

谭薇,王众,代芳芳,等. 子宫肌瘤动物造模的研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(3): 393-398.

Tan W, Wang Z, Dai FF, et al. Advances in animal modeling of uterine fibroids [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2021, 29(3): 393-398.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2021.03.015

子宫肌瘤动物造模的研究进展

谭薇,王众,代芳芳,何娟,邓志敏,程艳香*

(武汉大学人民医院妇产科,武汉 430060)

【摘要】 子宫肌瘤是子宫平滑肌组织增生而形成的良性肿瘤,是女性最常见的肿瘤。目前子宫肌瘤发生的确切病因尚未明确。子宫肌瘤是子宫切除术常见的临床特征,但子宫切除术会严重损害女性的生育力。对于无症状以及有生育需求的女性,药物治疗仍然是最佳选择。因此,需要借助动物模型探寻肌瘤的发病机制并筛选有效的药物服务于临床。

【关键词】 子宫肌瘤;动物模型;大鼠

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2021)03-0393-06

Advances in animal modeling of uterine fibroids

TAN Wei, WANG Zhong, DAI Fangfang, HE Juan, DENG Zhimin, CHENG Yanxiang*

(Department of Obstetrics and Gynecology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China)

Corresponding author: CHENG Yanxiang. E-mail: yanxiangCheng@whu.edu.cn

【Abstract】 Uterine fibroids are benign tumors formed by hyperplasia of uterine smooth muscle tissue, and are the most common tumors in women, but their exact cause has not yet been determined. Hysteromyoma is a common clinical feature of hysterectomy. However, hysterectomy can seriously impair fertility. For asymptomatic women who wish to maintain their reproductive health, medication remains the optimal choice. Therefore, animal models are necessary to explore the pathogenesis of fibroids and to develop effective drugs for clinical application.

【Keywords】 uterine fibroid; animal model; rat

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

子宫肌瘤是女性生殖器官最常见的良性肿瘤,据统计,育龄期的女性发病率可以达到25%^[1]。尽管子宫肌瘤是良性病变,但它引起的异常子宫出血、疼痛、不孕、盆腔包块和盆腔压迫等症状,严重影响女性身心健康^[2]。目前,子宫肌瘤的确切病因尚不清楚,其可能与遗传和表观遗传机制,青春期雌激素暴露有关^[3-4]。临床上主要的治疗方法为手术治疗,所有肌瘤治疗方法中约75%为外科手术切除,尚无有效的药物治疗以减少平滑肌瘤的大小,预防复发^[5]。然而,手术治疗费用较昂贵,且较多

女性惧怕手术,不愿手术,进而延误治疗时机^[6]。因此,迫切需求寻找临床疗效好,副作用小的药物治疗。动物模型作为临床前研究的载体,在药物疗效评判中的发挥着重要的作用,而目前国内外对子宫肌瘤动物模型尚无统一的标准,主要有自发模型,基因工程模型,移植模型和化学诱导模型等。本文就国内外子宫动物造模的研究进展进行梳理,比较分析其机制,模型的优缺点,以期为子宫肌瘤的相关研究提供参考。

【基金项目】 国家自然科学基金项目(81860276),中央高校基本科研业务费专项资金(2042020kf1013)。

Funded by National Natural Science Foundation of China (81860276), Special Funds for Basic Scientific Research Operating Expenses of Central Universities(2042020kf1013)。

