

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2018 年 2 月 1 日 (01.02.2018)



(10) 国际公布号
WO 2018/018725 A1

- (51) 国际专利分类号:
A61N 7/02 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2016/099266
- (22) 国际申请日: 2016 年 9 月 19 日 (19.09.2016)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
201610590957.5 2016 年 7 月 25 日 (25.07.2016) CN
- (71) 申请人: 西安交通大学 (XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国陕西省西安市咸宁西路 28 号, Shaanxi 710049 (CN)。
- (72) 发明人: 陆明珠 (LU, Mingzhu); 中国陕西省西安市咸宁西路 28 号, Shaanxi 710049 (CN)。王睿 (WANG, Rui); 中国陕西省西安市咸宁西路 28 号, Shaanxi 710049 (CN)。关宇波 (GUAN, Yubo); 中

国陕西省西安市咸宁西路 28 号, Shaanxi 710049 (CN)。李玉娇 (LI, Yujiao); 中国陕西省西安市咸宁西路 28 号, Shaanxi 710049 (CN)。黄伟骏 (HUANG, Weijun); 中国陕西省西安市咸宁西路 28 号, Shaanxi 710049 (CN)。马凤超 (MA, Fengchao); 中国陕西省西安市咸宁西路 28 号, Shaanxi 710049 (CN)。张灵璐 (ZHANG, Linglu); 中国陕西省西安市咸宁西路 28 号, Shaanxi 710049 (CN)。万明习 (WAN, Mingxi); 中国陕西省西安市咸宁西路 28 号, Shaanxi 710049 (CN)。

(74) 代理人: 西安通大专利代理有限公司 (XI'AN TONG DA PATENT AGENCY CO., LTD.); 中国陕西省西安市咸宁西路 28 号, Shaanxi 710049 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU,

(54) Title: TWO-STAGE HUNDRED-MICROSECOND PULSE FOCUSED ULTRASOUND TISSUE DESTRUCTION METHOD

(54) 发明名称: 两阶段百微秒脉冲聚焦超声组织毁损方法

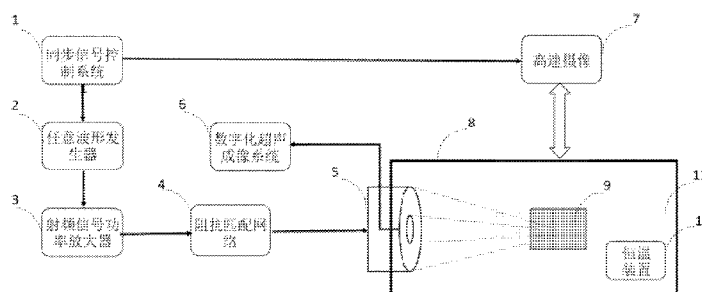


图 1

- 1 SYNCHRONOUS SIGNAL CONTROL SYSTEM
2 RANDOM WAVEFORM GENERATOR
3 RF SIGNAL POWER AMPLIFIER
4 IMPEDANCE MATCHING NETWORK
6 DIGITAL ULTRASOUND IMAGING SYSTEM
7 HIGH-SPEED CAMERA
10 THERMOSTAT

(57) Abstract: A two-stage hundred-microsecond pulse focused ultrasound tissue destruction method, comprising: 1) positioning a target tissue of a sample (9) by using a monitoring guidance system, and adjusting a position of the target tissue to a focal point of an HIFU transducer (5); 2) a first stage destruction: forming loose local tissue structures by means of a shock wave excited by a hundred-microsecond pulse focused ultrasound, as well as boiling air bubbles and inertial cavitation generated thereby; 3) a second stage destruction: further mechanically crushing and homogenizing the tissues in a damaged area by means of a pulse focused ultrasound having a hundred-microsecond length, so as to achieve tissue destruction. The method takes full advantage of the following features: a pulse having a relatively high duty cycle exhibits both thermal and mechanical effects, while a pulse having a low duty cycle exhibits good mechanical effects. By controlling a high-intensity ultrasound sequence in which two stages are generated consecutively, a single pulse of which lasts one hundred microseconds, and which has a pulse having a relatively high duty cycle and a low duty ratio to act

CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告 (条约第21条(3))。

on a target tissue, highly efficient tissue destruction may be achieved.

(57) 摘要: 一种两阶段百微秒脉冲聚焦超声组织毁损方法, 包括: 1)采用监控引导系统对样品(9)靶组织进行定位, 并调节靶组织的位置至HIFU换能器(5)的焦点; 2)第一阶段毁损: 利用百微秒长度脉冲聚焦超声波激励的冲击波及其所产生的沸腾气泡和惯性空化以形成松散的局部组织结构; 3)第二阶段毁损: 利用百微秒长度脉冲聚焦超声波进一步的机械粉碎和均匀化损伤区域的组织, 实现组织毁损。该方法充分利用了相对较高占空比脉冲兼顾热效应和机械效应, 低占空比脉冲具有良好的机械效应的特点。通过控制先后产生两阶段的单个脉冲持续时间百微秒的相对较高占空比与低占空的脉冲高强度超声序列作用于靶组织, 实现对组织的高效毁损。

两阶段百微秒脉冲聚焦超声组织毁损方法

技术领域

本发明属于超声技术领域，涉及一种两阶段百微秒脉冲聚焦超声组织毁损方法。

5 背景技术

组织毁损（Histotripsy）是一种非侵入且可控的组织消融方法，它通过从体外聚焦到靶区的脉冲超声波对软组织进行受控地损毁和均匀化，而不会伤害临近的组织，目前在婴儿心脏病，前列腺病变的治疗，肿瘤的消融，血栓的治疗等方面都有所应用。组织毁损技术属于高强度聚焦超声（High Intensity Focused Ultrasound, HIFU），主要利用的是高强度聚焦脉冲超声作用于组织和细胞的机械效应，已经成为了一个国际前沿研究热点。

在高强度聚焦超声中，热和声空化占据主导地位。热机制和组织毁损机制分别主要利用了HIFU的热效应和空化机械效应。热机制的研究起步更早也更成熟，在治疗实质性组织中有所应用，但是组织毁损方法也有其自身的优点：（a）组织毁损方法不受热机制中常见的热池效应（heat-sink）的影响，可以治疗血管周围的组织，应用范围更广；（b）组织毁损方法的损伤是空化机械作用的结果，可以防止热扩散而影响健康组织；（c）组织毁损方法中产生的空化云，沸腾气泡等更便于超声设备的监控，从而可以用来判断治疗的过程及位置等信息；（d）组织毁损方法将目标组织粉碎，治疗期间不会产生热凝固损伤，可以形成组织可吸收的液体，更适于临床应用；（e）组织毁损方法对较大的病变组织可以围绕肿瘤组织进行连续治疗，将肿瘤组织从健康组织中切割出来，大大提高治疗效率。

为了更好地利用机械效应，一般有利用超高强度脉冲超声波产生空化云组织毁损和利用几个毫秒长的脉冲产生沸腾气泡两种方法。精确可控和高效损伤则是组织毁损技术发展的主要目标。

