

苏先芝,刘一斐,孔文娟,等. 三种早发性卵巢功能不全小鼠造模方法的比较研究[J]. 中国实验动物学报, 2019, 27(6): 725-732.
Su XZ, Liu YF, Kong WJ, et al. Comparison of three methods for the establishment of mouse models of premature ovarian insufficiency [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2019, 27(6): 725-732.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2019.06.006

三种早发性卵巢功能不全小鼠造模方法的比较研究

苏先芝¹, 刘一斐¹, 孔文娟¹, 闫菲¹, 王晓梅¹, 韩福国², 刘清飞^{2*}, 史云^{3*},

(1. 北京中医药大学第一临床医学院, 北京 100029; 2. 清华大学药学院, 北京 100084;
3. 北京中医药大学东直门医院, 北京 100700)

【摘要】 目的 对比分析早发性卵巢功能不全 (POI) 小鼠模型三种常用造模方法的差异, 探索符合 POI 临床特征的造模方法。**方法** 将 96 只动情周期规律的 ICR 小鼠随机分为 4 组: A 对照组、B 雷公藤组、C 二氧化乙烯基环己烯 (VCD) 组、D 半乳糖组。适应性喂养后, 分别给予不同造模干预, 分别于干预后第 16、46 和 76 天随机处死各组 8 只小鼠, 检测小鼠血清性激素、观察卵巢和子宫病理改变等。**结果** 各模型组小鼠 E₂、卵泡数与对照组有显著差异; 各模型组均出现动情周期紊乱, 对照组则阴性。**结论** VCD 腹腔注射法可损伤小鼠卵巢功能, 造成小鼠 POI 模型; 此造模方法简便易行、成功率高, 在三种造模方法中成模更为理想, 可推广。

【关键词】 早发性卵巢功能不全; 二氧化乙烯基环己烯; 造模方法; 雷公藤; 半乳糖; 小鼠

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2019) 06-0725-08

Comparison of three methods for the establishment of mouse models of premature ovarian insufficiency

SU Xianzhi¹, LIU Yifei¹, KONG Wenjuan¹, YAN Fei¹, WANG Xiaomei¹, HAN Fuguo², LIU Qingfei^{2*}, SHI Yun^{3*}

(1. the First Clinical Medical College, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China.

2. School of Pharmaceutical Sciences, Tsinghua University, Beijing 100084.

3. Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700)

Corresponding author: LIU Qingfei. E-mail: liuqf@tsinghua.edu.cn; SHI Yun. E-mail: zysyun@163.com

【Abstract】 Objective To evaluate the differences between three commonly used methods for establishing mouse models of premature ovarian insufficiency (POI), and to determine the method that is most accordant with the clinical features of POI. **Methods** Ninety-six ICR mice with regular estrous cycles were randomly divided into 4 groups: the control group (A), the tripterygium glycosides (TG) group (B), the 4-vinylcyclohexene diepoxide (VCD) group (C), and the D-(+)-galactose (D-gal) group (D). After intervention with the different chemicals, eight mice in each group were sacrificed, the serum sex hormone levels were measured, and the pathological changes of uterus and ovaries were examined. **Results** The level of E₂ and the number of follicles differed significantly between mice in the model groups and those in the control group ($P < 0.01$). And the estrous cycles in mice of the model groups were significantly irregular whereas those of the control group were regular. **Conclusions** Mouse models of POI can be successfully established with VCD via intraperitoneal injection. This method has the advantages of being an easier operation and having a higher success

【基金项目】 国家自然科学基金(81202717); 科技部国际合作重点项目(2016YFE0113700)。

Funded by National Natural Science Foundation of China (81202717) and Key International Cooperation Projects of the Ministry of Science and Technology (2016YFE0113700).

【作者简介】 苏先芝 (1994—) 女, 硕士研究生, 研究方向: 中医药防治女性生殖衰老和不孕不育。Email: 784829714@qq.com

【通信作者】 刘清飞 (1971—), 男, 副教授。Email: liuqf@tsinghua.edu.cn;

史云 (1975—) 女, 主任医师, 硕士生导师。Email: zysyun@163.com。

* 共同通信作者

rate, as compared with the other two models method. It is the ideal one of the three establishing method and is suitable for popular use.

[Keywords] premature ovarian insufficiency(POI); vinylcyclohexene dioxide(VCD); mouse models; establishing method; tripterygium glycosides(TG); D-(+)-galactose(D-gal)

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

早发性卵巢功能不全 (premature ovarian insufficiency, POI), 是指 40 岁之前出现卵巢功能减退, 主要表现为月经异常 (闭经、月经稀发或频发)、促性腺激素水平升高 ($\text{FSH} > 25 \text{ IU/L}$) 和雌激素水平波动性下降^[1]。由于卵巢功能的减退导致女性生育力的丧失和低雌激素状态, POI 已成为影响女性生殖健康和社会稳定性的不可忽视的因素, 因此对 POI 的病因学和诊疗的研究日益受到重视。POI 的病因和病理机制尚不明确, 自身免疫、遗传、环境、药物和应激因素等都可能引起卵巢功能的减退。目前临床缺乏疗效确切的药物, 原因之一就在于建立适宜的 POI 动物模型存在一定的困难。目前 POI 的动物模型的制备主要依据不同的发病机制, 有化疗药物造模法、半乳糖代谢造模法、化学损伤物质造模法、基因敲除造模法等^[2], 本文针对目前常用的三种造模方法: 雷公藤造模法、化学物质二氧化乙烯基环己烯 (4-vinylcyclohexenediepoide, VCD) 造模法、半乳糖代谢造模法进行对比性研究, 力求找到更理想的 POI 动物模型, 为临床和实验研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

