

· 论著 ·

磁共振靶向成像检测大鼠纤维化心肌中肌腱蛋白 X 表达的实验研究

陆文烨 宋梦星 吴芬 夏敏 马占龙

(南京医科大学第一附属医院放射科, 江苏 南京 210029)

【摘要】目的 合成 anti-TNX-USPIO 探针, 通过磁共振靶向成像检测大鼠心肌纤维化过程中肌腱蛋白 X 表达的可行性。**方法** 36 只 SD 大鼠, 随机选取 12 只作为空白对照组皮下注射生理盐水, 24 只皮下注射异丙肾上腺素, 随机分为单纯对照组和实验组各 12 只, 每日剂量均为 5 mg/kg, 连续注射 7 d, 建立心肌纤维化大鼠模型。制备 anti-TNX-USPIO 合成探针, 进行相关表征分析。实验组尾静脉注射 anti-TNX-USPIO 合成探针, 空白对照组及单纯对照组分别尾静脉注射同等级剂量单纯超微超顺磁性氧化铁 (USPIO), 分别于打药前及打药 10 h 后行磁共振成像, 观察心肌信号强度变化, 扫描完成后进行病理学观察。**结果** 注射异丙肾上腺素后, 实验组及单纯对照组均显示为 T2WI 信号减低, 心室壁变薄。空白对照组相对信号强度 (rSI) 为 2.33 ± 0.59 , 与实验组及单纯对照组的 rSI (1.25 ± 0.11) 比较有统计学差异 ($P < 0.001$), 表明实验组与单纯对照组心室壁纤维化改变, 建模成功。注入探针后, 实验组可见心肌信号强度减低, 实验组打药后 rSI 为 1.06 ± 0.12 , 与打药前的 rSI (1.21 ± 0.11) 比较有统计学差异 ($P < 0.001$); 单纯对照组及空白对照组心肌信号强度未见明显减低, 合成探针 anti-TNX-USPIO 对 T2WI 信号有明显减低作用。Masson 染色显示单纯对照组及实验组心肌细胞间纤维组织大量增生, 表明心肌纤维化改变。普鲁士蓝染色显示实验组心肌细胞内可见明显铁颗粒沉积, 验证了纤维化心肌细胞中 TNX 抗体探针的存在。**结论** 纤维化心肌细胞中存在心肌表达 TNX, anti-TNX-USPIO 合成探针可实现大鼠心肌纤维化细胞中 TNX 体内靶向成像的检测目的, 可将 TNX 作为心肌纤维化治疗的特异性靶点, 为下一步临床研究提供思路。

【关键词】 肌腱蛋白 X; 心肌纤维化; 磁共振成像; 超微超顺磁性氧化铁**【DOI】** 10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2022.05.019

Experimental Study on Expression of Tenascin-X in Fibrotic Myocardium of Rat by Magnetic Resonance Targeted Imaging

LU Wenyue, SONG Mengxing, WU Fen, XIA Min, MA Zhanlong

(Department of Radiology, The First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu, China)

【Abstract】Objective An anti-TNX-USPIO probe was synthesized to detect the feasibility of tenascin-X (TNX) protein expression in myocardial fibrosis by magnetic resonance targeted imaging. **Methods** Thirty-six SD rats were randomly selected as blank control group by subcutaneous injection of normal saline, and 24 rats by subcutaneous injection of isoproterenol were randomly divided into simple control group ($n = 12$) and experimental group ($n = 12$), with a daily dose of 5 mg/kg for 7 days, to establish myocardial fibrosis rat model. The anti-TNX-USPIO synthesis probe was prepared and the characterization analysis was carried out. In the experimental group, anti-TNX-USPIO synthetic probe was injected into the tail vein, and in the blank control group and the simple control group, USPIO with the same grade of dose was injected into the tail vein respectively. Magnetic resonance imaging was performed before administration and 10 hours after administration to observe changes in myocardial signal intensity, and pathological observation was performed after scanning. **Results** After injection of isoproterenol, both the experimental group and the simple control group showed decreased T2WI signal and thinner ventricular wall. The relative signal intensity (rSI) in the blank control group was 2.33 ± 0.59 , which was statistically significant compared with the rSI (1.25 ± 0.11) of the experimental group and the simple control group ($P < 0.001$), indicating that the experimental group and the simple control group had fibrotic changes in ventricular wall, and the modeling was successful. After probe injection, the intensity of myocardial signal decreased in the experimental group, and the rSI of the experimental group after administration was 1.06 ± 0.12 , which was statistically significant compared with that before administration (1.21 ± 0.11) ($P < 0.001$). There was no significant decrease in the intensity of myocardial signal in the simple control group and the blank control group, and the synthetic probe anti-TNX-USPIO had a significant reduction in the intensity of T2WI signal.

