肝癌移植瘤

任春蓉 张战峰 陈春燕 魏小芳 周 洋

**摘 要** **目的** 探讨叶酸受体靶向的载 10-羟基喜树碱(10-HCPT)相变纳米粒(FR-HCPT-PNPCA)造影剂联合高强度聚焦超声(HIFU)对裸鼠肝癌移植瘤的治疗效果。**方法** 采用皮下注射人肝癌 7721 细胞的方法制备荷瘤裸鼠模型 120 只,随机分为 4 组,每组 30 只,HIFU 治疗前 1 d 分别通过尾静脉注射药物或生理盐水 200  $\mu$ l,其中 A 组注射生理盐水+HIFU 辐照,B 组注射 HCPT+HIFU 辐照,C 组注射靶向非载药相变纳米粒(FR-PNPCA)+HIFU 辐照,D 组注射 FR-HCPT-PNPCA+HIFU 辐照。辐照后即刻应用超声观察各组裸鼠肿瘤内灰度变化。2 h 后每组处死 10 只裸鼠,取肿瘤组织行 TTC 染色观察大体病理并进行组织切片,HE 染色后于显微镜下观察肿瘤细胞坏死情况,然后行组织匀浆检查瘤内 HCPT 浓度。48 h 后每组再处死 10 只裸鼠,取肿瘤组织切片行 PCNA 和 TUNEL 染色观察各组肿瘤细胞增殖和凋亡情况。2 周后处死各组剩余裸鼠,测量肿瘤大小,并取主要脏器观察肿瘤转移情况。**结果** 辐照后即刻超声显示 A、B 组辐照区域几乎无灰度变化,C、D 组辐照前后灰度变化面积和变化值与 A、B 组比较,差异均有统计学意义(均  $P < 0.05$ )。辐照后 2 h,B、D 组瘤内均可检测到 HCPT,且 D 组瘤内 HCPT 浓度高于 B 组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );A、B 组均未见明显凝固性坏死,C、D 组肿瘤内均可见明显凝固性坏死,坏死范围与 A、B 组比较差异均有统计学意义(均  $P < 0.01$ )。辐照后 48 h,D 组细胞增殖率最低,细胞凋亡率最高,与 A、B、C 组比较差异均有统计学意义(均  $P < 0.05$ )。辐照后 2 周,D 组肿瘤几乎消失,转移灶最少,与 A、B、C 组比较差异均有统计学意义(均  $P < 0.05$ )。**结论** FR-HCPT-PNPCA 联合 HIFU 不仅能实时监控肿瘤 HIFU 消融并增强消融效果,且释放的药物能辅助治疗肿瘤,有望为肿瘤治疗提供一种精准、高效的方法。

**关键词** 高强度聚焦超声;靶向;载药;相变;裸鼠

[中图法分类号]R445.1;R-332

[文献标识码]A

## Treatment of xenograft hepatoma in nude mice by high intensity focused ultrasound combined with targeted phase-change nanoparticles loading 10-HCPT

REN Chunrong, ZHANG Zhanfeng, CHEN Chunyan, WEI Xiaofang, ZHOU Yang

Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Southwest Jiaotong University, the Third People's Hospital of Chengdu City, Chengdu 600031, China

**ABSTRACT** **Objective** To investigate the therapeutic effect of high intensity focused ultrasound (HIFU) combined with folic acid receptor-targeted 10-hydroxycamptothecin (10-HCPT)-loaded phase-change nanoparticle contrast agent (FR-HCPT-PNPCA) on xenograft hepatoma in nude mice. **Methods** One hundred and twenty tumor-bearing nude mice injected subcutaneously by human hepatocellular cancer cell (SMCC-7721) were randomly divided into 4 groups, and 200  $\mu$ l of drug (or saline) was injected into the tail vein one day before HIFU treatment respectively. Group A was injected by normal saline+HIFU irradiation, irradiation, group B was injected by HCPT+HIFU irradiation, group C was injected by targeted non-drug loaded phase change nanoparticles FR-PNPCA+HIFU irradiation, and group D was injected by targeted drug loaded phase change nanoparticles HCPT-PNPCA+HIFU irradiation. Immediately after irradiation, the grayscale changes in the tumor area were

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81971636);四川省医学会科研项目(S17011)