空化云组织毁损所需要的空化云只发生在负声压超过阈值的焦区位置。冲击波散射和固有阈值激励是空化云组织毁损的两种主要方式:冲击波散射机制是冲击波从单个或多个微泡反射形成高幅度的负声压,在这个负声压的作用下形成更多的微泡并聚集成像云一样的微泡群;固有阈值激励则是通过提高单个峰值负声压,使短脉冲的能量超过固有空化阈值。美国密西根大学 5 的 Cain,发明名称为“Method and assembly for performing ultrasound surgery using cavitation”的美国专利 US 6,309,355B1 于 2001 年较早地披露了利用空化进行组织毁损的治疗方法,该方法采用了持续时间小于 50 μ s 的脉冲序列,利用超声诱导空化效应在靶区产生损伤。Cain 在发明名称为“Pulsed cavitational ultrasound therapy”的美国专利 US8,057,408B2 中则进一步的将治疗过程分为初始,维持,治疗以及反馈等子过程。这种将治疗过程分为多个子过程的方法利 10 用的是不同的声压幅度,占空比以及脉冲重复频率等的超声波会在组织内产生不同的生物效应,该方法克服了早期空化云组织毁损方法可控性较差的问题,形成的损伤更加规则,更适用于临床应用。Cain 在发明名称为“Pulsed cavitational therapeutic ultrasound with dithering”的美国专利 US 20,130,090,579A1 中则提到了在利用占空比小于 1% 的脉冲超声波,其目的在于使两次治疗脉冲之间的空化泡被动地消散掉,消除“空化记忆”,从而使损伤区域更易于均匀化。Cain 15 在发明名称为“Histotripsy using very short ultrasound pulses”的专利 WO2,015,027,164A1 则提出了提高峰值负声压使其超过固有空化阈值,并使用小于 2 个周期的短脉冲来进行组织微毁损(Microtripsy)的方法。该方法使所产生的损伤小于一个波长,使得损伤更加精确可控,在组织中采用该方法所需要的峰值负声压达到了 15~30MPa,这使得靶组织周围组织也会有较大声压,给临床应用带来一定压力。

20 沸腾气泡组织毁损主要利用的是几个毫秒长的脉冲引起的快速加热沸腾以及组织和沸腾气泡之间的界面所产生的雾化现象。当一定强度的声压作用一定时间后,焦区的组织温度升至 100 $^{\circ}$ C 以上,产生沸腾气泡。美国华盛顿大学的 Michael S.Canney 等人在发明专利名称为

“Methods and systems for non-invasive treatment of tissue using high intensity focused ultrasound therapy” 的美国专利 US8,876,740B2 中披露了利用几个毫秒长，正声压峰值 10~100MPa 的脉冲超声波在靶组织产生沸腾气泡的方法和装置。华盛顿大学的 Vera KHOKHLOVA 等人在发明专利 “Boiling histotripsy methods and systems for uniform volumetric ablation of an object by high-intensity focused ultrasound waves with shocks ” 的专利 WO2,015,148,966A1 中则披露了利用依次引导的超声波在靶组织的不同点分别利用沸腾气泡进行组织毁损的方法及装置。

目前空化云组织毁损和沸腾气泡组织毁损是组织毁损技术的两大主要方向，它们都采用了脉冲式的超声发射模式。空化云组织毁损方法脉冲超声波持续时间仅为 10 μ s 左右，峰值负声压为 15~25MPa，峰值正声压则需要大于 80MPa，换能器的工作频率为 0.75~1MHz；而沸腾气泡组织毁损方法脉冲持续时间为几个毫秒，峰值负声压为 10~15MPa，峰值正声压需要大于 40MPa，换能器的工作频率为 1~3MHz。

现有的组织毁损方法仍存在以下几点需要改进：1.所需要的峰值声压较大，作为一种非侵入式治疗技术，过高的峰值声压会使周围组织也存在较大声压，给临床安全带来一定压力。2.空化云组织毁损方法脉冲持续时间仅为 10 μ s 左右，占空比小于 1%，使得超声激励作用时间较短，所需损伤形成时间较长，治疗效率偏低。3.沸腾气泡组织毁损技术由于没有利用声辐射力，损伤常会出现头部比较大的情况。

发明内容

本发明的目的在于提供一种两阶段百微秒脉冲聚焦超声组织毁损方法，通过百微秒长度的两阶段组织毁损方法提损毁安全性、效率，增强有效性。

为了实现上述目的，本发明采用如下技术方案：

两阶段百微秒脉冲聚焦超声组织毁损方法，包括以下步骤：

1) 采用监控引导系统对样品靶组织进行定位，并相应地调节靶组织的位置至 HIFU 换能

器（5）的焦点；

2）进行第一阶段毁损：利用百微秒长度脉冲聚焦超声波激励的冲击波及其所产生的沸腾气泡和惯性空化以形成松散的局部组织结构，实现组织的初步均匀化，并产生空化核；

3）进行第二阶段毁损：利用百微秒长度脉冲聚焦超声波进一步的机械粉碎和均匀化损伤区域的组织，实现组织毁损。

进一步的，步骤 1）中监控引导系统为数字化超声成像设备。

进一步的，对所确定的靶组织采用损毁边沿，切割组织的方案，或者采用直接损毁的方案。

进一步的，步骤 1)具体包括以下步骤：通过位于 HIFU 换能器（5）中心的 B 超探头进行图像引导，通过调节靶组织的径向位置，使其对准 HIFU 换能器的中心；通过调节靶组织的位置，用数字化超声成像设备进行图像引导，使靶组织位于 HIFU 换能器的焦点处。

进一步的，步骤 2）中脉冲聚焦超声波的占空比 DC 范围为： $3\% < DC < 10\%$ ；百微秒长度，指的是单个脉冲持续时大于 $200\mu s$ ，而小于 $950\mu s$ ；脉冲聚焦超声波的工作频率范围为 $1\text{MHz}\sim 5\text{MHz}$ 。

进一步的，步骤 3）中脉冲聚焦超声波的占空比 $DC \leq 1\%$ ，百微秒长度，指的是单个脉冲持续时大于 $200\mu s$ ，而小于 $950\mu s$ ；脉冲聚焦超声波的工作频率范围为 $1\text{MHz}\sim 5\text{MHz}$ 。

进一步的，两阶段毁损中所采用的负声压绝对值均小于 12MPa ，并保证正声压产生冲击波，并且正声压产生冲击波。

进一步的，第一阶段毁损中，脉冲聚焦超声波由 10 组脉冲构成，每一组由 100 个脉冲长度百微秒，脉冲重复频率 $\text{PRF}=100\text{Hz}$ 的脉冲串组成，两个脉冲串之间有 30ms 的停止时间；

第二阶段毁损中，脉冲聚焦超声波同样由 10 组脉冲构成，每一组由 10 个脉冲长度百微秒，重复频率 $\text{PRF} = 100\text{Hz}$ 的脉冲串和脉冲长度百微秒，重复频率 $\text{PRF} = 200\text{Hz}$ 的脉冲串组成每组脉冲的两个脉冲串之间有 30ms 的停止时间，两组脉冲之间有 500ms 的停止时间。

进一步的，所述样品为仿体或离体组织。

进一步的，HIFU 换能器为球冠式单阵元环形阵换能器，其工作中心频率范围为 1MHz~5MHz。

进一步的，HIFU 换能器中间带孔以方便放置 B 超探头等监控引导设备。

5 相对于现有技术，本发明具有以下有益效果：

本发明为了克服现有组织毁损方法中的不足，提出了一种两阶段百微秒脉冲聚焦超声组织毁损方法；本发明充分利用了相对较高占空比脉冲兼顾热效应和机械效应，低占空比脉冲具有良好的机械效应的特点。通过控制先后产生两阶段的单个脉冲持续时间百微秒的相对较高占空比与低占空的脉冲高强度超声序列作用于靶组织，实现对组织的高效毁损。

10 进一步的，本发明采用了相对较高占空比与低占空比结合的两阶段毁损策略：先利用相对较高占空比的脉冲序列形成松散的组织，实现组织的初步均匀化；后利用低占空比的脉冲序列使组织完全均匀化。这种两阶段的方法可以显著降低组织毁损方法所需要的峰值声压，减少对焦点外周围组织的影响，提高了治疗的安全性。

进一步的，本发明中第一阶段采用了单个脉冲持续时间百微秒的相对较高占空比的脉冲序列，使得其有效作用时间高于传统的组织毁损方法；同时，相对较高占空比的脉冲序列兼顾了热积累和机械效应，产生了沸腾气泡，焦点处的冲击波与沸腾气泡相互作用加速了焦区的组织结构的破坏；此外，在相对较高占空比的脉冲序列作用下焦区产生大量的空化核，这就可以加速第二阶段低占空比脉冲序列作用下的空化效应。基于以上三点，本发明便可提高组织毁损的治疗效率。

