

# 应用声触诊量化技术诊断小鼠肝纤维化

熊喜峰, 刘志河, 刘文丹, 马宁芳, 沈雁

熊喜峰, 刘志河, 沈雁, 暨南大学医学院附属广州市红十字会医院 广东省广州市 510220

熊喜峰, 刘志河, 沈雁, 广州市创伤外科研究所 广东省广州市 510220

刘文丹, 广州医科大学第四医院肿瘤血液内科 广东省广州市 511440

马宁芳, 广州医科大学基础学院组织学与胚胎学教研室 广东省广州市 510182

熊喜峰, 硕士, 研究实习员, 主要从事消化系统疾病发生机制的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81272222

广东省科技计划基金资助项目, No. 2011B031300026

作者贡献分布: 熊喜峰与刘志河对此文所作贡献均等; 此课题由熊喜峰、刘志河、刘文丹、马宁芳及沈雁设计; 研究过程由熊喜峰、刘志河、刘文丹、马宁芳及沈雁操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由刘文丹提供; 数据分析由熊喜峰与沈雁完成; 本论文写作由熊喜峰、刘志河及马宁芳完成。

通讯作者: 刘志河, 研究员, 510220, 广州市海珠区同福中路396号, 广州市创伤外科研究所. zliu0731@163.com

电话: 020-34403732

收稿日期: 2013-11-25 修回日期: 2014-01-02

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-03-08

## Application of virtual touch tissue quantification to diagnose liver fibrosis in mice

Xi-Feng Xiong, Zhi-He Liu, Wen-Dan Liu,  
Ning-Fang Ma, Yan Shen

Xi-Feng Xiong, Zhi-He Liu, Yan Shen, Guangzhou Institute of Traumatic Surgery, Guangzhou Red Cross Hospital, Medical College, Jinan University, Guangzhou 510220, Guangdong Province, China

Xi-Feng Xiong, Zhi-He Liu, Yan Shen, Guangzhou Institute of Traumatic Surgery, Guangzhou 510220, Guangdong Province, China

Wen-Dan Liu, Department of Hematological Oncology, the Fourth Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 511440, Guangdong Province, China

Ning-Fang Ma, Department of Histology and Embryology, Guangzhou Medical University, Guangzhou 510182, Guangdong Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81272222; and Guangdong Province Science and Technology Plan Projects, No. 2011B031300026

Correspondence to: Zhi-He Liu, Researcher, Guangzhou Institute of Traumatic Surgery, Guangzhou Red Cross Hospital, Medical College, Jinan University, 396 Tongfu Middle Road, Haizhu District, Guangzhou 510220, Guangdong Province, China. zliu0731@163.com

Received: 2013-11-25 Revised: 2014-01-02

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-03-08

## Abstract

**AIM:** To assess the application of virtual touch

tissue quantification (VTQ) in the diagnosis of liver fibrosis in mice.

**METHODS:** Forty male mice were randomly divided into control, CCl<sub>4</sub>-1 wk, CCl<sub>4</sub>-4 wk and CCl<sub>4</sub>-8 wk groups. At different time points, VTQ value was calculated, and aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), collagen IV (IV-C), hyaluronic acid (HA) and laminin (LN) were measured. Liver tissues were taken for pathological analysis.

**RESULTS:** HE staining indicated that the 1-wk group showed a small amount of necrosis and inflammatory cell infiltration; the 4-wk group showed significant hepatocyte ballooning degeneration and some necrosis; the 8-wk group showed a large amount of inflammatory cell infiltration and abnormal lobular structure; and the control group had normal lobular architecture. Compared with the control group with a few collagen fibers in the vessel wall, the number of collagen fibers increased significantly in the 1-, 4- and 8-wk groups. The fibrous septa was obvious in the 4-wk group and pseudolobule formation with proliferated collagen fibers was present in the 8-wk group. Compared with the control group, AST, ALT, IV-C, LN and HA showed no significant differences in the 1-wk group ( $P > 0.05$ ), but were significantly different in the 4- and 8-wk groups ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ ). VTQ value showed no significant difference between the control group and 1-wk group ( $P > 0.05$ ), but differed significantly between the control group and 4- and 8-wk groups ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ ).

