

尹丽红,焦琳,陈裕,等. 多囊卵巢综合征大鼠子宫内膜中 PI3K/AKT 通路相关蛋白表达异常与胰岛素抵抗的关系 [J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(6): 777-783.

Yin LH, Jiao L, Chen Y, et al. Relationship between abnormal expression of PI3K/AKT pathway-related protein and insulin resistance of rats of polycystic ovary syndrome with endometrial insulin resistance [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2022, 30(6): 777-783.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2022.06.006

多囊卵巢综合征大鼠子宫内膜中 PI3K/AKT 通路 相关蛋白表达异常与胰岛素抵抗的关系

尹丽红¹,焦琳²,陈裕²,陈嘉欣³,杜斯琪²,王翰林²,赵舜滢¹,殷春霞²,
曹丽芬²,余万霖²,谢长才^{2*}

(1. 广州中医药大学第二临床医学院,广州 510006;2. 广东省中医院,广州 510120;
3. 广州医科大学附属中医医院,广州 510130)

【摘要】 目的 通过脱氢表雄酮(DHEA)联合高脂饮食(HFDs)构建多囊卵巢综合征(PCOS)子宫内膜局部胰岛素抵抗(IR)的大鼠模型,通过检测子宫内膜中胰岛素相关蛋白及 PI3K/AKT 通路相关蛋白的表达水平,观察子宫内膜是否存在胰岛素抵抗并探究其可能机制。**方法** 选取 32 只 21 日龄 SD 雌性大鼠,随机分为模型组($n = 24$)与对照组($n = 8$)。模型组每天于颈背部皮下注射 DHEA 6 mg/100 g 并以高脂饲料喂养,对照组于颈背部皮下注射同等体积的注射用玉米油并以正常饲料喂养,实验周期 30 d。根据阴道涂片及卵巢组织染色结果筛选出 PCOS 大鼠,通过检测空腹血糖(FBG)、血清胰岛素水平(FINS)、胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)筛选出 PCOS 伴 IR 的大鼠(PCOS-IR 组),再通过检测其与对照组子宫内膜中 IR 相关蛋白(IRS1、GLUT-4)及 PI3K/AKT 通路相关蛋白(PI3K、PI3K p110 α 、p-AKT、AKT)的表达差异,探究其可能机制。**结果** 对照组大鼠涂片示规律动情、卵巢组织结构正常,而模型组大鼠动情周期紊乱、卵巢符合多囊卵巢表现,且模型组大鼠与对照组比较,其 FBG($P > 0.05$)、FINS($P > 0.05$)及 HOMA-IR 指数($P < 0.01$)均升高,其中从模型组筛选出 PCOS 大鼠 11 只,PCOS-IR 大鼠 8 只,其中 6 只子宫内膜组织 IRS1、GLUT-4 表达水平显著降低($P < 0.01$),提示子宫内膜组织存在 IR。此外,与对照组相比,PCOS-IR 组子宫内膜组织中的 PI3K 表达水平上升($P < 0.05$),PI3K p110 α ($P < 0.01$)、p-AKT($P < 0.01$)及 AKT 表达水平($P > 0.05$)降低,提示子宫内膜中 PI3K/AKT 通路相关蛋白表达下调。**结论** PCOS 伴 IR 大鼠其表现特征性的多囊卵巢组织、糖代谢异常,其子宫内膜可能存在胰岛素抵抗,且可能与 PI3K/AKT 通路相关蛋白表达异常有关。

【关键词】 多囊卵巢综合征;胰岛素抵抗;脱氢表雄酮;高脂饮食;大鼠模型;子宫内膜

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2022) 06-0777-07

Relationship between abnormal expression of PI3K/AKT pathway-related protein and insulin resistance of rats of polycystic ovary syndrome with endometrial insulin resistance

YIN Lihong¹, JIAO Lin², CHEN Yu², CHEN Jiabin³, DU Siqi², WANG Hanlin², ZHAO Shunying¹, YIN Chunxia²,
CAO Lifan², YU Wanlin², XIE Changcai^{2*}

【基金项目】 广东省自然科学基金项目(2019A1515011504), 市校(院)联合资助项目(202102010261)。

Funded by the Natural Science Foundation of Guangdong Province (2019A1515011504), Municipal School (College) Joint Funding Project (202102010261).

