

纳米超声造影剂的研究进展与临床转化

张延美¹, 张 莉^{2*}

¹西安医学院研究生院, 陕西 西安

²空军军医大学唐都医院超声医学科, 陕西 西安

收稿日期: 2024年12月24日; 录用日期: 2025年1月16日; 发布日期: 2025年1月30日

摘 要

随着技术的发展, 纳米超声造影剂的研究越来越多, 除了常规的微泡结构纳米超声造影剂, 还出现了许多新型的纳米超声造影剂, 这些纳米超声造影剂经过修饰或负载药物被赋予了疾病治疗能力。本文针对这些纳米超声造影剂各自的优缺点和实现临床转化中遇到的困难进行综述。

关键词

纳米超声造影剂, 临床转化, 纳米材料, 超声造影成像

Research Progress and Clinical Translation of Nanosized Ultrasound Contrast Agents

Yanmei Zhang¹, Li Zhang^{2*}

¹Graduate School of Xi'an Medical University, Xi'an Shaanxi

²Department of Ultrasound Medicine, Air Force Medical University, Tangdu Hospital, Xi'an Shaanxi

Received: Dec. 24th, 2024; accepted: Jan. 16th, 2025; published: Jan. 30th, 2025

Abstract

With the development of technology, nanosized ultrasound contrast agents are increasingly being investigated. In addition to conventional microbubble-structured nanosized ultrasound contrast agents, a number of novel nanosized ultrasound contrast agents have emerged that have been modified or loaded with drugs to be endowed with disease-treating capabilities. This paper provides a review of the advantages and disadvantages of each of these nanosized ultrasound contrast agents and the difficulties encountered in achieving clinical translation.

*通讯作者。

文章引用: 张延美, 张莉. 纳米超声造影剂的研究进展与临床转化[J]. 临床医学进展, 2025, 15(1): 1627-1632.
DOI: 10.12677/acm.2025.151218

Keywords

Nanosized Ultrasound Contrast Agents, Clinical Translation, Nanomaterials, Ultrasonography

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

超声造影技术具有无辐射、易操作、无创伤等特点,是临床常用的诊断手法之一,主要通过将微泡造影剂注入患者静脉观察病变位置血流灌注情况进行疾病诊断。目前临床上常用的商用超声造影剂 (ultrasonic contrast agent, UCA) 为声诺维,是一种脂质膜包裹六氟化硫气泡结构,平均直径约为 $2\sim 4\mu\text{m}$ 的微米级 UCA,可有效增强病灶部位血管超声成像对比度从而对疾病进行诊断。然而,随着纳米材料可通过渗透和保留效应 (enhanced permeation and retention effect, EPR) 穿过 $380\text{ nm}\sim 780\text{ nm}$ 的肿瘤血管内皮间隙从而被靶向肿瘤组织的提出[1][2],要实现 UCA 从诊断到治疗的转变, UCA 由微米级尺寸转化为纳米级尺寸成了必然趋势。随着技术的逐步成熟,纳米 UCA 的制备工艺也越来越完善,然而要实现纳米 UCA 从实验研究到临床应用的转化,仍然面临着许多的困难。本文就纳米超声造影剂最新的进展研究和临床转化中遇到的问题进行综述。