20 附图说明

下面结合附图和具体实施方式对本发明做进一步详细说明。

图 1 是本发明的实现系统框图；图 1 中：1 为同步信号控制系统，2 为任意波形发生器，

3 为射频信号功率放大器, 4 为阻抗匹配网络, 5 为单阵元环形阵 HIFU 换能器, 6 为数字超声成像系统, 7 为高速摄像机, 8 为有机玻璃容器, 9 为样品, 10 为恒温装置, 11 为除气水。

图 2 是本发明中的所采用的球冠式环形阵 HIFU 换能器的示意图及声场分布仿真图; 图 2 中: (a) 为球冠式环形阵换能器示意图, (b) 是声场分布示意图。

5 图 3 是本发明方法中的典型脉冲序列原理图。

图 4 是本发明方法所采用一个典型激励波形在焦点处测得的声压波形。

图 5 是本发明方法切割大组织边界的主要流程图。

图 6 是本发明方法切割大组织边界的示意图。

图 7 是本发明方法在牛血清蛋白丙烯酰胺仿体中实施时采用高速摄像进行监控的典型
10 结果; 图 7 中: (a) ~ (e) 为第一阶段相对较高占空比脉冲作用时的典型结果图, (f) ~ (j) 为第二阶段低占空比脉冲作用时的典型结果图。

图 8 是本发明方法在离体猪肝脏中应用时的组织学结果图; 图 8 中: (a) 为治疗结束后的损伤边界, (b) 为对 (a) 图像中损伤边界周围图像的放大, (c) 为第一阶段相对较高占空比治疗结束后的损伤边界, (d) 为对 (c) 图像中损伤边界周围图像的放大。

15 图 9 是本发明方法在靶组织较大时采用切割边界时的视图; 图 9 中: (a) 为损伤在仿体中的轴向形态; (b) 为损伤在仿体中的横向形态; (c), (d) 分别为 (a), (b) 移除透明仿体后的形态。

具体实施方式

下面结合附图和实施例对本发明作详细说明

20 基于组织毁损技术的研究及应用现状, 本发明提出了两阶段百微秒脉冲聚焦超声组织毁损方法来安全, 高效地进行组织毁损。生物组织中的生物效应随超声波的占空比的不同会有显著的变化。在一个完整的作用过程中, 超声持续作用时间越长, 即占空比越高, 则热积累作用越

大，热效应更为明显；而相应的，超声持续作用时间越短，即占空比越低，则主要表现为机械效应；控制占空比在一定范围内则可兼顾热积累和机械效应。

HIFU 主要作用于超声治疗领域，但本发明不直接涉及人体病变组织的治疗，而是以仿体为介质确定其控制方法，以猪肝脏，肾脏等发病率较高的离体组织器官等介质为研究对象，探索两阶段百微秒脉冲聚焦超声组织毁损方法对于提高治疗效率，提高安全性等的效果。

如图 1 所示，本发明中两阶段百微秒脉冲聚焦超声组织毁损方法的实现系统包括：超声激励系统，监控引导系统，同步信号控制系统 1 及反应容器。

超声激励系统主要由依次连接的任意波形发生器 2，射频功率放大器 3，阻抗匹配网络 4 以及 HIFU 换能器 5 组成；监控引导系统则主要由一台数字化超声成像设备 6（B 超）和高速摄像机 7 构成；同步信号控制系统则是由多通道任意波形发生器 2 构成，主要作用是同步超声激励系统和监控引导系统；反应容器是一个长方形的有机玻璃容器 8，作为反应场所，内含恒温装置 10 的除气水 11 和样品 9。同步信号控制系统 1 产生同步信号使超声激励系统和监控引导系统同步地工作，超声激励系统先发出相对较高占空比（ $>3\%$ ，且 $<10\%$ ）的脉冲序列作用使局部组织结构松散，并产生空化核；随后超声激励系统发出较低占空比（ $\leq 1\%$ ）的脉冲序列进一步的机械粉碎和均匀化损伤区域的组织。在两阶段的毁损过程中，监控引导系统则进行实时监控，包括空化效应，沸腾气泡以及最终形成的损伤等。超声激励系统和监控引导系统的同步工作是通过同步信号控制系统实现的，其具体实施在于：多通道的任意波形发生器产生多路同步信号，其中一路信号用于控制超声激励系统，与此同时，同步信号控制系统的另一路信号则控制高速摄像机同步地采集图像，以此来监控整个过程中的毁损情况。此外，超声成像设备也可用于在整个过程中实时监控，提供靶组织区域的任意时刻的 B 超图像。

为了降低峰值声压，提高组织毁损的效率，本发明两阶段百微秒脉冲聚焦超声组织毁损方法，包括以下步骤：

1) 采用监控引导系统（如数字化超声成像设备）对样品靶组织进行定位，并相应地调节靶组织的位置至 HIFU 换能器 5 的焦点；其中，利用监控引导系统（如数字化超声成像设备）对所确定的靶组织进行判定，选取合适的方案：对其中较大的组织采用损毁边沿，切割组织的方案，对较小的组织采用直接损毁的方案；

2) 进行第一阶段毁损：利用百微秒长度脉冲聚焦超声波激励的冲击波及其所产生的沸腾气泡和惯性空化以形成松散的局部组织结构，实现组织的初步均匀化，并产生大量空化核；

3) 进行第二阶段毁损：利用百微秒长度脉冲聚焦超声波进一步的机械粉碎和均匀化损伤区域的组织，最终实现高效组织毁损的目的。

步骤 1) 具体包括以下步骤：通过位于 HIFU 换能器 5 中心的 B 超探头进行图像引导，通过调节靶组织的径向位置，使其对准 HIFU 换能器的中心；通过调节靶组织的位置，用数字化超声成像设备进行图像引导，使靶组织位于 HIFU 换能器的焦点处。

步骤 1) 中采集所需损毁靶组织的 B 超图像，当靶组织较大时（如较大的肿瘤组织）采用切割的方法，即多次移动 HIFU 换能器，使其焦点对准组织的边界，进行多次组织毁损，最终实现将靶组织从周围健康组织中切割开来的目的；当靶组织较小时，则采用直接损毁的方法，即使 HIFU 换能器的焦点对准靶组织，进行一次或多次组织毁损，直接对靶组织进行损毁。

步骤 2) 包括以下步骤：任意波形发生器发出单个脉冲持续时间百微秒的相对较高占空比脉冲序列，经过射频功率放大器后，通过阻抗匹配网络驱动 HIFU 换能器，在监控引导系统的监控下对靶组织进行第一阶段的毁损。相对较高占空比（Duty Cycle, DC）的 DC 范围为 $3\% < DC < 10\%$ ，百微秒长度，指的是单个脉冲持续时 $200\mu s < DC < 950\mu s$ ，脉冲聚焦超声波，其工作频率范围为 1MHz~5MHz。毁损的第一阶段先利用相对较高占空比（ $>3\%$ ，且 $<10\%$ ）的脉冲超声波，同时利用热积累和机械效应，降低靶组织的机械强度并实现部分的均匀化。第一阶段中的脉冲聚焦超声波会产生沸腾气泡以及冲击波等，形成松散的局部组织结构，而惯性

空化以及冲击波等多种机械作用则将损伤内部进一步的均匀化，并形成大量的空化核。在第一阶段的沸腾气泡是以热积累的形式达到的，而为了焦区产生热积累的同时不会对周围组织形成大量需要避免的热扩散，便对占空比有上限要求，经过实验多次验证，在本发明中将其设定为10%。

- 5 步骤3)包括以下步骤：任意波形发生器发出单个脉冲持续时间百微秒的低占空比脉冲序列，经过射频功率放大器后，通过阻抗匹配网络驱动 HIFU 换能器，在监控引导系统的监控下对靶组织进行第二阶段的毁损。低占空比的 DC 范围为 $DC \leq 1\%$ ，百微秒长度，指的是单个脉冲持续时 $200\mu s < DC < 950\mu s$ ，脉冲聚焦超声波，其工作频率范围为 1MHz~5MHz。本发明中第二阶段利用了较低占空比 ($\leq 1\%$) 的脉冲超声序列，它可以将焦区的组织进一步粉碎和均匀化。
- 10 受益于第一阶段的毁损，局部组织结构变得更加松散，损伤区域空化核的数量也有所增加，使空化效应更容易发生。两阶段组织毁损方法所需要的负声压的绝对值便可降到 12MPa 以下。

