

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

總計畫

計畫類別：整合型計畫

計畫編號：NSC92-2218-E-002-043-

執行期間：92年11月01日至93年07月31日

執行單位：國立臺灣大學電機工程學系暨研究所

計畫主持人：李百祺

共同主持人：楊重熙，何佳安，陳炯東

計畫參與人員：李維寧，王慈吟

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 93 年 12 月 13 日

總計畫：超音波釋控微脂體科技於腫瘤預防診斷治療之研究

(Ultrasound Assisted Liposomal Cancer Therapy)

計畫類別： 個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：NSC 92 - 2218 - E - 002 - 043 -

執行期間： 92 年 11 月 01 日至 93 年 7 月 31 日

計畫主持人：李百祺教授

共同主持人：楊重熙教授、何佳安教授、陳炯東教授

計畫參與人員：李維寧、王慈吟

成果報告類型(依經費核定清單規定繳交)： 精簡報告 完整報告

本成果報告包括以下應繳交之附件：

赴國外出差或研習心得報告一份

赴大陸地區出差或研習心得報告一份

出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份

國際合作研究計畫國外研究報告書一份

處理方式：除產學合作研究計畫、提升產業技術及人才培育研究計畫、
列管計畫及下列情形者外，得立即公開查詢

涉及專利或其他智慧財產權， 一年 二年後可公開查詢

執行單位：台灣大學電機工程學系

中 華 民 國 93 年 9 月 30 日

中文摘要：

本整合型計畫之主要目標，為結合超音波科技及靶向傳輸原理，利用微脂體之穴蝕化效應與藥物傳輸能力，發展一腫瘤早期診斷與治療之創新技術，並應用於國內常見之肝癌、胃癌及大腸直腸癌等相關疾病。以微脂體為主之藥物傳送系統，在近年來已獲得普遍之重視。此類系統亦可以結合靶向技術，將抗癌藥物直接作用於癌細胞，提高靶區之藥物濃度，卻不影響正常細胞區。除了藥物輸送方式之外，本計畫亦研究在微脂體中包覆氣體以構成穴蝕化之核心，配合最佳化之超音波物理參數，有效利用整流擴散原理，提昇穴蝕化效率及產生氣泡破壞，以達到治療癌症之效果。此外，本計畫之另一目標為應用活體微透析探針及微光纖系統，於腫瘤原位判定微脂體靶向定位傳輸效率，並依此針對超音波物理參數及微脂體表面傳輸定位抗體及修飾標定做最佳組合。本計畫在前九個月先期研究中，已完成了下列數項工作，成功評估含藥微脂粒及瞬間穴蝕效應對癌細胞和腫瘤組織的抗癌作用，為後續研究建立一良好之基礎與可行性之驗證。

- 超音波穴蝕效應之有效誘發與偵測
- 穴蝕效應實驗系統建立及數值模擬器之開發
- 包覆空氣之微脂體微氣泡之配方研究與製程確認
- 建立微光纖及微透析之活體偵測分析系統及氧濃度分佈造影系統
- 含 doxorubicin 之微脂粒的抗癌活性研究
- 可穩定表現 GFP 之 MKN45 胃癌細胞培養
- 利用 MKN45 細胞建立之癌細胞株原位植入小裸鼠胃體內的動物實驗模式。

在後續三年之研究中，總計畫將持續負責整合各子計畫之工作，以探討相關技術在組織與細胞中之療效，並針對皮下異種移植腫瘤與原位異種移植腫瘤之抗癌作用進行後續之探討

關鍵字：超音波、微氣泡對比劑、微脂體，穴蝕化、癌症治療、藥物輸送

英文摘要：

The prevalence of cancer disease is a major health problem worldwide. Cancer has been the leading cause of death over the past two decades in Taiwan. This project focuses on the development of a system involving targeting delivery for liposomal air-bubbles and ultrasound-assisted release of the drug carried in liposome particles. The primary clinical interests are stomach cancer and colon cancer diseases. In addition to drug delivery using liposome, the air encapsulated in liposomes can also be used to enhance the contrast for ultrasound images, in addition to the generation of cavitation induced by ultrasound wave. Tumor cells death will be concomitant with the cavitation. Another aspect of the project aims at the development of two micro-systems, one is the microdialysis perfusion system for the evaluation of liposomal targeting efficiency, and the other is the microlight-guide system for evaluation of tumor functional images. In addition, a non-invasive system using the oxygen quenched infrared phosphorescence will be constructed to obtain the two dimensional tissue oxygen concentration profile. In the initial phase of the project (i.e., first 9 months), the project has addressed the following issues:

- Effective induction and detection of acoustic cavitation
- Setup of an experimental system and simulator for analyzing cavitation
- Process and recipe for producing air encapsulated liposome microbubbles
- Development of the two micro-systems
- Study of the therapeutic effects of doxorubicin encapsulated liposome particles
- Cell culture for MKN45 with GFP

With the solid progress of the initial phase project, we will continue to coordinate and integrate the results from sub-projects, and to evaluate the anti-tumoral efficacy of cavitation effects of the air bubbles-loaded liposomal formulation and targeted drug delivery in cancer cells and cultured cancer cells. The project will also move on to cancer therapy in the tumor xenograft model in animals and in the *in situ* implanted cancers.

