

雌性侏儒症大鼠繁殖性能初探

焦淑凡, 徐龙妹, 华征宇, 姚菊芳

(上海交通大学医学院附属仁济医院, 上海 200127)

[摘要] 目的 初步探讨自发侏儒症 Wistar 大鼠 (spontaneous dwarfism Wistar rat, SDWR) 的繁殖性能及其低下的原因。方法 SDWR 大鼠组和 Wistar 大鼠对照组分别选 12 周龄雌鼠及雄鼠各 50 只, 按 1 ♀: 1 ♂ 进行交配, 测定 SDWR、Wistar 大鼠第 1~4 胎妊娠率、窝产仔数、初生窝重、离乳率、离乳重; 选取 8 周龄雌性 SDWR 大鼠和 5 周龄雌性 Wistar 大鼠各 20 只, 阴道脱落细胞涂片法评估两组大鼠性成熟期及动情周期; 6~8 周龄雌性 SDWR 及 Wistar 大鼠各 20 只, 分别采用 200 U/kg、300 U/kg、400 U/kg 剂量的孕马血清促性腺激素 + 人绒毛膜促性腺激素腹腔注射进行超排卵实验, 比较促排卵效果; 6~8 周龄 Wistar、SDWR 及 SDWR 超排卵组各 20 只, 通过 HE 染色分析比较卵巢组织形态改变。结果 SDWR 组 1~4 胎妊娠率、窝产仔数、初生窝重、离乳重及离乳率显著低于 Wistar 组 ($P < 0.05$); SDWR 组性成熟 $[(12.15 \pm 0.81)$ 周]比 Wistar $[(8.05 \pm 0.76)$ 周]明显推迟; Wistar 组保持 4~5 d 规律的动情周期, 而 SDWR 出现动情周期延长及紊乱, 7~8 d 一个周期, 动情期缩短, 动情间期延长; 超排结果显示: SDWR 组卵细胞数量均显著少于 Wistar 组 ($P < 0.01$)。卵巢组织 HE 染色结果显示, Wistar 组卵巢各级卵泡生长活跃, 颗粒细胞及黄体结构正常, 而 SDWR 组卵巢总卵泡及各级卵泡数量均明显减少, 卵巢皮质纤维化, 颗粒细胞排列紊乱。结论 侏儒症 SDWR 大鼠繁殖率低下可能与性成熟晚、动情周期延长及紊乱、卵巢功能减退有关。

[关键词] 侏儒症大鼠; 繁殖性能; 动情周期; 卵巢功能

[中图分类号] Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2021)01-0040-06

Preliminary Probing for Reproductive Performance in Female Dwarfism Rats

JIAO Shufan, XU Longmei, HUA Zhengyu, YAO Jufang

(Renji Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200127, China)

Correspondence to: YAO Jufang, E-mail: yaoshirley@163.com

[Abstract] **Objective** To probe the causes of low reproductive performance in spontaneous dwarfism Wistar rats (SDWR). **Methods** A Wistar rat control group and a SDWR group both included 50 female and 50 male rats aged 12 weeks respectively, and were mated 1 : 1 (male to female); the pregnancy rate, litter size, litter birth weight, weaning rate and weaning weight of the SDWR and Wistar rats were measured from the first parity to the fourth. Twenty female SDWR aged 8 weeks and 20 female Wistar rats aged 5 weeks were selected respectively to evaluate puberty and estrous cycle by vaginal cytology. Twenty female SDWR and 20 female Wistar rats aged 6-8 weeks were respectively injected intraperitoneally with 200 U/kg, 300 U/kg and 400 U/kg of pregnant mare serum gonadotropin (PMSG) plus human chorionic gonadotropin (hCG) for superovulation, and the ovulation induction effects. Twenty Wistar, 20 SDWR and 20 SDWR superovulation rats aged 6-8 weeks were compared in morphological changes of ovarian tissue by HE staining. **Results** The pregnancy rate, litter size, litter birth weight, weaning weight and weaning rate of the first parity to the fourth of the SDWR group were significantly lower than those of the Wistar group ($P < 0.05$). In the SDWR group, sexual maturation $[(12.15 \pm 0.81)$ weeks] was significantly delayed compared

[基金项目] 上海市科学技术委员会科研计划项目(18140900301)

