

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2024.14.008

## 二维剪切波弹性成像定量参数评价大鼠肝转移瘤抗血管生成疗效的初步研究\*

张会萍<sup>1</sup> 顾继英<sup>2</sup> 周毓青<sup>1</sup> 郑林丰<sup>3△</sup>

(1 上海市长宁区妇幼保健院 华东师范大学附属妇幼保健院超声医学科 上海 200050;

2 上海市杨浦区市东医院超声医学科 上海 200434; 3 上海交通大学医学院附属第一人民医院放射科 上海 200080)

**摘要 目的:**探讨超声二维剪切波弹性成像(Shear wave elastography, SWE)评价大鼠肝内转移瘤抗血管生成治疗疗效的价值。**方法:**16只建模成功的肝内单发结肠癌转移瘤裸大鼠随机分为治疗组和对照组;治疗组分别于第0天、第4天、第7天和第11天给予雷莫芦单抗(8 mg/kg, 尾静脉注射),对照组注射同等剂量的生理盐水。在第0天治疗前(Day 0)和第14天(Day 14)测量肝肿瘤的大小和计算体积。第14天行SWE检查评估肿瘤和周围肝组织的弹性,测量定量弹性参数Vs肿瘤(Vs-tumor)、Vs肝脏(Vs-liver)、E肿瘤(E-tumor)和E肝脏(E-liver),计算R-Vs(=Vs-tumor/Vs-liver)和R-E(=E-tumor/E-liver)。免疫荧光染色法检测肿瘤内基质金属蛋白酶2(Matrix metalloproteinase 2, MMP2)和转化生长因子 $\beta$ 2(Transforming growth factor  $\beta$ 2, TGF  $\beta$ 2)的表达水平。**结果:**治疗组和对照组肿瘤大小在第0天和第14天均无显著差异( $P>0.05$ )。Vs-liver和E-liver在治疗组和对照组之间没有显著差异( $P>0.05$ )。治疗组Vs-tumor和E-tumor均高于对照组,但差别无统计学意义( $P>0.05$ );治疗组R-Vs和R-E明显高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。治疗组MMP2和TGF $\beta$ 2的表达水平明显高于对照组( $P<0.05$ )。**结论:**SWE弹性参数有望作为抗血管生成治疗后肿瘤变硬的定量参数用于评价肿瘤抗血管生成疗效。

**关键词:**肝转移瘤;超声;剪切波弹性成像;抗血管生成;分子影像学

中图分类号:R445 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2024)14-2645-05

## Preliminary Study on Antiangiogenic Treatment Effect in Rat Liver Metastasis Using Quantitative Parameters of Two-dimensional Shear Wave Elastography\*

ZHANG Hui-ping<sup>1</sup>, GU Ji-ying<sup>2</sup>, ZHOU Yu-qing<sup>1</sup>, ZHENG Lin-feng<sup>3△</sup>

(1 Department of Ultrasound, Shanghai Changning Maternity and Infant Health Hospital, East China Normal University, Shanghai, 200050, China; 2 Department of Ultrasound, Shanghai Shidong Hospital, Shanghai, 200434, China;

3 Department of Radiology, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai, 200080, China)

**ABSTRACT Objective:** To study value of two-dimensional shear wave elastography(SWE) in the evaluation of antiangiogenic treatment effect of single colon cancer metastasis in liver of nude rat. **Methods:** Sixteen nude rats with colon cancer liver single metastasis were divided randomly into treatment group and control group. The treatment group was treated with Ramucirumab (8 mg/kg, tail vein injection) on Day 0, Day 4, Day 7 and Day 11 respectively, while the control group was injected with the same dose of saline. The tumor size and volume were measured before treatment (Day 0) and after 14 days of treatment (Day 14). On Day 14, to evaluate the stiffness of tumor and surrounding liver tissue, the liver tumor and surrounding liver tissue SWE examination were performed and the elastic parameters (including Vs-tumor, Vs-liver, E-tumor and E-liver) were measured and then the R-Vs (=Vs-tumor/Vs-liver) and R-E (=E-tumor/E-liver) were calculated respectively. Finally, expression of matrix metalloproteinase 2 (MMP2) and transforming growth factor  $\beta$ 2 (TGF  $\beta$ 2) in tumors were detected by immunofluorescence staining. **Results:** There was no significant difference in the tumor size between the treatment group and the control group both on Day 0 and Day 14 ( $P>0.05$ ). Vs-liver and E-liver had no significant difference between the treatment group and the control group ( $P>0.05$ ). Both Vs-tumor and E-tumor in treatment group were mildly higher than those in the control group, however, these differences were not statistically significant ( $P>0.05$ ). In the treatment group, both R-Vs and R-E were significantly higher than those in the control group ( $P<0.05$ ). The expression levels of MMP2 and TGF $\beta$ 2 were significantly higher than those in control group respectively ( $P<0.05$ ). **Conclusions:** The quantitative parameters of SWE may have the potential as an