作者单位:600031 成都市,西南交通大学附属医院 成都市第三人民医院消化内科(任春蓉),超声科(周洋);阿坝州林业中心医院超声科(张战峰、陈春燕、魏小芳)

通讯作者:周洋,Email:hansenzy@126.com

observed by ultrasound. 2 h later, 10 nude mice were killed in each group. TTC staining of tumors and HE staining of tumor sections were performed to observe coagulation necrosis of tumor cells respectively. The intratumor HCPT concentration was examined by tissue homogenate examination. 48 h later, 10 nude mice were killed in each group again. The tumor sections were stained with PCNA and TUNEL to observe the effect of treatment on tumor cell proliferation and apoptosis respectively. 2 weeks later, the remaining nude mice were killed, the size of the tumor was measured, and the main organs were taken out to observe the tumor metastasis. **Results** There was no change in grayscale in the irradiated areas of groups A and B, and significant grayscale changes were found in groups C and D. The area and value of grayscale change before and after irradiation of groups C and D were statistically different from those in groups A and B (all  $P < 0.05$ ). After 2 h irradiation, HCPT can be detected in tumors of groups B and D, and the concentration of HCPT in tumors of group D was higher, which was statistically different from that of group B ( $P < 0.05$ ). Furthermore, no obvious coagulation necrosis was found in groups A and B, while obvious coagulative necrosis was found in the tumors of groups C and D, which were statistically different from that of groups A and B (all  $P < 0.01$ ). The tumor cell proliferation rate was the lowest and apoptosis rate was the highest in group D, the difference compared with A, B, C groups were statistically significant (all  $P < 0.05$ ). After irradiation 2 weeks, the tumor in group D almost disappeared, and the metastasis was the least, and the difference compared with A, B, C groups were statistically significant (all  $P < 0.05$ ). **Conclusion** Not only the targeted phase-change nanoparticles loading 10-HCPT combined with HIFU treatment can monitor the HIFU ablation of tumor in real time and enhance the HIFU ablation effect, but also can release the loading drug to assist the treatment of the tumor, which is expected to provide a precise and efficient tumor treatment method.

**KEY WORDS** High intensity focused ultrasound; Targeted; Drug loading; Phase change; Nude mice

高强度聚焦超声 (high intensity focused ultrasound, HIFU) 作为最具代表性的非侵入性治疗肿瘤的方式之一, 应用前景广泛, 但其治疗深部肿瘤 (如肝癌) 时需增加超声功率或延长单次消融时间, 且其疗效和生物安全性降低, 严重阻碍了其在临床的进一步发展应用<sup>[1]</sup>。相关研究<sup>[2-3]</sup>应用超声增效剂改变组织的声环境、增加超声空化作用和能量沉积来增效 HIFU 治疗。其中相变超声造影剂通过静脉注射后再行 HIFU 辐照, 可在肿瘤原位相变产生微泡, 增效 HIFU 的同时监控 HIFU 消融过程, 取得了较好的效果。然而, HIFU 消融不可避免存在残余肿瘤细胞, 导致肿瘤复发和转移, 同时因 HIFU 消融可破坏肿瘤血管致化疗药物难以到达肿瘤<sup>[4-5]</sup>。本实验拟制备一种叶酸受体靶向的载 10-羟基喜树碱相变纳米粒 (folic acid receptor-targeted 10-hydroxycamptothecin-loaded phase-change nanoparticle contrast agent, FR-HCPT-PNPCA), 可以在增效 HIFU 消融的同时释放化疗药物, 旨在更好地杀灭肿瘤细胞, 增强远期疗效, 为肿瘤精准治疗提供一种新的手段。

## 材料与方法

### 一、实验动物

BALB/c 裸鼠 160 只, 3~5 周龄, 平均体质量 (20.1±2.2)g, 购于西南交通大学实验动物中心。所有动物实验均取得西南交通大学医学院伦理委员会同意。

### 二、仪器与试剂

1. 主要试剂和细胞: 磷脂酰胆碱 (DPPC)、偶联叶酸的磷脂酰乙醇胺 [DSPE (PEG) Folate]、普通磷脂酰乙醇胺 (DSPE)、甘油磷脂 (DPPG)、泊洛沙姆 (PF68) 及胆固醇 (CH) 购于美国 Avanti 公司, 全氟己烷 (PFH) 购于法国 Elf Atochem 公司, 末端标记测定法 (TUNEL 法) 检测细胞凋亡和增殖细胞核抗原 (PCNA) 抗体购于美国 Sigma 公司, 10-HCPT、三氯甲烷、甲醛及 TTC 染色试剂购于生工生物工程 (上海) 有限公司。人肝癌 7721 细胞购于中国科学院细胞库, 细胞培养液购于美国 Gibco 公司。

