

陶柱萍, 韦桂宁, 王雪雪, 等. 卵巢摘除诱导围绝经期综合征动物模型的研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(2): 260–266.
Tao ZP, Wei GN, Wang XX, et al. Research advances in animal models of perimenopausal syndrome induced by ovariectomy [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2020, 28(2): 260–266.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2020.02.017

卵巢摘除诱导围绝经期综合征动物模型的研究进展

陶柱萍¹, 韦桂宁², 王雪雪¹, 厉颖¹, 尹爱武³, 李灿委⁴, 范孟然¹, 巫秀美^{1,5},
张成桂^{1,5}, 高鹏飞^{1,5,6*}

(1. 大理大学药学与化学学院, 云南 大理 671000; 2. 广西中医药研究院药理所, 南宁 530022; 3. 湘潭医卫职业技术学院, 湖南 湘潭 411102; 4. 大理大学公共卫生学院, 云南 大理 671000; 5. 云南省昆虫生物医药研发重点实验室, 云南 大理 671000; 6. 药用特种昆虫开发国家地方联合工程研究中心, 云南 大理 671000)

【摘要】 围绝经期综合征是由雌激素和孕酮等类固醇激素水平下降引起的一系列症状,严重影响女性的身心健康和 生活质量,选择适当的动物模型研究该疾病显得尤为重要。卵巢摘除动物模型常用于围绝经期综合征的研究,包括骨质疏松、记忆下降和认知障碍、焦虑、抑郁、肥胖等。本文通过检索 PubMed、中国知网(CNKI)数据库中卵巢摘除动物模型应用于围绝经期综合征的相关文献,对该动物模型应用于围绝经期综合征的研究进展进行了综述。

【关键词】 围绝经期综合征;卵巢摘除;动物模型

【中图分类号】 Q95-33 【文献标识码】 A 【文章编号】 1005-4847(2020) 02-0260-07

Research advances in animal models of perimenopausal syndrome induced by ovariectomy

TAO Zhuping¹, WEI Guining², WANG Xuexue¹, LI Ying¹, YIN Aiwu³, LI Canwei⁴, FAN Mengran¹,
WU Xiumei^{1,5}, ZHANG Chenggui^{1,5}, GAO Pengfei^{1,5,6*}

(1. School of Pharmacy, Dali University, Dali 671000, China. 2. Department of Pharmacology, Guangxi Institute of Chinese Medicine and Pharmaceutical Science, Nanning 530022. 3. Xiangtan Medicine and Health Vocational College, Xiangtan 411102. 4. College of Public Health, Dali University, Dali 671000. 5. Yunnan Key Laboratory for Biomedical Research and Development of Insects, Dali University, Dali 671000. 6. National Local Joint Engineering Research Center for the Development of Medicinal Special Insects, Dali 671000)
Corresponding author: GAO Pengfei. E-mail: gaodalan@126.com

【Abstract】 Perimenopausal syndrome (PMS) is a series of symptoms caused by the decrease of steroid hormone levels, such as estrogen and progesterone, which seriously affect the physical and mental health and quality of life of women. To explore the etiology of the disease, it is important to select the right animal model. The ovariectomy animal model is often used in the study of PMS symptoms, such as osteoporosis, memory and cognitive impairment, anxiety, depression, and obesity. In this paper, research progress of the ovariectomy animal model applied to PMS is reviewed by searching the relevant literature of the ovariectomy animal model in PubMed and CNKI database for PMS.

【Keywords】 perimenopausal syndrome; ovariectomy; animal model

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

【基金项目】国家自然科学基金资助项目(81260676,81960729,81560663,81703769),云南省地方本科高校(部分)基础研究联合专项项目(2018FH001-097),云南省教育厅科学研究基金重点项目(2013Z154),云南省 2019 年中药饮片产业发展专项资金(2019-YG-067)。

Funded by National Natural Science Foundation of China(81260676,81960729,81560663,81703769), Yunnan Province Local University (partial) Basic Research Joint Project(2018FH001-097), Key Projects of the Scientific Research Fund of the Department of Education of Yunnan Province (2013Z154), Special Fund for the Development of Traditional Chinese Medicine Decoction Pieces Industry in Yunan Province in 2019(2019-YG-067).