【作者简介】 尹丽红(1995—),女,硕士,研究方向:针灸治疗肥胖合并抑郁障碍相关疾病。Email:20201120404@stu.gzucm.edu.cn

【通信作者】 谢长才(1969—),男,主任医师,硕士研究生导师,研究方向:针灸治疗肥胖内分泌相关疾病。Email:hxie114@163.com

- (1. the Second Clinical Medical School of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China.
 2. Guangdong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510120. 3. the Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510130)
- Corresponding author: XIE Changcai. E-mail: hxie114@163.com

【Abstract】 Objective To establish a rat model of polycystic ovary syndrome (PCOS) with endometrial insulin resistance (IR) by combining dehydroepiandrosterone (DHEA) with a high fat diet (HFDs). And by detecting the expression levels of insulin resistance related proteins and PI3K/AKT pathway-related proteins in the endometrium, we can observe whether there is insulin resistance in the endometrium and explore its possible mechanism. **Methods** Thirty-two 21-day-old SD female rats were randomly divided into a Model group (Model group, $n = 24$) and Control group (Control group, $n = 8$). The Model group was subcutaneously injected with 6 mg/100 (g · d) DHEA on the back of the neck and fed the high fat diet. The Control group was subcutaneously injected with the same volume of corn oil for injection on the back of the neck and fed a normal diet. The experimental period was 30 days. In accordance with the result of vaginal smear and ovarian tissue staining, PCOS rats were screened. And PCOS with IR rats (PCOS-IR) were screened by detecting fasting blood glucose (FBG), serum insulin level (FINS), and insulin resistance index (HOMA-IR). Then by detecting the differences in the expression of IR-related proteins (IRS1, GLUT-4) and PI3K/AKT pathway-related proteins (PI3K, PI3K p110 α , p-AKT, AKT) in the endometrium between the two groups to explore the possible mechanism. **Results** Smears from rats in the Control group showed regular estrus and a normal ovarian tissue structure, whereas those of rats in the Model group had disordered estrous cycles and the ovaries had polycystic ovary manifestations. Compared with the Control group, FBG ($P > 0.05$), FINS ($P > 0.05$), and HOMA-IR ($P < 0.01$) of rats in the Model group were all increased, among which 11 PCOS rats and eight PCOS with IR rats were screened from the Model group. Additionally, western blotting of IR-related proteins in endometrial tissue showed that IRS1 and GLUT-4 expression in the PCOS-IR were decreased ($P < 0.01$), suggesting the existence of IR in the endometrial tissue. Compared with the Control group, the PI3K expression level was increased in the PCOS-IR group ($P < 0.05$), and the PI3K p110 α ($P < 0.01$), p-AKT ($P < 0.01$), AKT ($P > 0.05$) expression levels were decreased in the endometrial tissues, suggesting that it may be related to the down-regulation of PI3K/AKT pathway-related protein expression in the endometrium. **Conclusions** Rats with PCOS and IR have characteristic polycystic ovary tissue and abnormal glucose metabolism, and their endometrium is mostly insulin resistant, and may be related to the downregulation of PI3K/AKT pathway-related protein expression.

【Keywords】 polycystic ovary syndrome; insulin resistance; dehydroepiandrosterone; high-fat diet; rat model; endometrial

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

多囊卵巢综合征 (polycystic ovarian syndrome, PCOS) 是临床常见的妇科内分泌与生殖障碍并存的疾病^[1]。随着生活方式和环境因素的改变, PCOS 的发病率更是呈持续上升的趋势^[2]。目前此病的发病机制虽尚不明确, 但以胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR) 为中心的代谢紊乱是 PCOS 患者重要的病理生理改变之一^[3]。据报道, 临床约 50% ~ 70% 的 PCOS 患者存在胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR)^[4]。PCOS 伴 IR 引起外周组织对胰岛素的敏感性下降, 血清胰岛素水平升高, 升高的胰岛素导致高雄激素血症, 过高的雄激素一方面可以作用于卵巢抑制卵泡发育, 另一方面又会进一步加剧外周 IR, 两者形成恶性循环, 最终造成育龄期 PCOS 患者受孕困难, 生育力低下^[5]。随着研究的

深入, 在 21 世纪初, Moran 等^[6]、McGee 等^[7]发现卵巢局部存在 IR 现象, 提出了卵巢 IR 的概念。卵巢 IR 不仅会改变卵巢的糖代谢情况, 更重要的是可以使卵巢处于功能亢进的状态, 对促性腺激素的反应性显著增加, 甾体激素分泌异常, 造成卵泡发育障碍。然而, 随着近年来辅助生殖技术的发展, PCOS 患者在体外受精-胚胎移植周期中仍然存在低种植率、高流产率的现象^[8], 因此有学者认为子宫 IR 可能是 PCOS 患者生育力低的重要原因^[9]。