如图 2(a)所示，本发明实现系统中的球冠式环形阵 HIFU 换能器 5 是一个中间有孔的，凹球面超声换能器，其曲率半径为 R_s ，内径为 R_1 ，外径为 R_2 。图 2(b)是根据实现系统中所用的一种典型球冠式环形阵 HIFU 换能器(曲率半径为 $R_s = 100mm$ ，内径为 $R_1 = 12.5mm$ ，外径为

15 $R_2 = 47.5mm$)的轴向声场仿真示意图。

进一步的，图 2(b)中球冠形环形阵 HIFU 换能器的方阵计算的依据如下：

根据 Reyleigh-Sommerfeld 积分，球冠式换能器声场的计算公式为：

$$P(r) = \frac{j\rho ck}{2\pi} \int u \frac{e^{-(\alpha+jk)r}}{r} dS \quad (1)$$

$$k = \omega/c \quad (2)$$

- 20 其中，j 是虚数单位， ρ 是介质密度，c 是介质中的声速，k 是波数，s 是信号源的面积，u 是垂直于声源表面的介质振动速度，r 是观察点离阵元表面 dS 的距离， α 是声衰减系数。轴向声压便可按照(1)式进行精确计算，得到解析解：

$$P(z) = \begin{cases} j\rho ck R_s u \frac{e^{-\frac{(\alpha+jk)\sqrt{(z-R_s+\sqrt{R_s^2-R_2^2})^2+R_2^2}-e^{-(\alpha+jk)\sqrt{(z-R_s+\sqrt{R_s^2-R_1^2})^2+R_1^2}}}{(z-R_s)(\alpha+jk)}}}{}, & z \neq R_s \\ j\rho ck u \left(\sqrt{R_s^2-R_1^2} - \sqrt{R_s^2-R_2^2} \right) e^{-(\alpha+jk)R_s}, & z = R_s \end{cases} \quad (3)$$

如图 3 所示是本发明中所采用的两阶段组织毁损方法中的典型脉冲序列原理图。第一阶段的脉冲序列占空比为 4.9%，由 10 组脉冲构成，脉冲长度 PD=500μs，脉冲重复频率 PRF=100Hz，两组脉冲之间有 30ms 的停止时间；第二阶段的脉冲序列占空比为 1%，同样由 10 组脉冲构成，

5 每一组由 10 个脉冲长度 PD = 500μs，重复频率 PRF = 100 Hz 的脉冲串和脉冲长度 PD = 200μs，重复频率 PRF = 200 Hz 的脉冲串组成，每组脉冲的两个脉冲串之间有 30ms 的停止时间，两组脉冲串之间有 500ms 的停止时间。

如图 4 所示是本发明中所采用的两阶段组织毁损方法中，当超声激励系统工作时在焦点处测得的典型声压波形。其具体测试条件为：换能器的中心频率为 1.06MHz，PRF=100Hz 发射

10 500 个周期的脉冲，测得峰值负声压为 8MPa，峰值正声压为 35MPa，并且产生了明显的冲击波，比空化云组织毁损和沸腾气泡组织毁损方法中所需要的峰值声压有显著的下降，确保了焦点外正常组织的安全性，提高了治疗安全性。

如图 5 所示，本发明两阶段组织毁损方法进行组织切割可以用如下流程直观描述：S1 数字化超声设备进行图像引导，调节 HIFU 换能器使焦点位于需要进行组织毁损的区域；S2 进行

15 第一阶段相对较高占空比的治疗，使局部组织结构松散，并产生空化核，并伴随图像监控；S3 进行第二阶段低占空比的治疗，进一步的机械粉碎和均匀化损伤区域，并伴随实时图像监控；S4 判断切割是否已完成，若完成则结束治疗，若未完成则进行步骤 S5；S5 沿边界寻找新的切割点，重复步骤 S1，S2，S3，S4。

如图 6 所示则进一步将本发明两阶段组织毁损方法进行组织切割的原理图直观化。

20 实施例 1：

1) 制备质量分数为 7% 的牛血清蛋白(BSA)聚丙烯酰胺凝胶仿体, 并加入牛血清蛋白作为温度变化指示剂。仿体的密度为 $1.06\text{g}/\text{cm}^3$, 成品仿体中声速为 $1477 \pm 5\text{m}/\text{s}$, 声衰减系数为 $0.42 \pm 0.01\text{dB}/\text{cm}$ 。

2) 将球冠式环形阵 HIFU 换能器, 以及 B 超探头等如图 1 进行固定, 向反应容器中注入适量的除气水, 并打开恒温装置。开启超声成像设备, 根据图像引导调节仿体中需要损伤的点至换能器的焦点处。

3) 按照图 5 编写任意波形发生器所要产生的信号。激励时, 信号为频率 $f = 1.06\text{MHz}$ 的正弦波。信号分为两个阶段: 第一阶段为占空比为 4.9% 的相对较高占空比脉冲序列, 它由 10 组脉冲构成, 单个脉冲持续时间为 $\text{PD} = 500\mu\text{s}$, 脉冲重复频率 $\text{PRF} = 100\text{Hz}$; 第二阶段为占空比为 1% 的低占空比脉冲序列, 它同样由 10 组脉冲构成, 每一组由 10 个脉冲长度 $\text{PD} = 500\mu\text{s}$, 重复频率 $\text{PRF} = 100\text{Hz}$ 的脉冲串和脉冲长度 $\text{PD} = 200\mu\text{s}$, 重复频率 $\text{PRF} = 200\text{Hz}$ 的脉冲串组成, $500\mu\text{s}$ 长度的脉冲作用完后有 30ms 的停止时间, 而两组脉冲之间有 500ms 的停止时间。。在整个治疗过程中, 声功率均被设置为 240W 。

4) 同步信号控制系统中的任意波形发生器的通道 1 与超声激励系统相连, 通道 2 与引导监控系统相连。开启各个设备, 手动触发同步信号控制系统。通道 1 连接超声激励系统中的任意波形发生器的外部触发端, 触发超声激励系统中发出的信号经过射频功率放大器, 阻抗匹配网络并驱动 HIFU 换能器。通道 2 则出发高速摄像设备进行实时监控。

分析结果:

牛血清蛋白聚丙烯酰胺仿体是透明的, 且和组织特性较为相似, 故常被用于机制分析。通过高速摄像可以清晰地观察到损伤的形成过程, 如图 7 所示是仿体中损伤形态随治疗时间变化的高速摄像图, (a) ~ (e) 为第一阶段的典型结果, (f) ~ (j) 则为第二阶段的典型结果图。

图 7 (a) 所示, 在 1.8 秒即出现了可见的损伤, 如图 7 (c) 所示, 在 6.671s 出现了 2mm 直径

的沸腾气泡，如图 7（d）所示损伤的流动性增强，如图 7（h）所示损伤在出现了多处分裂，这可能是超声波在轴向多次反射，在多点形成空化所致，这也是本发明治疗效率高的又一个例子，如图 7（j）所示，损伤最终呈现柱状，尺寸大约为 $8\text{mm} \times 2\text{mm}$ （轴向 $\times$ 横向），并且损伤较为规则。由高速摄像拍摄到的结果，可以发现，本发明中所采用的两阶段百微秒脉冲组织毁

5 损方法，能用较低的声压实现组织毁损。

实施例 2：

1）制备丙烯酸胺仿体液。选取新鲜的猪肾脏组织，切成 $5\text{mm} \times 3\text{mm} \times 30\text{mm}$ 的尺寸，并将其固定在仿体液中，在常温下进行凝固。

