

论 著

磁共振R₂* mapping示踪功能型纳米药物载体在NSCLC裸鼠模型的显像研究*1.南方医科大学深圳医院医学影像中心
(广东 深圳 518133)2.暨南大学附属第一医院医学影像中心
(广东 广州 510630)3.广州市人民医院放射科
(广东 广州 510630)高 鹏¹ 刘于宝¹ 刘灶松³
史长征² 罗良平^{2,*}

【摘要】目的 通过磁共振R₂* mapping技术示踪及动态监测NSCLC裸鼠模型给药后不同时间点R₂*值的变化趋势, 阐明R₂* mapping在评价F/A-PLGA@DOX/SPIO纳米载药体系在肿瘤成像中的应用价值及影像学基础。方法 成功构建NSCLC裸鼠移植瘤模型24只, 随机分为G1、G2两组, 每组12只。分别尾静脉注射单纯SPIO以及F/A-PLGA@DOX/SPIO纳米载药体系, 并采用1.5 T MR和动物专用小鼠线圈对建模成功荷瘤裸鼠皮下移植瘤模型进行R₂*扫描获得肿瘤区域R₂*值。实验结束后全部肿瘤组织及肝脏、脾脏普鲁士蓝染色。结果 G2组每个时间点的R₂*值均高于G1组(P<0.05)。相对于G1组, G2组肿瘤R₂*值在早期上升趋势明显, 且在给药后60h时明显高于G1组(P<0.05)。G1组排泄期较G2组明显提前。普鲁士蓝染色结果显示, G2组肿瘤的蓝色铁沉积高于SPIO组, 而肝脏、脾脏组织的蓝色铁沉积低于G1。结论 R₂*值与肿瘤组织内的SPIO含量存在较高敏感性, R₂* mapping技术提供了一种SPIO的肿瘤示踪成像方法。

【关键词】R₂* mapping; 动态示踪; 超顺磁性氧化铁; 磁共振成像

【中图分类号】R657.3+1; R445.2

【文献标识码】A

【基金项目】国家自然科学基金(81771973)

DOI:10.3969/j.issn.1672-5131.2021.01.002

The Preliminary Application of Functional Drug-Loaded Nanosystem in the Field of NSCLC-bearing Mice with MR R₂* Mapping Technique*GAO Peng¹, LIU Yu-bao¹, LIU Zao-song³, SHI Chang-zheng², LUO Liang-ping^{2,*}.

1.Department of Medical Imaging Center, Shenzhen Hospital of Southern Medical University, Shenzhen 518133, Guangdong Province, China

2.Department of Medical Imaging Center, First Affiliated Hospital of Jinan University, Guangzhou 510630, Guangdong Province, China

3.Department of Radiology, Guangzhou People's Hospital, Guangzhou 510630, Guangdong Province, China

ABSTRACT

Objective MR R₂* mapping is used to trace and dynamically monitor the changing trend of R₂* value of NSCLC-bearing mice at different time points after administration to elucidate the application value and imaging basis of R₂* mapping in the noninvasive evaluation of F/A-PLGA@DOX/SPIO nanosystem in tumor imaging. **Methods** The nude mice A549 subcutaneous transplantation model was built. We selected 24 tumor-bearing mice, dividing them into two groups, with 12 in each group. The two groups were injected with SPIO and F/A-PLGA@DOX/SPIO, respectively. We used GE Healthcare 1.5 T clinical MRI and animal-specific mouse coils to conduct R₂* mapping on the subcutaneously implanted tumor model to obtain the R₂* value of the tumor area. After MR scanning, all their tumor tissue, liver and spleen were removed and Prussian blue stained. **Results** The R₂* value G2 at each time point was higher than G1 (P<0.05). Compared to G1, the R₂* value of tumors of G2 increased significantly at the early stage, the R₂* value was significantly higher than that of G1 at 60 hours (P<0.05). The excretory phase of G1 was significantly earlier than that of the targeted contrast agent group. Prussian blue staining: the blue iron deposit of tumor tissue in G2 was higher than that in G1, while blue iron deposits in liver and spleen tissues were lower than in G1. **Conclusion** R₂* value is highly sensitive to SPIO content in tumor tissue. R₂* imaging sequence provides a imaging method for tumor imaging to trace SPIO.

