

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.12.001

网络首发 [https://kns.cnki.net/KCMS/detail/50.1097.r.20200225.1657.015.html\(2020-02-26\)](https://kns.cnki.net/KCMS/detail/50.1097.r.20200225.1657.015.html(2020-02-26))

食蟹猴不同程度肝纤维化的 3.0T MR-PWI 参数对比研究*

丁可¹, 黄瑞岁¹, 韦学¹, 韦选旭¹, 陆善金¹, 陆伟²

(广西医科大学第三附属医院:1.放射科;2.病理科,南宁 530031)

[摘要] **目的** 分析食蟹猴不同程度肝纤维化的磁共振灌注加权成像(MR-PWI)参数的变化规律,探讨肝纤维化严重程度的最佳检测指标。**方法** 采用配伍组设计对具有肝纤维化完整发展过程的 15 只食蟹猴进行 Exchange 肝脏双血供模型的 PWI 对比研究,分析不同程度肝纤维化的 PWI 参数达峰时间(TTP)、最大浓度(Max Conc)、最大斜率(Max Slope)、曲线下面积(AUC)的变化规律及其与肝纤维化严重程度的相关性,采用 ROC 曲线判断 PWI 参数对肝纤维化的诊断效能,探讨肝纤维化严重程度的最佳检测指标。**结果** 随着肝纤维化进展,TTP 逐渐延长且组间比较差异均有统计学意义($P < 0.01$),Max conc、Max Slope、AUC 逐渐变小且 S3、S4 期与 S0、S1、S2 期比较,差异有统计学意义($P < 0.01$)。TTP 与肝纤维化程度呈高度正相关($r_s = 0.921$)。PWI 参数诊断不同程度肝纤维化的效能由高到低依次为:TTP > Max Slope > AUC > Max conc。TTP 诊断各期肝纤维化的阈值分别为:S1 期 1.714 ~ < 2.141 min、S2 期 2.141 ~ < 2.852 min、S3 期 2.852 ~ < 3.595 min、S4 期 ≥ 3.595 min。**结论** 食蟹猴肝纤维化模型的 PWI 参数随着肝纤维化进展而发生规律性变化,其中 TTP 是评价肝纤维化严重程度的最佳检测指标。

[关键词] 肝纤维化;磁共振灌注加权成像;动物模型;食蟹猴**[中图分类号]** R445.2**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2020)12-1893-05

A comparative study of 3.0T MR-PWI parameters in different degrees of liver fibrosis of Cynomolgus monkeys*

DING Ke¹, HUANG Ruisui¹, WEI Xue¹, WEI Xuanxu¹, LU Shanjin¹, LU Wei²

(1. Department of Radiology; 2. Department of Pathology, Third Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi 530031, China)

[Abstract] **Objective** To analyze the change rule of parameters of MR perfusion weighted imaging (MR-PWI) in cynomolgus monkeys with different degrees of liver fibrosis, and to explore the best detection index for evaluating the severity of liver fibrosis. **Methods** Fifteen cynomolgus monkeys with the complete development process of liver cirrhosis conducted the PWI comparative study of exchange liver double blood supply model by adopting the randomized block design. The change rule of the time to peak (TTP), maximal concentration (Max Conc), maximal slope (Max Slope), area under the curve (AUC) of PWI parameters in different degrees of liver fibrosis and their correlation with the severity of hepatic fibrosis were analyzed. The ROC curve was adopted to judge the diagnostic efficiency of PWI for hepatic fibrosis, and the best detection indicator for evaluating the severity of hepatic fibrosis was investigated. **Results** With the liver fibrosis progress, TTP was prolonged gradually, moreover the inter-group comparison showed the statistically significant difference ($P < 0.01$). Max conc, Max Slope and AUC were gradually decreased, and the differences between the stage S3 and S4 with the stage S0, S1, S2 were statistically significant ($P < 0.01$). TTP was highly positively correlated with the severity of liver fibrosis ($r_s = 0.921$). The efficiencies of PWI parameters for diagnosing different degrees of liver fibrosis form high to low were in turn TTP > Max Slope > AUC > AX conc. The threshold values of TTP for diagnosing the each stage of liver fibrosis were S1 stage 1.714 ~ < 2.141 min, S2 stage 2.141 ~ < 2.852 min, S3 stage 2.852 ~ < 3.595 min and S4 stage ≥ 3.595 min. **Conclusion** The PWI parameters