\* 基金项目:上海市自然科学基金项目(22ZR1458200);上海市长宁区科委重点项目(CNKW2020Z04);上海市松江区科技攻关项目(2020SJ310);上海市长宁区医学博士创新人才基地项目(RCJD2021B09);上海市长宁区妇幼保健院院级启动项目(2020Y-14)

作者简介:张会萍(1981-),女,博士,主任医师,研究方向:超声弹性、超声造影新技术的基础与临床研究, E-mail: zhanggirlan@163.com

△ 通讯作者:郑林丰, E-mail: zhenglinfeng04@aliyun.com

(收稿日期:2024-02-05 接受日期:2024-03-10)

image biomarker indicating tumor stiffness for evaluating the anti-angiogenic therapy efficacy.

**Key words:** Liver metastasis; Ultrasound; Shear wave elastography; Anti-angiogenesis; Molecular imaging

**Chinese Library Classification (CLC):** R445 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2024)14-2645-05

## 前言

肿瘤血管生成是恶性肿瘤的重要生物特征之一,抗肿瘤血管生成是肿瘤治疗的重要策略之一<sup>[1-3]</sup>。随着影像学特别是分子影像学的快速进展,常用的影像学技术包括 CT、MRI、超声和 PET 在评估肿瘤血管生成和抗血管生成基础与临床研究中的应用日益增多,但均还存在一定的局限性<sup>[3-8]</sup>。近年来,弹性成像包括磁共振弹性成像(Magnetic resonance elastography, MRE)、超声剪切波弹性成像(Shear wave elastography, SWE)应用日益增多,其可提供组织硬度的定量信息,在肝纤维化定量评估、良恶性肝肿瘤的鉴别诊断以及不同病理类型恶性肝肿瘤之间的鉴别诊断等方面具有重要价值<sup>[9-15]</sup>。诸多研究表明,肿瘤抗血管生成治疗后,肿瘤的纤维化和坏死水平增加,导致硬度改变<sup>[13,16-18]</sup>,提示弹性成像可用于定量评估肿瘤抗血管生成的治疗疗效<sup>[10]</sup>。较 MRE, SWE 具有操作简便、实时、可定量、重复性好等应用优势<sup>[13-15]</sup>。因此,本研究建立裸大鼠肝内单发结肠癌转移模型,应用雷莫芦单抗(Ramucirumab)行抗血管生成治疗后,运用 SWE 评估肿瘤硬度的定量参数变化评估其疗效,初步探讨 SWE 评估抗血管生成治疗疗效的价值。

## 1 材料与方

### 1.1 实验材料

人结肠癌细胞系 HT29 购自中国科学院细胞库(中国上海),2只 BALB/c 裸小鼠购自中国科学院动物中心(中国上海),20只雄性 Crl: NIH-Fox1<sup>tm</sup> 裸大鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司,重组抗 VEGFR2 全人单克隆抗体注射液(即雷莫芦单抗生物类似药,由上海复宏汉霖生物技术股份有限公司惠赠),转化生长因子  $\beta$ 2(TGF $\beta$ 2)及基质金属蛋白酶-2(MMP-2)购自 Abcam 公司。研究符合实验动物伦理要求并经医院伦理委员会批准。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 建立裸大鼠肝内单发结肠癌转移模型** 将培养好的 HT29 细胞置于 RPMI 1640 培养基中,制成  $2 \times 10^7$  个细胞/mL 的悬浮液,取 0.2 mL 上述悬浮液皮下注射至 BALB/c 裸小鼠右下后肢。当肿瘤最大直径大于 10 mm 时,对裸小鼠实施安乐死并手术切除肿瘤。在无菌 PBS 溶液中将肿瘤切成体积为 1-2 mm<sup>3</sup> 的小肿瘤块。将裸大鼠(Crl: NIH-Foxn1<sup>mu</sup>)吸入异氟烷(0.5 L/min)进行麻醉后手术暴露肝脏,应用 20 G 针头将上述肿瘤块植入肝脏深部,止血和缝合伤口。术后每天观察大鼠的生存状态,每 3 d 使用 Acuson Sequoia 超声诊断系统(西门子,美国;线阵探头 18L6,探头频率 6-18 MHz)观察肿瘤形成情况。当肝内转移瘤的最大直径 > 7 mm 时,认为建模成功,定义为第 0 天(Day 0)。应用常规超声测量肿瘤的长度和宽度,根据公式计算肿瘤的体积:  $V = 0.52 \times L \times W^2$ <sup>[19]</sup>。