IR 临床诊断指标是基于空腹血糖和空腹胰岛素的 HOMA-IR 指数, 此外, 新兴的 IR 生物标记物也可作为诊断的参考指标^[10]; 其主要信号调控途径包括胰岛素受体底物 1 (insulin receptor substrate 1, IRS1/磷脂酰肌醇 3 激酶 (phosphatidylinositol-3-kinase,

PI3K)、丝氨酸-苏氨酸激酶(serine-threonine kinase, Akt)通路、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)通路及 Smad3 通路等。IR 的机制主要为胰岛素与胰岛素受体结合缺陷及胰岛素信号传导异常。研究表明,胰岛素受体及 PI3K 表达降低,减少囊泡移位到细胞膜外,导致葡萄糖进入细胞内数量减少。胰岛素受体的丝氨酸磷酸化作用,降低胰岛素受体对 PI3K 的激活作用,导致葡萄糖吸收和利用减少^[11-12]。本研究拟初步筛选出 PCOS 伴 IR 大鼠,以动情周期紊乱、卵巢符合多囊卵巢表现且 FBG、FINS、HOMA-IR 指数均高于对照组为模型筛选标准,最终通过检测子宫内膜中胰岛素抵抗相关蛋白及 PI3K/AKT 通路相关蛋白的表达水平,观察子宫内膜是否存在胰岛素抵抗并探究其可能机制。拟深入 PCOS 潜在病理生理改变——子宫内膜 IR,为寻找治疗 PCOS 的作用靶点提供新思路,为临床解决 PCOS 患者妊娠率低、流产率高的问题提供新的治疗方向。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

32 只 SPF 级 21 日龄 SD 雌性大鼠,体重 43 ~ 57 g,购于广州南方医大实验动物科技发展有限公司【SCXK(粤)2016-0041】。饲养期间各组大鼠自由饮水,高脂饲料由广东省医学实验动物中心【粤饲证(2019)05073】提供,其成分为蔗糖 20%,猪油 15%,胆固醇 1.2%,胆酸钠 0.2%,酪蛋白 10%,磷酸氢钙 0.6%,石粉 0.4%,预混料 0.4%及基础饲料 52.2%。饲养环境:昼夜各半循环照明,湿度恒定,温度控制在 23 ~ 26℃,实验室通气良好,清洁,大鼠可以自由饮水和进食,饲养于广东省中医院动物实验室【SYXK(粤)2018-0094】。所有操作均符合广东省中医院实验动物伦理学要求(审批号:2020077)。

1.1.2 实验药物

脱氢表雄酮(DHEA)(Sigma,批号 252805),注射用玉米油(产自上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号 C116025)。

1.1.3 主要试剂与仪器

胰岛素 ELISA 检测试剂盒(Proteintech,批号 KE20008),IRS1 抗体(Abcclonal,批号 A0245),PI3K 抗体(Cell signaling technology,批号 3358S),PI3K

p110 α 抗体(Cell signaling technology,批号 4249),AKT 抗体(Proteintech,批号 60203),p-AKT(Ser473)抗体(Cell signaling technology,批号 4060),GLUT-4 抗体(Proteintech,批号 66846), β -actin 抗体(Cell signaling technology,批号 4970S),二抗(Cell signaling technology,批号 7074S、7076S),瑞氏染色液(碧云天,批号 C0135),苏木素-伊红染液(碧云天,批号 C0105S)。EonC 酶标仪(美国 BioTek 公司),血糖检测仪(德国拜耳公司),IX71 光学显微镜(日本奥林巴斯株式会社)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及实验干预

将 SPF 雌性大鼠 32 只随机分为 2 组:模型组($n = 24$)和对照组($n = 8$)。模型组每天于颈背部皮下注射 DHEA 6 mg/100 g 并以高脂饲料喂养,对照组于颈背部皮下注射同等体积的注射用玉米油并以正常饲料喂养。实验周期 30 d 结束后,根据阴道涂片及卵巢组织染色结果从模型组中筛选出 PCOS 模型成功的大鼠 11 只,其次通过检测 PCOS 模型成功大鼠的 FBG、FINS、HOMA-IR 指数筛选出 PCOS-IR 组大鼠 8 只。最后检测 PCOS-IR 组与对照组 IR 相关蛋白(IRS1、GLUT-4)及 PI3K/AKT 通路相关蛋白(PI3K、PI3K p110 α 、p-AKT、AKT)表达结果。大鼠子宫 IR 模型制备:照改良后的 PCOS 大鼠动物模型造模方法^[13],大鼠颈背部皮下注射 DHEA 6 mg/100 g,并以高脂饲料喂养,每天 1 次,连续 30 d。

