

· 论 著 ·

巨噬细胞炎性蛋白 1 α 在小鼠深静脉血栓模型中的表达及其意义*刘海平, 赵学凌 Δ , 吴雪梅, 李兴国, 郑宏宇

(昆明医学院第一附属医院骨科, 昆明 650032)

摘要:目的 建立小鼠下腔静脉深静脉血栓(DVT)模型,观察血栓形成后下腔静脉及血栓栓子中巨噬细胞炎性蛋白-1 α (MIP-1 α)的表达及其与血栓栓子溶解的关系。方法 100只18~22g的昆明种小白鼠(雌雄不限)随机分为对照组($n=10$)和模型组($n=90$),模型组采用神经血管钳钳夹联合结扎下腔静脉建立小鼠DVT模型。建模后将模型组分为DVT组(小鼠不加任何干预, $n=45$)和DVT+MIP-1 α -Ab组(小鼠予以MIP-1 α 中和抗体持续腹腔注射7d, $n=45$),于2、4、8、12、21d5个时间点各处死8只,质量/长度比值比较栓子溶解程度,应用SYBR Green I 核酸凝胶染料实时荧光定量PCR及ELISA检测股静脉组织中MIP-1 α mRNA、蛋白的表达量。结果 DVT组1只小鼠因严重感染死亡;模型组小鼠均有血栓形成。DVT组及DVT+MIP-1 α -Ab组栓子质量/长度比值随时间的延长呈逐渐缩小的趋势($P<0.05$),相同时间点DVT组血栓栓子质量/长度比值减小更为明显($P<0.05$);DVT组MIP-1 α mRNA、蛋白随时间点的改变呈逐渐升高趋势,8d升至最高点($P<0.05$),后呈逐渐下降趋势,DVT+MIP-1 α -Ab组MIP-1 α mRNA、蛋白表达亦呈上述趋势,但差异无统计学意义。相同时间点组间比较,DVT组MIP-1 α mRNA、蛋白变化较为明显($P<0.05$)。结论 DVT形成后MIP-1 α 参与了血栓栓子的溶解过程,MIP-1 α 中和抗体可阻断其溶栓效应。

关键词:趋化因子CCL3;静脉血栓形成;溶解

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.04.003

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)04-0367-03

The expression and significance of macrophage inflammatory protein 1 α in mice deep vein thrombosis*Liu Hai ping, Zhao Xueling Δ , Wu Xuemei, Li Xingguo, Zheng Hongyu

(Department of Orthopedics, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical College, Kunming, Yunnan 650032, China)

Abstract: Objective This study was to establish mice deep vein thrombosis model, and after thrombosis, to observe the expression of MIP-1 α of inferior vena cava and thromboembolus, and reveal the relation between the expression and the dissolution of thromboembolus. Methods 100 mice whose weight range between 18–22 g were randomly divided into normal control group ($n=10$) and model group ($n=90$). The mice of the model group were established deep vein thrombosis model by clamping with the neurovascular clamp combined with ligation in the inferior vena cava. Then the model group was divided into 2 subgroups: DVT group (mice without any intervention, $n=45$) and DVT+MIP-1 α -Ab group (mice received MIP-1 α antibody intraperitoneal injection for 7 d, $n=45$), executed 8 mice on the 2 d, 4 d, 8 d, 12 d, and 21 d time points respectively, and quality/length ratio were used to compare the embolus dissolve degree. The SYBR[®] Green I fluorescence real-time quantitative PCR and ELISA were used to detect the expression levels of MIP-1 α mRNA and protein in the femoral vein organization. Results There was one mouse in the model group dead because of serious infection, and there was thrombosis in every mouse of model group. The embolus quality/length ratio of DVT group and DVT+MIP-1 α -Ab group showed a diminishing trend along with the extension of time ($P<0.05$), and at the same time point the decrease of the thromboembolus quality/length ratio of DVT group was more obvious ($P<0.05$). As the time point changed, the expression of MIP-1 α mRNA and protein of DVT group showed an increasing trend, which reached the highest point in the 8th day ($P<0.05$) and then declined gradually. The expression of MIP-1 α mRNA and protein in DVT + MIP-1 α -Ab group also showed an increasing trend while the difference had no statistical significance. The changes of MIP-1 α mRNA and protein of DVT group were more obvious compared with DVT+MIP-1 α -Ab group at the time point ($P<0.05$). Conclusion The results demonstrated that MIP-1 α involved in the deep vein thrombosis resolution, and MIP-1 α neutralization antibodies can block the effect.