**1.2.2 抗血管生成治疗** 建模成功后,裸大鼠随机分为治疗组和对照组。治疗组在第 0 天、第 4 天、第 7 天和第 11 天经尾静

脉注射重组抗 VEGFR2 全人单克隆抗体注射液(雷莫芦单抗类似药,剂量为 8 mg/kg)。对照组大鼠给予相同剂量的生理盐水。

**1.2.3 SWE 检查** 治疗后第 14 天,使用 Acuson Sequoia 超声诊断系统进行 SWE 检查(西门子,美国;线阵探头 10L4,探头频率 4-10 MHz,配有 SWE 成像软件)。裸大鼠麻醉后,仰卧于检查台上。常规超声观察肿瘤和肝组织(图 1A),并测量肿瘤大小以计算肿瘤体积。探头不要加压,激活 SWE 模式,取样框包含整个肿瘤及部分周围肝组织。弹性阈值设为 0.5-5.5 m/s。图像质量良好且稳定时,冻结图像(图 1B)进行定量分析,取样框内的组织硬度以彩色图像显示,越蓝越软,越红越硬。在肿瘤最硬的部分绘制直径为 3 mm 的圆形感兴趣区域(Region of interest, ROI);在相同深度的周围肝组织中绘制相同大小的 ROI。记录肿瘤和肝组织的定量弹性参数 Vs(m/s)和 E(kPa)信息(图 1C),并计算 R-Vs(=Vs 肿瘤/Vs 肝脏)以及 R-E(=E 肿瘤/E 肝脏)。

**1.2.4 免疫荧光染色** SWE 检查后对裸大鼠行安乐死后立即切除肿瘤放入 4%多聚甲醛中固定 24 h,常规石蜡包埋、切片、脱蜡、脱水后进行免疫荧光染色,切片用 5%牛血清白蛋白溶液阻断后再使用 0.5% Triton X-100 透化,之后将样品与 TGF $\beta$ 2、MMP2 单克隆抗体(稀释度 1:100)在 4℃下孵育过夜,然后与 Alexa Fluor 488 偶联的二抗在环境温度下孵育 1 h。使用 4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)对细胞核进行染色 15 min。封片后在共聚焦显微镜(Leica SP8,德国)下检查获得图像。采用 Image J 软件对获取的荧光图像测试荧光强度进行定量分析。

### 1.3 统计学方法

数据采用 SPSS 22.0 软件进行分析。计量资料若符合正态分布,以平均值 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm SD$ )表示,组间比较用独立样本 t 检验。以  $P < 0.05$  为差异有显著性意义。

## 2 结果

### 2.1 裸大鼠肝内单发结肠癌转移模型的建模成功率

肝内肿瘤块接种后所有裸大鼠均状态良好,饮食和排便正常。约第 30 天,常规超声检查显示 16 只裸大鼠肝内转移瘤直径大于 7 mm,4 只裸大鼠未见明显肝肿瘤。动物模型建模成功率为 80%。将 16 只建模成功的裸大鼠随机分为治疗组和对照组,每组 8 只。

### 2.2 治疗前和治疗后 14 天后对照组和治疗组肿瘤大小和体积变化

在治疗前第 0 天(Day 0),治疗组和对照组间肿瘤长径和体积的差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 1。治疗后第 14 天(Day 14),治疗组肿瘤长径稍减小,对照组肿瘤长径增大,但两组长径变化差异无统计学意义( $P > 0.05$ ,表 1);治疗组和对照组的肿瘤体积均较前增大,但两组对比变化无显著差异( $P > 0.05$ ,表 1)。