Keywords: R₂* Mapping; Dynamic Tracing; Superparamagnetic Iron Oxide; Magnetic Resonance Imaging

目前, R₂* mapping技术已经成为一种可靠又无创性评价活体组织内铁含量的有效工具, 它可以敏感地检测到体内铁含量变化所致的局部磁环境的改变。组织内的铁沉积产生的顺磁效应通过缩短T₂*, 从而影响组织的R₂*, 该技术在国外应用已接近成熟。Kuhlpeter等^[1]研究发现R₂* mapping技术具有更强的R2效应, 尤其是用于测量细胞内少量铁沉积时更加突出, 这些发现得到了Bowen等^[2]研究结果的支持。Wang等^[3]应用磁共振跟踪和量化超顺磁性氧化铁(superparamagnetic iron oxide, SPIO)标记的内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)在体外和体内的归巢的研究中发现, R₂*值与组织内载铁细胞数量呈线性相关。R₂* mapping具有较好的组织横向弛豫率, 虽然在探测不同形式的铁方面特异性不强, 但在探测生物组织内铁含量具有极高的敏感性^[4]。此外, R₂* mapping技术不易受到MR设备和操作因素差异的影响^[5]。

本研究选用F/A-PLGA@DOX/SPIO纳米载药体系为暨南大学生命技术科学院自主研发, 已申请研究专利, 首次应用于肿瘤以及动物实验研究, 该纳米体是以高分子聚合物材料聚乳酸-羟基乙酸共聚物(poly lactic-co-glycolic acid, PLGA)为载体, 装载阿霉素(doxorubicin, DOX)以及SPIO, 通过在PLGA表面修饰利用叶酸(folic acid, FA)和可活化细胞穿膜肽(activatable cell penetrating peptide, ACP)作为双重探针, 制备出肿瘤微环境响应和FR-受体介导的双靶向纳米体系。有关该纳米体系的制备、细胞水平上生物活性研究及抗肿瘤活性等研究成果前期已进行报道^[6]。

【第一作者】高 鹏, 男, 主治医师, 主要研究方向: 分子影像学。E-mail: gaopeng984621@163.com

【通讯作者】罗良平, 男, 主任医师, 主要研究方向: 肿瘤分子影像学。E-mail: tluolp@jnu.edu.cn

1 材料与方法

1.1 动物模型的制作 雄性裸鼠24只,由暨南大学实验动物中心提供[动物许可证号:SYXK(粤)2017-0174]。A549细胞在恒定的条件下(37℃, 5%CO₂)培养,隔天更换培养基,待细胞贴壁生长稳定后,PBS清洗后加入胰酶消化,重悬细胞悬液传代培养,待细胞生长至对数生长期,消化收集肿瘤细胞,用预冷PBS稀释调整细胞密度为 3×10^7 个/mL,抽取0.2mL/只的量接种于4~5周龄的BALB/C裸鼠右后肢根部,常规无菌饲养,一周后即可成瘤,肿瘤横径约5~8mm。每天观察裸鼠成瘤情况并记录裸鼠体重及瘤体大小,至肿瘤块长成试验所要求大小。

1.2 试验分组 在非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)皮下移植瘤直径约8~10mm,肿瘤均以实质成分为主,未见明显的囊变坏死区域。NSCLC裸鼠移植瘤模型24只,随机分为G1、G2两组,每组12只。每组进行MR基态扫描,扫描结束后给药。G1组给予单纯SPIO(5mg/kg);G2组给予F/A-PLGA@DOX/SPIO(5mg/kg),所有药造影均采用尾静脉给药。