**CONCLUSION:** VTQ can be used as a new method for the diagnosis of liver fibrosis.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Virtual touch tissue quantification; Liver fibrosis; CCl<sub>4</sub>; Mouse

Xiong XF, Liu ZH, Liu WD, Ma NF, Shen Y. Application of virtual touch tissue quantification to diagnose liver fibrosis

## ■背景资料

我国是肝病大国, 肝纤维化是肝硬化、肝癌发生发展的必经病理过程, 在肝纤维化阶段可以逆转, 要预防肝硬化、肝癌的发生, 就必须针对肝纤维化有正确的诊断, 而传统的检测方法肝活检, 因存在局限性, 因此亟需寻找一个有效的非创伤性诊断方法来评估肝纤维化程度。

## ■同行评议者

党双锁, 教授, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

## ■ 研发前沿

应用声触诊量化技术(virtual touch tissues quantification, VTQ)在小鼠肝纤维化成模过程中进行检测,初步研究其是否能够作为诊断肝纤维化的有效手段,寻求无创的诊断方法来评估肝纤维化程度。在临床上建立诊断人肝纤维化分期相对应VTQ值的范围,从而建立简便易行和准确性高的诊断体系,使肝纤维化的无创性诊断迈上一个新的台阶。

in mice. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 963-968  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/963.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.963>

## 摘要

**目的:** 声触诊量化技术(virtual touch tissues quantification, VTQ)在小鼠肝纤维化诊断中的实验研究。

**方法:** 40只小鼠随机分成对照组、CCl<sub>4</sub> 1 wk组、CCl<sub>4</sub> 4 wk组和CCl<sub>4</sub> 8 wk组。于造模时间点测定VTQ测量值(Vs值);检测门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、IV型胶原(IV collagen, IV-C)、透明质酸(hyaluronic acid, HA)和层粘连蛋白(laminin, LN)的变化;制作肝组织石蜡切片,观察病理学变化。

**结果:** HE染色显示对照组肝小叶结构正常;1 wk时可见肝细胞少量坏死,炎症细胞少量浸润;4 wk时肝细胞气球样变明显,可见不同程度碎屑坏死;8 wk时正常肝小叶结构消失,大量炎症细胞浸润。Masson染色显示对照组仅在中央静脉壁上少量绿色胶原纤维;1 wk时中央静脉及汇管区可见绿色胶原纤维;4 wk时胶原纤维间隔较明显;8 wk时大量增生的胶原纤维包绕、分割成大小不等的假小叶。血清学AST、ALT、IV-C、LN及HA检测比较:1 wk组与对照组无差别( $P>0.05$ ),4 wk组、8 wk组与对照组差别具有显著性意义( $P<0.01$ ,  $P<0.001$ )。VTQ测量值(VTQ value, Vs)显示1 wk组与对照组无差别( $P>0.05$ );4、8 wk组与对照组差别具有显著性意义( $P<0.001$ )。

**结论:** 与组织病理学及血清学检测一样,声触诊量化技术也可作为一种新手段在诊断肝纤维化动态变化中提供一定的参考价值。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 声触诊组织量化技术;肝纤维化;四氯化碳;小鼠

**核心提示:** 本文通过小鼠肝纤维化模型的制模成功,检测其在纤维化过程中的病理变化和血清学变化,同时检查声触诊量化技术(virtual touch tissues quantification, VTQ)的变化,结果提示VTQ技术在诊断肝纤维化表现与上述两者的变化一致性,因此VTQ的研究能够作为诊断小鼠肝纤维化的有效手段。

熊喜峰, 刘志河, 刘文丹, 马宁芳, 沈雁. 应用声触诊量化技术诊断小鼠肝纤维化. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 963-968  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/963.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.963>

## 0 引言

大部分的慢性肝脏损伤都会引起肝硬化,而肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)作为肝硬化发展的必经阶段,其机制较复杂,目前认为他是由多种因素造成肝细胞外基质的异常增多和/或降解相对不足而形成<sup>[1]</sup>。近年来人们日益重视肝纤维化,已有研究证实肝纤维化尚可发生逆转,而肝硬化则否<sup>[2-4]</sup>,故阻止或逆转肝纤维化的发生、发展是有效防止肝硬化、肝癌发生的重要途径。

传统的检测肝硬化方法主要依靠“金标准”-肝活检,然而因其属有创性的检查,有潜在的风险,且受限于穿刺部位、样本大小,以及不能作为一个动态观察肝纤维化变化及疗效判断的指标等,故其运用明显存在局限性。人们期望尽早诊断出肝纤维化,为治疗提供时间,然而肝病的合理治疗离不开对肝脏炎症和肝纤维化程度的正确评估。近年来,寻找一个有效的非创伤性诊断方法来替代肝活检评估肝纤维化程度是肝病学者致力研究的课题<sup>[5]</sup>。

