

· 论 著 ·

## 大鼠肝纤维化中超声造影的实验研究\*

李宏波, 张炽敏<sup>△</sup>, 庄 华

(东南大学医学院附属南京市第二医院超声诊断科, 江苏南京 210003)

**摘要:**目的 探讨超声造影在肝纤维化模型中的应用价值。方法 60 只雄性大鼠, 实验组 52 只建立大鼠肝纤维化模型, 予 50% 四氯化碳(CCl<sub>4</sub>) 植物油混悬液皮下注射, 每周 2 次, 共计 12 周, 首次皮下注射剂量为 0.5 mL/100 g 体质量, 以后为 0.3 mL/100 g 体质量, 于 3、6、9、12 周末随机从造模大鼠中取 10 只, 从对照组大鼠中取 2 只行超声造影检查, 记录造影剂到达肝动脉时间(HAAT)、造影剂到达门静脉时间(PVAT)、造影剂到达肝静脉时间(HVAT), 计算肝动-静脉渡越时间(HA-HVTT), 进入 CnTI 程序, 获取肝实质时间-强度曲线, 记录达峰时间、峰值强度、曲线上升斜率、下降斜率。以病理肝纤维化分期进行分组。结果 随着肝纤维化程度的加重, S3 期、S4 期 HVAT、HA-HVTT 较对照组、S1 期、S2 期缩短。肝实质时间-强度曲线分析, S3 期、S4 期峰值强度及曲线下下降斜率较对照组、S1 期、S2 期降低。结论 应用超声造影可以观察大鼠肝动脉、门静脉、肝静脉显影过程, 能反映肝纤维化各期的血流动力学变化趋势, 为早期肝硬化的无创性诊断提供了新的可能。

关键词: 肝硬化; 超声造影; 动物实验

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.10.006

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)10-0949-03

## Experimental study of contrast enhanced ultrasound in rats with liver fibrosis\*

Li Hongbo, Zhang Chimin<sup>△</sup>, Zhuang Hua

(Department of Ultrasonography, Nanjing Second Hospital Affiliated of Southeast University, Nanjing 210003, China)

**Abstract:** Objective To explore the value of contrast enhanced ultrasound in early diagnosis of liver fibrosis in rats. Methods Sixty SD rats were divided into two groups randomly, 8 as control group, 52 for liver fibrosis mode. 50% CCl<sub>4</sub> was percutaneously injected twice a week for 12 weeks at 0.3 ml/100g with the first administration at 0.5 ml/100g. At the 3 th, 6 th, 9 th, and 12 th week, 10 rats from liver fibrosis group and 2 rats from control group were selected for CEUS, recording HAAT, PVAT, HVAT, and calculating HA-HVTT(HVAT-HAAT). In CnTI program obtained the time-intensity curve of liver parenchyma and recorded the time to peak, peak intensity, ascending slope, descent slope. All rats were grouped according to pathological liver fibrosis stage. Results With the progress of liver fibrosis, HVAT, HA-HVTT was shorter in S3 and S4 stage than in control group, S1 and S2 stage. The parenchyma time-intensity curve analysis showed that peak intensity and descent slope was lower in S3 and S4 stage than in control group, S1 and S2 stage. Conclusion CEUS can be used to observe the developing process of the hepatic artery, portal vein, hepatic vein and can demonstrate hemodynamic trend in different liver fibrosis stage. It also provides a new possibility for non-invasive diagnosis of liver cirrhosis.

Key words: liver cirrhosis; contrast enhanced ultrasound; animal experimentation

中国属乙型肝炎病毒感染高流行区, 多种因素导致的慢性肝病往往都伴随肝纤维化的发生, 如得不到有效控制, 最终将发展为肝硬化, 甚至肝癌<sup>[1]</sup>。研究证明, 肝纤维化是病毒性肝炎及各种慢性肝病向肝硬化转变的必经阶段, 肝纤维化早期乃至后期都可以发生逆转, 发现越早, 越有利于治疗和预后<sup>[2]</sup>。及早发现肝纤维化并采取相应治疗措施具有十分重要的意义。应用功能影像学方法评价肝纤维化程度是目前研究的热点。本研究采用四氯化碳(CCl<sub>4</sub>) 油溶液皮下注射诱导建立大鼠肝纤维化动物模型<sup>[3]</sup>, 病理分级肝纤维化程度, 利用实时超声造影匹配成像技术和声学定量时间-强度曲线分析软件, 研究肝纤维化不同阶段肝脏血流动力学动态变化。