【作者简介】陶柱萍(1994—),女,在读硕士研究生,主要从事代谢组学研究。Email:18313002246@163.com

【通信作者】高鹏飞(1971—),男,博士,副教授,硕士生导师,主要从事代谢组学研究。Email:gaodalan@126.com

围绝经期是一个生理过程,由于卵巢卵泡数减少致其功能衰退或丧失,导致雌激素和孕酮等类固醇激素减少,从而引起机体内分泌失调、免疫力低下和植物神经紊乱的症候群,可导致机体血管、肌肉、骨骼和脑神经系统等多个系统的病理变化,有不同程度的易怒、头晕、耳鸣、心悸、失眠、肥胖等症状,晚期伴有明显的骨质疏松症、记忆丧失、认知障碍和心脑血管疾病^[1-2]。

我国女性自然围绝经期的平均年龄为 49.76 岁^[3],在世界范围内,围绝经期综合征的发生率为 28.5%,其中中国约占 10%,并呈上升趋势^[4],对女性日常活动、身心健康等负面影响越来越严重。

1 卵巢摘除模型

卵巢摘除模型又称去势模型,能快速模拟围绝经期状态。常用于构建卵巢摘除模型的动物主要有大鼠和小鼠,动物品系主要有 ICR、BALB/c、KM、NMRI 小鼠和 SD、Wistar 大鼠等^[1, 5-7],其中应用最为广泛的是 SD 和 Wistar 大鼠。麻醉大鼠或小鼠后,在子宫角与输卵管的交界处予以结扎,随后切除其双侧卵巢。目前国内学者常采用该动物模型研究围绝经期综合征的病理机制和药物对其的作用机制^[5-10]。

2 卵巢摘除动物模型诱导的围绝经期综合征症状及相关机制研究

2.1 骨质疏松

骨质疏松症是一种以骨量减少、骨组织显微结构恶化,骨密度下降为特征的全身代谢性疾病,是导致骨质疏松和骨折风险增加的主要原因^[11]。女性患骨质疏松症的几率是男性的五倍,其中我国 50 岁以上女性骨质疏松患病率约为 50.1%,高于同龄男性的 22.5%,可能与女性围绝经期雌激素缺乏有关^[12-13]。国内外学者采用大鼠或小鼠通过卵巢摘除动物模型成功模拟了骨质疏松症^[12, 14]。

常用于评价骨质疏松症的指标包括 micro-CT 检测、骨吸收和骨形成生化指标检测等。Chen 等^[14]对 C57BL/6J 小鼠进行卵巢摘除手术,并用 micro-CT 检测其右股骨的骨组织参数,结果显示,与假手术小鼠相比,卵巢摘除小鼠骨密度、骨小梁厚度和数量等降低,具有较低的成骨细胞和较高的破骨细胞指标。Mee 等^[12]采用 SD 大鼠进行卵巢摘除手术,发现与假手术组相比,卵巢摘除组大鼠体重增加,子宫重量下降,骨密度降低,血清骨形成

指标碱性磷酸酶和骨钙素水平升高,骨吸收指标脱氧吡啶诺林和 N-末端肽浓度降低,提示卵巢摘除导致骨吸收和骨形成失衡,影响骨转换,诱发骨代谢异常。钟航等^[15]采用 C57BL/6J 小鼠进行卵巢摘除手术的研究发现,卵巢摘除后破骨细胞低氧诱导因子-1(hypoxia-inducible factor-1, HIF-1)信号通路上调,进一步分析表明,HIF-1 信号通路参与骨质疏松的病理演变,可能与蛋白激酶 B、细胞外调节蛋白激酶、NF- κ B 这 3 条信号通路有关。

Collins 等^[16]对 BALB/c 小鼠进行卵巢摘除手术,研究雌激素缺乏诱发的骨丢失与机体免疫功能的联系,结果显示,雌激素缺乏时,机体通过调节 CD14⁺单核细胞、CD4⁺T 细胞肿瘤坏死因子超家族成员死亡受体 3 的表达、及血清肿瘤坏死因子样配体 1A 的水平,调节 T 细胞活性,间接促进骨丢失,提示雌激素缺乏可能导致免疫功能紊乱,间接参与早期围绝经期骨丢失。

2.2 记忆下降和认知障碍

在围绝经期期间,类固醇激素降低,外周血清黄体生成素(luteinizing hormone, LH)水平增加,老年人和啮齿动物的记忆力下降、认知缺陷和阿尔茨海默症发病率增加可能与其变化有关^[7, 17]。国内外学者研究发现卵巢摘除动物模型可导致记忆下降和认知障碍^[17-18]。

Morris 水迷宫实验、T 迷宫实验和新物体识别实验是常用的研究、评估动物学习记忆能力的行为学实验。Blair 等^[7]发现 C57BL/6J 小鼠卵巢摘除后雌激素、孕激素和脑 LH 水平下降,血清 LH 水平升高;Morris 水迷宫实验结果显示,卵巢摘除小鼠逃避潜伏期明显长于假手术组;探索实验中,卵巢摘除组在目标象限中花费的时间百分比假手术组更短,这些结果表明,卵巢摘除动物模型可能破坏认知功能,使学习、记忆功能受损,其病理机制可能是在围绝经期状态下,外周较高的 LH 驱动脑 LH 丢失,导致 LH 受体信号和认知功能丧失,而激活中枢神经系统 LH 受体可改善卵巢摘除相关的空间记忆丧失和神经元的可塑性。