【作者简介】 谭薇(1999—),女,研究生,研究方向:射频消融治疗子宫肌瘤和复发性流产。Email: vivitan@whu.edu.cn

【通信作者】 程艳香,女,博士后,主任医师,教授,博士生导师,研究方向:妇科不孕相关疾病研究。Email: yanxiangCheng@whu.edu.cn

1 自发模型

自然界有许多动物可以出现与人类相类似的疾病表现。目前,具有子宫平滑肌瘤自发倾向的动物有 Eker 雌鼠^[7]、鹤鹑^[8]、美国大肚子猪^[9]以及小型宠物猪^[10]等。国外较为公认且应用广泛的主要是 Eker 雌鼠,大约 65%的 Eker 大鼠有结节性硬化症 2 (tuberous sclerosis 2, Tsc2) 抑癌基因的种系突变,其在 12 ~ 16 个月大的时候自发发展成子宫平滑肌瘤^[11]。与人类子宫肌瘤相似,Eker 大鼠肌瘤对雌激素高度敏感,并具有相似的生化 and 表型特征,如表达性类固醇激素受体,高迁移率蛋白 A2 抗体,胰岛素样生长因子失调和参与雷帕霉素靶蛋白调控途径等。此外,原代提取的 Eker 雌鼠肿瘤细胞 (ELT3 细胞),可保留其子宫肌瘤相关表型,这些特性使其广泛作为体外实验研究模型,用于疾病药物疗效的评估^[12]。目前,Eker 大鼠模型广泛用于研究生命早期环境暴露对子宫肌瘤发病率的影响,以及可能的表观遗传调控机制,以建立针对性的预防干预措施,降低子宫肌瘤的发病率^[13-16]。该模型无需任何干预处理,与人类子宫肌瘤具有极其相似的病理改变,但造模时间长,价格昂贵,且 Eker 雌鼠容易患肾癌和肝癌,可能对肌瘤的临床表征产生一定的影响^[17-18]。

2 转基因模型

转基因技术为研究肌瘤的发展以及药物的靶点提供了新的手段。小鼠 Tsc2 基因整体缺失容易导致早期胚胎死亡,而表达由孕激素受体驱动的 Cre 重组酶的 Tsc2 杂交小鼠死亡率低。研究者将敲除 Tsc2 的小鼠 (基因型为 $Tsc2^{fllox/fllox}$) 与表达 Cre 重组酶的小鼠 (基因型为 $PR^{Cre/Cre}$) 杂交得到基因型为 $PR^{Cre/+}/Tsc2^{fllox/+}$ 的小鼠。将这些杂交小鼠与基因型为 $Tsc2^{fllox/fllox}$ 的雌性或者雄性小鼠进行杂交,通过聚合酶链反应技术筛选出基因型为 $PR^{Cre/+}/Tsc2^{fllox/fllox}$ 的小鼠作为实验动物。在 3 ~ 36 周之间处死动物,解剖子宫进行 HE 染色以及免疫组化检查发现,几乎所有的杂交小鼠在 12 周出现子宫肌层的增厚,在 24 周出现子宫肌瘤,这些子宫肌瘤在病理以及生化特征上与人类子宫肌瘤相似^[19]。另一研究者 Kaneko 等^[20]将 $Tsc2^{tm1.1Mjg}$ 小鼠与 $Amhr2^{tm3(cre)Bhr}$ 小鼠杂交,得到了子宫特异性 Tsc2 缺失的小鼠模型 ($Tsc2^{cKO}$),这些小鼠也表现出子宫肌

层的增大,但并未形成肌瘤。由于 Tsc2 主要作用于 mTORC1/S6 信号通路,故 Tsc2 基因敲除小鼠主要用于研究抑制 mTORC1/S6 通路的相关药物的疗效^[20]。

人类介体复合物亚基 12 (mediator complex subunit 12, Med12) 基因体细胞突变与子宫肌瘤的高发生率密切相关,是人类肌瘤病变中检测到的最常见的 DNA 突变。Med12 位于 X 染色体上,参与 RNA 聚合酶 II 复合物的转录调控^[21]。Mittal 等^[22]将 Med12 c.131G > A 错义突变基因整合到常染色体上构建小鼠动物模型,敲除或者不敲除小鼠位于 X 染色体上的自体 Med12 基因,结果表明 Med12 c.131G > A 错义突变体在两种情况下都会引起子宫肌瘤的发生,但在敲除 X 染色体上的 Med12 基因的条件下,小鼠子宫肌瘤成功率达到 80%,病变发生更早,且肌瘤体积更大。转基因模型突破了种系隔离,可以方便进行更广泛的基因研究,去研究一些人类具有而动物不具有的基因^[23]。特征性的敲除和整合基因,可以精确的研究基因在子宫肌瘤发生发展过程中的机制,但转基因模型操作难度大,价格昂贵。此外,人子宫肌瘤的遗传学改变远远不止上述 2 个基因,突变形式也多种多样,因而,仍需继续探索其它的转基因小鼠模型,更好的了解肌瘤的遗传发病机制。