SPF 级雌性 ICR 小鼠 100 只, 8 周龄, 体重 (28 ± 3) g, 购于北京维通利华实验技术有限公司【SCXK (京) 2016-0011】, 饲养和取材均于北京中医药大学教育部中医内科学重点实验室屏障动物实验设施内进行【SYXK (京) 2015-0001】, 实验经过北京中医药大学东直门医院实验动物福利与伦理委员会批准 (编号: 17-23)。小鼠分笼饲养, 实验室温度 (20 ± 4) °C, 相对湿度 60% ~ 70%, 光照和黑暗 12 h 更替, 自由进食及饮水。

1.1.2 试剂与仪器

雷公藤多苷片 (湖南千金协力药业, 20160502), 二氧化乙烯基环己烯 (Sigma, BCBV1352, 美国)。芝麻油 (Spectrum, 2GC0155, 美国)。D-(+)-半乳糖 (Sigma, WXBC4726 V, 美国)。血清促

卵泡生成素 (FSH)、促黄体生成素 (LH)、雌二醇 (E_2)、抗苗勒管激素 (AMH) 酶联免疫吸附测定 (ELISA) 试剂盒 (北京易科拜德科技有限公司)。本实验所及仪器均为实验室常规仪器。

1.2 方法

1.2.1 动物分组

适应性喂养 3 d 后, 每日早 8:00 起对小鼠进行阴道脱落细胞学检测, 连续 10 d 光镜下观察, 筛选出有规律动情周期的健康雌性小鼠 96 只进入正式实验。按随机数字表法随机分为 4 组: 对照组、雷公藤多苷片组 (tripterygium glycosides, TG)、VCD 组和半乳糖组 (D-(+)-galactose, D-gal), 每组 24 只。干预当天设为 0 d, 干预后第 16、46 和 76 天处死随机处死各组 8 只小鼠, 分别设为各组的 I、II 和 III 亚组。取血并处死, 取小鼠双侧子宫和卵巢, 生理盐水清洗后擦干, 称重, 分组置于 4% 多聚甲醛中固定。

1.2.2 POI 模型的建立

TG 组以雷公藤多苷片混悬液按 $50 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 灌胃, 连续 15 d。VCD 组以 VCD 溶液按 $160 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 剂量腹腔注射, 连续 15 d。半乳糖组以半乳糖溶液按 $500 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 剂量颈背部皮下注射, 连续 75 d。

1.2.3 观测指标

(一) 造模前后一般情况观察

观察并记录动物皮毛、活动情况、进食、大小便和体重等改变, 若有动物死亡, 记录死亡数量及原因。

(二) 动情周期观察

自干预日起, 各组小鼠每日 8:00 起进行阴道涂片, 观察动情周期。取细棉签蘸取 0.9% 生理盐水后, 在小鼠阴道内轻轻旋转一周, 在玻片上轻轻滚动, 使分泌物均匀地涂布于玻片上, 于光学显微镜下直接观察小鼠动情周期变化。观察标准: ①动情前期: 椭圆形有核上皮细胞占大多数, 偶有少量角化细胞和白细胞; ②动情期: 片状无核角化上皮细胞占绝大多数或间有少量有核上皮细胞和白细胞; ③动情后期: 白细胞、片状角化上皮细胞、有核上皮细胞均有, 且比例无明显差异; ④动情间期: 有大量白细胞及少量粘液^[3]。

(三) 血清性激素水平

血液标本于血清管 (VACUETTE, #D1703343) 中静置 1 h 后, 以 4200 r/min 离心 15 min, 取上清液, 严格按照试剂盒操作, ELISA 法测定血清 FSH、LH、E₂、AMH 水平。

(四) 子宫、卵巢指数测定

取双侧子宫和卵巢, 剔除脂肪组织后称重, 按以下公式计算子宫指数和卵巢指数: 卵巢指数 = 卵巢湿重 (mg)/体重 (g) × 100%; 子宫指数 = 子宫湿重 (mg)/体重 (g) × 100%。

(五) 卵巢、子宫组织学观察

称重后将卵巢、子宫分组浸入 4% 多聚甲醛中固定, 常规石蜡切片与 HE 染色, 在光学显微镜下阅片, 计数卵巢中各级卵泡和黄体的数量, 测量子宫内膜和子宫肌壁厚度。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 20.0 统计软件进行统计分析。计量资料以平均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 用单因素方差分析各组间的比较, 以 $\alpha=0.05$ 的标准, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况观察

各造模组小鼠在干预期间均出现不同程度的一过性活动减少、摄食减少、皮毛光泽度下降等变化, 体重无明显下降; 干预结束后, 雷公藤组小鼠活动和摄食逐渐恢复, 皮毛光泽度亦于第 46 天时恢复正常, VCD 组小鼠皮毛光泽度仍较差。对照组小鼠食欲、皮毛、活动度等均较干预前无明显变化。