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81971669)

通信作者: 马占龙, E-mail: mazhanlong@126.com

Masson staining showed a large number of fibrous tissues between the simple control group and the experimental group, indicating myocardial fibrosis changes. Prussian blue staining showed iron particles deposition in myocardial cells of the experimental group, confirming the presence of TNX antibody probes in fibrotic myocardial cells. **Conclusion** TNX protein is expressed in myocardium in fibrotic cardiomyocytes, and the anti-TNX-USPIO synthetic probe can achieve the purpose of in vivo targeted imaging detection of TNX protein in rat myocardial fibrosis cells, and TNX can be used as a specific target for the treatment of myocardial fibrosis, providing ideas for the next clinical study.

【Key words】 Tenascin-X; Myocardial fibrosis; Magnetic resonance imaging; Ultrasmall superparamagnetic iron oxide

心力衰竭是一个主要的公共卫生问题,全世界心力衰竭的患病率较高。尽管治疗策略取得了重大进展,但心力衰竭的发病率和死亡率仍很高^[1]。心肌纤维化的特征是心肌中细胞外基质蛋白的过多沉积,是几乎所有形式心力衰竭的必要组成部分^[2-3]。因此,检测心肌纤维化的发生,对及早发现和治疗心力衰竭起着重要作用^[4-6]。心脏磁共振成像作为一种无创评估心肌纤维化的强大工具^[7],检测磁共振 T2 加权成像(T2 weighted imaging, T2WI)低信号则反映心肌梗死后局部心肌组织的纤维化改变。肌腱蛋白是细胞外基质最大的基底膜糖蛋白家族,肌腱蛋白 X(tenascin-X, TNX)是其中表达量最高且促进心肌纤维化的主要结构蛋白^[8-9],促进表皮细胞向间质细胞转化,调节基底膜细胞之间的黏附性。TNX 的高表达加快了表皮样细胞向纤维化细胞的转变,促进了心肌的纤维化,进而影响了心肌细胞的血液再灌注及心肌修复^[8,10-12]。动态检测心肌纤维化细胞中 TNX 的表达,对于准确地评估心肌纤维化的发生和发展,促进心血管疾病的防治水平,具有重要的临床价值,是研究心肌纤维化变化的理想特异性靶点。

本研究通过合成 anti-TNX-USPIO 探针,利用 7.0 T 磁共振检测 TNX 在大鼠心肌纤维化细胞中的表达,目的是评估探针靶向检测 TNX 表达的可行性,探索 TNX 作为检测靶点是否可行,促进心肌纤维化的在体评估和诊治水平。

1 材料与方法

1.1 心肌纤维化大鼠模型建立

选取 36 只 6 周龄无特定病原雄性 SD 大鼠,体重(225 ± 10)g(购于北京维通利华实验动物技术有限公司),分为空白对照组($n = 12$)、单纯对照组($n = 12$)和实验组($n = 12$)。单纯对照组和实验组均皮下注射异丙肾上腺素,每日剂量为 5 mg/kg,连续注射 7 d;空白对照组皮下注射同等剂量生理盐水,连续注射 7 d。大鼠均饲养于无特定病原屏障内,3 只/笼,正常饮食饮水,环境温度维持于 20 ~ 22 °C,相对湿度为 55% ~ 60%。

1.2 anti-TNX-USPIO 探针合成及表征分析

选用乙酰丙酮铁作为前驱反应物,溶剂选用二苯醚,选用 500 mL 三颈烧瓶,依次加入 20 mmol 乙酰丙

酮铁、100 mL 二苯醚和 23 mL 油酸,调节氮气速率为 130 mL/min,在冷凝回流条件下进行升温,以此合成 10 nm 级 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{OA}$ 纳米颗粒。采用旋转蒸发法,在 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{OA}$ 纳米颗粒表面修饰 DSPE-PEG2000-COOH,制得 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{OA}@ \text{PEG}$ 纳米颗粒水溶液。于 4 mL 三氯甲烷中加入 150 mg DSPE-mPEG2000 和 50 mg DSPE-PEG2000-COOH,充分溶解后加入铁含量为 10 mg 的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{OA}$ 纳米颗粒,用 100 Hz 超声充分混合,胶乳去离子水后蒸发 10 min 获得稳定的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{OA}@ \text{PEG}$ 纳米颗粒水溶液。采用一步法偶联抗体制备合成探针,取 1 mg $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{OA}@ \text{PEG}$ (以 Fe 计)溶液,加入 200 μL 多克隆 TNX 抗体(购自南京凯默尔生物科技中心),加入 100 μL 维持电解质溶液(0.01 M, pH = 5.5)调节溶液 pH 至 5,加入 1.0 mg 二氯乙烷进行交联,置于摇床混匀吸附 30 min(120 r/min)。反应结束后用磁分离柱纯化游离抗体,纯化后的 anti-TNX-USPIO 靶向探针再次悬浮于磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffered saline, PBS)中,4 °C 冰箱保存。