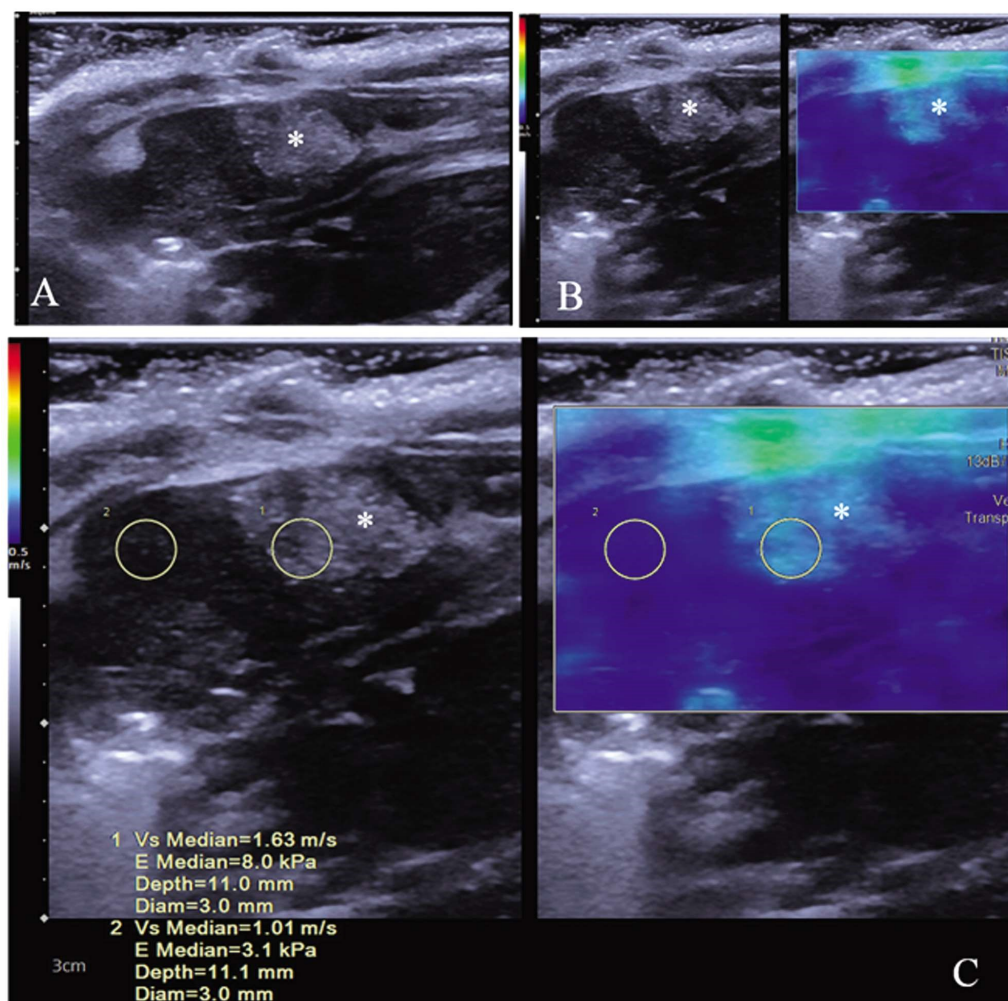


图 1 大鼠肝脏肿瘤的超声图像

Fig.1 Ultrasound image of tumor in rat liver

注:A 常规超声显示裸大鼠的单个肝脏肿瘤,B 二维 SWE 显示肿瘤(彩色弹性图中,蓝色、绿色、黄色和红色代表组织硬度的依次增加,即彩图越蓝提示组织越软;右侧彩色弹性图中肿瘤颜色较周围肝组织的颜色变绿,表明肿瘤比周围肝组织硬),C 代表性图像显示定量 SWE 测量感兴趣的放置和肿瘤、肝组织的 Vs 和 E 测量(1 肿瘤,2 肿瘤邻近肝组织)。\* 肿瘤(图 A-C)。

Note: A image of routine ultrasound shows a single liver tumor in nude rat, B image of tumor in two-dimensional shear wave elastography (SWE) (in the left color bar, color range from blue, green and yellow to red, indicate increasing tissue stiffness. In the right part image of color elastogram, the tumor color is more green than the surrounding liver tissue indicating that it is stiffer than the surrounding liver tissue). C representative SWE image display of ROI drawing and quantitative measurement of Vs and E in tumors and liver tissue, respectively(1 tumor, 2 surrounding liver tissue of tumor).