Key words: chemokine CCL3; venous thrombosis; resolution

深静脉血栓(deep vein thrombosis, DVT)因其并发致命性的肺血栓栓塞症(pulmonary thromboembolism, PTE)及难治性的静脉血栓后遗症(postthrombotic syndrome, PTS)而引起临床、科研的极大关注^[1]。在DVT到PTE、PTS过程中,血栓栓子的溶解、再通成为影响DVT预后的决定因素^[2]。研究发现,与机体损伤修复过程相似,血栓形成后,单核细胞/巨噬细胞在各种趋化因子的诱导下聚集于血栓形成部位,参与栓子的溶解过程^[3-4]。巨噬细胞炎性蛋白-1 α (macrophage inflamma-

tory protein 1 α , MIP-1 α)因其较强的趋化单核细胞/巨噬细胞作用而逐渐引起重视^[5]。本研究拟在建立小鼠DVT模型的基础上观察血栓形成后MIP-1 α 的表达及其与血栓溶解的关系,为临床DVT的防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 动物与试剂 100只昆明种小鼠购买于成都军区昆明总医院医学动物实验中心[动物质量合格证号:SYXK(滇)2005-0008],体质量18~22g,雌雄不限,适应性喂养1周后造模。

实验对动物的处理方法符合中华人民共和国科技部颁发的《关于善待实验动物的指导性意见》^[6]。Trizol 试剂、SYBR[®] Premix Ex Taq[™] II 试剂盒购买于大连宝生物工程有限公司, MIP-1 α ELISA 试剂盒购于美国 RB 公司, MIP-1 α 中和抗体 (300 μ g/mL) 购于美国 Peptotecch 公司, Q/CYAE111-2000 显微手术器械购于上海医疗器械有限公司。

1.2 小鼠 DVT 模型的建立及分组 100 只昆明种小鼠随机分为对照组 ($n=10$) 和模型组 ($n=90$)。模型组以 3% 的戊巴比妥钠 (1 mL/kg) 麻醉后, 常规消毒铺巾, 沿腹中线纵轴切 2.0 cm 切口, 分离皮下组织至腹腔, 将腹腔内容物轻轻推向左侧, 暴露、分离下腔静脉, 结扎可视侧支, 神经血管钳钳夹约 1.0 cm 长的近远端各 30 s, 5-0 聚丙烯缝线沿下腔静脉纵轴放置, 钳夹段血管中段以 4-0 的丝线连同静脉管壁及聚丙烯缝线结扎, 随后抽出聚丙烯缝线, 制造狭窄管腔。逐层闭合切口, 术后均未应用任何抗生素, 自由进饮食。参照文献^[7-8], 将模型组分为 2 个亚组: DVT 组 (小鼠不加任何干预, $n=45$) 和 DVT+MIP-1 α -Ab 组 (小鼠造模后予以 MIP-1 α 中和抗体 0.5 mL 持续腹腔注射 7 d, $n=45$); 随后各亚组于 2、4、8、12、21 d 5 个时间点各取 8 只小鼠过量麻醉处死, 取静脉壁及栓子进行检测。根据文献^[9]报道, 以血栓栓子的质量/长度比值观察血栓溶解程度。

1.3 实时荧光定量 PCR 反应 cDNA 制备: 将小鼠过量麻醉处死后, 冰盘上取静脉及血栓组织 50~100 mg, 立即放入 Trizol 试剂中进行 RNA 抽提。以 260 nm 及 280 nm 吸光度值计算所获 RNA 含量及纯度, 分装后 -80 $^{\circ}$ C 保存。逆转录过程按试剂盒说明书操作。PCR 引物设计: MIP-1 α 引物设计根据标准荧光定量 PCR 引物设计原则, 应用 Primer 5.0 程序设计, 引物由上海生工公司合成。见表 1。