2. 实验仪器: 78-1 磁力搅拌器 (上海越磁电子科技有限公司), RE-52A 旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂), FJ-200 高速分散均质机 (上海隆拓仪器有限公司), VCX-130 超声破碎仪 (美国 SONIC 公司), 倒置荧光显微镜 (日本 Olympus 公司), MyLab 90 彩色多普勒超声诊断仪 (意大利百胜医疗), JC-A HIFU 治疗仪 (重庆海扶医疗科技股份有限公司)。

### 三、FR-HCPT-PNPCA 的制备

HIFU 消融前 1 d 参照本课题组前期研究<sup>[6-7]</sup>的方法, 将壳材 [DPPC、DSPE (PEG) Folate/DSPE、DPPG、PF68、CH 和 10-HCPT] 按 5:1:1:1:1:1 的比例用三氯甲烷、甲醛溶解, 加入后真空旋转蒸发成膜, 重新水化后加入 PFH 经过双步乳化制得乳白色的 FR-HCPT-PNPCA 乳剂。不加入 10-HCPT 则制得单纯靶向非载

药相变纳米粒(FR-PNPCA)乳剂,成品送西南交通大学材料学院测得乳剂平均粒径( $340 \pm 45$ ) nm, 浓度  $1.12 \times 10^{10}$  个/ml。

#### 四、荷瘤裸鼠模型建立及分组

1. 荷瘤裸鼠模型建立及分组: 选取 160 只 BALB/c 裸鼠, 采用皮下注射人肝癌 7721 细胞的方法建立荷瘤裸鼠模型, 3~4 周后选取肿瘤大小约  $1 \text{ cm} \times 1 \text{ cm} \times 1 \text{ cm}$  荷瘤裸鼠 120 只, 随机等分为 4 组, 于 HIFU 治疗前 1 d 分别通过尾静脉注射药物或生理盐水 200  $\mu\text{l}$ 。A 组为注射生理盐水后行 HIFU 辐照, B 组为注射 HCPT (2 mg/ml) 后行 HIFU 辐照, C 组为注射 FR-PNPCA 后行 HIFU 辐照, D 组为注射 FR-HCPT-PNPCA 后行 HIFU 辐照。

2. HIFU 治疗: 参照既往实验研究<sup>[2-3]</sup>方法, 裸鼠腹腔内注射 1% 戊巴比妥钠 (30 mg/kg) 麻醉, 固定四肢, 将肿瘤部位完全浸入 HIFU 治疗仪的脱气水槽中, 超声确定焦域位于肿瘤中心, 采用点辐照的方式进行消融治疗, 能量为 120 W, 作用时间 5 s。

#### 五、观察指标

1. HIFU 辐照后即刻应用超声 (LS 22 探头, 频率 3~7 MHz) 观察各组肿瘤内灰度变化, 手动勾画出变化明显区域, 仪器自动计算灰度变化值和灰度变化面积。

2. 辐照后 2 h 观察大体病理和药物浓度。每组均处死 10 只裸鼠, 取肿瘤组织行 TTC 染色先肉眼观察, 后组织切片行 HE 染色于显微镜下观察肿瘤细胞坏死情况。然后肿瘤组织作组织匀浆, 高效液相色谱检测各组瘤内 HCPT 浓度。

3. 辐照后 48 h 行免疫组化检测肿瘤细胞增殖和凋亡情况。每组再处死 10 只裸鼠, 取肿瘤组织切片行 PCNA 和 TUNEL 染色。显微镜下人工计数视野下染棕黄色细胞数, 计

算细胞增殖率和凋亡率。

4. 辐照后 2 周观察肿瘤的生长和远处转移情况。处死各组剩余裸鼠, 测量肿瘤大小, 并取主要脏器观察肿瘤转移情况。

#### 六、统计学处理

应用 SPSS 18.0 统计软件, 正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 各组间比较采用单因素方差分析, 两两比较行 LSD 法; 非正态分布的计量资料比较行 Mann-Whitney *U* 秩和检验。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