2.2 小鼠动情周期变化

对照组小鼠均有规律的动情周期, 表现为 6~7 d 出现一次规律动情周期。干预当天记为 0 d, 与每组结果比较。结果见图 1。

2.3 血清性激素水平变化

干预后第 16 天, 各组 E₂ 值较对照组均下降, 有十分显著性差异 ($P<0.01$), 雷公藤组和 VCD 组 AMH 均明显下降, VCD 组 FSH 值及 FSH/LH 比值升高半乳糖组 AMH 值降低, 差异均有显著性 ($P<0.05$)。第 46 天, 雷公藤组、VCD 组 E₂ 值较对照组仍明显降低, 差异有显著性 ($P<0.05$); VCD 组 AMH 值较第 16 天及同期对照组降低, 差异有显著性 ($P<0.05$); 半乳糖组与同期对照组相比, E₂ 值降低, 差异十分显著 ($P<0.01$), AMH 值明显降低 ($P<$

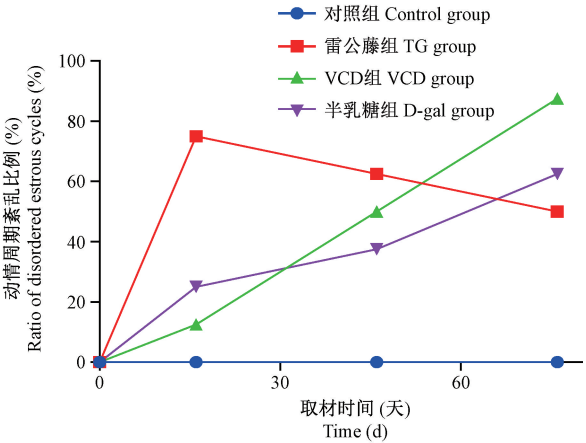


图 1 小鼠动情周期紊乱比例 (%)

Figure 1 Ratio of disordered estrous cycle (%)

0.05)。第 76 天, 雷公藤组 E₂ 值较对照组仍降低 ($P<0.05$), 其余各值均无显著差异; VCD 组 AMH、LH、E₂ 值较对照组降低, FSH/LH 比值升高, 均有显著性差异 ($P<0.05$); 半乳糖组 AMH、E₂ 值较对照组降低, 有显著性差异 ($P<0.05$, $P<0.01$)。雷公藤组小鼠 AMH 值在第 76 天时较第 16 天时显著升高 ($P<0.01$), VCD 组和半乳糖组小鼠 E₂ 水平持续性降低, 较前有显著性差异 ($P<0.05$)。结果见图 2。