[作者简介] 焦淑凡(1986—), 女, 实习研究员, 主要从事实验动物和动物实验管理和研究。E-mail: jiaoshufan@163.com

[通信作者] 姚菊芳(1964—), 女, 副主任技师, 主要从事实验动物和动物实验管理和研究。E-mail: yaoshirley@163.com

with the Wistar group [(8.05 ± 0.76) weeks]. The Wistar group maintained a regular estrous cycle of 4-5 days, while the SDWR group showed an extended and disordered estrous cycle of 7-8 days, shortened estrous and extended metestrus. The results of superovulation test showed that the number of eggs in the SDWR group was significantly lower than that in the Wistar group ($P < 0.01$). The results of HE staining of ovarian tissue showed that in the Wistar group, follicles at all levels were growing actively, and granular cells and corpus luteum structure were normal; while in the SDWR group, the number of total ovarian follicles and follicles at all levels were significantly reduced, and granular cells was disarranged. **Conclusion** The low reproductive rate of SDWR may be related to delayed sexual maturity, prolonged and disordered estrous cycle, and ovarian dysfunction.

[Key words] Dwarfism rats; Reproductive performance; Estrous cycle; Ovarian dysfunction

本课题组在 Wistar 大鼠长期的繁育过程中偶然发现与同龄、同性别个体相比体型显著矮小的大鼠，经“全同胞兄妹交配”培育成近交品系，并将其命名为 SDWR，即自发性侏儒症 Wistar 大鼠 (spontaneous dwarfism Wistar rat)^[1]。至 2020 年 9 月，SDWR 大鼠已稳定连续近交达 34 代。在针对 SDWR 大鼠的长期研究过程中发现，与 Wistar 大鼠相比，侏儒症大鼠产仔数、窝重和离乳率均明显降低，并伴随一定比例的不育现象，说明 SDWR 存在生育下降的问题。近年来，不孕不育患者呈逐渐上升的趋势，成为社会关注的焦点，其治疗也是生殖医学的重点和难点。卵巢功能衰退是临床常见导致生育能力下降的原因之一，其病因复杂，与遗传、感染、代谢、免疫、环境、手术、药物和心理等多种因素有关^[2-3]。笔者推测 SDWR 繁殖率低下可能与卵巢功能有密切关联。本文通过探索 SDWR 大鼠低繁殖率的原因，期望对人类生育力低及不孕不育的研究和治疗提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SDWR 大鼠选自本课题组培育第 30 代的侏儒症大鼠 (SDWR 组)。正常封闭群 Wistar 大鼠 (作为对照组) 购自上海斯莱克实验动物有限责任公司 [SCXK (沪) 2017-0005]。所有大鼠饲养于上海交通大学医学院附属仁济医院屏障设施 +IVC [SYXK (沪) 2016-0009]。

1.2 药物、试剂与仪器

孕马血清促性腺激素 (pregnant mare serum gonadotrophin, PMSG) (宁波第二激素厂)，

批号 S18080，1 000 U 冻干粉；人绒毛膜促性腺激素 (human chorionic gonadotrophin, hCG) (丽珠集团丽珠制药厂)，批号 171113，2 000 U 冻干粉；M2 培养液和透明质酸酶 (美国 Sigma 公司)；HE 染色试剂盒 (北京索宝生物科技有限公司)。石蜡包埋机 (EG1150)、石蜡切片机 (RM2235)、体视显微镜 (DMi8) 和正置生物显微镜 (DM2500) 均购自德国 Leica 公司。

1.3 检测方法

1.3.1 繁殖性能的比较

选择 12 周龄 SDWR 及 Wistar 雌鼠、雄鼠各 50 只进行繁殖实验。按 1 ♀ : 1 ♂ 长期同居，确定妊娠时将雌性孕鼠分笼饲养，统计 SDWR 及 Wistar 大鼠 1~4 胎繁殖情况。通过妊娠率、产仔率、初生窝重、离乳重、离乳率比较分析二者繁殖性能。