声触诊组织量化技术(virtual touch tissues quantification, VTQ)是一种通过使用超声声辐射压力脉冲(acoustic radiation force impulselining, ARFI)成像原理来量化组织弹性的新技术<sup>[6]</sup>,原理是其通过探头发射一个纵波,产生一种在组织中传播的横向剪切波,来获取组织硬度信息参数,组织越硬,剪切波速度越快,其量化值间接评估组织硬性程度。研究证实在肝纤维化进程中肝组织硬度逐渐增加<sup>[7]</sup>,已有研究显示该技术已被使用在区分乳腺<sup>[8,9]</sup>、肝<sup>[10]</sup>、肾功能<sup>[11]</sup>和甲状腺<sup>[12]</sup>等疾病的良、恶性病变中。本研究拟应用VTQ在小鼠肝纤维化成模过程中进行检测,初步研究其是否能够作为诊断肝纤维化的有效手段。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 清洁级♂昆明小鼠40只,体质量25-28 g,购自南方医科大学实验动物中心(SCXK粤2008)。四氯化碳(CCl<sub>4</sub>, 500 mL/瓶)为广州化学试剂厂产品,粟米油市售,将CCl<sub>4</sub>溶于食用粟米油中,按CCl<sub>4</sub>: 粟米油 = 1:1比例配成500 mL/L以备用。丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase,

表 1 小鼠肝脏病理模型病理学改变情况 ( $n = 10$ )

分组	死亡数( $n$ )	存活动物肝脏病理分级
control	0	10(G0S0)
1 wk组	1	9(G1S0)
4 wk组	1	2(G2S1)、7(G3S2)
8 wk组	2	1(G3S3)、7(G4S4)

ALT)、门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)检测试剂盒为深圳市康乃格生物技术有限公司产品。透明质酸(hyaluronic acid, HA), IV型胶原(type IV collagen, IV-C)及层黏连蛋白(laminin, LN)放射免疫分析测定盒, 均购自上海海洋医学生物技术中心。

## 1.2 方法

1.2.1 动物造模: 昆明小鼠随机分成对照组、 $\text{CCl}_4$  1 wk组、 $\text{CCl}_4$  4 wk组和 $\text{CCl}_4$  8 wk组, 每组10只。所有小鼠饲养1 wk后,  $\text{CCl}_4$ 模型组小鼠皮下注射 $\text{CCl}_4$ -粟米油混悬液, 首次注射 $\text{CCl}_4$ 原液(6 mL/kg), 以后隔3 d后再次皮下注射 $\text{CCl}_4$ -粟米油混悬液(6 mL/kg), 2次/wk。对照组仅皮下注射同等剂量的粟米油, 2次/wk<sup>[13]</sup>。

1.2.2 标本处理: 分别于造模后1、4、8 wk后用1%戊巴比妥钠10 mL/kg腹腔注射麻醉后将其固定在固定板上, 检测部位均为右侧肝组织。测定剪切波速度Vs值后, 眼球取血, 4 °C 2000 r/min离心20 min, 收集血清置-80 °C保存待测。取血后行开腹手术, 迅速剪取中叶肝组织, 置于40 g/L中性甲醛溶液固定, 常规方法制作石蜡切片, 作病理学观察。

1.2.3 测定Vs值: 德国Siemens ACUSON S2000彩色多普勒超声诊断仪, 高频探头9L4, 频率9 MHz。测定VTQ的数值: 检测时探头向肝脏发射一个低频纵向波, 从而获得一个横向运动的剪切波速度, 可反映组织纵向受力后而横向产生的组织位移, 称为弹性参数, 即VTQ值(Vs值), 每只小鼠肝脏测量5次, 控制取样框深度测得各Vs值后取平均值。

1.2.4 血清肝功能及纤维化指标的测定: 采用日立7170A全自动生化分析仪测定AST、ALT; 采用放射免疫法, 严格按照说明书步骤测定IV-C、HA和LN。