表 1 引物设计

| 基因 | 引物序列 | 大小 | Tm 值($^{\circ}$ C) |
|----------------|------------------------------|--------|---------------------|
| MIP-1 α | | | |
| 上游引物 | 5'-CGCCTGCTGCTTTTCTTACAC-3' | 126 bp | 60.0 |
| 下游引物 | 5'-CAGACTTGCTTGCTTCTTTTGG-3' | | |
| GAPDH | | | |
| 上游引物 | 5'-TCACCACCATGGAGAAGGC-3' | 169 bp | 60.0 |
| 下游引物 | 5'-GCTAAGCAGTTGGTGGTGCA-3' | | |

PCR 过程: SYBR[®] Premix Ex Taq[™] (2 \times) 12.5 μ L, MIP-1 α /GAPDH 上游引物 (10 pmol/L) 1 μ L, MIP-1 α /GAPDH 下游引物 (10 pmol/L) 1 μ L, 模板 cDNA 2 μ L, dd H₂O 8.5 μ L (总体积 25 μ L) 于 PCR 反应管中, 扩增条件如下: (1) 95 $^{\circ}$ C 3 min 预变性; (2) 95 $^{\circ}$ C 20 s 变性, 60 $^{\circ}$ C 30 s 退火延伸, 40 个循环。

实时荧光定量 PCR 分析: 分别测定每个样品 MIP-1 α 和 GAPDH mRNA 的 Ct 值, 每个样品均作复孔以减少操作误差。Ct 值表示每个反应管内的荧光信号达到设定的阈值时所经历的循环数, 每个模板的 Ct 值与该模板的起始拷贝数的对数呈线性关系, 起始拷贝数越多, Ct 值越小。采用相对定量方式表示各样品 MIP-1 α 的 Δ Ct, Δ Ct = Ct 目的基因 - Ct 内参基因。再依据 $\Delta\Delta$ Ct = Δ Ct 目的基因 - Δ Ct 参照基因, 计算 $2^{-\Delta\Delta$ Ct}。当目的基因与内参基因的扩增效率接近时, $2^{-\Delta\Delta$ Ct} 表示所检测样品相对于作为参照因子样品的目的基因的表达倍数。

对 PCR 反应过程中的每一循环的系统荧光强度进行实时监测, 根据扩增曲线确定 Ct 值, 利用 $2^{-\Delta\Delta$ Ct} 法计算 MIP-1 α mRNA 相对拷贝数。

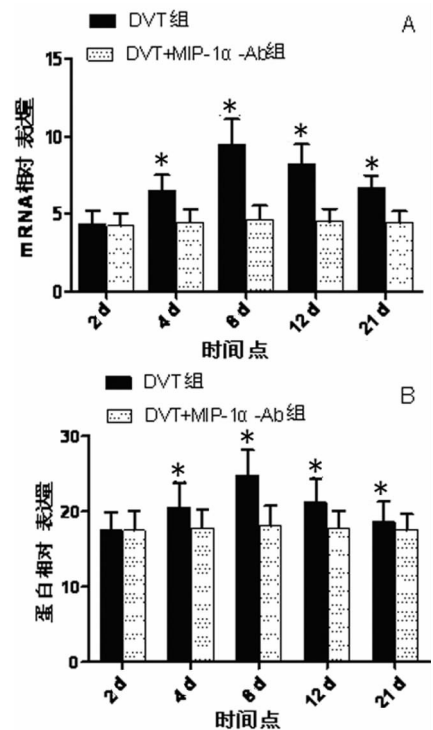
1.4 ELISA 检测下腔静脉及血栓组织中 MIP-1 α 表达 取 10 g 静脉及血栓样品匀浆化, 称取 3 g 匀浆化组织样品, 转至玻管中, 加 6 mL 乙酸乙酯充分混合 10 min, 2 000 r/min 离心 10 min, 随后 4 mL 乙酸乙酯加入玻管中, 在 50 $^{\circ}$ C 温和氮流下蒸发掉乙酸乙酯。将残留物溶于 1 mL 正己烷中, 再加入 1 mL 稀释缓冲液, 涡旋混合 1 min, 2 000~3 000 r/min 离心 10 min, 如上层发生乳化, 可将试管 50 $^{\circ}$ C 水浴 5 min 后再次 3 000 r/min 离心, 移取 50 μ L (2 g 组织/mL) 用于检测。