1.2.2 形态指标测试及取材

实验期间每 3 d 记录 1 次大鼠体重,造模后第 30 天,大鼠 20:00 禁食,次日晨采用 2%戊巴比妥钠(0.2 mL/100 g)腹腔注射麻醉后,于腹主动脉取血 5 ~ 8 mL,测定其空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)、空腹胰岛素(fasting insulin, FINS)及计算胰岛素抵抗指数(insulin resistance index, HOMA-IR)^[14];小心剥离出大鼠子宫,记录重量。

1.2.3 阴道涂片瑞氏染色和卵巢组织 HE 染色

(1)阴道涂片瑞氏染色:造模后第 24 ~ 30 天,连续 7 d 取阴道上皮细胞涂片,进行瑞氏染色,干燥后检验;(2)卵巢组织 HE 染色:空腹采血后摘取大鼠双侧卵巢,固定包埋后以 3.5 μ m 的厚度切片,最后进行 HE 染色分析,并在光学显微镜下观察组织涂片。

1.2.4 Western Blot

大鼠子宫内膜组织加裂解液冷冻匀浆后,离心

(13 500 r/min, 4℃) 20 min, 上清液经 BCA 法检测蛋白浓度。上样量为 20 μL, 电泳条件 110 V, 100 ~ 120 min, 湿法转膜, 条件 200 mA, 120 min, 其他方法步骤按常规 Western Blot 进行, 用 Bio-Rad 公司的 ECL 试剂盒在化学发光检测器中检测, 用 Image J 进行分析。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 26.0 软件进行统计分析。正态数据以平均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 标识, 采用单因素方差分析 (ANOVA) 和 *t* 检验两两配对进行统计学分析。*P* < 0.01 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠体重和子宫质量比结果

实验过程中, 每 3 d 记录 1 次大鼠体重, 如图 1A 所示, 两组大鼠体重差异无统计学意义。实验结束后取各组大鼠子宫组织称重, 结果表明两组子宫重量亦差异无统计学意义 (图 1B)。

2.2 阴道涂片及卵巢组织 HE 染色结果

连续 7 d 观察各组大鼠阴道上皮细胞形态, 如图 2A 所示, 观察到对照组大鼠规律动情, 前期涂片

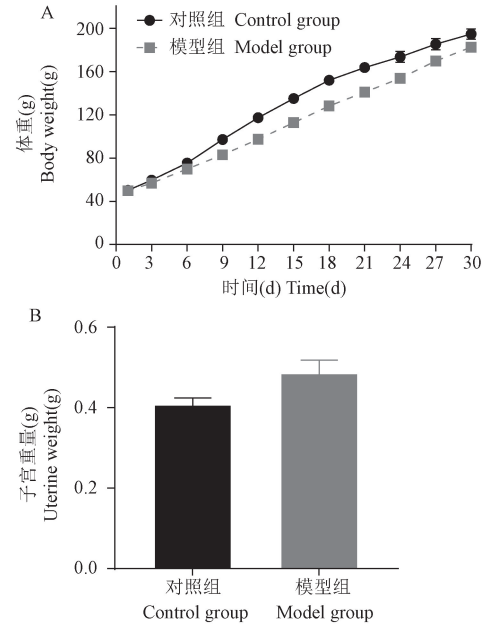
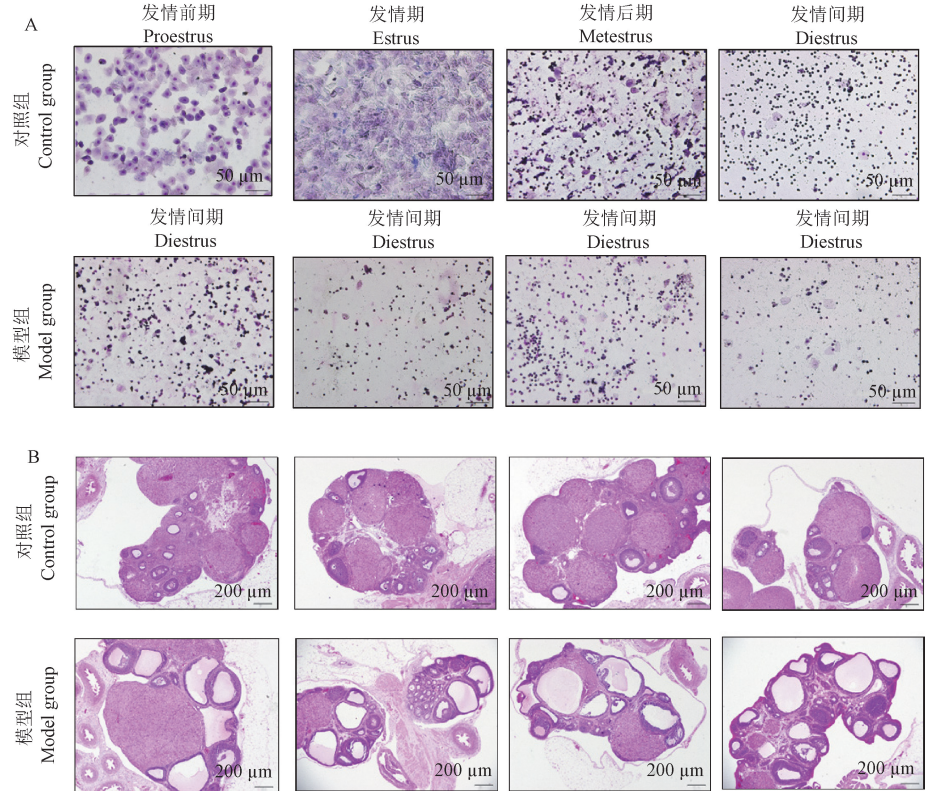