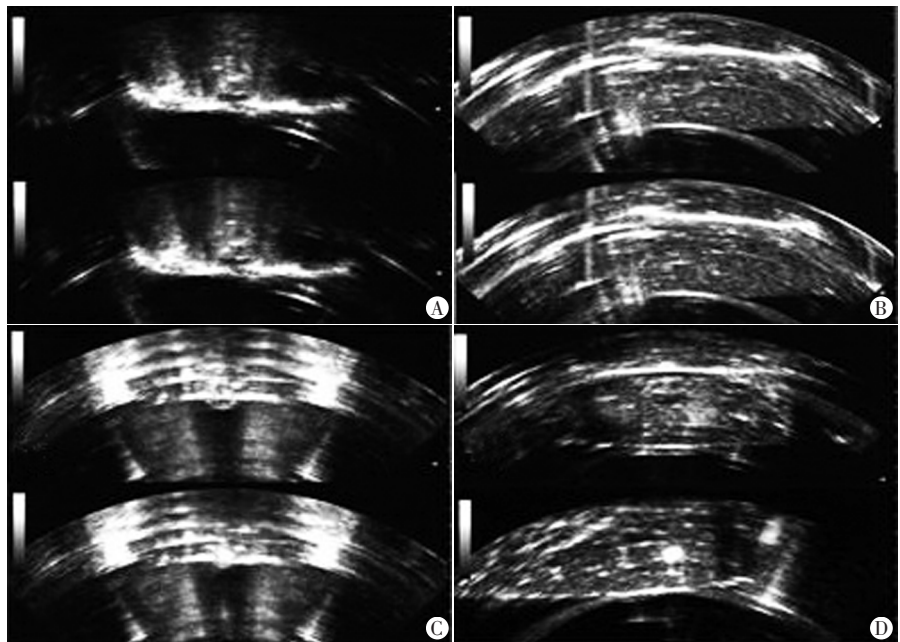
### 结 果

#### 一、各组肿瘤灰度变化比较

HIFU 辐照后即刻, 超声示 A、B 组辐照区域几乎无灰度变化, C、D 组均见明显灰度变化, 其灰度变化面积和变化值与 A、B 组比较, 差异均有统计学意义 (均  $P < 0.05$ ); C、D 组间比较差异无统计学意义。见图 1 和表 1。

#### 二、各组瘤内药物浓度比较

A、C 组肿瘤组织匀浆内均未测得 HCPT, B、D 组测得 HCPT 浓度分别为  $(0.50 \pm 0.14) \text{ mg/ml}$ 、 $(1.20 \pm 0.42) \text{ mg/ml}$ ,



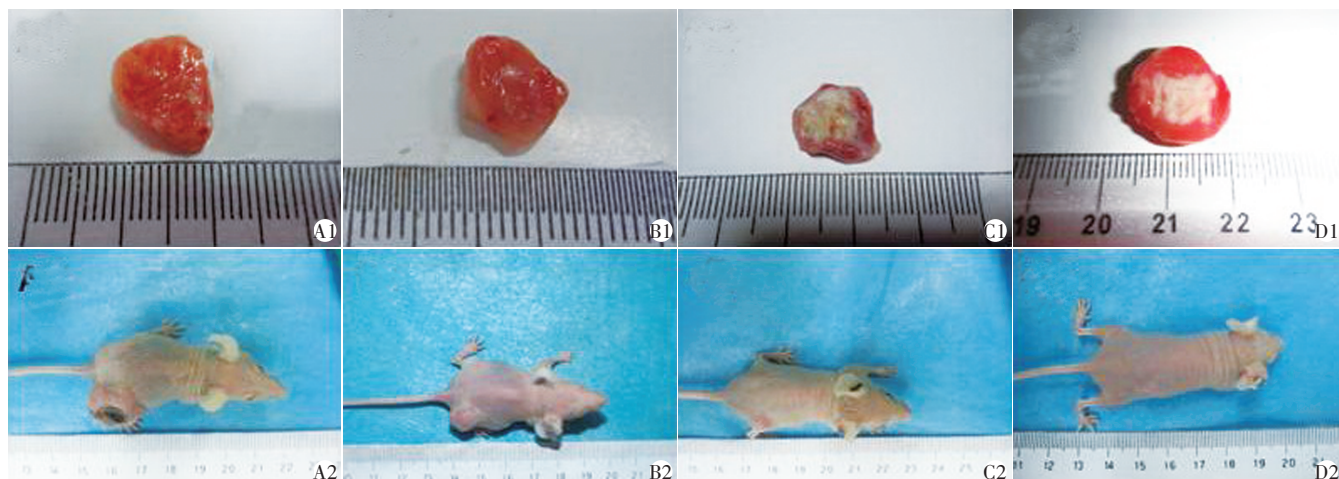
A~D: 分别为 A~D 组 HIFU 辐照前后肿瘤超声灰度变化比较, 上图为辐照前, 下图为辐照后