1.3 MRI检查 采用GE 1.5T超导临床核磁成像系统(SignaHDxt, Milwaukee, WI)和动物专用小鼠线圈。麻醉后将裸鼠固定在专用动物线圈上,将移植瘤的中心定位于线圈及磁体的中央。对全部裸鼠皮下移植瘤模型进行常规MRI检查及R₂*扫描检查,检查时间点取给药前基态(base)和给药后3、12、24、48、60h。各扫描序列及参数:(1)快速自旋回波T₁WI: FSE序列, TR 660.0ms, TE 14.7ms, 矩阵256×192, 层厚2.0mm, 层间距0.2mm, 扫描视野(FOV)5.0cm×5.0cm, 激励次数(NEX)2, 回波链长(ETL)2个, 带宽(bandwidth)10.00kHz, 进行轴位扫描。(2)快速自旋回波T₂WI: FSE序列, TR2620.0ms, TE 80.0ms, 矩阵256×192, 层厚2.0mm, 层间距0.2mm, 扫描视野(FOV)5.0cm×5.0cm, 激励次数(NEX) 2, 带宽(bandwidth)10.00kHz, 回波链长(ETL)为14个, 进行轴位扫描。(3)多次快速梯度回波R₂*序列: TR235ms, TE为44.2~107.7ms(16个TE), 矩阵192×128, 层厚2.0mm, 层间距0.2mm, 扫描视野(FOV)6.0cm×4.8cm, 激励次数(NEX)为1, 带宽(bandwidth)31.25kHz, 翻转角(flip angle)20°。采用CE ADW4.5图像后处理工作站进行,采用Functool软件包测量R₂*值,拟合常规图像与伪彩图,感兴趣区域(ROI)的选取以T₂WI和b=0时的图像为参照,尽量避开明显坏死液化区,同时应避免测及瘤体边缘和伪影干扰区域,ROI包括瘤体面积的80%以上,各时间点所选ROI的层面和位置尽量保持一致,测

量肿瘤相邻的3个层面并取均值。

1.4 病理学检查 MR扫描结束后处死全部裸鼠,取出全部肿瘤组织及肝脏、脾脏,在10%甲醛溶液中固定,常规石蜡包埋、切片,普鲁士蓝染色,染色后的切片通过光学显微镜观察组织病理学变化。

1.5 统计学方法 采用SPSS 18.0统计软件进行分析,G1组与G2组之间采用重复测量资料的方差分析比较不同时间点、对比剂以及两者之间的交互效应对各组R₂*值的显著性。组内不同时间点的数据采用单因素方差分析进行两两比较,采用($\bar{x} \pm s$)来表示,经过F检验,若方差齐采用LSD检测,P<0.05为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 常规MR表现 与基态相比,G2组在给药后的60h内,不同时间点肿瘤大小、体积均未见明显改变。两组裸鼠皮下NSCLC移植瘤信号较均匀,肿瘤均以实质成分为主,未见明显囊变坏死区域,在常规T₁WI呈等信号,T₂WI呈等低信号,中央见少许高信号混杂信号区。

2.2 磁共振R₂*成像结果 采用平行G1组的重复测量试验的方差分析进行组间因素(不同时间点)、组内×组间因素、组间因素差异的统计学检验,统计分析结果显示(表1):各组不同时间点之间R₂*值总体变化具有统计学差异(F=24.411, P=0.000);时间与药物之间不存交互效应(F=1.423, P=0.255);不同时间点组间比较存在显著性差异(F=5.720, P=0.007)。两组不同时间点R₂*值结果,base点两组间比较无统计学差异(P>0.05),其余两组间各时间点R₂*值差异有统计学差异(P<0.05)。裸鼠NSCLC移植瘤T₂WI及R₂*值伪彩图见图1。

2.3 病理学检查 由图2可知,裸鼠肿瘤、肝脏、脾脏组织内可见较多的蓝染颗粒;裸鼠肿瘤普鲁士蓝染色显示肿瘤组织中央区域聚集较多蓝色铁沉积,且越靠外的区域铁沉积越少。F/A-PLGA@DOX/SPIO组肿瘤组织的蓝色铁沉积高于SPIO组,而肝脏、脾脏组织的蓝色铁沉积低于SPIO组。

3 讨论

早期磁共振对于组织及器官内铁沉积的研究,主要集中运用自旋回波序列(Spin echo, SE)T₂*成像技术,T₂*值可以很好地反映组织内磁敏感对组织信号的影响,且采集时间短、呼吸运动伪影较少^[7]。为了方便反映铁含量的大小,引入了R₂*值,计算公式为 $R_2^* = 1000/T_2^*$ 。当组织含铁量增加时,顺磁性的铁化合物会破坏局部磁场的均匀性,导致其周围氢质子的弛豫时间缩短,引起组织的弛豫率R₂(1/T₂)与R₂*(1/T₂*)增加。

