

韩晓燕,邱建利. 胆道闭锁实验动物模型的比较 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(2): 111-115.

Han XY, Qiu JL. Comparison of experimental animal models of biliary atresia [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(2): 111-115.

doi: 10. 3969/j.issn.1671-7856. 2022. 02. 017

胆道闭锁实验动物模型的比较

韩晓燕¹, 邱建利^{2*}

(1.河南中医药大学,郑州 450046;2.河南中医药大学第一附属医院儿科,郑州 450000)

【摘要】 胆道闭锁(biliary atresia, BA)是新生儿时期导致肝移植的重要病因之一,近年来随着诊断技术的提高,本病的发病率也在不断上升,但本病的具体病因及发病机制尚不明确,动物模型的出现是探索本病的重要途径。但国内对本病的认识及相关动物模型的研究还相对滞后,目前 BA 模型主要分为药物毒物诱导型、胆道机械结扎型、轮状病毒诱导型 3 大类,其中药物毒物诱导的 BA 模型对胆管具有选择性,目前还存在诸多尚未解决的问题;胆道结扎的方法虽然造成胆管闭锁,但和真实世界的 BA 存在发病年龄等不相符的情况;而轮状病毒诱导胆管闭锁模型目前被广泛接受,也是当前主要的研究模型,但是在肝纤维化形成之前,模型动物均已死亡,也不能充分反映 BA 的疾病进展过程;而采用轮状病毒基因重组方法建立的动物模型有存活时间相对较长,并且可以实现肝纤维化的优点,更接近实际的病理发展过程,是具有前景的模型。总的来讲,BA 的研究尚缺乏完全符合临床实际,充分反映临床疾病发展的理想动物模型。

【关键词】 动物模型;胆道闭锁;轮状病毒基因重组

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 02-0111-05

Comparison of experimental animal models of biliary atresia

HAN Xiaoyan¹, QIU Jianli^{2*}

(1.Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China. 2. Department of Pediatrics, the First Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000)

【Abstract】 Biliary atresia (BA) is an important indication for liver transplantation during the neonatal period. With the improvement in diagnostic techniques in recent years, the diagnosis rate for BA is increasing continuously. However, the specific etiology and pathogenesis of BA remains unclear. Related knowledge and research models for BA are still relatively limited in China. At present, the BA models are divided mainly into three categories: drug or poison-induced, mechanical biliary tract ligation and rotavirus-induced. Among them, the drug-poison-induced BA model is selective to the bile duct, and there are still many unsolved problems. Although the method of biliary ligation causes bile duct atresia, it is inconsistent with the onset age of BA in the real world. The rotavirus-induced bile duct atresia model is widely accepted and is the main research model at present; however, all of the animals die before the formation of liver fibrosis, and this model does not fully reflect the disease progression process of BA. The rotavirus gene recombination method may result in liver fibrosis and is a promising model because the survival time of the animals is relatively long, and the model more closely relates to the actual pathological process. In general, BA still lacks an ideal animal model that fully conforms to clinical practice and reflects the development of clinical disease.