1.2.5 肝组织病理学检测: 常规HE及Masson染色, 光学显微镜下观察及比较肝组织结构的变化。

1.2.6 肝纤维化结果判断标准: 诊断标准参照2000年全国第十次病毒性肝炎及肝病学术会议

制订的《病毒性肝炎防治方案》<sup>[14]</sup>: (1)炎症活动分级(G): G0汇管区及周围无炎症, 肝小叶内无炎症; G1汇管区炎症, 小叶内有肝细胞变性及少数点灶状坏死; G2汇管区轻度碎屑状坏死, 小叶内肝细胞变性, 点灶状坏死灶或嗜酸性小体; G3汇管区中度碎屑状坏死, 小叶内肝细胞变性、融合坏死或见桥接坏死; G4汇管区重度碎屑状坏死, 小叶内桥接坏死范围广, 累及多个小叶; (2)纤维化程度分期标准(S): S0无; S1汇管区纤维化扩大, 局限窦周及小叶内纤维化; S2汇管区周围纤维化, 纤维间隔形成, 小叶结构保留; S3纤维间隔伴小叶结构紊乱, 无肝硬化; S4早期肝硬化, 肝实质广泛破坏, 弥漫性纤维增生, 被分隔的肝细胞团呈不同程度的再生及假小叶形成。

统计学处理 数据采用SPSS17.0软件分析, 数据采用mean±SD表示, 多组间均数比较采用方差分析, 组间均数比较采用LSD-*t*检验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 HE染色 对照组肝小叶结构正常, 肝细胞无变性坏死, 汇管区无炎症细胞浸润(图1A); 1 wk组肝细胞少量坏死, 有少量纤维组织增生, 汇管区有少量炎症细胞浸润, 小叶内可见点、灶状坏死(图1B); 4 wk组可见肝细胞气球样变明显和不同程度碎屑坏死, 炎细胞形成桥样连接(图1C); 8 wk组正常肝小叶结构消失, 大量炎症细胞浸润(图1D)。

2.2 Masson染色 对照组肝内仅在中央静脉壁上少量的绿色纤维(图1E); 1 wk时肝组织汇管区和中央静脉可见绿色胶原纤维(图1F); 4 wk时纤维间隔较明显(图1G), 胶原纤维沿肝板延伸呈纤维隔状, 但无完整分界形成; 8 wk时大量增生的胶原纤维包绕、分割成大小不等的假小叶(图1H)。

2.3 肝纤维化结果判断 参照《病毒性肝炎防治方案》诊断标准, 结合HE和Masson染色结果, 判断本实验模型中不同组别各小鼠病理学改变情况(表1)。

2.4 不同组别血清学肝纤维化指标变化情况 血清学各指标随给药时间延长依次升高, 在8 wk达到高峰(表2, 图2A, B)。AST、ALT、IV-C、LN及HA检测比较: 1 wk组与对照组无差别( $P > 0.05$ ), 4、8 wk组与对照组差别具有显著性意义( $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ )。

2.5 不同组别Vs值测定情况 各组存活的小鼠每只进行5次测量, 取框深度约为0.9 cm, Vs值随着给药时间的延长而增大(图1I-L, 图2C), 分别为

## ■ 相关报道

Bai等将VTQ在乳腺癌上进行了应用, Zhang等证实VTQ技术在诊断良恶性甲状腺结节上有用的。而在肝硬化及肝癌的必经阶段肝纤维化的诊断上却显有应用VTQ技术的报道。本文应用了上述学者同样的VTQ诊疗手段, 在小鼠肝纤维化进程中对肝组织进行动态的硬度监测。



## ■创新盘点

以往研究主要单一应用肝活检或肝纤4项诊断肝纤维化,而本文舍弃有创肝活检,应用肝血清学检查与VTQ一致性,同时与普通弹性成像相比,VTQ避免了因操作者机械施压不同,和不受周边组织影响、重复性较高等特点,利用声波探测肝组织的力学形变特性,从而获得反映肝组织弹性硬度的参数,更加客观地评估肝纤维化程度。

表 2 不同组别血清学指标变化 (mean  $\pm$  SD)