1.3.2 性成熟期及动情期观察

选择 SDWR 及 Wistar 雌鼠各 20 只，其中 SDWR 大鼠 8 周龄 (繁育过程观察其性成熟在 12 周左右)，Wistar 大鼠 5 周龄 (性成熟在 6~8 周左右)，用于性成熟期及动情周期的观察。在每日 8:00、20:00，分别做阴道脱落细胞涂片，根据涂片中的细胞形态，判断大鼠所处的性周期阶段，连续观察出现 2 个完整的动情周期。正常雌性大鼠的动情周期为 4~5 d，分为动情前期、动情期、动情后期、动情间期。当第一次出现完整的动情周期，并观察到外阴口变大且伴随红肿、湿润时，可判定为性成熟。阴道脱落细胞涂片方法：用生理盐水 (0.9% NaCl 溶液) 湿润的棉签置入阴道内 1 cm，轻柔旋转 1 圈，取出准备好生理盐水的载玻片，将棉签上脱落细胞均匀地涂抹于载玻片，75% 乙醇溶液固定，HE 染色，盖玻片封固，光学显微镜下观察动情周期^[4]。

1.3.3 超排卵效果观察

选择6~8周龄SDWR及Wistar雌鼠各20只。实验前分别用PBS将PMSG和hCG稀释至200 U/mL, 分别用200 U/kg、300 U/kg、400 U/kg剂量的PMSG+hCG进行腹腔注射(超排卵组)。PMSG注射48 h后注射hCG, hCG注射后24 h, 用3.5%水合氯醛1 mL/100g腹腔注射麻醉大鼠。酒精棉球消毒腹部, 打开腹腔找到输卵管, 用眼科剪将输卵管取出, 置于含M2培养液的培养皿中。于正置显微镜下找到输卵管膨大部位, 用显微镊子将膨大部撕开, 这时卵母细胞团会自动滑出。用口吸管将卵母细胞团移至透明质酸酶的培养皿中进行消化, 在显微镜下观察卵母细胞团表面颗粒细胞消化情况。当卵母细胞与颗粒细胞发生分离时, 即刻用口吸管将卵母细胞移至新鲜M2培养液中轻柔冲洗6遍。收集卵母细胞至新鲜M2培养液中, 显微镜下计数卵母细胞数量, 比较SDWR与Wistar大鼠的促排卵效果。

1.3.4 卵巢组织形态观察

选择6~8周龄雌鼠, 对照组、SDWR组及

SDWR超排卵组(300 U/kg, PMSG+hCG)各20只, 将各组大鼠卵巢组织置于质量分数为4%的多聚甲醛溶液中固定24 h后, 进行脱水, 透明, 石蜡包埋, 切片(5 μ m)。然后将切片放入60 $^{\circ}$ C烘箱中烤3 h, 脱蜡水化, 流水冲洗1 min, 苏木精染色10 min, 流水冲洗1 min, 伊红染色约1 min, 乙醇溶液梯度脱水, 中性树脂封固, 光学显微镜下观察卵巢组织形态。

1.4 统计学分析

应用SPSS 21.0软件进行统计学分析。结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用独立样本 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 繁殖性能比较

结果显示, 1~4胎SDWR组妊娠率、产仔数量、初生窝重、离乳重及离乳率均显著低于对照组Wistar大鼠, 差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$) (表1)。

表1 SDWR与Wistar大鼠繁殖情况比较

Table 1 Comparison of reproductive performance between SDWR and Wistar rats

大鼠品系	项目	胎次			
		1	2	3	4
Wistar	妊娠率/%	92.6	94.1	96.4	97.3
	窝产仔数/只	11.7 $\pm$ 1.6	12.1 $\pm$ 2.8	11.7 $\pm$ 1.6	11.0 $\pm$ 1.6
	初生窝重/g	63.6 $\pm$ 8.9	64.1 $\pm$ 4.5	54.6 $\pm$ 6.0	56.8 $\pm$ 7.7
	离乳重/g	55.1 $\pm$ 4.8	57.5 $\pm$ 4.8	55.8 $\pm$ 6.0	57.1 $\pm$ 8.0
	离乳率/%	96.5	96.8	95.7	97.7
SDWR	妊娠率/%	60.2**	70.5*	66.4**	39.1**
	窝产仔数/只	3.2 $\pm$ 1.0**	4.3 $\pm$ 1.2**	4.0 $\pm$ 1.3**	3.5 $\pm$ 1.2**
	初生窝重/g	21.5 $\pm$ 5.6**	24.8 $\pm$ 2.3*	24.2 $\pm$ 3.8**	21.9 $\pm$ 5.4**
	离乳重/g	19.5 $\pm$ 3.7**	19.6 $\pm$ 3.0	19.7 $\pm$ 2.7**	20.5 $\pm$ 3.0**
	离乳率/%	57.6**	67.5**	61.1**	59.5**