采用透射电子显微镜测定探针粒径,动态光散射分析仪测定探针水和粒径及 Zeta 电位。在 7.0 T 磁共振下用不同铁浓度测定 T2 弛豫率。

1.3 磁共振图像采集及分析

实验组($n = 12$)注入 anti-TNX-USPIO 合成探针(剂量为 10 mg Fe/kg),空白对照组($n = 12$)和单纯对照组($n = 12$)分别注入同等剂量单纯超微超顺磁性氧化铁(ultrasmall superparamagnetic iron oxide, USPIO),均采用尾静脉注射。三组大鼠分别于打药前及打药 10 h 后行磁共振成像,比较前后心肌信号强度变化。

心脏磁共振采用 7.0 T 磁共振扫描仪(Bruker PharmaScans, Germany, 南京医科大学磁共振影像实验室),大鼠线圈,接心电呼吸门控,通过气体麻药量调节心率约 300 次/min,呼吸频率维持约 35 次/min。主要参数:视角 3 cm × 3 cm,矩阵 256 × 256,回波时间 3.5 ms,重复时间 130 ms,扫描层厚 1 mm,翻转角 30°。

图像扫描完成后,采用 Image J 软件计算心肌细胞的磁共振成像信号强度,在 T2WI 序列上每个标本画 3 个感兴趣区,取其平均值。相对信号强度(relative signal intensity, rSI)定义为同层面心肌信号强度/肌肉信号强度。

1.4 病理学检查

扫描完成后,采用 10% 水合氯醛过量麻醉处死大鼠(剂量 5 mL/kg),开胸取大鼠心脏标本,用生理盐水及 PBS 反复冲洗,固定于 4% 多聚甲醛。常规浸蜡包埋进行冰冻切片,片厚 4 μm 。光学显微镜下观察心脏组织结构变化。标本分别作苏木精-伊红染色、Masson 染色和普鲁士蓝染色,苏木精-伊红染色观察心肌细胞形态,Masson 染色观察心肌细胞纤维化情况,普鲁士蓝染色观察心肌细胞内铁颗粒沉积情况。

1.5 统计学方法

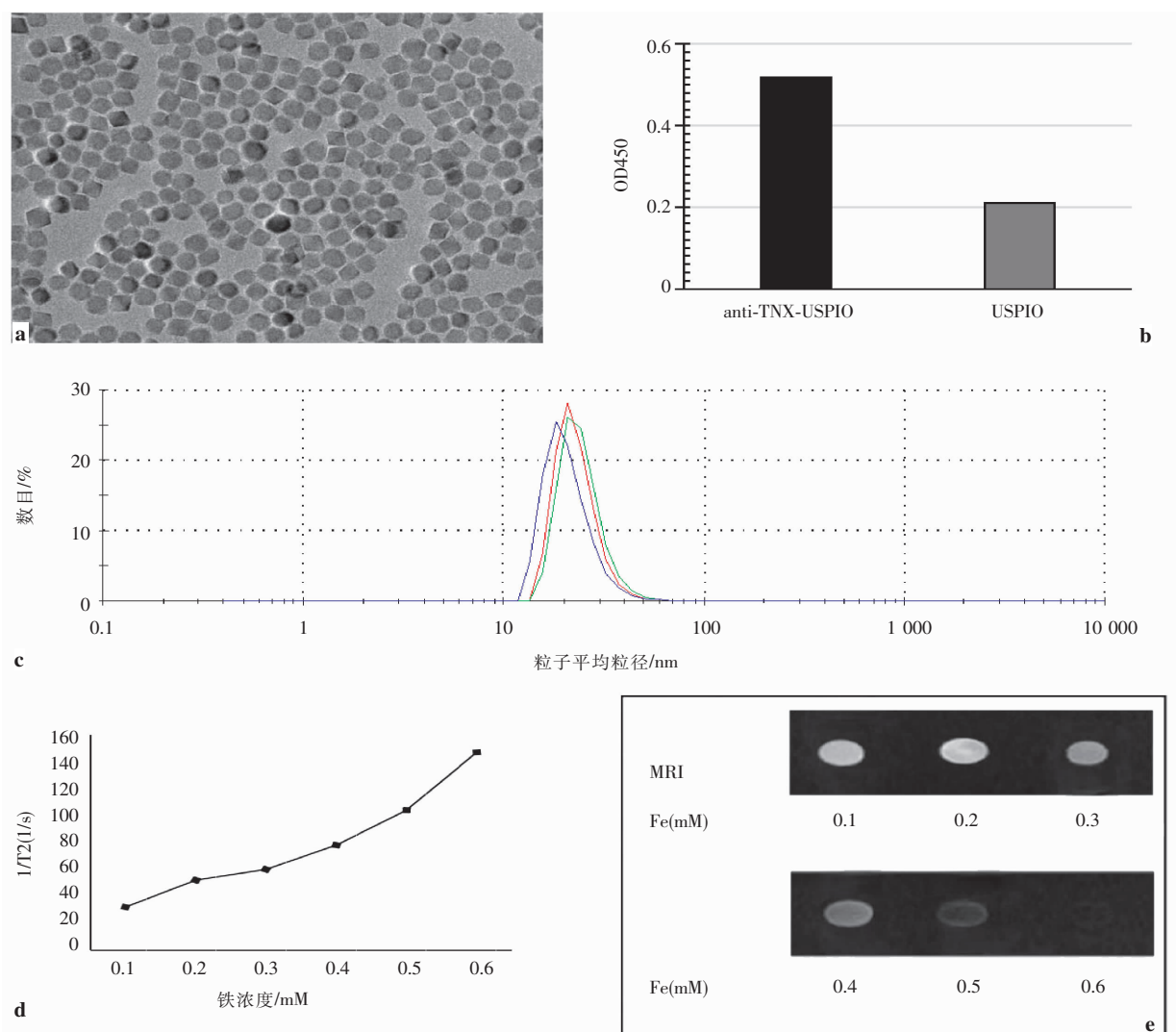
采用 SPSS 21.0 统计软件,数据为计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,三组组间磁共振信号两两比较行单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 anti-TNX-USPIO 合成探针的表征分析