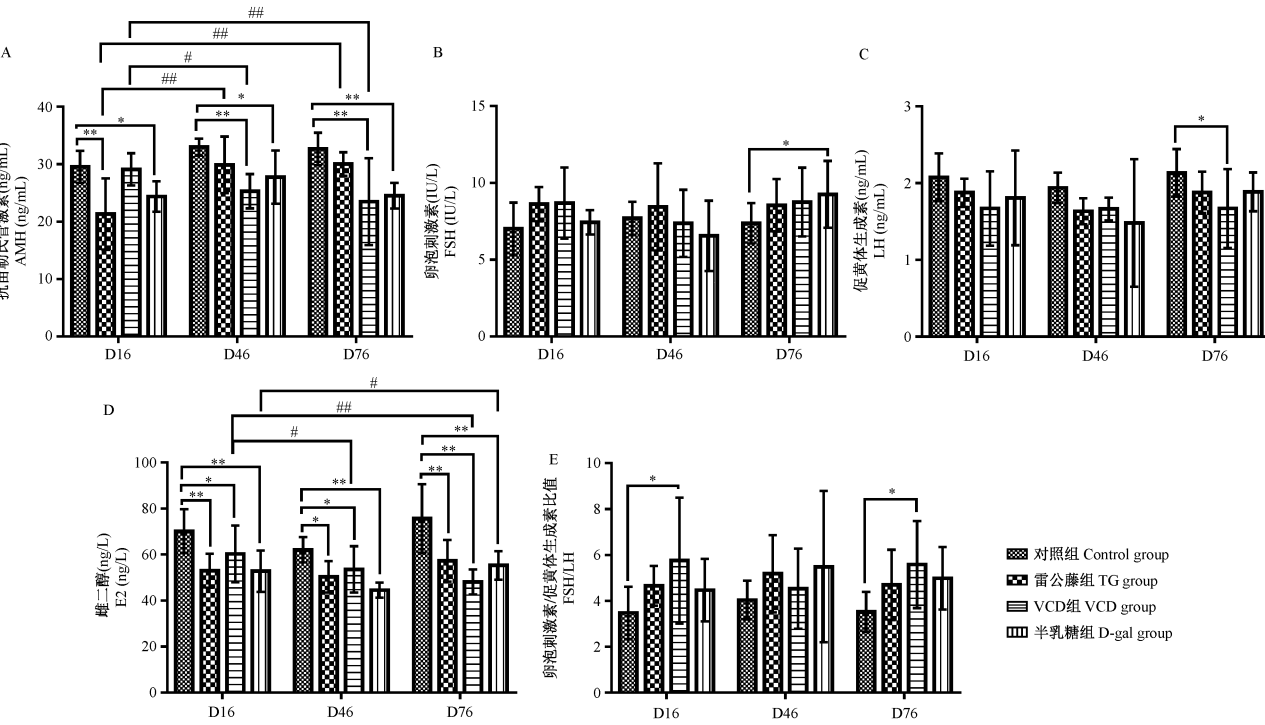
2.4 卵巢、子宫湿重指数

小鼠给药前称重, 各组小鼠体重差异无显著性。第 16 天, 雷公藤组小鼠体重明显减轻, VCD 组卵巢湿重、卵巢指数均明显减少, 半乳糖组卵巢指数明显减少, 差异均有显著性 ($P<0.05$); 第 46 天, 半乳糖组卵巢湿重、卵巢指数均较同期空白对照组明显减少, 差异有显著性 ($P<0.05$)。第 76 天各组卵巢指数无显著性差异 ($P>0.05$)。各组子宫指数与同期空白对照组相比均未产生显著性差异 ($P>0.05$)。结果见表 1。

2.5 卵巢与子宫组织结构变化

2.5.1 卵泡计数及子宫厚度测量

第 16 天, 雷公藤组发育中卵泡数、成熟卵泡数、子宫内膜厚度较对照组减少, VCD 组子宫肌壁厚度明显减小, 半乳糖组子宫内膜厚度明显减小, 差异均有显著性 ($P<0.05$, $P<0.01$); 第 46 天, 雷公藤组、VCD 组、半乳糖组发育中卵泡数、黄体数较对照组明显减少, 差异有显著性 ($P<0.01$, $P<0.05$); 第 76 天, VCD 组成熟卵泡数、子宫内膜厚度、子宫肌壁厚度较对照组均明显减小, 半乳糖组子宫内膜厚度明显减小, 差异均有显著性, ($P<0.05$, $P<0.01$)。结果见图 3。



注:与同期空白对照组相比, **P*<0.05;与同期空白对照组相比, ***P*<0.01;与同组第 16 天相比, #*P*<0.05;与同组第 16 天比较, ##*P*<0.01。

图 2 三种早发性卵巢功能不全小鼠模型的血清性激素比较

Note. Compared with the control group at the same period, **P*<0.05. Compared with the control group at the same period, ***P*<0.01. Compared with the same treatment group at day 16, #*P* <0.05. Compared with the same treatment group at day 16, ##*P* <0.01.

Figure 2 Comparison of the changes of serum hormone levels in the three POI mouse models with premature ovarian dysfunction

表 1 三种 POI 小鼠模型的体重和卵巢、子宫指数变化($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Changes of ovarian and uterine indexes in the three mouse models of premature ovarian dysfunction ($\bar{x} \pm s$)					
组别 Groups	时间 Time	例数 <i>n</i>	体重(g) Weight (g)	卵巢指数(mg/g) Ovarian index (mg/g)	子宫指数(mg/g) Uterine index (mg/g)
对照组 Control	16 天 16 days	8	30.74±1.53	1.06±0.15	4.12±1.64
雷公藤组 TG		8	28.11±1.63 *	0.85±0.31	5.27±2.02
VCD 组 VCD		8	29.75±0.85	0.63±0.27 *	3.96±1.98
半乳糖组 D-gal		8	30.05±1.27	0.79±0.25 *	3.49±1.85
对照组 Control	46 天 46 days	8	31.91±1.80	1.17±0.18	4.39±1.23
雷公藤组 TG		8	32.31±2.43	1.07±0.51	4.88±1.23
VCD 组 VCD		8	32.63±1.46	0.96±0.20	4.25±1.87
半乳糖组 D-gal		8	30.90±2.25	0.81±0.16 *	4.34±2.19
对照组 Control	76 天 76 days	8	34.46±1.61	0.54±0.10	3.74±1.29
雷公藤组 TG		8	34.36±1.47	0.54±0.18	3.27±1.07
VCD 组 VCD		8	36.56±2.42 *	0.49±0.13	4.67±2.02
半乳糖组 D-gal		8	34.29±2.32	0.43±0.14	2.77±0.42