注: SDWR即自发侏儒症Wistar大鼠; 与Wistar大鼠比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

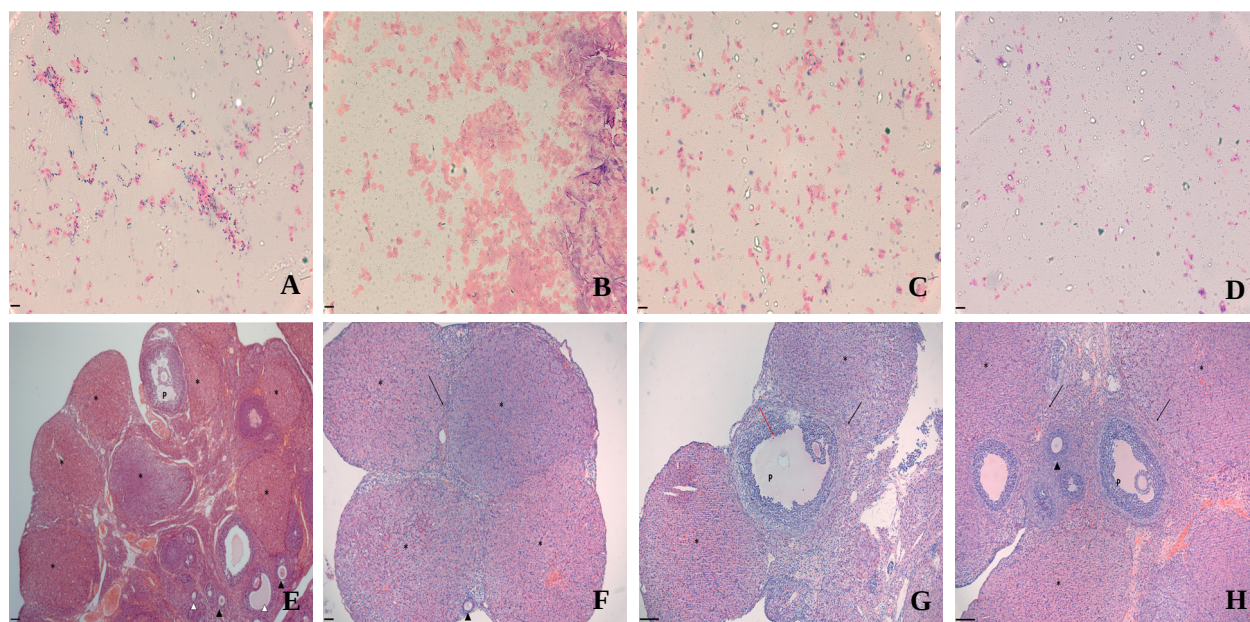
2.2 性成熟期及动情周期比较

阴道脱落细胞涂片观察动情周期结果显示, SDWR和Wistar大鼠均出现完整的动情周期, 对照组Wistar大鼠出现完整动情周期在(8.05 $\pm$ 0.76)周龄, 而SDWR大鼠在(12.15 $\pm$ 0.81)周龄, 说明SDWR大鼠性成熟时间与Wistar大鼠相比明显推迟($P < 0.01$)。

涂片观察可见, 动情前期以膨大有核上皮细胞为主, 可见少量白细胞及无核角化上皮细胞(图1A); 动情期以大量的无核角化上皮细胞为主, 可聚集成堆(图1B); 动情后期白细胞、无核角化上皮细胞和有核上皮细胞均可见(图1C); 动情间期细胞总数较少, 以白细胞为主, 可见少量角化上皮细胞及有核上皮细胞(图

1D)。另外,实验发现对照组 Wistar 大鼠一个规律的动情周期需要 4~5 d;而 SDWR 大鼠一个

动情周期约 7~8 d,且动情期缩短,动情间期延长,提示 SDWR 组大鼠动情周期延长和紊乱。



注: A, 动情前期; B, 动情期; C, 动情后期; D, 动情间期。A~D 图中比例尺为 50 μm 。E, Wistar 组; F~G, SDWR 组; H, SDWR 超排卵组; *, 黄体; $\blacktriangle$, 初级卵泡; $\triangle$, 次级卵泡; P, 窦状卵泡; 红色箭头, 颗粒细胞层排列紊乱; 黑色箭头, 卵巢皮质纤维化。H~E 图中比例尺大小为 200 μm 。

