

卵巢早衰动物模型构建方法及比较研究进展

李虹璇¹, 李思慧¹, 冯嘉欣¹, 唐 凯², 卢 蕊¹, 韩丝银¹

(1. 广西中医药大学基础医学院, 南宁 530200; 2. 广西中医药大学骨伤学院, 南宁 530200)

[摘要] 目前卵巢早衰动物模型的构建因素主要包括医源、免疫、遗传、代谢、环境等, 根据这些因素构建的动物模型各有特点。本文综述了不同因素在构建卵巢早衰动物模型方面的作用和效果, 以期

为不同需要的研究者提供有用的建模信息。

[关键词] 卵巢早衰; 动物模型; 因素; 比较

[中图分类号] R711.75; R-332; Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2021)06-0505-10

Construction Methods and Comparative Research Progress of Premature Ovarian Failure Animal Models

LI Hongxuan¹, LI Sihui¹, FENG Jiaxin¹, TANG Kai², LU Rui¹, HAN Siyin¹

(1. Basic Medical College, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China; 2. College of Bone Trauma, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China)

Correspondence to: HAN Siyin, E-mail: 1715252639@qq.com

[Abstract] Currently, the factors associated with premature ovarian failure animal models mainly include iatrogenic, immune, genetic, metabolic, and environmental factors. The animal models constructed based on these factors have their own characteristics. Here the construction methods and comparison of animal models of premature ovarian failure have been reviewed to provide useful modeling information for researchers with different needs.

[Key words] Premature ovarian failure; Animal model; Factor; Comparison

卵巢早衰 (premature ovarian failure, POF) 是指卵巢功能提前衰退, 表现为40岁之前的妇女出现非生理性的月经停止, 常伴有潮热、盗汗、阴道干涩等绝经期及不孕症状, 以卵泡刺激素 (follicle stimulating hormone, FSH) 和黄体生成素 (luteinizing hormone, LH) 升高及雌二醇 (estradiol, E₂) 下降为主要特征^[1]。近年来, POF妇女因受医源、免疫、遗传、代谢及环境等多种因素的影响, 发病人群日渐低龄化, 但由于临床病理机制尚不明确, 该病已成为生殖研究领域的难点和热点。

人体POF的临床研究获取卵巢组织较为困难, 学者们一直在寻找理想可靠的方法构建POF动物模型, 以深入研究和探讨卵巢早衰的发生、

发展并寻找治疗方案。本文通过查阅分析国内外有关POF动物建模方法的最新研究文献, 从实验动物、造模方法、剂量、结果及成模时间等方面直观比较分析各因素引发POF动物模型的构建方法及优缺点, 以期不同需要的研究者提供有用的建模信息。

1 不同因素引发POF动物模型

1.1 医源因素

1.1.1 化疗和放疗

癌症是世界范围内的主要公共卫生问题。据报告, 2014年中国约有169万女性被诊断为癌症, 其中排名前五的癌症种类中2.78%的患者年

[基金项目] 2020年国家级大学生创新创业训练计划项目(202010600030)

[作者简介] 李虹璇(2001—), 女, 本科在读, 中医学专业。E-mail: 3385874884@qq.com

[通信作者] 韩丝银(1991—), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 海洋药物的研究和产品开发。E-mail: 1715252639@qq.com

龄在30岁以下,12.25%的患者年龄在30~44岁之间^[2]。化疗和放疗是临床治疗恶性肿瘤与防止肿瘤复发的主要方法,但患者接受治疗后会出现严重的生殖系统损伤等不良反应,化疗与放疗引起的卵巢早衰占POF患病人群的25%,成为引发女性生殖疾病的重要原因^[3-5]。

顺铂是临床上常用的化疗药物,有较强的细胞毒性,在杀死肿瘤细胞的同时也对正常细胞造成损伤。顺铂诱导细胞损伤的主要机制是损伤DNA,其次也有氧化应激。顺铂对育龄期女性的生殖功能产生影响,主要是通过破坏卵巢功能导致POF。顺铂是构建大鼠POF模型常用的药物^[6]。董若曦等^[7]表明Wistar大鼠腹腔注射4 mg/kg顺铂,间隔一周再次注射建立的化疗损伤性POF大鼠模型效果最好。张丽娟等^[8]表明SD大鼠腹腔注射6 mg/kg顺铂,间隔一周再次注射建立化疗损伤性POF大鼠模型的效果更为理想。

环磷酰胺也是常用的化疗药物之一,拥有高度卵巢毒性,可造成性腺组织永久性损伤。卵巢是环磷酰胺雌性生殖毒性作用的主要靶向器官^[9-10]。张娟等^[11]表明50 mg/kg环磷酰胺连续腹腔注射家兔2 d是诱导家兔POF模型的最佳方式。刘慧莹等^[12]比较单药和联合用药建立化疗所致Wistar大鼠POF模型的效果,结果表明一次性腹腔注射环磷酰胺120 mg/kg联合皮内注射白消安12 mg/kg造模法是一种较好的选择。李慧等^[13]用120 mg/kg环磷酰胺与7.5 mg/kg紫杉醇分别建立Wistar大鼠POF模型,结果表明环磷酰胺处理后大鼠的血清学表现与临床卵巢早衰患者相一致,更适用于大鼠建模。

放疗对卵巢组织的放射性损伤也是常见的不良反应,主要引起卵巢内各级卵泡凋亡,卵巢储备严重减退。贺宇恒等^[14]给予C57BL/6小鼠单次全身辐射4 Gy的X射线,7~14 d建立小鼠POF模型。化疗和放疗致POF的具体造模方法比较见表1。