3 移植瘤模型

3.1 组织块移植

随着器官移植的发展,国外逐渐以免疫缺陷动物作为子宫肌瘤的移植模型,常见的移植模型主要由腹膜移植,皮下移植以及肾膜下移植。Corachán 等^[24]将临床上获取的人体子宫肌瘤组织切成 3 ~ 4 mm³ 的片段,移植到 5 周大的雌性非肥胖型糖尿病重症联合免疫缺陷 (severe non-obese diabetes combined with immunodeficiency, NOD/SCID) 的小鼠腹膜中,并在小鼠颈部皮下植入 17 β 雌二醇 (17 β -estradiol) 缓释丸 (每丸 0.36 mg,持续 60 d 被完全吸收),每隔 2 周使用 1 mg/d 的孕酮治疗小鼠 1 周,通过使用 PET/CT 体内检测异种抑制物,最后解剖子宫,卡尺计算肌瘤大小,HE 染色以及免疫组化染色证实小鼠肌瘤造模构建成功。Nair 等^[25]在 NOD-SCID 小鼠背侧做切口切除双侧卵巢,切除后 3 周,使用套管针将临床子宫肌瘤组织样品进行皮下移植,并皮下植入雌二醇缓释丸 (每丸 0.1 mg,持续

60 d 被完全吸收)。Ishikawa 等^[26]在 NOD/SCID 小鼠拥有丰富血液供应的肾包膜下移植入子宫肌瘤组织,结果显示正常子宫肌层组织和子宫肌瘤组织的存活率接近 100%。除了 NOD/SCID 小鼠外, BALB/c 裸鼠也可以作为实验动物。在 BALB/c 裸鼠的背部或者腹部进行临床肌瘤组织块移植,均可造模成功^[27-28]。

由于免疫缺陷小鼠昂贵,对无菌条件要求较为严格,培育困难, Sousa 等^[29]提出通过对 SPF 级 Wistar 大鼠连续给予免疫抑制剂麦考酚酯灌胃两周以构建免疫抑制模型,可显著降低实验成本,且其对手术的耐受性显著强于免疫缺陷鼠。此外,研究比较了腹膜下移植与皮下移植的成功率,结果表明,子宫肌瘤腹膜下移植模型的成功率要高于皮下移植模型,且腹膜下移植比皮下移植更为有效。宋阳等^[30],甄玉花^[31]在此基础上进行改良,于子宫肌瘤移植前 3 d 予以芬吗通灌胃(每日雌激素 0.4 mg/kg,孕激素 2 mg/kg),然后在小鼠腹部做一纵行切口,将临床样品的肌瘤组织缝合至腹膜上,术后继续予以麦考酚酯,芬吗通灌胃,其造模成功率达 90%。人子宫肌瘤异种移植模型保留了人子宫平滑肌瘤的解剖学,组织学和生物学的特征,广泛用于药物的临床前研究,用来评估疗效以及毒理作用,也适用于评估射频消融等介入治疗对肌瘤的疗效。手术移植瘤模型相对于转基因模型操作简单,且造模成功率显著强于其它造模方法,近几年为国内外所推崇。

3.2 细胞移植

组织块移植造模成功率高,且异种移植瘤保留了原组织的组织学特征,但大多需要复杂的手术操作,对小鼠的创伤大。此外,异种组织块移植需要从临床上获取新鲜的肌瘤样品,并非始终可行,且患者的差异和肌瘤的差异都有可能对造模成功率产生影响。而细胞移植操作简单,单一样品来源,皮下注射细胞即可,减少了小鼠的手术损伤。细胞移植方法主要利用 5 ~ 6 周 SPF 级雌性无胸腺裸鼠,皮下注射 17 β 雌二醇缓释丸(1.7 mg,持续 90 d)并在注射 4 d 后,将小鼠麻醉皮下注射 ELT-3 细胞(1×10^7 个),3 ~ 4 周后小鼠每周体内注射荧光素(150 mg/kg),使用非侵入式体内成像系统进行检测,每隔 3 d 用卡尺测量小鼠的肌瘤体积大小,验证异位移植瘤是否构建成功^[32-36]。除皮下移植外,也可以将原代子宫肌瘤细胞移植入切除卵巢的