图 1 各组大鼠体重和子宫重量比较
Figure 1 Comparison of body weight and terine weight in each group of rats

以有核上皮细胞为主, 发情期以角质化上皮细胞为主, 发情后期涂片均见核上皮细胞、角质化上皮细胞



注: A: 各组大鼠阴道涂片; B: 卵巢组织 HE 染色。
Note. A. Vaginal smear in each group of rats. B. HE staining of ovarian tissue in each group of rats.

Figure 2 Vaginal smear and HE staining of ovarian tissue

胞与白细胞,发情间期主要见白细胞。而模型组大鼠阴道涂片长期停滞在发情间期或后期,动情周期紊乱。此外,如图 2B 所示,对照组大鼠卵巢组织结构正常,具体可见各个时期卵泡和黄体,颗粒细胞排列整齐;相反模型组大鼠卵巢内偶见卵泡与黄体,排列松散,闭锁卵泡数量较多,且多呈囊性扩张,说明对照组大鼠卵巢基本正常,模型组大鼠卵巢符合多囊卵巢表现。

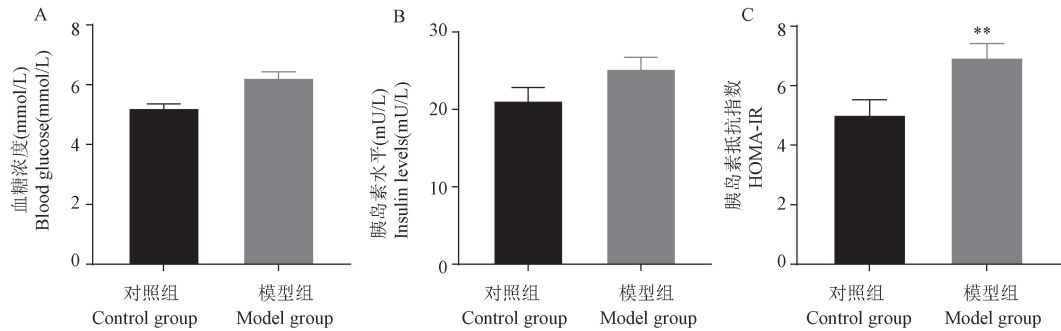
2.3 各组大鼠 FBG、FINS 及 HOMA-IR 指数比较

结果如图 3 所示,对照组 ($n = 8$) 与模型组 ($n = 24$) 大鼠 FBG 水平 (图 3A) 分别为 (4.12 ± 0.42) mmol/L、(4.98 ± 0.49) mmol/L; FINS 水平 (图 3B) 分别为 (44.30 ± 5.29) mU/L、(51.28 ± 6.81) mU/L; HOMA-IR 指数 (图 3C) 分别为 (7.78 ± 0.78)、(11.29 ± 1.60)。与对照组比较,模型组大鼠 FBG、FINS 及 HOMA-IR 指数均升