2. 常规纳米超声造影剂

目前常规的纳米 UCA 的制备方法有薄膜水化法,冻干法,机械震荡法,乳化法[3]-[6],主要由脂质外壳包裹气态内芯构成,脂质外壳的组成多由二棕榈酰磷脂酰胆碱 (DPPC)、二棕榈酰磷脂酰乙醇胺 (DPPE)、二硬脂酰磷脂酰胆碱 (DSPC)、胆固醇、二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺 (DSPE) 通过不同比例配制而成,气态内芯主要是由氟碳化合物惰性气体组成[7]。随着治疗的需要,不少研究者通过在其脂质表面进行修饰,使纳米 UCA 具备多项功能,用于临床更好的诊断或治疗。例如有学者通过在脂质外壳上修饰近红外荧光染料 IR783 和 IR780 使其具有双模态成像和靶向肿瘤的能力[3][8];以桥联亲和素-生物素法连接人上皮生长因子受体 2 抗体同时携带单纯疱疹病毒胸苷激酶 (HSV-TK) 基因到纳米 UCA 上使其具有能靶向肿瘤能力并能通过核定位对肿瘤细胞进行自杀基因疗法[9],能很好地治疗肿瘤;通过亲和素-生物素桥接法在纳米微泡表面连接抗 AMH 抗体使其对卵巢颗粒细胞具有明显的靶向作用,能明显增强移植卵巢显影,更好地监测和评价移植卵巢的存活状态[10]。这些通过在纳米造影剂脂质外壳进行修饰使其对某种细胞或组织具备特定的主动靶向能力,进一步提高了纳米超声造影剂的临床诊断能力,修饰的荧光染料使造影剂不仅能在超声造影状态下显像,还可以进行荧光成像,更直观明了地显示出病变部位,为更好地对临床疾病进行诊断提供了途径。除此之外,超声波还具有特有的可通过击碎靶组织内的微泡,释放纳米 UCA 内携带的药物或基因,微泡破裂产生的空化效应和声孔效应使血管内皮间隙增宽,增加了药物或基因递送至病变组织。这种超声靶向微泡破坏 (ultrasound-targeted microbubble destruction, UTMD) 产生的辐射力同时还可破坏血脑屏障,致密的结缔组织和细胞膜,增加了它们的渗透性,促进了释放的药物穿透血脑屏障或细胞膜进入细胞内,这为基于纳米 UCA 的临床递药提供了有利条件[11][12]。然而,这种常规的外壳气芯的微泡结构仍然有着许多的不足,微泡表面形成较强的声阻抗虽然能有效增强了超声造影成像对比度,但同时也存在着稳定性差,易破裂,不易保存等问题。较差的稳定性意味着即使纳米 UCA 具有的良好尺寸效应能在肿瘤病变部位聚集,即使在纳米 UCA 外壳修饰的具有主动靶向病变的药

物或抗体使其靶向病变部位, 但容易破裂的气泡结构导致的快速消退的造影图像仍达不到理想的靶向诊断结果。同时, 容易破裂的纳米 UCA 导致其携带的靶向治疗药物不能很好地传递到病变部位, 在运输途中的破裂散落引起全身的毒副作用, 影响了基于纳米 UCA 的药物传递的精准治疗。且常规的纳米 UCA 因为其单一的脂质外壳和气体内芯结构, 使得其荷载药物的主要方式是通过将药物连接或修饰于脂质外壳, 这一定程度影响了纳米 UCA 荷载药物的种类和数量。

3. 新型纳米超声造影剂

3.1. 纳米颗粒

基于以上微泡结构纳米 UCA 的不足, 近年来, 不少学者研究出各种类型的纳米 UCA, 它们既能稳定地递送药物, 同时能进行超声造影成像。首先为了改善微泡纳米 UCA 稳定性差的问题, 不少学者通过制备具有一定超声成像能力的纳米颗粒携带药物进行治疗, 例如通过制备三氧化二砷(ATO/PFH NPs @ Au-cRGD)纳米颗粒, 诱导铁死亡和光热治疗, 同时联合免疫治疗肝癌, 并有效抑制肺转移[13]。通过制备一种能增强超声对比成像的纳米胶囊(PFP@PLGA/Cu12Sb4S13), 联合光热治疗和抑制 RAS/MAPK/MT-CO1 信号通路对肝细胞癌进行治疗[14]。有学者制备双层空心二氧化硅, 通过其增强的超声对比度对大鼠超早期急性心肌梗死进行诊断[15]。也有通过在纳米颗粒中添加全氟己烷从而实现纳米颗粒的超声造影成像的功能, 再结合所负载的肿瘤治疗药物, 从而实现纳米超声造影剂的诊疗一体化[16]。然而这些具备超声成像能力的纳米颗粒, 虽然保证了稳定性, 增加了载药种类和数量, 但它们超声造影成像的对比度依赖于超声波在其表面形成的声阻抗, 声阻抗又和纳米颗粒的材料有着密切关系, 不同材料的纳米颗粒有着不同的超声成像对比度, 一定程度上影响了临床疾病的诊断[17], 如果通过增加纳米颗粒浓度增加超声成像对比度, 则同时也需要考虑到大量纳米颗粒是否能被人体代谢, 同时其携带的各种药物的是否会引起毒副作用, 对人体造成伤害。