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81560278);广西临床重点专科建设项目(桂卫医发[2019]-17);广西医学高层次骨干人才培养“139”计划培养项目(G201903023);南宁市医学重点学科建设项目(南卫[2017]-11)。 作者简介:丁可(1976—),主任医师、教授,博士,主要从事慢性肝病的基础和影像学研究。

of liver fibrosis model in cynomolgus monkey develop the regular changes with the liver fibrosis progress, in which TTP is the optimal detection indicator for evaluating the severity degree of liver fibrosis.

[Key words] liver fibrosis; MR perfusion weighted imaging; animal model; cynomolgus monkeys

肝纤维化是慢性肝病的重要病理特征^[1],在肝纤维化 S4 期即早期肝硬化之前是一个可逆的过程^[2],但任其发展将会导致肝硬化甚至肝癌,因此,早期诊断和治疗至关重要^[3-4]。作为诊断肝纤维化“金标准”的肝穿刺活检,由于具有“创伤性”缺陷而不利于肝纤维化的动态监测和疗效观察,探寻无创性检查方法成为肝纤维化研究的热点^[3]。研究显示磁共振在无创性评估肝纤维化方面具有较大的潜力和发展空间^[5],其中磁共振灌注加权成像(magnetic resonance-perfusion weighted imaging, MR-PWI)是一种能同时反映组织器官形态学和血流灌注信息改变的功能影像学检查方法,在许多脏器病变中显示出独特的诊断优势^[6-7],但对肝纤维化的研究报道极少。肝纤维化 PWI 的基础研究方面,既往实验对象常为低等动物且个体差异影响实验结果。而食蟹猴灵长类高等动物的生理机能与人更为相似,是研究人类生命现象最好的模型^[8-11],但目前国内外文献尚未发现食蟹猴肝纤维化模型关于 PWI 的研究报道。本研究采用自体配对的方法,对具有肝纤维化 S0~S4 期完整发展过程的 15 只食蟹猴的 PWI 进行动态对比研究,旨在客观揭示 PWI 参数随肝纤维化严重程度而变化的规律,并探讨肝纤维化严重程度的 PWI 最佳检测指标。

1 材料与方法

1.1 实验动物

实验动物为 30 只雄性健康食蟹猴,年龄 7 岁,体重 6.0~7.0 kg,由广西食蟹猴养殖基地及广西实验动物中心提供。造模过程中所有实验猴均饲养在养殖基地提供的专用空调实验房内(以不锈钢丝笼分笼喂养和造模),房内通风良好,保持清洁,空调温度设置为 25℃,空气湿度 50%~70%。所有检查均经广西医科大学医学伦理委员会及实验动物伦理委员会审查批准。

1.2 实验试剂及肝穿刺活检枪

实验试剂:分析纯 CCl_4 ($\geq 99.5\%$) 及无水乙醇,均为广东西陇化工股份有限公司生产。肝穿刺活检枪:半自动型活检针,规格型号“18G L-130 mm”,制造厂商为日本 TSK 株式会社。

1.3 模型制作

于专用空调实验房内分笼正常喂养,适应环境 1 周后开始进行造模。用橄榄油将分析纯 CCl_4 配制成 400 mL/L,每只食蟹猴按 1.0 mL/kg 的剂量给予皮下注射,每周 2 次,同时辅以饲喂含有约 35% 胆固醇的高脂饲料(由广西食蟹猴养殖基地提供),并将无水乙醇稀释成 10% 后作为唯一饮料。分别于造模前及给药后的第 4、8、12、16 周,在 B 超引导下肝右后叶