2）将球冠式环形阵 HIFU 换能器，以及 B 超探头等如图 1 进行固定，向反应容器中注入

10 适量的除气水，并打开恒温装置。开启超声成像设备，根据图像引导调节猪肾脏的中心位置至换能器的焦点处。

3）按照图 5 编写任意波形发生器所要产生的信号。信号分为两个阶段：第一阶段的脉冲序列由 10 组脉冲构成，每一组由 100 个脉冲长度为 $\text{PD}=400\mu\text{s}$ ，脉冲重复频率 $\text{PRF}=100\text{Hz}$ 的脉冲串组成，两个脉冲串之间有 30ms 的停止时间；第二阶段的脉冲同样由 10 组脉冲构成，每一组由 10 个脉冲长度 $\text{PD} = 400\mu\text{s}$ ，重复频率 $\text{PRF} = 100\text{Hz}$ 的脉冲串和脉冲长度 $\text{PD} = 200\mu\text{s}$ ，

15 重复频率 $\text{PRF} = 200\text{Hz}$ 的脉冲串组成， $400\mu\text{s}$ 长度的脉冲作用完后有 30 ms 的停止时间，两组脉冲之间有 500 ms 的停止时间。在整个治疗过程中，声功率均被设置为 240W。

4）将同步信号控制系统中的任意波形发生器的通道 1 与超声激励系统相连，通道 2 与引导监控系统相连。开启各个设备，手动触发同步信号控制系统。通道 1 连接超声激励系统中的

20 任意波形发生器的外部触发端，触发超声激励系统中发出的信号经过射频功率放大器，阻抗匹配网络并驱动 HIFU 换能器。通道 2 则出发高速摄像设备进行实时监控。

5）当治疗过程结束后先通过 B 超设备对损伤进行观察，然后将猪肾脏取出，剖开后再仔

细分析损毁情况。对损毁的猪肾脏进行 H&E 染色，利用高倍显微镜观察其组织学结果。

分析结果：

对剖开的猪肾脏进行形态学观察可以发现经过两阶段的高效组织毁损方法治疗肾脏内部出现了损伤，且损伤形态较为均匀，损伤周围无明显的热凝固损伤出现。而如图 8 所示是猪肾脏经过 H&E 染色后的组织学结果。如图 8（a）所示是治疗结束后的损伤边界，左边是正常组织，右边是损伤后的组织，两者有清晰的边界，且损伤内部完全均匀化；如图 8（b）所示是放大后的损伤边界可以进一步发现正常区域的细胞结构较为完整，而治疗后的损伤区域则出现了完全均匀化；如图 8（c）所示是第一阶段治疗后的损伤边界，可以发现，损伤区域出现了部分均匀化，但仍保留有部分的细胞碎片；而如图 8（d）所示是第一阶段治疗结束后的损伤边界区域的放大图，可以发现损伤区域只出现了初步均匀化，未实现完全均匀化。因此，本发明提出的方案可以以较低声压对组织进行毁损，确保了焦点外周围组织带来的安全，提高了治疗的安全性，且治疗效率等也都有所提高。

实施例 3：

1) 制备丙烯酰胺仿体液，仿体的密度为 1.06，成品仿体中声速为 $1477 \pm 5 \text{ m/s}$ ，声衰减系数为 $0.42 \pm 0.01 \text{ dB/cm}$ 。选取新鲜的猪肝脏组织，较大的小块，并将其固定在仿体液中，在常温下进行凝固

2) 将球冠式环形阵 HIFU 换能器，以及 B 超探头等如图 1 进行固定，向反应容器中注入适量的除气水，并打开恒温装置。开启超声成像设备，根据图像引导调节所需要切割猪肝脏的边界上的一点至换能器的焦点处。

3) 重复实施例 2 中的步骤 3)

4) 重复实施例 2 中的步骤 4)

5) 按照图 5 所示，沿所需要切割的组织边界位置每隔 0.5mm 移动一次重复步骤 4 直至切

割完成

6) 重复实施例 2 中的步骤 5)

分析结果: 如图 9 所示是经过本发明所提出的组织毁损新方法进行大组织切割治疗后的结果, 对剖开的猪肝脏进行形态学观察可以发现治疗区域内部出现了白色的乳状物质, 损伤区域

5 已经被完全切割。因此, 本发明提出的方案可以对体积较大的靶组织的边界进行切割, 从而实现高效治疗的目的。

1、两阶段百微秒脉冲聚焦超声组织毁损方法，其特征在于，包括以下步骤：

1) 采用监控引导系统对样品靶组织进行定位，并相应地调节靶组织的位置至 HIFU 换能器 (5) 的焦点；

2) 进行第一阶段毁损：利用百微秒长度脉冲聚焦超声波激励的冲击波及其所产生的沸腾
5 气泡和惯性空化以形成松散的局部组织结构，实现组织的初步均匀化，并产生空化核；

3) 进行第二阶段毁损：利用百微秒长度脉冲聚焦超声波进一步的机械粉碎和均匀化损伤区域的组织，实现组织毁损。

2、根据权利要求 1 所述的两阶段百微秒脉冲聚焦超声组织毁损方法，其特征在于，步骤

1) 中监控引导系统包括数字化超声成像设备及高速摄像机。

10 3、根据权利要求 1 所述的两阶段百微秒脉冲聚焦超声组织毁损方法，其特征在于，对所确定的靶组织采用损毁边沿，切割组织的方案，或者采用直接损毁的方案。

4、根据权利要求 1 所述的两阶段百微秒脉冲聚焦超声组织毁损方法，其特征在于，步骤

1) 具体包括以下步骤：通过位于 HIFU 换能器 (5) 中心的 B 超探头进行图像引导，通过调节靶组织的径向位置，使其对准 HIFU 换能器的中心；通过调节靶组织的位置，用数字化超声成
15 像设备进行图像引导，使靶组织位于 HIFU 换能器的焦点处。

5、根据权利要求 1 所述的两阶段百微秒脉冲聚焦超声组织毁损方法，其特征在于，步骤

2) 中脉冲聚焦超声波的占空比 DC 范围为： $3\% < DC < 10\%$ ；百微秒长度，指的是单个脉冲持续时大于 $200\mu\text{s}$ ，而小于 $950\mu\text{s}$ ；脉冲聚焦超声波的工作频率范围为 $1\text{MHz}\sim 5\text{MHz}$ 。

6、根据权利要求 1 所述的两阶段百微秒脉冲聚焦超声组织毁损方法，其特征在于，步骤

20 3) 中脉冲聚焦超声波的占空比 $\leq 1\%$ ，百微秒长度，指的是单个脉冲持续时大于 $200\mu\text{s}$ ，而小于 $950\mu\text{s}$ ；脉冲聚焦超声波的工作频率范围为 $1\text{MHz}\sim 5\text{MHz}$ 。

7、根据权利要求 1 所述的两阶段百微秒脉冲聚焦超声组织毁损方法，其特征在于，两阶段毁损中所采用的负声压绝对值均小于 12MPa，并且正声压产生冲击波。

8、根据权利要求 1 所述的两阶段百微秒脉冲聚焦超声组织毁损方法，其特征在于，第一阶段毁损中，脉冲聚焦超声波由 10 组脉冲构成，每一组由 100 个脉冲长度百微秒，脉冲重复频率 PRF=100Hz 的脉冲串组成，两组脉冲之间有 30ms 的停止时间；第二阶段毁损中，脉冲聚焦超声波同样由 10 组脉冲构成，每一组由 10 个脉冲长度百微秒，重复频率 PRF = 100 Hz 的脉冲串和脉冲长度百微秒，重复频率 PRF = 200 Hz 的脉冲串组成，每组脉冲的两个脉冲串之间有 30ms 的停止时间，两组脉冲之间有 500ms 的停止时间。