1.1.2 药物

雷公藤具有抗炎、抗菌、免疫抑制、抗肿瘤等作用,其不同制剂已广泛应用于临床;但是雷公藤具有生殖毒性,可导致POF^[15]。郝娟等^[16]给Wistar大鼠连续灌胃50 mg/kg雷公藤多甙14 d,建立了POF大鼠模型。Fu等^[17]给SD大鼠连续

灌胃40 mg/kg雷公藤多甙70 d,建立了POF大鼠模型。陈淑萍等^[18]给SD大鼠连续灌胃50 mg/kg雷公藤多甙14 d,也可以建立POF大鼠模型。郜然然^[19]给SD大鼠连续灌胃400 μ g/kg雷公藤甲素60 d建立POF大鼠模型。同时,高慧等^[20]发现雷公藤多甙建立的POF模型较环磷酰胺更为理想,SD大鼠卵巢受损的病理结果与人类一致。

氢化可的松是最早使用并且公认的肾阳虚证造模药物^[21]。王凯等^[22]给SD大鼠连续下肢肌注32 mg/kg氢化可的松12 d,可建立肾阳虚证POF大鼠模型。药物致POF的具体造模方法比较见表2。

1.2 免疫因素

据统计发现,5%~30%的POF患者自身免疫功能出现异常^[23]。Tong等^[24]将刚出生2~4 d的幼鼠麻醉后摘除两片胸腺,手术后90%的14日龄幼鼠出现了自身免疫性POF。林建华等^[25]以粗制的卵巢抗原免疫小鼠,每3周加强免疫1次,交配2周后无小鼠受孕。Smith等^[26]首次报告抗透明带(zona pellucida, ZP)抗体与POF相关。Bagavant等^[27]发现,动物体内存在高浓度的ZP抗体,会导致雌性鼠的生育能力下降。Horejsi等^[28]发现,原发性闭经患者中38.5%呈ZP抗体阳性,而在继发性闭经患者中有23.3%呈ZP抗体阳性。田海清等^[29]给BALB/c小鼠双后脚掌处皮下注射75 μ g纯化抗透明带3多肽(pZP3),建立自身免疫性POF模型,免疫后6周即可达到良好的建模效果。

然而,王佩娟等^[30]认为,给出生3 d以内的小鼠行胸腺切除术建立模型的手术难度大,小鼠的死亡率高,目前难以推广应用;而用pZP3注射小鼠免疫建立POF模型,其表现与人类POF相似,且成模率比较高,有利于进行临床诊断学和治疗学方面的研究。免疫因素致POF的具体造模方法比较见表3。

1.3 遗传因素

Krishna等^[31]从POF小鼠模型中发现一些突变基因,如*INHa*、*FOXL2*、*MSH5*、*DMC1*、*ATM*和*BMP15*。而基因敲除模型已成为研究基因结构功能和建立人类疾病模型的一种常规实验方法。目前,国内外学者已通过敲除小鼠*PTEN*、*GDF9*、*Cx37*、*Bcl2*、*FOXL2*基因建立了POF模

表1 化疗和放疗致POF的具体造模方法比较

化疗/ 放疗	动物	成模 时间	造模方法及剂量	造模结果	优缺点	参考 文献
顺铂	8周龄雌性 Wistar大鼠	21 d	腹腔注射4 mg/kg 顺铂, 间隔一周再次注射,诱 导化疗损伤性POF的 造模效果更好	大鼠动情周期明显紊乱, 体质量明显下降,血清 AMH水平也有明显降 低;大鼠卵巢各级卵泡 数均有显著减少	成模理想,卵巢组织的病理 学改变与临床病理更为 一致;需操作熟练,以防实验 动物死亡以及漏液	[7]
顺铂	190~210 g雌 性SD大鼠	21 d	腹腔注射6 mg/kg 顺铂, 间隔一周再次注射,诱 导化疗损伤性POF的 造模效果更为理想	动情周期紊乱、延长,卵泡 减少,E ₂ 水平不同程度 降低,FSH、LH水平升高	成功率高,模型稳定,资源 易得,费用低廉,可作为探 讨卵巢早衰发病机制的动 物模型;但需要慎重选用 剂量,也需操作熟练	[8]
环磷 酰胺	普通级未交 配雌性日本 大耳白兔, 5月龄	2 d	50 mg/kg 剂量连续注射 2 d 是建立环磷酰胺诱 导家兔卵巢早衰模型的 最佳造模方式	体质量无明显变化;原始 卵泡和初级卵泡异常率 均升高;E ₂ 值持续下降, 第0天明显高于第35天; 细胞凋亡主要发生在卵 泡中的颗粒细胞上	家兔原始卵泡卵母细胞的 大小与人类接近,卵巢组 织中卵泡数量丰富,更便 于观察环磷酰胺对卵巢的 作用;与鼠类相比,家兔重 复采血较方便,可尽量避 免处死动物,符合动物伦 理学的要求,但花费相对 多,并对实验操作者有技 术要求	[11]
环磷 酰胺 联合 白消 安	9~10周龄雌 性Wistar大 鼠	15 d	一次性腹腔注射120 mg/kg 环磷酰胺,联合皮内注射 白消安12 mg/kg	总卵泡数、次级和窦状卵 泡数明显减少,闭锁卵泡 增多,卵巢间质出现纤维 化,卵巢功能损伤;卵巢 质量降低;FSH含量升 高,E ₂ 含量下降	成模时间短、简便易行、成 功率高、死亡率低;为一次 性造模方法,用药剂量大, 对实验动物质量以及实验 操作者要求较高	[12]
X射 线	8周龄雌性 C57BL/6 小鼠	7~14 d	RS2000系列生物学辐照仪 进行单次全身4 Gy辐照, 剂量率1.2 Gy/min,距放射 源距离大约50 cm	双侧卵巢湿重显著下降, 血清FSH水平显著升 高,卵巢内原始卵泡数、 生长卵泡数均显著下降; 肝脏、脾脏、子宫内膜均 出现了相应的组织学改 变	构建方法简单,造模时间 短,剂量稳定均匀,死亡率 低,可重复性高,为探讨放 疗致POF的病理表现和发 病机制提供了较可靠的实 验动物模型;但是实验器 材要求高,且临床适用性 不高	[14]