高。其中,HOMA-IR 值差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。

2.4 对照组与 PCOS-IR 组蛋白相对表达水平

Western Blot 检测子宫内膜组织 IR 及 PI3K/AKT 通路相关蛋白结果中,与对照组蛋白表达条带模型相比,PCOS-IR 组的 IRS1、GLUT-4 条带模型明显变窄、颜色变浅,其蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.01$),提示子宫内膜存在 IR 状态。且 PI3K/AKT 通路相关蛋白结果中,PCOS-IR 组的 AKT 条带模型变化不明显,其表达水平降低 ($P > 0.05$),PI3K 条带模型变宽、颜色变深,其蛋白表达水平显著上升 ($P < 0.05$);PI3K p110 α 、p-AKT 条带模型变窄、颜色变浅,PI3K p110 α 、p-AKT 表达水平显著降低 ($P < 0.01$),提示 PI3K/AKT 胰岛素信号通路下调。图 4 所示为对照组与 PCOS-IR 组蛋白相对表达结果。

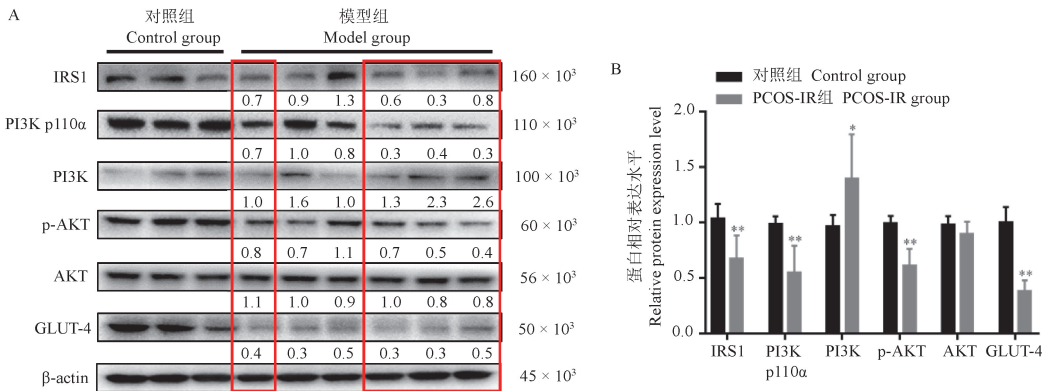


注:A:干预 30 d 后,两组大鼠 FBG 无显著性差异;B:干预 30 d 后,两组 FINS 无显著性差异;C:干预 30 d 后,与对照组相比, ** $P < 0.01$ 。

图 3 各组大鼠 FBG、FINS 及 HOMA-IR 值比较

Note. A. After 30 days of intervention, there was no significant difference in FBG between the two groups. B. After 30 days of intervention, there was no significant difference in FINS between the two groups. C. After 30 days of intervention. Compared with the control group, ** $P < 0.01$.

Figure 3 Comparison of FBG, FINS and HOMA-IR indexes in each group of rats



注:A:模型组中标红为 PCOS-IR 组,其余为 PCOS-非 IR 组;与对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 4 对照组与 PCOS-IR 组蛋白相对表达结果

Note. A. The red mark in the model group is the PCOS-IR group, and the rest are the PCOS-non-IR group. Compared with the control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

Figure 4 Expression results of the control group and the PCOS-IR group

3 讨论

研究显示 PCOS 患者,不管是自然怀孕或通过辅助生殖技术怀孕后,流产率达到 33% ~ 50%,是正常孕妇的 3 倍^[15]。且有研究表明,胰岛素抵抗可以影响下丘脑-腺垂体-卵巢轴轴,增加雄激素的水平,并影响卵子的质量,对 PCOS 患者的生殖功能障碍有重要影响^[16]。但是,到目前为止,胰岛素抵抗如何影响多囊卵巢综合征患者的生殖功能,目前尚缺乏研究。本课题以 PCOS 大鼠子宫内膜是否存在胰岛素抵抗的实验为切入点,通过构建可靠、简便、符合临床特征的动物模型,观察多囊卵巢综合征大鼠子宫内膜中 PI3K/AKT 通路相关蛋白表达异常与胰岛素抵抗的关系,以期深入 PCOS 潜在病理生理改变,为寻找治疗 PCOS 的作用靶点提供新思路。