Keywords: ultrasound, contrast microbubbles, liposome, cavitation, cancer treatment, drug delivery

I. 研究動機與計畫目標

根據行政院衛生署統計，在台灣地區近十年來，惡性腫瘤(癌症)死亡人數高居不下。因此，惡性腫瘤的相關治療，在近年來也越來越受重視。目前臨床上對於癌症的治療方法，主要有藥物、手術開刀及放射線療法。然而直接口服藥物，會產生很大的副作用；手術開刀為一侵入式治療法，麻醉以及出血等情況皆對病人身體造成很大的負擔；放射性治療除殺死癌細胞外，亦會損害健康細胞。因此，尋求其他方式之癌症治療法，根據病人情況做最適當之選擇，為癌症治療中相當重要的研究議題。以穴蝕效應(cavitation)為主之超音波治療法，有潛力成為治療癌症的創新技術。近年來，超音波技術在醫學診斷與治療已有廣泛之應用。相較於其他醫學影像技術，超音波具有安全性較高、可攜式、即時顯像以及良好的解析度等優點。另一方面，使用超音波熱效應[1]及穴蝕效應[2]以治療惡性腫瘤，甚至更進一步搭配微脂體藥物輸送技術或結合基因療法之相關研究[3]-[6]，也已逐漸受到重視。

本計畫的基礎，乃建立在現今全世界最前端之生物醫學科技之上，並進一步結合顯微影像、奈米醫學、分子及細胞探針、靶向傳輸及藥物釋放等技術。研究內容兼具前瞻、創新及本土性，若能成功執行，將對國內相關主要疾病之預防診斷治療有很大的幫助。本計畫已利用奈米等級之微脂體，在其中包覆氣體以構成穴蝕化之核心，配合最佳化之超音波物理參數，有效提昇穴蝕化效率及產生氣泡破壞，以達到治療癌症之效果。同時，包覆氣體之微脂體藉其所增加之超音波散射訊號強度，配合微脂體靶向傳輸技術，將可以建構成一靶向傳輸效率之有效評估工具。本計畫之另一重點為應用活體微透析探針及微光纖系統，並已建立近紅外光磷光生命期影像系統，於腫瘤原位判定微脂體靶向定位傳輸效率，並依此針對超音波物理參數及微脂體表面傳輸定位抗體及修飾標定做最佳組合。本計畫亦以本土相較其他國家較為嚴重之癌疾病做為主要研究標的，包括肝癌、胃癌及大腸直腸癌等疾病。

II. 計畫主要成果

本整合型計畫之分工合作架構如下，各子計畫之主要成果及與其他子計畫間之關係亦依各分項說明如後：

(一) 子計畫一：超音波微脂體偵測及穴蝕化控制機制研究

本子計畫先期研究之重點分為穴蝕之誘發及偵測兩方面來討論，實驗部分所採用之穴蝕核以 Levovist[®]及自製之微脂體為主。除加入微氣泡以作為穴蝕核之外，本計畫並設計特殊發射波形以有效誘發穴蝕效應之產生。而在偵測穴蝕效應方面，本研究採用二種量化分析方法。第一種為使用診斷用超音波儀器做影像擷取，進而利用影像亮度來定量分析治療前後之微氣泡數量，計算穴蝕效應的程度。第二種則為利用慣性穴蝕劑量來偵測穴蝕效應。除實驗結果外，亦以 Rayleigh-Plesset 方程式及 Runge-Kutta 法為基礎，發展一模擬工具，以觀察氣泡在不可壓縮液體中受聲波驅動時其半徑變化，並進一步將模擬結果與前述之穴蝕效應實驗做比較與討論。