雌性 NOD/SCID 小鼠的肾囊与肾实质之间,同时皮下植入缓释剂雌二醇加孕酮激素药丸,造模成功率优于皮下移植^[37-38]。由于细胞移植造模成功率较低,且异种移植物生存期较短,一般仅能存活 8 周。Malik 等^[39]就前人的基础对细胞移植培育方式进行改良,由之前的 2D 培育(培养板上培养细胞)转为 3D 培育(将细胞放在类似体内组织支架的细胞外基质蛋白制成的基质中生长,允许细胞附着,迁移增殖与分化),将培养得到的细胞皮下移植到去除卵巢的免疫缺陷小鼠中,构建模型,细胞异种移植物生存时间可以延长至 12 周,且造模成功率 > 90%。细胞移植模型主要用于研究药物对肌瘤平滑肌细胞生长发育的影响,也可评价药物对肌瘤的疗效与毒害作用,常与细胞体外实验结合一起进行研究,但存活周期短以及造模成功率低仍是需要继续解决的问题。

4 诱发模型

普遍认为,子宫肌瘤生长与雌激素过高密切相关,因此,育龄期好发肌瘤,而绝经后女性的子宫肌瘤发病率明显下降,甚至原有的子宫肌瘤也会痊愈。朱焰等^[40]采用去除卵巢后加单一雌激素诱导法构建子宫肌瘤动物模型,麻醉雌性豚鼠后摘取卵巢,术后 20 d,分别皮下注射剂量雌激素每只 50 g(每周 2 次),每只 50 g(每周 3 次),每只 100 g(每周 2 次),每只 100 g(每周 3 次),于实验的第 8、12 和 16 周分别处死动物,观察子宫和肌瘤的形态,并进行组织病理学检测。结果显示,雌激素诱导的剂量与肌瘤发生率呈正相关,而雌激素诱导频率与动物死亡率正相关,其整体造模成功率为 60%。单一的雌激素造模可以密切的观察雌激素在肌瘤发生发展中的作用,但相较于单一的雌激素诱导造模法,雌孕激素联合造模法造模更稳定,成功率更高,更加符合子宫肌瘤发生发展的过程,容易观察到药物的疗效目前国内主要采用雌孕激素联合造模法。

邹小丽等^[41]取未孕的 SPF 级 SD 雌性大鼠,腹腔注射苯甲酸雌二醇 0.0005 mg/g(每天 1 次),连续 25 d 后改为腹腔注射黄体酮注射液 0.004 mg/g(每天 1 次),连续 5 次。造模完成后第 2 天处死大鼠,子宫平滑肌层病理结果显示局部平滑肌增殖活跃,和临床子宫肌瘤病理组织学很相似,造模成功。同样使用 SD 系雌性未孕小鼠进行造模,不同研究者用的剂量也有少许差别。郑冬雪等^[42]采用腹腔

注射苯甲酸雌二醇 0.5 mg/kg(每天 1 次), 4 mg/kg 黄体酮注射液(每周 1 次), 连续 30 d, 最后 5 d 两种激素同时注射的方法成功造模。此外, 还可以通过上午灌胃给与己烯雌酚 1.35 mg/kg, 同时肌注每 2 d 1 mg 黄体酮共 5 周进行短时造模^[43-44]。

相较于短时造模, 长期造模效果更好, 且更符合子宫肌瘤的发生发展过程。徐秋霞^[43]周一、周三及周五给与小鼠灌胃处理(0.167 mg/kg), 另每周日肌注黄体酮注射液每只 1.1 mg, 共 20 周进行长期造模。陈嘉等^[45]对 SD 雌性大鼠进行双侧卵巢切除后, 肌注苯甲酸雌二醇(每只 0.1 mg, 每周 3 次), 第八周开始肌注黄体酮(每只 1 mg, 每周 1 次), 共 11 周造模结束。