穿刺活检术,注意避开肝脏大的血管和胆管,标本长 1.5~2.0 cm。造模后的第 20 周,采用耳缘静脉注射空气栓塞法处死存活的所有实验猴,取大小约 1.5 cm×1.0 cm×0.3 cm 的肝脏标本送病理学检查。

1.4 病理学检查

对所有肝脏标本分别进行苏木素-伊红(HE)及 Masson 三色染色病理学检查。肝纤维化的病理分期参照以下标准^[12]分为 S0~S4 期,S0 期:无肝纤维化;S1 期:汇管区纤维化扩大;S2 期:汇管区周围纤维化,少量纤维间隔形成;S3 期:纤维间隔伴小叶结构紊乱,无肝硬化;S4 期即早期肝硬化。其中 S1、S2 期为轻-中度肝纤维化,S3、S4 期属重度肝纤维化。另外,根据肝组织的炎症活动度大小,又将其分为 G0~G4 级(病理分级)。

1.5 MR-PWI 检查及图像后处理

分别对造模前食蟹猴的正常肝脏及制作肝纤维化模型之后的第 4、8、12、16、20 周的肝脏进行 MR-PWI 检查。使用机型为德国 Siemens 公司 Verio 3.0T 超导 MR 扫描仪,8 通道体部相控表面线圈。所有实验猴的 MRI 检查均于上午空腹状态下开展(禁饮禁食 8 h 以上),将食蟹猴麻醉后取仰卧位固定,肝脏区域置于线圈中心。完成常规序列平扫后进行动态增强磁共振成像(DCE-MRI)检查,采用 3D-FLASH 扫描序列,扫描参数:激励次数 1 次,TR=4.15 ms,TE=1.32 ms,翻转角分别为 3°、6°、9°、12°、15°,采集次数 1 次,矩阵 156×256,层厚 3 mm,层间隔 2 mm,全肝扫描层数 52 层,共 30 个时相,扫描时间 318 s。检查结束后,采用适用于肝脏双血供特点的 PWI 分析软件(Exchange 肝脏双血供模型)对采集数据进行后处理,可以得到达峰时间(TTP)、最大浓度(Max Conc)、最大斜率(Max Slope)、曲线下面积(AUC)等灌注参数,并可自动重建出相应的灌注伪彩图。

1.6 统计学处理

采用 SPSS20.0 统计软件对具有肝纤维化完整发展过程的食蟹猴的 MR-PWI 检测指标进行统计学分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各研究指标的比较采用配伍组设计(随机区组设计)方差分析,组间两两比较用 SNK-*q* 检验;PWI 研究指标与肝纤维化严重程度的相关性采用 Spearman 秩相关分析;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 食蟹猴肝纤维化的造模情况

本实验对 30 只雄性健康食蟹猴进行肝纤维化造模,造模过程中共有 8 只食蟹猴死亡,存活的 22 只食

蟹猴均成功建立起肝纤维化模型,成模率为 73.33%。其中 S1 期 22 例次(图 1),S2 期 20 例次(图 2),S3 期 17 例次(图 3),S4 期 15 例次(图 4)。至第 20 周,具有肝纤维化完整发展过程的食蟹猴共有 15 只。

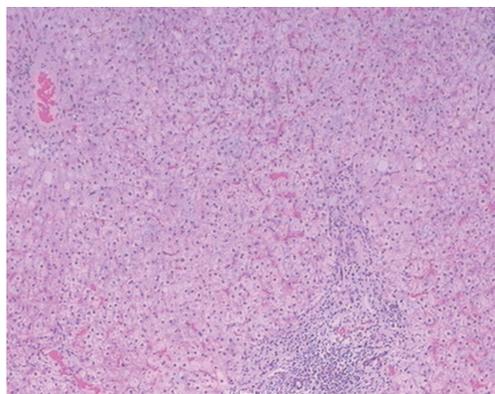


图 1 肝纤维化 S1 期(G2S1)的病理学表现(HE×100)