## 1 材料与方 法

**1.1 实验动物** 云南昆系 SD 大鼠 60 只, 雄性, 体质量(250 ± 50)g, 由东南大学医学院动物房提供。随机分为对照组和实验组, 对照组 8 只, 实验组 52 只。

**1.2 动物模型制作** 食用色拉油与 CCl<sub>4</sub> 分析纯按容积比 1 : 1 配成 CCl<sub>4</sub> 色拉油混悬液, 予实验组大鼠背部皮下注射, 每周 2 次, 共计 12 周, 首次剂量为 0.5 mL/100 g 体质量, 以后为

0.3 mL/100 g 体质量, 于给药 3、6、9、12 周末从造模大鼠中取 10 只, 对照组大鼠中取 2 只进行肝脏超声造影(contrast enhanced ultrasound, CEUS) 检查后行病理检查。

## 1.3 超声造影检查

**1.3.1 检查前准备** 大鼠禁食 8 h, 10% 水合氯醛 3 mL/kg 腹腔注射麻醉, 固定、脱毛, 以 5 mL 注射器连接 5 号半头皮针, 橡皮筋夹紧鼠尾根部使尾静脉怒张, 行尾静脉穿刺, 肝素保留静脉通道。

**1.3.2 造影剂与仪器** 采用意大利 Bracco 公司的超声造影剂声诺维, 在声诺维冻干粉末中加入生理盐水 5 mL, 振摇形成含有磷脂包裹的六氟化硫微泡混悬液。百胜 Technos DU8 彩色多普勒超声诊断仪, 随机内置实时超声造影匹配成像(contrast tuned imaging, CnTI) 技术和声学定量时间-强度曲线分析(wash-in/wash-out) 软件; 探头型号为 LA532E, 各种造影条件, 包括场深、增益等在所有动物和造影过程中保持不变。

**1.3.3 图像采集** 造影动态图像贮存于机器内置硬盘, 通过网线将造影动态图像及时间-强度曲线导入电脑, 并用超声影像工作站存储单帧静态图像。

\* 基金项目: 南京市卫生局青年科技人才启动基金资助项目(QYK09153)。 △ 通讯作者, Tel: 13032544972; E-mail: zhangzhimin\_nanjing@hotmail.com。

表 1 不同肝纤维化分期造影剂到达肝内血管时间比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	HAAT(s)	PVAT(s)	HVAT(s)	HA-HVTT(s)
对照组( $n=8$ )	10.343±0.769	13.455±0.265	18.528±0.187	8.206±0.793
S1 期( $n=7$ )	10.717±0.399	13.437±0.289	18.544±0.081	7.827±0.418
S2 期( $n=10$ )	10.531±0.221	13.482±0.263	18.445±0.430	7.924±0.531
S3 期( $n=8$ )	10.539±0.369	13.550±0.115	16.515±0.190*	5.976±0.30*
S4 期( $n=9$ )	10.503±0.216	13.482±0.236	16.386±0.191*	5.882±0.31*

\*:  $P < 0.01$ , 与对照组、S1 期、S2 期比较。

表 2 不同肝纤维化分期肝实质时间-强度曲线参数比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	达峰时间(s)	峰值强度(e-001)	上升斜率(e-001)	下降斜率(e-001)
对照组( $n=8$ )	45.103±1.968	3.524±0.422	4.687±0.255	5.447±0.323
S1 期( $n=7$ )	44.640±2.291	3.529±0.252	4.910±0.477	5.613±0.246
S2 期( $n=10$ )	44.622±1.701	3.509±0.154	4.627±0.303	5.412±0.329
S3 期( $n=8$ )	45.033±2.874	2.813±0.179*	4.827±0.448	4.631±0.305*
S4 期( $n=9$ )	44.616±1.989	2.848±0.249*	4.647±0.298	4.664±0.321*