注:AMH为抗苗勒管激素(anti-Müllerian hormone),E₂为雌二醇(estradiol),FSH为促卵泡生成激素(follicle stimulating hormone),LH促黄体生成素(luteinizing hormone)。

型^[32-36]。本方法有助于人们了解某特定基因对POF的作用,但一种模型仅能研究1~2个基因的作用。由于POF的发生并非仅几种基因改变所

致,因此该方法对于POF病因学的研究有所局限,并且操作难度大、成本高^[37]。基因敲除致POF的具体造模方法比较见表4。

表2 药物致POF的造模方法比较

Table 2 Modeling methods for premature ovarian failure (POF) induced by drugs

药物	动物	成模时间	造模方法及剂量	造模结果	优缺点	参考文献
雷公藤多甙	9~10周龄雌性Wistar大鼠	14 d	每日给予50 mg/kg雷公藤多甙片悬浮液灌胃14 d	大鼠的动情周期表现为不同形式的紊乱;体质量较对照组显著增高,血清E ₂ 水平显著降低,血清LH水平显著增高,FSH增高,但差异无统计学意义;子宫内膜厚度和卵巢面积显著降低;单位卵巢面积内卵泡数和黄体数明显减少,闭锁卵泡数明显增多	造模方法简便,成功率高	[16]
雷公藤多甙	12周龄雌性SD大鼠	70 d	以40 mg/kg/d的剂量灌胃雷公藤多甙70 d	进行阴道脱落细胞检查,发情周期紊乱即表明POF模型建立	易于操作,但成模时间长	[17]
雷公藤多苷	8周龄雌性SD大鼠	14 d	雷公藤多苷片(50 mg/kg)灌胃14 d	大鼠呈现不同程度的动情周期紊乱,表现为延长与停滞。血清AMH、E ₂ 水平显著降低,LH、FSH水平显著升高;卵巢组织萎缩明显,HE染色可见各级卵泡减少,卵泡结构破坏,黄体少且发育欠佳	操作时间短,成功率高,简便易行,致病途径与人类相同,而且符合模型卵巢组织萎缩,卵泡、黄体、卵泡颗粒细胞数量减少,炎细胞浸润等特点	[18]
雷公藤甲素	7~8周龄雌性SD大鼠	60 d	连续灌胃400 μg/kg雷公藤甲素60 d	血清中FSH、LH增加,AMH下降。卵巢体积明显缩小,成熟卵泡少见,闭锁卵泡增加,颗粒细胞层排列紊乱且数目减少,黄体数极少;大鼠卵巢湿重和卵巢指数下降;大鼠黄体数减少,窦状卵泡颗粒细胞层厚度减少;大鼠卵巢组织中p-PI3K、p-AKT、p-mTOR的蛋白水平显著下降	造模效果好,符合临床病理特征,成功率高,但造模所需时间长	[19]
氢化可的松	8~9周龄雌性SD大鼠	12 d	每日上午后下肢肌注氢化可的松32 mg/kg,一天一次,连续12 d	大鼠动情周期紊乱,阴道涂片显示动情间期持续或延长;卵巢指数下降;血清E ₂ 下降,FSH、LH升高,FSH/LH升高	是具有中医特色的症候造模方法,为之后其他症候的卵巢早衰模型提供了一定参考。且造模方法较为简便,但缺乏重复性,造模可行性有待考证	[21]

注:AMH为抗苗勒管激素(anti-Müllerian hormone),E₂为雌二醇(estradiol),FSH为促卵泡生成激素(follicle stimulating hormone),LH促黄体生成素(luteinizing hormone),p-PI3K为磷酸化磷脂酰肌醇3-激酶(phospho-phosphatidylinositol 3-kinase)、p-AKT为磷酸化蛋白激酶B(phospho-protein kinase B)、mTOR为磷酸化哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(phospho-mammalian target of rapamycin)。

1.4 代谢因素

陈静等^[38]研究发现,半乳糖血症能够引起成年女性原发或继发性闭经,并导致POF。李洁等^[39]给昆明小鼠35%半乳糖食物70 d可建立

POF模型。苏先芝等^[40]给小鼠颈背部皮下连续注射200 mg/kg D-半乳糖6周,也可以建立POF模型。但是有研究发现,D-半乳糖注射诱导模型的小鼠血清AMH和雄激素水平均增高,这与卵

表3 免疫因素致POF的造模方法比较

Table 3 Modeling methods for premature ovarian failure (POF) induced by immune factors