图 1 阴道脱落细胞涂片染色结果 (A~D) 和各组卵巢组织学观察 (H~E)

Figure 1 The results of Gram staining of the rat vaginal smears (A-D) and morphological observation of the ovarian tissue in each group (H-E)

2.3 超排卵效果比较

超排卵结果显示, 200 U/kg、300 U/kg、400 U/kg 的 PMSG+hCG 在 SDWR 大鼠中均获得极低的超排效果。200 U/kg、300 U/kg 和 400 U/kg PMSG+hCG 注射后 SDWR 大鼠平均排卵数量分别为 (1.0 ± 1.4) 个、 (1.2 ± 1.62) 个和 (1.6 ± 1.5) 个, 显著低于对照组 Wistar 大鼠的 (42.8 ± 5.0) 个、 (42.2 ± 4.5) 个和 (40.4 ± 4.7) 个。

2.4 卵巢组织形态学观察

对照组 Wistar 大鼠可见生长活跃的各级卵泡, 颗粒细胞层排列整齐, 黄体数量多, 发育良好 (图 1E); SDWR 组大鼠卵巢中未见初级卵泡、次级卵泡, 窦状卵泡黄体数量较对照组 Wistar 大鼠明显减少, 卵巢皮质发生纤维化, 并且颗粒细胞排列紊乱, 提示其可能存在颗粒细胞功能受损, 从而导致卵子发育障碍 (图 1F、

1G)。采用 300 U/kg 的 PMSG+hCG 注射 SDWR 大鼠后, SDWR 超排卵组大鼠卵巢内的各级生长卵泡没有明显增加 (图 1H), 黄体数量较对照组 Wistar 大鼠仍减少, 提示 SDWR 大鼠对 PMSG+hCG 可能不敏感。

3 讨论

本课题在长期研究过程中发现, SDWR 大鼠繁殖力低下, 为探索其原因展开了本研究。通过分析 SDWR 和 Wistar 大鼠繁殖性能发现, Wistar 大鼠 1~4 胎平均窝产仔数 12~14 只, 离乳重 45~50 g, 与文献报道一致^[5]; 而 SDWR 大鼠第 1~4 胎的妊娠率、窝产仔数量、初生窝重、离乳重及离乳率均显著低于 Wistar 大鼠, 说明雌性 SDWR 大鼠繁殖性能比 Wistar 大鼠低下。动情周期检测结果显示, SDWR 大鼠性成熟周龄比

Wistar 大鼠明显推迟, 出现动情周期延长及紊乱。大鼠的动情周期可以间接反映卵巢功能^[6]。因此, 本研究结果提示 SDWR 大鼠卵巢功能可能发生改变。

排卵数量是影响生育力的重要因素。有研究表明, 约 27% 的不孕症由排卵障碍引起^[7]。通过 200 U/kg、300 U/kg、400 U/kg PMSG +hCG 超排卵实验发现, 3 种剂量促排卵效果无明显差异, 结果显示 6~8 周龄对照组 Wistar 大鼠获得良好超排卵效果, 而 SDWR 大鼠极难获取数目较多的卵母细胞, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。为了进一步验证, 作者也曾选取不同厂家的 PMSG (舒生, 批号 180716, 1000 IU) 和 hCG (艾力生, 批号 B190303) 进行实验, 得到同样的超排结果。临床超排卵不敏感的现象称为卵巢低反应 (poor ovarian response, POR)^[8]。SDWR 大鼠繁殖性能测定结果说明, SDWR 大鼠可以自然进行繁育, 未取得良好超排效果可能与激素剂量、用药时间、SDWR 大鼠的动情周期等多因素有关, 有待后续进一步探讨。

目前, 人类卵巢早衰发病率呈上升趋势, 病因不明, 该病可能是导致生育功能减退及不孕不育的重要原因^[9-10]。为了解 SDWR 大鼠卵巢功能对繁殖率的影响, 本研究对 SDWR 大鼠卵巢组织进行病理切片染色, 观察卵巢组织结构及各级卵泡发育状态, 结果显示, SDWR 大鼠窦状及各级卵泡极少见, 卵巢颗粒细胞排列紊乱, 出现卵巢皮质纤维化, 呈现卵巢早衰表现, 提示 SDWR 大鼠卵巢功能损伤及卵巢低反应可能是导致繁殖率低下的原因之一。常见卵巢早衰模型有放化疗药物造模法、免疫损伤造模法、半乳糖代谢造模法、基因敲除造模法等^[11-12], 不同的造模方法根据其独特性适用于不同的实验研究, 具有一定局限性。本研究发现 SDWR 大鼠自身存在卵巢功能低下现象, 因此有可能通过 SDWR 大鼠建立一个适用于多种病因研究的天然卵巢早衰模型。