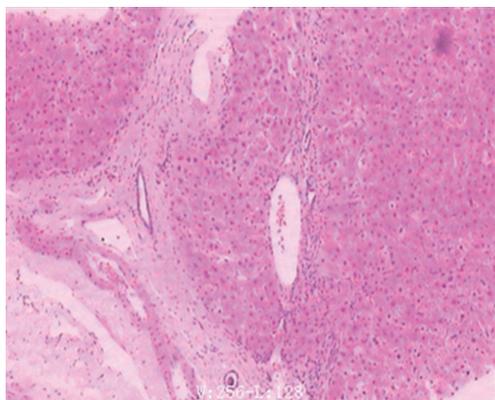


图 2 肝纤维化 S2 期(G2S2)的病理学表现(HE×100)

2.2 食蟹猴不同程度肝纤维化的 MR-PWI 结果比较

剔除造模中途死亡的 8 只食蟹猴及尚未进展至

早期肝硬化的另外 7 只食蟹猴,对具有肝纤维化完整发展过程的 15 只食蟹猴的 MR-PWI 检测指标进行配对组设计的对比研究,结果显示(表 1),随着肝纤维化进展,食蟹猴 MR-PWI 的 TTP 逐渐延长且组间比较差异均有统计学意义($P < 0.01$);Max conc、Max SLOpe、AUC 逐渐变小,重度肝纤维化 S3、S4 期与 S0、S1、S2 期比较,差异有统计学意义($P < 0.01$)。相关分析显示,TTP 与肝纤维化病理分期呈高度正相关($r_s = 0.921, P < 0.01$);Max conc、Max SLOpe、AUC 与肝纤维化病理分期呈中度负相关($r_s = -0.424, -0.683, -0.616, P < 0.01$)。

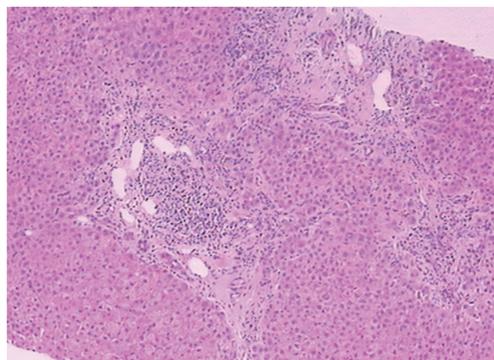
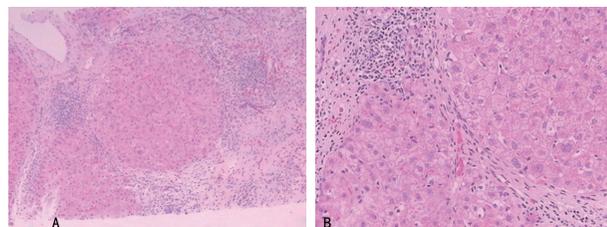


图 3 肝纤维化 S3 期(G3S3)的病理学表现(HE×100)



A:HE×100;B:HE×400。

图 4 早期肝硬化(G4S4)的病理学表现

表 1 食蟹猴不同程度肝纤维化的 MR-PWI 参数变化($\bar{x} \pm s$)

肝纤维化程度	n	TTP(min)	Max conc(mmol)	Max SLOpe(mmol/min)	AUC
正常肝(S0 期)	15	1.292±0.347	0.792±0.229	1.913±0.378	2.891±0.447
肝纤维化 S1 期	15	1.935±0.396	0.759±0.224	1.852±0.341	2.759±0.368
肝纤维化 S2 期	15	2.552±0.455	0.738±0.242	1.729±0.303	2.714±0.351
肝纤维化 S3 期	15	3.363±0.448	0.577±0.174	1.324±0.291	2.351±0.291
肝纤维化 S4 期	15	4.169±0.474	0.550±0.139	1.115±0.276	2.147±0.282
F		11.349	22.451	100.371	53.202
P		0.000	0.000	0.000	0.000