\* indicate tumor in A-C.

表 1 治疗后对照组和治疗组肿瘤大小和体积变化(n=8,均数± 标准差)

Table 1 Changes of tumor size and volume in the control group and treatment group after 14 days of treatment (n=8,  $\bar{x} \pm SD$ )

	Day 0(n=8)		Day 14(n=8)	
	Maximum diameter (mm)	Volume (mm <sup>3</sup> )	Maximum diameter (mm)	Volume (mm <sup>3</sup> )
Control group	10.2± 1.5	155.4± 65.3	12.2± 3.3	400.0± 310.0
Treatment group	10.7± 0.6	197.4± 56.4	9.8± 1.3	226.9± 103.9
t	1.891	1.498	0.908	1.377
P	0.080	0.156	0.379	0.190

### 2.3 治疗后 14 天对照组和治疗组 SWE 定量参数的变化

治疗后 14 天 (Day 14) 肝肿瘤 SWE 的代表性图片见图 1B。治疗后第 14 天,治疗组和对照组 SWE 各项定量参数结果

见表 2。SWE 定量参数显示两组肿瘤的 Vs-tumor 和 E-tumor 均高于周围肝组织 Vs-liver 和 E-liver。治疗组肝肿瘤硬度参数 Vs-tumor 和 E-tumor 均高于对照组, 但差异无统计学意义

( $P>0.05$ )。然而,治疗组 R-Vs 和 R-E 均高于对照组,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。

### 2.4 治疗后 14 天对照组和治疗组肿瘤 MMP2 和 TGF β2 免疫荧光染色强度的变化

治疗后 14 天(Day 14),治疗组肿瘤内 MMP2 和 TGFβ2 表达均高于对照组,免疫荧光染色强度的变化具有统计学意义( $P<0.05$ ,表 3)。

表 2 治疗后 14 天对照组和治疗组 SWE 定量参数的变化(n=8,均数± 标准差)

Table 2 Changes of SWE quantitative parameters in the control group and the treatment group after 14 days of treatment (n=8,  $\bar{x} \pm SD$ )

	Vs-tumor (m/s)	Vs-liver (m/s)	R-Vs	E-tumor (kpa)	E-liver (kpa)	R-E
Control group	1.66± 0.31	1.28± 0.16	1.31± 0.27	8.50± 3.04	4.91± 1.25	1.80± 0.69
Treatment group	2.13± 0.59	1.14± 0.12	1.86± 0.50	14.51± 7.66	3.94± 0.84	3.71± 1.96
t	1.979	1.896	2.758	2.063	1.831	2.581
P	0.068	0.079	0.015	0.058	0.089	0.022

表 3 治疗后 14 天对照组和治疗组肿瘤 MMP2 和 TGF β2 免疫荧光染色强度变化(n=8,均数± 标准差)

Table 3 MMP2 and TGF β2 immunofluorescence staining intensity in tumor of the control group and the treatment group after 14 days of treatment (n=8,  $\bar{x} \pm SD$ )

	MMP-2	TGF β2
Control group	127.34± 17.80	128.59± 18.18
Treatment group	181.86± 33.77	174.60± 11.24
t	4.038	6.090
P	0.001	0.000

## 3 讨论

肿瘤微环境中,血管生成和纤维化是肿瘤微环境的两个关键过程,多种分子通过影响肿瘤血管生成及纤维化等,在肿瘤的发生、进展、转移和治疗反应中发挥着不同而复杂的作用<sup>[1,20-22]</sup>。研究表明,在糖尿病视网膜病变患者中玻璃体内注射贝伐单抗可促进新生血管的纤维化<sup>[22-24]</sup>,Broutin S 等使用抗血管生成药物舒尼替尼治疗甲状腺髓样癌后肿瘤的纤维化显著增加<sup>[16]</sup>,因此,抗血管生成药物会加重纤维化<sup>[16,22-24]</sup>,肿瘤的纤维化导致肿瘤硬度增加<sup>[25]</sup>。已有诸多研究证明抗血管生成治疗后肿瘤硬度可能会发生变化<sup>[12,13,18,25]</sup>。

