

抗 ICAM-1 纳米靶向超声泡识别兔腹主动脉粥样硬化早期炎症的实验研究

李萍^{1,2}, 惠品晶¹, 金琳², 王迎春², 钮培玉², 封岚²

(1. 苏州大学附属第一医院颈脑血管超声科, 江苏省苏州市 215006; 2. 上海健康医学院附属嘉定区中心医院超声科, 上海市 201800)

[关键词] 抗 ICAM-1 纳米靶向超声泡; 动脉粥样硬化; 早期炎症; 腹主动脉; 兔

[摘要] 目的 采用抗细胞间黏附分子 1(ICAM-1) 纳米靶向超声泡检测动脉粥样硬化(As)早期炎症并探讨其行超声分子显像的方法及价值。方法 以生物素-亲和素法制备抗 ICAM-1 纳米靶向超声泡。20 只实验兔随机分为 4 组: 对照组、建模 2 周组、建模 4 周组、建模 6 周组, 对照组不做任何处理, 建模 2 周组、4 周组、6 周组以外科球囊损伤-高胆固醇饲料喂养法建立 As 模型。对各组行超声造影检查, 获取感兴趣区峰值强度(PI)、达峰时间(PPT)、曲线下面积(AUC)等造影参数。实验结束后对目标段腹主动脉行病理检测。结果 纳米靶向超声泡制备结果表明 ICAM-1 抗体与纳米超声泡结合率 72.6%。超声造影发现对照组血管腔与血管壁造影剂基本同时消退; 建模各组造影剂注入 2 min 时, 血管腔内造影剂消退, 血管壁局部仍持续显影增强。分析腹主动脉血管壁最厚处靶向超声造影曲线显示, 随着建模时间的延长, 4 组 PPT 差异无显著性($P>0.05$); 4 组的 PI、AUC 随着建模时间的延长而逐渐增大($P<0.05$)。HE 染色显示对照组血管壁内皮细胞排列完整; 建模组血管平滑肌明显增殖; 建模 4 周组、6 周组形成脂质斑块, 且 6 周组更显著。免疫组织化学染色显示 4 组腹主动脉 ICAM-1 阳性染色的平均积分光密度(IODM)值随着建模时间的延长而逐渐增大($P<0.05$)。相关性分析表明造影参数 PI、AUC 与腹主动脉 ICAM-1 阳性染色的 IODM 值呈正相关($r=0.835, P<0.05$; $r=0.868, P<0.05$)。结论 抗 ICAM-1 纳米靶向超声泡可在分子水平识别 As 早期炎症, 为早期检测 As 血管炎症病变提供较为客观、可量化的超声造影参数。

[中图分类号] R54

[文献标识码] A

Experimental study on identification of early inflammation of rabbit abdominal aortic atherosclerosis with anti-ICAM-1 nano targeted ultrasound bubbles

LI Ping^{1,2}, HUI Pinjing¹, JIN Lin², WANG Yingchun², NIU Peiyu², FENG Lan²

(1. Department of Carotid and Cerebrovascular Ultrasound, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou, Jiangsu 215006, China; 2. Department of Ultrasound, Jiading District Central Hospital Affiliated to Shanghai University of Medicine & Health Sciences, Shanghai 201800, China)

[KEY WORDS] anti-ICAM-1 nano targeted ultrasound bubble; atherosclerosis; early inflammation; abdominal aorta; rabbit

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the method and value of anti-intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) nano targeted ultrasound bubbles in detecting early inflammation of atherosclerosis (As) and ultrasound molecular imaging.

