

组织摧毁术的作用原理及研究现状

刘 虹 王智彪 张 彩

摘 要 外科治疗理念及科技的革新推动外科手术向微创发展,近年来涌现出多种微创治疗方式。其中组织摧毁术因具有非热损伤、非侵入性、刺激免疫系统等特点被逐渐关注,其使用微秒至毫秒级的高峰值负压脉冲超声在靶区瞬时产生空化泡,空化泡的膨胀和坍塌使靶区组织粉碎成亚细胞结构。根据空化泡的产生方式,可分为空化云型组织摧毁术和沸腾型组织摧毁术。目前,组织摧毁术已应用于前列腺增生、前列腺癌、肝肿瘤、肾肿瘤、骨肉瘤、胰腺癌、心血管病变、血栓等多种疾病的探索治疗。本文就组织摧毁术的作用原理及研究现状等进行综述。

关键词 组织摧毁术;聚焦超声消融;作用原理;免疫效应

[中图法分类号]R459.9

[文献标识码]A

Mechanism and recent research on histotripsy

LIU Hong, WANG Zhibiao, ZHANG Cai

College of Biomedical Engineering, State Key Laboratory of Ultrasound in Medicine and Engineering,
Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

ABSTRACT The innovation of surgical concepts and technology has promoted the development of surgical operations towards minimal- or non-invasiveness, a variety of minimally- or non-invasive treatment methods has emerged in recent years. Histotripsy is being noticed due to its characteristics of non-invasive, non-thermal ablation and stimulation of the immune system. Histotripsy typically uses microsecond to millisecond length ultrasound pulses with high peak negative pressure to instantly generate a cluster of cavitation bubbles in the target area, and the expansion and collapse of the cavitation bubbles shatter the target tissue into subcellular fragments. According to the formation mode of cavitation bubbles, it can be divided into cavitation cloud histotripsy and boiling histotripsy. Nowadays, histotripsy has been applied in the treatment of prostatic hyperplasia, prostate cancer, liver tumor, renal tumor, osteosarcoma, pancreatic cancer, cardiovascular diseases, thrombosis, and other diseases. This article reviews the mechanism and its recent research of histotripsy.

KEY WORDS Histotripsy; Focused ultrasound ablation; Mechanism; Immune effect

随着外科治疗理念的发展和科技的进步,近年来涌现出许多微创治疗方式,如聚焦超声消融、微波消融、射频消融、冰冻消融等。其中聚焦超声消融已被广泛应用于各种实体良恶性肿瘤及非肿瘤疾病的治疗,其主要作用效应为热效应、机械效应和空化效应。临床实际应用中,传统的聚焦超声消融主要利用热效应使靶区肿瘤细胞发生凝固性坏死,但肿瘤血供会影响热能量沉积,可能造成肿瘤坏死不完全;同时热量长时间累积存在周边正常组织烧伤的风险。为保证在有效消融肿瘤的同时避免周围正常组织热损伤的风险,研究者开始探讨利用聚焦超声的非热效应治疗疾病的可能。组织摧毁术是一种基于

超声的非热损伤、非电离辐射、非侵入式的聚焦超声技术^[1],其使用低占空比(<4%)、短持续时间(微秒至毫秒级)^[2-3]的脉冲超声,极大程度上避免了热沉积,并利用脉冲超声的高峰值负压(>10 MPa)在靶区产生空化泡,将靶区组织粉碎液化至亚细胞结构^[3],从而摧毁目标组织,达到治疗目的。本文就组织摧毁术的作用原理、特点,以及离体实验、动物实验和临床试验的最新研究结果进行综述。

一、组织摧毁术的原理及分类

组织摧毁术消融系统主要由聚焦超声换能器、与之匹配的驱动系统、超声或磁共振影像监控系统、换能器运动控制系统

基金项目:重庆市研究生科研创新项目(CYS22375)

