

超声联合微泡增敏肿瘤化疗的基础研究与临床应用进展

王一溪 严 昆

摘 要 恶性肿瘤死亡率高,化疗是其重要的治疗方法之一。应用微泡的声孔效应提高细胞对化疗药物的摄取,增加肿瘤组织局部药物浓度以达到增敏化疗作用,是目前肿瘤治疗研究的新方向之一。超声联合微泡可增加肿瘤组织局部药物浓度、增强细胞毒作用,促进肿瘤细胞凋亡,缩小肿瘤体积,改善肿瘤对化疗药物的耐药性,具有良好的临床应用价值及前景。本文就超声联合微泡增敏肿瘤化疗的基础研究及临床应用方面进行综述。

关键词 超声;微泡;肿瘤;化疗增敏

[中图分类号]R445.1

[文献标识码]A

Progress in basic research and clinical application of ultrasound combined with microbubbles in tumor chemosensitization

WANG Yixi, YAN Kun

Department of Ultrasound, Peking University Cancer Hospital & Institute, Beijing 100191, China

ABSTRACT Malignant tumors is a type of disease with high mortality, and chemotherapy is one of the important treatments. The application of microbubble sonoporation effect to increase the uptake of chemotherapeutic drugs by cells to increase the local drug concentration of tumor tissue to achieve the purpose of sensitizing chemotherapy is one of the new directions of tumor treatment research. Ultrasound combined with microbubbles can increase the local drug concentration of tumor tissue, enhance cytotoxicity, promote tumor cell apoptosis, reduce tumor volume, improve tumor resistance to chemotherapeutic drugs, and have good clinical application value and prospect. This paper is intended to summarize the basic research and clinical application of ultrasound combined with microbubbles sensitizing tumor chemotherapy.

KEY WORDS Ultrasound; Microbubble; Tumor; Chemosensitization

目前,恶性肿瘤已经成为人类死亡的主要原因^[1]。其治疗方法主要包括手术切除、放疗、化疗等。许多肿瘤早期诊断率低,发现时已处于晚期,甚至已发生转移,无法进行手术切除。由于手术及放疗均为局部治疗,对于可能存在的微小转移或远处转移作用较小。化疗为一种全身性治疗手段,通过血液循环使药物遍布全身大多数组织和器官,可用作某些中晚期肿瘤局部治疗前的辅助手段,还可在术后预防局部微小复发及转移,甚至根治某些肿瘤。但化疗药物在杀死肿瘤细胞的同时也会杀伤正常细胞,引起全身的毒副反应。如何提高局部药物浓度、增加对肿瘤细胞的细胞毒作用、减轻全身副反应是亟需研究并解决的问题。超声联合微泡可以增敏化疗,增加肿瘤区域药物浓度,增强细胞毒作用,改善细胞对化疗药物的耐药性,从而增强化疗效果。本文就超声联合微泡增敏肿瘤化疗的基础研究及临床应用方面进行综述。

一、超声联合微泡增敏化疗的原理

超声联合微泡通过声孔效应改变了细胞膜的通透性,进而

提高细胞内药物浓度^[2]。空化作用是声孔效应的前提,指在超声波的作用下,微泡发生收缩、膨胀等一系列动力学过程^[3],声能达到一定强度时微泡发生破裂,同时局部产生高温高压,并伴随发生休克波、微射流等机械作用。在机械作用下,周围细胞膜表面形成了可逆或不可逆的小孔,由此伴随产生的膜通透性改变的现象被称为“声孔效应”^[4-6]。由于细胞膜渗透性增高,导致细胞对药物、基因的摄取增强^[7]。Fan 等^[8]研究证明荧光分子可通过“声孔”直接渗透到胞质溶胶中。Geers 等^[9]利用聚乙二醇修饰后的腺病毒负载微泡,腺病毒本身仅可通过胞吞作用进入细胞,而聚乙二醇的修饰阻挡了病毒胞膜与细胞膜的接触,极大地降低了胞吞作用的发生,在超声波辐照下,电镜下观察到细胞对聚乙二醇化腺病毒摄取明显增加,故认为超声波能使聚乙二醇化腺病毒直接进入细胞质,无需通过细胞膜的内吞作用。细胞膜的内吞作用也被认为可提高细胞对药物的摄取, Lee 等^[10]研究认为,在无明显电镜显示基底膜小孔的情况下,药物吸收也明显增加,提示药物吸收增强的机制可能不完全是因为“声孔”的形

成。空化作用可能增强了细胞膜的内吞作用,即细胞膜表面并无真正的“孔隙”,而是细胞膜自身加强胞吞作用促进了药物的摄取。Meijering 等^[11]研究认为胞吞作用对于大小为 400~500 kDa 的大分子微泡靶向运输中起关键作用。