3.2. 纳米液滴

为了不影响纳米 UCA 的超声成像能力, 不少研究者通过将 UCA 设计成纳米液滴的形式, 并给它们携带上药物, 其结构主要是脂质外壳包裹液态氟碳化合物组成。液态氟碳化合物在注入人体时温度升高达到沸点而汽化或通过光能和声能远程汽化[18]-[20], 从而自发相变成微泡结构增强超声成像的对比度, 保证了纳米 UCA 的临床诊断能力, 同时纳米液滴较小的粒径也保证了其能通过 EPR 效应被动聚集在肿瘤组织。除此之外, 纳米液滴汽化相变成微泡结构后, 可通过 UTMD 技术使微泡携带药物释放, 同时增加血脑屏障、结缔组织和细胞膜的通透性, 促进药物穿过血脑屏障或进入细胞内[21][22]。有学者通过设计出纳米液滴包裹的微泡, 通过超声波诱导纳米液滴的相变, 利用两次空化效应促进了溶栓剂的扩散, 提高了溶栓效率[23]。还有学者通过均质乳化法制备出包埋了阿霉素和全氟己烷的纳米液滴, 并通过二硫键链接明质酸-羧甲基壳聚糖偶联物, 使纳米液滴具有明显的肿瘤细胞靶向能力和双重的 PH/氧化还原反应, 结合 UTMD 技术, 改善了三阴性乳腺癌的耐药性[24]。有研究者组装出具有癌症相关成纤维细胞靶向性, 可携带氨基酸转运蛋白 ASCT (SLC1A5)的抑制剂 V9302 和 GLULsiRNA, 从而有效调控癌症相关成纤维细胞, 改善了黑色素瘤的肿瘤微环境[21]。这些纳米液滴通过携带药物对疾病进行了有效地治疗, 相变后的纳米液滴保证了纳米 UCA 的临床诊断能力。然而, 脂质外壳包裹的内芯由气态变为液态, 其在脂质壳内外形成的压强差, 是否会导致纳米 UCA 在运输途中更容易破裂, 为了保证纳米液滴的稳定性, 包裹多少量的液态氟碳化合物最为合适仍需要进一步探究。

3.3. 生物膜融合纳米超声造影剂

因此为了提高纳米 UCA 的稳定性, 保证其所携带的药物能精准运输到病变部位, 不少研究者提出对

造影剂脂质外壳进行结构改造,通过对脂质外壳进行“加固”防止纳米UCA的破裂。例如有研究者通过对十二氟戊烷脂质体用挤压方式在外层包裹内源性红细胞膜,这有效增加了该纳米UCA的稳定性和生物相容性,十二氟戊烷在超声刺激下相变汽化形成微泡结构可准确地评估肝脓肿和肝肿瘤[25]。也有学者将外泌体膜蛋白包埋于微泡中形成一种外泌体融合微泡,负载光敏剂氯素e6,联合外泌体对原始细胞具有优先靶向能力,对癌症进行了有效的治疗[26]。有研究者通过乙醇-水交换法制备出具有三层结构的高稳定性的蛋白质空气微泡,这种蛋白质微泡可在水中保持结构完整数天,在电热平台设计和应用方面有着巨大的潜力[27]。然而这种纳米UCA虽然保证了超声成像对比度和稳定性,却无法有效地联合UTMD技术,过厚的外壳使得超声波无法进行击碎,一定程度上降低了药物递送的效率。然而如果递送的药物不需穿透血脑屏障,且能保证这种生物膜融合纳米UCA的粒径较小,不影响EPR效应被动靶向肿瘤组织,不失为一种很有前景的纳米结构平台。

4. 纳米超声造影剂的临床转化

基于以上各种类型的纳米UCA研究很多,但目前临床上常用的UCA仍为声诺维,要实现纳米UCA从实验研究到临床的转化仍有许多路要走。除了上述提及的各种类型纳米UCA存在的不足,纳米UCA要真正实现临床转化,首要考虑的是纳米UCA的毒性问题。不同于声诺维简单的脂质外壳包裹六氟化硫惰性无毒气体结构,随着纳米UCA药物递送的研究越来越多,治疗功能越来越多样,负载的药物种类越来越多,各种药物累积的毒副作用也越大。虽然现有研究中通常会用到体外细胞毒性和体内血液组织相容性进行安全性的初步验证,然而这些数据仍然远远低于进一步临床转化所需要的,纳米UCA的生物分布、生物降解、排泄和长期生物效应仍然需要进一步探索[28]。有研究者对常用的纳米载体介孔二氧化硅进行灌胃毒性检查后,发现介孔二氧化硅明显引起了脾脏和肠道炎症细胞的浸润,引起肠道微生态失衡和结肠上皮细胞凋亡[29]。除此之外,纳米载体在各种类型的给药途径(口服、静脉注射、肌肉注射和皮下注射)中面临许多生理障碍,由于皮肤上的免疫细胞介导的脱靶毒性和注射部位不良反应的较高风险,装载细胞毒性药物分子的纳米载体不能使用肌肉注射或皮下注射给药[30][31]。与小分子药物的代谢清除主要通过肝肾机制不同,纳米载体的摄取和清除主要是由大量的单核吞噬系统完成,如循环的吞噬细胞(如单核细胞、树突状细胞)或组织驻留的吞噬细胞(如肝脏中的Kupffer细胞)[32]。这也是工业公司不愿意进一步开发纳米载体递药的主要因素,相比于为了验证这些纳米载体安全性的高成本,他们往往更愿意选择临床批准门槛较低、市场潜力较低的治疗应用材料[33]。因此,如何在纳米UCA上负载药物使其具有临床治疗功能的同时保证其安全性,是实现纳米UCA从实验研究到临床转化的关键因素。