9、根据权利要求 1 所述的两阶段百微秒脉冲聚焦超声组织毁损方法，其特征在于，所述样品为仿体或离体组织。

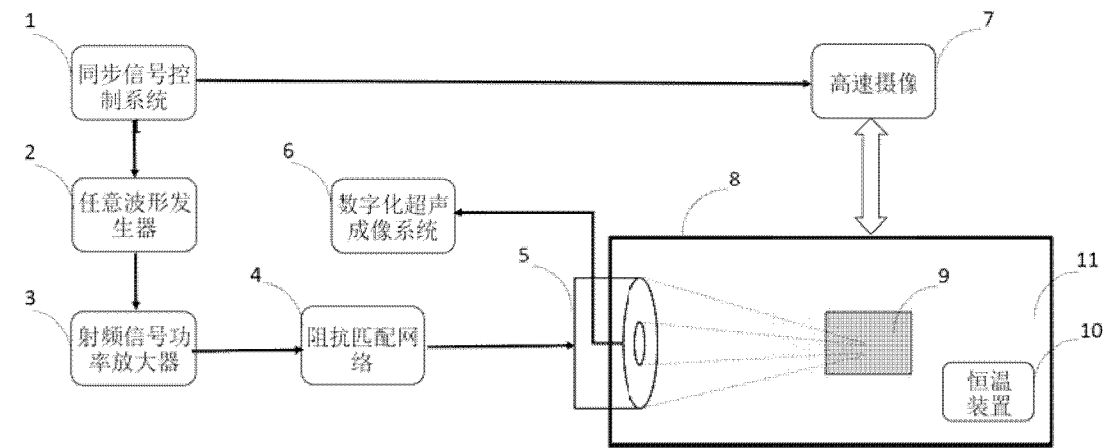


图 1

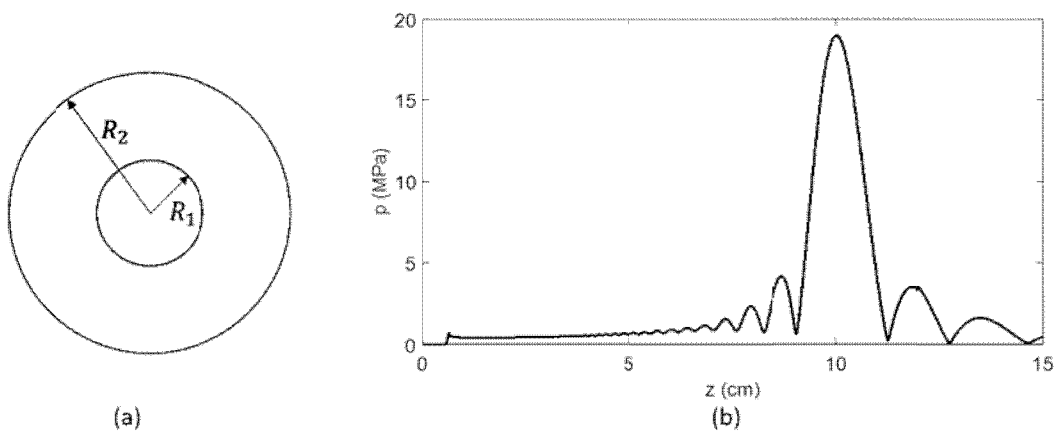


图 2

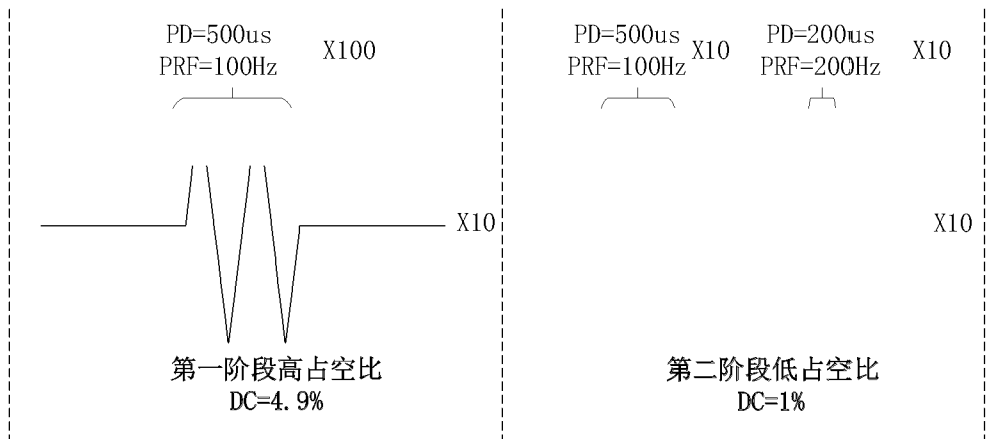


图 3

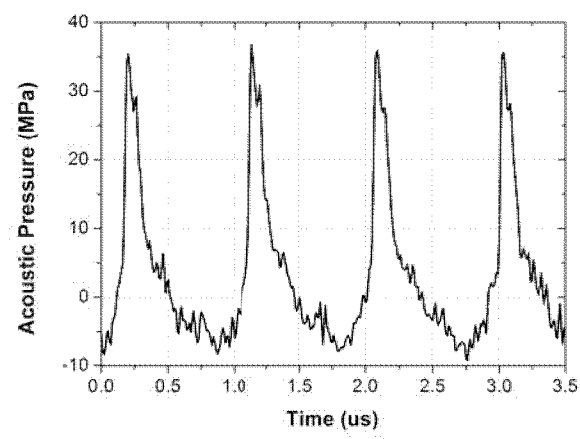


图 4

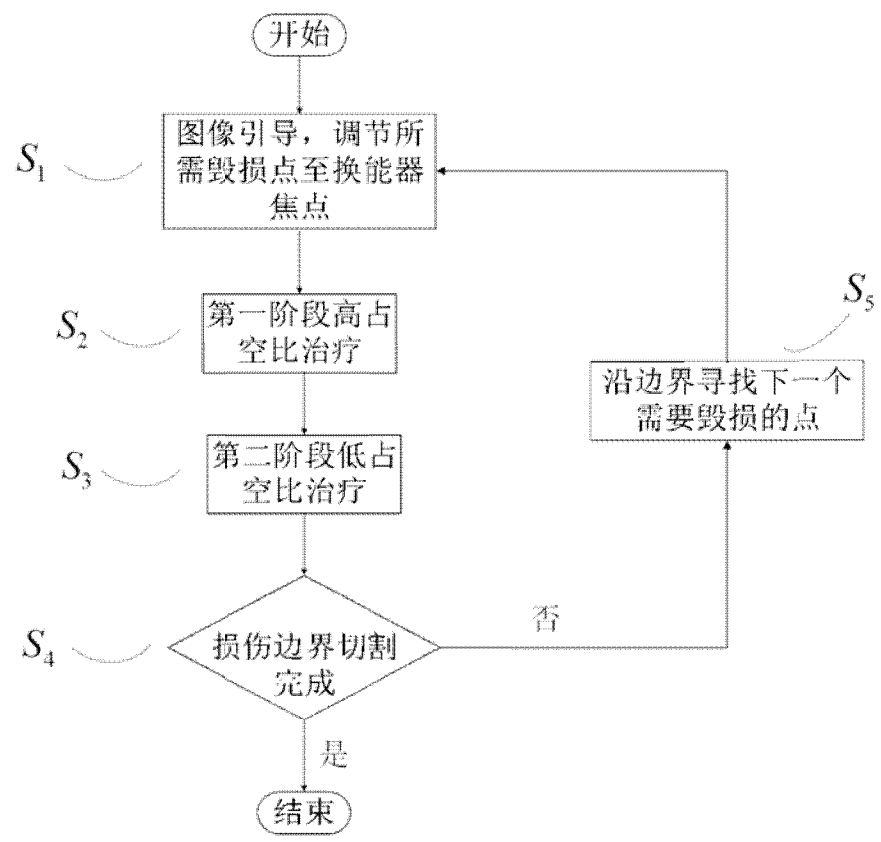


图 5

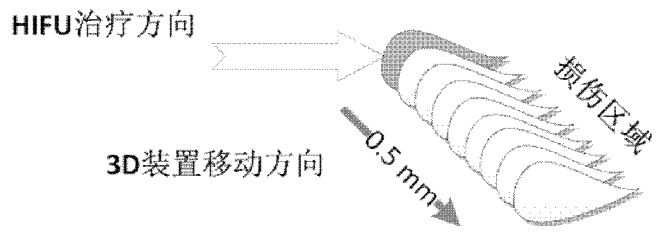