Methods Anti-ICAM-1 nano targeted ultrasound bubbles were prepared by biotin-avidin method. 20 experimental rabbits were randomly divided into 4 groups: control group, 2-week modeling group, 4-week modeling group and 6-week modeling group, with 5 rabbits in each group. The control group was not treated with any treatment. The As models were established by surgical balloon injury and high-fat cholesterol diet in 2-week modeling group, 4-week modeling group and 6-week modeling group. Contrast-enhanced ultrasound was performed in each group to obtain the contrast parameters

[收稿日期] 2019-12-17

[修回日期] 2020-05-14

[基金项目] 上海市嘉定区卫生和计划委员会科研课题(2018-QN-06); 上海市嘉定区农业和社会事业科研项目(JDKW-2017-W14); 上海市嘉定区中心医院第十七批中青年骨干培养课题(ZQN201904)

[作者简介] 李萍, 主治医师, 研究方向为颈脑血管疾病超声诊断, E-mail 为 liping198811@163.com。通信作者惠品晶, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向为颈脑血管疾病超声诊断, E-mail 为 pinjing-hui@163.com。

such as peak intensity (PI), time to peak (PPT), area under curve (AUC) in region of interest. At the end of the experiment, pathological examination was performed on the target abdominal aorta. **Results** Preparation of nano targeted ultrasound bubbles; the binding rate of ICAM-1 antibody to nano ultrasound bubbles was 72.6%. Contrast enhanced ultrasound; in the control group, the contrast agent of vascular cavity and vessel wall basically disappeared at the same time; 2 min after the injection of contrast agent in each modeling group, the contrast agent in the vascular cavity faded, and the local vascular wall was still developed and enhanced. The analysis of targeted contrast-enhanced ultrasound curve at the thickest part of abdominal aorta showed that PPT of the four groups had no significant difference with the extension of modeling time ($P>0.05$); PI and AUC of the four groups gradually increased with the extension of modeling time ($P<0.05$). HE staining; the vascular wall endothelial cell of the control group were arranged completely; the vascular smooth muscle of the model group proliferated obviously; the lipid plaques were formed in 2-week modeling group and 6-week modeling group, and more significantly in the 6-week modeling group. Immunohistochemical staining; the mean integral optical density (IODM) value of ICAM-1 positive staining in abdominal aorta of four groups increased gradually with the extension of modeling time ($P<0.05$). Correlation analysis; the angiographic parameters PI, AUC were positively correlated with the IODM value of ICAM-1 positive staining in abdominal aorta ($r=0.835, P<0.05$; $r=0.868, P<0.05$). **Conclusion** Anti-ICAM-1 nano targeted ultrasound bubbles can identify the early inflammation of As at the molecular level, and provide more objective and quantifiable contrast-enhanced ultrasound parameters for early detection of As vascular inflammatory lesions.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是一种慢性炎症增生性基础病变,对人类的健康构成极大的危害,尤以其引起的缺血性心脏病、脑卒中为著^[1],其中脑卒中已成为中国寿命年数损失的首位病因^[2]。如何检测 As 早期炎症对临床进行及早治疗干预有着重要意义。细胞间黏附分子 1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 在 As 炎症的发生发展过程中起着重要作用,一方面 ICAM-1 异常高表达于损伤的血管内皮细胞并介导单核细胞向内皮细胞募集,跃迁分化为组织内的炎症巨噬细胞^[3-4];另一方面在 As 发展进程中平滑肌细胞及内皮细胞下方的巨噬细胞亦可出现 ICAM-1 的高表达,进一步推进 As 的进展^[5-6]。本研究以 ICAM-1 为靶标,制备抗 ICAM-1 纳米靶向超声泡,在以高脂-球囊外科损伤法构建的兔腹主动脉 As 的模型上,探讨抗 ICAM-1 纳米靶向超声泡评估 As 早期炎症并进行分子显像的可行性。

1 材料和方法

1.1 实验材料

(1)实验动物:20 只雄性健康新西兰大耳兔,4~5 月龄,体质量 2.0~2.6 kg,购自于上海市甲干生物科技有限公司,动物生产许可证号:SCXK(沪)2015-0005。兔饲养于自动冲洗笼架,水箱调节以 4 h/次的频率自动冲洗笼架,每天上午、下午记录饲养室的温度、湿度,检查饲养室的通风情况。本研究获得了医院伦理委员会的批准(编号:2018K15)。