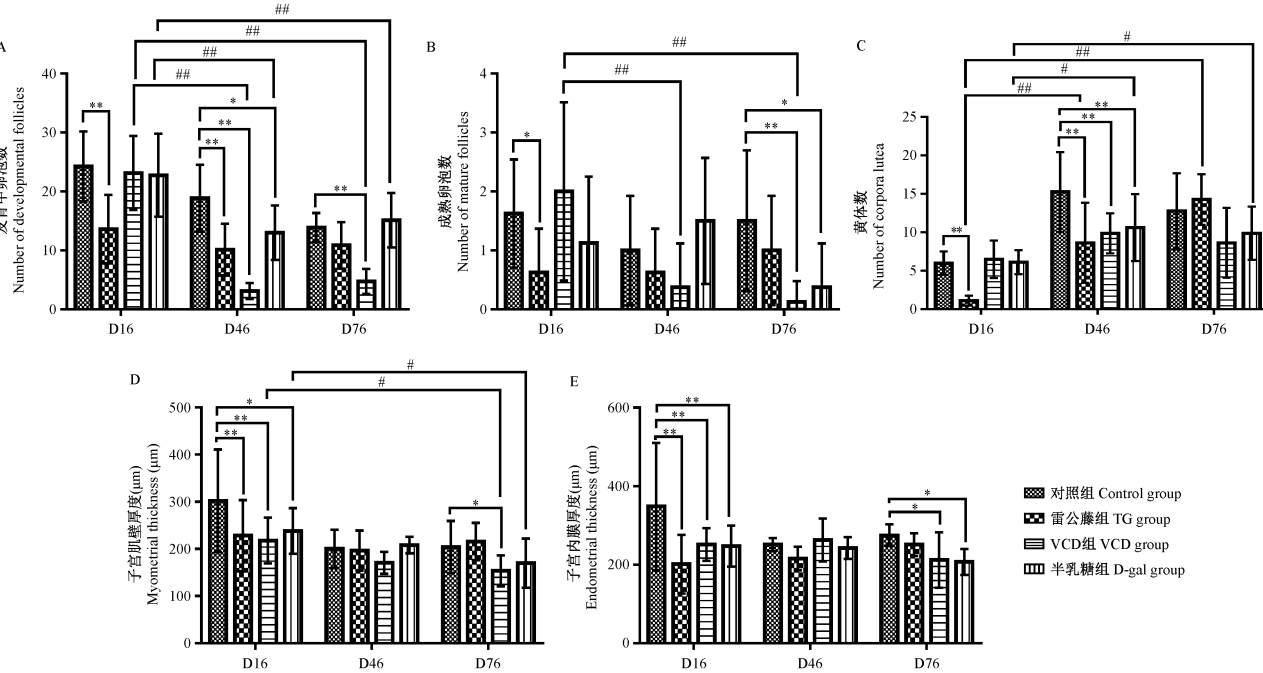
注:与同期对照组相比, **P*<0.05。

Note. Compared with the control group at the same period, **P* <0.05.

2.5.2 卵巢、子宫形态学观察

对照组小鼠卵巢表现为体积大,皮质区可见各阶段的卵泡,包括发育中的卵泡(初级卵泡、次级卵泡)、成熟卵泡和黄体相间分布,在位子宫内膜无明

显增厚或变薄,腺体无扩张或萎缩。与对照组相比,雷公藤组第 16 天和第 46 天各级卵泡及黄体所占比例下降,子宫内膜变薄,腺体萎缩,但这一现象在第 76 天时较前恢复;VCD 组发育中的卵泡和黄



注:与同期空白对照组相比, * $P<0.05$;与同期空白对照组相比, ** $P<0.01$;与同组第 16 天相比, # $P<0.05$;与同组第 16 天比较, ## $P<0.01$ 。

图 3 三种早发性卵巢功能不全小鼠模型的卵泡计数及子宫厚度测量

Note. Compared with the control group at the same period, * $P<0.05$. Compared with the control group at the same period, ** $P<0.01$. Compared with the same treatment group at day 16, # $P<0.05$. Compared with the same treatment group at day 16, ## $P<0.01$.

Figure 3 Ovarian follicle counts and uterine wall thickness measurements in the three mouse POI models

体所占比例明显下降,腺体和间质萎缩,子宫内膜上皮呈低柱状或立方状,子宫内膜和子宫肌壁变薄,并与时间呈反比;半乳糖组发育中的卵泡和黄体所占比逐渐下降,子宫内膜厚度变薄。结果见图 4、图 5。

3 讨论

疾病动物模型的最终目的在于能够解析疾病发生的生理病理机制和服务于疾病预防和治疗药物的研发两个方面^[4]。然而 POI 的发病机制尚不明确,制备理想的动物模型有很多难点,包括致病途径及过程与人类相似,患病后的病理结果与人类一致,模型的自我修复可能,是否具有可重复性等。根据病因的不同,目前有多种方式可以造成 POI 的动物模型,如雷公藤多苷片造模法、半乳糖代谢造模法、环境化学物质造模法、化疗药物造模法等^[5]。

本文选取了目前应用较多也较具代表性的雷公藤多苷片灌胃造模法、VCD 溶液腹腔注射造模法和半乳糖溶液皮下注射造模法进入研究,主要针对药物性、环境性和代谢性 POI 作为研究对象。雷公藤多苷提取自传统中药雷公藤,临床发现雷公藤多苷会导致卵巢功能减退和衰竭,高慧等^[6]用雷公藤

多苷片给 12 周龄 SD 大鼠连续灌胃 14 d 后,建立较为理想的 POI 动物模型,然而梁爽等^[7]的研究发现,雷公藤致 POI 动物模型中,停药 10 d 后,卵巢功能可自然修复。半乳糖血症与 POI 发病相关,由于半乳糖在体内堆积可导致卵母细胞的过早耗竭,女性卵巢功能对半乳糖血症异常敏感^[8],患半乳糖血症的妇女 POI 的发病率很高^[9]。Bandyopadhyay 等^[10]通过给怀孕雌鼠饲料中添加半乳糖成功建立 POI 动物模型。然而半乳糖血症导致的 POI 临床病例很少,缺乏实际研究意义。工业化学品 VCD 是制造杀虫剂、灭火剂、橡胶、塑料等的副产品^[11],可以选择性地损伤雌鼠和灵长类动物卵巢储备池中的原始卵泡及初级卵泡,加速卵泡凋亡,诱导卵巢功能逐步衰竭^[12-13],可较好地模拟自然状态下卵巢功能衰竭的进程^[14]。有文献报道,连续腹腔注射 160 mg/(kg·d) VCD 15 d,待停止注射后(70±5) d 时,啮齿类动物的卵巢接近 POI 的临床特征^[12, 15]。

