

·综述·

谐波造影增强超声内镜在胰腺疾病应用中的研究进展

冉桃菁 周春华 张玲 张敏敏 邹多武

上海交通大学医学院附属瑞金医院消化内科, 上海 200025

通信作者: 邹多武, Email: zdw_pi@163.com

【提要】 胰腺病变近年来的检出率逐年上升,不同类型的胰腺病灶以及良恶性的鉴别诊断对胰腺疾病的治疗及预后有着重要意义,谐波造影增强超声内镜利用其优良的空间辨识度以及良好的微血管显像技术,对胰腺病灶的诊断起到重要的指导作用。本文就谐波造影增强超声内镜下在胰腺疾病鉴别诊断和预测病灶良恶性方面的最新进展做一综述。

【关键词】 胰腺疾病; 诊断,鉴别; 谐波造影增强; 超声内镜

基金项目: 国家自然科学基金(81670485, 81800570, 81970480, 82170559, 82100538)

Application advances of contrast-enhanced harmonic endoscopic ultrasonography in pancreatic diseases

Ran Taojing, Zhou Chunhua, Zhang Ling, Zhang Minmin, Zou Duowu

Department of Gastroenterology, Ruijin Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China

Corresponding author: Zou Duowu, Email: zdw_pi@163.com

随着人们对胰腺疾病的认识逐渐加深以及影像学、内镜技术的发展,胰腺占位性病临床检出率逐年上升。如何及时对胰腺病变进行定性诊断,对治疗和预后具有重要意义。超声内镜检查术(endoscopic ultrasonography, EUS)凭借良好的空间分辨率,被认为是诊断胰腺疾病最可靠和有效的方式之一。在此基础上发展的谐波造影增强超声内镜(contrast-enhanced harmonic EUS, CEH-EUS)利用第二代微气泡造影剂,即使在低流速血流下亦可观察病灶实质灌注及微血管结构,降低因组织运动而产生的伪影,并可更精确地显示病灶轮廓和血供特征。2008年 Kitano 等^[1]首先使用超声内镜和第二代造影剂,将谐波造影增强技术应用于胰腺疾病的诊断,在胰胆管癌、胰腺癌淋巴结转移等疾病的诊疗过程中观察到明显优于 CT 和多普勒对比增强超声内镜(contrast-enhanced doppler EUS, CED-EUS)的成像效果。本文就 CEH-EUS 在不同类型胰腺病变的鉴别诊断,以及其他相关的最新应用进行综述。

一、CEH-EUS 在胰腺实性占位中的应用

胰腺实性病分为肿瘤性病变和非肿瘤性病变。典型的肿瘤性病变包括胰腺癌、神经内分泌肿瘤(neuroendocrine tumor, NET)、实性假乳头状肿瘤(solid

pseudopapillary neoplasm of the pancreas, SPN)和胰腺转移瘤等,分别占胰腺病变的 85%~90%^[2]、1%~5%^[3]、2%~3%^[4]和 1%~2%^[5]。非肿瘤性病变包括肿块型慢性胰腺炎和自身免疫性胰腺炎(autoimmune pancreatitis, AIP),发病率也逐年提高。胰腺癌由于肿瘤间质存在结缔组织增生,在 CEH-EUS 中常常呈现为低强化病灶,而大多数炎性病变(肿块型慢性胰腺炎或 AIP)在 CEH-EUS 中一般呈现为等强化病灶,NET 和胰腺转移瘤则呈现为高强化病灶。

1. 胰腺癌: 超过 80% 的胰腺癌患者在确诊时存在局部进展或全身转移,失去手术根治性切除机会。因此,如何早期诊断胰腺癌具有重要意义。最近一项回顾性研究发现 CEH-EUS 对直径 11~20 mm 的胰腺癌病灶诊断敏感度、特异度和准确率分别为 95%、83% 和 94%;对直径 ≤10 mm 的胰腺癌病灶诊断敏感度、特异度和准确率分别为 70%、100% 和 77%;CEH-EUS 的诊断能力(94%)明显优于多排螺旋 CT(79%, $P=0.02$)和 MRI(68%, $P=0.007$)^[6]。