5. 小结与展望

随着纳米UCA的逐步发展,不少研究者通过在纳米UCA上进行载药,赋予纳米UCA主动靶向或治疗功能,为实现基于纳米UCA的诊疗一体化提供了有效途径。传统的脂质外壳包裹气态内芯的纳米UCA具有良好的超声成像对比度,且可通过UTMD技术增加递药效率,但也有稳定性差,结构单一的不足。新型的纳米UCA,如纳米颗粒增加了载药种类,但超声成像对比度差,且可能引起毒副作用。纳米液滴通过液态内芯减小了粒径,汽化后可利用UTMD技术增加载药效率,但纳米液滴的稳定性仍需进一步探讨。生物膜融合的纳米UCA增加了稳定性,融入的生物膜增加了生物相容性,一定程度减小了毒副作用,但较厚的外壳无法有效利用UTMD技术增加递药效率。

尽管研究的纳米UCA种类越来越多样,功能越来越齐全,要实现纳米UCA真正运用到临床上,纳米UCA的毒副作用成了首要考虑的问题,在保证这些纳米UCA具有的临床治疗能力的同时,最大化减少其毒性,在制备纳米UCA时尽可能选择对人体无毒害,生物相容性好的材料成为实现纳米UCA从实验研究到临床转化的关键。