1.5 统计学处理 实验重复检测 3 次, 使用 SPSS11.5 统计学软件进行统计学分析, 计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 实验动物一般状况 模型组有 1 只小鼠因严重感染死亡, 89 只用于实验。所有小鼠于建模后 2 d 解剖观察, 模型组造模段静脉均有血栓形成, 管壁暗红, 轻压不瘪。

2.2 实时荧光定量 PCR 及 ELISA 检测结果 结果显示, DVT 组 MIP-1 α mRNA、蛋白随时间点的改变呈逐渐升高趋势, 8 d 升至最高点 ($P<0.05$), 后呈逐渐下降趋势, DVT+MIP-1 α -Ab 组 MIP-1 α mRNA、蛋白表达亦呈上述趋势, 但差异无统计学意义 ($P>0.05$), 相同时间点 DVT 组 MIP-1 α mRNA、蛋白变化较为明显 ($P<0.05$)。见图 1。

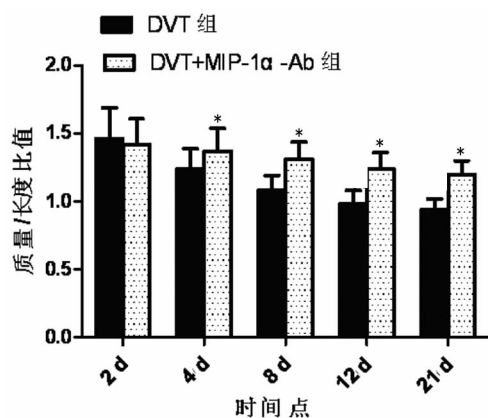


*: $P<0.05$, 与 DVT+MIP-1 α -Ab 组比较。

图 1 各亚组不同时间点 MIP-1 α mRNA 及蛋白的相对表达

2.3 血栓栓子质量/长度比值 造模后各亚组于 2、4、8、12、21 d 5 个时间点分别处死 8 只小鼠, 切取造模段血管, 结果显示 DVT 组及 DVT+MIP-1 α -Ab 组栓子质量/长度比值随着时间的延长呈逐渐缩小的趋势 ($P<0.05$), 相同时间点 DVT 组血

栓子质量/长度比值减小更为明显($P < 0.05$)。见图 2。



*: $P < 0.05$, 与 DVT 组比较。

图 2 各亚组不同时间点血栓质量/长度比值

3 讨论

小鼠 DVT 模型的建立及血栓溶解规律 DVT 因其较高的发病率、病死率深受外科领域的关注^[10]。在本研究中,参照文献报道由神经血管钳钳夹联合结扎下腔静脉建立小鼠 DVT 模型,符合静脉内皮细胞损伤及静脉血流淤滞的条件。在实验中作者观察到建模后小鼠 DVT 在 2 d 内形成,提示在急性静脉内皮细胞损伤及静脉血流淤滞的条件下,2 d 内机体对损伤处于强烈应激状态,这种强烈反应状态易诱发病理性血栓形成过程;在本次研究中,模型组小鼠于血栓形成后栓子随着时间的延长而呈逐渐缩小的趋势,2 周后栓子基本无变化,这与文献报道相一致^[11]。

研究发现,DVT 的溶解、机化、再通过程取决于 3 个因素:局部静脉微环境中纤溶系统的激活,静脉壁、血栓栓子中基质金属蛋白酶系统的活性,血栓栓子中血管新生情况^[12]。现已得到共识:DVT 形成及溶解、机化、再通是一个炎症及免疫反应参与的过程,与机体组织的损伤修复过程类似,DVT 的溶解、机化、再通过程伴随着中性粒细胞、巨噬细胞等炎症细胞的活化、迁移、浸润,表达各种细胞因子如 IL-1 β 、TNF- γ 等,这些炎症/免疫细胞因子可活化影响血栓栓子溶解、再通的下游调控基因 u-PA、MMPs 等,从而促进血栓栓子的溶解、再通^[13-14]。