(2)实验试剂与器材:高脂胆固醇饲料购自于上海市帆泊生物技术有限公司,实验导管球囊(型号:12A0602F)购自美国爱德华生命科学世界贸易公司上海代表处。USphere™ 超声泡购自南京云桥生物技术有限公司,ICAM-1 抗体(型号:bs-0608R)购自于北京博奥森生物技术有限公司。

(3)实验仪器及设备:配备造影功能的超声诊断仪(Toshiba/Aplio400,日本),探头频率 9~14 MHz;配备 9 MHz 高频探头的便携式 SonoSite(索诺声)M-Turbo 超声机;UltraMix 振荡器;涡旋震荡仪 Vortex-QL-861;光学显微镜(LAICA DM2000,德国)。

1.2 抗 ICAM-1 纳米靶向超声泡的制备

以生物素亲和素链接法制备抗 ICAM-1 纳米靶向超声泡,使用特定的 UltraMix 振荡器(频率 2 000 次/min,40 s)将标记亲和素 USphere™ 超声裸泡活化(800 μL/瓶),接着将 40 μL Biotin/FITC-ICAM-1 抗体加入超声泡瓶内,并以涡旋震荡仪充分混悬 10 s,后置于室温下孵育 30 min,用离心机去除没结合的抗体。用荧光显微镜(400×)观察超声泡与 ICAM-1 的结合情况,并通过流式细胞仪检测 Biotin/FITC-ICAM-1 与超声泡的结合率。

1.3 建立动物模型

20 只实验兔随机分为 4 组:对照组、建模 2 周组、建模 4 周组、建模 6 周组,各 5 只兔,建模组均采用高脂胆固醇饲料喂养+外科球囊损伤法构建 As 兔模型。建模组实验兔适应性喂养 1 周,行外科球囊损伤腹主动脉介入手术,肌注氯胺酮、速新眠(2

: 1 配比)复合麻醉(0.25 mL/kg),仰卧位,所有实验兔均剔除左下肢的被毛,分离出股动脉,于该处滴注利多卡因扩张血管,导管在便携式超声仪器(SonoSite, M-Turbo)监视下沿股动脉入腹主动脉内,至肾动脉水平上方2 cm处(进管长度约20 cm),气囊充气7.5个大气压,向下拉至腹主动脉-髂总动脉分叉处,重复此操作4次。继续饲养至实验设计的各组检查时间点。

1.4 兔腹主动脉超声造影及分析

于实验设计的各时间点对新西兰大耳兔肌注0.1 mL/kg的速眠眠进行麻醉,仰卧于操作床上,剃去超声操作区的腹壁毛发,于左侧耳缘静脉处置以留置针。探头发射频率11 MHz,深度1 cm,帧频45 帧/s,机械指数0.08,造影过程中保持各参数不变。常规二维及彩色多普勒超声明确腹主动脉血管壁最厚处,并记录靶目标距髂总动脉分叉处的距离,方便取材。4组实验兔均按0.3 mL/kg的剂量经留置针处快速团注ICAM-1纳米靶向泡,后立即注射1 mL的PBS冲刷管道,与此同时获取造影模式下的连续动态图像。脱机分析造影图像,手动圈出内膜中膜厚度最厚处,利用超声仪器自带软件对靶目标区的显影情况进行分析,获取造影达峰时间、达峰强度、曲线下面积等参数。

1.5 血脂检测

4组实验兔在超声检查完成后,剔除心脏搏动最强点周围兔毛,碘伏消毒,利用超声仪器进行可视化穿刺操作,经肋间刺入心脏,抽取5 mL血液。在4℃下将全血离心15 min获得血清,对血清样品用酶法测定血浆总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)和低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)水平。