【Keywords】 animal models; biliary atresia; rotavirus gene recombination

【基金项目】 国家自然科学基金(81804142);中国博士后科学基金(2020M670026ZX)。

【作者简介】 韩晓燕(1993—),女,硕士研究生,研究方向:小儿消化系统疾病研究。E-mail:945254788@qq.com

【通信作者】 邱建利(1983—),男,博士,研究生导师,研究方向:小儿消化系统疾病研究。E-mail:qiu Jianli@126.com

胆道闭锁(biliary atresia, BA)是新生儿期一种进行性的、可导致肝内外胆管纤维阻塞性的胆管病变^[1]。我国台湾的发病率约为 1.5/10000,高于美国及欧洲国家^[2]。本病如不及时治疗,可引起肝硬化及终末期肝衰竭,一般 2 岁之前死亡^[3]。依据其梗阻部位可以分为 3 型,其中Ⅲ型病例发病率在 90%以上^[4]。BA 的病因可能包括遗传和环境两方面因素,其中全基因组研究显示:GPC1、ADD3 以及 ARF6 基因在本病的发病中起到一定的作用^[5-7];环境因素包括围生期病毒感染以及环境毒素暴露相关^[8],目前在患儿体内可以分离到的病毒包括巨细胞病毒(CMV)、人疱疹病毒、人乳头瘤病毒、腺病毒、EB 病毒、乙型肝炎病毒、呼肠孤病毒、细小病毒 B19 和轮状病毒(RV)。其中呼肠孤病毒、巨细胞病毒和轮状病毒目前研究较多^[9]。本病的发病机制尚未完全阐明,相关研究表明 CD68⁺巨噬细胞、以及分泌细胞因子 IFN- γ 的 CD4⁺、CD8⁺T 淋巴细胞在胆管上皮及汇管区的聚集提示本病的发病机制可能是病毒相关的免疫损伤^[10]。Kasai 术的出现在一定程度上改善了患儿的黄疸症状,但不仅给患儿造成较大的伤害,同时也给家庭带来沉重的经济压力及心理负担,影响着家庭的和谐稳定^[11]。本病已不仅仅是一个简单的医学问题,更是一个亟待解决的社会问题。因此,提高对本病具体发病机制的认知以及预防本病的发生显得尤为重要。动物模型作为现代医学研究疾病的基础,因其可控性强、来源广泛等优点,为探索疾病病因及发病机制提供条件,BA 模型的成功构建是研究本病的关键。目前,国内外医学界对 BA 及其动物模型的认知在逐步加深,为进一步促进了解,本文对近些年的相关动物模型进行总结,以期对本病的研究提供帮助。

1 胆总管结扎 BA 模型

BA 患儿主要由于各种病因导致的新生儿胆汁流受阻引起胆汁淤积,进而引起肝纤维化、肝硬化甚至终末期肝病的发生。葛军涛等^[12-13]采用新生 BALB/c 小鼠胆总管结扎的方法模拟胆道闭锁,其在发病时间上较为相似,该模型术后第 2 天就会出现皮肤变黄、陶土样大便,并伴随生长发育的迟缓、精神不振以及食欲不振等消化道症状;这在一定程度上和胆道闭锁患儿的临床症状较为相似,该模型的优点在于结扎胆总管的方法操作相对简单、易于重复、建模周期短;并且采用新生鼠与本病临

床的发病年龄较为相似;但该动物模型也存在一些缺点:首先,胆总管结扎术后一般 1 周左右动物开始出现死亡,且在第 10 天出现死亡高峰,解剖后并未发现严重肝硬化以及肝衰竭的表现,这与临床上 BA 患儿终末期均会出现门静脉高压、食管静脉曲张以及腹水等肝硬化失代偿以及肝衰竭的表现不符;其次,BA 患儿在生后一般就会出现胆汁淤积的表现,因此我们可以认为在胎儿期已经出现胆管的损伤,其机制可能是多方面的,而胆总管结扎的方法出现的胆汁淤积是以健康小鼠的在体实验,与实际的病因存在较大的差异,发病机制也完全不同,因此不能很好的解释本病的真实病因。

另外,胆总管结扎构建胆道闭锁模型的方法也由来已久,早在 1957 年 Symeonidis 等^[14]报道了切除和简单结扎总胆管后观察大鼠肝功能和形态变化,但未能模拟出胆道闭锁出现的临床症状,对现在的模型构建参考意义不大,不再赘述。张守华等^[15]通过对 Balb/c 小鼠开腹后游离胆总管,并进行双重结扎的方法构建梗阻性黄疸模型研究其病因及病理生理机制,结果显示白细胞及中性粒细胞变化和实际胆道闭锁患儿较为相似,但该方法采用的是 5~6 周龄的成年小鼠,和胆道闭锁发生的时间相差甚大,不能很好的模拟该病的发病时间。另外,其结扎胆管后第 7 天可以见到肝细胞片状坏死,广泛性的空泡样变性,但是并未出现肝假小叶、腹水等肝硬化的征象,因此,也不能很好的模拟真实世界的胆道闭锁。