靶向 TNX 抗体的合成探针溶液呈棕色清澈液体,

透射电子显微镜下显示探针呈类球形,于 PBS 中稳定分布,未见明显团聚物形成(图 1a)。单纯 USPIO 的水合粒径为 $(15.55 \pm 0.45) \text{ nm}$,合成探针的水合粒径为 $(22.89 \pm 1.66) \text{ nm}$,二者比较有显著性差异($P = 0.002$),表明 TNX 抗体与 USPIO 纳米颗粒成功连接。将不同时间点的探针水和动力尺寸分布绘制成图(图 1c),说明合成探针颗粒分散性较好,无明显聚集,保证探针在储存过程中不会发生明显变化。合成前单纯 USPIO 的 Zeta 电位为 $-(46.2 \pm 1.38) \text{ mV}$,合成后 TNX 抗体探针的 Zeta 电位为 $-(22.27 \pm 3.61) \text{ mV}$,二者之间差异有统计学意义($P < 0.001$),再次证明 TNX 抗体已成功连接 USPIO 纳米颗粒。ELISA 结果显示 TNX 合成探针保持较高的生物活性,而单纯 USPIO 几乎无活性(图 1b)。磁共振检测合成探针的 T2 弛豫效能为 $193.2 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (图 1d 和图 1e),表明合成探针具有良好的超顺磁性。



注:图 a 为合成探针在 PBS 中均匀分布,图 b 为 ELISA 法检测 OD450 值,图 c 为不同时间点合成探针的水和动力尺寸分布图,图 d 和图 e 为不同铁浓度下检测 T2 弛豫效能。

图 1 anti-TNX-USPIO 合成探针表征分析

2.2 TNX 探针靶向心肌纤维化大鼠心脏磁共振成像及信号分析

三组大鼠分别通过尾静脉注入 anti-TNX-USPIO (实验组) 及单纯 USPIO (单纯对照组和空白对照组), 应用 7.0 T 磁共振进行前后两次活体成像扫描。探针注入前, 空白对照组未见明显心肌异常改变 (图 2a), 实验组及单纯对照组均显示为 T2WI 信号减低 (图 2c 和图 2e), 实验组及单纯对照组左心室壁厚度 $[(1.26 \pm 0.14) \text{ mm}]$ 与空白对照组左心室壁厚度 $[(2.73 \pm 0.23) \text{ mm}]$ 相比有统计学意义 ($P < 0.001$), 表明心室壁变薄。空白对照组 rSI 为 2.33 ± 0.59 , 与实验组及单纯对照组的 rSI (1.25 ± 0.11) 比较有统计学意义 ($P < 0.001$), 表明实验组与单纯对照组心室壁纤维化改变, 与既往研究相符, 建模成功。