免疫因素	动物	成模时间	造模方法及剂量	造模结果	优缺点	参考文献
胸腺切除	2~4日龄雌性B6AF小鼠	10~12 d	腹腔注射戊巴比妥钠(1 mg/20 g)麻醉小鼠,切开胸部皮肤和筋膜,从其左侧第二肋间(心脏上方)切开肌肉打开胸腔,用两只(弯头)小镊子夹出两片白色胸腺,立即缝合	小鼠血清中E ₂ 水平显著降低,FSH和LH水平显著升高,各阶段生长卵泡数目减少,卵母细胞和透明带形态异常,闭锁卵泡数增多;符合POF造模标准	造模时间短,适用于免疫学相关的POF生物医学研究;但手术难度大,小鼠死亡率高	[24]
粗制卵巢抗原	8~10周龄雌性BALB/c小鼠	21 d	小鼠卵巢上清液加入等量不完全弗氏佐剂和卡介苗(10 mg/mL),碾磨成乳化状,在小鼠腹部及足底多点皮下注射,总量为0.2 mL/只(含卵巢组织15 mg/只),同时小鼠尾静脉注射百日咳疫苗0.1 mL (10×10 ¹⁰ /L)。每3周加强免疫1次,剂量和方法与首次免疫相同	小鼠血清中E ₂ 含量下降,FSH含量上升,免疫后的卵巢中生长卵泡和成熟卵泡数明显减少,卵母细胞及透明带形态异常或消失,闭锁卵泡数增多,黄体数明显减少;符合POF造模标准	成模时间较短;但方法较繁琐,且与人类POF不完全相符	[25]
皮下注射75 μg pZP3	4周龄雌性BALB/c小鼠	42 d	配制透明带多肽,使其浓度达到1 mmol/L,充分混匀。将完全弗氏佐剂和ZP3多肽液在冰上进行混合,制成油包水的状态。将混匀液注射到模型组小鼠的一侧后脚掌的皮下组织,共注射0.1 mL,每天观察小鼠的动情周期	小鼠血清中E ₂ 含量下降,FSH含量上升,卵巢体积减小,子宫萎缩,小鼠原始卵泡、初级及次级卵泡数均显著降低,闭锁卵泡数量增加;符合POF造模标准	小鼠表现与人类POF相似,且成模率比较高;但造模时间长,方法较繁琐	[29]

注:ZP为透明带(zona pellucida),pZP3为透明带3多肽,E₂为雌二醇(estradiol),FSH为促卵泡生成激素(follicle stimulating hormone),LH促黄体生成素(luteinizing hormone)。

巢衰老特征不符,因此提示代谢因素所致POF模型不能模拟卵巢衰老的真正病理生理条件^[41]。代谢因素致POF的具体造模方法比较见表5。

1.5 环境因素

随着现代工业的发展,人们居住条件改善,室内装修和各种消费品的使用使室内化工原料超标,导致POF发病增多。杨秀萍等^[42]给Wistar大鼠连续灌胃5 mL的20%乙醇12 d建立了POF模型。苏先芝等^[40]给SPF级雌性ICR小鼠连续腹腔注射160 mg/kg去氧乙烯基环己烯15 d,可建立POF模型。苏晓华等^[43]给昆明小鼠连续吸入10 mg/m³密度的气态甲醛14 d也可以建立POF模型。环境因素致POF的具体造模方法比较见表6。

1.6 其他因素

应激会引起全身性的内分泌反应,细胞反应进一步影响功能代谢。连晓媛等^[44]给Wistar大鼠连续15 d制动应激,结果显示可诱导卵巢功能紊乱和退化,效果较明显。有学者采用从日本引进的DahIS高血压大鼠,研究发现卵巢是受高血压影响的靶器官,随高血压病情加重,POF现象更明显,故认为DahIS高血压大鼠可作为POF动物模型^[45]。

2 不同因素引发POF动物模型的比较

2.1 各因素建模特点比较

各因素引发POF的造模方法侧重于不同的病因学,最适用于各自病因POF的发病机

表4 基因敲除致POF的造模方法比较

Table 4 Modeling methods for premature ovarian failure (POF) induced by gene knockout

敲除基因	动物	造模结果	优缺点	参考文献
PTEN	6~8周龄雌性小鼠	血清FSH和LH水平明显增高,卵巢体积减小,原始卵泡数减少,闭锁卵泡数增多	小鼠原始卵泡最快死亡且血清中FSH和LH水平明显升高,模型效果显著	[32]
GDF9	6~8周龄雌性昆明小鼠	血清FSH和LH水平明显增高,卵巢发育不良,原始及初级卵泡尚能形成,初级卵泡发育受阻,卵母细胞生长及透明带形成正常	卵母细胞形成正常,对小鼠卵巢功能性伤害较低;但卵母细胞分化受限,且人类GDF-9基因突变与POF发病是否相关目前尚有争议	[33]
Cx37	6周龄雌性SD大鼠	小鼠血清中E ₂ 水平显著降低,LH含量增高,闭锁卵泡数增多,卵泡内卵母细胞,黄体数量明显下降	卵母细胞和原始卵泡停止发育或死亡,效果显著;但是连接蛋白在人类卵巢功能衰退中的作用尚未明确	[34]
Bcl2	5~6周龄雌性C57BL/6小鼠	血清FSH和LH水平明显增高,卵巢原始卵泡数减少,闭锁卵泡和黄体数量增多,颗粒细胞排列稀疏	卵母细胞和原始卵泡停止发育或死亡,效果显著,但造模方式有待进一步研究	[35]
FOXL2	5~6周龄雌性C57BL/6小鼠	血清FSH和LH水平明显增高,卵巢颗粒细胞停止发育,卵母细胞闭锁,卵巢无正常的卵母细胞和卵泡	小鼠原始卵泡快速死亡,血清中FSH和LH水平显著升高,模型实验可靠	[36]

注: E₂为雌二醇(estradiol), FSH为促卵泡生成激素(follicle stimulating hormone), LH促黄体生成素(luteinizing hormone)。