Delrobaei 等^[17]研究发现,NMRI 卵巢摘除小鼠与假手术小鼠相比,血清脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)、脑组织超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶水平降低,新物体识别实验的辨别指数显著降低;T 迷宫实验的交替次数除以总的选择次数的比率下降;结果提

示,其可能的病理机制是卵巢摘除后机体抗氧化能力和 BDNF 表达下降,影响学习和记忆。Jintanaporn 等^[18]对 Wistar 大鼠进行卵巢摘除手术,结果显示,卵巢摘除组大鼠 Morris 水迷宫实验的逃避潜伏期显著增加,保留时间显著减少;海马组织的丙二醛水平显著升高,超氧化物歧化酶水平显著降低;海马磷酸化 ERK 1/2 的表达明显下调,提示围绝经期雌激素水平降低,清除自由基能力和内源性抗氧化能力降低,氧化应激状态发生变化。由于大脑是氧化应激的重要靶点,氧化应激会袭击大脑,导致神经变性,进而损害认知功能,尤其是学习和记忆能力。

2.3 焦虑和抑郁

抑郁症是一种发病率和自杀率高的精神疾病,据统计,目前影响全世界大约 3.5 亿人^[19];抑郁症的女性患者远超过男性,且妇女绝经后抑郁症的发病率是绝经前 4 倍^[20]。研究表明,围绝经期妇女抑郁症的高患病率与较低的循环雌激素水平有关,雌激素是一种高度亲脂的激素,可跨越血脑屏障,进入细胞内并与细胞内雌激素受体结合,这些受体分布在许多与焦虑和抑郁相关的区域,如杏仁核、下丘脑等,雌激素也可通过雌激素受体影响多种神经递质系统,如 5-羟色胺、多巴胺和去甲肾上腺素等^[21]。

强迫游泳实验(forced swimming test, FST)、旷场实验(open field test, OFT)、悬尾实验(tail suspension test, TST)和糖水偏好实验(saccharin preference test, SPT)是抑郁模型常用的行为学评价指标。Estrada-Camarena 等^[22]研究发现,Wistar 大鼠在卵巢摘除 1 周和 3 周后,FST 的游泳行为显著减少,不动时间显著增加,表明卵巢摘除动物模型可诱发抑郁样行为。Saad 等^[23]发现卵巢摘除的 Wistar 大鼠的 FST 的不动时间延长,OFT 的中央区域潜伏时间增加,穿格数减少,血清雌激素水平和海马 BDNF 显著降低,BDNF 广泛存在于中枢和外周神经系统,与抑郁的发生发展密切相关^[24]。研究提示卵巢摘除大鼠的抑郁样行为可能与雌激素和 BDNF 的下降有关。

Saravi 等^[25]手术摘除 NMRI 小鼠卵巢,与正常对照和假手术小鼠相比,FST 和 TST 的不动时间增加,海马亚硝酸根浓度升高,揭示其病理机制可能与 NO 信号通路有关。Xu 等^[26]采用 SD 大鼠进行卵巢摘除手术,研究雌激素缺乏诱导的抑郁样行为与脑炎症、吲哚胺 2,3-双加氧酶等的联系,研究结

果揭示,卵巢摘除引起的雌激素缺乏会增加海马内炎症因子如干扰素- γ 、白介素-6 的水平,进而激活吲哚胺 2,3-双加氧酶,降低 5-HT 的生成,从而导致抑郁样行为。Gogos 等^[27]发现,卵巢摘除 SD 大鼠雌激素水平显著下降,FST 不动时间延长,SPT 的糖水偏好率呈降低趋势,而给予雌激素治疗后,上述指标均有逆转至正常水平的趋势,提示卵巢摘除可诱发抑郁样行为,而雌激素具有抗抑郁作用。

小胶质细胞是神经胶质细胞的一种,参与神经炎症,其变化可能会导致、加重抑郁的发生^[28]。Sárvári 等^[29]研究发现,Wistar 大鼠卵巢摘除后,Cd11b, Cd18, C3, Cd32, Msr2 和 Toll 样受体 4 基因的表达增加,而清道夫受体 CD36 表达下降,表明卵巢摘除激素丢失改变了雌激素和神经元抑制信号的表达,这些信号参与了在免疫应答的启动和调节中起着重要作用的小胶质细胞反应性的控制。

Abraham 等^[5]发现,Wistar 大鼠卵巢摘除 3 周后出现焦虑样行为,6 周后大鼠出现绝望样行为,进一步分析表明,卵巢摘除诱发的焦虑、绝望样行为可能与外侧中膈核 Fos 免疫反应的减少有关。