与注入前比较, 注入 anti-TNX-USPIO 及单纯 USPIO 后 10 h, 实验组可见心肌信号强度减低 (图 2f), 实验组打药后 rSI 为 1.06 ± 0.12 , 与打药前的 rSI (1.21 ± 0.11) 比较有统计学意义 ($P < 0.001$); 单纯对照组心肌信号强度未见明显减低, 打药后 rSI 为 1.30 ± 0.15 , 与打药前的 rSI (1.29 ± 0.11) 比较无显著差异性 ($P = 0.783$); 空白对照组心肌信号强度未见明显减低 (图 2b), 打药后 rSI 为 2.17 ± 0.28 , 与打药前的 rSI (2.33 ± 0.59) 比较无显著差异性 ($P = 0.240$)。结果显示实验组打药前后心肌信号强度明显减低, 表明合成探针 anti-TNX-USPIO 对 T2WI 信号有明显减低作用。

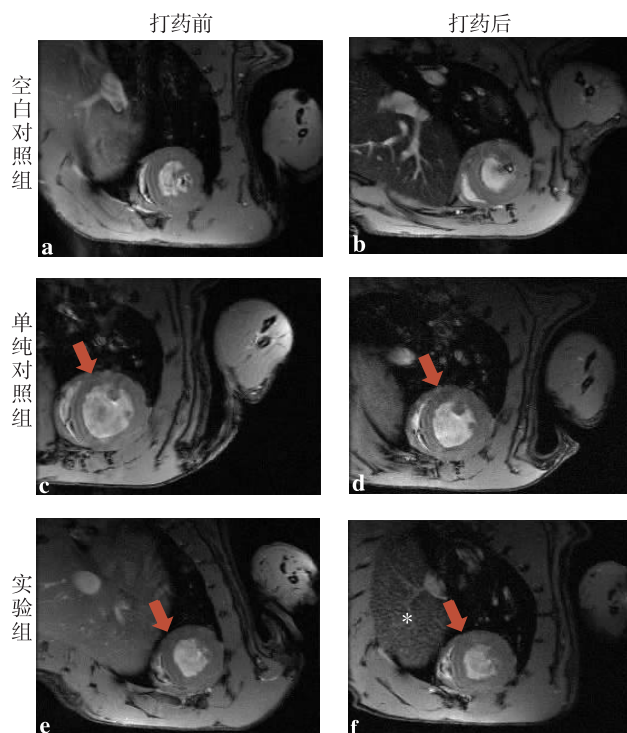
2.3 病理学检查结果

Masson 染色显示单纯对照组和实验组心肌细胞间纤维组织大量增生 (图 3A-b 和图 3A-c), 表明心肌纤维化改变, 已成功建立心肌纤维化模型。普鲁士蓝染色证实空白对照组心肌细胞内无明显铁颗粒沉积 (图 3C-a), 单纯对照组心肌细胞内少许铁颗粒沉积 (图 3C-b), 实验组心肌细胞内见明显铁颗粒沉积 (图 3C-c), 验证了纤维化心肌细胞中 TNX 抗体探针的存在。

3 讨论

心肌纤维化是纤维结缔组织对心脏侵害的结果, 是指心肌组织中胶原纤维过量沉积、各型胶原比例失调、胶原纤维排列紊乱以及最终导致心脏结构重构 (包括心腔扩大、室壁变薄和心肌细胞肥大及凋亡)。在刺激的作用下, 血液循环的增加以及心肌促纤维化生长因子和细胞因子水平的升高, 均可引发纤维化反应。心肌纤维化形成机制较复杂, 心肌纤维化发生在多种促纤维化因子起作用时, 存在于心脏的多种细胞类型, 促纤维化因子可作为心肌细胞丧失 (即修复性

纤维化) 反应的一部分被激活, 也可通过机械和非机械 (如神经激素、炎症或代谢) 对心脏的应激 (即反应性纤维化) 被激活^[13]。在效应期, 这种促纤维化生长因子和细胞因子与它的受体结合, 然后触发信号通路和转录因子的激活, 在这些激活刺激的响应下, 成纤维细胞转化为肌成纤维细胞, 导致 α -平滑肌肌动蛋白的高表达, 从而调节细胞外基质的平衡。心肌纤维化的特征是过量的胶原纤维沉积。胶原纤维沉积可表现为微瘢痕或位于单个心肌细胞和心肌细胞束周围或心肌内血管周围的间质间隙内的大束胶原沉积^[14]。使用心脏磁共振或 CT 测量心肌细胞外体积可检测弥漫性心肌纤维化, 心肌细胞外体积能反映胶原纤维沉积的数量。晚期增强心脏磁共振可提供高分辨率的心肌组织表征, 识别局部心肌的纤维化瘢痕, 间接成为评估纤维化病变的技术^[15]。但这些技术难以实现对心肌纤维化的精准检测与评估。