PCOS 模型建立以无排卵或偶发性排卵、性激素分泌紊乱、糖脂代谢异常、胰岛素抵抗、卵巢多囊性病理改变等为主要评价指标^[17]。经 DHEA 处理的大鼠表现出包括高雄激素血症、月经紊乱和多囊卵巢等 PCOS 表现^[18-22]。然而,此种方法建立的模型不全表现胰岛素抵抗。研究表明,增加 HFDs 可通过 PCOS 对胰岛素相关机制的反应加剧其内分泌和代谢功能障碍从而获得 IR^[23-24]。另外,Zhang 等^[13]研究也指出,DHEA+HFDs 诱导的 PCOS 的不同表型,可用于研究该综合征的生殖和代谢特征。因此,本研究在 DHEA 的基础上联合 HFDs 构建大鼠 PCOS-IR 模型。本研究结果显示,模型组建立的动物模型更接近 PCOS 临床特征,出现显著增加的体重,紊乱的动情周期,明显的卵巢多囊样改变,伴显著的糖代谢改变(FBG、FINS 及 HOMA-IR 指数均升高),表现出了 IR 特征。本实验对子宫内膜组织 IR 相关蛋白(IRS1、GLUT-4)的表达进行了检测,发现 PCOS-IR 组 IRS1、GLUT-4 表达水平较对照组显著降低,说明 PCOS-IR 组大鼠子宫内膜组织胰岛素抵抗状态,这与吴峰等^[25]用高脂饲料建立的胰岛素抵抗大鼠模型特征基本一致,其机制可能为 IRS1 丝氨酸磷酸化干扰邻近磷酸化酪氨酸结合区段,阻碍正常的酪氨酸磷酸化,影响 IRS1 与胰岛素受体的相互作用并削弱 IRS1 酪氨酸磷酸化作用。

在多囊卵巢综合征的研究当中,脂肪组织、卵巢组织和肝组织中被发现存在胰岛素代谢通路异常^[26],而子宫内膜组织中的胰岛素代谢通路鲜有研究。因此,本实验进一步对子宫内膜组织 PI3K/Akt

通路相关蛋白(PI3K、PI3K p110 α 、p-AKT、AKT)的表达进行了检测,发现 PCOS-IR 组较对照组大鼠 AKT 表达水平降低,PI3K p110 α 、p-AKT 表达水平显著降低,说明 PCOS-IR 组大鼠子宫内膜组织出现胰岛素信号通路环节异常——下调,这将揭示子宫内膜组织局部的胰岛素抵抗发生机制的可能——子宫内膜中 PI3K/AKT 通路相关蛋白表达异常。

综上所述,脱氢表雄酮联合高脂饮食构建了具有特征性的多囊卵巢组织、糖代谢异常的 PCOS 伴 IR 大鼠,其大鼠可能存在子宫内膜局部胰岛素抵抗,其可能与子宫内膜中 PI3K/AKT 通路相关蛋白表达异常有关。子宫内膜局部 IR 是 PCOS 潜在的病理生理改变,这为寻找治疗 PCOS 的作用靶点提供了新思路,即针对多囊卵巢综合征伴胰岛素抵抗靶器官——子宫内膜,基于子宫内膜胰岛素信号调控途径的中西医干预性研究将是今后的重要方向之一。

参 考 文 献 (References)

- [1] 中华医学会妇产科学分会内分泌学组及指南专家组. 多囊卵巢综合征中国诊疗指南 [J]. 中华妇产科杂志, 2018, 53(1): 2-6.
Endocrinology Group and Guidelines Expert Group of Obstetrics and Gynecology Branch of Chinese Medical Association. Chinese guidelines for the diagnosis and treatment of polycystic ovary syndrome [J]. Chin J Obstet Gynecol, 2018, 53(1): 2-6.
- [2] Ding T, Hardiman PJ, Petersen I, et al. The prevalence of polycystic ovary syndrome in reproductive-aged women of different ethnicity: a systematic review and meta-analysis [J]. Oncotarget, 2017, 8(56): 96351-96358.
- [3] Diamanti-Kandarakis E, Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome revisited: an update on mechanisms and implications [J]. Endocr Rev, 2012, 33(6): 981-1030.
- [4] 陈锦明, 王维斌, 张萍, 等. 二陈汤对多囊卵巢综合征大鼠卵巢组织 IRS-1/IRS-2 的调节作用 [J]. 福建中医药, 2021, 52(5): 50-52.
Chen JM, Wang WB, Zhang P, et al. Effects of Erchen Decoction on expression of IRS-1/IRS-2 in ovarian tissue of rats with polycystic ovary syndrome [J]. Fujian J Tradit Chin Med, 2021, 52(5): 50-52.
- [5] Anagnostis P, Tarlatzis BC, Kauffman RP. Polycystic ovarian syndrome (PCOS): long-term metabolic consequences [J]. Metabolism, 2018, 86: 33-43.
- [6] Moran C, Huerta R, Conway-Myers BA, et al. Altered autophosphorylation of the insulin receptor in the ovary of a woman with polycystic ovary syndrome [J]. Fertil Steril, 2001, 75(3): 625-628.
- [7] McGee EA, Hsueh AJ. Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles [J]. Endocr Rev, 2000, 21(2): 200-214.