分组	AST(U/L)	ALT(U/L)	HA(ng/mL)	IV-C(ng/mL)	LN(ng/mL)
Control组	40.700 $\pm$ 3.230	41.500 $\pm$ 6.500	39.471 $\pm$ 2.124	15.634 $\pm$ 2.779	20.805 $\pm$ 5.087
1 wk组	63.470 $\pm$ 9.050	60.700 $\pm$ 9.030	56.243 $\pm$ 3.531	25.290 $\pm$ 5.514	37.166 $\pm$ 9.321
4 wk组	196.920 $\pm$ 43.490 <sup>b</sup>	171.500 $\pm$ 35.060 <sup>b</sup>	83.600 $\pm$ 6.008 <sup>b</sup>	41.326 $\pm$ 6.148 <sup>b</sup>	59.649 $\pm$ 4.608 <sup>b</sup>
8 wk组	535.890 $\pm$ 127.140 <sup>d</sup>	408.800 $\pm$ 148.530 <sup>d</sup>	123.830 $\pm$ 6.339 <sup>d</sup>	77.693 $\pm$ 3.359 <sup>d</sup>	81.982 $\pm$ 12.629 <sup>d</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$ , <sup>d</sup> $P < 0.001$  vs Control组. AST: 门冬氨酸氨基转移酶; ALT: 丙氨酸氨基转移酶; IV-C: IV型胶原; HA: 透明质酸; LN: 层粘连蛋白。