1.6 病理检查

将截取的腹主动脉置入4%的福尔马林液中封固,石蜡包埋,横切石蜡块获取组织横切面,厚度约4 μm ,一方面使用光学显微镜观察组织的HE染色情况;另一方面将切片经苏木精复染、脱水、透明、封片后用光学显微镜(400 \times)观察ICAM-1阳性染色区域,黄褐色为阳性表达,每组随机选取5个视野,使用IPP 6.0软件测定阳性染色积分光密度值,以5张切片的平均值作为每组的平均积分光密度(integrated optical density mean, IODM)值,IODM值的高低与ICAM-1的含量呈正相关。

1.7 统计学方法

采用SPSS 25.0统计分析软件,所有计量资料均采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析, $P<0.05$ 被认为差异有统计学意义。采用Pearson相关性分析法,将超声造影各参数与病理结果进行相关性分析, $P<0.05$ 被认为相关性具有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

除建模4周组1只实验兔因进食不佳、营养不良中途死亡外,余所有实验兔均成功接受纳米靶向超声泡造影检查,并取材完成病理检查。

2.2 ICAM-1抗体与纳米超声泡结合的结果

荧光显微镜下观察可见与ICAM-1抗体结合的纳米泡其表面发出绿色荧光环,而裸泡没有。流式细胞仪的进一步检测结果显示,ICAM-1抗体与纳米泡有效结合率为72.6%(图1)。以上实验结果表明,我们通过生物素链接亲和素法成功制备了抗ICAM-1纳米靶向超声泡。

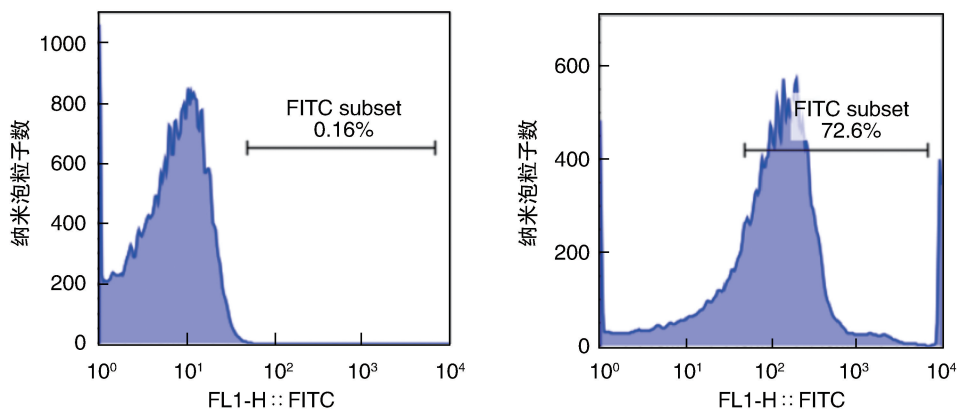


图1. 流式细胞仪检测结果 左图为裸微泡;右图为ICAM-1抗体与微泡结合,生物素标记的ICAM-1抗体与亲和素化的USphere™纳米超声泡的结合率为72.6%。

Figure 1. Results of flow cytometry

2.3 各组血脂检测结果

比较各组的 TC、TG、LDL、HDL 水平,发现其均

随着建模时间的延长而升高,其中对照组各项血脂指标最低,建模 6 周组最高($P<0.05$;表 1)。

表 1. 各组实验兔血脂水平的比较

Table 1. Comparison of blood lipid levels of experimental rabbits in each group

mmol/L

分组	<i>n</i>	TC	TG	LDL	HDL
对照组	5	1.67±0.14	1.11±0.09	1.27±0.25	0.59±0.09
建模 2 周组	5	11.02±4.38 ^a	1.55±0.16 ^a	10.99±3.38 ^a	0.68±0.08 ^a
建模 4 周组	4	17.94.47±9.93 ^{ab}	1.95±0.16 ^{ab}	12.03±5.29 ^{ab}	0.70±0.08 ^{ab}
建模 6 周组	5	34.55±9.89 ^{abc}	3.19±0.50 ^{abc}	15.65±4.26 ^{abc}	1.24±0.30 ^{abc}
<i>F</i> 值		18.88	49.93	12.25	15.82
<i>P</i> 值		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