超声弹性成像技术通过对组织施加激励,获取组织在激励下的形变来反映组织的弹性信息,并进行定性或定量分析<sup>[14,15,26]</sup>。SWE 技术通过发射声辐射力使组织变形,产生剪切波并检测其速度来实时定量反映组织弹性信息,以剪切波速度(V)或弹性模量(E)来表示,参数越大,表示组织硬度越大<sup>[26]</sup>。SWE 可以反映肿瘤抗血管生成治疗后的肿瘤硬度变化,有望成为评估抗血管生成疗效的有效方法。本研究结果表明应用雷莫芦单抗类似药行抗血管生成治疗后,肝内转移瘤硬度明显高于对照组,与 Dizeux A 研究结果一致<sup>[27]</sup>。Dizeux A 等应用 SWE 评估抗血管生成治疗后肿瘤的变化,发现抗血管生成治疗后,SWE 弹性参数显著增加,而肿瘤的坏死和纤维化水平亦显著增加<sup>[27]</sup>。MMP2 和 TGFβ2 是调节肿瘤发生的重要因子,通过调节细胞外基质降解而参与肿瘤生成,与肿瘤硬度显著相关<sup>[28-30]</sup>。我们的结果亦显示治疗组肿瘤 MMP2 和 TGFβ1 的表达水平也明显高于对照组,进一步验证抗血管生成治疗后肿瘤硬度的变化。

总之,本研究显示抗血管生成治疗后肿瘤变硬,应用 SWE 可以反映肿瘤硬度的变化。SWE 定量弹性参数有望作为抗血管生成治疗后肿瘤变硬的定量参数用于评价肿瘤抗血管生成疗效。本研究尚存在一些局限性,仅在治疗后第 14 天应用 SWE 评估肿瘤硬度变化,而未观察抗血管生成治疗后肿瘤硬度随时间的变化趋势,以及不同弹性成像模式如 MRE 及其定量参数的对比研究等。这些均有待后续进一步的深入研究来证明。

### 参考文献(References)

- [1] Hanahan D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions[J]. Cancer Discov, 2022, 12(1): 31-46.
- [2] Senga SS, Grose RP. Hallmarks of cancer-the new testament [J]. Open Biol, 2021, 11(1): 200358.
- [3] 王培军. 中华影像医学分子影像学卷 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2020: 340-369.
- [4] Ayala-Domínguez L, Brandan ME. Quantification of tumor angiogenesis with contrast-enhanced x-ray imaging in preclinical studies: a review[J]. Biomed Phys Eng Express, 2018, 4(6).
- [5] Liang J, Cheng Q, Huang J, et al. Monitoring tumour microenvironment changes during anti-angiogenesis therapy using functional MRI[J]. Angiogenesis, 2019, 22(3): 457-470.
- [6] Niccoli Asabella A, Di Palo A, Altini C, et al. Multimodality Imaging in Tumor Angiogenesis: Present Status and Perspectives[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(9): 1864.
- [7] Wang H, Zheng LF, Feng Y, et al. A comparison of 3D-CTA and 4D-CE-MRA for the dynamic monitoring of angiogenesis in a rabbit VX2 tumor[J]. Eur J Radiol, 2012, 81(1): 104-110.
- [8] 范培丽, 曹佳颖, 季正标, 等. 超声造影定量分析诱发性大鼠肝癌模型肿瘤血管生成的实验研究 [J]. 中国超声医学杂志, 2022, 38(04):