表 2 食蟹猴早期肝硬化的 MR-PWI 参数 ROC 曲线分析结果

MR-PWI 参数	曲线下面积	截断点	灵敏度	特异度	P
TTP(min)	0.973	≥3.595	0.933	0.917	0.000
Max conc(mmol)	0.587	≤0.645	0.733	0.633	0.000
Max SLOpe(mmol/min)	0.709	≤1.422	0.867	0.751	0.000
AUC	0.637	≤2.371	0.801	0.717	0.000

2.3 MR-PWI 参数在早期肝硬化中的诊断效能

PWI 参数诊断不同程度肝纤维化的效能由高到低依次分别为: TTP > Max SLOpe > AUC > Max conc, TTP 的尤登指数最大(0.85),为最具诊断意义的检测指标。TTP 诊断肝纤维化各期的最佳临界点(阈值)分别为: S1 期 1.714 ~ < 2.141 min、S2 期 2.141 ~ < 2.852 min、S3 期 2.852 ~ < 3.595 min、S4

期 ≥ 3.595 min,以 ROC 曲线判断得到的最佳临界点来诊断不同程度肝纤维化,可以分别求出其灵敏度和特异度(表 3)。

表 3 TTP 诊断不同程度肝纤维化的最佳临界点

肝纤维化程度	最佳临界点(min)	灵敏度	特异度	P
肝纤维化 S1 期	1.714~<2.141	0.917	0.800	0.000
肝纤维化 S2 期	2.141~<2.852	0.925	0.833	0.000
肝纤维化 S3 期	2.852~<3.595	0.928	0.911	0.000
早期肝硬化(S4 期)	≥ 3.595	0.933	0.917	0.000

3 讨 论

3.1 食蟹猴肝纤维化模型的建立及其意义

肝纤维化是慢性肝病的重要病理特征及可逆转的中间发展环节,但如果得不到及时控制,可能会发展为肝硬化甚至肝癌,因此,如何在可逆转的早期肝硬化之前作出诊疗极为重要^[13-14],是目前医学界关注的重大课题。由于肝穿刺病理活检为有创检查,临床研究无法对每位患者的肝纤维化发展进行动态观察,为了探讨防治肝纤维化的有效措施,建立一个与人肝纤维化相似并有肝纤维化 S0~S4 期完整发展过程的动物模型极为重要。CCl₄ 是一种选择性肝毒性药物,给予长期反复的 CCl₄ 刺激可诱导肝纤维化形成。用 CCl₄ 诱导的肝纤维化模型具有成模时间短、简便、价廉、重复性好及病理特征稳定可靠等特点,在形态学和病理生理学方面与人肝纤维化一致,如 CCl₄ 模型的病理学分级与病理分期呈正相关关系^[8,11,14],可发生肝细胞坏死后再生,实验动物表现的体征及肝功能异常与人慢性肝病进展为肝硬化时相似,因而成为国内应用最多的造模方法^[15]。食蟹猴属灵长类高等动物,其生理机能较低级动物更接近于人类,是研究人类生命现象最好的模型^[8]。本研究及相关文献均显示,CCl₄ 诱导建立的食蟹猴不同程度肝纤维化(S1~S4)的病理特征与人类肝纤维化完全一致^[8,10]。此外,食蟹猴肝纤维化模型的血流灌注参数、血清标志物及门静脉自由压力的变化规律与人类惊人的相似,这是低等动物所无法比拟的^[8,10-11]。由此可见 CCl₄ 诱导建立食蟹猴肝纤维化模型的良好效果,可为慢性肝病的防治研究提供更好的实验平台。

3.2 MR-PWI 参数在食蟹猴不同程度肝纤维化中的变化规律

因为肝纤维化的大体形态学变化不明显,所以影像诊断一直是个难点,常规影像学检查往往不能作出早期诊断,临床上主要依赖于患者不易接受的肝穿刺病理活检这种有创检查,因而不利于肝纤维化的动态监测和疗效评估,如何为肝纤维化和肝硬化的早期诊断提供无创性检查显得尤为重要,已成为医学界研究的热点。其中基于血流动力学的无创性功能成像研究——CT 灌注成像(CTP)和 MR-PWI 正成为影像