表1 各组不同时间点R₂*值比较(×10⁻³mm²/s)

组别	base	给药后时间(h)				
		3	12	24	48	60
G1组	20.07±1.11	21.48±2.00	22.79±1.70	23.40±1.23	23.11±0.76	20.38±2.47
G2组	19.66±2.37	22.96±0.84	24.18±1.05	24.61±1.30	24.21±0.76	23.85±1.35
F	0.275	5.145	4.494	4.811	11.472	4.815
P	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

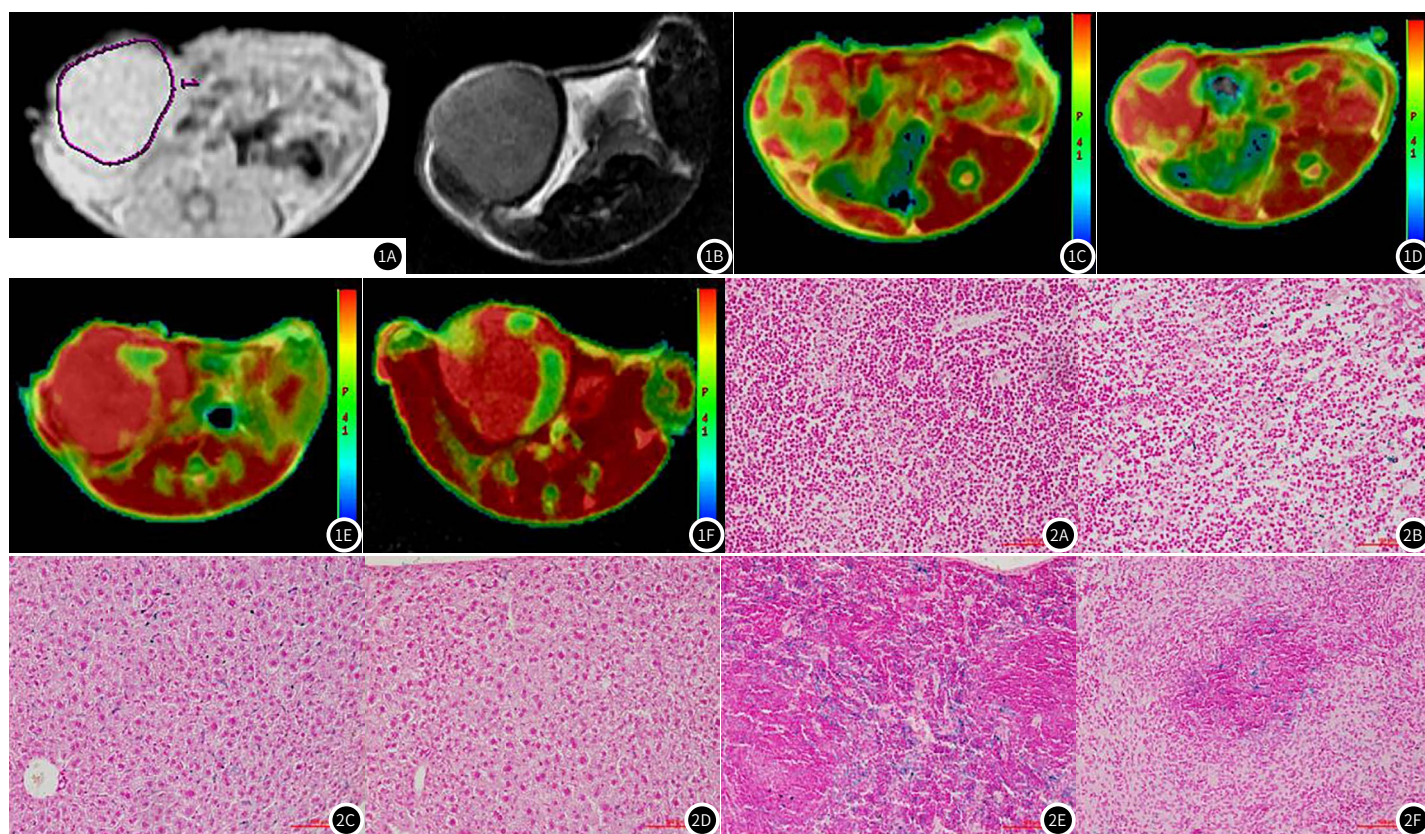


图1 裸鼠NSCLC移植瘤T₁WI及R₂*值伪彩图。1A: 圆圈示测量时ROI的放置位置; 1B: 裸鼠移植瘤常规T₂WI图像; 1C: 基态时, 裸鼠移植瘤R₂*值伪彩图; 1D: 给药后3h, 裸鼠移植瘤R₂*值伪彩图; 1E: 给药后24h, 裸鼠移植瘤R₂*值伪彩图; 1F: 给药后60h, 裸鼠移植瘤R₂*值伪彩图。**图2** 裸鼠病理学图片。2A、2B分别为G1、G2组肿瘤普鲁士蓝染色(×20); 2C、2D分别为G1、G2组肝脏普鲁士蓝染色(×20); 2E、2F分别为G1、G2组脾脏普鲁士蓝染色(×20)。

R₂* mapping成像速度快, 信噪比高, 避免使用对比剂, 因此极大地缩短扫描时间的同时, 可以获得较高的图像质量。基于磁共振R₂* mapping技术可以计算出R₂*值, 已有研究证实组织内的铁含量与R₂*值存在高度的相关性^[8-10]。本研究主要探讨R₂* mapping示踪F/A-PLGA@DOX/SPIO纳米载药体系在NSCLC肿瘤成像中的应用价值及影像学基础。

本研究结果显示, 相对于G1组, G2组在给药后3 h时肿瘤R₂*值上升趋势明显, 且G2组给药后60h时肿瘤R₂*值下降幅度明显低于G1组, 组间比较具有统计学意义(P<0.05)。G1组各时间点R₂*值总体升高幅度较G2组低。