- 442-445.
- [9] Fang C, Rafailidis V, Konstantatou E, et al. Comparison Between Different Manufacturers' 2-D and Point Shear Wave Elastography Techniques in Staging Liver Fibrosis in Chronic Liver Disease Using Liver Biopsy as the Reference Standard: A Prospective Study [J]. *Ultrasound Med Biol*, 2022, 48(11): 2229-2236.
- [10] Guo J, Jiang D, Qian Y, et al. Differential diagnosis of different types of solid focal liver lesions using two-dimensional shear wave elastography[J]. *World J Gastroenterol*, 2022, 28(32): 4716-4725.
- [11] Miao X, Sha T, Zhang W, et al. Liver Fibrosis Assessment by Viewing Sinusoidal Capillarization: US Molecular Imaging versus Two-dimensional Shear-Wave Elastography in Rats [J]. *Radiology*, 2022, 304(2): 473-482.
- [12] Zhang HP, Gu JY, Bai M, et al. Value of shear wave elastography with maximal elasticity in differentiating benign and malignant solid focal liver lesions [J]. *World J Gastroenterol*, 2020, 26 (46): 7416-7424.
- [13] Schregel K, Nowicki MO, Palotai M, et al. Magnetic Resonance Elastography reveals effects of anti-angiogenic glioblastoma treatment on tumor stiffness and captures progression in an orthotopic mouse model[J]. *Cancer Imaging*, 2020, 20(1): 35.
- [14] Ozturk A, Olson MC, Samir AE, et al. Liver fibrosis assessment: MR and US elastography [J]. *Abdom Radiol (NY)*, 2022, 47 (9): 3037-3050.
- [15] Chamming's F, Le-Frere-Belda MA, Latorre-Ossa H, et al. Supersonic Shear Wave Elastography of Response to Anti-cancer Therapy in a Xenograft Tumor Model [J]. *Ultrasound Med Biol*, 2016, 42 (4): 924-930.
- [16] Broutin S, Ameer N, Lacroix L, et al. Identification of soluble candidate biomarkers of therapeutic response to sunitinib in medullary thyroid carcinoma in preclinical models [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(7): 2044-2054.
- [17] Piersma B, Hayward MK, Weaver VM. Fibrosis and cancer: A strained relationship [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2020, 1873(2): 188356.
- [18] Shen Y, Wang X, Lu J, et al. Reduction of Liver Metastasis Stiffness Improves Response to Bevacizumab in Metastatic Colorectal Cancer [J]. *Cancer Cell*, 2020, 37(6): 800-817, e807.
- [19] Tomayko MM, Reynolds CP. Determination of subcutaneous tumor size in athymic (nude) mice[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1989, 24(3): 148-154.
- [20] Winkler J, Abisoye-Ogunniyan A, Metcalf KJ, et al. Concepts of extracellular matrix remodelling in tumour progression and metastasis [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 5120.
- [21] de Visser KE, Joyce JA. The evolving tumor microenvironment: From cancer initiation to metastatic outgrowth [J]. *Cancer Cell*, 2023, 41(3): 374-403.
- [22] Cao Y, Langer R, Ferrara N. Targeting angiogenesis in oncology, ophthalmology and beyond [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2023, 22(6): 476-495.
- [23] Ozer F, Tokuc EO, Albayrak MGB, et al. Comparison of before versus after intravitreal bevacizumab injection, growth factor levels and fibrotic markers in vitreous samples from patients with proliferative diabetic retinopathy [J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2022, 260(6): 1899-1906.
- [24] Zhang M, Chu S, Zeng F, et al. Bevacizumab modulates the process of fibrosis in vitro[J]. *Clin Exp Ophthalmol*, 2015, 43(2): 173-179.
- [25] Chamming's F, Latorre-Ossa H, Le Frere-Belda MA, et al. Shear wave elastography of tumour growth in a human breast cancer model with pathological correlation[J]. *Eur Radiol*, 2013, 23(8): 2079-2086.
- [26] 于慧敏, 唐纓, 陈云, 等. 超声弹性成像动态定量评估移植肝质量的作用[J]. *中华超声影像学杂志*, 2022, 31(7): 612-619.
- [27] Dizeux A, Payen T, Le Guillou-Buffello D, et al. In Vivo Multiparametric Ultrasound Imaging of Structural and Functional Tumor Modifications during Therapy[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2017, 43(9): 2000-2012.
- [28] Kpeglo D, Hughes MDG, Dougan L, et al. Modeling the mechanical stiffness of pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *Matrix Biol Plus*, 2022, 14: 100109.
- [29] Micalet A, Pape J, Bakkalci D, et al. Evaluating the Impact of a Biomimetic Mechanical Environment on Cancer Invasion and Matrix Remodeling[J]. *Adv Healthc Mater*, 2023, 12(14): e2201749.
- [30] Chung JY, Chan MK, Li JS, et al. TGF-beta Signaling: From Tissue Fibrosis to Tumor Microenvironment[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(14): 7575.