本研究发现,雷公藤组小鼠在第 16 天时出现体重减轻,多数动物出现动情周期紊乱,AMH 和 E₂ 值显著降低,发育中卵泡数和成熟卵泡数减少,子宫内膜变薄,提示雷公藤多苷片造模法 15 d 确可造成小鼠卵巢功能的减退。第 46 天时小鼠体重恢复,E₂

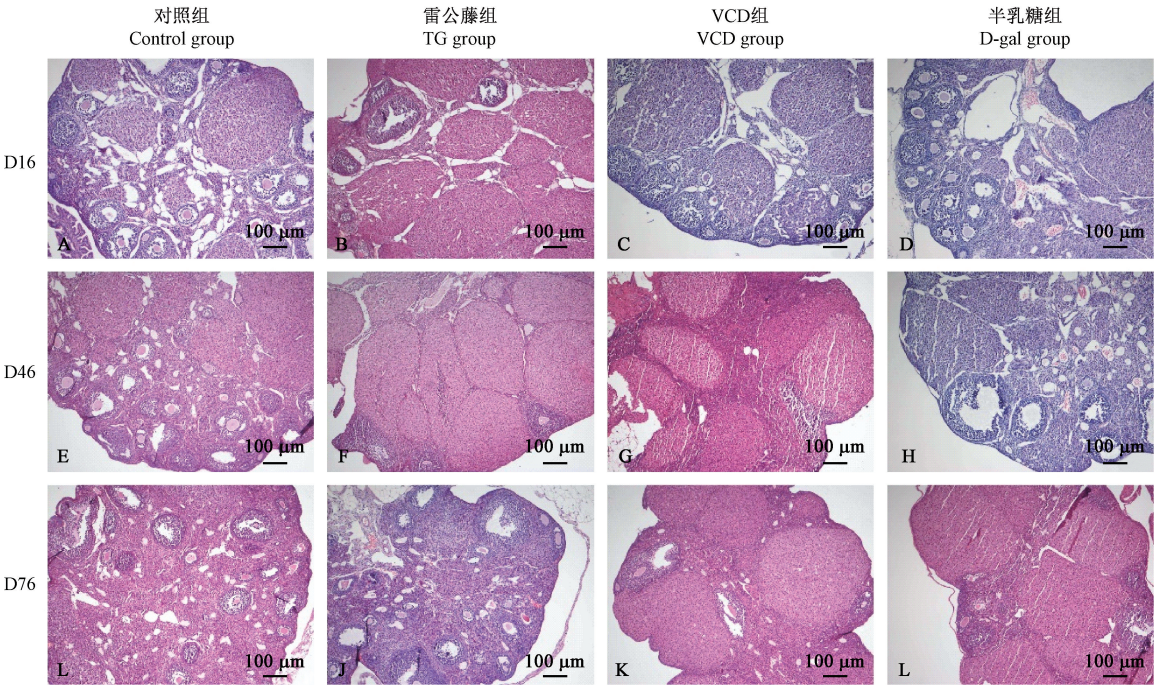


图 4 各组卵巢病理图片(HE 染色)

Figure 4 Pathological changes of the mouse ovarian tissues(HE staining)

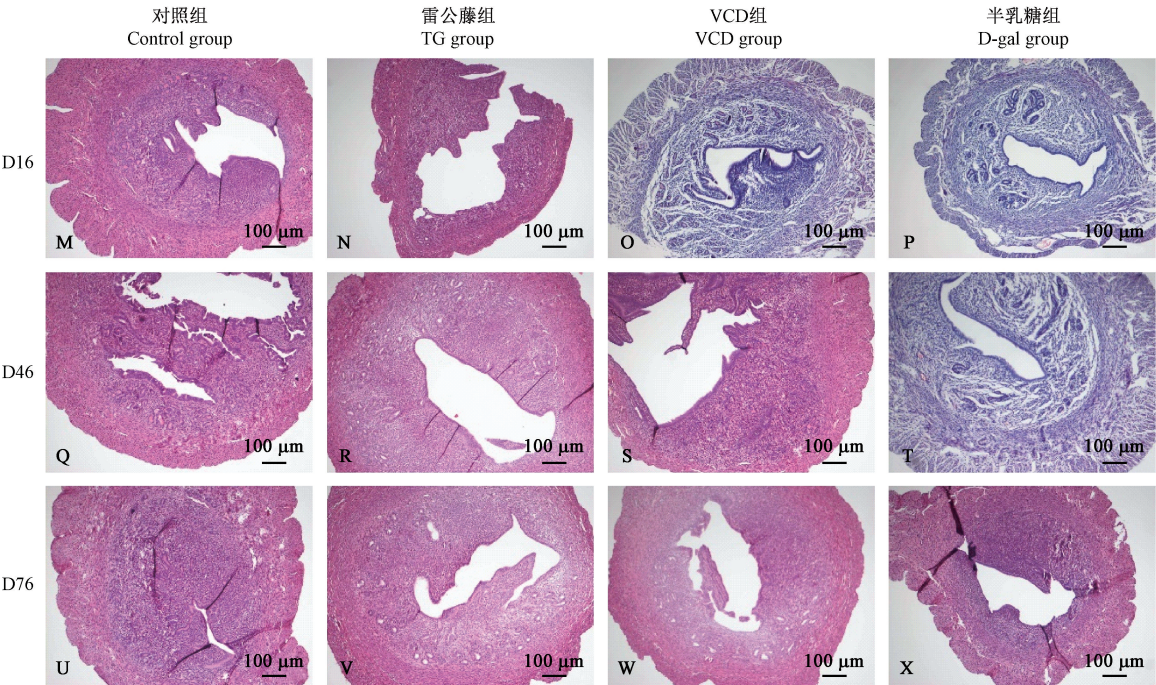


图 5 各组子宫病理图片

Figure 5 Pathological changes of mouse uterine tissues(HE staining)