如何有效鉴别胰腺癌与其他胰腺实性占位是目前影像学技术面临的重大挑战。一项大样本量($n=277$)的前瞻性研究发现 CEH-EUS 下胰腺癌主要表现为低强化病灶,根据这一现象诊断胰腺癌的敏感度为 95.1%,特异度为 89.0%;

DOI: 10.3760/cma.j.cn321463-20210312-00703

收稿日期 2021-03-12 本文编辑 朱悦

引用本文: 冉桃菁, 周春华, 张玲, 等. 谐波造影增强超声内镜在胰腺疾病应用中的研究进展[J]. 中华消化内镜杂志, 2022, 39(8): 665-668. DOI: 10.3760/cma.j.cn321463-20210312-00703.



CEH-EUS 表现为高强化病灶诊断 NET 的敏感度和特异度分别为 78.9% 和 98.7%; 在 12 例多排螺旋 CT 未检出的病灶中, 7 例导管腺癌和 2 例 NET 在 CEH-EUS 下分别表现为与周围组织明显不同的低强化和高强化信号; 而 CEH-EUS 诊断直径 < 2 cm 胰腺肿瘤病灶的敏感度为 91.2%, 特异度为 94.4%^[7]。2017 年一项纳入了 18 项临床研究共计 1 668 例患者的荟萃分析表明, CEH-EUS 鉴别胰腺癌与炎性肿块的综合敏感度为 93%, 特异度为 88%, 说明 CEH-EUS 可有效鉴别胰腺癌与胰腺炎性肿块^[8]。另有研究发现, 胰腺癌的造影剂摄取指数比(肿块内部与周围实质造影剂摄取值的比率)明显低于慢性胰腺炎, 以 0.17 作为诊断胰腺癌的截断值, 受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线下面积(area under the curve, AUC)为 0.86 (95%CI: 0.67~1.00), 敏感度为 80%, 特异度为 91.7%, 阳性预测值为 92.8%, 阴性预测值为 78%^[9]。在行化疗的胰腺癌患者中, 使用 CEH-EUS 进行随访, 发现 77.8% 的化疗“明显应答者”出现无血管区, 对化疗“无反应者”中仅 28.6% 出现无血管区, 两者差异有统计学意义($P=0.036$); 且化疗后 CEH-EUS 检测出病灶存在“无血管区”的患者平均生存期较长(45.6 个月比 12.1 个月)^[10]。

CEH-EUS 的时间强度曲线(time-intensity curve, TIC)可以对胰腺占位进行定量判断。基于 TIC 的相关参数分析提示, 胰腺癌在造影开始 1 min 时峰值的回声强度递减速率明显大于肿块型胰腺炎、AIP 和 NET ($P<0.05$), CEH-EUS 联合 TIC 可使诊断的敏感度、特异度和准确率分别提高至 95.8%、92.6% 和 94.7%^[11]。最近的一项前瞻性串联对照研究通过对 TIC 参数分析, 发现不同病灶的相对增强峰和斜率有明显差异: 胰腺癌为低相对增强峰、低斜率, 慢性胰腺炎病灶则为正常相对增强峰、低斜率^[12]。一项来自欧洲的多中心前瞻性研究通过动态记录并分析造影剂在病灶区域的灌注和清除情况, 发现胰腺癌与慢性胰腺炎的强化峰值 ($P<0.0001$)、流入相比率 ($P=0.0008$)、流入相灌注指数 ($P=0.0027$)、流入相曲线下面积 ($P=0.0009$) 等参数比较差异有统计学意义。Săftoiu 等^[13]利用神经网络对上述 TIC 参数进行分析训练, 其诊断胰腺癌的敏感度为 94.64%, 特异度为 94.44%, 阳性预测值为 97.24%, 阴性预测值为 89.47%。