作者单位:400016 重庆市,重庆医科大学生物医学工程学院 超声医学工程国家重点实验室 重庆市生物医学工程学重点实验室

通讯作者:张彩,Email:cai.zhang123@foxmail.com

和耦合介质组成。为满足组织摧毁术所需的焦点处压力,换能器通常为低 f 系数(换能器口径与焦距比值 <1)、高聚焦增益(≥ 30 dB)的大口径换能器。驱动系统要求高压脉冲发生器能产生数千伏和几千瓦峰值功率的短脉冲以驱动换能器^[1]。影像监控系统在治疗前定位及治疗过程中具有图像引导及实时监控的作用,其中超声影像监控系统的超声探头常位于换能器中间,以便对病灶所在层面进行成像;磁共振影像监控系统则要求兼容超声换能器和定位器。运动控制系统可通过机械臂机械移动或电动定位器控制换能器的三维运动,使焦点能覆盖靶区组织。耦合介质通常为脱气水,确保超声波的有效传输。通过调节脉冲强度(脉冲超声的声压)、脉冲重复周期(两相邻脉冲间隔时间)、脉冲重复频率(pulse repetition frequency, PRF,即每秒发射的脉冲次数)、占空比(脉冲时间在脉冲重复周期的百分比)等参数^[4],可诱导产生不同的空化泡。依据空化泡产生方式的不同,可将组织摧毁术分为空化云型组织摧毁术(cavitation cloud histotripsy, CH)和沸腾型组织摧毁术(boiling histotripsy, BH)。

1.CH:常使用微秒级(0.5~200.0 μ s)^[5-6]、峰值负压 >15 MPa、占空比 $\leq 1\%$ 的脉冲超声。由于组织的非均质性,高频率、高强度的超声波在组织中进行非线性传播形成强烈的冲击波^[7]。这种冲击波的强度与峰值负压相关,峰值负压越高,非线性效应越明显,冲击波越强,当峰值负压达到一定阈值时,则会形成微米级的微气泡,这一现象被称为空化^[4]。微气泡在入射声波的作用下膨胀并最终破裂、崩塌,产生千兆帕级的压力冲击波^[4],使组织粉碎至亚细胞水平。在每个脉冲期间焦点区域内将产生大量的微气泡云,这些微气泡的反复膨胀和塌陷最终导致组织被粉碎而形成界限分明的液化损伤。不同组织产生空化云所需峰值负压是固定的,称为该组织空化的固有阈值。当使用的脉冲超声峰值负压高于组织空化的固有阈值时,使用1~2个脉冲即可在焦点处瞬间产生空化云^[8],此时CH又被称为固有阈值组织摧毁术;而当峰值负压低于固有阈值时,将先产生单个微气泡,由于非线性传播效应产生的冲击波在微气泡上可发生反射及相位反转,向换能器方向传播,峰值负压将超过组织空化的固有阈值从而产生空化云,故该方式又被称为冲击波散射组织摧毁术。

2.BH:使用毫秒级、峰值负压10~20 MPa、占空比 $\leq 2\%$ 的脉冲超声^[9]。毫秒级脉冲超声在组织中由于非线性传播效应,可在焦点区域内产生激波阵面,组织吸收激波后温度升高(>100 $^{\circ}$ C),在微米范围内产生沸腾气泡,并膨胀成毫米大小的气泡,与进入的冲击波进一步相互作用后产生很高的负压,形成微气泡团。微气泡与组织相互作用形成微射流,使组织被推入沸腾气泡中,导致气泡腔内组织碎裂。沸腾气泡出现的时间与脉冲超声输出功率及频率均相关,较高的输出功率和频率可缩短沸腾气泡出现的时间;控制脉冲超声输出时间,使其略长于沸腾气泡出现所需的时间则可以较好地抑制热沉积、减少热损伤^[4]。