2.4 肥胖

内源性雌激素在体重和肥胖的调控中发挥着重要作用,雌激素缺乏时基础代谢减少;卵巢摘除诱导的肥胖与能量消耗减少、脂肪组织扩张和肝脂肪变性有关^[30]。Sunmin 等^[31]的研究表明,与 SD 假手术大鼠相比,卵巢摘除大鼠血清雌激素水平降低,LH 和促卵泡生长激素水平升高,体重增加,子宫周围脂肪、腹膜后脂肪和内脏脂肪均呈上升趋势;每天的能量摄入增加,消耗减少;每分钟的脂肪氧化降低;血清葡萄糖和胰岛素升高。Curtis 等^[32]发现卵巢摘除 SD 大鼠的体重明显升高,中枢神经系统的细胞因子白介素-6、趋化因子单核细胞趋化蛋白-1 和 Toll 样受体 4 水平发生显著变化,提示神经免疫信号的早期改变参与调节卵巢摘除术后的体重增加。

体内代谢物及其代谢通路是肠道微生物调节人体的重要途径,Liu 等^[33]采用¹H NMR 代谢组学技术,分析 SD 大鼠卵巢摘除手术 12 周后血清和尿液代谢物的变化,探讨其与雌激素缺乏诱导围绝经期综合征的关系。结果显示,与假手术组相比,卵巢摘除组大鼠血清和尿液的多种代谢物发生显著性变化,如卵巢摘除组尿液中组氨酸、肉毒碱、三甲胺水平显著升高,蛋氨酸、肌酸、氧化三甲胺、柠檬酸、琥珀酸水平显

著降低,经代谢路径分析表明,卵巢摘除大鼠三羧酸循环(柠檬酸、琥珀酸)、脂肪酸生物合成和氧化(肉毒碱)、蛋氨酸循环(蛋氨酸、肌酸)、肠道菌群(三甲胺、氧化三甲胺)等代谢途径紊乱,其中,组氨酸、肉毒碱的变化与围绝经期肥胖密切相关。

肠道微生物组成和丰度是调节能量代谢、葡萄糖代谢、脂质代谢、炎症和免疫系统的重要因素,近年研究表明,卵巢摘除模型所致的雌激素缺乏,可引起大鼠肠道菌群分布、结构和代谢的紊乱^[31, 34]。Zhang 等^[34]比较了 Wistar 卵巢摘除大鼠和假手术大鼠肠道菌群的差异表明,卵巢摘除组大鼠的硬壁菌门和拟杆菌门的丰度分别显著增加和减少,其比值的升高可能在卵巢摘除诱导的肥胖中起重要作用。Choi 等^[2]对比了卵巢摘除诱导的肥胖与饮食性肥胖肠道微生物群,发现两组模型的微生物组非常相似,但卵巢摘除诱导的肥胖中可能存在细菌-基因的相互作用,有其特异性诊断细菌。

表 1 改善卵巢摘除动物模型诱导的围绝经期综合征症状的部分中药(含天然药物)

Table 1 Some Traditional Chinese Medicine (including natural medicine) for ameliorating the symptoms of PMS induced by ovariectomy animal model			
症状 Symptom	中药(含天然药物) Traditional Chinese Medicine (including natural medicine)	动物 Animal	作用机制 Mechanism
骨质疏松 Osteoporosis	发酵牡蛎	ICR 小鼠 ^[6]	抑制核因子 κ B 受体激活物配体(RANKL)诱导的骨髓巨噬细胞向破骨细胞的分化和 RANKL 介导的骨髓巨噬细胞 IkB α 和 p65 磷酸化,减弱破骨细胞特异性基因诱导的骨吸收
	覆盆子果醋	SD 大鼠 ^[12]	改善卵巢摘除后部分代谢物的紊乱,提高骨密度,降低血清碱性磷酸酶和骨钙素水平
	左归丸	SD 大鼠 ^[36]	调节肾上腺素能受体 β 2 介导的 RANKL/骨保护素信号通路,通过对骨骼的中枢调节而改善骨质量
肥胖 Obesity	多叶姜黄	SD 大鼠 ^[9]	减少卵巢摘除大鼠内脏脂肪组织,并通过抑制脂质合成和促进脂肪酸氧化而发挥降脂作用
	银杏	Wistar 大鼠 ^[37]	刺激下丘脑 5-HT 系统,减少食物摄入量
	贯叶连翘	SD 大鼠 ^[38]	在不刺激子宫组织的情况下,对卵巢摘除动物模型诱导的体重增加、肥胖和胰岛素抵抗有一定的预防作用
学习和记忆下降 Reduced learning and memory	肉苁蓉苯乙醇苷	KM 小鼠 ^[1]	改善性激素紊乱,恢复子宫、胸腺和脾脏功能,改善学习记忆,增强免疫力
	香兰叶和紫色玉米棒	Wistar 大鼠 ^[17]	改善胞外信号调节蛋白激酶表达、胆碱能功能和氧化状态,提高海马神经元密度和空间记忆
	穗花牡荆	Wistar 大鼠 ^[39]	增加海马结构雌激素受体 α 基因表达
认知障碍 Cognitive disorder	五味子素	SD 大鼠 ^[40]	减少海马 NADPH-黄递酶阳性神经元的丢失,增加抗氧化物的活性,改善突触传递
围绝经期综合征 (综合症状) PMS(Syndrome symptom)	啤酒花	SD 大鼠 ^[41]	调节血脂分布和脂肪积累、血清雌激素和骨吸收因子,改善骨质疏松、肥胖、潮热
	魁蒿、益母草、栀子联用	SD 大鼠 ^[42]	增强 PGC-1 α ,改善能量、脂质和葡萄糖代谢的紊乱
	Lannea acida	Wistar 大鼠 ^[43]	提高骨中无机磷和钙的含量,改善骨的显微结构,恢复正常骨矿化