a 为 $P<0.05$,与对照组比较;b 为 $P<0.05$,与建模 2 周组比较;c 为 $P<0.05$,与建模 4 周组比较。

2.4 各组二维超声及靶向超声造影结果

2.4.1 二维超声 对照组血管内膜中膜厚度不能被显示,在建模 2 周组血管内膜中膜厚度稍增厚,厚度约为(0.17±0.02)mm;建模 4 周组、建模 6 周

组腹主动脉内膜面可见较小粥样斑块形成,血管内膜中膜厚度分别约(0.22±0.02)mm、(0.43±0.06)mm,随着建模时间的延长,血管内膜中膜厚度逐渐增大(图 2)。

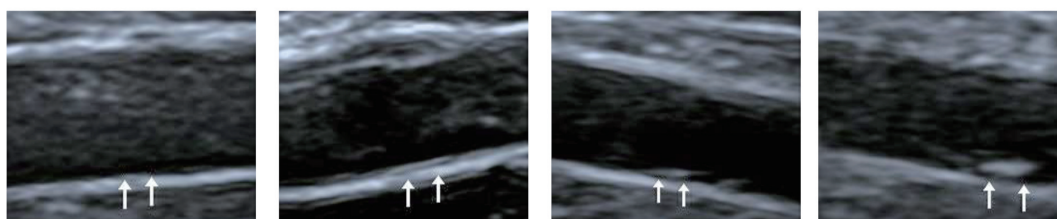


图 2. 二维超声显示各组腹主动脉血管内膜中膜厚度情况

从左至右依次为对照组、建模 2 周组、建模 4 周组、建模 6 周组。白色箭头所指处为血管内膜中膜厚度最厚处。

Figure 2. Two-dimensional ultrasound showed the intima-media of abdominal aorta in each group

2.4.2 超声造影 相对于对照组来说,建模的 3 组在造影剂注入 2 min 时,血管腔内造影剂消退没有差异,但后者的血管壁仍持续显影,且随着建模时间的延长,造影剂的灌注逐渐增多(图 3)。利用

机器自带软件分析腹主动脉血管壁最厚处获取靶向超声造影曲线,结果显示,随着建模时间的延长,各组达峰时间无明显差异,而峰值强度、曲线下面积平均值均逐渐增大($P<0.05$;表 2)。

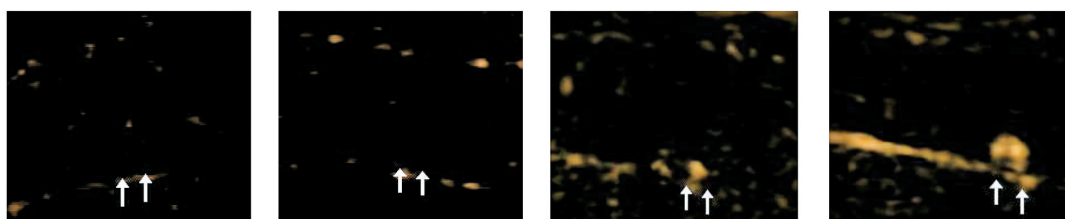


图 3. 超声造影 2 min 后各组腹主动脉的显影情况

从左至右依次为对照组、建模 2 周组、建模 4 周组、建模 6 周组。白色箭头所指处为血管内膜中膜厚度最厚处的延迟显影。

Figure 3. The development of abdominal aorta in each group 2 minutes after contrast-enhanced ultrasound

2.5 HE 染色及 ICAM-1 免疫组织化学染色结果

2.5.1 HE 染色病理切片观察 对照组腹主动脉血管内皮排列完整,平滑肌细胞排列整齐,呈长

梭形,血管内未见脂质沉积;建模 2 周组血管壁中膜平滑肌层明显增厚,平滑肌细胞排列紊乱,内皮细胞下尚未形成斑块;建模 4 周组及 6 周组中膜平滑

肌细胞亦增殖明显,且在 endothelial 细胞下方有大量的泡沫细胞堆积成粥样斑块(图4)。

表 2. 各组靶向超声造影曲线参数比较

Table 2. Comparison of curve parameters of targeted contrast-enhanced ultrasound in each group