BH与CH均可实现靶区组织的粉碎液化,但由于二者产生空化泡的方式不同,在临床应用中各具优势。与BH比较,CH

对设备控制脉冲超声输出时间精度要求更高,但其空化更容易在低频率换能器中实现,可达治疗深度也更深^[1];而BH较CH需要更高的峰值正压(>70 MPa),对设备功率电子器件要求更高,通过使用更高频率换能器可以快速形成沸腾气泡,从而更精确地聚焦^[10]。

二、组织摧毁术的研究现状

为探究组织摧毁术用于治疗疾病的可行性,研究者进行了许多离体实验和动物实验等临床前研究,同时也有文献^[1]报道了其在部分肿瘤中的应用,或前列腺增生、心血管病变等非肿瘤性疾病的临床试验。

(一)良恶性肿瘤治疗

1.肝肿瘤:目前已有较多研究开始探索组织摧毁术用于治疗肝肿瘤的可行性。早期实验研究通过正常动物模型进行了验证,如Khokhlova等^[11]应用猪模型证实了组织摧毁术可实现肝组织经皮粉碎而无不良反应,有较好的安全性,促进了组织摧毁术用于治疗肝脏恶性肿瘤的进一步探索;Worlikar等^[12]将肝癌细胞移植到小鼠皮下,在肿瘤生长至最大径 >5 mm时应用1~2个脉冲、PRF为100 Hz的CH粉碎肿瘤,证实了其在治疗肝脏恶性肿瘤方面具有一定潜力。随后,该研究小组在大鼠肝癌模型^[13]中比较了组织摧毁术围绕肿瘤外周的部分损毁组、完全损毁组与假手术组治疗局部肿瘤进展的差异,结果显示在部分损毁组及完全损毁组中93.3%的大鼠肿瘤体积明显缩小且无肿瘤复发,生存时间总体优于假手术组($P=0.039$),表明组织摧毁术用于肝癌治疗具有较大潜力,局部肿瘤进展风险低。为进一步评估CH粉碎原发性肿瘤后对肿瘤远处转移的影响,该研究组在大鼠肝癌模型^[14]中对肿瘤进行部分粉碎,治疗范围主要围绕肿瘤外周,粉碎体积约为50%~75%的靶区肿瘤,结果显示即使仅部分治疗,81%的大鼠局部肿瘤完全吸收,且均无复发或转移,证实了组织摧毁术在预防肿瘤局部进展及转移方面有一定作用。此外,为探究组织摧毁术作用后的机体愈合进程,Heo等^[15]观察了行BH后大鼠肝脏愈合反应的演变,结果表明BH能触发正常的创面愈合级联反应和组织再生(如细胞外基质重塑、血管生成、肝细胞再生等),而不会诱导肝纤维化或在治疗部位形成永久性瘢痕组织,有利于机体的恢复。

动物模型的研究结果在一定程度上证实了组织摧毁术用于无创治疗肝肿瘤的可行性和安全性,为组织摧毁术转向临床应用提供了有力证据。近期Vidal-Jove等^[16]报道了CH首次应用于人肝肿瘤治疗的多中心I期临床试验结果,研究共纳入8例患者(7例转移性肝癌和1例原发性肝癌),共粉碎了11个肿瘤,治疗过程中患者耐受良好,均无不良事件发生,提示组织摧毁术作为一种新的肝肿瘤局部治疗方法安全且有效,但仍需通过长期随访探索该治疗方式的远期疗效。

2.肾肿瘤:组织摧毁术在肾组织相关实验研究^[17]的结果与在肝脏观察到的结果相似,靶区形成匀浆化损伤,而肾集合系统较肾皮质的损伤阈值更高,表现出组织选择性的特性^[11,18]。动物实验研究^[11]发现辐照深度为3~4 cm时,猪肾脏经肋骨的BH所需功率是离体肾脏的3~5倍,同时还发现产生损伤的大小