2 毒素诱导 BA 模型

如前所述,BA 的确切病因目前尚不清楚,环境因素可能参与其中。早在 1990 年澳大利亚学者 Harper 等^[16]和 Kopp 等^[17]发现当地羊和牛的幼崽在出生后大量死亡,且表现为胆汁淤积症状,而他们的母亲及成年动物未出现症状,且死亡的幼崽肝病理结果显示为慢性肝损伤,伴有门静脉周围小管增生、进行性纤维化、偶尔小管断裂、局灶性肝细胞坏死和最终肝硬化。在犊牛中观察到的更严重的损伤可能反映了胆汁淤积或暴露于损伤的更长时间,或者可能反映了物种差异。形态学检查不能确定是原发的肝内胆管的缺乏还是继发于肝外胆道闭锁,或同时影响肝外和肝内胆管的伴随病变。在探索病因中发现,在排除遗传及感染等因素后,这些牛和羊在怀孕期间可能进食了藻类等植

物引起胆道的损伤,而这些植物可能是含有某些毒素^[16]。基于此,近年来国外的研究团队采用斑马鱼胆汁分泌实验,从这些植物中提取出一种新型的可以导致胆管损伤的化合物“异黄酮,胆甾烯”^[8];这种化合物可对斑马鱼幼体的肝外胆管系统造成选择性破坏,但对肝内胆管系统没有影响。该研究还发现斑马鱼基因组中一个区域的突变可以增强胆甾烯毒性,该区域与已建立的人类 BA 易感性基因座具有保守的同源性。该毒素还导致培养的新生小鼠肝外胆管细胞纤毛丧失,并破坏胆管细胞的细胞极性和上皮细胞的完整性^[18-19]。而我国学者也采用化学合成的“胆闭素”在斑马鱼动物模型中得到与上述一致的实验结果^[20]。综上所述,这些发现为 BA 的病因提供了直接的证据,表明 BA 可能是由围产期暴露于环境毒素以及可能的基因突变参与其中引起的。

3 轮状病毒诱导型

3.1 轮状病毒诱导 BA 模型

20 世纪 70 年代,人们首次提出围生期病毒感染是新生儿阻塞性胆管疾病的根本原因,其中包括 BA^[21]。在随后的几项研究也发现,在 BA 患儿的肝中可见多种病毒的存在,包括轮状病毒^[22]、呼肠孤病毒^[23]、巨细胞病毒^[24]和人乳头瘤病毒^[25],然而,在所有的患儿肝标本中并未发现存在单一病毒。最近的研究表明,与 CMV-IgM 阴性病例相比,IgM 阳性的 BA 患者预后较差,并且这些阳性病例具有独特的临床和病理表现,通常对 Kasai 术反应较差。目前一个统一的观点认为各种宫内或围产期感染是引起 BA 临床表现的病因。感染诱导的这些损伤触发宿主的免疫反应,导致胆道进行性的破坏^[26]。功能基因组学研究发现,淋巴细胞分化相关基因的协同活化与细胞因子的过度表达使其在细胞免疫的激活中起着重要作用^[27]。随后的研究也表明巨噬细胞、树突细胞和自然杀伤细胞在疾病发病机制中的重要性^[28-30]。

1993 年首次描述的 BA 小鼠模型支持病毒是胆道闭锁发病机制中重要证据,并已成为研究 BA 的重要工具^[31]。在该模型中,采用恒河猴轮状病毒(RRV)感染新生 BALB/c 小鼠会导致类似于人类 BA 的胆管炎性和病理表型,特征包括:(1)进行性阻塞性黄疸,表现为胆红素尿、黄疸、陶土样大便、生长发育迟缓,病最终导致死亡;(2)胆管树的形态