图 1 各组裸鼠肿瘤 HIFU 辐照前后超声图像

表 1 各组肿瘤观察指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

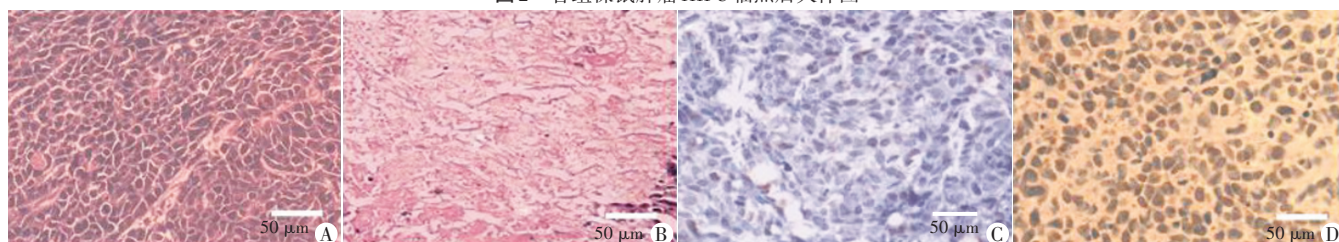
| 组别  | 灰度变化面积 ( $\text{mm}^2$ ) | 灰度变化值 (IU)           | 凝固性坏死体积 ( $\text{mm}^3$ ) | 细胞增殖率 (%)             | 细胞凋亡率 (%)             | 肿瘤体积 ( $\text{mm}^3$ ) | 转移灶数量 (个)                  |
|-----|--------------------------|----------------------|---------------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|----------------------------|
| A 组 | $5.43 \pm 2.28$          | $7.23 \pm 3.79$      | 0                         | $63.77 \pm 11.43$     | $8.31 \pm 2.45$       | $1.75 \pm 0.38$        | $12.51 \pm 3.25$           |
| B 组 | $5.68 \pm 2.45^*$        | $7.96 \pm 4.04^*$    | 0*                        | $64.58 \pm 10.76^*$   | $8.79 \pm 2.77^*$     | $1.48 \pm 0.45^*$      | $10.87 \pm 3.43$           |
| C 组 | $113.52 \pm 14.17^\#$    | $74.49 \pm 17.15^\#$ | $258.88 \pm 28.21^\#$     | $46.44 \pm 7.82^\#$   | $36.39 \pm 5.15^\#$   | $0.65 \pm 0.22^\#$     | $4.42 \pm 2.27$            |
| D 组 | $115.43 \pm 13.73^\#$    | $73.77 \pm 16.94^\#$ | $263.74 \pm 32.86^\#$     | $37.49 \pm 6.97^{**}$ | $51.06 \pm 8.73^{**}$ | $0.31 \pm 0.14^{**}$   | $3.14 \pm 1.66^{**\Delta}$ |

与 A 组比较,  $^*P < 0.05$ ; 与 B 组比较,  $^\Delta P < 0.05$ ; 与 C 组比较,  $^{**}P < 0.05$



A1~D1: 分别为A~D组辐照后肿瘤组织TTC染色图, 其中A、B组辐照后肿瘤内均未见明显坏死, 呈红色, C、D组辐照后肿瘤内均坏死, 呈灰白色; A2~D2: 分别为A~D组裸鼠辐照后2周肿瘤大体图

图2 各组裸鼠肿瘤HIFU辐照后大体图



A: HE染色, A组细胞未见明显坏死; B: HE染色, B组细胞大片坏死, 细胞结构消失, 呈红色; C: PCNA染色, D组增殖肿瘤细胞(棕黄色)少; D: TUNEL染色, D组凋亡肿瘤细胞(棕黄色)多

图3 裸鼠肿瘤HIFU消融后病理图(×400)