取决于脉冲数量而非总脉冲超声输出时间,使用高 PRF、短持续时间的脉冲更有利于提高疗效,同时增加脉冲超声输出功率也有利于缩短 BH 达到沸腾气泡出现的时间,加快空化的产生从而缩短治疗时间。Styn 等^[19-20]通过免 VX-2 肿瘤肾移植模型分别就组织摧毁术治疗肾肿瘤的可行性、安全性及对肿瘤转移的影响进行研究,发现使用 BH 对肾肿瘤进行粉碎后,并不会增加肿瘤转移风险,且安全、可行。另一探讨 BH 摧毁 Eker 大鼠肾细胞癌的实验研究^[21]也得到相似结果,该研究还证实 BH 可促进大鼠全身炎症反应,启动系统适应性免疫应答。

3. 骨肉瘤:既往应用组织摧毁术粉碎离体犬骨肉瘤的研究^[5]表明,组织摧毁术可完全粉碎肿瘤的软组织成分及被浸润的类骨质基质区域。随后的体内实验研究^[22]探讨了组织摧毁术治疗犬自发性软组织肉瘤和骨肉瘤的可行性,该研究对 5 只犬的肿瘤(最大径 1.25~3.00 cm)进行治疗(PRF 为 500 Hz,剂量为 500 个脉冲/点),结果显示组织摧毁术可以完全粉碎这两种类型的肿瘤。这些研究为组织摧毁术在临床上转化为犬和人类骨肉瘤的治疗标准奠定了基础。

4. 胰腺癌:其是存活率最低的恶性肿瘤之一。对于不具备手术指征的胰腺癌患者,组织摧毁术可能是治疗不可切除胰腺癌的一种潜在的有效方式。Mouratidis 团队的一项临床研究^[23]对 9 例胰腺癌患者进行了超声强度为 1~2 kJ/cm²的组织摧毁术治疗,患者中位总生存期为 10 个月,不良反应主要为皮肤灼痛和轻度腹痛,但均无需处理,后自行缓解。此外,该研究还进一步纳入 3 例患者采用化疗联合组织摧毁术的治疗方案,患者共进行了 32 次化疗,其中 6 次联合使用组织摧毁术,结果显示患者的总生存期为 10.6~26.0 个月(截至研究报道时仍有 2 例患者存活),表明化疗联合组织摧毁术可能更有利于晚期胰腺癌的治疗,但相关假设还需进一步验证。

5. 前列腺癌:Schade 等^[24]通过构建犬 ACE-1 前列腺肿瘤模型探讨了组织摧毁术治疗前列腺癌的可行性,研究共纳入 10 只犬,3 只为假手术组,7 只犬进行组织摧毁术治疗(治疗组,PRF 500 Hz,占空比<1%),结果显示组织摧毁术可以将肿瘤组织粉碎,且通过超声可以观测到空化云活动范围,提示组织摧毁术用于局部治疗前列腺癌有一定的可行性。同时该研究还发现,在假手术组发生肺或淋巴结转移的时间节点,治疗组未观察到明显的转移灶,提示组织摧毁术可能存在免疫效应,但相关假设还需进一步验证。

6. 子宫肌瘤:Simon 等^[25]关于人离体子宫肌瘤组织的实验探讨了组织摧毁术治疗子宫肌瘤可行性,结果表明尽管子宫肌瘤胶原纤维束相较于肝、肾等组织而言更多,但组织摧毁术仍可实现对靶区组织的完全粉碎,表明组织摧毁术用于治疗子宫肌瘤有一定可行性,未来需通过动物实验和临床试验进一步探讨其安全性和有效性。

(二)非肿瘤性疾病治疗

1. 前列腺增生:组织摧毁术用于前列腺组织摧毁的可行性已通过正常犬^[26]及犬前列腺增生模型^[27]验证,表明组织摧毁术可实现犬前列腺组织的经腹粉碎。因前列腺组织和非间质肿