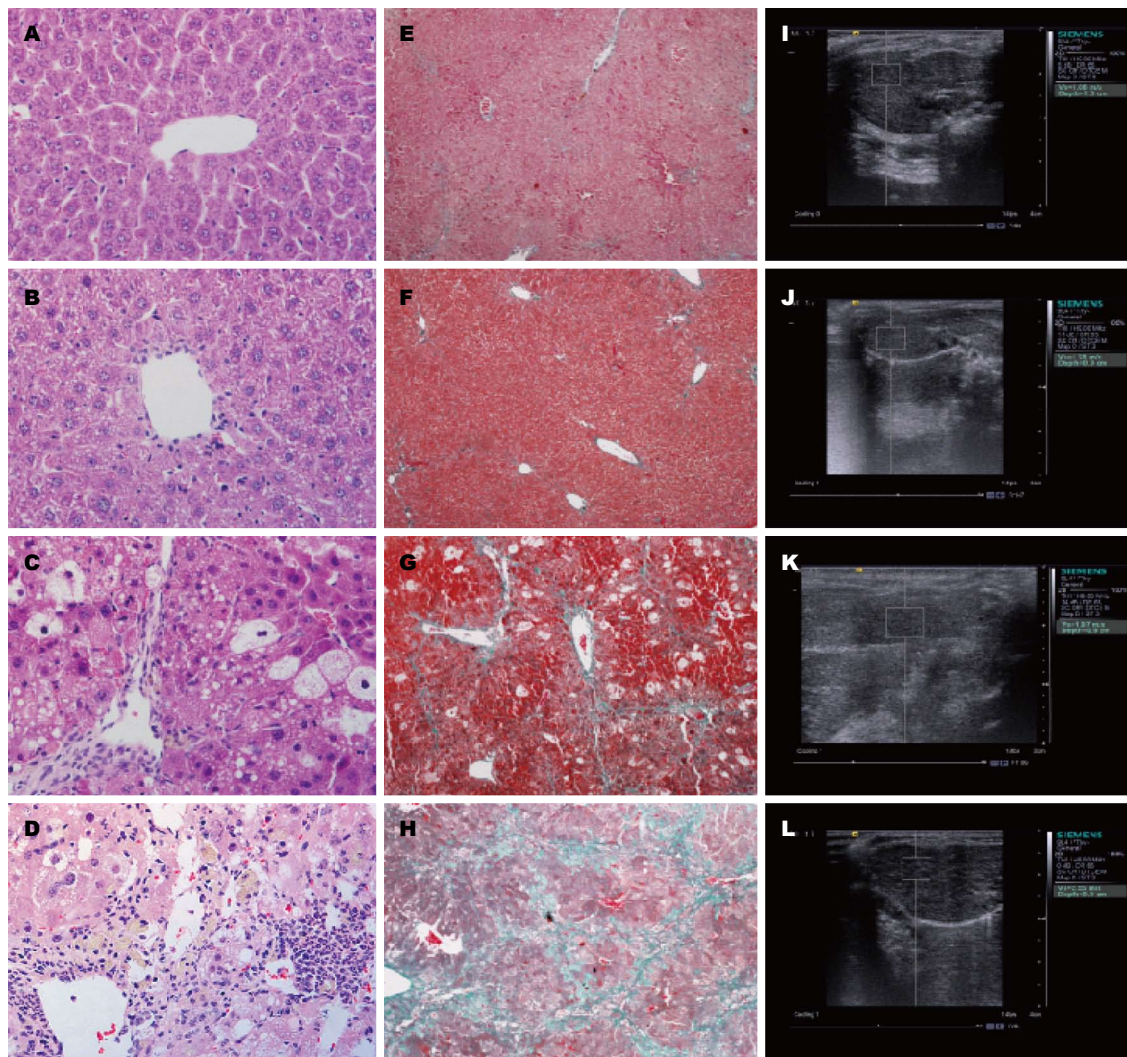


图 1 各组别的HE( $\times 400$ )、Masson染色( $\times 100$ )图及所测的Vs值. A: control组; B: 1 wk组; C: 4 wk组; D: 8 wk组; E: control组; F: 1 wk组; G: 4 wk组; H: 8 wk组; I: control组; J: 1 wk组; K: 4 wk组; L: 8 wk组. Vs: VTQ测量值。

对照组 $1.151 \pm 0.101$ , 1 wk组 $1.295 \pm 0.059$ , 4 wk组 $1.923 \pm 0.076$ , 8 wk组 $2.515 \pm 0.153$ , 其中1 wk组与对照组无差别( $P > 0.05$ ), 4、8 wk组与对照组差别具有显著性意义( $P < 0.001$ )。

## 3 讨论

我国是肝病高发地区,肝癌是常见的恶性肿瘤

之一,其死亡率较高<sup>[15]</sup>。肝纤维化是肝硬化及肝癌发生发展的必经病理过程,且肝纤维化阶段可以发生逆转,因此要预防肝硬化及肝癌的发生,就必须针对肝纤维化有正确的诊断。CCl<sub>4</sub>诱导肝纤维化是公认的化学性肝毒模型<sup>[13]</sup>,本研究应用此模型动态观察了肝组织结构的病理变化。HE及Masson染色证实不同组别肝组织结构随