2.NET: NET 占有胰腺实体瘤的 5%~10%, 为富血供病变, 在 CEH-EUS 中可与其他胰腺实性肿块相鉴别。研究发现, NET 在 CEH-EUS 中呈现等强化或强化的概率为 95%~100%^[14]。2010 年 Ishikawa 等^[15]首先将 CEH-EUS 用于 NET 的良恶性鉴别, 多因素 Logistic 回归分析显示, CEH-EUS 下回声增强改变不均匀为恶性 NET 的最显著特征 ($OR=53.33$, 95%CI: 10.79~263.58), 对恶性病变诊断的敏感度、特异度和准确率可达到 90.5%、90.0% 和 90.2%。另一项研究发现, Ki-67 增殖指数 > 2% 和 CEH-EUS 中病灶不均匀强化与肿瘤侵袭性显著相关 (OR 值分别为 17.8 和 62.0), 与非侵袭性病灶相比, 侵袭性 NET 内部微血管密度较低 (162 条/mm² 比 262 条/mm², $P<0.05$), 纤维化成分较多 (43%

比 20%, $P<0.01$), 提示 CEH-EUS 下病灶的强化特点与肿瘤的侵袭性相关^[16]。基于 CEH-EUS 的 TIC 参数定量分析提示, NET 表现为高相对增强峰和正常斜率^[12]。另有研究表明 TIC 参数中的回声强度变化、强化下降率和结节/胰腺实质强化比率鉴别诊断 G1/G2 组和 G3/NEC 组的准确率分别为 96.7%、100%、100%; 在非侵袭组和侵袭组中, 上述 3 个参数诊断准确率分别为 86.7%、86.7% 和 88.5%, 这些均提示 CEH-EUS 的 TIC 参数分析对胰腺 NET 的分期诊断有较高的指导作用^[17]。

3.AIP: AIP 是一种特殊类型的慢性胰腺炎。以往 30% 的 AIP 患者如果不进行类固醇试验、活检或手术切除, 则无法明确诊断, 且局灶性 AIP 常在术前被误诊为胰腺癌。超过 90% 的 AIP 患者在 CEH-EUS 中呈现等强化或高强化^[14]。一项前瞻性研究发现 AIP 病灶在动脉期呈现高强化 (AIP 89%, 胰腺癌 13%, $P<0.05$), 均匀强化 (AIP 81%, 胰腺癌 17%, $P<0.05$), 无不规则血管 (AIP 85%, 胰腺癌 30%, $P<0.05$); CEH-EUS 下病灶强化特点及血供表现可提高 AIP 与胰腺癌鉴别的特异度 (94%)^[18]。通过对 CEH-EUS 的 TIC 数据进行分析, 发现 AIP 组肿块的峰值强度和最大强化程度明显高于胰腺癌组 (21.4 dB 比 9.6 dB, $P<0.001$; 17.5 dB 比 6.6 dB, $P<0.001$); 根据 ROC 曲线, 鉴别 AIP 和胰腺癌的最大强化程度的最佳截断值为 12.5, 具有较高的敏感度和特异度^[19]。

二、CEH-EUS 在胰腺囊性病变中的应用

胰腺囊性病变主要包括导管内乳头状黏液性肿瘤 (intraductal papillary mucinous neoplasms, IPMN)、浆液性囊性肿瘤 (serous cystic neoplasms, SCN)、黏液性囊性肿瘤 (mucinous cystic neoplasms, MCN) 和假性囊肿等。附壁结节多见于 MCN 和 IPMN 等黏液性囊肿, 在 SCN 中罕见。鉴别胰腺囊肿类型并区分良恶性, 对指导后续治疗至关重要。CEH-EUS 可通过评估囊壁、囊间隔或壁结节的血供情况, 区分强化的壁结节和无强化的黏液块, 协助胰腺囊性病变的诊断^[20-21]。绝大多数浆液性和黏液性囊腺瘤的囊壁在 CEH-EUS 中呈高强化, 两者之间差异无统计学意义 (86% 比 89%), 90% 的假性囊肿表现为低强化^[22]。附壁结节的存在使胰腺囊性病变发生高度不典型增生或浸润性癌的总体风险提升 4~6 倍。早在 2013 年, Yamashita 等^[23]就发现 CEH-EUS 检出 IPMN 壁结节的敏感度、特异度和准确率分别为 100%、80% 和 92%。相关的回顾性研究发现, 相比普通超声内镜检查 (fundamental B-mode endoscopic ultrasonography, FB-EUS), CEH-EUS 在胰腺囊性病变中对壁结节的诊断准确率明显提高 (84% 比 64%, $P=0.0001$); 若通过评估壁结节高度来判断胰腺囊性病变恶性程度, 高度 > 4 mm 考虑为恶性病变时, FB-EUS 和 CEH-EUS 的 AUC 分别为 84% 和 93% ($P=0.028$)^[20]。针对侵袭性和非侵袭性 IPMN 的鉴别诊断, 研究发现 CEH-EUS 中高度不典型增生和浸润性癌组的壁结节回声强度变化率、回声强度减少率、结节/胰腺实质对比度等数值明显高于低度不典型增生和中度不典型增生组 ($P<0.05$), 诊断准确率分别为 80%、86.7%、