瘤较尿道组织更易被粉碎^[28],因此组织摧毁术可在摧毁增生前列腺组织的同时,保留尿道的完整性。在动物研究的基础上,Khokhlova 等^[29]研究证实 BH 可粉碎人离体前列腺组织,且组织学分析结果显示靶区为完全匀浆化的细胞碎片,符合组织摧毁术诱导的机械损伤结果。随后,组织摧毁术被应用于经会阴治疗前列腺增生的临床研究^[30],该研究共纳入 25 例患者,治疗时间为 60 min,在治疗过程中超声均观察到空化云;治疗后 6 个月随访显示,患者下尿路梗阻症状得到明显改善,但治疗后未观察到前列腺损毁后脱落组织,这与关于犬的实验研究^[31]结果相反,分析可能为骨性骨盆的遮挡及人前列腺深度较深,导致超声能量衰减更多,从而使其有效性降低。因此,如何减少能量衰减,提高治疗的有效性是后续研究亟待解决的问题。

2. 血栓、血肿:组织摧毁术应用于超声溶栓的主要特点是在不使用溶栓剂的情况下局部粉碎血栓,避免了溶栓治疗的全身出血风险。通过调节峰值负压、占空比和 PRF 等,可在减少靶区血管损伤的同时,将血凝块粉碎至直径 100 μm 左右的碎块,最大限度地减少血凝块碎片的产生^[32]。动物实验研究^[33-34]结果也表明组织摧毁术可作为一种治疗深静脉血栓的新手段。Zhang 等^[32]应用组织摧毁术(PRF 为 100 Hz,剂量为 1000 个脉冲/点)对 14 头猪静脉血栓模型进行溶栓治疗,治疗过程中经超声均可见空化云,其中 13 头猪治疗后血流量恢复或明显增加,重新开放的血流通道直径可达原血管直径的 64%。此外,组织摧毁术还被用于快速液化大型血肿,以期通过细针抽吸液化后成分,减少因血肿形成导致的一系列并发症。Ponomarchuk 等^[35]应用人体血肿模型评估组织摧毁术液化血肿的效率和速度,在使用占空比为 1%,单次持续时间分别为 10.0、2.0、0.4 ms 的脉冲对体积为 85 cm³的血肿模型进行液化后,发现其液化血肿的速度分别为 0.32、0.68、2.62 ml/min,并在液化成分中观察到匀浆化的血细胞及长度<150 μm 的纤维蛋白片段,提示该方法可为临床治疗大型血肿提供新思路。

3. 心血管病变:组织摧毁术在心血管病变方面的应用主要为治疗主动脉瓣狭窄。与通过粉碎肿瘤细胞治疗实体肿瘤不同,组织摧毁术治疗主动脉瓣狭窄的主要原理是将钙化瓣膜以机械振动方式进行软化,增加其活动度,从而改善瓣膜狭窄。Messas 等^[36]在猪模型上验证了组织摧毁术经胸软化主动脉瓣的安全性和有效性;随后该团队开展了首项小样本人体研究^[37],纳入的 10 例主动脉瓣狭窄患者平均治疗时间为 52 min,平均超声强度为(221±87)J/mm²;术后 1 个月随访均未见死亡、心肌梗死、中风或短暂性脑缺血发作。虽然该研究初步探索了组织摧毁术治疗钙化性主动脉瓣狭窄的可行性,但其长期安全性和有效性还有待进一步验证。

三、组织摧毁术的免疫效应

除可以直接粉碎靶区组织尤其是肿瘤细胞外,组织摧毁术还能刺激机体免疫系统,诱导远隔效应。已有研究^[38-39]对组织摧毁术的局部免疫反应和全身免疫反应分别进行了探索,其免疫机制主要包括抑制促肿瘤细胞、产生损伤相关分子模式(damage-associated molecular patterns, DAMP)、直接增加局部