表5 代谢因素致POF的造模方法比较

Table 5 Modeling methods for premature ovarian failure (POF) caused by metabolic factors

代谢因素	动物	成模时间	造模方法及剂量	造模结果	优缺点	参考文献
半乳糖食物	8~12周龄雌性昆明小鼠	70 d	喂食35%的半乳糖食物丸70 d,具体成分有65.5%碳水化合物(含半乳糖35%)、21%蛋白质、5.5%脂肪、7%复合矿物质、1%复合维生素	利用35%半乳糖代谢作用可建立POF动物模型,血清E ₂ 水平降低,FSH水平升高,成熟卵母细胞明显减少,体内激素水平改变,排卵功能下降,卵巢组织发生病理改变,类似POF患者临床改变	操作简单,无需特殊仪器,有效可行,但成模时间相对较长	[39]
D-半乳糖注射	6~8周龄雌性小鼠	42 d	小鼠颈背部每天皮下注射200 mg/kg D-半乳糖,连续给药6周	模型小鼠体重质量增长缓慢,卵巢指数降低,E ₂ 明显下降,FSH明显升高,卵巢形态学表现为卵巢空泡化明显,闭锁卵泡数增多,提示成功构建POF小鼠模型	简便易行,对仪器要求不高;但小鼠血清AMH、雄激素均增高,与卵巢衰老特征不符,因此不能模拟卵巢衰老的真正病理生理条件	[40-41]

制和治疗研究,有着各自的独特性和局限性。进一步比较分析各因素引发POF的致病机制、适用造模方向及造模优缺点,见表7。在实际研究中,应根据研究目的和要求来选

择相似因素和病因所建的POF动物模型,同时综合考虑造模成功率、所需时间和成本等,以便顺利地进行POF发生、发展机制和临床治疗的研究。

表6 环境因素致POF的造模方法比较

Table 6 Modeling methods for premature ovarian failure (POF) caused by environmental factors						
代谢因素	动物	成模时间	造模方法及剂量	造模结果	优缺点	参考文献
去氧 乙烯 基环 己烯 乙醇	8周龄雌性 ICR小鼠	15 d	皮下注射 160 mg/kg 去氧乙烯基环己烯, 每日一次, 连续	卵巢湿重及卵巢指数减低, AMH 和 E ₂ 值显著减低, FSH 值和 FSH/LH 升高	操作方法的简单, 卵巢功能产生持久损害, 引起 POF 的临床症状符合人类 POF 的生理变化过程	[40]
		15 d				
乙醇	成年雌性 Wistar 大鼠	12 d	20% 乙醇溶液每日每次 5 mL 定时(8:00—10:00)灌胃, 连续 12 d	75% 的大鼠动情周期紊乱	操作简单, 实验物品易得, 但相关文献较少, 实验机制有待进一步研究	[42]
气态 甲醛	8周龄雌性 昆明小鼠	14 d	将小鼠置于玻璃染毒缸内, 采用动态吸入形式进行气态甲醛染毒, 6 h/d, 连续 14 d。甲醛经 WH-2 型小型智能环境气候舱配制后, 持续稳定地输出, 密度为 10 mg/m ³	小鼠动情周期延长, 小鼠血清 E ₂ 水平明显降低, FSH、LH 水平升高, 卵巢萎缩, 卵巢脏系数降低, 卵巢周围及卵巢内部血液供应均减少, 卵巢内窦前卵泡、窦状卵泡、排卵前卵泡数均明显减少, 而闭锁卵泡数明显增多	操作简单可靠, 与环境污染所致 POF 致病因素相近, 内分泌学改变与人类 POF 相似, 可作为一种可行的造模方法	[43]

表7 各因素致POF的造模比较

Table 7 Comparative analysis of premature ovarian failure (POF) models induced by various factors			
致病因素	致病机制	适用造模方向	优缺点
医源性	化疗、放疗和药物具有生殖毒性, 使生殖系统内分泌失调	研究化疗、放疗和药物引起 POF 的发病机制和治疗	造模方法较为简便易得, 与临床病理结果贴近
免疫	全身免疫反应累及卵巢的后果	研究免疫性疾病引起 POF 的发病机制和治疗	一般来说, 造模方法较为复杂, 时间较长, 成功率不理想
基因	基因缺失或变异导致机体基因调控失常, 致使卵巢病变	研究遗传或基因突变引起 POF 的发病机制和治疗	能明确某一基因对 POF 的作用, 但成本较高, 难以推广
代谢	代谢性疾病引起的卵巢病变, 主要是半乳糖血症	研究代谢性疾病引起 POF 的发病机制和治疗, 主要是半乳糖血症	半乳糖血症在临床上发病率较低, 缺乏实用的临床意义
环境	外界环境中一些化学物质刺激, 进入全身血液循环, 毒素积累引起卵巢功能障碍	研究环境污染引起 POF 的发病机制和治疗	操作较为简单, 符合临床改变; 但是研究尚少, 需要更多关注
其他	应激或高血压引起的卵巢功能障碍	研究一些不常见发病因素引起 POF 的发病机制和治疗	研究者甚少, 有待于进一步研究

2.2 各因素建模效果比较

尽管不同因素引发 POF 的机制不尽相同, 但最终都应包括相关激素变化和卵巢损伤。周宇等^[46]比较 3 mg/kg 顺铂用药和卵巢切除法分别诱导的 ICR 小鼠 POF 模型, 结果表明小鼠卵巢