93.3%。高度不典型增生和浸润性癌组壁结节内微血管密度明显高于对照组($P=0.002$),壁结节回声强度变化与微血管密度显著正相关($r=0.803, P<0.001$)^[24]。CEH-EUS 诊断混合型 IPMN 的敏感度、特异度和准确率分别为 83.5%、87.0% 和 84.9%^[25]。此外,有研究发现 EUS 联合 CEH-EUS 可成功检测出 IPMN 术后残余胰腺新生的壁结节或胰腺导管癌,因此建议在 IPMN 术后随访中当 CT 或 EUS 提示异常改变或肿瘤标志物升高时,需联合 CEH-EUS 以明确诊断^[26]。

三、CEH-EUS 在胰腺疾病中的其他应用

1. CEH-EUS 联合超声内镜引导下细针抽吸术(EUS-guided fine-needle aspiration, EUS-FNA)在胰腺占位性病变中的诊断作用:EUS-FNA 可以实现胰腺病变组织学、细胞学的病理学诊断,为诊断的金标准。但 EUS-FNA 存在采样误差、侵入性操作、假阴性等缺陷。一项研究提示在 CEH-EUS 探测到的无血流灌注区内行 EUS-FNA,诊断敏感度为 72.9% (35/48),而在有血流灌注区诊断敏感度为 94.3% (230/244),差异有统计学意义($P<0.001$),说明 EUS-FNA 可避开 CEH-EUS 探测的无血流灌注区从而提高准确性^[27]。大量研究表明,CEH-EUS 可提高 EUS-FNA 假阴性的胰腺癌的检出率,CEH-EUS 和 EUS-FNA 联合使用将 EUS-FNA 对胰腺癌的诊断敏感度从 92% 提高到 100%^[7],因此在 EUS-FNA 结果为阴性的情况下,可考虑行 CEH-EUS 有助于明确诊断。一项随机对照研究显示,在 CEH-EUS 引导下的 FNA 组一次性充分采样率可达到 60% (12/20),而常规 EUS-FNA 组为 25% (5/20),两组间差异有统计学意义($P=0.027$)^[28]。另一项前瞻性队列研究也发现 CEH-EUS-FNA 的充分采样率和敏感度显著高于 EUS-FNA (84.9% 比 68.8%, $P=0.003$; 76.5% 比 58.8%, $P=0.011$)^[29]。

因此 CEH-EUS 有助于提高 EUS-FNA 的有效性,CEH-EUS 的实时微循环成像可以避免穿刺至坏死或纤维化(无信号)区域而导致的假阴性结果,同时较高的采样率可减少采样次数,理论上可降低出血等并发症的风险。

2. 评估转移:胰腺癌的肝左叶转移率为 27.2%,最近的研究表明 CEH-EUS 诊断肝脏转移的准确率为 98.4%,尤其对于直径<10 mm 小转移灶,CEH-EUS 检出的敏感度明显高于增强 CT (88.9% 比 11.1%, $P<0.001$) 和 EUS (30.6% 比 11.1%, $P<0.001$);且仅有 CEH-EUS 发现了 2.1% 的患者中存在左肝单个远处转移,从而更精确地评估了肿瘤分期,改变了临床决策^[30]。83% 的恶性淋巴结在 CEH-EUS 中表现为不均匀强化,91% 的良性淋巴结为均匀强化,二者差异有统计学意义($P<0.01$)。CEH-EUS 鉴别良、恶性淋巴结的敏感度、特异度和准确率分别为 83%、91% 和 88%。因此对于那些难以进行 EUS-FNA 的深部组织出现的淋巴结,CEH-EUS 可用于良恶性的鉴别诊断^[31]。