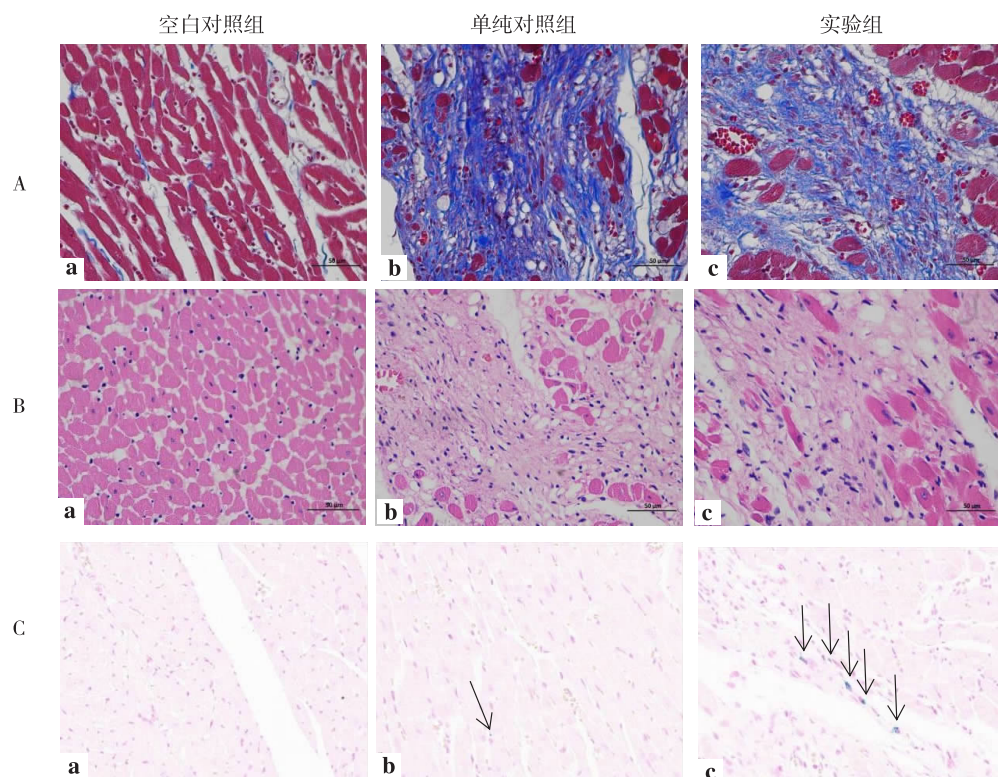
注: 空白对照组 (图 a 和图 b) 与单纯对照组 (图 c 和图 d) 注入单纯 USPIO 以及实验组 (图 e 和图 f) 注入 anti-TNX-USPIO 前后对比图像, 实验组及单纯对照组与空白对照组比较, 左心室壁厚度变薄, 心肌信号减低 (红色箭头所示); 与注入前比较, 实验组心肌信号强度减低, 肝实质信号减低 (* 所示), 空白对照组与单纯对照组无明显改变。

图 2 大鼠心脏磁共振成像 T2WI 序列图

TNX 是肌腱蛋白家族中表达量最高的蛋白, 它不仅是一种结构蛋白, 还可通过调节细胞黏附来显示基质细胞蛋白的特性, 其稳定性表达与细胞和组织的结构完整性密切相关, 其高表达与血管壁纤维化及钙化相关^[7,16-17]。TNX 也是信号通路的细胞外调节因子。

事实上, TNX 已被证明可调节转化生长因子- β 的生物利用度和调节上皮细胞的可塑性。TNX 的组织分布与肌腱蛋白 C 的分布往往是相互的, TNX 主要参与皮肤组织稳态: 限制角化细胞或成纤维细胞的增殖和迁移, 而肌腱蛋白 C 发挥相反的作用: 促进细胞分裂和运动^[17]。USPIO 的靶向成像对炎症作用很有效, 因为它直接作用于巨噬细胞^[18-20]。利用纳米氧化铁增强磁共振成像, 可利用超短回波时间来提高磁共振信号的线性度; 高分辨率成像可以结合使用, 以提高炎症量化的空间分辨率和敏感性。USPIO 可定位炎症细胞浸润的区域^[21-23]。磁共振靶向检测 USPIO 标记的巨