切除模型能够更好地模拟 POF 的症状, 且对学习记忆的影响较小, 更适用于研究药物对 POF 模型小鼠脑功能的影响。周慧等^[47]分别给予 SD 大鼠 120 mg/kg 环磷酰胺、35% 半乳糖食物和 12 mg/kg 白消安, 结果表明环磷酰胺和

半乳糖能够建立POF模型,但是白消安未能成功建模。Zhang等^[48]分别给予ICR小鼠、KM19小鼠和SD大鼠120 mg/kg环磷酰胺、12 mg/kg白消安、3或4 mg/kg顺铂、160 mg/kg去氧乙烯基环己烯、35%半乳糖颗粒和50 mg/kg雷公藤多苷,结果表明环磷酰胺、顺铂、去氧乙烯基环己烯、半乳糖都能够建立POF模型,但是白消安和雷公藤多苷没有明显的建模效果。

3 总结

近十年,学者们已有相关综述介绍了医源、免疫、遗传、环境等因素构建的POF动物模型^[37, 49-50]。本文进一步整理了文献数据,全面分析比较了各种因素引发的多种POF动物模型的构建方法,期望为不同需要的研究者提供直观有用的POF建模信息。整体上,肿瘤和自身免疫性疾病在临床上发病率高,社会关注度高,国内外研究化疗药物和自身免疫性疾病导致的POF模型最多,特别是环磷酰胺、顺铂、pZP3具有代表性,可作为POF发病机制和治疗研究的常用动物模型。此外,近年来环境化学物质不断使POF发病率上升,目前去氧乙烯基环己烯造模最稳定;但是有关化学物质引发POF模型的研究尚少,需要更多关注。

参考文献:

- [1] 曹金玲. 卵巢早衰的中西医治疗研究进展[J]. 中医临床研究, 2018, 10(11):144-148.
- [2] YANG L, ZHENG R, WANG N, et al. Incidence and mortality of stomach cancer in China, 2014[J]. Chin J Cancer Res, 2018, 30(3): 291-298. DOI: 10.21147/j.issn.1000-9604.2018.03.01.
- [3] LU X, CUI J, CUI L, et al. The effects of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cell transplantation on endometrial receptivity are associated with Th1/Th2 balance change and uNK cell expression of uterine in autoimmune premature ovarian failure mice[J]. Stem Cell Res Ther, 2019, 10(1): 214. DOI:10.1186/s13287-019-1313-y.
- [4] 刘杰, 张茜, 陈瑛. 雷公藤对雌性大鼠性激素水平、卵巢内细胞凋亡以及骨代谢状况影响的联合观察与分析[J]. 海南医学院学报, 2018, 24(14): 1303-1306. DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20180524.013.
- [5] ZHAO X J, HUANG Y H, YU Y C, et al. GnRH antagonist cetrorelix inhibits mitochondria-dependent apoptosis triggered by chemotherapy in granulosa cells of rats[J]. Gynecol Oncol, 2010, 118(1): 69-75. DOI: 10.1016/j.ygyno.2010.03.021.
- [6] 丁艳, 张静, 陶然, 等. 顺铂治疗导致卵巢早衰的研究进展[J]. 基础医学与临床, 2018, 38(6):845-848. DOI: 10.3969/j.issn.1001-6325.2018.06.021.
- [7] 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.
- [8] 张丽娟, 陶仕英, 赵丕文, 等. 顺铂建立大鼠卵巢早衰模型的实验研究[J]. 世界中医药, 2015, 10(10):1563-1565, 1569. DOI: 10.3969/j.issn.1673-7202.2015.10.029.
- [9] VERMA S, GOLDAMMER T, AITKEN R. Cloning and expression of activation induced cytidine deaminase from Bos taurus[J]. Vet Immunol Immunopathol, 2010, 134(3-4):151-159. DOI:10.1016/j.vetimm.2009.08.016.
- [10] MATSUDA F, INOUE N, MANABE N, et al. Follicular growth and atresia in mammalian ovaries: regulation by survival and death of granulosa cells[J]. J Reprod Dev, 2012, 58(1): 44-50. DOI: 10.1262/jrd.2011-012.
- [11] 张娟, 周月希, 刁波, 等. 环磷酰胺诱导家兔卵巢早衰动物模型的建立和评价[J]. 中国比较医学杂志, 2018, 28(1): 38-43. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7856.2018.01.007.
- [12] 刘慧莹, 任春娥, 姜爱芳. 两种造模方法导致大鼠卵巢早衰模型的比较研究[J]. 中国妇幼保健, 2015, 30(28): 4869-4872. DOI: 10.7620/zgfybj.j.issn.1001-4411.2015.28.43.
- [13] 李慧, 王双杰, 叶雪, 等. 卵巢早衰动物模型的建立[J]. 中国医药生物技术, 2020, 15(6):18-22. DOI:10.3969/j.issn.1673-713X.2020.06.003.
- [14] 贺宇恒, 谭容容, 蒲丹华, 等. 放疗致卵巢早衰鼠模型的构建及卵巢早衰患者MCL-1基因的初步研究[D]. 南京:南京医科大学, 2017, 26(12):1243-1249.
- [15] 袁玉丽, 周学平. 雷藤生殖毒性研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(10): 2997-3000. DOI: CNKI: SUN: BXYY.0.2013-10-050.
- [16] 郝娟, 王春莲, 王培嵩, 等. 雷公藤多甙片致卵巢早衰大鼠动物模型的研究[J]. 中国妇幼保健, 2012, 27(12): 1866-1870.