MIP-1 α 是趋化因子 C-C 家族成员,主要由巨噬细胞、单核细胞、中性粒细胞、成纤维细胞产生,局部组织中产生的 MIP-1 α 能特异性地趋化淋巴细胞、单核细胞向炎症、损伤部位迁移,促进损伤部位的自我修复过程^[15]。Chen 等^[16] 在大鼠 DVT 模型造模后腹腔注射 rh G-CSF 后发现,血栓栓子中 MIP-1 α 、MCP-1 在栓子中呈逐渐升高趋势,同时单核细胞、巨噬细胞在术后 3 d 显著升高,与血栓栓子缩小程度相一致,这提示 MIP-1 α 在 DVT 溶解中起重要作用。

在本研究中作者观察到, DVT 组造模段静脉及其血栓栓子中的 MIP-1 α mRNA、蛋白随时间点的改变呈逐渐升高趋势,8 d 升至最高点($P < 0.05$),后呈逐渐下降趋势;同时,血栓栓子的质量/长度比值亦随时间点的改变而呈逐渐缩小趋势;在应用 MIP-1 α 中和抗体腹腔注射后,DVT + MIP-1 α -Ab 组 MIP-1 α mRNA、蛋白表达虽呈上述趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$);相同时间点 DVT 组血栓栓子质量/长度比值减小较 DVT + MIP-1 α -Ab 组更为明显($P < 0.05$)。提示 MIP-1 α 在 DVT 形成后参与了栓子的溶解过程,MIP-1 α 中和抗体可阻

滞其溶解血栓的作用。

值得注意的是,在血栓形成后 MIP-1 α mRNA、蛋白的表达在 8 d 左右达到高峰,而栓子的质量/长度比值呈逐渐下降的趋势,这提示在血栓栓子溶解过程中还有其他参与因素,MIP-1 α 的作用主要表现在血栓形成后 2 周内。分析后作者认为,在血栓形成后,局部静脉微环境处于损伤应激状态,此时中性粒细胞/巨噬细胞在 MIP-1 α 等趋化因子的诱导下迁徙到血栓形成部位,参与局部静脉的损伤修复;在 1~2 周后,栓子的溶解、缩小主要为血栓再通作用引起。

在本研究中作者通过建立小鼠下腔静脉 DVT 模型观察 MIP-1 α 与血栓溶解之间的关系,进而应用 MIP-1 α 中和抗体明确其促进血栓溶解的作用;在实验中未能进一步明确其促进血栓溶解的确切机制,有待于下一步研究。

参考文献:

- Heit JA. The epidemiology of thromboembolism in the community[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, 28(3):370-372.
- Sakuma M, Nakamura M, Yamada N, et al. Venous thromboembolism: deep vein thrombosis with pulmonary embolism, deep vein thrombosis alone, and pulmonary embolism alone[J]. *Circ J*, 2009, 73(2):305-309.
- Günzl P, Bauer K, Hainzl E, et al. Anti-inflammatory properties of the PI3K pathway are mediated by IL-10/DUSP regulation[J]. *Leukoc Biol*, 2010, 88(6):1259-1269.
- Henke PK, Wakefield T. Thrombus resolution and vein wall injury: dependence on chemokines and leukocytes[J]. *Thromb Res*, 2009, 123(Suppl 4):S72-S78.
- Yuan Y, Li P, Ye J. Lipid homeostasis and the formation of macrophage-derived foam cells in atherosclerosis[J]. *Protein Cell*, 2012, 3(3):173-181.
- 中华人民共和国科学技术部. 关于善待实验动物的指导性意见[EB/OL]. (2006-09-30)[2011-06-15]. http://www.most.gov.cn/fggw/zfwj/zfwj2006/200609/t20060930_54389.htm.
- Humphries J, Gossage JA, Modarai B, et al. Monocyte urokinase-type plasminogen activator up-regulation reduces thrombus size in a model of venous thrombosis[J]. *J Vasc Surg*, 2009, 50(5):1127-1134.
- 莫建文, 黄河, 张春强, 等. 创伤性深静脉血栓形成中补体相关基因表达变化的实验研究[J]. *中国急救医学*, 2008, 3(28):244-246.
- Henke PK, Varga A, De S, et al. Deep vein thrombosis resolution is modulated by monocyte CXCR2-mediated activity in a mouse model[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24(6):1130-1137.
- 邓姝. 预防关节置换术后深静脉血栓的管理措施[J]. *重庆医学*, 2011, 40(10):969-970.
- 李玉林. 病理学[M]. 7 版. 北京:人民卫生出版社, 2008:608.
- Halleivi H, Walker KC, Kasam M, et al. Inflammatory response to intraventricular hemorrhage: time course, magnitude and effect of t-PA[J]. *J Neurol Sci*, 2012, 315(1/2):93-95.