噬细胞的可行性已在小鼠心肌梗死研究中得到证实^[24]。USPIO 具有独特的造影剂特性, 可用于靶向心血管成像。USPIO 定位于活跃的巨噬细胞浸润区域, 并在 T2WI 上显示为低信号^[25-26]。TNX 的高表达加快了表皮样细胞向纤维化细胞的转变, 促进了心肌的纤维化, 进而影响了心肌细胞的血流再灌注及心肌修复。动态检测心肌纤维化细胞中 TNX 的表达, 对于准确地评估心肌纤维化的发生和发展, 促进心血管疾病的防治, 具有重要的临床价值, 是研究心肌纤维化的理想特异性靶点。



注: 图 A 为 Masson 染色 (×400), 空白对照组未见明显纤维化病变 (图 A-a), 单纯对照组及实验组胶原纤维大量增生 (图 A-b 和图 A-c)。图 B 为苏木精-伊红染色 (×400), 空白对照组肌肉细胞形态完整, 界限分明 (图 B-a); 单纯对照组及实验组肌肉细胞浆呈现明显嗜伊红性, 横纹消失, 组织中有广泛的炎性细胞浸润 (图 B-b 和图 B-c)。图 C 为普鲁士蓝染色 (×400), 空白对照组心肌细胞内未见明显铁颗粒沉积 (图 C-a), 单纯对照组心肌细胞内见少许铁颗粒沉积 (图 C-b 细箭头所示), 实验组心肌细胞内见明显铁颗粒沉积 (图 C-c 粗箭头所示)。

图 3 空白对照组、单纯对照组和实验组的 Masson、苏木精-伊红和普鲁士蓝染色图像

本实验在注入探针前后分别扫描, 注入探针前, 空白对照组未见明显心肌异常, 实验组和单纯对照组均显示 T2WI 信号减低, 心室壁变薄, 空白对照组的 rSI (2.33 ± 0.59) 与实验组和单纯对照组的 rSI (1.25 ± 0.11) 比较有统计学意义 ($P < 0.001$), 表明实验组与单纯对照组心室壁纤维化改变, 建模成功, 符合既往研究结果。探针注入后, 实验组可见心肌信号强度减低, 实验组打药后 rSI 为 1.06 ± 0.12 , 与打药前的 rSI

(1.21 ± 0.11) 比较有统计学意义 ($P < 0.001$); 单纯对照组及空白对照组心肌信号强度未见明显减低。普鲁士蓝染色证实实验组斑块内可见明显铁颗粒沉积, 单纯对照组仅可见少许铁颗粒沉积。大鼠体内磁共振成像结果及病理学实验表明, anti-TNX-USPIO 合成探针可作为特异性靶向 TNX 的分子成像载体, 无创和在体检测纤维化心肌内 TNX 蛋白的分布, 可将 TNX 作为心肌纤维化治疗的特异性靶点, 为下一步评估及

诊疗提供思路。

本次实验存在一定局限性,选用 10 nm 级 USPIO 合成探针所需沉积时间得到缩短,但影响探针到达靶向部位的数量,普鲁士蓝染色图像中显示铁颗粒沉积数量较少,下一步需改进探针合成,优化 anti-TNX-USPIO 探针靶向成像。

总之,纤维化心肌细胞中存在 TNX 的表达,anti-TNX-USPIO 合成探针可实现大鼠心肌纤维化细胞中 TNX 内靶向成像的检测目的,也提示 TNX 有望作为心肌纤维化治疗的特异性靶点,为下一步临床防治心肌纤维化的研究提供新思路。