\*:  $P < 0.01$ , 与对照组、S1 期、S2 期比较。

**1.3.4 检查方法** 造影前常规超声观察大鼠肝动脉、门静脉及肝静脉显示情况,选取同时显示肝静脉与门静脉切面,铁架台固定探头,将机器条件切换至 CnTi 程序,调节机械指数:0.089,增益:50,焦点:1.5 cm,造影剂各到达时间检测造影过程持续 1 min,肝实质造影检测造影过程持续 5 min。每次注射时间间隔至少 10 min,应用 Flash 技术清除肝脏残存造影剂微泡。若无法较好地观察肝静脉显影过程,则间隔 10 min 后在同一切面予再测,直至成功。

**1.3.5 参数的测量** 逐帧回放观察超声造影全过程,将造影剂在管腔内出现第一个造影剂微泡记为该血管的到达时间(AT),分别记录造影剂到达肝动脉时间(hepatic artery arrival time, HAAT)、造影剂到达门静脉时间(portal vein arrival time, PVAT)、造影剂到达肝静脉时间(hepatic vein arrival time, HVAT),计算造影剂到达肝动脉时间和造影剂到达肝静脉时间二者的差值,即肝动-静脉渡越时间(hepatic artery to vein transmit time, HA-HVTT)。进入时间-强度曲线分析软件,将感兴趣区置于图像中场,尽量避开肝内大血管,感兴趣区大小设为 1 cm×1 cm,仪器自动画出肝实质的时间-强度曲线,利用仪器自带软件测量其达峰时间(time to peak, TP, 为从显影到峰值时间之差)、峰值强度(peak intensity, PI)、曲线上上升斜率(ascending slope, AS)、曲线下下降斜率(descending slope, DS)。

**1.4 病理学检查** 剪取肝左叶相同部位,固定、脱水、包埋、切片,分别行 HE 染色及网状纤维染色。肝纤维化病理诊断标准采用 2000 年全国病毒性肝炎防治方案中慢性肝炎纤维化分期(S0~S4)标准。

**1.5 统计学处理** 采用 SPSS13.0 软件进行统计学处理,所有数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,单因素方差分析超声造影参数各组间差异,组间比较用  $t$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 动物模型一般情况** 实验组大鼠给药后状态逐渐转差,给药 8~10 周后大鼠死亡数目增多,给药 12 周末实验组大鼠共死亡 12 只。根据病理分级, S0 期 6 只, S1 期 7 只, S2 期 10 只, S3 期 8 只, S4 期 9 只,对照组大鼠全部存活。

**2.2 肉眼观察及光镜下表现** 正常大鼠不同时间点肝脏标本颜色鲜红,质地柔软;光镜下肝小叶结构正常,界限清晰;肝细

胞无变性坏死,无脂肪浸润,汇管区无炎性细胞浸润。实验组大鼠皮下注射  $CCl_4$  后,肝脏逐渐肿胀,颜色变为暗红,以后体积缩小,颜色较正常变浅,质地变硬,肝脏体积萎缩,表面凹凸不平,呈小颗粒状改变;光镜下小叶中央静脉周围肝细胞肿胀、水样变性,汇管区扩大、炎性细胞浸润,小叶内或小叶间隔纤维形成。随着造模时间的延长,肝细胞水肿加重,出现气球样变,部分肝细胞出现轻度脂肪变;中央静脉周围及汇管区胶原纤维与网状纤维沉积增多并向外延伸,形成纤维间隔,肝小叶结构紊乱;给药 9~12 周正常肝小叶结构消失、大量纤维间隔包裹形成假小叶,部分到达早期肝硬化阶段;实验组网状纤维染色结果大量胶原纤维增生,纤维间隔宽大,增生的肝细胞被胶原纤维包裹、分割成大小不等的假小叶,胶原围绕假小叶(封 2 图 1、2)。

## 2.3 超声造影结果

**2.3.1 不同肝纤维化分期造影剂到达肝内血管时间比较** 经大鼠尾静脉注射造影剂后,肝动脉、门静脉及肝静脉陆续显影,对照组、S1 期、S2 期各参数两两比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ );对照组、S1 期~S4 期 HAAT、PVAT 两组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),S3 期、S4 期 HVAT、HA-HVTT 较对照组、S1 期、S2 期缩短( $P < 0.01$ ),S3 期与 S4 期各参数比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 1。