单纯SPIO容易被网状内皮细胞系统吞噬, 大部分囤积在肝脏、脾脏等脏器, 部分存留在肿瘤组织, 病理普鲁士蓝染色检查结果与之一致。本研究中, G2组具有FA和ACPP双靶性的优势, 能够有效逃离网状内皮细胞系统的吞噬, 纳米粒子在肿瘤内留置的时间相对更久。DOX经过靶向纳米化修饰后不仅明显提高了肿瘤细胞对药物的吸收效率, 还使靶向纳米化药物F/A-PLGA@DOX/SPIO在正常细胞和肿瘤细胞之间具有选择性, 其主要原因是在A549细胞与正常细胞膜表面FA受体^[11]以及基质金属蛋白酶MMP-2/MMP-9的表达水平不同所致。Ross等^[12]测得卵巢癌、子宫内膜癌、卵巢绒毛膜癌、结肠癌、肾癌、乳腺癌、肺癌等来源于上皮组织的癌组织中叶酸受体亚型(FR-)高度表达, 较正常组织高出100~300倍。FA可以特异性识别恶性肿瘤细胞表面过度表达的FR-^[11,13]。ACPP可以特异性识别在多种恶性肿瘤细胞中显著表达的MMP-2/MMP-9^[14], 从而发挥其细胞穿膜功能。在本研究中, 成功制备了FA和ACPP双靶向纳米体系用于特异性识别A549细胞膜表面过表达的FR-受体及MMP-2/MMP-9, 从

而显著增加纳米体系的主动靶向性, 明显提高了药物的吸收效率。Kuhlpetter等^[1]对人肺癌细胞应用单纯SPIO与受体靶向修饰SPIO两种对比剂对比研究发现, 由于后者具有一定的靶向性特点, 具有更高的R₂*值, 与本研究结果一致。

本研究结果表明, G2组肿瘤在给药24h时R₂*值达到或接近峰值, 明显高于SPIO组。Suzuki等^[15]将针对肿瘤细胞表面抗原的单克隆抗体作为主动靶向工具, 通过静脉注射进入荷瘤裸鼠体内后, 磁性纳米粒子在肿瘤部位蓄积量在24~48h时达到最高, 与本研究结果一致。单纯SPIO组仅依靠肿瘤的高通透性和滞留(EPR)效应, 被动聚集于肿瘤部位, 因此R₂*值相对较低。王庆国等^[16]发现R₂*值与SPIO标记的内皮祖细胞(EPCs)浓度呈线性相关, 磁共振R₂*成像能够定量示踪SPIO标记的EPCs。在体外试验中, Kircher等^[17]发现R₂*值与SPIO标记的细胞数呈明显正相关。以上研究印证了本试验中G2组肿瘤细胞SPIO蓄积相对较多, 导致R₂*值增高的结论。