值仍降低,发育中卵泡数和黄体数显著减少,提示停药 1 个月后,雷公藤多苷片对卵巢功能的损害仍然存在。但第 46 天时,除 E_2 值仍持续偏低外,雷公藤组小鼠体重、血清性激素值及卵巢、子宫组织结构均与同期空白对照组无显著差异,表明雷公藤混

悬液灌胃 15 d 即能造成小鼠生殖功能的损伤,出现体重下降、动情周期紊乱、卵巢组织病理学变化等现象,但停药 1~2 个月左右,小鼠动情周期即逐渐恢复,其他各指标逐渐恢复到正常水平,这与文献表述一致^[7]。由此说明采用雷公藤多苷造模研究

治疗 POI 药效学方法尚需要探讨。

半乳糖组小鼠在第 16 天时出现卵巢指数减低, AMH 和 E_2 值均减低, 子宫内膜厚度减小, 提示半乳糖造模法确实能够对卵巢功能造成损害, 第 46 天时 E_2 仍持续减低, 发育中的卵泡数、黄体数减低, 提示给药 46 d 后, 卵巢功能仍处于损害中。第 76 天时 AMH 和 E_2 值减低, 子宫内膜厚度减小, 半数以上动物出现动情周期紊乱, 提示给药 75 d 后卵巢功能仍在逐步下降, 表明半乳糖造模法也是制备 POI 小鼠模型的较理想造模方法。但与 VCD 造模相比, 半乳糖制造 POI 模型具有造模时间长, 成模率不高 (62.5%) 等缺点, 其造模方法仍需商榷。

VCD 组小鼠在第 16 天时出现卵巢湿重及卵巢指数减低, AMH 和 E_2 值显著降低减低, FSH 值和 FSH/LH 升高, 提示 VCD 造模法给药 15 d 后, 已经对卵巢功能造成了损害, 但尚未引起动情周期紊乱等表现。第 46 天时小鼠体重、血清性激素与前无差异, 发育中的卵泡数和黄体数较前进一步减少, 提示停药 1 个月后, VCD 对卵巢功能的损害持续存在。第 76 天时小鼠 AMH、LH、 E_2 仍明显降低, FSH/LH 比值升高, 绝大多数小鼠出现动情周期紊乱, 发育中卵泡数、成熟卵泡数均减少, 子宫内膜和子宫肌壁厚度均减小, 提示停药 2 个月后, VCD 对卵巢功能仍产生持久损害, 引起 POI 的临床征象, 且这种影响并未发现自然修复, 可能对卵巢功能造成不可逆的损伤, 表明 VCD 造模法效果确切, 是制备 POI 小鼠模型的良好造模方法。

环境内分泌干扰物 (endocrine-disrupting chemicals, EDCs) 可影响机体的激素分泌, 长期暴露于 EDCs 可引起青春期提前、生育力降低、妊娠期并发症发生率增加及绝经期提前等^[16-17], 是诱发女性 POI 的因素之一^[18]。VCD 是 VCH (4-vinylcyclohexene) 的代谢产物, VCH 产生于香烟、矿物或塑料燃烧氧化过程中, 可由吸烟、接触农药等方式进入人体, 是诱发 POI 的重要因素之一^[19-20]。良好的 POI 模型应包含以下几个因素: (1) 动情周期的改变; (2) 血清雌激素明显降低; (3) 卵泡数显著减少; (4) 生育试验证实产仔数明显减少^[21]。综上所述, VCD 溶液腹腔注射法致 POI 造模法致病途径及过程与人类相似, 动物卵巢和子宫病理结果与人类一致 (如卵巢萎缩, 各级卵泡减少, 子宫内膜和子宫肌壁厚度减小等), 动情周期明显改变, 血清雌激素明显降低, 卵泡数显著减少, 未观察到自然修

复。因此, 本实验证实化学毒性物质 VCD 能诱导小鼠卵巢功能减退, 模拟 POI 的病理过程, 在三种造模方法中最为优选, 可作为探讨 POI 发病机理和用药研究的动物模型。

参 考 文 献 (References)