分组	<i>n</i>	峰值强度	达峰时间/s	曲线下面积
对照组	5	8.20±0.84	12.20±1.30	303.20±13.16
建模 2 周组	5	10.60±1.34 ^a	13.60±1.14	345.80±31.90 ^a
建模 4 周组	4	13.80±1.75 ^{ab}	13.00±2.83	393.25±14.86 ^{ab}
建模 6 周组	5	16.80±2.39 ^{abc}	13.40±2.88	424.20±19.02 ^{abc}
<i>F</i> 值		23.90	0.42	30.30
<i>P</i> 值		<0.05	>0.05	<0.05

a 为 $P<0.05$, 与对照组比较; b 为 $P<0.05$, 与建模 2 周组比较; c 为 $P<0.05$, 与建模 4 周组比较。

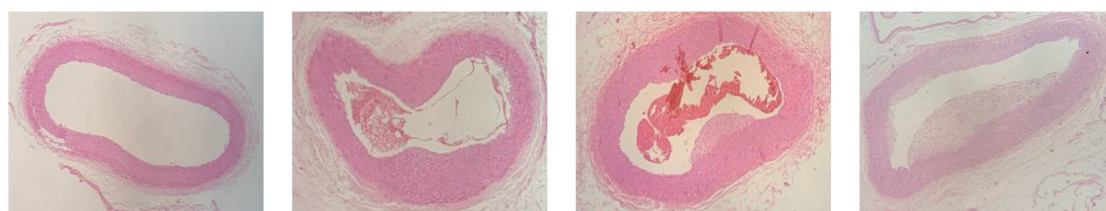


图 4. HE 染色检测粥样斑块(40×) 从左至右依次为对照组、建模 2 周组、建模 4 周组、建模 6 周组。

Figure 4. Atherosclerotic plaques were detected by HE staining(40×)

2.5.2 ICAM-1 免疫组织化学染色病理切片观察

根据镜下细胞形态的不同,观察到对照组仅在血管内皮上出现极少量的 ICAM-1 阳性表达(棕褐色),但在建模的 3 组除了在血管内皮细胞还在平滑肌细胞上出现阳性染色,且阳性染色密度远高于对照组,此外建模 4 周组及 6 周组粥样斑块内的阳

性染色密度最高,泡沫细胞着色显著(图5)。IPP 6.0 软件测量 4 组 ICAM-1 阳性染色区的 IODM 值分别为 $(0.37 \pm 0.12) \times 10^3$ 、 $(21.30 \pm 4.11) \times 10^3$ 、 $(30.38 \pm 3.12) \times 10^3$ 、 $(48.78 \pm 4.79) \times 10^3$,随着建模时间的延长,IODM 值增高,差异有统计学意义($P<0.05$)。

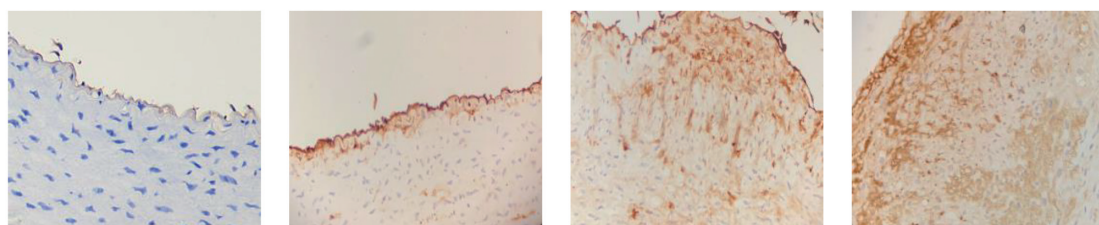


图 5. 免疫组织化学染色检测各组 ICAM-1 表达(400×) 从左至右依次为对照组、建模 2 周组、建模 4 周组、建模 6 周组。

Figure 5. The expression of ICAM-1 was detected by Immunohistochemistry(400×)