1. 以 Rayleigh-Plesset 方程式為基礎之穴蝕效應數值模擬：

Rayleigh-Plesset 方程式描述氣泡在液體中，受到聲波驅動時的半徑變化所應遵守的規則。假設一微氣泡位於液體中。 a 代表微氣泡之外徑， d_s 為殼層的厚度，假設 $d_s \ll a$ ，並令殼層的剪切黏滯係數(shear viscosity)和剪切模數(shear modulus)分別為 η_s 和 G_s 。其中，剪切係數表示材料對於扭動、剪切應力與剪切應變之比值，單位為帕(Pa)。而剪切黏滯係數可視為液體流動阻力的指標，單位為泊(poise, Pa · s)，黏滯性越大的材料，其分子間吸引力越大，流動趨於緩慢，反之，黏滯性越小的物體，越容易造成擾動。 p_∞ 為離微氣泡極遠處的聲壓，等於靜水壓 p_0 加上外加的時變入射聲壓 $p_i(t)$ ， $p_L(t)$ 為微氣泡表面的聲壓， p_g 為微氣泡內的氣壓， T_1 和 T_2 分別為殼層的內表面和外表面的徑向應力(radial stress)， η_L 代表液體的剪切黏滯係數。將球面座標系 (r, θ, ϕ) 的原點定在氣泡的球心。假設當氣泡受到時變的聲壓驅動時，只有半徑上的變化，並令其半徑為 $a(t)$ 。令液體中座標為 (r, θ, ϕ) 的點在時間為 t 的速度為 \mathbf{u} ，則由於整個系統為球對稱， \mathbf{u} 的 θ 分量和 ϕ 分量將為零，只剩下 r 分量，即 $\mathbf{u} = (u_r, u_\theta, u_\phi) = (u(r, t), 0, 0)$ ，其中 $u = u_r$ 。假設液體為不可壓縮，則其密度將為一常數，令為 ρ ，且由質量守恆可知：

$$\rho \nabla \cdot \mathbf{u} + \frac{D\rho}{Dt} = 0 ,$$

可得

$$\nabla \cdot \mathbf{u} = \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} (r^2 u) = 0 ,$$

進一步假設此液體之應力正比於應變的變化率，且具有等向性，則由 Navier-Stokes equation：

$$\rho \left[\frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t} + (\nabla \mathbf{u}) \mathbf{u} \right] = -\nabla p + \mu \nabla \cdot (\nabla \mathbf{u}) ,$$

其中 μ 為液體的黏滯係數， p 為聲壓，可推得

$$\rho \left[\frac{\partial u}{\partial t} + u \frac{\partial u}{\partial r} \right] = -\frac{\partial p}{\partial r} + \mu \left[\frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left(r^2 \frac{\partial u}{\partial r} \right) - \frac{2u}{r^2} \right] .$$

最後，給定半徑及半徑對時間微分的初始值，便可使用 Runge-Kutta method 來解不同入射聲壓下微氣泡半徑對時間的變化。

2. 定量穴蝕效應偵測方法：

穴蝕效應偵測可分為二類方法，第一類為先選定有興趣的區域(Region of Interest, ROI)，再把此區域內每個相素的強度加起來，以代表該時間下的對比劑回音散射信號強度。藉由此強度的大小，可偵測該時間點下微氣泡數量。由超音波照射前後之微氣泡數量差，便可定量偵測穴蝕效應。因此，由影像亮度差便可直接定量推算穴蝕效應。以 I 代表影像強度，ROI 代表微氣泡處，可定義 ROI 之整體影像亮度如下：

$$Intensity = 10 \log \sum_{ROI} I。$$

藉由計算影像亮度差(Intensity)，在線性之假設下，便可反映出治療前後 ROI 之微氣泡數差異，進一步達到定量偵測穴蝕效應之目的。

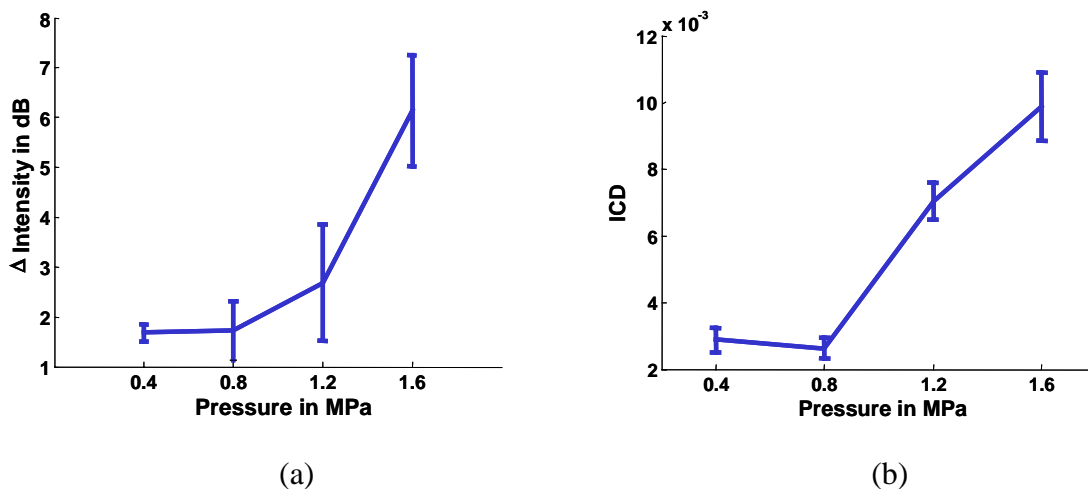
偵測穴蝕效應的第二類方法為量測微氣泡破裂時之逆散射回音信號時。由於微氣泡破裂時間極為短促(<10 ns)，故此時產生之散射信號為一相當寬頻之信號，此寬頻信號之能量與被破壞之微氣泡數成正向關係，此亦稱為 inertial cavitation dose (ICD)。令發生穴蝕所量取之訊號為 $S_c(t)$ ，而放置純水(無發生穴蝕)所量取之訊號為 $S_w(t)$ ，則可求得該次誘發條件之 ICD 值：