二、超声联合微泡增敏化疗的基础研究

1. 离体细胞研究

超声联合微泡可以增加化疗药物细胞内浓度,增强化疗药物对肿瘤细胞的杀伤作用。Kato 等^[12]实验结果显示微泡+多柔比星+超声辐照组的药物荧光强度显著高于微泡+多柔比星组($P<0.05$),微泡+多柔比星+超声辐照组较微泡+多柔比星组肿瘤细胞活性明显降低($P<0.05$),证实超声辐照微泡可增加化疗药物多柔比星的细胞内浓度,说明超声联合微泡结合化疗药物可抑制肿瘤细胞的活性。Lee 等^[10]实验结果同样证实了这一观点。此外,也有研究^[13]发现超声联合微泡可以作为良好的载体协助基因或释放药物,增加局部药物浓度,抑制肿瘤生长。董虹美等^[14]关于乳腺癌离体细胞的实验结果显示:①随着药物浓度增加,细胞毒作用也明显增强;②联合治疗组的细胞活性较单纯化疗组更低;③联合治疗组肿瘤细胞内药物浓度较单纯化疗组更高,证实超声联合微泡增敏米托蒽醌可以显著抑制细胞活性,提示超声联合微泡可提高米托蒽醌的细胞毒作用,增加细胞内药物浓度,可能用于增敏乳腺癌化疗。

超声联合微泡可增强细胞的凋亡。房良华等^[15]通过电镜观察到仅有超声联合微泡组的肝癌细胞出现典型凋亡表现:凋亡小体形成、染色质浓集等,提示超声联合微泡抑制肿瘤生长也可能是因为其促进了肿瘤细胞的凋亡。研究^[16]证实了超声联合微泡可以增强顺铂对宫颈癌 Hela 细胞的杀伤作用,促进其凋亡。另外,诸多研究^[17-18]也证实了超声促进基因转染方面的作用。

超声联合微泡能够延缓肿瘤细胞耐药。朱燕^[16]在关于超声微泡增敏顺铂对宫颈癌治疗的研究中分析了 Hela 细胞的时间增殖曲线,显示顺铂+超声+微泡组的细胞增殖明显被抑制,而单纯顺铂组和顺铂+超声组的细胞增殖在 48 h 出现加快趋势,推测是因为肿瘤细胞对顺铂产生了耐药,而超声联合微泡和顺铂延缓了肿瘤细胞的耐药现象。

2. 在体动物研究

超声联合微泡可以增加肿瘤局部的化疗药物浓度,增强化疗效果。朱梅等^[19]实验结果发现,载紫杉醇微泡+超声辐照组肿瘤组织内药物含量明显高于载紫杉醇微泡组、单纯紫杉醇组、紫杉醇+超声组(均 $P<0.01$),证实超声联合载药微泡可实现在肿瘤局部高浓度释放紫杉醇。

超声联合微泡可以缩小肿瘤体积。研究^[20]结果显示,超声+微泡+吉西他滨组(联合实验组)与单独吉西他滨组、空白对照组比较,联合实验组肿瘤体积明显减小($P<0.05$)。同时,尽管三组最后均发生肿瘤转移(主要为肝转移),但联合实验组转移时间较另两组晚,表明超声联合微泡和化疗可能使肿瘤体积减小,可用于新辅助化疗以抑制肿瘤。研究^[21]观察到超声联合微泡和化疗可使肿瘤体积缩小、肿瘤血供减少。以上结果均提示超声联合微泡结合化疗药物可减少肿瘤血供,抑制肿瘤生长,缩小肿瘤体积。

在不使用化疗药物的情况下,超声辐照微泡产生的空化效应也可能通过机械作用破坏肿瘤血供,从而抑制肿瘤生长。王宇等^[22]研究结果显示电镜下可见超声微泡组肿瘤内微血管内皮细胞损伤,线粒体肿胀,而单纯超声组、单纯微泡组、空白对照组则无此情况,超声微泡组的血管密度均明显低于其余各组(均 $P<0.05$),且治疗后超声联合微泡组瘤体体积均明显小于其余各组(均 $P<0.05$),抑瘤率为 62.7%,HE 染色观察瘤体组织大部分损伤坏死。朱梅等^[23]研究认为超声联合微泡可阻断肿瘤血供,联合治疗组治疗后立即行超声造影检查未见肿瘤内部造影剂灌注,30 min、60 min 后可观察到部分造影剂灌注,表明血供部分恢复;而单纯微泡组和单纯超声组始终表现为肿瘤内部完整均匀高灌注。镜下观察联合治疗组肿瘤组织内血管显著扩张,部分血管壁结构崩解;而单纯微泡组、单纯超声组则无明显变化,说明超声联合微泡可阻断肿瘤血供,提示机械损毁肿瘤微血管可能也是抑制肿瘤的机制之一。对于乏血供肿瘤,超声联合微泡也有增加其局部血流的作用。乔学研等^[24]应用超声联合微泡在不同机械指数下对于兔 VX2 肿瘤血供影响的研究显示,超声联合微泡在低机械指数情况下可以增强肿瘤局部血供,从而增加化疗药物在肿瘤组织的运输,这也可能是超声联合微泡增敏化疗的机制之一。