2.6 相关性分析

相关性分析显示,ICAM-1 在腹主动脉管壁的阳性染色的 IODM 与靶向超声造影参数峰值强度、曲线下面积呈正相关($r=0.835, P<0.05$; $r=0.868, P<0.05$)。

3 讨论

目前可用于建立 As 模型的动物主要有兔、鼠、

猪、鸡和猴等,本实验选取了最早使用的实验动物雄性新西兰兔,它一方面对外源性胆固醇有较高的吸收率,另外一方面对高脂血症的清除力较低。本研究采取在饲养高脂胆固醇饲料基础上以导管球囊机械损伤血管内皮细胞,以期在较好复制人类 As 病变发生基础上,较快的建立实验模型。在建模的过程中兔血脂水平在不同阶段发生明显变化,表明 As 病变的发生、发展与血脂水平密切相关,与 Li 等^[7]的前期研究结果相符。

As 虽是临床上最为常见的疾病之一,迄今为止有关其发病机制的说法尚未完全统一,但大量的临床及基础研究支持 As 是一种炎症性病变^[8-9],贯穿疾病的全过程,且与 As 多种并发症的发生息息相关。损伤因素通过调控与炎症发生相关的核因子 κ B 信号通路上调 ICAM-1 的表达^[10],促进 As 的发生、发展。ICAM-1 作为与 As 相关的炎症标志物,早已成为靶向炎症的影像诊断与治疗的分子探针^[11-13]。目前临床上仍以常规超声作为 As 的主要检查手段,但其难以发现 As 的早期炎症,不能确定斑块内炎症程度,仅依据斑块形态学特点判定斑块的稳定性^[14]。而超声分子影像学可为 As 早期炎症的诊断提供分子水平的影像学依据。

本实验通过制备抗 ICAM-1 纳米靶向超声泡,将对照组和建模组进行超声造影,建模 2 周组、4 周组、6 周组在造影剂注入 2 min 时,血管腔内的造影剂完全消退,而管壁出现持续延迟显影,局部增强较为明显,且随着建模时间的延长,造影参数峰值强度、曲线下面积也相应增大,差异有统计学意义;而对照组血管腔和血管壁的造影剂基本同时消退。提示本研究制备的抗 ICAM-1 纳米靶向超声泡能在 As 病变血管上靶向持续显影,进一步证实靶向造影剂对 As 病变分子成像的可行性,与 Zhang 等^[15]的研究结果相似,但 Zhang 等在靶向造影剂注入体内后的观察时间较长,其实验发现即使造影剂注入 10 min 后,病变血管壁局部仍持续显影。通过检测病变血管的 ICAM-1 蛋白的表达结果,发现相较于对照组,建模 2 周在内皮细胞及平滑肌均出现 ICAM-1 的阳性表达,这一发现与前人的研究结果相符^[16],且随着建模时间的延长,内皮细胞下方形成早期的脂质斑块,且至建模 6 周时,斑块明显增大,ICAM-1 的阳性染色在单核细胞、巨噬细胞上均成阳性表达,与毛洋等^[17]的研究结果相符。分析靶向造影参数峰值强度、曲线下面积与 ICAM-1 组织化学染色的 IODM 值发现,两者呈线性相关。本实验利用抗 ICAM-1 纳米靶向超声泡评估 As 的炎症程度,定量分析 As 病变血管的增强程度,为早期检测 As 病变血管的炎症提供较为客观、可量化的指标。

本实验尚存在不足之处,研究使用的样本量较少,有待后续加大样本量,通过抗 ICAM-1 纳米靶向超声泡实现 As 炎症的特异性检测与靶向治疗,或将作为进一步的研究方向。