参考文献

- [1] Kim, J., Cho, H., Lim, D., Joo, M.K. and Kim, K. (2023) Perspectives for Improving the Tumor Targeting of Nanomedicine via the EPR Effect in Clinical Tumors. *International Journal of Molecular Sciences*, **24**, Article No. 10082. <https://doi.org/10.3390/ijms241210082>
- [2] Lahooti, B., Akwii, R.G., Zahra, F.T., Sajib, M.S., Lamprou, M., Alobaida, A., *et al.* (2023) Targeting Endothelial Permeability in the EPR Effect. *Journal of Controlled Release*, **361**, 212-235. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2023.07.039>
- [3] Ma, Z., Zhang, Y., Zhu, Y., Cui, M., Liu, Y., Duan, Y., *et al.* (2024) Construction of a Tumor-Targeting Nanobubble with Multiple Scattering Interfaces and Its Enhancement of Ultrasound Imaging. *International Journal of Nanomedicine*, **19**, 4651-4665. <https://doi.org/10.2147/ijn.s462917>
- [4] Perera, R.H., de Leon, A., Wang, X., Wang, Y., Ramamurthy, G., Peiris, P., *et al.* (2020) Real Time Ultrasound Molecular Imaging of Prostate Cancer with PSMA-Targeted Nanobubbles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, **28**, Article ID: 102213. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2020.102213>
- [5] Unga, J., Kageyama, S., Suzuki, R., Omata, D. and Maruyama, K. (2019) Scale-Up Production, Characterization and Toxicity of a Freeze-Dried Lipid-Stabilized Microbubble Formulation for Ultrasound Imaging and Therapy. *Journal of Liposome Research*, **30**, 297-304. <https://doi.org/10.1080/08982104.2019.1649282>
- [6] Yu, Z., Wang, Y., Xu, D., Zhu, L., Hu, M., Liu, Q., *et al.* (2020) G250 Antigen-Targeting Drug-Loaded Nanobubbles Combined with Ultrasound Targeted Nanobubble Destruction: A Potential Novel Treatment for Renal Cell Carcinoma. *International Journal of Nanomedicine*, **15**, 81-95. <https://doi.org/10.2147/ijn.s230879>
- [7] 辛莹, 周厚妊, 张月. 纳米级靶向超声造影剂在癌症诊疗中的研究进展[J]. 医学影像学杂志, 2021, 31(6): 1067-1070.
- [8] 姜一弘, 吕苇, 杨佳琪, 等. 双模态纳米级肿瘤靶向超声造影剂的制备及对比研究[J]. 中国超声医学杂志, 2020, 36(10): 950-953.
- [9] 张月, 周厚妊, 罗语岑, 等. HER2 靶向载 HSV-TK 基因并具有核定位效应的纳米超声造影剂制备[J]. 山东医药, 2021, 61(16): 20-23.
- [10] 张娜. 纳米级 AMH 靶向超声造影剂的制备及其对大鼠移植卵巢靶向显影的初步研究[D]: [博士学位论文]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2020.
- [11] Li, H., Zhang, Y., Shu, H., Lv, W., Su, C. and Nie, F. (2022) Highlights in Ultrasound-Targeted Microbubble Destruction-Mediated Gene/Drug Delivery Strategy for Treatment of Malignancies. *International Journal of Pharmaceutics*, **613**, Article ID: 121412. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.121412>
- [12] Li, Y., Du, M., Fang, J., Zhou, J. and Chen, Z. (2021) UTMD Promoted Local Delivery of miR-34a-Mimic for Ovarian Cancer Therapy. *Drug Delivery*, **28**, 1616-1625. <https://doi.org/10.1080/10717544.2021.1955041>
- [13] Qiu, Y., Wu, Z., Chen, Y., Liao, J., Zhang, Q., Wang, Q., *et al.* (2023) Nano Ultrasound Contrast Agent for Synergistic Chemo-Photothermal Therapy and Enhanced Immunotherapy against Liver Cancer and Metastasis. *Advanced Science*, **10**, Article ID: 2300878. <https://doi.org/10.1002/advs.202300878>
- [14] Dong, T., Jiang, J., Zhang, H., Liu, H., Zou, X., Niu, J., *et al.* (2021) PFP@PLGA/Cu₁₂Sb₄S₁₃-Mediated PTT Ablates Hepatocellular Carcinoma by Inhibiting the RAS/MAPK/MT-CO1 Signaling Pathway. *Nano Convergence*, **8**, Article No. 29. <https://doi.org/10.1186/s40580-021-00279-2>
- [15] Guo, M., Du, W., Lyu, N., Chen, X., Du, Y., Wang, H., *et al.* (2019) Ultra-Early Diagnosis of Acute Myocardial Infarction in Rats Using Ultrasound Imaging of Hollow Double-Layer Silica Nanospheres. *Advanced Healthcare Materials*, **9**, Article ID: 1901155. <https://doi.org/10.1002/adhm.201901155>
- [16] Yang, X., Zhao, M., Wu, Z., Chen, C., Zhang, Y., Wang, L., *et al.* (2022) Nano-Ultrasonic Contrast Agent for Chemoimmunotherapy of Breast Cancer by Immune Metabolism Reprogramming and Tumor Autophagy. *ACS Nano*, **16**, 3417-3431. <https://doi.org/10.1021/acsnano.2c00462>
- [17] Li, X., Sui, Z., Li, X., Xu, W., Guo, Q., Sun, J., *et al.* (2018) Perfluorooctylbromide Nanoparticles for Ultrasound Imaging and Drug Delivery. *International Journal of Nanomedicine*, **13**, 3053-3067. <https://doi.org/10.2147/ijn.s164905>
- [18] Hallam, K.A., Nikolai, R.J., Jhunjhunwala, A. and Emelianov, S.Y. (2024) Laser-Activated Perfluorocarbon Nanodroplets for Intracerebral Delivery and Imaging via Blood-Brain Barrier Opening and Contrast-Enhanced Imaging. *Journal of Nanobiotechnology*, **22**, Article No. 356. <https://doi.org/10.1186/s12951-024-02601-6>
- [19] Spatarelu, C., Jandhyala, S. and Luke, G.P. (2023) Dual-Drug Loaded Ultrasound-Responsive Nanodroplets for On-Demand Combination Chemotherapy. *Ultrasonics*, **133**, Article ID: 107056. <https://doi.org/10.1016/j.ultras.2023.107056>
- [20] Vezeridis, A.M., de Gracia Lux, C., Barnhill, S.A., Kim, S., Wu, Z., Jin, S., *et al.* (2019) Fluorous-Phase Iron Oxide