皮肤损伤是常见的并发症。在早期的研究中一例严重的皮肤Ⅲ度烧伤曾被报道^[11]。本研究中有 14 例发生了皮肤损伤,但均程度轻微,恢复迅速,愈合良好无疤痕,其中 11 例患者仅皮肤发红,未行任何处理,3 例出现皮肤水泡,经局部换药处理 2 周愈合。

HIFU 治疗后疼痛发生的原因可能是肌瘤发生凝固性坏死、脏器组织缺血或腹壁组织的热损伤引起的。术中、术后出现骶尾部疼痛的主要原因是骶骨和子宫的特定解剖位置,骨骼对超声的吸收能力很强,在高强度超声的作用下,骨膜和骨髓因界面反射而产生局部高温,当剂量过大时可引起骨膜疼痛^[12]。VAS 用于疼痛的评估在临床使用较为广泛,可对疼痛进行较为客观的评价,本研究中有 10 例 HIFU 治疗后发生腹部及腰骶部疼痛,其中 4 例对症治疗,术后 24 h VAS 评分均在 4 分以下,患者耐受良好。

HIFU 治疗后有 5 例发生阴道分泌物异常,表现为阴道少量流血或血性分泌物,持续 4~10 d 消失。本研究发现,HIFU 治疗时处于卵泡期或黄体期与治疗前后阴道分泌物异常无明显相关,但靶区肌瘤距宫腔越近,越易引起术后阴道流血,这可能是因为宫内膜距离靶区近,容易受到热损伤效应的影响。

子宫切除术会影响卵巢的供血,可能引起卵巢储备功能下降或早衰,而子宫动脉栓塞治疗后有 5%~10% 的患者发生一过性绝经,45 岁以上的妇女有 7%~14% 的患者发生永久闭经^[13]。作者在 HIFU 治疗术前及术后随访均作了血 FSH、LH、E₂、P 的检测,结果均无异常,同时患者无潮热、情绪改变、阴道干涩等低雌激素相关症状,月经周期在短期内恢复,说明了 HIFU 治疗对卵巢功能无影响,这与既往动物研究结果相似^[14]。

下肢功能和(或)感觉异常往往出现在治疗侧。超声对神经的作用表现为在适当剂量内神经兴奋性和传导速度体现为功能性的可逆变化,超过一定剂量则导致功能和形态上的不可逆变化^[12]。作者早期使用丙泊酚静脉麻醉,后期则改进为镇静、镇痛麻醉,结果表明两种麻醉方式下肢功能和(或)感觉异常的发生率,镇静、镇痛明显低于全麻,差异有统计学意义($P < 0.05$)。可能是因为镇静、镇痛方式下患者术中处于清醒状态,可以及时将能量损伤造成的热和痛感觉反馈给操作者,从而减轻对神经的损伤,同时皮肤骨骼等易受损伤的部位也可以得到有效保护^[15]。在镇静、镇痛条件下患者也能够很好的耐受,故目前 HIFU 治疗均采用镇静、镇痛麻醉。

参考文献:

- [1] 王智彪,李发琪,冯若. 治疗超声原理与应用[M]. 南京: 南京大学出版社,2008,172-173.
- [2] 杨竹,胡丽娜,王智彪,等. 高强度聚焦超声治疗子宫肌瘤的病理学研究[J]. 中华超声影像学杂志,2003,12(11): 674-676.