学和组织学变化与婴儿期 BA 相似^[32];(3)新生儿病毒感染的时间和临床表现时间上的相关性^[33-34]。Jafri 等^[35]之前研究发现胆管上皮细胞感染 RRV 后,胆管细胞内信号传导在轮状病毒细胞内复制起到关键的作用。胆管细胞在收到 RRV 感染后,会释放趋化因子启动免疫介导的胆管阻塞^[36]。最近的研究也发现,RRV 的 VP4 基因在发病机制中起着主要决定因素,VP4 蛋白中的肽序列(SRL)在疾病发病机制中起重要作用^[37]。这种特定的肽也存在于已知与人类 BA 相关的其他病毒中,如巨细胞病毒、呼肠孤病毒和 Epstein-Barr。病毒通过这种肽与宿主细胞的结合引发不同的炎症途径,导致疾病的发病^[38]。这些数据表明 BA 的发生与病毒感染存在相关性。因此,阻断这些途径可能有助于抑制疾病的发展。因此,轮状病毒诱导的 BA 是研究 BA 发病机制的具有良好特征的重要模型。但是,不幸的是,虽然恒河猴轮状病毒(RRV)感染新生幼鼠可以诱导与人类 BA 相似的胆管病变,并已用于研究该疾病的机制,但几乎所有被 RRV 病毒感染的幼崽在出生后第 14 天都会死亡,这个时期肝纤维化及肝硬化尚未形成,研究该期的机制将不可能实现,因此 RRV 诱导的 BA 模型依然存在缺陷^[39]。

3.2 轮状病毒重配株诱导的 BA 模型

随着对 BA 研究的不断深入,以及 RRV 诱导的新生乳鼠胆道闭锁模型的日臻成熟,在一定程度上揭示了胆道闭锁的可能发病机制,但令人遗憾的是该模型乳鼠存活的时间一般不超过 14 d,其肝组织并未形成纤维化或硬化^[39],这与临床表型存在较大的差别。为进一步优化该动物模型,使其更能反映 BA 的表型,从而揭示其内在机制,为预防和治疗该病提供基础,Mohanty 等^[39]的研究发现 RRV 的 VP4 基因在 BA 的发病机制中起着重要作用,且 VP2 也起着一定的作用^[40]。通过单基因重组的方法将 RRV 的 VP4 及 VP2 基因替换到 TUCH 的基因组,然后将重组的 T^{R(VP2,VP4)}接种到 4 d 龄新生鼠,可以诱导产生 BA 的肝纤维化(Ishak 分级 3~5 级)。众所周知,肝纤维化与胆汁淤积相关,而且在汇管区周围可以看到 Mallory 小体,同样,肝胆管周围的胆管细胞的增殖常常引起肝硬化的出现,有意思的是胆管增殖也是 Kasai 术预后不好的表现。而 T^{R(VP2,VP4)}诱导的肝纤维化与 BA 患儿的肝组织及肝外胆管有着相似的组织病理学特征,意味着该方法建立的肝纤维化小鼠模型可以用来研究人类疾病。