细胞免疫反应、调节肿瘤微环境、增强全身抗肿瘤免疫反应及与检查点抑制剂治疗的协同作用等。一项探讨组织摧毁术对胰腺癌影响的实验研究^[40]通过对小鼠胰腺癌 Pan02 细胞施加 1~2 个周期、PRF 为 250 Hz 的脉冲后观察发现实验组释放的 DAMP 较未处理组显著增加 ($P < 0.05$), 提示小鼠免疫系统激活, 抗肿瘤免疫增强。随后, 研究者将 Pan02 细胞注射到小鼠皮下, 待肿瘤最大径 > 6 mm 后, 对小鼠施加 PRF 为 250 Hz、剂量为 250 个脉冲/点的组织摧毁术, 结果显示小鼠总存活率显著增加, 治疗后 24 h 小鼠产生的 DAMP 增加, 提示组织碎催术可以促进免疫系统激活。此外, 该研究还发现治疗 14 d 内维持肿瘤微环境的促肿瘤细胞 (如髓源性抑制细胞、肿瘤相关中性粒细胞等) 数量减少, 肿瘤微环境被破坏, 从而使肿瘤更容易被抗肿瘤细胞识别和攻击。总之, 组织摧毁术引发的免疫效应在一定程度上可复制, 甚至可调节, 但目前研究主要集中在小鼠或大鼠等动物模型中, 对于使用的脉冲持续时间、PRF、输出功率等相关参数还需进一步研究。

四、组织摧毁术的局限性

实际应用中, 组织摧毁术因其作用机制的特点, 对治疗声通道及靶组织有一定要求。对于治疗声通道, 为确保焦点处的声压足够产生声空化, 声通道内应无骨性或含气组织 (如肋骨、肠道等), 同时由于组织声衰减效应的存在, 靶组织深度 (焦点-皮肤距离) 不能过大, 因此对于胰腺、前列腺等人体深部器官的病变或过度肥胖患者而言, 可能存在治疗强度不足的风险。对于靶组织, 肺和肠道等含气器官由于空化阈值很低, 组织摧毁术可能对周围正常组织造成间接损伤^[1]。此外, 与聚焦超声消融相比, 组织摧毁术有一定诱发治疗区域内血管血栓形成的概率, 这可能是由于空化引起的血小板活化和聚集所致。另外, 理论上组织摧毁术产生的机械力有将癌细胞从靶肿瘤中释放出来并增加转移的风险, 但目前研究显示组织摧毁术治疗后肿瘤转移风险并未增加^[19], 这可能与其抗肿瘤免疫效应有关, 但相关的机制尚无更进一步的阐述。

五、总结

组织摧毁术具有无创、损伤边界清晰、机械粉碎组织和组织选择特性等特点, 与聚焦超声消融相比无热损伤风险。目前组织摧毁术的临床试验结果初步验证了其治疗肝癌、胰腺癌等肿瘤和前列腺增生等多种非肿瘤性疾病的安全性和有效性, 表明该技术具有较高的临床应用价值。但在组织摧毁术成为广泛的临床治疗手段前, 仍需大量的技术开发、临床前研究和临床试验对其长期有效性和免疫效应进行深入探索。