3. CEH-EUS 的治疗潜能:CEH-EUS 使用的微泡造影剂还可用于药物和基因靶向治疗。全氟化碳填充的微泡造影剂性质稳定,可充当相关生物制剂的载体,在血液系统中循

环至目标位置。生物活性物质(基因、药物、蛋白质等)可以负载于微泡表面或内部,利用高超声能量破坏微泡,可使负载的生物活性物质被释放。高能超声可提高邻近区域的毛细血管及细胞膜通透性,促进生物制剂向组织和细胞渗透^[32]。Tinkov 等^[33]最早在胰腺癌大鼠模型中注射阿霉素负载的磷脂微泡制剂,发现微泡组肿瘤组织中的阿霉素浓度较对照组增加 12 倍,肿瘤生长明显被抑制,表明药物负载的微泡造影剂可增强局部药物浓度,抑制肿瘤生长。2013 年 Kotopoulos 等^[34]进行了首例微泡造影剂介导药物治疗的临床研究,接受微泡造影剂介导吉西他滨治疗的患者与接受常规吉西他滨治疗的患者相比,中位生存期从 8.9 个月提高到 17.6 个月($P=0.011$),显著提高了胰腺癌患者的生存率。与常规的全身化疗相比,带有治疗药物的微泡造影剂协助下的化疗可将超声场聚焦于目标组织和器官,不仅可提高药物的靶向性和治疗效率,而且还可减少化疗副作用,在肿瘤治疗中发挥更多功能^[35]。但上述研究仍然需要大量动物实验和临床研究对可靠性和安全性进行评估,且微泡造影剂对肿瘤组织的靶向性尚待进一步探讨。

四、小结

随着微泡造影剂的发展和超声内镜设备的改进,CEH-EUS 下胰腺实质微血管实时成像技术在胰腺占位性病变的诊疗中发挥了重要作用。凭借良好的空间分辨率,越来越多的临床研究显示 CEH-EUS 在微血管结构动态显像、胰腺疾病鉴别诊断、辅助 EUS-FNA 准确性、完善胰腺肿瘤分期等方面比常规 EUS、MRI、CT 具有明显优势。CEH-EUS 在肿瘤化疗后协助疗效评估、胰腺术后随访以及基因和药物靶向治疗等领域的新进展,预示其更为广阔的临床应用前景。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Kitano M, Sakamoto H, Matsui U, et al. A novel perfusion imaging technique of the pancreas: contrast-enhanced harmonic EUS (with video) [J]. *Gastrointest Endosc*, 2008, 67(1):141-150. DOI: 10.1016/j.gie.2007.07.045.
- [2] Abreu FB, Liu X, Tsongalis GJ. miRNA analysis in pancreatic cancer: the Dartmouth experience [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2017, 55(5):755-762. DOI: 10.1515/cclm-2017-0046.
- [3] Bilimoria KY, Tomlinson JS, Merkow RP, et al. Clinicopathologic features and treatment trends of pancreatic neuroendocrine tumors: analysis of 9, 821 patients [J]. *J Gastrointest Surg*, 2007, 11(11):1460-1467; discussion 1467-1469. DOI: 10.1007/s11605-007-0263-3.
- [4] Dinarvand P, Lai J. Solid pseudopapillary neoplasm of the pancreas: a rare entity with unique features [J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2017, 141(7): 990-995. DOI: 10.5858/arpa.2016-0322-RS.
- [5] Reddy S, Wolfgang CL. The role of surgery in the management of isolated metastases to the pancreas [J]. *Lancet Oncol*, 2009, 10(3):287-293. DOI: 10.1016/S1470-2045(09)70065-8.
- [6] Yamashita Y, Tanioka K, Kawaji Y, et al. Utility of contrast-enhanced harmonic endoscopic ultrasonography for early diagnosis of small pancreatic cancer [J]. *Diagnostics (Basel)*,