三、超声联合微泡增敏化疗的临床应用

目前关于超声联合微泡增敏化疗的临床研究相对较少。2012 年 Kotopoulos 等^[25]首次将超声联合微泡结合化疗应用于胰腺癌患者,选取了 5 名病理证实胰腺癌且已无法进行手术的患者作为试验组,80 名组织学确诊胰腺癌行常规化疗的患者作为历史对照组,疗效评价指标为患者能够耐受的化疗周期数,即患者可耐受的化疗周期越多,越能证实联合疗法的有效性。结果显示,试验组可接受(16±7)个治疗周期,历史对照组可接受(9±6)个治疗周期,证实超声联合微泡能增加患者耐受化疗的周期数,改善患者的生活质量,且试验组患者在治疗阶段均无不适,也未发生明显副作用。2016 年 Dimcevski 等^[26]关于超声联合微泡和吉西他滨治疗胰腺癌的临床试验评估了治疗的安全性、潜在毒性及患者中位生存期,结果显示联合治疗组与单纯化疗组比较,未引起任何额外毒性或增加其本来的副作用,且可提高患者对化疗的耐受性。该研究同时认为联合治疗可延长患者生存时间,联合治疗组患者的中位生存期(17.6 个月)较单纯化疗组(8.9 个月)明显增加。以上两项研究中,试验组联合治疗组中均发现患者的肿瘤最大直径在治疗期间持续减小,这种情况在单独化疗中非常少见,这也提示超声联合微泡结合化疗较单独化疗可能具有缩小肿瘤体积的作用。

四、局限性与展望

目前,虽有较多研究结果显示超声联合微泡增敏化疗安全有效,未发生额外的毒副作用,并可以减少化疗的全身毒副作用,但其仍有不足:①目前所研究的部分肿瘤模型对微泡联合化疗有较好的反应,对于其他恶性肿瘤是否有效需进一步探究;②自制微泡在体内的稳定性尚待改进;③超声联合微泡增敏化疗的机制仍待深入研究;④目前临床应用较少,已进行的临床研究样本量也较少,今后需要更大的样本量进一步研究支持联合

治疗的有效性。

综上所述, 尽管超声联合微泡增敏化疗的相关研究目前尚未完全成熟, 仍处于临床应用的早期, 但其作为一种无创的辅助治疗手段, 提高了肿瘤局部药物浓度, 具有广泛的应用前景。今后随着研究的逐渐深入和各项技术不断优化, 其将在临床中得到更广泛的应用。