参考文献

- [1] Xu Z, Hall TL, Vlasisavljevich E, et al. Histotripsy: the first noninvasive, non-ionizing, non-thermal ablation technique based on ultrasound[J]. *Int J Hyperther*, 2021, 38(1): 561-575.
- [2] Khokhlova TD, Canney MS, Khokhlova VA, et al. Controlled tissue emulsification produced by high intensity focused ultrasound shock waves and millisecond boiling[J]. *J Acoust Soc Am*, 2011, 130(5): 3498-3510.
- [3] Parsons JE, Cain CA, Abrams GD, et al. Pulsed cavitation ultrasound therapy for controlled tissue homogenization[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2006, 32(1): 115-129.
- [4] Hoogenboom M, Eikelenboom D, Den Brok MH, et al. Mechanical high-intensity focused ultrasound destruction of soft tissue: working mechanisms and physiologic effects[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2015, 41(6): 1500-1517.
- [5] Arnold L, Hendricks-Wenger A, Coutermarsh-Ott S, et al. Histotripsy ablation of bone tumors: feasibility study in excised canine osteosarcoma tumors[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2021, 47(12): 3435-3446.
- [6] Latifi M, Hay A, Carroll J, et al. Focused ultrasound tumour ablation in small animal oncology[J]. *Vet Comp Oncol*, 2021, 19(3): 411-419.
- [7] Liu X, Li J, Gong X, et al. Nonlinear absorption in biological tissue for high intensity focused ultrasound[J]. *Ultrasonics*, 2006, 44(Suppl 1): 27-30.
- [8] Bader KB, Vlasisavljevich E, Maxwell AD. For whom the bubble grows: physical principles of bubble nucleation and dynamics in histotripsy ultrasound therapy[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2019, 45(5): 1056-1080.
- [9] Khokhlova TD, Haider YA, Maxwell AD, et al. Dependence of boiling histotripsy treatment efficiency on HIFU frequency and focal pressure levels[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2017, 43(9): 1975-1985.
- [10] Maxwell AD, Yuldashev PV, Kreider W, et al. A prototype therapy system for transcutaneous application of boiling histotripsy[J]. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*, 2017, 64(10): 1542-1557.
- [11] Khokhlova TD, Schade GR, Wang YN, et al. Pilot in vivo studies on transcutaneous boiling histotripsy in porcine liver and kidney[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 20176.
- [12] Worlikar T, Vlasisavljevich E, Gerhardson T, et al. Histotripsy for non-invasive ablation of hepatocellular carcinoma (HCC) tumor in a subcutaneous xenograft murine model[J]. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc*, 2018, 2018(1): 6064-6067.
- [13] Worlikar T, Mendiratta-lala M, Vlasisavljevich E, et al. Effects of histotripsy on local tumor progression in an in vivo orthotopic rodent liver tumor model[J]. *BME Front*, 2020: 9830304. doi: 10.34133/2020/9830304.
- [14] Worlikar T, Zhang M, Ganguly A, et al. Impact of histotripsy on development of intrahepatic metastases in a rodent liver tumor model[J]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(7): 1612.
- [15] Heo J, Joung C, Pahk K, et al. Investigation of the long-term healing response of the liver to boiling histotripsy treatment in vivo[J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 14462.
- [16] Vidal-Jove J, Serres X, Vlasisavljevich E, et al. First-in-man histotripsy of hepatic tumors: the THERESA trial, a feasibility study[J]. *Int J Hyperther*, 2022, 39(1): 1115-1123.
- [17] Hall TL, Kieran K, Ives K, et al. Histotripsy of rabbit renal tissue in vivo: temporal histologic trends[J]. *J Endourol*, 2007, 21(10): 1159-1166.
- [18] Knott EA, Swietlik JF, Longo KC, et al. Robotically-assisted sonic