2.5 其他围绝经期综合征症状

Choi 等^[2]研究结果显示,卵巢摘除大鼠血清总胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、甘油三酯、动脉粥样硬化指数和心脏病危险因子均高于假手术组。

3 卵巢摘除动物模型在中医药治疗围绝经期综合征中的应用

治疗围绝经期综合征的现代化学药物有较好的疗效,但表现出较多的副作用和耐药性,如雌激素替代疗法是治疗围绝经期综合征的有效措施,但长期使用雌激素会增加患乳腺癌、卵巢癌和心脑血管疾病的风险^[35]。传统的中医药方法具有副作用小、多途径、多靶点等优势,在治疗围绝经期综合征研究中受到越来越多的重视。

3.1 中药(含天然药物)

研究表明,多种中药可改善卵巢摘除动物模型诱导的围绝经期综合征症状,部分研究结果见表 1。

3.2 中医证候

Liu 等^[5]利用卵巢摘除动物模型模拟中医围绝经期的“潮热”证候,并研究了中药贯叶连翘对该症候的治疗作用。结果显示与空白对照 SD 大鼠相比,卵巢摘除大鼠尾部皮肤温度升高,体重明显增加,肝、肾、脾的脏器指数均显著性升高,与“潮热”证候相似,提示造模成功。

表 2 其它传统中医疗法改善卵巢摘除动物模型诱导的围绝经期综合征症状部分研究结果

Table 2 Some other Traditional Chinese Medicine methods for improving the symptoms of PMS induced by ovariectomy animal model

症状 Symptom	方法 Method	动物 Animal	作用机制 Mechanism
骨质疏松 Osteoporosis	针刺(“大杼”、“肾俞”、“脾俞”)联合人羊膜间充质细胞移植(HAMCs)	Wistar 大鼠 ^[44]	针刺联合 HAMCs 具有较好的协同效应,可调节骨密度和骨钙含量;增加血清骨形成生化指标和 TGF-β1 的 m-RNA 的表达
	电针(“肾俞”、“脾俞”、“三阴交”、“足三里”)	SD 大鼠 ^[45]	上调 Wnt3a 和 β-catenin 的基因和蛋白表达,调节 Wntβ-catenin 信号通路,从而调节骨重建系统的平衡
	艾灸(“关元”、“三阴交”)	SD 大鼠 ^[46]	提高血清中 E ₂ 和 ALP 浓度,上调骨髓间充质干细胞中 ERα mRNA 的表达,增加骨密度和骨强度
围绝经期综合征 (综合症状)	穴位埋线(“肝俞”、“脾俞”、“肾俞”)	SD 大鼠 ^[47]	激活 AMPK 信号通路,促进腺苷酸活化蛋白激酶、乙酰辅酶 A 羧化酶磷酸化,改善脂质代谢紊乱
PMS(Syndrome symptom)	穴位激光照射(“肾俞”)	SD 大鼠 ^[48]	调节脂质过氧化、氧化应激和葡萄糖和氨基酸代谢紊乱

4 展望

围绝经期动物模型有卵巢摘除动物模型、自然衰老动物模型、酒精损伤卵巢动物模型、病症结合模型、加速卵巢衰竭模型等^[49]。卵巢摘除动物模型可诱导多种围绝经期症状,如骨质疏松、神经、精神障碍和肥胖等,且造模时间短,模型成功率高,在围绝经期综合征研究中应用广泛。

但卵巢摘除动物模型与人类围绝经期雌激素水平的变化不同,其雌激素水平在短时间内急剧下降,而人类围绝经期体内的雌激素水平呈逐渐下降趋势,故此动物模型的实验结果可能与围绝经期综合征妇女存在一定差异;此外,大部分采用动物模型的研究聚焦于单个症状的病理机制和药物筛选,由于选取的造模对象、造模时间等不一致,实验结果可能存在一定差异。

中医药如中药及针灸等在应用此动物模型研究治疗围绝经期综合征中显示了一定的优势^[44-48],但其作用机制有待深入探索。另外,中医辩证论治治疗围绝经期综合征^[50]也取得了一定进展,今后可考虑尝试应用此动物模型深入研究其机制。

贯叶连翘的治疗有逆转上述症候至正常水平的趋势。

3.3 其它传统中医疗法

其它传统中医治疗方法包括针刺、艾灸、穴位埋线、穴位激光照射法等,研究显示有一定的改善围绝经期症状的作用^[4, 44-48],部分研究结果见表 2。

参 考 文 献(References)

[1] Tian S, Miao M, Bai M, et al. Phenylethanoid Glycosides of Cistanche on menopausal syndrome model in mice [J]. Saudi Pharm J, 2017, 25(4): 537-547.