参考文献

- [1] Torre A, Bray F, Siegel L, et al. Global cancer statistics, 2012 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(2): 87-108.
- [2] Khayamian A, Baniassadi M, Abdolhad M. Monitoring the effect of sonoporation on the cells using electrochemical approach [J]. *Ultrason Sonochem*, 2018, 41(1): 619-625.
- [3] Tzu-Yin W, Wilson E, Machtaler S, et al. Ultrasound and microbubble guided drug delivery: mechanistic understanding and clinical implications [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2013, 14(8): 743-752.
- [4] Jain A, Tiwari A, Verma A, et al. Ultrasound-based triggered drug delivery to tumors [J]. *Drug Deliv Transl Res*, 2018, 8(1): 150-164.
- [5] Huang C, Zhang H, Bai R. Advances in ultrasound-targeted microbubble-mediated gene therapy for liver fibrosis [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2017, 7(4): 447-452.
- [6] Qin P, Han T, Yu A, et al. Mechanistic understanding the bioeffects of ultrasound-driven microbubbles to enhance macromolecule delivery [J]. *J Control Release*, 2018, 28(272): 169-181.
- [7] Yu H, Lin Z, Xu L, et al. Theoretical study of microbubble dynamics in sonoporation [J]. *Ultrasonics*, 2015, 61(1): 136-144.
- [8] Fan Z, Liu H, Mayer M, et al. Spatiotemporally controlled single cell sonoporation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(41): 16486-16491.
- [9] Geers B, Lentacker I, Alonso A, et al. Elucidating the mechanisms behind sonoporation with adeno-associated virus-loaded microbubbles [J]. *Mol Pharm*, 2011, 8(6): 2244-2251.
- [10] Lee NG, Berry JL, Lee TC, et al. Sonoporation enhances chemotherapeutic efficacy in retinoblastoma cells in vitro [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52(6): 3868-3873.
- [11] Meijering BD, Juffermans LJ, van Wamel A, et al. Ultrasound and microbubble-targeted delivery of macromolecules is regulated by induction of endocytosis and pore formation [J]. *Circ Res*, 2009, 104(5): 679-687.
- [12] Kato S, Mori S, Kodama T. A Novel treatment method for lymph node metastasis using a lymphatic drug delivery system with nano-microbubbles and ultrasound [J]. *J Cancer*, 2015, 6(12): 1282-1294.
- [13] Ishida R, Kami D, Kusaba T, et al. Kidney-specific sonoporation-mediated gene transfer [J]. *Mol Ther*, 2016, 24(1): 125-134.
- [14] 董虹美, 王志刚, 冉海涛, 等. 低频超声辐照微泡造影剂增强米托蒽醌对乳腺癌细胞的毒性作用 [J]. *中国医学影像技术*, 2010, 26(3): 401-404.
- [15] 房良华, 姜藻, 钱梦馥. 低频超声联合微泡剂诱导肝癌细胞凋亡的实验研究 [J]. *临床肿瘤学杂志*, 2011, 16(6): 510-513.
- [16] 朱燕. 超声联合微泡增强宫颈癌对化疗药物敏感性的实验及临床研究 [D]. 合肥: 安徽医科大学, 2016.
- [17] 吴晓辉, 陶裕川, 汪峰, 等. 低强度超声联合微泡的声空化效应介导大鼠 C₆ 胶质瘤细胞凋亡的研究 [J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2014, 43(1): 6-11.
- [18] 钱滢, 周平, 田双明, 等. 超声辐照微泡介导双自杀基因转染对乳腺癌杀伤作用的在体研究 [J]. *中国普通外科杂志*, 2014, 23(11): 1487-1493.
- [19] 朱梅, 刘政, 何利平, 等. 紫杉醇微泡超声空化增强乳腺癌化疗的实验研究 [J]. *中国医学影像技术*, 2011, 27(2): 217-221.
- [20] Kotopoulis S, Delalande A, Popa M, et al. Sonoporation-enhanced chemotherapy significantly reduces primary tumour burden in an orthotopic pancreatic cancer xenograft [J]. *Mol Imaging Biol*, 2014, 16(1): 53-62.
- [21] Kotopoulis S, Stigen E, Popa M, et al. Sonoporation with acoustic cluster therapy (ACT) induces transient tumour volume reduction in a subcutaneous xenograft model of pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *J Control Release*, 2017, 245(10): 70-80.
- [22] 王宇, 张吉臻, 刁雪红, 等. 低频超声辐照联合微泡抑制裸鼠前列腺癌移植瘤的实验研究 [J]. *中华医学超声杂志(电子版)*, 2011, 8(5): 940-949.
- [23] 朱梅, 李佩惊, 钟渝, 等. 低能量脉冲式超声联合微泡对兔 VX2 肿瘤微循环的阻断作用 [J]. *中国医学影像技术*, 2012, 28(4): 621-625.
- [24] 乔学研, 陈重, 益磋, 等. 诊断超声联合微泡对兔 VX2 肿瘤的血流增强效应 [J]. *临床超声医学杂志*, 2017, 19(4): 217-221.
- [25] Kotopoulis S, Dimceviski G, Gilja OH, et al. Treatment of human pancreatic cancer using combined ultrasound, microbubbles, and gemcitabine: a clinical case study [J]. *Med Phys*, 2013, 40(7): 72902.
- [26] Dimceviski G, Kotopoulis S, Bjanec T, et al. A human clinical trial using ultrasound and microbubbles to enhance gemcitabine treatment of inoperable pancreatic cancer [J]. *J Control Release*, 2016, 243(10): 172-181.

(收稿日期: 2018-03-07)

欢迎基金资助课题的论文投稿

为了进一步提高本刊的学术水平, 鼓励基金资助课题(国家自然科学基金, 国家各部委及省、市、自治区各级基金)的论文投到本刊。本刊决定, 将对上述基金课题论文以绿色通道快速发表。请作者投稿时, 在文中注明基金名称及编号, 并附上基金证书复印件。

欢迎广大作者踊跃投稿!

本刊编辑部