目前研究肝硬化的动物模型较多,其中主要有以 CCl_4 为代表的药物可以引起肝炎症,活化肝星状细胞,高脂饮食诱导的非酒精性肝病引起的肝硬化,以及胆管结扎引起的胆管机械性梗阻导致的肝纤维化^[41]。这些均和 BA 引起的胆汁淤积导致的肝纤维化存在本质差异,并且在组织学上也存在不同的病理特征^[42]。例如,胆管结扎的方法虽然可以引起肝纤维的表型,但是没有像 BA 患儿的汇管-汇管以及汇管-中央桥接纤维化以及结节的病理表现,可能由于大鼠不能够存活至肝组织病理表现为 Ishak 分级的 2 级的时间^[43],而 $\text{T}^{\text{R}(\text{VP}2, \text{VP}4)}$ 诱导的鼠肝纤维化模型其组织学特征与人类 BA 的病理特征极为相似,表现为胆汁淤积引起的胆管增殖,桥接以及结节形成^[44]。虽然 $\text{T}^{\text{R}(\text{VP}2, \text{VP}4)}$ 病毒不能完全诱导肝外胆管的梗阻,但是可以表现为跳跃病变以及部分阻塞,其余和 BA 患儿的表现相似^[45]。另一方面,相关研究表明 MMP-7 的血清水平被用作诊断 BA 的一个生物学标志物,这个发现也被其他的研究证实^[46]。而且 BA 患儿肝组织免疫组化提示肝外胆管细胞中 MMP-7 升高,并且其肝以及肝内胆管细胞中 MMP-7 的基因表达也在升高,有意思的是小鼠在 $\text{T}^{\text{R}(\text{VP}2, \text{VP}4)}$ 病毒在接种 2 周后也会出现 MMP-7 的升高,虽然 MMP-7 在 BA 的发病机制中的作用尚不明确,但如果是,则可能是治疗的一个靶点^[47]。另外,转录组分析证实了这种小鼠模型和人类 BA 的基因表达模式相似。目前也有研究正在采用基因敲除的方法研究纤维化的机制。确定疾病的机制基础有助于治疗的发展^[39]。

综上所述,胆道闭锁是新生儿时期一种胆管细胞进行性损伤的,且可以进展为肝纤维化甚至终末期肝衰竭的疾病。其病因复杂,包括围生期病毒感染、免疫紊乱等,目前轮状病毒感染是目前学术界较为认可的病原,因此,基于此的模型是研究者不断探索其发病机制的方向。目前,人们虽然通过临床流行病学以及动物模型研究等多种途径对本病有较多的了解,但对疾病的本质认识还远远不够。充分发挥与临床实际相符的动物模型是研究本病原因及治疗方法的最佳方案。当前诸多的动物模型中采用病毒基因重组的方法与临床较为相似,但不能完全模拟人体,需要我们进一步去探索。

参考文献:

[1] Mo YH, Chen HL, Hsu WM, et al. A noninvasive index to predict liver cirrhosis in biliary atresia [J]. *Pediatr Radiol*,

2021, 51(2): 257-264.

- [2] Yoon PW, Bresee JS, Olney RS, et al. Epidemiology of biliary atresia: a population-based study [J]. *Pediatrics*, 1997, 99(3): 376-382.
- [3] Degtyareva A, Razumovskiy A, Kulikova N, et al. Long-term effects of kasai portoc-nterostomy for biliary atresia treatment in russia [J]. *Diagnostics (Basel)*, 2020, 10(9): 686.
- [4] Sanchez-Valle A, Kassira N, Varela VC, et al. Biliary atresia: epidemiology, genetics, clinical update, and public health perspective [J]. *Adv Pediatr*, 2017, 64(1): 285-305.
- [5] Garcia-Barceló MM, Yeung MY, Miao XP, et al. Genome-wide association study identifies a susceptibility locus for biliary atresia on 10q24.2 [J]. *Hum Mol Genet*, 2010, 19(14): 2917-2925.