差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

### 三、病理结果比较

1. 大体病理: 辐照后2 h, A、B组肿瘤内均无明显凝固性坏死, 呈均匀红色; C、D组肿瘤内均可见明显凝固性坏死, 边界清楚, 呈灰白色, C、D组坏死范围与A、B组比较差异均有统计学意义(均 $P<0.05$ )。辐照后2周, A、B组肿瘤体积均明显增大, 与C、D组比较差异均有统计学意义(均 $P<0.05$ )。各组均见不同部位(肝、腹腔、肺、脑)的肿瘤转移, A、B、C、D组转移灶数量分别为 $(12.51\pm3.25)$ 个、 $(10.87\pm3.43)$ 个、 $(4.42\pm2.27)$ 个、 $(3.14\pm1.66)$ 个, D组与A、B、C组比较差异均有统计学意义(均 $P<0.05$ )。见表1和图2。

2. 组织病理: 辐照后2 h, 病理示C、D组靶区细胞大片坏死, 细胞结构破坏, 呈不规则红色, 与未坏死的肿瘤细胞边界清楚。辐照后24 h, 免疫组化示D组增殖率最低, 凋亡率最高, 与A、B、C组间比较差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。见表1和图3。

### 讨 论

HIFU通过聚焦超声能量来消融和破坏肿瘤组织,

已应用于临床原发性实体瘤及转移性肿瘤的治疗。然而, 在面对位置较深、体积较大的肿瘤(如肝癌、胰腺癌等)时, 由于沿超声途径的能量快速衰减, 治疗效果欠佳, 限制了其临床应用。研究<sup>[3]</sup>证实微泡可以改变组织的声环境, 通过增加超声空化作用可增强HIFU消融的效果, 但其受微泡不稳定、循环时间短、粒径大等因素影响, 尤其作为血池显影剂, 其在增效HIFU的同时可能导致能量在焦域近场沉积, 甚至因坏死区变形成为近大远小的“蝌蚪形”, 从而导致消融灶不可控, 可能存在焦点前加热和周围组织损伤。在此背景下, 基于各种纳米系统的相变超声造影剂应运而生<sup>[1-4]</sup>, 广泛应用于HIFU增效。经静脉注射后, 相变造影剂粒径足以通过血管内皮间隙在肿瘤组织内存留, 在HIFU能量作用下, 其可在靶区原位产生微泡, 增加HIFU能量沉积, 降低HIFU作用功率、缩短治疗时间、增加消融范围, 最终达到增强HIFU治疗效果, 且此“从小到大、原位相变”的策略还有利于避免微泡增效HIFU引起焦点外损伤的缺陷<sup>[1,3]</sup>。本实验所用HIFU能量为120 W, 作用时间为5 s, 这一能量不足以消融肿瘤, 故A、B组辐照后肿瘤并无灰度变化和细胞凝固

性坏死,而注射了靶向相变造影剂的 C、D 组辐照后均提示肿瘤灰度变化和细胞凝固性坏死。

为了增加相变纳米粒在肿瘤细胞周围的蓄积以增效 HIFU,包载具有主动靶向能力的叶酸受体相变纳米粒是可供选择的方式之一。本课题组前期研究<sup>[6-7]</sup>中制备了包载 10-HCPT 的叶酸受体靶向相变造影剂,并证实其能够较好地黏附在肿瘤细胞周围。本课题组另一研究<sup>[3]</sup>也发现叶酸受体靶向的相变造影剂可在肿瘤内靶向沉积,与非靶向的相变造影剂相比,HIFU 消融后肿瘤坏死范围增大,肿瘤细胞增殖率降低而凋亡率升高。但无论采取何种增效方式,HIFU 消融后肿瘤残余、复发和转移均是难以避免的问题<sup>[2,8-9]</sup>。