$$ICD = \int_{9.5MHz}^{10.5MHz} F\{S_c(t) - S_w(t)\}。$$

也就是將某條件下誘發穴蝕所偵測之訊號 $S_c(t)$ ，減掉同樣入射波形但將微氣泡換為水所偵測之訊號 $S_w(t)$ ，做傅立葉轉換後，在頻譜上選取一高頻之頻帶以避開入射聲波之諧波訊號，對此頻帶做積分便可得到該次誘發條件下之 ICD 值。ICD 可反映微氣泡破壞的程度，為一有效偵測穴蝕效應大小之參數。影像亮度之變化與 ICD 值經實驗驗證有極高之線性相關度。

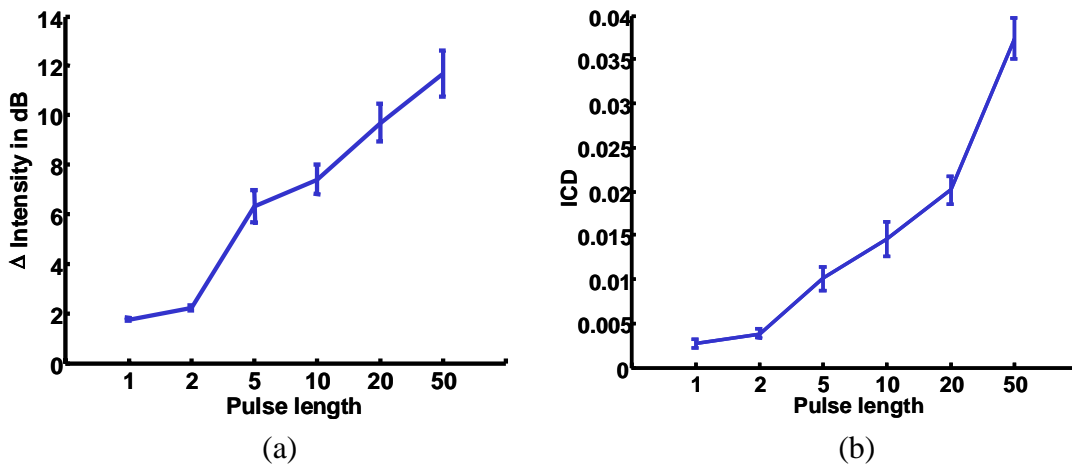
3. 穴蝕效應實驗量測結果：

為驗證實驗系統之可行性，我們使用 0.4, 0.8, 1.2, 1.6 MPa 等四種不同的聲壓之 5 週弦波訊號，來觀察 ICD 值與影像亮度法及聲壓之關係。其中，ICD 值之接收取樣頻率為 100 MHz，接收時間為 20 μ s；同時取擷取 B-mode 影像之 GE 診斷儀亦做以下之調整：其 power 旋鈕調降到最低，也就是將偵測探頭之入射能量降到最小，且將其 TGC (time gain compensation) 鈕固定，避免因改變不同聲壓時的接收 gain 值而改變其影像亮度，B-mode 之動態範圍取 60 dB，B-mode gain 調整為 50 dB，發射時間為 3 分鐘。實驗結果如下圖所示：



說明：聲壓 vs. 穴蝕效應實驗結果

除聲壓外，本研究亦探討週期數及穴蝕之關係，以瞭解超音波劑量對穴蝕之影響。我們使用週期數為 1、2、5、10、20 及 50 之聲波訊號誘發穴蝕，發射聲壓為 1.6 MPa，結果如下：



說明：週期數 vs. 穴蝕效應實驗結果

(二) 子計畫二：抗癌靶向微脂球之設計與合成

本子計畫的目標之一是為發展『靶向給藥系統』，在此類系統中，抗癌劑是由一種導彈式的微脂體藥物載體，將這些抗癌藥物運向癌變部位或直接作用於癌細胞，靶區之藥物濃度提高，卻不影響正常細胞區[7]-[10]。靶向的方式可以通過微脂球藥物載體上的特殊 ligands 與特定癌變部位之癌細胞上的 marker 結合，或因巨噬細胞對超微粒藥物載體的吞噬作用與融合作用，其他如脂質表面與癌細胞的吸附作用以及二者表面類脂質轉移等方式完成。本子計畫的另一目標是為發展新型之超音波顯影劑以改良超音波影像的解析度。球心包裹氣體，表面修飾特殊 ligands 的微脂體不但可被使用在超音波影像的顯影劑，改善超音波影像的解析度，更可被當成是藥物分子的引導台車，被利用於腫瘤之預防診斷及治療。