除 SD 系小鼠, 常见的还有 Wistar 大鼠模型, 通过对 Wistar 大鼠腹腔注射苯甲酸雌二醇 0.2 mg/kg, 以及黄体酮 1 mg, 连续 7 d, 可制备短时子宫肌瘤大鼠模型^[46]。长期造模主要通过 Wistar 大鼠肌注苯甲酸雌二醇(每只 0.12 mg, 每周 3 次)和黄体酮(每只 1 mg, 每周 1 次), 共 16 周进行造模^[47]。激素诱导模型更符合人肌瘤生长发育的过程, 肌瘤自体生长, 造模方法简单, 价格低廉, 广泛用于药物的临床前研究以及疾病发生发展的病理生理机制。但诱导模型中关于大小鼠类型的选取, 药物的剂量、用法、注射频率以及造模周期没有统一的指标, 且造模成功率一般低于 80%, 因而, 仍需继续探索更有效的激素诱导模型。

5 结语

子宫肌瘤是子宫平滑肌组织增生而形成的良性肿瘤, 其发病率难以准确统计。研究统计, 育龄期妇女的患病率可达 25%, 根据尸体解剖统计, 其发病率可达 50% 以上^[1]。随着时代的发展, 越来越多的女性生育年龄推迟, 有生育要求的子宫肌瘤患者也越来越多, 子宫切除术剥夺了女性的生育能力, 而肌瘤剔除术容易造成盆腔粘连且容易复发, 在一定程度上损害了女性的生育能力。因此, 开发有效的药物治疗对提高患者的生活质量, 减轻患者以及医疗保健的负担至关重要。而动物模型是药物前临床疗效评估不可缺少的部分, 然而, 目前国内关于构建子宫肌瘤动物模型尚无统一标准。

总结国内外子宫肌瘤动物模型发现, 国外主要以 Eker 大鼠和移植瘤模型为主。虽然这些方法一定程度提高了造模的成功率, 但仍有一定的局限

性。Eker 大鼠在国内难以购买, 且价格昂贵, 同时容易自发肾癌, 可能会对肌瘤有所影响, 且长期培育困难, 但在研究环境暴露对肌瘤发病率的影响以及表观遗传调控方面的优势无可替代; 转基因小鼠模型, 操作难度大, 价格极其昂贵, 但转基因模型突破了种系障碍, 适用于深入研究遗传学相关基因改变及通路机制; 单基因突变构建的模型有利于研究药物的精确靶点, 但单纯的单基因突变与临床肌瘤模型可能存在出入; 移植瘤模型需要免疫缺陷动物, 而免疫缺陷动物价格昂贵, 为了避免感染, 培育要求常比较苛刻, 且小鼠对手术的耐受性也不高。相较之下, 近几年提出的使用免疫抑制剂构建大鼠免疫缺陷模型, 降低了实验成本, 提高了大鼠对手术的耐受性, 广泛用于药物的临床前研究, 也适用于射频消融等微创方法疗效的检测。

国内主要采用雌孕激素联合诱导的方法, 采用雌激素单模法和雌孕激素双模法构建动物模型。双模法构建的动物模型子宫肌瘤细胞生长更为活跃, 模型更为稳定, 与子宫肌瘤的发病机制更为吻合, 综合评价优于单模法。目前国内主要以双模法构建动物模型为主, 然而建模中关于药物的剂量、用法、注射频率以及造模周期没有统一的指标。相较于其它造模方法, 雌孕激素联合诱导法肌瘤自体生长, 操作简单, 价格更为低廉, 且长程造模更符合临床子宫肌瘤的发展过程, 在研究疾病的病理生理过程及药物的疗效及毒理作用方面不可替代, 但造模成功率相对其它模型稍低, 造模时间接近于其它方法时长的 2 倍。综上, 每种造模方法对研究肌瘤的发病机制以及评价药物的疗效都提供了帮助, 但皆有利弊, 仍需继续探索新的动物模型服务于临床, 方便研究者们根据每种模型的特点选取合适的方法进行造模, 推进对疾病的认识。

参 考 文 献(References)