利用磁共振技术监测组织内磁性纳米粒子沉积的动物试验早有报道, 但多集中在测量T₂信号值。研究表明, 在注射靶向性磁性纳米药物1h后就会产生T₂信号值的降低^[18-20], 本试验中G2组肿瘤R₂*值在早期就有所改变, 呈现上升趋势, 与前期的研究结果相一致。有研究证明, R₂*值可以作为生物标志物对肿瘤血管靶向药物及血管抑制剂(vascular disrupting agents, VDA)疗效进行监测^[21-22], 在注射药物7min后就显示R₂*值有所减低, 在给药后24h时显示明显减低, 表明肿瘤内血红蛋白水平的改变与R₂*值之间敏感性较高, 这也间接印证了本研究结果, R₂*值与肿瘤组织内铁含量的改变极其敏感, 并在早期有所改变。

本研究中,普鲁士蓝染色结果显示,G2组肿瘤组织的阳性染色率明显高于G1组,而肝脏、脾脏组织的阳性染色率明显低于G1组。SPIO是容易被巨噬细胞吞噬或者集中在网状内皮细胞系统而被清除,而本研究合成的纳米体系有效降低网状内皮细胞系统的清除,提高纳米体系在肿瘤组织的蓄积。这主要是因为本研究纳米体系利用PLGA对SPIO进行表面功能化,可以增加对网状内皮细胞系统及巨噬细胞的逃逸能力,提高其在体内的循环时间,此外,FA和ACPP的靶向修饰进一步提高纳米载体的主动识别功能,更加有利于药物在肿瘤内的吸收。本试验应用病理普鲁士蓝染色对纳米体系在裸鼠肿瘤以及各组织器官分布情况进行铁的定性分析,染色结果与 R_2^* 成像结果相互验证。

但本研究也存在一定的局限性:(1)样本量不足,未做到各个影像检查时间点与病理结果平行对照,提高两者之间的相关性;(2)磁共振数据后处理中,ROIs的选取会对测量结果产生一定影响,需要仔细对比解剖图像,多次测量取平均值才能保证数据的相对稳定可靠。如果后处理可以采用自动选择三维全瘤容积数据进行统计分析,避免人为操作产生的误差,能够明显提高定量参数测量的稳定性以及试验的精确性。