1. 微脂體氣泡製程研究：

製作微脂球的方法，依據脂質分散 (lipid dispersion) 的模式可分為三大類：機械性分散 (mechanical dispersion)、溶劑分散 (solvent dispersion) 以及界面活性劑溶解 (detergent solubilization)。不同的製備方法通常包括以下四步驟：溶解脂質、移除脂質溶液中有機溶劑、添加水溶性溶液、純化微脂球。本研究所研發的配方微脂體的主要成分有 4 種，分別為 1,2, Distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine (PE)、L- α -phosphatidylcholine (PC)、L- α -phosphatidyl-DL-glycerol (PG) 與 cholesterol (CH)，其製作流程如下：

Step 1：將 PE、PC、PG 與 CH 四種藥物依比例的劑量取出，注入圓底燒瓶後均勻混合（可再加入少許氯仿使其充分溶解與混合）。

Step 2：混合溶液於 50 °C 下以旋轉蒸發儀將氯仿完全抽乾。

Step 3：將樣品置於真空儀中真空乾燥 24 小時，使脂質膜能完全去除有機溶劑及水份。

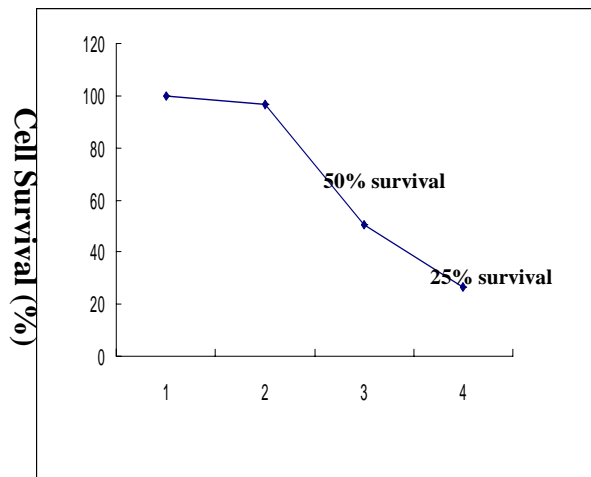
Step 4：在樣品中加入 2.5mL 的去離子水，以超音波震碎機將燒瓶中的脂質膜震碎並脫離瓶壁，此時脂質膜即自動包覆成微脂體。震碎時間愈久，微脂體的粒徑即愈小。同時可使用粒徑分析儀測定微脂體的粒徑。理想上的微脂體溶液應呈乳白色牛奶狀，若脂質膜碎片仍可見，可以水浴加熱或超音波震碎的方式幫助微脂體的生成。

Step 5：待微脂體的粒徑震碎至所需尺寸後，加入 2.5mL 之 D-Mannitol (0.2M)，並將樣品置於-70 冷凍 24 小時。

Step 6：將樣品於冷凍乾燥儀中真空乾燥 24 小時，便可得微脂體粉末，此時微脂體內部的水分已被抽離，在用超音波 GE 診斷儀偵測前僅須加入生理食鹽水還原包覆空氣的微脂體。

2. 微脂體靶向功能研究：

初期試驗中，四組具相同數目的肝癌細胞分別被投藥。投藥後一定周期內，以癌細胞的存活數目做為藥物療效的指標。實驗發現，第一、二組的空白試驗及空包微脂體，其癌細胞數目並無遽減，而第三、四組的肝癌細胞，在相同的投藥周期內有 50%~ 75% 的死亡率。其中又以微脂體劑型的投藥方式最為有效效率 (僅有 25% 的癌細胞存活)。