- [1] 郎景和. 子宫肌瘤的诊治中国专家共识 [J]. 中华妇产科杂志, 2017, 52(12): 793-800.
Lang JH. Consensus for diagnosis and treatment of uterine myoma [J]. Chin J Obstet Gynecol, 2017, 52(12): 793-800.
- [2] Donnez J, Dolmans MM. Uterine fibroid management: from the present to the future [J]. Hum Reprod Update, 2016, 22(6): 665-686.
- [3] McWilliams MM, Chennathukuzhi VM. Recent advances in uterine fibroid etiology [J]. Semin Reprod Med, 2017, 35(2): 181-189.
- [4] Baranov VS, Osinovskaya NS, Yarmolinskaya MI. Pathogenomics of uterine fibroids development [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20

- (24): 6151.
- [5] Stewart EA, Laughlin TSK, Catherino WH, et al. Uterine fibroids [J]. Nat Rev Dis Primers, 2016, 2(1): 16043.
- [6] Donnez J, Donnez O, Dolmans MM. The current place of medical therapy in uterine fibroid management [J]. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2018, 46: 57–65.
- [7] Elkafas H, Ali M, Elmorsy E, et al. Vitamin D3 ameliorates DNA damage caused by developmental exposure to endocrine disruptors in the uterine myometrial stem cells of Eker rats [J]. Cells, 2020, 9(6): 1459.
- [8] Ozercan IH, Sahin N, Akdemir F, et al. Chemoprevention of fibroid tumors by [–]– epigallocatechin–3–gallate in quail [J]. Nutr Res, 2008, 28(2): 92–97.
- [9] Mozzachio K, Linder K, Dixon D. Uterine smooth muscle tumors in potbellied pigs (sus scrofa) resemble human fibroids; a potential animal model [J]. Toxicol Pathol, 2004, 32(4): 402–407.
- [10] Mozzachio K, Moore AB, Kissling GE, et al. Immunoexpression of steroid hormone receptors and proliferation markers in uterine leiomyoma and normal myometrial tissues from the miniature pig, sus scrofa [J]. Toxicol Pathol, 2016, 44(3): 450–457.
- [11] Halder SK, Sharan C, Al-Hendy A. 1,25-dihydroxyvitamin D3 treatment shrinks uterine leiomyoma tumors in the Eker rat model [J]. Biol Reprod, 2012, 86(4): 116–116.
- [12] Bar JH, Hikri E, Chuderland D, et al. Pigment epithelium derived factor as a novel multi-target treatment for uterine fibroids [J]. Reprod Biomed Online, 2020, 41(2): 335–342.
- [13] Elkafas H, Ali M, Elmorsy E, et al. Vitamin D3 ameliorates DNA damage caused by developmental exposure to endocrine disruptors in the uterine myometrial stem cells of Eker rats [J]. Cells, 2020, 9(6): 1459.
- [14] Prusinski L, Al-Hendy A, Yang Q. Developmental exposure to endocrine disrupting chemicals alters the epigenome; identification of reprogrammed targets [J]. Gynecol Obstet Res, 2016, 3(1): 1–6.
- [15] Yang Q, Diamond MP, Al-Hendy A. Early life adverse environmental exposures increase the risk of uterine fibroid development; role of epigenetic regulation [J]. Front Pharmacol, 2016, 7: 40.
- [16] Prusinski Fernung LE, Yang Q, Sakamuro D, et al. Endocrine disruptor exposure during development increases incidence of uterine fibroids by altering DNA repair in myometrial stem cells [J]. Biol Reprod, 2018, 99(4): 735–748.
- [17] Everitt JI, Wolf DC, Howe SR, et al. Rodent model of reproductive tract leiomyomata. clinical and pathological features [J]. Am J Pathol, 1995, 146(6): 1556–1567.