- [6] Cheng G, Tang CS, Wong EH, et al. Common genetic variants regulating ADD3 gene expression alter biliary atresia risk [J]. *J Hepatol*, 2013, 59(6): 1285-1291.
- [7] Cheng G, Chung PH, Chan EK, et al. Patient complexity and genotype-phenotype correlations in biliary atresia: a cross-sectional analysis [J]. *BMC Med Genomics*, 2017, 10(1): 22.
- [8] Lorent K, Gong W, Koo KA, et al. Identification of a plant isoflavonoid that causes biliary atresia [J]. *Sci Transl Med*, 2015, 7(286): 67.
- [9] Vij M, Rela M. Biliary atresia: pathology, etiology and pathogenesis [J]. *Future Sci OA*, 2020, 6(5): FSO466.
- [10] Wang J, Xu Y, Chen Z, et al. Liver immune profiling reveals pathogenesis and therapeutics for biliary atresia [J]. *Cell*, 2020, 183(7): 1867-1883.
- [11] Qisthi SA, Saragih DSP, Sutowo DW, et al. Prognostic factors for survival of patients with biliary atresia following kasai surgery [J]. *Kobe J Med Sci*, 2020, 66(2): E56-E60.
- [12] 葛军涛, 李龙, 魏延栋, 等. 哺乳期 BALB/c 小鼠胆道梗阻模型的探索 [J]. *中国实验动物学报*, 2013, 21(4): 35-37, 97-98.
- [13] 葛军涛, 李龙, 魏延栋, 等. 胆总管内注射无水乙醇致胆道闭锁动物模型的建立 [J]. *中国实验动物学报*, 2014, 22(3): 50-52, 7-8.
- [14] Symeonidis A, Trams EG. Morphologic and functional changes in the livers of rats after ligation or excision of the common bile duct [J]. *Am J Pathol*, 1957, 33(1): 13-27.
- [15] 张守华, 廖彩仙, 张春兴, 等. 小鼠梗阻性黄疸模型的建立及动态观察 [J]. *南方医科大学学报*, 2008, 28(9): 1579-1581.
- [16] Harper P, Plant JW, Unger DB. Congenital biliary atresia and jaundice in lambs and calves [J]. *Aust Vet J*, 1990, 67(5): 167.
- [17] Kopp K, Hernandez-Jover M, Robertson S, et al. A survey of new south wales sheep producer practices and perceptions on lamb mortality and ewe supplementation [J]. *Animals (Basel)*, 2020, 10(9): 1586.
- [18] Hurst LD, Pál C, Lercher MJ. The evolutionary dynamics of eukaryotic gene order [J]. *Nat Rev Genet*, 2004, 5(4): 299-310.