本实验制备的靶向载药相变纳米粒 FR-HCPT-PNPCA,将基于超声靶向破坏微泡技术<sup>[10]</sup>的肿瘤靶向给药系统融入 HIFU 消融和增效中,结果显示,D 组肿瘤内 FR-HCPT-PNPCA 沉积,在 HIFU 辐照后可破坏微泡定向释放 HCPT,不仅消融范围扩大、肿瘤细胞增殖率最低、凋亡率最高,且肿瘤生长缓慢、转移灶最少,由此可见该方法对肿瘤的远期疗效最好。A 组为生理盐水+HIFU 辐照,既往研究<sup>[3]</sup>表明,低剂量 HIFU 辐照不足以引起肿瘤细胞明显坏死。B 组为注射 HCPT+HIFU 辐照,治疗效果欠佳,C 组 HIFU 辐照后即刻肿瘤灰度变化和坏死体积与 D 组比较差异均无统计学意义,但辐照 2 周后疗效低于 D 组( $P<0.05$ )。究其原因可能为:①HIFU 能量低,HCPT 溶液不能增效 HIFU;②注射的 HCPT 单体容易通过代谢清除,可能降低抑瘤效果;③靶向相变造影剂有利于增加 HIFU 能量在靶区沉积,故辐照后短时间内 C、D 组效果差异无统计学意义。本实验中 D 组的肿瘤组织 HCPT 浓度高于 B 组( $P<0.05$ ),原因为纳米材料在肿瘤蓄积,在 HIFU 作用下,既发生了相变(靶区灰度变化证实),又破坏相变微泡释放 HCPT(瘤内药物浓度证实),达到了超声靶向破坏微泡联合肿瘤靶向给药的作用,C、D 组间肿瘤细胞增殖率和凋亡率的差异也能解释两组间远期疗效的差异,但其相关机制和最佳释放药物条件(如持续辐照或者间歇辐照、辐照时间的优化等)有待今后进一步研究。

本实验的局限性:仅在既往研究<sup>[3]</sup>结果证实的基

础上应用同一剂量进行 HIFU 消融,未针对不同能量、时间、消融方式等进行分组,待以后进一步研究以确定更有效地消融和释放药物,获得最佳的治疗效果。

综上所述,本实验制备的 FR-HCPT-PNPCA 既是一种高效的 HIFU 增效剂,又是一种协同 HIFU 消融的靶向药物,二者联合能显著增强 HIFU 的消融疗效和生物安全性,有望为肿瘤治疗提供一种精准、高效的手段。

## 参考文献

- [1] Feng G, Hao L, Xu C, et al. High-intensity focused ultrasound-triggered nanoscale bubble-generating liposomes for efficient and safe tumor ablation under photoacoustic imaging monitoring[J]. Int J Nanomedicine, 2017, 12(6):4647-4659.
- [2] Tang H, Guo Y, Peng L, et al. In vivo targeted, responsive and synergistic cancer nanotheranostics by MRI-guided synergistic HIFU ablation and chemotherapy[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2018, 10(18):15428-15441.
- [3] 周洋,刘莹,叶鸣,等.叶酸受体靶向相变造影剂增效高强度聚焦超声体内消融肿瘤的研究[J].中华超声影像学杂志,2017,26(8):719-723.
- [4] You Y, Wang Z, Ran H, et al. Nanoparticle-enhanced synergistic HIFU ablation and transarterial chemoembolization for efficient cancer therapy[J]. Nanoscale, 2016, 8(7):4324-4339.
- [5] Lee FF, He Q, Gao J, et al. Evaluating HIFU-mediated local drug release using thermal strain imaging: phantom and preliminary in vivo studies[J]. Med Phys, 2019, 46(9):3864-3876.
- [6] 李友伟,周薇,周洋,等.载 10-羟基喜树碱的叶酸受体靶向相变超声造影剂的制备及一般特性[J].中国介入影像与治疗学,2017,14(3):169-172.
- [7] 叶鸣,翟蓓,刘莹,等.叶酸修饰的载药相变纳米粒体内靶向显影肿瘤的实验研究[J].临床超声医学杂志,2017,19(9):580-583.
- [8] Matorri S, Roveri M, Tiefenboeck P, et al. An MRI-guided HIFU-triggered wax-coated capsule for supertargeted drug release: a proof-of-concept study[J]. Eur Radiol Exp, 2019, 3(1):11.
- [9] Shiina S, Sato K, Tateishi R, et al. Percutaneous ablation for hepatocellular carcinoma: comparison of various ablation techniques and surgery[J]. Can J Gastroenterol Hepatol, 2018, 100(3):251-262.
- [10] Daecher A, Stanczak M, Liu JB, et al. Localized microbubble cavitation-based antivascular therapy for improving HCC treatment response to radiotherapy[J]. Cancer Lett, 2017, 411(12):100-105.

(收稿日期:2020-06-14)