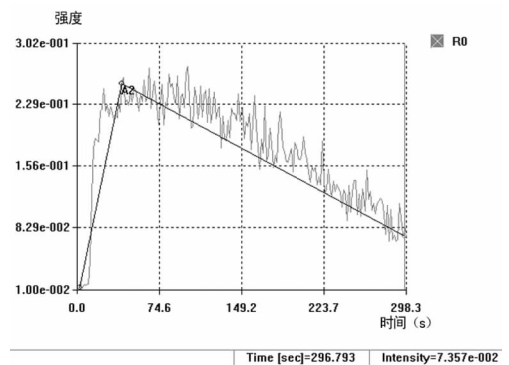


图 3 对照组肝实质超声造影时间-强度曲线

**2.3.2 肝实质时间-强度曲线分析** 各组达峰时间及上升斜率两两比较差异无统计学意义;S3 期、S4 期峰值强度及下降

斜率较对照组、S1 期、S2 期降低( $P < 0.01$ ), S3 期与 S4 期各参数比较差异无统计学意义(表 2, 图 3、4)。

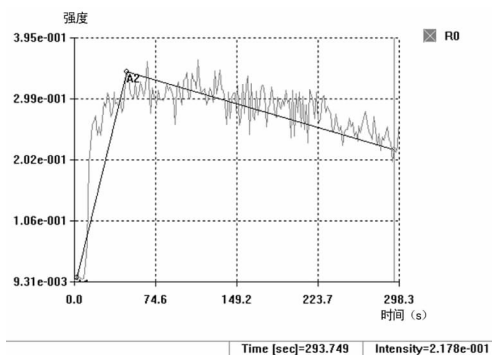


图 4 S4 期大鼠肝实质超声造影时间-强度曲线

### 3 讨论

肝纤维化是细胞外基质在肝脏弥漫性的、过量的沉积, 是一个渐进性发展过程, 病程发展存在一个可逆与不可逆的阶段演进过程。到目前为止, 临床除进行肝脏活体穿刺组织学检查外, 尚缺乏简便可靠且具有可重复性的无创性检查方法<sup>[4-5]</sup>。随着声学造影技术的不断发展, 运用造影剂评估脏器血流灌注情况成为可能, 而肝纤维化与肝硬化的病理改变关键在于其微循环和血流动力学的改变。本研究通过测量声学造影剂通过肝脏时间以及观察肝实质时间-强度曲线变化规律, 以探求一种能反应肝纤维化与肝硬化微循环及血流动力学改变的早期诊断方法。

正常肝脏具有肝动脉系统和门静脉系统双重血供, 造影剂经外周静脉注射后, 通过肺循环进入体循环至腹主动脉后, 一部分造影剂由腹腔动脉到肝动脉入肝, 使肝动脉系统及其供应的肝实质先增强, 即为 HAAT, 其增强时间最早; 另外一部分造影剂到脾动脉和肠系膜上动脉, 然后经相应的静脉回流至门静脉, 入肝后导致门静脉系统回声增强; 这两部分造影剂经肝内动脉和门静脉分支一起汇入肝血窦, 然后由小叶中央静脉回流至肝静脉, 即为 HVAT, 其增强晚于 HAAT, 二者到达的时间之差为 HA-HVTT, 即肝动-静脉渡越时间<sup>[6-7]</sup>。肝纤维化时, 由于纤维结缔组织的增生, 导致肝细胞的微绒毛明显减少甚至消失, 窦周间隙的胶原化, 累及肝窦的毛细血管样通道, 致使肝窦毛细血管化, 导致血管空间的减少, 肝内血液循环速度加快<sup>[8]</sup>。Kono 等<sup>[9]</sup>研究表明, 造影剂微泡的血流动力学与红细胞完全相似, 声学造影剂可作为指示剂来对器官的血流灌注进行评价, 造影剂到达时间能反映器官血流动力学的改变。刘平等<sup>[10]</sup>建立兔肝纤维化模型, 发现肝静脉内造影剂到达时间明显缩短, 认为造影剂在肝内循环的时间变化在一定程度上成为肝内血循环细微结构改变的间接征象, 可用于肝纤维化的早期诊断。