說明：細胞存活情形。1：空白試驗 (不加藥)；2：空包微脂體(不包藥)；3：Free form 藥物；4：包裹藥物的微脂體。

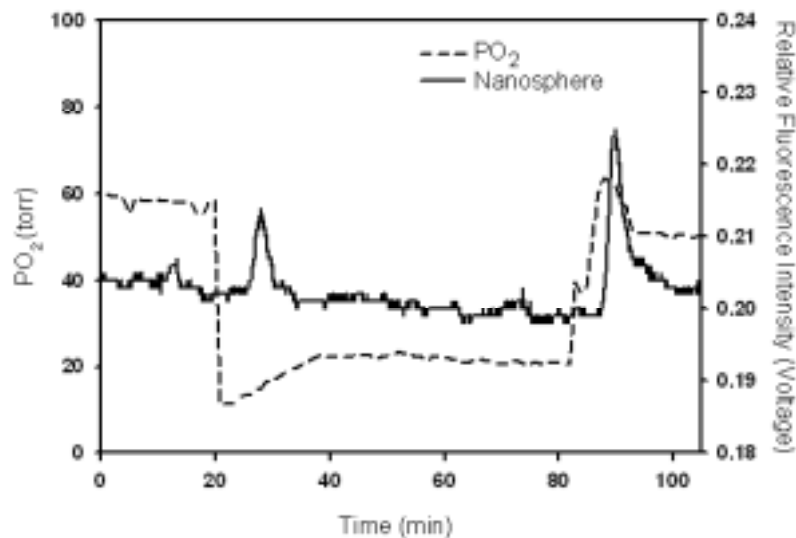
(三) 子計畫三：微脂體靶向傳輸效率暨活體腫瘤功能性影像評估系統之研發

本子計畫主持人之研究團隊已建立微透析探針與微光纖系統，並將此項研究將作為探討子計畫 (二) 所設計合成之包裹氣體微脂體及包裹抗癌藥物微脂體之「靶向」傳輸效率之基礎，並作為微脂體表面傳輸定位抗體選擇及修飾標定之依據。為能持續追蹤活體腫瘤生長速率及評估聚焦超音波釋控微脂體瞬間穴蝕或抗癌藥物對腫瘤之療效。我們利用腫瘤高生物能量轉換速率的特性，例如對葡萄糖及組織氧的高耗率，並利用氧淬冷磷光原理，使用對組織光學穿透性高的近紅外光激發之磷光分子，建立一非侵襲式之活體腫瘤組織二維氧濃度分佈造影系統，藉以即時追蹤並評估超音波釋控微脂體療程前中後，腫瘤功能性之變化及療效。本子計畫所研發之「微脂體靶向傳輸效率暨活體腫瘤功能性影像評估系統」

能進一步用以建立一完整之療效量化資訊網，包括微脂體靶向標定設計、超音波聚焦釋控能量之調整選擇、以及相應於各種人類腫瘤組織之最佳療效組合的設定等等，故為開發腫瘤預防診斷治療之超音波釋控微脂體工程科技不可或缺的環節之一。

1. 活體微透析探針與微光纖系統：

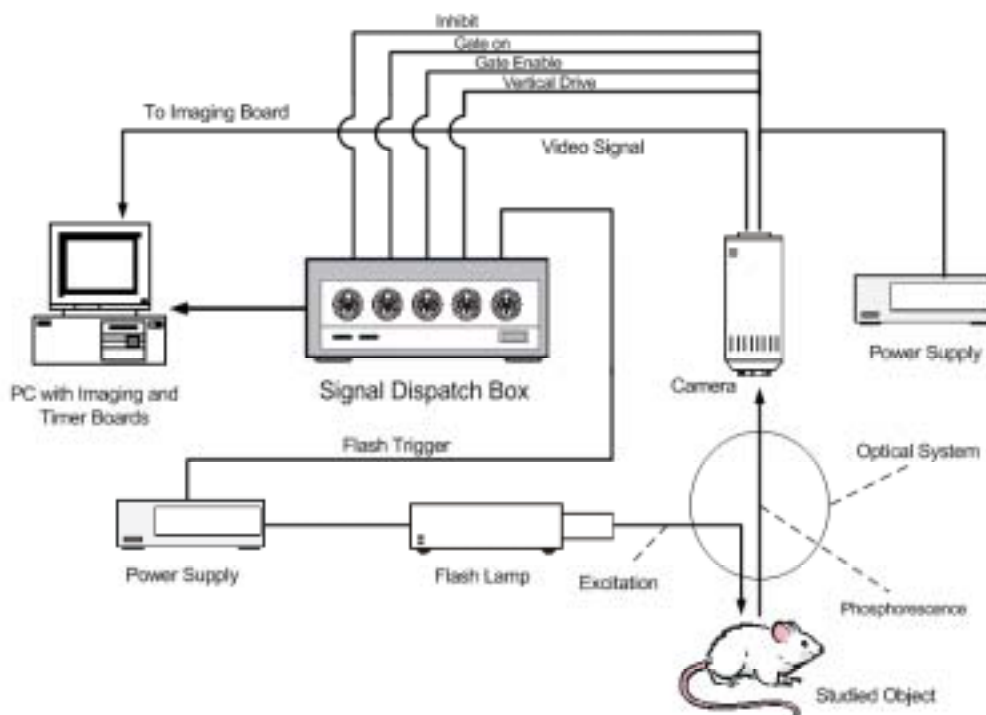
使用此系統於腫瘤原位(*in situ*)，偵測子計畫(二)所設計合成之包裹氣體微脂體及包裹抗癌藥物微脂體之「靶向」定位傳輸效率，意即判定修飾微脂體穿透血管系統到達腫瘤組織細胞的能力，並依此選擇微脂體表面傳輸定位抗體及修飾標定。