- [17] FU Y, ZHAO Z, WU Y, et al. Therapeutic mechanisms of Tongmai Dasheng Tablet on Tripterygium glycosides induced rat model for premature ovarian failure[J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 139(1): 26-33. DOI: 10.1016/j.jep.2011.08.077.
- [18] 陈淑萍, 孙玉英, 谈勇. 坤泰胶囊对卵巢储备功能下降大鼠的影响[J]. *中成药*, 2019, 41(9): 2229-2232. DOI:10.3969/j.issn.1001-1528.2019.09.045.
- [19] 郜然然. 补肾养血活血法经PI3K/AKT/mTOR信号通路调控凋亡及自噬流促卵泡发育的分子机制[D]. 成都: 成都中医药大学, 2019.
- [20] 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. DOI: 10.3969/j.issn.1002-1078.2007.03.014.
- [21] 杜江, 李楠, 王和鸣. 肾虚模型造模方法及相关指标[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2010, 14(50): 9433-9436. DOI: 10.3969/j.issn.1673-8225.2010.50.031.
- [22] 王凯, 刘帅帅, 郭起岳, 等. 氢化可的松致SD大鼠肾阳虚证卵巢早衰模型研究[J]. *成都医学院学报*, 2016, 11(1): 10-15. DOI: 10.3969/j.issn.1674-2257.2016.01.003.
- [23] EBRAHIMI M, AKBARI ASBAGH F. The role of autoimmunity in premature ovarian failure[J]. *Iran J Reprod Med*, 2015, 13(8):461-472.
- [24] TONG Z B, NELSON L M. A mouse gene encoding an oocyte antigen associated with autoimmune premature ovarian failure[J]. *Endocrinology*, 1999, 140(8): 3720-3726. DOI:10.1210/endo.140.8.6911.
- [25] 林建华, 严隽鸿, 林其德, 等. 自身免疫性卵巢早衰小鼠动物模型的建立[J]. *上海医学*, 1999, 22(12): 747-748. DOI:CNKI:SUN:SHYX.0.1999-12-022.
- [26] SMITH S, H OSID S. Premature ovarian failure associated with autoantibodies to the zona Pellucida[J]. *Int J Fertil Menopausal Stud*, 1994, 39(6):316-319.
- [27] BAGAVANT H, ADAMS S, TERRANOVA P, et al. Autoimmune ovarian inflammation triggered by proinflammatory (Th1) T cells is compatible with normal ovarian function in mice[J]. *Biol Reprod*, 1999, 61(3):635-642. DOI:10.1095/biolreprod61.3.635.
- [28] HOREJSÍ J, NOVÁKOVÁ D, MARTÍNEK J. Circulating ovarian autoantibodies and FSH and LH levels in adolescent girls with primary menstrual cycle disorders[J]. *J Pediatr Adolesc Gynecol*, 1996, 9(2): 74-78. DOI:10.1016/s1083-3188(96)70014-1.
- [29] 田海清, 张于念, 张和江, 等. 免疫性卵巢早衰模型鼠制备的时间[J]. *中国组织工程研究*, 2020, 24(32): 5168-5172. DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.2866.
- [30] 王佩娟, 陈思, 卢燕. B6AF1 雌性小鼠免疫性卵巢早衰模型建立[J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2017, 19(2):319-324. DOI:10.11842/wst.2017.02.021.
- [31] KRISHNA J, PRADEEP R, DEEPAK A, et al. Genetically modified mouse models for premature ovarian failure (POF) [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2010, 315(2):1-10. DOI:10.1016/j.mce.2009.07.016.
- [32] REDDY P, LIU L, ADHIKARI D, et al. Oocyte-specific deletion of PTEN causes premature activation of the primordial follicle pool[J]. *Science*, 2008, 319(5863):611-613. DOI:10.1126/science.1152257.
- [33] 李洁, 杨菁. 卵巢早衰动物模型建立的研究进展[J]. *生殖与避孕*, 2006, 17(9): 550-553. DOI: 10.3969/j.issn.0253-357X.2006.09.009.
- [34] 尹宝英. Cx37 和 Cx43 在小鼠卵泡中的表达研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2010.
- [35] TAKAI Y, CANNING J, PEREZ G I, et al. Bax, caspase-2, and caspase-3 are required for ovarian follicle loss caused by 4-vinylcyclohexene diepoxide exposure of female mice in vivo[J]. *Endocrinology*, 2003, 144(1):69-74. DOI:10.1210/en.2002-220814.
- [36] UDA M, OTTOLENGHI C, CRISPONI L, et al. Foxl2 disruption causes mouse ovarian failure by pervasive blockage of follicle development[J]. *Hum Mol Genet*, 2004, 13(11):1171-1181. DOI:10.1093/hmg/ddh124.
- [37] 马瑞, 崔晓萍, 李祖昂, 等. 卵巢早衰动物模型的研究进展[J]. *宁夏医科大学学报*, 2021, 43(3):310-314. DOI:10.16050/j.cnki.issn1674-6309.2021.03.022.
- [38] 陈静, 东玉芳, 马留璐. 早发性卵巢功能不全的病因与诊治进展[J]. *中国中医药现代远程教育*, 2020, 18(18): 145-148. DOI: 10.3969/j.issn.1672-2779.2020.18.057.
- [39] 李洁, 杨菁, 陈媛, 等. 利用不同浓度D(+)半乳糖建立卵巢早衰动物模型[J]. *武汉大学学报(医学版)*, 2006, 27(5): 613-615, 619, 封三. DOI: 10.3969/j.issn.1671-8852.2006.05.016.
- [40] 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. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4847.2019.06.006.
- [41] 伏玉洁, 孙小燕, 张学红. 早发性卵巢功能不全的动物模型构建[J]. *国际生殖健康/计划生育杂志*, 2021, 40(2):131-136. DOI:10.12280/gjszjk.20200406.
- [42] 杨秀萍, 吴群英, 张滨, 等. 乙醇对大鼠卵巢功能的影响[J]. *生殖医学杂志*, 1996, 5(4):227-229.
- [43] 苏晓华, 梁婧, 陆远方. 补肾养血方防治气态甲醛慢