本研究结果表明, 不同肝纤维化分期造影剂到达肝内血管时间比较中, S3 期、S4 期 HVAT、HA-HVTT 较对照组、S1 期、S2 期缩短, 差异具有统计学意义。其产生的原因可能与下列因素有关: (1) 门静脉来源的造影剂绕过正常肝血窦而经毛细血管化的肝血窦进入肝静脉; (2) 部分动脉来源的造影剂微泡可通过动静脉间的交通支而直接进入肝静脉, 从而形成肝静脉内造影剂微泡较正常时出现要早; (3) 在肝实质病变时, 由于肝内产生多种神经递质如组胺、5-羟色胺等及血管活性因子如血管内皮源性舒张因子等, 使肝内及体循环处于高循环状态, 加速了造影剂微泡在体内的分布<sup>[11-13]</sup>。在实验中, 造影剂充当了一种血液的示踪剂, 反映了血液在肝内的循环情况, 从而

造影剂在肝内循环的时间变化在一定的程度上成为肝内细微结构改变的间接征象, 结合病理结果, 这一间接征象可用于肝纤维化的诊断。

肝纤维化形成与进展过程中, 血流动力学改变对肝脏灌注产生复杂影响, 随着肝纤维化的加重, CEUS 肝实质时间-强度曲线峰值强度呈下降趋势, 可能由于肝纤维化时, 肝窦毛细血管化, 窦腔变窄, 肝窦内血流淤滞, 窦内压升高, 肝内分流形成导致肝内微循环进一步被破坏, 肝内血管网减少, 使肝实质的血流减少。随着肝纤维化的加重, 曲线下斜率变小, S3 期、S4 期与对照组、S1 期、S2 期比较差异有统计学意义。分析可能的原因是肝纤维化 S3 期、S4 期随着肝窦毛细血管化的加重, 肝内分流的形成, 直接进入肝静脉的造影剂微泡增多, 导致参与再次循环的微泡数量增加; 肝内外分流的作用减少了造影剂经过毛细血管的次数, 降低了毛细血管对造影剂溶解入血浆的促进作用<sup>[14-15]</sup>。

本研究存在诸多不足之处, 肝纤维化分期虽然有客观标准, 但还是带有很大的主观性; 本研究对象为大鼠, 其肝脏的解剖结构和生理、病理状态与人体有较大的差别, 所以, 在对大鼠实验中所获得数据, 与人体可能还有很大的不同; 本研究各组病例数还比较小, 要为临床早期诊断肝纤维化和肝硬化制定标准阈值, 还需要大宗病例的进一步研究。

目前, 国内外已建立包含多个非创伤性指标的肝纤维化诊断模型 (Fibrotest, forns 指数, 纤维化可能性指数等), 随着研究的进展, 联合多种影像检查方法, 如 CT、MRI 灌注成像、MR 弹性成像等, 能对肝纤维化疾病有更深入的研究, 达到对肝纤维化的早期诊断、分期及随访。

### 参考文献:

- [1] 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病学会. 慢性乙型肝炎防治指南[J]. 中华肝脏病杂志, 2005, 13(6): 881-891.
- [2] Okazaki I, Watnabe T, Hozawa S, et al. Molecular mechanism of the reversibility of hepatic fibrosis with special reference to the role of matrix metalloproteinases[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2000, 15(1): 26-32.
- [3] 曾林, 王慧芳, 曹永成, 等. 四氯化碳诱导家兔肝纤维化模型的建立[J]. 动物医学进展, 2003, 24(5): 108-110.
- [4] 郑荣琴, 吕明德, 苏中振, 等. 超声评价肝脏炎症及纤维化程度的指标筛选[J]. 中国超声医学杂志, 2002, 28(2): 20-22.
- [5] 李成忠, 万谟彬, 曾民得, 等. 非创性诊断指标优势组合在肝纤维化诊断价值的初步研究[J]. 中华肝脏病杂志, 2001, 9(5): 261-263.
- [6] 周伟, 沈薇. 肝细胞生长因子对肝纤维化的保护作用及其机制研究[J]. 重庆医学, 2009, 38(4): 398-402.
- [7] 刘利平, 于晓玲, 李华, 等. 正常人肝脏灰阶超声造影定量研究[J]. 中国超声医学杂志, 2006, 22(4): 305-308.
- [8] 周永学. 现代肝硬化诊断治疗学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2000: 14.
- [9] Kono Y, Moriyasu F, Nada T, et al. Gray scale second harmonic imaging of the Liver; a preliminary animal study [J]. Ultrasound Med Biol, 1997, 23(5): 719-726.
- [10] 刘平, 高云华, 谭开彬, 等. 声学造影对早期肝纤维化诊断的实验研究[J]. 中国超声医学杂志, 2002, 18(12): 897-899.
- [11] 王春平, 韩军. 门静脉高压症形成的细胞分子机制[J]. 传染病信息, 2005, 18(2): 117-119.