学研究寻求的突破口,有可能在形态学变化之前对肝纤维化作出早期诊断^[11],MR-PWI 尚具有无辐射损伤的技术优势,临床应用前景广阔。

MR-PWI 采用快速扫描序列进行连续多层面、重复采集静脉团注对比剂前后的图像,并通过图像后处理获得一系列灌注参数,是一种能同时反映组织器官形态学和血流灌注信息改变的功能影像学检查方法^[16-17],在许多脏器肿瘤中具有独特的诊断优势^[6-7],但对肝纤维化的研究报道则极少。本研究在与人有近缘关系的食蟹猴肝纤维化模型上,采用自体配对的方法,对具有肝纤维化 S0~S4 期完整发展过程的 15 只食蟹猴的 PWI 参数进行对比研究,真正实现每一只食蟹猴建模前后的动态比较,从而能更客观地揭示 PWI 参数随肝纤维化严重程度而变化的规律,将会为临床采用 PWI 技术来无创性监测肝纤维化提供更为可靠的理论和实践依据。

肝纤维化可以导致肝实质和血管结构发生改变,从而引起肝血流动力学及血流灌注信息发生变化,常规影像学检查往往无法反映这种细微的形态学改变,PWI 则可在肝脏形态学变化之前检测到异常的血流灌注信息^[17],从而实现对肝纤维化和肝硬化的早期诊断。肝纤维化与肝窦毛细血管关系密切,正常肝窦是不连续毛细血管,它有利于肝细胞和血液之间的物质交换,而随着肝纤维化发展,肝窦内皮窗孔减少甚至消失,最终是肝窦毛细血管化^[18],而肝窦毛细血管化将会导致肝脏血流灌注信息发生变化^[19]。本研究表明,TTP 随着肝纤维化的进展而逐渐延长,考虑是由于肝纤维组织增生及假小叶形成造成肝血流异常,不成对的小动脉增多、肝窦毛细血管化及窦后阻塞等,导致血管狭窄、闭塞,肝脏血流灌注速率减慢,同时沉积在窦周、血管外间隙的胶原阻碍了对比剂的扩散,这种病理改变随着肝纤维化的进展而加重,表现为 TTP 逐渐延长且组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。本研究中的 Max conc、Max SLOpe、AUC 均随着肝纤维化进展逐渐变小,但只有重度肝纤维化 S3、S4 期与 S0、S1、S2 期之间差异有统计学意义($P < 0.05$),可见在肝纤维化严重程度的判断上,这些指标的诊断价值有限。S0、S1、S2 期的 Max SLOpe、Max conc、AUC 差异无统计学意义($P > 0.05$),可能是此阶段没有肝纤维化或肝纤维化程度较轻,门静脉血流阻力的增加相对较小,肝动脉可通过自身调节使肝脏的总灌注量维持在一定水平,但发展到肝纤维化 S3、S4 期时,肝小叶结构破坏及早期肝硬化假小叶形成,肝微循环阻力明显增大,无法再通过肝脏的自身调节功能来维持总肝灌注量的稳定,从而表现为 S3、S4 期的 Max SLOpe、Max conc、AUC 明显低于正常肝脏和轻度肝纤维化。

3.3 MR-PWI 参数在早期肝硬化中的诊断效能分析

本研究利用 ROC 曲线对 MR-PWI 参数在早期

肝硬化中的诊断效能进行分析评价,结果显示,TTP 是肝纤维化 PWI 最具诊断意义的检测指标(尤登指数为 0.85),考虑是因为肝窦毛细血管化及窦周、血管外间隙胶原沉积可导致对比剂强化峰值时间延长,肝纤维化越重,TTP 时间越长(正相关关系),而且 TTP 几乎不受对比剂等其他因素的影响。Max Slope、AUC、Max conc 诊断效能不佳的原因是这些指标的大小除了与肝纤维化程度有关,还会受到对比剂浓度、剂量及注射速率等因素的影响。TTP 诊断肝纤维化各期的阈值分别为:S1 期 1.714~<2.141 min、S2 期 2.141~<2.852 min、S3 期 2.852~<3.595 min、S4 期 ≥3.595 min,也就是说,当 TTP 大于 3.595 min 时,需要警惕早期肝硬化的可能;至于 TTP 诊断肝纤维化严重程度的临床应用价值,还有待在今后的临床研究中进一步加以验证。

参考文献

[1] SIRLI R, SPOREA I, BOTA S, RATIU I. Liver elastography for the diagnosis of portal hypertension in patients with liver cirrhosis[J]. *Med Ultrason*, 2012, 14(3):225-230.