总而言之,本研究通过生物素链接亲和素法成功制备了抗 ICAM-1 纳米靶向超声泡,并对 As 血管壁的早期炎症进行超声分子成像,可作为监测炎症变化

的有效检查手段,为后续的靶向治疗奠定实验基础。

[参考文献]

- [1] GBD 2016 Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980-2016: a systematic analysis for the global burden of disease study 2016 [J]. *Lancet*, 2017, 390(10100): 1151-1210.
- [2] Barquera S, Pedroza-Tobias A, Medina C, et al. Global overview of the epidemiology of atherosclerotic cardiovascular disease[J]. *Arch Med Res*, 2015, 46(5): 328-338.
- [3] 刘智. ICAM-1 与动脉粥样硬化[J]. *国际老年医学杂志*, 2001, 22(4): 149-151.
- [4] Jansen F, Yang X, Baumann K, et al. Endothelial microparticles reduce ICAM-1 expression in a microRNA-222-dependent mechanism [J]. *J Cell Mol Med*, 2015, 19(9): 2202-2214.
- [5] 陈丽红, 管又飞. 巨噬细胞移动抑制因子及其在动脉粥样硬化中的作用[J]. *生理科学进展*, 2006, 37(1): 45-47.
- [6] 聂波, 徐颖, 徐冰, 等. 四妙勇安汤提取物对脂多糖诱导的巨噬细胞表达 ICAM-1 和 MMP-9 的影响[J]. *辽宁中医杂志*, 2013, 40(7): 1479-1481.
- [7] Li X, Zhang R, Li Z, et al. Contrast-enhanced ultrasound imaging quantification of adventitial vasa vasorum in a rabbit model of varying degrees of atherosclerosis[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 7032.
- [8] 朱平先. 相关炎症因子与动脉粥样硬化[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2011, 19(3): 283.
- [9] 江珍珍, 刘夏天, 马彩叶, 等. 白细胞介素 18 靶向超声微泡对动脉斑块分子成像的实验研究[J]. *中华危重症医学杂志(电子版)*, 2018, 11(2): 34-37.
- [10] 白玉, 王中群, 姚文健, 等. 核因子- κ B 与细胞间黏附分子-1 在人冠状动脉粥样硬化斑块中的表达及与病变进展的关系[J]. *中国老年学杂志*, 2010, 30(17): 2420-2422.
- [11] Kaufmann BA, Sanders JM, Davis C, et al. Molecular imaging of inflammation in atherosclerosis with targeted ultrasound detection of vascular cell adhesion molecule-1 [J]. *Circulation*, 2007, 116(3): 276-284.
- [12] 李馨, 高云华, 谭开彬, 等. 携抗 ICAM-1 超声造影剂对兔腹主动脉损伤内膜靶向显影的实验研究[J]. *中国超声医学杂志*, 2005, 21(1): 14-17.
- [13] 周青. 携抗细胞间黏附分子-1 微泡对心肌梗死受损内皮靶向识别的实验研究[J]. *武汉大学学报(医学版)*, 2014, 35(3): 329-332.
- [14] 李振洲, 邵玉凤, 陈胜华, 等. 颈动脉斑块稳定性超声评估与血浆脂蛋白相关磷脂酶 A2 水平的相关性研究[J]. *中国临床医学影像杂志*, 2019, 30(3): 166-168.
- [15] Zhang YJ, Bai DN, Du JX, et al. Ultrasound-guided imaging of junctional adhesion molecule-A-targeted microbubbles identifies vulnerable plaque in rabbits[J]. *Biomaterials*, 2016, 94: 20-30.
- [16] 王祥魁. HIF-1 及 ICAM-1 在兔髂动脉内膜损伤后血管中的表达及意义[D]. 蚌埠: 蚌埠医学院, 2008: 1-32.
- [17] 毛洋, 刘小琼, 王洪梅, 等. 细胞间黏附分子 1、血管细胞黏附分子 1 促进兔动脉粥样硬化斑块内血管新生[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2014, 22(3): 217-222.

(此文编辑 曾学清)