**2.2 EPC 的细胞荧光染色鉴定** 用 DiI-acLDL 和 FITC-UEA-1 对细胞进行染色后,采用荧光显微镜和激光共聚焦鉴定,红色荧光的细胞为 DiI-acLDL 摄取阳性(封 3 图 2A)。绿色荧光的细胞为 FITC-UEA-1 摄取阳性(封 3 图 2B)。而共聚焦下双阳性细胞为同时摄取 DiI-acLDL 和 FITC-UEA-1 被认为是正在分化的 EPCs(封 3 图 2C)。

**2.3 CD34 及 CD31 表达的免疫荧光染色检测** 免疫荧光染色显示,培养第 10 天的细胞 CD34 及 CD31 均成阳性反应(封 3 图 3A、B)。

### 3 讨论

自从 Ashara 等<sup>[1]</sup>1997 年从外周血分离培养出 EPC 以来,EPC 的研究一直是干细胞领域的热点之一。目前的研究表明,EPC 参与了出生后的血管生成<sup>[2]</sup>,能在病理条件下替代修复损伤的内皮细胞,促进缺血组织的新生,维持血管内环境的稳定及内皮的完整性<sup>[3-4]</sup>。EPC 的鉴定是根据其细胞表面标记来实现的,目前公认的把同时具有 CD34、AC133、VEGFR-2 表面标志,且可吸收 DiI-acLDL 结合 FITC-UEA-1 的 EPC 认为是正在分化的 EPC<sup>[5]</sup>。

EPC 的分离方法主要有:(1)免疫磁珠法,利用 CD34、VEGFR-2 或 CD133 表面抗原从不同来源的单个核细胞分离 EPC<sup>[6]</sup>。(2)密度梯度离心法,根据血液细胞成分比重的不同,利用淋巴细胞分离液提取单个核细胞进行贴壁培养。考虑到免疫磁珠法操作复杂、费用高、反复操作还会降低细胞活性,本研究采用密度梯度离心法分离 EPC,并预涂纤维连接蛋白促使细胞贴壁并向内皮细胞分化,在这种培养体系环境中,将单个核细胞接种于完全培养液后,通过换液可将红细胞去除,从而得到较纯的 EPC。体外扩增培养法大多从外周血获取 EPC,这就要求有大量的外周血液,而骨髓作为一个巨大的干细胞库,其 EPC 含量远高于外周血<sup>[7]</sup>,为获得更高浓度的目标细胞,本文采用骨髓作为细胞来源。

EPC 不仅参与胚胎血管生成,也参与出生后的血管新生<sup>[8]</sup>,它可成功归巢到缺血组织,参与组织的修复<sup>[9-11]</sup>,提示 EPC 在缺血性疾病中有重要意义。对肿瘤新生血管的研究发现,EPC 是肿瘤新生血管生长必不可少的条件之一,EPC 不仅整合到新生血管壁上构成新生血管的一部分,而且还通过分泌促血管生长因子来促进新生血管成熟,增强新生血管的稳定性<sup>[12-13]</sup>。EPC 对骨折新生血管的影响也可能存在类似过程,血管化是骨愈合过程中最基本的环节<sup>[14]</sup>。Rozen 等<sup>[15]</sup>发现自体移植的 EPC 能有效修复骨缺损,EPC 是否能促进骨折愈合,是下一步的研究内容。

### 参考文献:

[1] Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis[J]. *Science*, 1997, 275(5302):964-966.  
[2] Rumpold H, Wolf D, Koeck R, et al. Endothelial progeni-

tor cells: A source for therapeutic vasculogenesis[J]. *J Cell Mol Med*, 2004, 4:509-518.