图 6

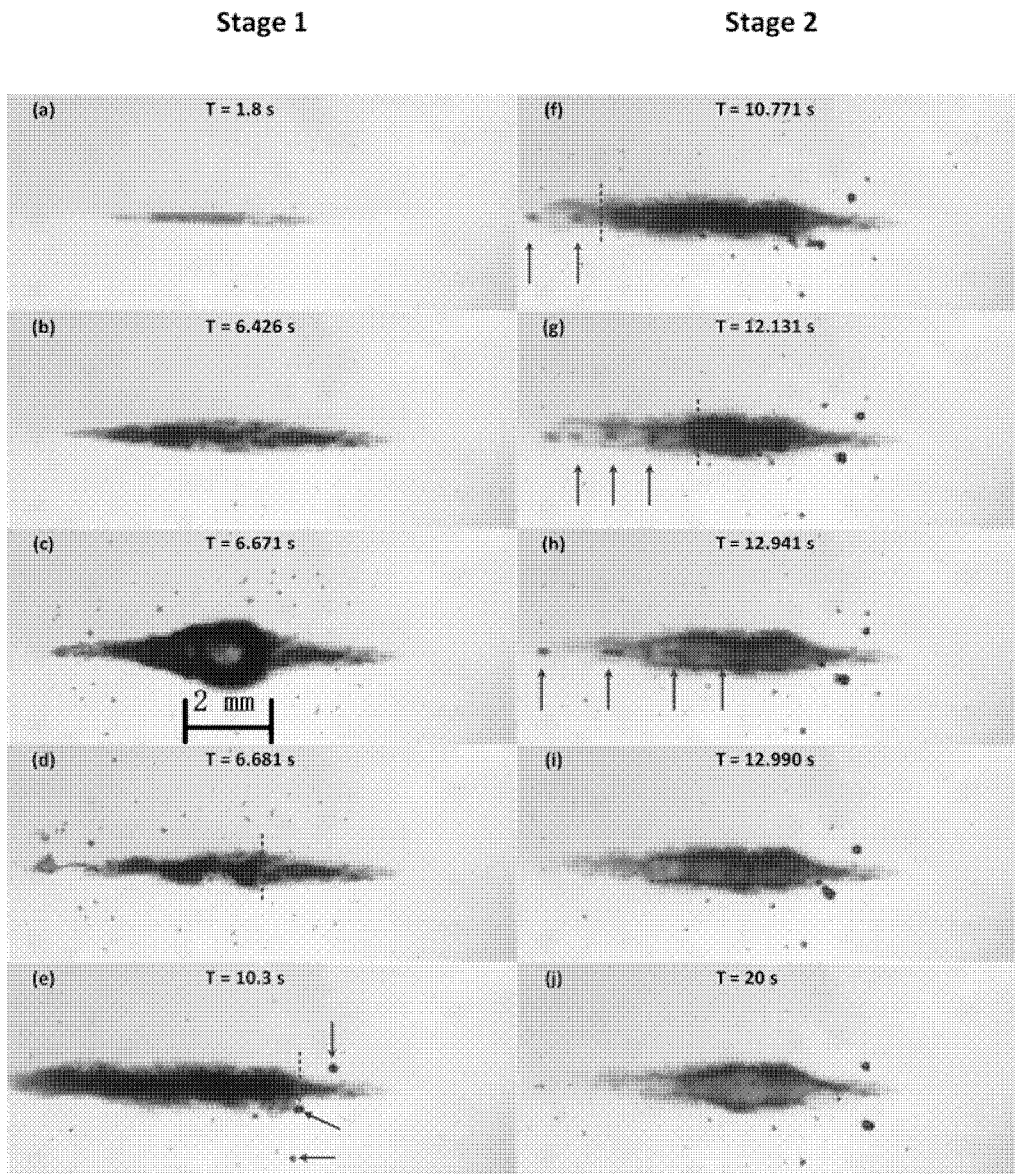


图 7

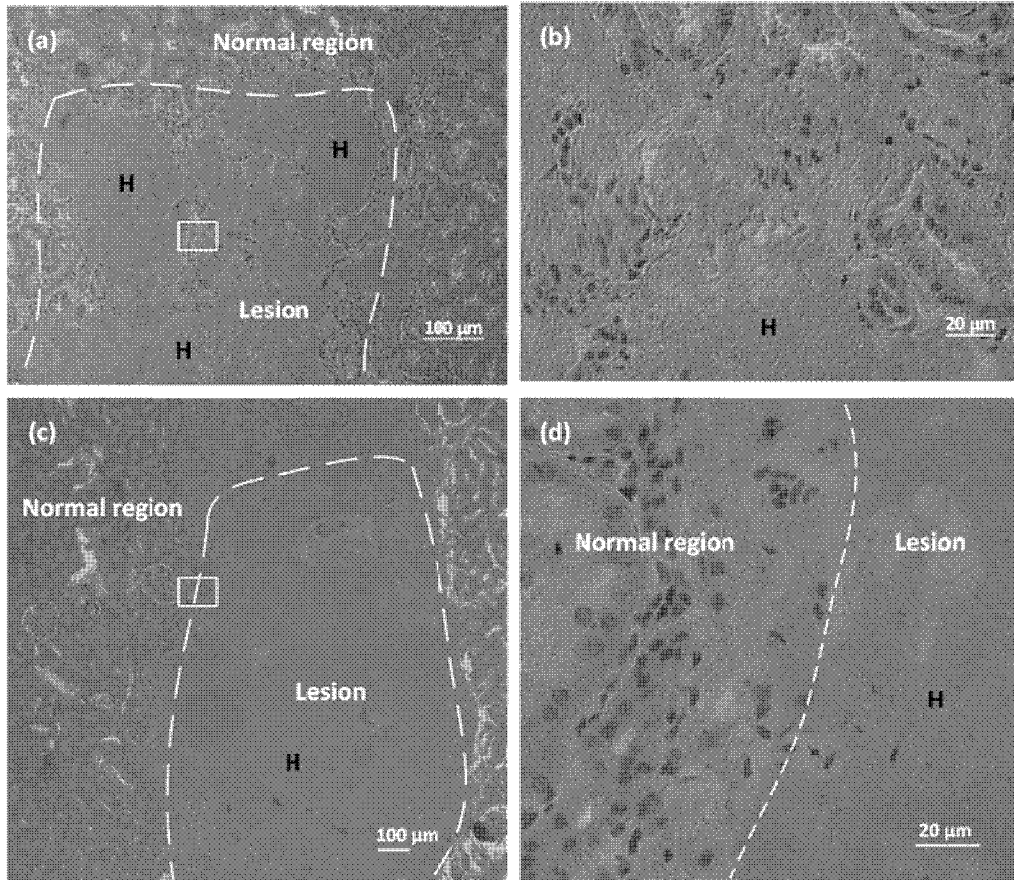


图 8

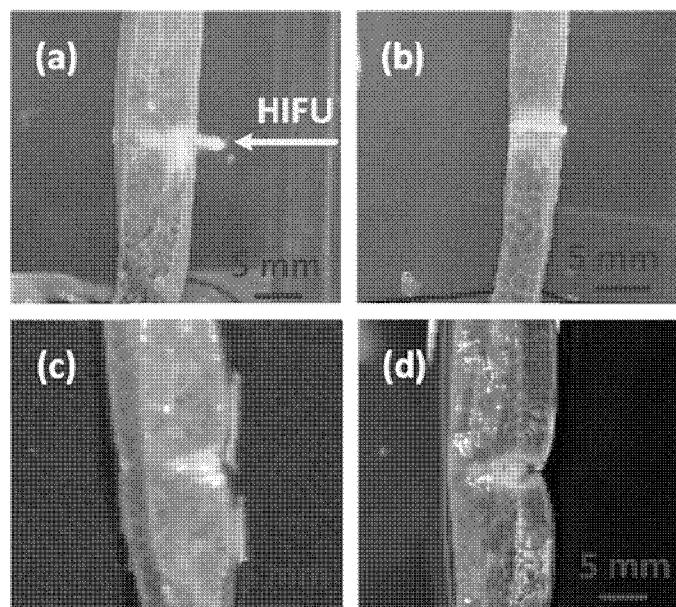


图 9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2016/099266

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61N 7/02 (2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61N 7/-