- Nanoparticles as Enhancers of Acoustic Droplet Vaporization of Perfluorocarbons with Supra-Physiologic Boiling Point. *Journal of Controlled Release*, **302**, 54-62. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.03.013>
- [21] Ai, C., Sun, X., Xiao, S., Guo, L., Shang, M., Shi, D., *et al.* (2023) CAFs Targeted Ultrasound-Responsive Nanodroplets Loaded V9302 and GLULsiRNA to Inhibit Melanoma Growth via Glutamine Metabolic Reprogramming and Tumor Microenvironment Remodeling. *Journal of Nanobiotechnology*, **21**, Article No. 214. <https://doi.org/10.1186/s12951-023-01979-z>
- [22] Lea-Banks, H., Meng, Y., Wu, S., Belhadjhamida, R., Hamani, C. and Hynynen, K. (2021) Ultrasound-Sensitive Nanodroplets Achieve Targeted Neuromodulation. *Journal of Controlled Release*, **332**, 30-39. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2021.02.010>
- [23] Pan, Y., Li, Y., Li, Y., Zheng, X., Zou, C., Li, J., *et al.* (2022) Nanodroplet-Coated Microbubbles Used in Sonothrombolysis with Two-Step Cavitation Strategy. *Advanced Healthcare Materials*, **12**, Article ID: 2202281. <https://doi.org/10.1002/adhm.202202281>
- [24] Xiao, S., Guo, L., Ai, C., Shang, M., Shi, D., Meng, D., *et al.* (2023) Ph-/Redox-Responsive Nanodroplet Combined with Ultrasound-Targeted Microbubble Destruction for the Targeted Treatment of Drug-Resistant Triple Negative Breast Cancer. *ACS Applied Materials & Interfaces*, **15**, 8958-8973. <https://doi.org/10.1021/acsami.2c20478>
- [25] Xu, Y., Lu, Q., Sun, L., Feng, S., Nie, Y., Ning, X., *et al.* (2020) Nanosized Phase-Changeable “Sonocyte” for Promoting Ultrasound Assessment. *Small*, **16**, Article ID: 2002950. <https://doi.org/10.1002/smll.202002950>
- [26] Jang, Y., Park, J., Kim, P., Park, E., Sun, H., Baek, Y., *et al.* (2023) Development of Exosome Membrane Materials-Fused Microbubbles for Enhanced Stability and Efficient Drug Delivery of Ultrasound Contrast Agent. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, **13**, 4983-4998. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2023.08.022>
- [27] Deng, Q., Mi, J., Dong, J., Chen, Y., Chen, L., He, J., *et al.* (2022) Superiorly Stable Three-Layer Air Microbubbles Generated by Versatile Ethanol-Water Exchange for Contrast-Enhanced Ultrasound Theranostics. *ACS Nano*, **17**, 263-274. <https://doi.org/10.1021/acsnano.2c07300>
- [28] Tang, H., Zheng, Y. and Chen, Y. (2016) Materials Chemistry of Nanoultrasonic Biomedicine. *Advanced Materials*, **29**, Article ID: 1604105. <https://doi.org/10.1002/adma.201604105>
- [29] Deng, Y., Zhang, X., Yang, X., Huang, Z., Wei, X., Yang, X., *et al.* (2021) Subacute Toxicity of Mesoporous Silica Nanoparticles to the Intestinal Tract and the Underlying Mechanism. *Journal of Hazardous Materials*, **409**, Article ID: 124502. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124502>
- [30] Chalouni, C. and Doll, S. (2018) Fate of Antibody-Drug Conjugates in Cancer Cells. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, **37**, Article No. 20. <https://doi.org/10.1186/s13046-017-0667-1>
- [31] Missaoui, W.N., Arnold, R.D. and Cummings, B.S. (2018) Toxicological Status of Nanoparticles: What We Know and What We Don't Know. *Chemico-Biological Interactions*, **295**, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.07.015>
- [32] Lucas, A.T., Price, L.S., Schorzman, A. and Zamboni, W.C. (2017) Complex Effects of Tumor Microenvironment on the Tumor Disposition of Carrier-Mediated Agents. *Nanomedicine*, **12**, 2021-2042. <https://doi.org/10.2217/nnm-2017-0101>
- [33] Ragelle, H., Danhier, F., Préat, V., Langer, R. and Anderson, D.G. (2016) Nanoparticle-Based Drug Delivery Systems: A Commercial and Regulatory Outlook as the Field Matures. *Expert Opinion on Drug Delivery*, **14**, 851-864. <https://doi.org/10.1080/17425247.2016.1244187>