- [18] Sahin K, Cross B, Sahin N, et al. Lycopene in the prevention of renal cell cancer in the TSC2 mutant Eker rat model [J]. Arch Biochem Biophys, 2015, 572: 36–39.
- [19] Prizant H, Sen A, Light A, et al. Uterine-specific loss of Tsc2 leads to myometrial tumors in both the uterus and lungs [J]. Mol Endocrinol, 2013, 27(9): 1403–1414.
- [20] Kaneko TT, Commandeur AE, Patterson AL, et al. Hyperplasia and fibrosis in mice with conditional loss of the TSC2 tumor suppressor in Mullerian duct mesenchyme-derived myometria [J]. Mol Hum Reprod, 2014, 20(11): 1126–1134.
- [21] El Andaloussi A, Al-Hendy A, Ismail N, et al. Introduction of somatic mutation in MED12 induces Wnt4/ β -catenin and disrupts autophagy in human uterine myometrial cell [J]. Reprod Sci, 2020, 27(3): 823–832.
- [22] Mittal P, Shin YH, Yatsenko SA, et al. Med12 gain-of-function mutation causes leiomyomas and genomic instability [J]. J Clin Invest, 2015, 125(8): 3280–3284.
- [23] 方磊, 乔立超, 顾一帆, 等. 克罗恩病大小鼠动物模型研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(5): 688–694.
- Fang L, Qiao LC, Gu YF, et al. Progress on animal model of Crohn's disease in rats and mice [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2020, 28(5): 688–694.
- [24] Corachán A, Ferrero H, Escrig J, et al. Long-term vitamin D treatment decreases human uterine leiomyoma size in a xenograft animal model [J]. Fertil Steril, 2020, 113(1): 205–216.
- [25] Nair HB, Santhamma B, Dileep KV, et al. EC313-a tissue selective SPRM reduces the growth and proliferation of uterine fibroids in a human uterine fibroid tissue xenograft model [J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 17279.
- [26] Ishikawa H, Ishi K, Serna VA, et al. Progesterone is essential for maintenance and growth of uterine leiomyoma [J]. Endocrinology, 2010, 151(6): 2433–2442.
- [27] Suzuki Y, Ii M, Saito T, et al. Establishment of a novel mouse xenograft model of human uterine leiomyoma [J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 8872.
- [28] Ohh MH, Kim SJ, Han JK, et al. Effects of herbal medicine on human uterine tumor-bearing nude mice [J]. J Intercult Ethnopharmacol, 2016, 5(4): 422–426.
- [29] Sousa WB, Garcia JB, Nogueira NJ, et al. Xenotransplantation of uterine leiomyoma in Wistar rats: a pilot study [J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2015, 190: 71–75.
- [30] 宋阳, 甄玉花, 关永格, 等. 大鼠子宫肌瘤组织移植瘤模型的建立 [J]. 中国实验动物学报, 2018, 26(1): 91–94.
- Song Y, Zhen YH, Guang YG, et al. Establishment of a rat model of transplanted uterine fibroids [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2018, 26(1): 91–94.
- [31] 甄玉花. 基于 Wnt/ β -catenin 通路探讨橘荔散结片对大鼠子宫肌瘤移植瘤的干预机制 [D]. 广州: 广州中医药大学; 2018.
- Zhen YH. Exploration to the intervention mechanism of juli sanjie tablets on rats with uterine fibroids transplanted tumor based on Wnt/ β -catenin pathway [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine; 2018.
- [32] Zhang D, Al-Hendy M, Richard DG, et al. Green tea extract inhibits proliferation of uterine leiomyoma cells *in vitro* and in nude mice [J]. Am J Obstet Gynecol, 2010, 202(3): 289.
- [33] Halder SK, Sharan C, Al-Hendy O, et al. Paricalcitol, a vitamin D receptor activator, inhibits tumor formation in a murine model