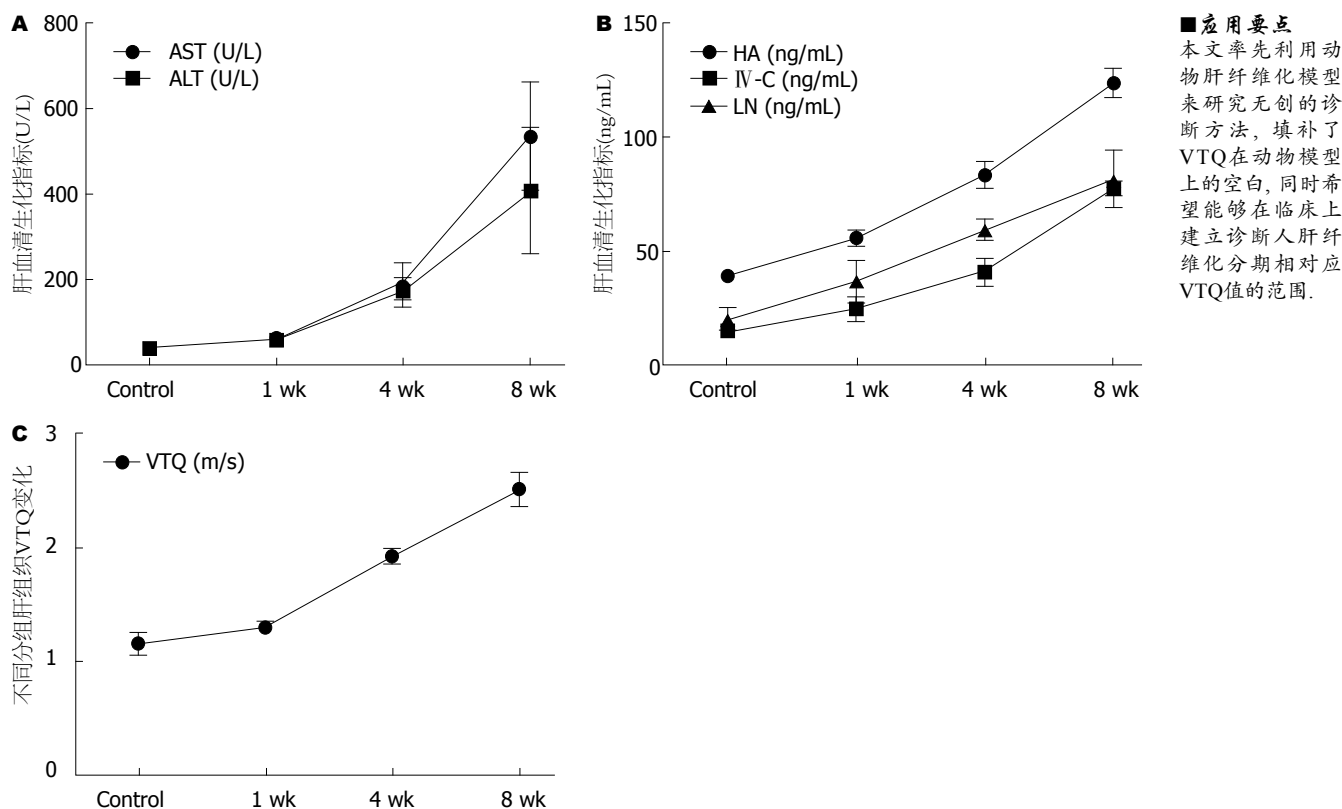


图 2 血清学指标及VTQ测值趋势图. A: AST及ALT测值趋势; B: HA、IV-C及LN测值趋势; C: VTQ测值趋势. AST: 门冬氨酸氨基转移酶; ALT: 丙氨酸氨基转移酶; IV-C: IV型胶原; HA: 透明质酸; LN: 层黏连蛋白.

$\text{CCl}_4$ 损伤时间的延长而逐步发生相应的变化, 根据肝脏学会肝脏炎症活动分级(G)及肝纤维化的分期标准(S)综合判断, 其中S0表示无肝纤维化, S1表示肝纤维化程度最轻, S4表示肝纤维化程度最重, 已达到早期肝硬化的程度. 实验组1 wk小鼠肝脏(100%)处于G1S0, 4 wk小鼠肝脏(78%)为G3S2, 8 wk小鼠肝脏(87.5%)为G4S4, 即8 wk时已达早期肝硬化. 因此, 本文运用小鼠肝纤维化模型来模拟人类肝纤维化发展过程是造模成功的.

肝活检被认为是传统肝病检测的金标准, 但因其属有创检查且受穿刺部位的局限等, 病人不大愿意接受, 所以寻求一种无创简单快速的检测手段成为必然趋势. 生化指标AST、ALT的变化反映肝脏受损的程度, 而HA、IV-C和LN作为肝纤维化血清检测的指标, 他们三者能够真实的反映肝纤维化的水平<sup>[6]</sup>, 即AST、ALT、IV-C、LN及HA 5个指标越高, 反映出肝脏损伤及肝纤维化程度越强. 本实验中, 检测血清学上述各指标时, 发现随给药时间延长逐渐升高, 至第8 wk末达到高峰, AST、ALT、IV-C、LN、HA检测显示1 wk组与对照组无差别, 4、8 wk组与对照组差别具有显著性意义, 各项血清学指标检

测结果基本呈线性升高关系, 提示小鼠肝脏肝纤维化逐渐加重. 而通过HE及Masson染色观察小鼠肝脏切片时, 病理学改变随着给药时间延长从对照组的S0期到8 wk末的早期肝硬化的S4期, 与肝纤维化血清学在时间点上变化相吻合, 提示上述血清学检测指标变化真实反映小鼠肝纤维化的分期.

VTQ是基于ARFI原理的技术, 与普通弹性成像采用操作者机械施压不同, 具有不受周边组织影响、重复性较高等, 利用声波探测肝组织的力学形变特性, 从而获得反映肝组织弹性硬度的参数, 更加客观地评估肝纤维化程度. 本实验中, 肝组织VTQ平均测值在不同组中剪切波速度不同, 随着肝纤维化程度的进展, VTQ的测值也逐渐变大, 1 wk组与对照组相比无差异, 4 wk组及8 wk组与对照组相比具有明显的统计学意义. 根据各组所测的Vs值与血清学各指标作图分析, 他们之间都呈线性升高趋势, 同样肝脏病理变化逐渐加重与VTQ测值增大相吻合, 即VTQ测值变化与血清学指标及病理检查相一致, 提示VTQ测值的变化也能够反映小鼠肝纤维化的分期.