参 考 文 献

- [1] Zareba KM, Truong VT, Mazur W, et al. T-wave and its association with myocardial fibrosis on cardiovascular magnetic resonance examination[J]. *Ann Noninvasive Electrocardiol*, 2021, 26(2): e12819.
- [2] López B, Ravassa S, Moreno MU, et al. Diffuse myocardial fibrosis: mechanisms, diagnosis and therapeutic approaches[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2021, 18(7): 479-498.
- [3] Prabhu SD, Frangogiannis NG. The biological basis for cardiac repair after myocardial infarction: from inflammation to fibrosis[J]. *Circ Res*, 2016, 119(1): 91-112.
- [4] 郑有聪, 陆敏杰, 陈秀玉, 等. 主动脉瓣关闭不全患者心肌纤维化的磁共振成像特征及其影响因素分析[J]. *中华心血管病杂志*, 2019, 47(8): 622-627.
- [5] Mo F, Luo Y, Yan Y, et al. Are activated B cells involved in the process of myocardial fibrosis after acute myocardial infarction? An in vivo experiment[J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2021, 21(1): 5.
- [6] Ravassa S, González A, Bayés-Genís A, et al. Myocardial interstitial fibrosis in the era of precision medicine. Biomarker-based phenotyping for a personalized treatment[J]. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*, 2020, 73(3): 248-254.
- [7] Liang K, Baritussio A, Palazzuoli A, et al. Cardiovascular magnetic resonance of myocardial fibrosis, edema, and infiltrates in heart failure[J]. *Heart Fail Clin*, 2021, 17(1): 77-84.
- [8] Valcourt U, Alcaraz LB, Exposito JY, et al. Tenascin-X: beyond the architectural function[J]. *Cell Adh Migr*, 2015, 9(1-2): 154-165.
- [9] Li L, Zhao Q, Kong W. Extracellular matrix remodeling and cardiac fibrosis[J]. *Matrix Biol*, 2018, 68-69: 490-506.
- [10] 宋佳成, 李燕, 孟欢, 等. 肌腱蛋白 C 在急性心肌梗死中的表达及磁共振靶向成像的体内实验研究[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2016, 18(1): 71-76.
- [11] Passaro F, Tocchetti CG, Spinetti G, et al. Targeting fibrosis in the failing heart with nanoparticles[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2021, 174: 461-481.
- [12] Aubert A, Mercier-Gouy P, Aguero S, et al. Latent TGF- β activation is a hallmark of the tenascin family[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 613438.
- [13] Frangogiannis NG. Cardiac fibrosis: cell biological mechanisms, molecular pathways and therapeutic opportunities[J]. *Mol Aspects Med*, 2019, 65: 70-99.
- [14] de Boer RA, de Keulenaer G, Bauersachs J, et al. Towards better definition, quantification and treatment of fibrosis in heart failure. A scientific roadmap by the Committee of Translational Research of the Heart Failure Association (HFA) of the European Society of Cardiology[J]. *Eur J Heart Fail*, 2019, 21(3): 272-285.
- [15] van Oorschot JW, Cho JM, van Hout GP, et al. Endogenous contrast MRI of cardiac fibrosis: beyond late gadolinium enhancement[J]. *J Magn Reson Imaging*, 2015, 41(5): 1181-1189.
- [16] Miller WL. Tenascin-X-discovery and early research[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 612497.
- [17] Alcaraz LB, Exposito JY, Chuvin N, et al. Tenascin-X promotes epithelial-to-mesenchymal transition by activating latent TGF- β [J]. *J Cell Biol*, 2014, 205(3): 409-428.
- [18] Toth GB, Varallyay CG, Horvath A, et al. Current and potential imaging applications of ferumoxytol for magnetic resonance imaging[J]. *Kidney Int*, 2017, 92(1): 47-66.
- [19] Merinopoulos I, Gunawardena T, Stirrat C, et al. Diagnostic applications of ultrasmall superparamagnetic particles of iron oxide for imaging myocardial and vascular inflammation[J]. *JACC Cardiovasc Imaging*, 2021, 14(6): 1249-1264.
- [20] Bashir MR, Bhatti L, Marin D, et al. Emerging applications for ferumoxytol as a contrast agent in MRI[J]. *J Magn Reson Imaging*, 2015, 41(4): 884-898.
- [21] Nguyen KL, Yoshida T, Kathuria-Prakash N, et al. Multicenter safety and practice for off-label diagnostic use of ferumoxytol in MRI[J]. *Radiology*, 2019, 293(3): 554-564.
- [22] Lagan J, Naish JH, Simpson K, et al. Substrate for the myocardial inflammation—Heart failure hypothesis identified using novel USPIO methodology[J]. *JACC Cardiovasc Imaging*, 2021, 14(2): 365-376.
- [23] Tada Y, Tachibana A, Heidary S, et al. Ferumoxytol-enhanced cardiovascular magnetic resonance detection of early stage acute myocarditis[J]. *J Cardiovasc Magn Reson*, 2019, 21(1): 77.
- [24] Song J, Yu J, Li Y, et al. MR targeted imaging for the expression of tenascin-C in myocardial infarction in vivo[J]. *J Magn Reson Imaging*, 2017, 45(6): 1668-1674.
- [25] Ferreira VM, Schulz-Menger J, Holmvang G, et al. Cardiovascular magnetic resonance in nonischemic myocardial inflammation: expert recommendations[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2018, 72(24): 3158-3176.
- [26] Lu Y, Huang J, Neverova NV, et al. USPIOs as targeted contrast agents in cardiovascular magnetic resonance imaging[J]. *Curr Cardiovasc Imaging Rep*, 2021, 14(2): 2.

收稿日期: 2022-01-02