- 2020,10(1):23. DOI: 10.3390/diagnostics10010023.
- [7] Kitano M, Kudo M, Yamao K, et al. Characterization of small solid tumors in the pancreas: the value of contrast-enhanced harmonic endoscopic ultrasonography[J]. *Am J Gastroenterol*, 2012,107(2):303-310. DOI: 10.1038/ajg.2011.354.
 - [8] He XK, Ding Y, Sun LM. Contrast - enhanced endoscopic ultrasound for differential diagnosis of pancreatic cancer: an updated meta-analysis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(39): 66392 - 66401. DOI: 10.18632/oncotarget.18915.
 - [9] Seicean A, Badea R, Stan-Iuga R, et al. Quantitative contrast-enhanced harmonic endoscopic ultrasonography for the discrimination of solid pancreatic masses[J]. *Ultraschall Med*, 2010,31(6):571-576. DOI: 10.1055/s-0029-1245833.
 - [10] Tanaka H, Kamata K, Takenaka M, et al. Contrast-enhanced harmonic endoscopic ultrasonography for evaluating the response to chemotherapy in pancreatic cancer[J]. *Dig Liver Dis*, 2019,51(8):1130-1134. DOI: 10.1016/j.dld.2019.03.015.
 - [11] Matsubara H, Itoh A, Kawashima H, et al. Dynamic quantitative evaluation of contrast-enhanced endoscopic ultrasonography in the diagnosis of pancreatic diseases[J]. *Pancreas*, 2011,40(7):1073-1079. DOI: 10.1097/MPA.0b013e31821f57b7.
 - [12] Buxbaum J, Ko C, Varghese N, et al. Qualitative and quantitative contrast-enhanced endoscopic ultrasound improves evaluation of focal pancreatic lesions[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2020,18(4):917-925.e4. DOI: 10.1016/j.cgh.2019.08.054.
 - [13] Săftoiu A, Vilmann P, Dietrich CF, et al. Quantitative contrast-enhanced harmonic EUS in differential diagnosis of focal pancreatic masses (with videos)[J]. *Gastrointest Endosc*, 2015, 82(1):59-69. DOI: 10.1016/j.gie.2014.11.040.
 - [14] Yamashita Y, Kato J, Ueda K, et al. Contrast-enhanced endoscopic ultrasonography for pancreatic tumors[J]. *Biomed Res Int*, 2015,2015:491782. DOI: 10.1155/2015/491782.
 - [15] Ishikawa T, Itoh A, Kawashima H, et al. Usefulness of EUS combined with contrast-enhancement in the differential diagnosis of malignant versus benign and preoperative localization of pancreatic endocrine tumors[J]. *Gastrointest Endosc*, 2010,71(6):951-959. DOI: 10.1016/j.gie.2009.12.023.
 - [16] Palazzo M, Napoléon B, Gincul R, et al. Contrast harmonic EUS for the prediction of pancreatic neuroendocrine tumor aggressiveness (with videos) [J]. *Gastrointest Endosc*, 2018, 87(6):1481-1488. DOI: 10.1016/j.gie.2017.12.033.
 - [17] Takada S, Kato H, Saragai Y, et al. Contrast-enhanced harmonic endoscopic ultrasound using time-intensity curve analysis predicts pathological grade of pancreatic neuroendocrine neoplasm[J]. *J Med Ultrason* (2001), 2019, 46(4):449-458. DOI: 10.1007/s10396-019-00967-x.
 - [18] Cho MK, Moon SH, Song TJ, et al. Contrast-enhanced endoscopic ultrasound for differentially diagnosing autoimmune pancreatitis and pancreatic cancer[J]. *Gut Liver*, 2018,12(5):591-596. DOI: 10.5009/gnl17391.
 - [19] Imazu H, Kanazawa K, Mori N, et al. Novel quantitative perfusion analysis with contrast-enhanced harmonic EUS for differentiation of autoimmune pancreatitis from pancreatic carcinoma[J]. *Scand J Gastroenterol*, 2012, 47(7): 853 - 860. DOI: 10.3109/00365521.2012.679686.
 - [20] Kamata K, Kitano M, Omoto S, et al. Contrast-enhanced harmonic endoscopic ultrasonography for differential diagnosis of pancreatic cysts[J]. *Endoscopy*, 2016,48(1):35-41. DOI: 10.1055/s-0034-1393564.