[2] TACKE F, TRAUTWEIN C. Mechanisms of liver fibrosis resolution [J]. *J Hepatol*, 2015, 63(4):1038-1039.

[3] 韩秉艳,王皓,王云玲,等. MR 灌注加权成像评价兔肝纤维化分期的实验研究[J]. *中国临床医学影像杂志*, 2017, 28(7):484-487.

[4] 王国光,孟令平,胡明秀,等. 磁共振灌注成像在鼠肝纤维化、肝硬化病理分级中的价值[J]. *放射学实践*, 2017, 32(11):1117-1121.

[5] FEIER D, BALASSY C, BASTATI N, et al. Liver fibrosis: histopathologic and biochemical influences on diagnostic efficacy of hepatobiliary contrast-enhanced MR imaging in staging. *Radiology*, 2013, 269(2):460-468.

[6] 赵文芮,许茂盛,王世威,等. DCE-MRI 及 DWI 影像特征对乳腺癌病理组织学分级及 Ki-67 表达的预测研究[J]. *中国生物医学工程学报*, 2019, 38(2):176-183.

[7] 冯煜森,丁莹莹. 定量 DCE-MRI 在宫颈癌疗效评估中的研究进展[J]. *实用放射学杂志*, 2017, 33(4):622-624,631.

[8] DING K, LIU M R, LI J M, et al. Establishment of a liver fibrosis Model in Cynomolgus monkeys[J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2014, 66(5/6):257-261.

[9] 陈少锋,苏华,赵湘培,等. 食蟹猴肝纤维化形成过程动态观测[J]. *药学研究*, 2017, 36(7):376-378,416.

[10] DING K, LIU M R, LI J M, et al. A study of free portal pressure in cynomolgus monkeys with different degrees of liver fibrosis[J]. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 2014, 33(4):315-321.

[11] 丁可,刘满荣,王大成,等. 食蟹猴不同程度肝纤维化的 CT 灌注成像参数值比较[J]. *广东医学*, 2018, 39(21):3154-3158.

[12] 中华医学会肝病学会,中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2015 更新版)[J]. *中华肝脏病杂志*, 2015, 23(12):888-905.

[13] 韩秉艳,王皓,王云玲,等. MR 灌注加权成像评价兔肝纤维化分期的实验研究[J]. *中国临床医学影像杂志*, 2017, 28(7):484-487.

[14] 丁可,刘满荣,吴奇新,等. 不同剂量四氯化碳诱导家兔肝纤维化模型的建立[J]. *重庆医学*, 2014, 43(4):456-458.

[15] 周伟,沈微. 肝细胞增殖、凋亡与肝纤维化关系的实验研究[J]. *重庆医学*, 2007, 36(11):1062-1064.

[16] BOSS M K, MURADYAN N, THRALL D E. DCE-MRI: a review and applications in veterinary oncology[J]. *Vet Comp Oncol*, 2013, 11(2):87-100.

[17] DE ROBERTIS R, D'ONOFRIO M, DEMOZZI E, et al. Noninvasive diagnosis of cirrhosis: A review of different imaging modalities[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(23):7231-7241.

[18] ELPEK G O. Angiogenesis and liver fibrosis [J]. *World J Hepatol*, 2015, 7(3):377-391.

[19] LEE S J, KIM K H, PARK K K. Mechanisms of fibrogenesis in liver cirrhosis: the molecular aspects of epithelial-mesenchymal transition [J]. *World J Hepatol*, 2014, 6(4):207-216.