- [1] 陈子江, 田秦杰, 乔杰, 等. 早发性卵巢功能不全的临床诊疗中国专家共识 [J]. 中华妇产科杂志, 2017, 52(9): 577-581. Chen ZJ, Tian QJ, Qiao J. Chinese expert consensus on premature ovarian insufficiency [J]. Chin J Obstet Gynecol, 2017, 52(9): 577-581.
- [2] 严大为, 周莉, 孙祖越. 卵巢功能早衰动物模型的建立及其评价指标的研究进展 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2015, 29(3): 486-492. Yan DW, Zhou L, Sun ZY. Research progress in establishing animal models of premature ovarian failure and its evaluation indexes [J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2015, 29(3): 486-492.
- [3] Kang X, Jia L, Shen XY. Manifestation of hyperandrogenism in the continuous light exposure-induced PCOS rat model [J]. Biomed Res Int, 2015, 2015: 1-9.
- [4] 薛丽香, 张凤珠, 孙瑞娟, 等. 我国疾病动物模型的研究现状和展望 [J]. 中国科学: 生命科学, 2014, 44(9): 851-860. Xue LX, Zhang FZ, Sun RJ, et al. Research status and perspective of disease animal models in China [J]. Sci Sin Vitae, 2014, 44(9): 851-860.
- [5] 向澜, 姚广涛, 李瑞霞, 等. 卵巢功能早衰动物模型建立方法的研究进展 [J]. 中国药理学杂志, 2015, 50(5): 386-389. Xiang L, Yao GT, Li RX, et al. Review of the establishing methods of premature ovarian failure's animal model [J]. Chin Pharm J, 2015, 50(5): 386-389.
- [6] 高慧, 杨涓, 韩冰, 等. 药物型卵巢早衰动物模型的研究 [J]. 国医论坛, 2007, 22(3): 22-26. Gao H, Yang J, Han B, et al. Animal model research on drug premature ovarian failure [J]. Forum Trad Clin Med, 2007, 22(3): 22-26.
- [7] 梁爽, 田舸, 田燕, 等. 雷公藤多苷致小鼠卵巢早衰后的自然修复时间探讨 [J]. 大连医科大学学报, 2010, 32(2): 146-150. Liang S, Tian G, Tian Y, et al. Tripterygium wifordii induced premature ovarian failure after the natural rehabilitation [J]. J Dalian Med Univ, 2010, 32(2): 147-150.
- [8] Rubio-Gozalbo ME, Gubbels CS, Bakker JA, et al. Gonadal function in male and female patients with classic galactosemia [J]. Hum Reprod Update, 2010, 16(2): 177-188.
- [9] Fridovich-Keil JL, Gubbels CS, Spencer JB, et al. Ovarian function in girls and women with GALT-deficiency galactosemia [J]. J Inherit Metab Dis, 2011, 34(2): 357-366.
- [10] Bandyopadhyay S, Chakrabarti J, Banerjee S, et al. Galactose toxicity in the rat as a model for premature ovarian failure: an experimental approach readdressed [J]. Hum Reprod, 2003, 18

- (10): 2031–2038.
- [11] 钟惠仪, 杨洪艳. 去氧乙烯基环己烯致卵巢早衰动物模型的研究进展 [J]. 广东医学, 2013, 34(11): 1787–1790.
Zhong HY, Yang HY. The research progress of premature ovarian failure mode I established by 4-vinylcyclohexene [J]. Guangdong Med J, 2013, 34(11): 1787–1790
- [12] Van Kempen TA, Milner TA, Waters EM. Accelerated ovarian failure: a novel, chemically induced animal model of menopause [J]. Brain Res, 2011, 1379: 176–187.
- [13] Kappeler CJ, Hoyer PB. 4-vinylcyclohexene diepoxide: a model chemical for ovotoxicity [J]. Syst Biol Reprod Med, 2012, 58(1): 57–62.
- [14] Reis FM, Pestana-Oliveira N, Leite CM, et al. Hormonal changes and increased anxiety-like behavior in a perimenopause-animal model induced by 4-vinylcyclohexene diepoxide (VCD) in female rats [J]. Psychoneuroendocrinology, 2014, 49(1): 130–140.
- [15] Shin D, Ha J, Hong SB, et al. Schisandrae fructus reduces symptoms of 4-vinylcyclohexene diepoxide-induced ovarian failure in mice [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2017, 2017: 2564787.
- [16] Grindler NM, Allsworth JE, Macones GA, et al. Persistent organic pollutants and early menopause in U.S. women [J]. PLoS One, 2015, 10(1): e0116057.
- [17] Minguez-Alarcon L, Gaskins AJ. Female exposure to endocrine disrupting chemicals and fecundity: a review [J]. Curr Opin Obstet Gynecol, 2017, 29(4): 202–211.
- [18] Ho SM, Cheong A, Adgent MA, et al. Environmental factors, epigenetics, and developmental origin of reproductive disorders [J]. Reprod Toxicol, 2017, 68: 85–104.
- [19] Bhattacharya P, Keating AF. Impact of environmental exposures on ovarian function and role of xenobiotic metabolism during ovotoxicity [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2012, 261(3): 227–235.
- [20] 黄莉萍, 陈建, 何淑宁, 等. 环境内分泌干扰物 4-乙烯基环己烯与女性卵巢早衰的相关性分析 [J]. 中国当代医药, 2016, 23(11): 69–71.
Huang LP, Chen J, He SN, et al. Correlation analysis of 4-vinylcyclohexene in environmental endocrine disruptors and women with premature ovarian failure [J]. Chin Mod Med, 2016, 23(11): 69–71.
- [21] 成杰, 丁利军, 胡娅莉. 卵巢早衰动物模型制备研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2013, 23(4): 66–70.
Cheng J, Ding LJ, Hu YL. Research progress of the establishment of animal models of premature ovarian failure [J]. Chin J Comp Med, 2013, 23(4): 66–70.

[收稿日期] 2019-04-25