- of uterine fibroids [J]. *Reprod Sci*, 2014, 21(9): 1108-1119.
- [34] Bar-Joseph H, Hikri E, Chuderland D, et al. Pigment epithelium derived factor as a novel multi-target treatment for uterine fibroids [J]. *Reprod Biomed Online*, 2020, 41(2): 335-342.
- [35] Chen HY, Lin PH, Shih YH, et al. Natural antioxidant resveratrol suppresses uterine fibroid cell growth and extracellular matrix formation *in vitro* and *in vivo* [J]. *Antioxidants*, 2019, 8(4): 99.
- [36] Abdelaziz M, Sherif L, ElKhiary M, et al. Targeted adenoviral vector demonstrates enhanced efficacy for *in vivo* gene therapy of uterine leiomyoma [J]. *Reprod Sci*, 2016, 23(4): 464-474.
- [37] Serna VA, Kurita T. Patient-derived xenograft model for uterine leiomyoma by sub-renal capsule grafting [J]. *J Biol Methods*, 2018, 5(2): e91.
- [38] Koohestani F, Qiang W, MacNeill AL, et al. Halofuginone suppresses growth of human uterine leiomyoma cells in a mouse xenograft model [J]. *Hum Reprod*, 2016, 31(7): 1540-1551.
- [39] Malik M, Britten J, Catherino WH. Catherino, development and validation of hormonal impact of a mouse xenograft model for human uterine leiomyoma [J]. *Reprod Sci*, 2020, 27(6): 1304-1317.
- [40] 朱焰, 邱小燕, 吴建辉, 等. 子宫肌瘤动物模型的建立 [J]. *中国药理学通报*, 2006, 22(3): 374-378.
- Zhu Y, Qiu XY, Wu JH, et al. Establishment of an animal model of uterine fibroids [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2006, 22(3): 374-378.
- [41] 邹小丽, 李冬华. 从细胞外基质成分变化研究理冲汤对子宫肌瘤模型大鼠的影响 [J]. *环球中医药*, 2018, 11(8): 1177-1181.
- Zou XL, Li DH. Research on the effects of Lichong decoction on uterine leiomyoma in rats from the composition changes of extracellular matrix [J]. *Global Tradit Chin Med*, 2018, 11(8): 1177-1181.
- [42] 郑冬雪, 刘津源, 程冉, 等. 桂枝茯苓丸加味对子宫肌瘤模型大鼠的影响 [J]. *环球中医药*, 2019, 12(5): 655-659.
- Zheng DX, Liu JY, Cheng Y, et al. Study on the effect of Guizhi Fuling pill on the uterine fibroid model of rat [J]. *Global Tradit Chin Med*, 2019, 12(5): 655-659.
- [43] 徐秋霞. 子宫肌瘤模型制备及三棱-莪术组分配伍干预机制研究 [D]. 成都: 成都中医药大学; 2017.
- Xu QX. Study on the uterine leiomyoma model preparation and the intervention mechanism of Sanleng-Ezhu component compatibility [D]. Chengdu: Chengdu University of TCM; 2017.
- [44] 李瑶. 三棱-莪术组分配伍抑制大鼠子宫肌瘤成纤维细胞活化机制研究 [D]. 成都: 成都中医药大学; 2019.
- Li Y. Study on the mechanism of the inhibition of fibroblast activation in rat with uterine leiomyoma by Sangleng-Ezhu component compatibility [D]. Chengdu: Chengdu University of TCM; 2019.
- [45] 陈嘉, 赵绪韬, 顾丰华, 等. 鳖甲煎丸对子宫肌瘤模型大鼠血清激素水平及子宫组织病理改变的影响 [J]. *世界临床药物*, 2015, 36(4): 243-250.
- Chen J, Zhao XT, Gu FH, et al. Effects of Biejiajianwan on serum hormone level and the pathologic change of uterus' uterine myoma [J]. *World Clin Drug*, 2015, 36(4): 243-250.
- [46] 王雪丹, 王培培, 孙健, 等. 植物性雌激素对子宫肌瘤模型大鼠血清 NOS、TNF- α 、IL-2 水平及子宫平滑肌厚度的影响研究 [J]. *中国生化药物杂志*, 2014, 34(9): 137-139.
- Wang XD, Wang PP, Sun J, et al. Study effect of phytoestrogens on serum NOS, TNF- α , IL-2 levels and thickness of uterine smooth muscle in uterine fibroids model rats [J]. *Chin J Biochem Pharm*, 2014, 34(9): 137-139.
- [47] 范华农, 龚义凤. 桂枝茯苓胶囊对模型大鼠子宫肌瘤中孕激素受体及子宫平滑肌细胞的影响 [J]. *安徽医药*, 2019, 23(5): 849-852.
- Fang HN, Gong YF. Guizhi Fuling capsule on progesterone receptor and uterine leiomyoma effect on vascular smooth muscle cells in model rats [J]. *Anhui Med Pharm J*, 2019, 23(5): 849-852.

[收稿日期] 2020-11-11