 - [21] Kamata K, Kitano M. Endoscopic diagnosis of cystic lesions of the pancreas[J]. *Dig Endosc*, 2019,31(1):5-15. DOI: 10.1111/den.13257.
 - [22] Fusaroli P, Serrani M, De Giorgio R, et al. Contrast harmonic-endoscopic ultrasound is useful to identify neoplastic features of pancreatic cysts (with videos)[J]. *Pancreas*, 2016,45(2):265-268. DOI: 10.1097/MPA.0000000000000441.
 - [23] Yamashita Y, Ueda K, Itonaga M, et al. Usefulness of contrast-enhanced endoscopic sonography for discriminating mural nodules from mucous clots in intraductal papillary mucinous neoplasms: a single-center prospective study[J]. *J Ultrasound Med*, 2013,32(1):61-68. DOI: 10.7863/jum.2013.32.1.61.
 - [24] Yamamoto N, Kato H, Tomoda T, et al. Contrast-enhanced harmonic endoscopic ultrasonography with time-intensity curve analysis for intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas[J]. *Endoscopy*, 2016,48(1):26-34. DOI: 10.1055/s-0034-1393563.
 - [25] Ohno E, Kawashima H, Ishikawa T, et al. Can contrast-enhanced harmonic endoscopic ultrasonography accurately diagnose main pancreatic duct involvement in intraductal papillary mucinous neoplasms? [J]. *Pancreatol*, 2020,20(5): 887-894. DOI: 10.1016/j.pan.2020.06.004.
 - [26] Kamata K, Takenaka M, Minaga K, et al. Value of additional endoscopic ultrasonography for surveillance after surgical removal of intraductal papillary mucinous neoplasms[J]. *Dig Endosc*, 2018,30(5):659-666. DOI: 10.1111/den.13176.
 - [27] Kamata K, Takenaka M, Omoto S, et al. Impact of avascular areas, as measured by contrast-enhanced harmonic EUS, on the accuracy of FNA for pancreatic adenocarcinoma[J]. *Gastrointest Endosc*, 2018, 87(1): 158 - 163. DOI: 10.1016/j.gie.2017.05.052.
 - [28] Sugimoto M, Takagi T, Hikichi T, et al. Conventional versus contrast-enhanced harmonic endoscopic ultrasonography-guided fine-needle aspiration for diagnosis of solid pancreatic lesions: a prospective randomized trial[J]. *Pancreatol*, 2015, 15(5):538-541. DOI: 10.1016/j.pan.2015.06.005.
 - [29] Itonaga M, Kitano M, Kojima F, et al. The usefulness of EUS-FNA with contrast-enhanced harmonic imaging of solid pancreatic lesions: a prospective study[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2020,35(12):2273-2280. DOI: 10.1111/jgh.15144.
 - [30] Minaga K, Kitano M, Nakai A, et al. Improved detection of liver metastasis using Kupffer-phase imaging in contrast-enhanced harmonic EUS in patients with pancreatic cancer (with video) [J]. *Gastrointest Endosc*, 2021, 93(2): 433 - 441. DOI: 10.1016/j.gie.2020.06.051.
 - [31] Miyata T, Kitano M, Omoto S, et al. Contrast-enhanced harmonic endoscopic ultrasonography for assessment of lymph node metastases in pancreaticobiliary carcinoma[J]. *World J Gastroenterol*, 2016,22(12):3381-3391. DOI: 10.3748/wjg.v22.i12.3381.
 - [32] Omata D, Maruyama T, Unga J, et al. Effects of encapsulated gas on stability of lipid-based microbubbles and ultrasound-triggered drug delivery[J]. *J Control Release*, 2019,311-312: 65-73. DOI: 10.1016/j.jconrel.2019.08.023.
 - [33] Tinkov S, Coester C, Serba S, et al. New doxorubicin-loaded phospholipid microbubbles for targeted tumor therapy: in-vivo characterization[J]. *J Control Release*, 2010,148(3):368-372. DOI: 10.1016/j.jconrel.2010.09.004.
 - [34] Kotopoulos S, Dimcevski 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):072902. DOI: 10.1118/1.4808149.
 - [35] Mullick Chowdhury S, Lee T, Willmann JK. Ultrasound-guided drug delivery in cancer[J]. *Ultrasonography*, 2017, 36(3):171-184. DOI: 10.14366/usg.17021.