- [19] Wang GZ, Chen WH, Lercher MJ. Coexpression of linked gene pairs persists long after their separation [J]. *Genome Biol Evol*, 2011, 3: 565–570.
- [20] 杨一凡, 董瑞, 刘佳, 等. 合成胆道毒素诱导斑马鱼胆道闭锁模型的建立 [J]. *中华实验外科杂志*, 2019, 36(10): 1886–1888.
- [21] Landing BH. Considerations of the pathogenesis of neonatal hepatitis, biliary atresia and choledochal cyst-the concept of infantile obstructive cholangiopathy [J]. *Prog Pediatr Surg*, 1974, 6: 113–139.
- [22] Qiao H, Zhaori G, Jiang Z, et al. Detection of group C rotavirus antigen in bile duct and liver tissues of an infant with extrahepatic biliary atresia [J]. *Chin Med J*, 1999, 112(1): 93–95.
- [23] Glaser JH, Balistreri WF, Morecki R. Role of reovirus type 3 in persistent infantile cholestasis [J]. *J Pediatr*, 1984, 105(6): 912–915.
- [24] Domiati-Saad R, Dawson DB, Margraf LR, et al. Cytomegalovirus and human herpesvirus 6, but not human papillomavirus, are present in neonatal giant cell hepatitis and extrahepatic biliary atresia [J]. *Pediatr Dev Pathol*, 2000, 3(4): 367–373.
- [25] Saito T, Terui K, Mitsunaga T, et al. Evidence for viral infection as a causative factor of human biliary atresia [J]. *J Pediatr Surg*, 2015, 50(8): 1398–1404.
- [26] Mack CL. The pathogenesis of biliary atresia: evidence for a virus-induced autoimmune disease [J]. *Semin Liver Dis*, 2007, 27(3): 233–242.
- [27] Bezerra JA, Tiao G, Ryckman FC, et al. Genetic induction of proinflammatory immunity in children with biliary atresia [J]. *Lancet*, 2002, 360(9346): 1653–1569.
- [28] Mohanty SK, Ivantes CA, Mourya R, et al. Macrophages are targeted by rotavirus in experimental biliary atresia and induce neutrophil chemotaxis by Mip2/Cxcl2 [J]. *Pediatr Res*, 2010, 67(4): 345–351.
- [29] Shivakumar P, Sabla GE, Whittington P, et al. Neonatal NK cells target the mouse duct epithelium via Nkg2d and drive tissue specific injury in experimental biliary atresia [J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(8): 2281–2290.
- [30] Walther A, Mohanty SK, Donnelly B, et al. Rhesus rotavirus VP4 sequence-specific activation of mononuclear cells is associated with cholangiopathy in murine biliary atresia [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2015, 309(6): G466–G474.
- [31] Riepenhoff-Talty M, Schaeckel K, Clark HF, et al. Group A rotaviruses produce extrahepatic biliary obstruction in orally inoculated newborn mice [J]. *Pediatr Res*, 1993, 33(4): 394–399.
- [32] Petersen C, Grasshoff S, Luciano L. Diverse morphology of biliary atresia in an animal model [J]. *J Hepatol*, 1998, 28(4): 603–607.
- [33] Czech-Schmidt G, Verhagen W, Szavay P, et al. Immunological gap in the infectious animal model for biliary atresia [J]. *J Surg Res*, 2001, 101(1): 62–67.
- [34] Mohanty SK, Donnelly B, Bondoc A, et al. Rotavirus replication in the cholangiocyte mediates the temporal dependence of murine biliary atresia [J]. *PLoS One*, 2013, 8(7): e69069.
- [35] Jafri M, Donnelly B, McNeal M, et al. MAPK signaling contributes to rotaviral-induced cholangiocyte injury and viral replication [J]. *Surgery*, 2007, 142(2): 192–201.
- [36] Jafri M, Donnelly B, Bondoc A, et al. Cholangiocyte secretion of chemokines in experimental biliary atresia [J]. *J Pediatr Surg*, 2009, 44(3): 500–507.
- [37] Mohanty SK, Donnelly B, Lobeck I, et al. The SRL peptide of rhesus rotavirus VP4 protein governs cholangiocyte infection and the murine model of biliary atresia [J]. *Hepatology*, 2017, 65(4): 1278–1292.
- [38] Mohanty SK, Donnelly B, Temple H, et al. A rotavirus-induced mouse model to study biliary atresia and neonatal cholestasis [J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 1981: 259–271.
- [39] Mohanty SK, Lobeck I, Donnelly B, et al. Rotavirus reassortant-induced murine model of liver fibrosis parallels human biliary atresia [J]. *Hepatology*, 2020, 71(4): 1316–1330.
- [40] Walther A, Mohanty SK, Donnelly B, et al. Rhesus rotavirus VP4 sequence-specific activation of mononuclear cells is associated with cholangiopathy in murine biliary atresia [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2015, 309(6): G466–G474.
- [41] Zhou WC, Zhang QB, Qiao L. Pathogenesis of liver cirrhosis [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(23): 7312–7324.
- [42] Anthony PP, Ishak KG, Nayak NC, et al. The morphology of cirrhosis: definition, nomenclature, and classification [J]. *Bull World Health Organ*, 1977, 55(4): 521–540.
- [43] Ferrell L. Liver pathology: cirrhosis, hepatitis, and primary liver tumors. Update and diagnostic problems [J]. *Mod Pathol*, 2000, 13(6): 679–704.
- [44] Kinugasa Y, Nakashima Y, Matsuo S, et al. Bile ductular proliferation as a prognostic factor in biliary atresia: an immunohistochemical assessment [J]. *J Pediatr Surg*, 1999, 34(11): 1715–1720.
- [45] Moreira RK, Cabral R, Cowles RA, et al. Biliary atresia: a multidisciplinary approach to diagnosis and management [J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2012, 136(7): 746–760.
- [46] Lertudomphonwanit C, Mourya R, Fei L, et al. Large-scale proteomics identifies MMP-7 as a sentinel of epithelial injury and of biliary atresia [J]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(417): 8462.
- [47] Yang L, Zhou Y, Xu PP, et al. Diagnostic accuracy of serum matrix metalloproteinase-7 for biliary atresia [J]. *Hepatology*, 2018, 68(6): 2069–2077.