說明：缺血及再灌流對腦血屏障(BBB)通透性(—)及腦氧濃度(---)之影響。通透性由細胞外奈米螢光球之螢光強度所定義；腦氧濃度則由氧焯冷磷光動力分析所偵測。腦中動脈栓紮(MACO)引起細胞外奈米螢光球螢光強度立即之增加，並於約10分鐘後回到栓紮前之基線強度。而再灌流則會引發螢光強度之第二次增加。相對應地，於此一小時之缺血栓紮下，腦氧含量(主要於腦中動脈)迅速地自60 mmHg降至10 mmHg，並逐漸回升至20 mmHg。在再灌流下，腦氧含量於10分鐘內即回升至60 mmHg。

2. 組織氧濃度之分佈變化：

利用腫瘤組織對氧的高代謝率，以組織氧濃度之分佈變化作為腫瘤功能性影像之因子，建立一非侵襲式之活體腫瘤組織二維氧濃度分佈造影系統，藉以即時追蹤並評估超音波釋控微脂體療程及療效。



說明：非侵襲式之活體腫瘤組織二維氧濃度分佈造影系統。

3. 腫瘤組織對葡萄糖之代謝率：

腫瘤組織對葡萄糖具備有高代謝率；而於腦缺血性缺氧之動物實驗中，活體微透析探針已被使用於偵測生物能量相關代謝分子之濃度變化。我們將利用多併聯活體微透析探針，對於腫瘤組織之葡萄糖(glucose) 乳酸(lactate) 丙酮酸(pyruvate) 以及穀氨酸(glutamate) 於超音波釋控微脂體治療前後的濃度變化，並依此建立即時追蹤評估療效之指標。

(四) 子計畫四：癌細胞與癌動物模式之建立及療效評估

本子計畫已評估含 doxorubicin 之微脂粒的抗癌活性，發現其對人類胃癌細胞 MKN-45 的生長具有抑制作用，而且由於微脂粒之配方，doxorubicin 之體外的抗癌活性增加為 2 倍。另外，本研究已建立一株可穩定表現 green fluorescent protein (GFP) 之 MKN45 胃癌細胞並已利用此細胞建立了人類胃癌細胞株原位植入小裸鼠胃體內的動物實驗模式。這些短期的研究成果已發表在第十九屆生物醫學聯合學術年會(AN ORTHOTOPIC HUMAN GASTRIC TUMOR MODEL IN MICE; 壁報論文編號：P593)將繼續被開發並應用於下一期完整的三年期計畫所需[12]-[13]。

1. 100% fluorescent MKN-45-GFP cells：

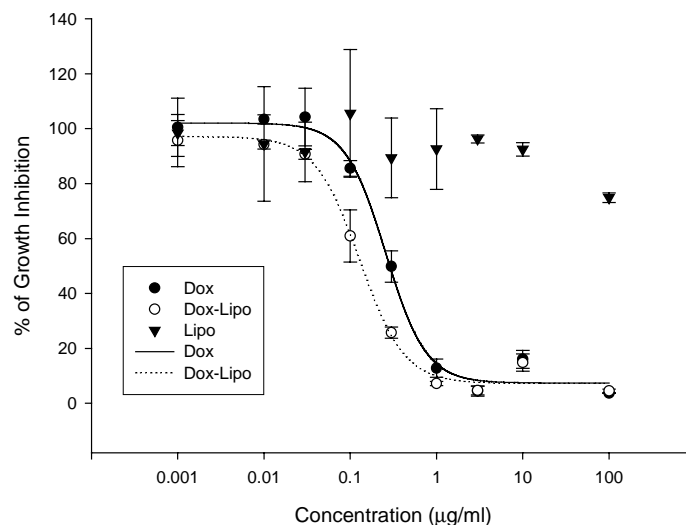
在 24-well 的培養盤中每個 well 植入 2×10^5 個 MKN-45 細胞,接著以 $2 \mu\text{g}$ pEGFP-C1 載體與 2 ml Lipofectamine2000 的混合物進行轉殖,經過 G418 的篩選,以及 serial dilution 的方式獲得一株能穩定表現綠色螢光蛋白的細胞株,發現每一個細胞均發出綠色螢光。

2. Growth curve of subcutaneously inoculated MKN-45 and MKN-45-GFP cells :

觀察細胞生長的情形發現,MKN-45 細胞數量加倍的時間平均約 1.4 天;MKN-45-GFP 細胞數量加倍時間平均約 1.4 天。這兩株細胞似乎沒有顯著差異。將兩株細胞分別以皮下注射方式植入老鼠體內發現,植入 50 天後 MKN-45-GFP 形成的腫瘤大小約達到 2000 mm^3 ,相較之下 MKN-45 形成的腫瘤大小只有約 1500 mm^3 ,雖然沒有統計上的差異,MKN-45-GFP 在裸鼠皮下的生長速率似乎較 MKN-45 快。