- [3] Rosenzweig A. Circulating endothelial progenitors cells as biomarkers[J]. *N Eng J Med*, 2005, 353:1055-1057.  
[4] Yue KK, Lee KW, Chan KK, et al. Danshen prevents the occurrence of oxidative stress in the eye and aorta of diabetic rats without affecting the hyperglycemic state[J]. *J Ethnopharmacol*, 2006, 106(1):136-141.  
[5] Pera MF, Reubinoff B, Trounson A. Human embryonic stem cells[J]. *J Cell Sci*, 2000, 113(1):5210-5212.  
[6] 吴英锋,谷涌泉,张建,等.犬骨髓源血管内皮祖细胞体外扩增效能的动态研究[J]. *中国临床康复*, 2005, 9(10):63-65.  
[7] Shirota T, Murohara T, Ikada H, et al. Augmentation of postnatal neovascularization with autologous bone marrow transplantation[J]. *Circulation*, 2001, 103:897-903.  
[8] 王代红,李芙蓉,张莹,等.内皮祖细胞移植对单侧输尿管梗阻大鼠肾小管毛细血管重建的影响[J]. *重庆医学*, 2009, 38(23):2994-2996.  
[9] Hamada H, Kim MK, Iwakura A, et al. Estrogen receptors alpha and beta mediate contribution of bone marrow derived endothelial progenitor cells to functional recovery after myocardial infarction [J]. *Circulation*, 2006, 114(21):2261-2263.  
[10] He T, Smith LA, Harrington S, et al. Transplantation of circulating endothelial progenitors cells restores endothelial function of denuded rabbit carotid arteries[J]. *Stroke*, 2004, 35(10):2378-2380.  
[11] Sivan-Loukianova E, Awad OA, Stepanovic V, et al. CD34<sup>+</sup> blood cells accelerate vascularization and healing of diabetic mouse skin wounds[J]. *J Vasc Res*, 2003, 40:368-377.  
[12] Gao DC, Nolan D, McDonnell K, et al. Bone marrow-derived endothelial progenitor cells contribute to the angiogenic switch in tumor growth and metastatic progression [J]. *Biochimica et biophysica Acta*, 2009, 1796:33-40.  
[13] Ahn JB, Rha SY, Shin SJ, et al. Circulating endothelial progenitor cells(EPC) for tumor vasculogenesis in gastric cancer patients[J]. *Cancer Letters*, 2010, 288:124-132.  
[14] 吴雪晖,谢肇,罗飞,等. EPCs 促进血管化组织工程骨修复大段骨缺损的早期组织学评价[J]. *重庆医学*, 2009, 38(22):2839-2843.  
[15] Rozen N, Bick T, Bajayo A, et al. Transplanted blood-derived endothelial progenitor cells(EPC) enhance bridging of sheep tibia critical size defects[J]. *Bone*, 2009, 45:918-924.

(收稿日期:2010-09-19 修回日期:2010-11-17)

(上接第 951 页)

[12] Onori P, Morini S, Franchitto A, et al. Hepatic microvascular features in experimental cirrhosis: a structural and morphometrical study in CCl<sub>4</sub>-treated rats[J]. *J Hepatology*, 2000, 33:555-563.  
[13] 李锐,华兴.声学造影剂肝静脉显影时间诊断早期肝硬化的实验研究[J]. *重庆医学*, 2004, 33(11):1684-1685.  
[14] Hirota M, Kaneko T, Sugimoto H, et al. Intrahepatic cir-

culatory time analysis of an ultrasound contrast agent in liver cirrhosis[J]. *Liver Int*, 2005, 25(2):337-342.

- [15] Sugimoto H, Kaneko T, Hirota M, et al. Earlier hepatic vein transit-time measured by contrast ultrasonography reflects intrahepatic hemodynamic changes accompanying cirrhosis[J]. *J Hepatol*, 2002, 37(5):578-583.

(收稿日期:2010-11-24 修回日期:2011-01-17)