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNKI, CNPAT, WPI, EPODOC: XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY; LU, Mingzhu; WANG, Rui; Guan, Yubo; LI, Yujiao; HUANG, Weijun; MA, Fengchao; ZHANG, Linglu; WAN, Mingxi; tissue, destroy, focus, mechanical effect, histotripsy, ablation, HIFU, ultrasound, ultrasonic?, cavitation, non-invasive, heat+, mechanical, bubble, DC, duty cycle

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	GUAN, Y.B. et al., "Histotripsy Produced by Hundreds of Microsecond Focused Ultrasound Pulses in Gels and Tissue <i>ex vivo</i> ", 2015 IEEE INTERNATIONAL ULTRASONICS SYMPOSIUM PROCEEDINGS, 24 October 2015 (24.10.2015), abstract, pages 1-2, and figure 2	1-9
X	Guan, Y.B. et al., "Histotripsy Produced by Hundred-microsecond-long Focused Ultrasonic Pulses: a Preliminary Study", ULTRASOUND IN MEDICINE AND BIOLOGY, vol. 42, no. 9, 16 June 2016 (16.06.2016), ISSN: 0301-5629, pages 2234-2235	1-9
A	CN 104225810 A (XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY), 24 December 2014 (24.12.2014), the whole document	1-9
A	CN 1803225 A (SOUTHEAST UNIVERSITY), 19 July 2006 (19.07.2006), the whole document	1-9

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 01 April 2017 (01.04.2017)	Date of mailing of the international search report 25 April 2017 (25.04.2017)
Name and mailing address of the ISA/CN: State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No.: (86-10) 62019451	Authorized officer WANG, Tingting Telephone No.: (86-10) 653318974

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2016/099266

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 6309355 B1 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF MICHIGAN), 30 October 2001 (30.10.2001), the whole document	1-9
A	US 2011251528 A1 (UNIVERSITY OF WASHINGTON), 13 October 2011 (13.10.2011), the whole document	1-9
A	WO 2015148966 A1 (KHOKHLOVA, V. et al.), 01 October 2015 (01.10.2015), the whole document	1-9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2016/099266

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 104225810 A	24 December 2014	None	
CN 1803225 A	19 July 2006	US 2007123780 A1	31 May 2007
US 6309355 B1	30 October 2001	AU 2216200 A	12 July 2000
		WO 0036982 A1	29 June 2000
		US 6413216 B1	02 July 2002
US 2011251528 A1	13 October 2011	US 2015119763 A1	30 April 2015
		US 8876740 B2	04 November 2014
WO 2015148966 A1	01 October 2015	None	

A. 主题的分类 A61N 7/02 (2006.01) i 按照国际专利分类 (IPC) 或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类																	
B. 检索领域 检索的最低限度文献 (标明分类系统和分类号) A61N 7/- 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 在国际检索时查阅的电子数据库 (数据库的名称, 和使用的检索词 (如使用)) CNKI, CNPAT, WPI, EPODOC: 西安交通大学, 陆明珠, 王睿, 关宇波, 李玉娇, 黄伟骏, 马风超, 张灵璐, 万明习, 组织, 毁损, 摧毁, 损毁, 聚焦, 超声, 热, 空化, 机械效应, 非侵入, 气泡, 占空比, histotripsy, ablation, HIFU, ultrasound, ultrasonic?, cavitation, non-invasive, heat+, mechanical, bubble, DC, duty cycle.																	
C. 相关文件 <table border="1"> <thead> <tr> <th>类 型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>Guan, Yubo et al. "Histotripsy produced by hundreds of microsecond focused ultrasound pulses in gels and tissue ex vivo" 2015 IEEE International Ultrasonics Symposium Proceedings, 2015年 10月 24日 (2015 - 10 - 24), 摘要、第1-2页、图2</td> <td>1-9</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>Guan, Yubo et al. "Histotripsy produced by hundred-microsecond-long focused ultrasonic pulses:a preliminary study" ultrasound in Medicine and Biology, 第42卷, 第9期, 2016年 6月 16日 (2016 - 06 - 16), ISSN: 0301-5629, 第2234-2235页</td> <td>1-9</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 104225810 A (西安交通大学) 2014年 12月 24日 (2014 - 12 - 24) 全文</td> <td>1-9</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 1803225 A (东南大学) 2006年 7月 19日 (2006 - 07 - 19) 全文</td> <td>1-9</td> </tr> </tbody> </table>			类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	X	Guan, Yubo et al. "Histotripsy produced by hundreds of microsecond focused ultrasound pulses in gels and tissue ex vivo" 2015 IEEE International Ultrasonics Symposium Proceedings, 2015年 10月 24日 (2015 - 10 - 24), 摘要、第1-2页、图2	1-9	X	Guan, Yubo et al. "Histotripsy produced by hundred-microsecond-long focused ultrasonic pulses:a preliminary study" ultrasound in Medicine and Biology, 第42卷, 第9期, 2016年 6月 16日 (2016 - 06 - 16), ISSN: 0301-5629, 第2234-2235页	1-9	A	CN 104225810 A (西安交通大学) 2014年 12月 24日 (2014 - 12 - 24) 全文	1-9	A	CN 1803225 A (东南大学) 2006年 7月 19日 (2006 - 07 - 19) 全文	1-9
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求															
X	Guan, Yubo et al. "Histotripsy produced by hundreds of microsecond focused ultrasound pulses in gels and tissue ex vivo" 2015 IEEE International Ultrasonics Symposium Proceedings, 2015年 10月 24日 (2015 - 10 - 24), 摘要、第1-2页、图2	1-9															
X	Guan, Yubo et al. "Histotripsy produced by hundred-microsecond-long focused ultrasonic pulses:a preliminary study" ultrasound in Medicine and Biology, 第42卷, 第9期, 2016年 6月 16日 (2016 - 06 - 16), ISSN: 0301-5629, 第2234-2235页	1-9															
A	CN 104225810 A (西安交通大学) 2014年 12月 24日 (2014 - 12 - 24) 全文	1-9															
A	CN 1803225 A (东南大学) 2006年 7月 19日 (2006 - 07 - 19) 全文	1-9															
☒ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。																	
<table border="0"> <tr> <td> * 引用文件的具体类型: "A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 "E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 "L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 (如具体说明的) "O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 "P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 </td> <td> "T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 "X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 "Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 "&" 同族专利的文件 </td> </tr> </table>			* 引用文件的具体类型: "A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 "E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 "L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 (如具体说明的) "O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 "P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件	"T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 "X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 "Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 "&" 同族专利的文件													
* 引用文件的具体类型: "A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 "E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 "L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 (如具体说明的) "O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 "P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件	"T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 "X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 "Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 "&" 同族专利的文件																
国际检索实际完成的日期 2017年 4月 1日		国际检索报告邮寄日期 2017年 4月 25日															
ISA/CN的名称和邮寄地址 中华人民共和国国家知识产权局 (ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451		受权官员 王婷婷 电话号码 (86-10)53318974															

C. 相关文件		
类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
A	US 6309355 B1 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF MICHIGAN) 2001年 10月 30日 (2001 - 10 - 30) 全文	1-9
A	US 2011251528 A1 (UNIVERSITY OF WASHINGTON) 2011年 10月 13日 (2011 - 10 - 13) 全文	1-9
A	WO 2015148966 A1 (KHOKHLOVA, VERA ET AL.) 2015年 10月 1日 (2015 - 10 - 01) 全文	1-9

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2016/099266

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	104225810	A	2014年 12月 24日	无			
CN	1803225	A	2006年 7月 19日	US	2007123780	A1	2007年 5月 31日
US	6309355	B1	2001年 10月 30日	AU	2216200	A	2000年 7月 12日
				WO	0036982	A1	2000年 6月 29日
				US	6413216	B1	2002年 7月 2日
US	2011251528	A1	2011年 10月 13日	US	2015119763	A1	2015年 4月 30日
				US	8876740	B2	2014年 11月 4日
WO	2015148966	A1	2015年 10月 1日	无			