综上所述, R_2^* 值与肿瘤组织内的SPIO含量存在较高敏感性, R_2^* mapping技术提供了一种SPIO的肿瘤示踪成像方法。

参考文献

- [1] Kuhlper R, Dahnke H, Matuszewski L, et al. R_2 and R_2^* mapping for sensing cell-bound superparamagnetic nanoparticles: In vitro and murine in vivo testing [J]. *Radiology*, 2007, 245 (2): 449-457.
- [2] Bowen C V, Zhang X W, Saab G, et al. Application of the static dephasing regime theory to superparamagnetic iron-oxide loaded cells [J]. *Magn Reson Med*, 2002, 48 (1): 52-61.
- [3] Wang Q, Li K, Quan Q, et al. R_2^* and R_2 mapping for quantifying recruitment of superparamagnetic iron oxide-tagged endothelial progenitor cells to injured liver: Tracking in vitro and in vivo [J]. *Int J nanomedicine*, 2014, 9: 1815-1822.
- [4] Gotsis E D. The uses and differences of R_2 and R_2^* in the determination of iron overload in iron loaded thalassemia patients [J]. *Hemoglobin*, 2008, 32 (1/2): 75-83.
- [5] Positano V, Salani B, Pepe A, et al. Improved T_2^* assessment in liver iron overload by magnetic resonance imaging [J]. *Mag Reson Imaging*, 2009, 27 (2): 188-197.
- [6] Gao P, Mei C, He L, et al. Designing multifunctional cancer-targeted nanosystem for magnetic resonance molecular imaging-guided theranostics of lung cancer [J]. *Drug Deliv*, 2018, 25 (1): 1811-1825.
- [7] Jensen P D. Evaluation of iron overload [J]. *Br J Haematol*, 2004, 124 (6): 697-711.
- [8] Wood J C, Enriquez C, Ghugre N, et al. MRI R_2 and R_2^* mapping accurately estimates hepatic iron concentration in transfusion-dependent thalassemia and sickle cell disease patients [J]. *Blood*, 2005, 106 (4): 1460-1465.
- [9] Li W, Zhang Z, Gordon A C, et al. SPIO-labeled yttrium microspheres for mr imaging quantification of transcatheter intrahepatic delivery in a rodent model [J]. *Radiology*, 2016, 278 (2): 405-412.
- [10] Idilman I S, Gumruk F, Haliloglu M, et al. The feasibility of magnetic resonance imaging for quantification of liver, pancreas, spleen, vertebral bone marrow, and renal cortex R_2^* and proton density fat fraction in transfusion-related iron overload [J]. *Turk J Hematol*, 2016, 33 (1): 21-27.
- [11] Campbell I G, Jones T A, Foulkes W D, et al. Folate-binding protein is a marker for ovarian cancer [J]. *Cancer Research*, 1991, 51 (19): 5329-5338.
- [12] Ross J F, Chaudhuri P K, Ratnam M. Differential regulation of folate receptor isoforms in normal and malignant tissues in vivo and in established cell lines. Physiologic and clinical implications [J]. *Cancer*, 1994, 73 (9): 2432-2443.
- [13] Franklin W A, Waintrub M, Edwards D, et al. New anti-lung-cancer antibody cluster 12 reacts with human folate receptors present on adenocarcinoma [J]. *International journal of cancer [J]. Supplement*, 1994, 8: 89-95.
- [14] Xia H, Gu G, Hu Q, et al. Activatable cell penetrating peptide-conjugated nanoparticles with enhanced permeability for site-specific targeting delivery of anticancer drug [J]. *Bioconjug Chem*, 2013, 24 (3): 419-430.
- [15] Suzuki A, de la Pompa J L, Stambolic V, et al. High cancer susceptibility and embryonic lethality associated with mutation of the pten tumor suppressor gene in mice [J]. *Curr Biol*, 1998, 8 (21): 1169-1178.
- [16] 王庆国, 严福华, 徐鹏举, 等. 磁共振成像 R_2^* map示踪超顺磁性氧化铁标记的内皮祖细胞 [J]. *中华肝脏病杂志*, 2009, 17 (1): 50-52.
- [17] Kircher M F, Allport J R, Graves E E, et al. In vivo high resolution three-dimensional imaging of antigen-specific cytotoxic t-lymphocyte trafficking to tumors [J]. *Cancer Research*, 2003, 63 (20): 6838-6846.
- [18] Wang Z, Zhu J, Chen Y, et al. Folic acid modified superparamagnetic iron oxide nanocomposites for targeted hepatic carcinoma mr imaging [J]. *Rsc Advances*, 2014, 4 (15): 7483-7490.
- [19] Li J, Zheng L, Cai H, et al. Polyethyleneimine-mediated synthesis of folic acid-targeted iron oxide nanoparticles for in vivo tumor mr imaging [J]. *Biomaterials*, 2013, 34 (33): 8382-8392.
- [20] Liu Y, Yang K, Cheng L, et al. Pegylated FePt@Fe₂O₃ core-shell magnetic nanoparticles: Potential theranostic applications and in vivo toxicity studies [J]. *Nanomedicine*, 2013, 9 (7): 1077-1088.
- [21] McPhail L D, Griffiths J R, Robinson S P. Assessment of tumor response to the vascular disrupting agents 5, 6-dimethylxanthenone-4-acetic acid or combretastatin-a4-phosphate by intrinsic susceptibility magnetic resonance imaging [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2007, 69 (4): 1238-1245.
- [22] Robinson S P, Kalber T L, Howe F A, et al. Acute tumor response to ZD6126 assessed by intrinsic susceptibility magnetic resonance imaging [J]. *Neoplasia*, 2005, 7 (5): 466-474.