- 性染毒小鼠卵巢损伤的研究[J]. 中医药导报, 2019, 25(11):48-54.
- [44] 连晓媛, 丁岩, 陈奇, 等. 重复制动应激对雌性大鼠卵巢功能的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2004, 15(6): 373-376. DOI:10.3321/j.issn: 1003-9783.2004.06.001.
- [45] 莫中福, 殷秀玲, 尹青, 等. DahlS 高血压大鼠卵巢细胞凋亡相关因素的实验研究[J]. 生殖与避孕, 2002, 22(5): 263-266. DOI: 10.3969/j. issn. 0253-357X. 2002.05.002.
- [46] 周宇, 贾玉玲, 严大为, 等. 两种小鼠卵巢早衰模型的比较[J]. 上海医学, 2018, 41(8): 47-52. DOI: CNKI: SUN:SHYX.0.2018-08-012.
- [47] 周慧, 包秀芳, 宋伟奇. 不同来源诱导剂建立的卵巢早衰动物模型的比较[J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2018, 6(7): 172. DOI: 10.3969/j. issn. 2095-6681. 2018.07.132.
- [48] ZHANG T, YAN D, YANG Y, et al. The comparison of animal models for premature ovarian failure established by several different source of inducers[J]. Regul Toxicol Pharmacol, 2016, 81: 223-232. DOI: 10.1016/j. yrtph.2016.09.002.
- [49] 吴倩, 秦佳佳, 李瑞满. 卵巢早衰动物模型研究进展[J]. 中医学报, 2014, 29(9): 1353-1355. DOI: 10.16368/j.issn.1674-8999.2014.09.059.
- [50] 郑翠红, 黄光英. 卵巢早衰动物模型及其相关研究[J]. 中西医结合研究, 2012, 4(5): 260-263. DOI: 10.3870/j.issn.1674-4616.2012.05.017.
- (收稿日期: 2021-03-16 修回日期: 2021-07-21)

致谢本刊2021年审稿专家

同行评议即外审专家是科技期刊学术质量的重要把关人。《实验动物与比较医学》第41卷终, 特向参与2021年审稿工作的各位专家衷心致谢。感谢您的每一次严谨细致审稿, 以及每一条客观公正的意见!

具体名单(按姓氏汉语拼音排序)如下。详细信息请见本刊官网。

崔永春(北京)	刘月环(浙江)	王 欣(北京)	王玉珏(广东)	艾志福(江西)
白 玉(北京)	白 玉(河北)	蔡兆伟(浙江)	曾 林(北京)	陈国元(上海)
陈 蕾(陕西)	陈 丽(安徽)	陈民利(浙江)	崔轶凡(山西)	戴 炯(上海)
戴然然(上海)	邸亚男(北京)	丁玉强(上海)	杜小燕(北京)	冯斐斐(河南)
傅江南(广东)	高 诚(上海)	高 静(上海)	古从伟(四川)	郝智慧(北京)
何远桥(江西)	贺争鸣(北京)	黄 纓(上海)	季樱红(上海)	蒋满喜(广东)
金 帆(浙江)	金玫蕾(上海)	邝高艳(湖南)	赖国旗(重庆)	黎 明(上海)
李 舸(广东)	李洪涛(广东)	李 华(上海)	李 静(上海)	李善刚(云南)
李 顺(上海)	李晓波(北京)	李晓燕(北京)	李 垚(上海)	刘吉宏(上海)
刘建文(上海)	刘 静(天津)	刘甦苏(北京)	刘 真(上海)	刘忠华(广东)
卢 晓(上海)	马贯中(江苏)	倪丽菊(上海)	倪士峰(陕西)	庞晓斌(河南)
彭长庚(上海)	钱帅伟(湖北)	饶军华(广东)	任文陟(吉林)	邵奇鸣(陕西)
师长宏(陕西)	施爱民(江苏)	施 恩(上海)	史利军(北京)	史仍飞(上海)
寿旗扬(浙江)	孙德明(北京)	孙建华(上海)	孙茂民(江苏)	孙 强(上海)
孙 侠(广东)	孙 颖(上海)	唐利军(湖北)	王春霞(上海)	王 丹(辽宁)
王红平(四川)	王建飞(上海)	王 婧(江苏)	王可洲(山东)	王 宇(上海)
王玉娥(黑龙江)	魏 强(北京)	魏 盛(山东)	魏佑震(上海)	吴宝金(上海)
吴建辉(上海)	肖五淀(四川)	谢家骏(上海)	谢建云(上海)	谢淑武(上海)
邢 敏(上海)	徐 平(上海)	徐汪节(上海)	闫明霞(上海)	燕顺生(新疆)
杨 陈(广东)	杨 斐(上海)	杨娜娜(山东)	姚 明(上海)	于志锋(上海)
张 蕾(湖北)	张 璇(上海)	张 钰(广东)	张 周(上海)	赵 微(辽宁)
赵 勇(上海)	郑和平(福建)	郑志红(辽宁)	钟 武(四川)	周光兴(上海)
周晓辉(上海)	周正宇(江苏)	朱佳蕾(上海)		

《实验动物与比较医学》编辑部

2021年12月