- therapy for renal ablation in a live porcine model; initial preclinical results[J]. *J Vasc Interv Radiol*, 2019, 30(8): 1293–1302.
- [19] Styn NR, Hall TL, Fowlkes JB, et al. Histotripsy of renal implanted VX-2 tumor in a rabbit model; investigation of metastases[J]. *Urology*, 2012, 80(3): 724–729.
- [20] Styn NR, Wheat JC, Hall TL, et al. Histotripsy of VX-2 tumor implanted in a renal rabbit model [J]. *J Endourol*, 2010, 24 (7) : 1145–1150.
- [21] Schade GR, Wang YN, D' Andrea S, et al. Boiling histotripsy ablation of renal cell carcinoma in the eker rat promotes a systemic inflammatory response [J]. *Ultrasound Med Biol*, 2019, 45 (1) : 137–147.
- [22] Ruger LN, Hay AN, Gannon JM, et al. Histotripsy ablation of spontaneously occurring canine bone tumors in vivo [J]. *IEEE Trans Biomed Eng*, 2022, Pp. doi: 10.1109/TBME.2022.3191069.
- [23] Mouratidis PXE, Ter Haar G. Latest advances in the use of therapeutic focused ultrasound in the treatment of pancreatic cancer [J]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(3): 638.
- [24] Schade GR, Keller J, Ives K, et al. Histotripsy focal ablation of implanted prostate tumor in an ACE-1 canine cancer model [J]. *J Urol*, 2012, 188(5): 1957–1964.
- [25] Simon A, Robinson F, Anzivino A, et al. Histotripsy for the treatment of uterine leiomyomas: a feasibility study in ex vivo uterine fibroids [J]. *Ultrasound Med Biol*, 2022, 48(8): 1652–1662.
- [26] Roberts WW, Teofilovic D, Jahnke RC, et al. Histotripsy of the prostate using a commercial system in a canine model [J]. *J Urol*, 2014, 191(3): 860–865.
- [27] Aoun F, Marcellis Q, Roumeguère T. Minimally invasive devices for treating lower urinary tract symptoms in benign prostate hyperplasia: technology update [J]. *Res Rep Urol*, 2015, 7(8): 125–136.
- [28] Styn N, Hall TL, Fowlkes JB, et al. Histotripsy homogenization of the prostate: thresholds for cavitation damage of periprostatic structures [J]. *J Endourol*, 2011, 25(9): 1531–1135.
- [29] Khokhlova VA, Rosnitskiy PB, Tsysar SA, et al. Initial assessment of boiling histotripsy for mechanical ablation of ex vivo human prostate tissue [J]. *Ultrasound Med Biol*, 2022, 49(1): 62–71.
- [30] Schuster TG, Wei JT, Hendlin K, et al. Histotripsy treatment of benign prostatic enlargement using the vortex rx system; initial human safety and efficacy outcomes [J]. *Urology*, 2018, 114(1): 184–187.
- [31] Hempel CR, Hall TL, Cain CA, et al. Histotripsy fractionation of prostate tissue: local effects and systemic response in a canine model [J]. *J Urol*, 2011, 185(4): 1484–1489.
- [32] Zhang X, Macoskey JJ, Ives K, et al. Non-invasive thrombolysis using microtriopsy in a porcine deep vein thrombosis model [J]. *Ultrasound Med Biol*, 2017, 43(7): 1378–1390.
- [33] Goel L, Jiang X. Advances in sonothrombolysis techniques using piezoelectric transducers [J]. *Sensors (Basel)*, 2020, 20(5): 1288.
- [34] Bader KB, Hendley SA, Bollen V. Assessment of collaborative robot (Cobot)-assisted histotripsy for venous clot ablation [J]. *IEEE Trans Biomed Eng*, 2021, 68(4): 1220–1228.
- [35] Ponomarchuk EM, Rosnitskiy PB, Khokhlova TD, et al. Ultrastructural analysis of volumetric histotripsy bio-effects in large human hematomas [J]. *Ultrasound Med Biol*, 2021, 47(9): 2608–2621.
- [36] Messas E, Rémond MC, Goudot G, et al. Feasibility and safety of non-invasive ultrasound therapy (NIUT) on an porcine aortic valve [J]. *Phys Med Biol*, 2020, 65(21): 215004.
- [37] Messas E, IJsselmuiden A, Goudot G, et al. Feasibility and performance of noninvasive ultrasound therapy in patients with severe symptomatic aortic valve stenosis: a first-in-human study [J]. *Circulation*, 2021, 143(9): 968–970.
- [38] Hendricks-Wenger A, Hutchison R, Vlasisavljevich E, et al. Immunological effects of histotripsy for cancer therapy [J]. *Front Oncol*, 2021, 11(3): 681629.
- [39] Singh MP, Sethuraman SN, Miller C, et al. Boiling histotripsy and in-situ CD40 stimulation improve the checkpoint blockade therapy of poorly immunogenic tumors [J]. *Theranostics*, 2021, 11(2): 540–554.
- [40] Hendricks-Wenger A, Sereno J, Gannon J, et al. Histotripsy ablation alters the tumor microenvironment and promotes immune system activation in a subcutaneous model of pancreatic cancer [J]. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*, 2021, 68(9): 2987–3000.

(收稿日期: 2023-02-21)