[2] Choi S, Hwang YJ, Shin MJ, et al. Difference in the gut microbiome between ovariectomy-induced obesity and diet-induced obesity [J]. J Microbiol Biotechnol, 2017, 27(12): 2228-2236.

[3] Lan YB, Huang YZ, Song Y, et al. Prevalence, severity, and associated factors of menopausal symptoms in middle-aged Chinese women: a community-based cross-sectional study in southeast China [J]. Menopause, 2017, 24(10): 1200-1207.

[4] Feng JL, Wang W, Zhong Y, et al. Acupuncture for perimenopausal depression disorder: A systematic review and meta-analysis protocol [J]. Medicine (Baltimore), 2019, 98(7): e14574.

[5] Puga-Olguín A, Rodríguez-Landa JF, Rovirosa-Hernández MJ, et al. Long-term ovariectomy increases anxiety- and despair-like behaviors associated with lower Fos immunoreactivity in the lateral septal nucleus in rats [J]. Behav Brain Res, 2019, 360: 185-195.

[6] Liu YR, Xiao BK, Yang JY, et al.¹H-NMR and HPLC-MS/MS-based global/targeted metabolomic evaluation of Hypericum perforatum L. intervention for menopause [J]. J Funct Foods, 2015, 17: 722-741.

[7] Sutjarit N, Sueajai J, Boonmuen N, et al. Curcuma comosa,

- reduces visceral adipose tissue and improves dyslipidemia in ovariectomized rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 215: 167–175.
- [8] 侯雪芹, 李悦, 荣翠平, 等. 雌性大鼠去卵巢模型中脑神经内分泌信号异常传导的机理 [J]. *中国实验动物学报*, 2016, 24(1): 80–86.
- Hou XQ, Li Y, Rong CP, et al. Mechanism of abnormal transduction of neuroendocrine signals in the brain of ovariectomized rat [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2016, 24(1): 80–86.
- [9] Ihn HJ, Kim JA, Lim S, et al. Fermented oyster extract prevents ovariectomy-induced bone loss and suppresses osteoclastogenesis [J]. *Nutrients*, 2019, 11(6): pii: E1392.
- [10] Blair JA, Bhatta S, Casadesus G. CNS luteinizing hormone receptor activation rescues ovariectomy-related loss of spatial memory and neuronal plasticity [J]. *Neurobiol Aging*, 2019, 78: 111–120.
- [11] 王小琦, 孙岩, 张洋, 等. 斑马鱼模型在常见骨疾病研究中的应用 [J]. *中国比较医学杂志*, 2017, 27(6): 86–91.
- Wang XQ, Sun Y, Zhang Y, et al. Application of zebrafish models in the research on bone diseases [J]. *Chin J Comp Med*, 2017, 27(6): 86–91.
- [12] Mee L, Hyang K, Digar S, et al. Metabolite profiling reveals the effect of dietary rubus coreanus vinegar on ovariectomy-induced osteoporosis in a rat model [J]. *Molecules*, 2016, 21(2): 149.
- [13] Qi HH, Bao J, An GH, et al. Association between the metabolome and bone mineral density in pre-and post-menopausal Chinese women using GC-MS [J]. *Mol Biosyst*, 2016, 12(7): 2265–2275.
- [14] Chen SY, Yu HT, Kao JP, et al. Consumption of vitamin D2 enhanced mushrooms is associated with improved bone health [J]. *J Nutr Biochem*, 2015, 26(7): 696–703.
- [15] 钟航, 曹参, 杨静, 等. HIF-1 信号通路与绝经后骨质疏松的关系研究 [J]. *四川大学学报(医学版)*, 2017, 48(6): 862–868.
- Zhong H, Cao C, Yang J, et al. Research on relationship of HIF-1 signaling pathway and postmenstrual osteoporosis [J]. *J Sichuan Univ(Med Sci Ed)*, 2017, 48(6): 862–868.
- [16] Collins FL, Stone MD, Turton J, et al. Oestrogen-deficiency induces bone loss by modulating CD14⁺ monocyte and CD4⁺ T cell DR3 expression and serum TL1A levels [J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2019, 20(1): 326.
- [17] Delrobaei F, Fatemi I, Shamsizadeh A, et al. Ascorbic acid attenuates cognitive impairment and brain oxidative stress in ovariectomized mice [J]. *Pharmacol Rep*, 2018, 71(1): 133–138.