因此, 本研究应用的VTQ新技术与传统检

### ■同行评价

本研究应用的VTQ新技术与传统检测指标一致的结果,提示VTQ技术在诊断肝纤维化表现出较好的相关性,同时具有不受周边组织影响、重复性较高等优点,具有较好的临床应用价值。

测指标一致的结果,提示VTQ技术在诊断肝纤维化表现出较好的相关性,具有较好的参考价值,但是临床上暂无该检测技术应用在肝纤维化的诊断,随着研究的不断深入以及新技术的开发,未来在临床上VTQ技术有望取代肝脏组织活检术,作为一种无创、快速、价廉、可动态评价肝脏纤维化程度的常规检查手段,可在此基础上进一步建立肝纤维化分期相对应VTQ值的范围,从而建立简便易行和准确性高的诊断体系,使肝纤维化的无创性诊断迈上一个新的台阶。

### 4 参考文献

- Montalto G, Cervello M, Giannitrapani L, Dantona F, Terranova A, Castagnetta LA. Epidemiology, risk factors, and natural history of hepatocellular carcinoma. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 963: 13-20 [PMID: 12095924 DOI: 10.1111/j.1749-6632.2002.tb04090.x]
- Okazaki I, Watanabe T, Hozawa S, Niioka M, Arai M, Maruyama K. Reversibility of hepatic fibrosis: from the first report of collagenase in the liver to the possibility of gene therapy for recovery. *Keio J Med* 2001; 50: 58-65 [PMID: 11450593 DOI: 10.2302/kjm.50.58]
- Safadi R, Friedman SL. Hepatic fibrosis--role of hepatic stellate cell activation. *MedGenMed* 2002; 4: 27 [PMID: 12466770]
- Ismail MH, Pinzani M. Reversal of liver fibrosis. *Saudi J Gastroenterol* 2009; 15: 72-79 [PMID: 19568569 DOI: 10.4103/1319-3767.45072]
- 陆伦根, 曾民德. 肝纤维化的非创伤性诊断和评估. *中华肝脏病杂志* 2008; 16: 165-168
- Shi J, Yang G, Tao Y. Value of high-frequency ultrasonography with virtual touch tissue quantification in diagnosis of breast pure mucinous carcinomas. *Chinese-German Journal of Clinical Oncology* 2012; 11: 445-448 [DOI: 10.4172/1948-5956.1000108]
- Rockey DC. Noninvasive assessment of liver fibrosis and portal hypertension with transient elastography. *Gastroenterology* 2008; 134: 8-14 [PMID: 18166342 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.11.053]
- Saleem S. Elastography and its role in breast cancer screening. *J Coll Physicians Surg Pak* 2009; 19: 203-204 [PMID: 19268027]
- Meng W, Du W, Zhang G, Wu G, Wu C, Lu Z. WITHDRAWN: Acoustic radiation force impulse (ARFI) ultrasound imaging of breast lesions. *Eur J Radiol* 2011 Jul 1. [Epub ahead of print] [PMID: 21723683 DOI: 10.1016/j.ejrad.2011.06.039]
- Shuang-Ming T, Ping Z, Ying Q, Li-Rong C, Ping Z, Rui-Zhen L. Usefulness of acoustic radiation force impulse imaging in the differential diagnosis of benign and malignant liver lesions. *Acad Radiol* 2011; 18: 810-815 [PMID: 21419668 DOI: 10.1016/j.acra.2011.01.026]
- Clevert DA, Stock K, Klein B, Slotta-Huspenina J, Prantl L, Heemann U, Reiser M. Evaluation of Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) imaging and contrast-enhanced ultrasound in renal tumors of unknown etiology in comparison to histological findings. *Clin Hemorheol Microcirc* 2009; 43: 95-107 [PMID: 19713604]
- Gu J, Du L, Bai M, Chen H, Jia X, Zhao J, Zhang X. Preliminary study on the diagnostic value of acoustic radiation force impulse technology for differentiating between benign and malignant thyroid nodules. *J Ultrasound Med* 2012; 31: 763-771 [PMID: 22535724]
- Milani S, Herbst H, Schuppan D, Hahn EG, Stein H. In situ hybridization for procollagen types I, III and IV mRNA in normal and fibrotic rat liver: evidence for predominant expression in nonparenchymal liver cells. *Hepatology* 1989; 10: 84-92 [PMID: 2737606 DOI: 10.1002/hep.1840100117]
- 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病分会. 病毒性肝炎防治方案. *中华肝脏病杂志* 2000; 8: 324-329
- Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *Int J Cancer* 2001; 94: 153-156 [PMID: 11668491 DOI: 10.1002/ijc.1440]
- Tangkijvanich P, Kongtawelert P, Pothacharoen P, Mahachai V, Suwangool P, Poovorawan Y. Serum hyaluronan: a marker of liver fibrosis in patients with chronic liver disease. *Asian Pac J Allergy Immunol* 2003; 21: 115-120 [PMID: 14629129]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