3. Anticancer effects of liposomal doxorubicin, doxorubicin and vehicle liposome :

MKN-45 胃癌細胞,處以不同濃度的 doxorubicin (Dox), doxorubicin - 微脂粒 (Dox-Lipo),或微脂粒 (Lipo)之後,對胃癌細胞生長造成抑制,如下圖,其中 Dox 的 IC_{50} 為 $0.26 \mu\text{g/ml}$,Dox-Lipo 的 IC_{50} 則為 $0.13 \mu\text{g/ml}$,微脂粒本身則無抗癌細胞活性。



V. 結論

為研究以穴蝕效應為主之超音波治療法,本整合型計畫之先期研究已建立一套有效誘發及偵測穴蝕效應之系統,並成功發展出微脂體微氣泡之穩定製程。此外,在活體腫瘤功能性影像評估方面,亦已成功建立起微透析探針系統及微光纖系統,可以在原位觀察組織氧濃度及葡萄糖之代謝率。最後, liposomal doxorubicin 之癌症療效亦已初步獲得證實。在未來工作方面,我們將以自製之微脂體為主,結合靶向功能,探討不同材料組成對於穴蝕效應之影響,並進行 *in vitro* 及 *in vivo* 實驗。

參考文獻

- [1] A. V. Zaitsev, N. T. Sanghvi, S. Ikenberry, J. F. Worzalla, R. M. Schultz, and T. D. Self, "High intensity focused ultrasound (HIFU) treatment of human pancreatic cancer," *1996 IEEE Ultrasonics Symposium*, pp.1295-1298.
- [2] S. Umemura, K. Kawabata, K. Sasaki, N. Yumita, K. Umemura, and R. Nishigaki, "Recent advances in sonodynamic approach to cancer therapy," *Ultrasonics*, Vol. 3, No. 3, pp. 187-191, 1996.
- [3] F. Pavanetto, P. Perugini, I. Genta, C. Minoia, A. Ronchi, U. Prati, L. Roveda, and R. Nano, "Boron-loaded liposomes in the treatment of hepatic metastases: preliminary investigation by autoradiography analysis," *Drug Delivery*. Vol. 7, No. 2, pp: 97-103, 2000.
- [4] A. Hayatl, "Development of inherently echogenic liposomes as an ultrasonic contrast agent" *Journal of Pharmaceutical Science*, Vol. 85, No. 5, 1996.
- [5] V. V. Valentini, S. E. Murer, B. J. Kane, M. J. Vonesh, and H. A. Onyuksel, "Antibody conjugation of acoustically reflective liposomes for tissue targeting," *J. Acoust. Soc. Am.*, Vol. 25, No. 9, pp. 16, 1995.
- [6] S. M. Demos, H. A. Onyuksel, B. J. Kane, K. Ramani, A. Nagaraj, and R. Greene, "In vivo targeting of acoustically reflective liposomes for intravascular and transvascular ultrasonic enhancement," *Journal of the American College of Cardiology*, Vol. 33, No. 3, pp. 867-875, 1999.
- [7] New, R. R. C., Ed. *Liposomes: A practical approach*, Oxford University Press: Oxford, U.K., 1990.
- [8] Bangham, A.D.; Standish, M.M.; Weissmann, G. (1965). The action of steroids and streptolysins on the permeability of phospholipid structures to cations. *J. Mol. Biol.* 13:253-259.
- [9] Lurquin, P. F. In *Liposome Technology: Entrapment of Drugs and Other Materials*, Greroriadis, G. Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, 1984; Vol. II, Chapter 8.
- [10] Shum, P.; Kim, J. M.; Thompson, D. H. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2001**, 53, 273-284.
- [11] Lo, L.W., Tsai, P.J., Huang, S.H., Chen, W.Y., Chang, C.H., and Yang, C.S. (2003) "Nanoparticulates *in vivo*" in *New Frontiers in Biomedical Engineering*, Kluwer: New York (In Press).
- [12] Kuo, C.-C., Hsieh, H.-P., Pan, W.-Y., Chen, C.-P., Liou, J.-P., Lee, S.-J., Chang, Y.-L., Chen, L.-T., Chen, C.-T.* and Chang, J.-Y.* BPR0L075, a novel synthetic indole compound with antimitotic activity in human cancer cells, exerts effective antitumoral activity in vivo. *Cancer Res.*, 64:4621-4628, 2004.
- [13] Chen, C.-T., Gan, Y., Au, J.L.-S., and Wientjes, M.G. Androgen-dependent and -independent human prostate xenograft tumors as models for drug activity evaluation. *Cancer Res.*, 58:2777-2783, 1998.