- [18] Jintanaporn W, Woranan K, Bhalang S, et al. Functional drink containing the extracts of purple corn cob and pandan leaves, the novel cognitive enhancer, increases spatial memory and hippocampal neuron density through the improvement of extracellular signal regulated protein kinase expression, cholinergic function, and oxidative status in ovariectomized rats [J]. *Rejuvenation Res*, 2018, 21(5): 431–441.
- [19] Serrano-Contreras, José I, García-Pérez, et al. NMR-based pharmacometabonomic analysis of normal rat urine and faeces in response to (±)-venlafaxine treatment [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2016, 123: 82–92.
- [20] Saravi SSS, Arefidoust A, Saeedi Saravi SS, et al. Mammalian target of rapamycin (mTOR)/nitric oxide system possibly modulate antidepressant-like effect of 17 α -ethinyl estradiol in ovariectomized mice [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 89(1): 591–604.
- [21] Ostlund H, Keller E, Hurd YL. Estrogen receptor gene expression in relation to neuropsychiatric disorders [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2003, 1007(1): 54–63.
- [22] Estrada-Camarena E, Carolina López-Rubalcava, Azucena Hernández-Aragón, et al. Long-term ovariectomy modulates the antidepressant-like action of estrogens, but not of antidepressants [J]. *J Psychopharmacol*, 2011, 25(10): 1365–1377.
- [23] Saad MA, El-Sahar AE, Sayed RH, et al. Venlafaxine mitigates depressive-like behavior in ovariectomized rats by activating the EPO/EPOR/JAK2 signaling pathway and increasing the serum estradiol level [J]. *Neurotherapeutics*, 2019, 16(2): 404–415.
- [24] Molendijk ML, Spinhoven P, Polak M, et al. Serum BDNF concentrations as peripheral manifestations of depression: evidence from a systematic review and meta-analyses on 179 associations (N = 9484) [J]. *Mol Psychiatry*, 2014, 19(7): 791–800.
- [25] Saravi SSS, Arefidoust A, Yafian R, et al. 17 α -ethinyl estradiol attenuates depressive-like behavior through GABA A receptor activation/nitric pathway blockade in ovariectomized mice [J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2016, 233(8): 1467–1485.
- [26] Xu YJ, Sheng H, Tang ZP, et al. Inflammation and increased IDO in hippocampus contribute to depression-like behavior induced by estrogen deficiency [J]. *Behav Brain Res*, 2015, 288: 71–78.
- [27] Gogos A, McCarthy M, Walker AJ, et al. Differential effects of chronic 17 β -estradiol treatment on rat behaviours relevant to depression [J]. *J Neuroendocrinol*, 2018, 30(11): e12652.
- [28] Lee JK, Kim WK, Jeon YJ, et al. Antidepressant-like activity of myelophil via attenuation of microglial-mediated neuroinflammation in mice undergoing unpredictable chronic mild stress [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 683.
- [29] Sárvári M, Hrabovszky E, Kalló I, et al. Menopause leads to elevated expression of macrophage-associated genes in the aging frontal cortex: rat and human studies identify strikingly similar changes [J]. *J Neuroinflammation*, 2012, 9(1): 264.
- [30] Gomori A, Ishihara A, Ito M, et al. Blockade of MCH1 receptor signalling ameliorates obesity and related hepatic steatosis in ovariectomized mice [J]. *Br J Pharmacol*, 2007, 151(6): 900–908.
- [31] Sunmin P, Sol KD, Seon KE, et al. Low-dose brain estrogen prevents menopausal syndrome while maintaining the diversity of the gut microbiomes in estrogen-deficient rats [J]. *Am J Physiol*