不孕不育已逐渐成为我国已婚人群的重要疾病之一, 约 7%~15% 的育龄夫妻受其困扰^[13]。据世界卫生组织预测, 不孕不育可能会成为人类继肿瘤、心脑血管疾病之后的第三大顽疾。辅助生殖技术 (assisted reproductive technology,

ART), 是治疗不孕不育的主要手段。尽管 ART 在治疗不孕不育取得显著进展, 但是 POR 始终是其面临的难点和挑战^[14-15]。ART 在体外受精的超控制性促排卵过程中大约有 9%~24% 的患者发生 POR^[16], 尤其在 ≥ 40 岁的高龄女性中发生率超过 50%^[17], 而 POR 具体发病机制尚不明确。目前临床上常用激素替代疗法治疗卵巢早衰, 但可能会引起乳腺癌、心脏病和中风等严重不良反应^[18]。因此, 本实验可能具有临床研究意义, 培育的侏儒症大鼠有望作为研究卵巢早衰及卵巢低反应的天然模型, 为改善卵巢功能及提高生育力研究和治疗提供理论依据。

最近研究揭示, 微 RNA 与卵巢基因表达^[19]、颗粒细胞的发育、卵泡刺激素的分泌有关^[20]。miR-27b、miR-190、miR-151、miR-672、miR-29a 和 miR-144 表达^[21]、BNC1 基因缺失^[22]、COMT 基因 rs4680 位点 A 等位基因及 CpG-8 和 CpG-10 甲基化水平升高都与 POF 的发生发展密切相关^[23]。微 RNA 表达、基因缺失和甲基化是否在 SDWR 大鼠卵巢功能减退中起到重要调节作用, 有待进一步研究。

致谢: 本课题实施和完成阶段得到了上海市计划生育研究所黄先亮医生、上海交通大学医学院附属仁济医院生殖中心厉心愉医生的支持, 谨致谢意。

参考文献:

- [1] 姚菊芳, 华征宇, 王斌, 等. 近交系侏儒大鼠的培育及其主要生物学特性测定[J]. 实验动物与比较医学, 2016, 36(4): 295-300, 306. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2016.04.010.
- [2] TORREALDAY S, KODAMAN P, PAL L. Premature Ovarian Insufficiency: an update on recent advances in understanding and management[J]. F1000Res, 2017, 6: 2069. DOI:10.12688/f1000research.11948.1.
- [3] SVETLANA V, MIOMIRA I, MILINA T, et al. Premature ovarian failure[J]. Srp Arh Celok Lek, 2012, 140(11/12): 806-811. DOI:10.2298/sarh1212806v.
- [4] ANGELIDIS G, DAFIPOULOS K, MESSINI C I, et al. The emerging roles of adiponectin in female reproductive system-associated disorders and pregnancy[J]. Reprod Sci, 2013, 20(8):872-881. DOI:10.1177/1933719112468954.
- [5] 胡樱, 杨斐, 施映霞, 等. SPF级Wistar大鼠生长发育及繁