(上接第 369 页)

- [13] Wakefield TW, Henke PK. The role of inflammation in early and late venous thrombosis: are there clinical implications[J]. *Semin Vasc Surg*, 2005, 18(3): 118-129.
- [14] 张利,张永川,赵渝. 深静脉血栓形成后综合征研究进展[J]. 重庆医学, 2011, 40(11): 1123-1125.
- [15] Smits HA, Rijmsmus A, van Loon JH. Amyloid-beta-induced chemokine production in primary human macro-

- [3] Ren XL, Zhou XD, Zhang J, et al. Extracorporeal ablation of uterine fibroids with high-intensity focused ultrasound: imaging and histopathologic evaluation [J]. *J Ultrasound Med*, 2007, 26(2): 201-212
- [4] Kim YS, Kim JH, Rhim H, et al. Volumetric MR-guided high-intensity focused ultrasound ablation with a one-layer strategy to treat large uterine fibroids: initial clinical outcomes [J]. *Radiology*, 2012, 263(2): 600-609.
- [5] Stewart EA, Rabinovici J, Tempany CM, et al. Clinical outcomes of focused ultrasound surgery for the treatment of uterine fibroids [J]. *Fertil Steril*, 2006, 85(1): 22-29.
- [6] Razavi MK, Hwang G, Jahed A, et al. Abdominal myomectomy versus uterine fibroid embolization in the treatment of symptomatic uterine leiomyomas [J]. *AJR Am J Roentgenol*, 2003, 180(6): 1571-1575.
- [7] Zhou M, Chen JY, Tang LD, et al. Ultrasound-guided high-intensity focused ultrasound ablation for adenomyosis: the clinical experience of a single center [J]. *Fertil Steril*, 2011, 95(3): 900-905.
- [8] Zhang L, Wang ZB. High-intensity focused ultrasound tumor ablation: review of ten years of clinical experience [J]. *Front Med China*, 2010, 4(3): 294-302.
- [9] Zhou YF. High intensity focused ultrasound in clinical tumor ablation [J]. *World J Clin Oncol*, 2011, 2(1): 8-27.
- [10] 陈文直,唐良茗,杨武威,等. 超声消融治疗子宫肌瘤的安全性及有效性 [J]. 中华妇产科杂志, 2010, 45(12): 909-912.
- [11] Leon-Villalpalos J, Kaniorou-Larai M, Dziejulski P. Full thickness abdominal burn following magnetic resonance guided focused ultrasound therapy [J]. *Burns*, 2005, 20(31): 1054-1055.
- [12] 冯若,王志彪. 实用超声治疗学 [M]. 北京: 北京科学技术文献出版社, 2002: 38.
- [13] Spies JB, Spector A, Roth AR, et al. Complications after uterine artery embolization for leiomyomas [J]. *Obstet Gynecol*, 2002, 100(5 Pt 1): 873-880.
- [14] 熊正爱,杜永洪,邹建中,等. 高强度聚焦超声体外照射猴子宫对卵巢功能的影响研究 [J]. 中华超声影像学杂志, 2003, 12(11): 687-689.
- [15] 杨武威,李静,盖绿华,等. 镇静止痛条件下聚焦超声治疗实体肿瘤的初步临床研究 [J]. 解放军医学杂志, 2008, 33(6): 767-768.

(收稿日期: 2012-09-06 修回日期: 2012-10-10)

phages and astrocytes [J]. *J Neuroimmunol*, 2002, 127(1/2): 160-168.

- [16] Chen YK, Jiang XM, Gong JP. Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor enhanced the resolution of venous thrombi [J]. *J Vasc Surg*, 2008, 47(5): 1058-1065.

(收稿日期: 2012-09-13 修回日期: 2012-10-17)