- Endocrinol Metab, 2018, 315(1): E99-E109.
- [32] Curtis KS, Kelly MC, Enith E, et al. Temporal and site-specific changes in central neuroimmune factors during rapid weight gain after ovariectomy in rats [J]. Neurochem Res, 2018, 43(9): 1802-1813.
- [33] Liu YR, Huang RQ, Xiao BK, et al. ¹H NMR metabolic profiling analysis offers evaluation of Nilestriol treatment in ovariectomized rats [J]. Mol Cell Endocrinol, 2014, 387(1-2): 19-34.
- [34] Zhang ZG, Chen YJ, Xiang LH, et al. Effect of curcumin on the diversity of gut microbiota in ovariectomized rats [J]. Nutrients, 2017, 9(10): pii: E1146.
- [35] Alexander IM. The history of hormone therapy use and recent controversy related to heart disease and breast cancer arising from prevention trial outcomes [J]. J Midwifery Womens Health, 2012, 57(6): 547-557.
- [36] Liu F, Tan F, Tong W, et al. Effect of Zuoguiwan on osteoporosis in ovariectomized rats through RANKL/OPG pathway mediated by β 2AR [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 103: 1052-1060.
- [37] Banin RM, de Andrade IS, Cerutti SM, et al. *Ginkgo biloba* Extract (GbE) stimulates the hypothalamic serotonergic system and attenuates obesity in ovariectomized rats [J]. Front Pharmacol, 2017, 8: 605.
- [38] You MK, Kim DW, Jeong KS, et al. St. John's Wort (*Hypericum perforatum*) stimulates human osteoblastic MG-63 cell proliferation and attenuates trabecular bone loss induced by ovariectomy [J]. Nutr Res Pract, 2015, 9(5): 459-465.
- [39] Allahtavakoli M, Honari N, Pourabolli I, et al. Vitex agnus castus extract improves learning and memory and increases the transcription of estrogen receptor α in hippocampus of ovariectomized rats [J]. Basic Clin Neurosci, 2015, 6(3): 185-192.
- [40] Jiang ZJ, Wang CY, Xie X, et al. Schizandrin ameliorates ovariectomy-induced memory impairment, potentiates neurotransmission and exhibits antioxidant properties [J]. Br J Pharmacol, 2015, 172(10): 2479-2492.
- [41] Ban YH, Yon JM, Cha Y, et al. A hop extract Lifenol® improves postmenopausal overweight, osteoporosis, and hot flash in ovariectomized rats [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2018, 2018: 1-9.
- [42] Yang HJ, Kim MJ, Kwon DY, et al. The combination of *Artemisia princeps* Pamp, *Leonurus japonicas* Houtt, and *Gardenia jasminoides* Ellis fruit attenuates the exacerbation of energy, lipid, and glucose by increasing hepatic PGC-1 α expression in estrogen-deficient rats [J]. BMC Complement Altern Med, 2016, 16(1): 137.
- [43] Oumarou MR, Stéphane Zingue, Bakam BY, et al. *Lannea acida* A. Rich. (Anacardiaceae) ethanol extract exhibits estrogenic effects and prevents bone loss in an ovariectomized rat model of osteoporosis [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2017, 2017(1): 1-16.
- [44] 陈玉敏, 陈涛平, 韩翠玉, 等. 针刺对人羊膜间充质细胞移植治疗去卵巢大鼠骨质疏松的协同效应 [J]. 中国比较医学杂志, 2016, 26(10): 43-49.
- Chen YM, Chen TP, Han CY, et al. Synergistic effect of acupuncture and human amniotic mesenchymal stem cell transplantation on the treatment of osteoporosis in ovariectomized rats [J]. Chin J of Comp Med, 2016, 26(10): 43-49.
- [45] 王亚军, 张来举, 浪万英, 等. 电针对去卵巢大鼠 Wnt3a 和 β -catenin 的基因及蛋白表达的影响 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2019, 25(1): 6-11.
- Wang YJ, Zhang LJ, Lang WY, et al. Effects of electroacupuncture on mRNA and protein expression of Wnt3a and β -catenin in ovariectomized rats [J]. Chin J Osteoporos, 2019, 25(1): 6-11.
- [46] 姚长风, 胡吴斌, 胡玲, 等. 艾灸“关元”“三阴交”对去卵巢大鼠骨形态、代谢及骨髓间充质干细胞 ER α 的影响 [J]. 中国针灸, 2019, 39(3): 287-292.
- Yao CF, Hu WB, Hu L, et al. Effect of moxibustion at “Guanyuan” (CV 4) and “Sanyinjiao” (SP 6) on bone morphology, metabolism and ER α of bone marrow mesenchymal stem cells in the ovariectomized rats [J]. Chin Acup Moxib, 2019, 39(3): 287-292.
- [47] 金颖, 张世超, 海英. 穴位埋线对围绝经期大鼠脂质代谢的影响及机制研究 [J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(3): 593-596.
- Jin Y, Zhang SC, Hai Y, et al. Effect of acupoint catgut-embedding therapy on lipid metabolism and its possible mechanism in perimenopausal rats [J]. Chin Arch Trad Chin Med, 2019, 37(3): 593-596.
- [48] Zhang LM, Wang YL, Xu YX, et al. Metabonomic analysis reveals efficient ameliorating effects of acupoint stimulations on the menopause-caused alterations in mammalian metabolism [J]. Sci Rep, 2014, 4: 3641.
- [49] 苗明三, 田硕, 辛卫云, 等. 围绝经期综合征动物模型制备规范(草案) [J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(3): 996-1000.
- Miao MS, Tian S, Xin WY, et al. Standard (draft) for preparation of perimenopausal syndrome model [J]. Chin J Trad Chin Med Pharm, 2018, 33(3): 996-1000.
- [50] 马堃, 陈燕霞, 董美玲. 补肾活血安神法治疗肾虚血瘀型围绝经期睡眠障碍的临床研究 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(6): 1069-1074.
- Fang K, Chen YX, Dong ML. Clinical efficacy of Bushen Huoxue Anshen therapy in treating perimenopausal sleep disorder with kidney deficiency and blood stasis [J]. Chin J Chin Mat Med, 2019, 44(6): 1069-1074.