- 殖性能的主要指标测定[J]. 实验动物科学与管理, 2003, 20(1): 1-3. DOI:10.3969/j.issn.1006-6179.2003.01.001.
- [6] 罗满林, 顾为望. 实验动物学[M]. 全松, 陈雷宁译. 北京: 中国农业出版社, 2002: 145-149.
- [7] DICKEY R P, BRINDEN P R, PYRZAK R. 宫腔内人工授精与促排卵[M]. 全松, 陈雷宁, 译. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 19-30.
- [8] 郑晨思, 郝鸣昭, 许焕芳, 等. 卵巢低反应的诊断标准及中医治疗方法研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(3):1368-1372.
- [9] 孔知音. 卵巢功能早衰致不孕症的治疗现状及进展研究[J]. 实用妇科内分泌电子杂志, 2019, 6(34):10-11. DOI: 10.16484/j.cnki.issn2095-8803.2019.34.006.
- [10] 董若曦, 朱小丹, 樊伯珍, 等. 不同剂量顺铂腹腔注射建立大鼠化疗损伤性卵巢早衰模型[J]. 实验动物与比较医学, 2020, 40(2):104-109. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2020.02.003.
- [11] 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. DOI:10.11669/j.2015.05.002.
- [12] GOSWAMI D, ARIF A, SAXENA A, et al. Idiopathic primary ovarian insufficiency: A study of serial hormonal profiles to assess ovarian follicular activity[J]. Hum Reprod, 2011, 26(8): 2218-2225. DOI:10.1093/humrep/der174.
- [13] 谢幸, 苟文丽. 妇产科学[M]. 8版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 369.
- [14] GIANNELOU P, SIMOPOULOU M, GRIGORIADIS S, et al. The conundrum of poor ovarian response: From diagnosis to treatment[J]. Diagnostics, 2020, 10(9):687. DOI:10.3390/diagnostics10090687.
- [15] DRAKOPOULOS P, BARDHI E, BOUDRY L, et al. Update on the management of poor ovarian response in IVF: The shift from Bologna criteria to the *Poseidon* concept [J]. Ther Adv Reprod Health, 2020, 14: 2633494120941480. DOI:10.1177/2633494120941480.
- [16] POLYZOS N P, DEVROEY P. A systematic review of randomized trials for the treatment of poor ovarian responders: Is there any light at the end of the tunnel?[J]. Fertil Steril, 2011, 96(5):1058-1061.e7. DOI:10.1016/j.fertnstert.2011.09.048.
- [17] REVELLI A, BIASONI V, GENNARELLI G, et al. IVF results in patients with very low serum AMH are significantly affected by chronological age[J]. J Assist Reprod Genet, 2016, 33(5):603-609. DOI:10.1007/s10815-016-0675-7.
- [18] ZHANG J H, HUANG X X, LIU Y F, et al. A comparison of the effects of Chinese non-pharmaceutical therapies for premature ovarian failure[J]. Medicine, 2020, 99(26): e20958. DOI:10.1097/md.00000000000020958.
- [19] 宋莹, 吕春梅, 王娇, 等. MicroRNA 与卵巢功能关系的研究进展[J]. 解剖科学进展, 2017, 23(6): 645-648. DOI: 10.16695/j.cnki.1006-2947.2017.06.026.
- [20] 鄢雯影, 李蓉, 汤彪. MicroRNAs 在卵巢功能中的调节作用[J]. 中国妇产科临床杂志, 2020, 21(5):558-560. DOI: 10.13390/j.issn.1672-1861.2020.05.045.
- [21] KUANG H X, HAN D W, XIE J M, et al. Profiling of differentially expressed microRNAs in premature ovarian failure in an animal model[J]. Gynecol Endocrinol, 2014, 30(1):57-61. DOI:10.3109/09513590.2013.850659.
- [22] CHEN Z, CHEN H, YUAN K, et al. A 15q25.2 microdeletion phenotype for premature ovarian failure in a Chinese girl: A case report and review of literature[J]. BMC Med Genomics, 2020, 13(1):126. DOI:10.1186/s12920-020-00787-w.
- [23] 陈丽平, 刘丹, 梁辉标, 等. 儿茶酚-O-甲基转移酶基因功能区单核苷酸多态性及甲基化水平与卵巢早衰的相关性[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2019, 40(3):432-436. DOI:10.7652/yxb201903017.

(收稿日期: 2020-10-15 修回日期: 2020-12-15)

致谢本刊支持单位

广东省实验动物监测所

苏州大学动物实验中心

上海西普尔-必凯实验动物有限公司

上海交通大学医学院实验动物科学部

广东省医学实验动物中心

上海斯莱克实验动物有限责任公司

中国科学院上海药物研究所实验动物室

上海市实验动物质量监督检验站

南方医科大学实验动物中心

大连医科大学实验动物中心

新疆维吾尔自治区疾病预防控制中心

扬州大学比较医学中心

浙江省实验动物中心

河南省实验动物中心

南通大学实验动物中心

复旦大学药学院

广州中医药大学实验动物中心

西安交通大学医学院实验动物中心

山东省实验动物中心

浙江中医药大学动物实验研究中心

海军军医大学实验动物中心

哈尔滨兽医研究所

杭州师范大学实验动物中心

华南农业大学实验动物中心

(排名不分先后)

《实验动物与比较医学》编辑部