- [8] Urman B, Tiras B, Yakin K. Assisted reproduction in the treatment of polycystic ovarian syndrome [J]. *Reprod Biomed Online*, 2004, 8(4): 419-430.
- [9] Qi J, Wang W, Zhu Q, et al. Local cortisol elevation contributes to endometrial insulin resistance in polycystic ovary syndrome [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2018, 103(7): 2457-2467.
- [10] YEE Hongyun, 杨晶晶, 万毅刚, 等. 胰岛素抵抗的分子机制及中药的干预作用 [J]. *中国中药杂志*, 2019, 44(7): 1289-1294.
- YEE HY, Yang JJ, Wan YG, et al. Molecular mechanisms of insulin resistance and interventional effects of Chinese herbal medicine [J]. *Chin J Chin Mater Med*, 2019, 44(7): 1289-1294.
- [11] 孙志梅, 齐亚娟. 胰岛素信号通路及胰岛素抵抗 [J]. *世界最新医学信息文摘*, 2019, 19(52): 62-63.
- Sun ZM, Qi YJ. Insulin signaling pathway and insulin resistance [J]. *World Latest Med Inf*, 2019, 19(52): 62-63.
- [12] 肖娟, 任伟. 胰岛素抵抗与胰岛素信号通路异常研究进展 [J]. *现代医药卫生*, 2020, 36(21): 3463-3466.
- Xiao J, Ren W. Research progress of insulin resistance and abnormal insulin signaling pathway [J]. *Mod Med Heal*, 2020, 36(21): 3463-3466.
- [13] Zhang H, Yi M, Zhang Y, et al. High-fat diets exaggerate endocrine and metabolic phenotypes in a rat model of DHEA-induced PCOS [J]. *Reproduction*, 2016, 151(4): 431-441.
- [14] Wang Z, Zhai D, Zhang D, et al. Quercetin decreases insulin resistance in a polycystic ovary syndrome rat model by improving inflammatory microenvironment [J]. *Reprod Sci*, 2017, 24(5): 682-690.
- [15] Hudecova M, Holte J, Olovsson M, et al. Long-term follow-up of patients with polycystic ovary syndrome; reproductive outcome and ovarian reserve [J]. *Hum Reprod*, 2009, 24(5): 1176-1183.
- [16] DeUgarte CM, Bartolucci AA, Azziz R. Prevalence of insulin resistance in the polycystic ovary syndrome using the homeostasis model assessment [J]. *Fertil Steril*, 2005, 83(5): 1454-1460.
- [17] 徐海燕, 杜青, 徐琳本, 等. 两种肥胖型多囊卵巢综合征伴胰岛素抵抗大鼠模型的构建及评价 [J]. *中国实验动物学报*, 2021, 29(5): 644-650.
- Xu HY, Du Q, Xu LB, et al. Construction and evaluation of two obese rat models of polycystic ovary syndrome with insulin resistance [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2021, 29(5): 644-650.
- [18] Ward RC, Costoff A, Mahesh VB. The induction of polycystic ovaries in mature cycling rats by the administration of dehydroepiandrosterone (DHA) [J]. *Biol Reprod*, 1978, 18(4): 614-623.
- [19] Lee MT, Anderson E, Lee GY. Changes in ovarian morphology and serum hormones in the rat after treatment with dehydroepiandrosterone [J]. *Anat Rec*, 1991, 231(2): 185-192.
- [20] Anderson E, Lee MT, Lee GY. Cystogenesis of the ovarian antral follicle of the rat: ultrastructural changes and hormonal profile following the administration of dehydroepiandrosterone [J]. *Anat Rec*, 1992, 234(3): 359-382.
- [21] Sander V, Luchetti CG, Solano ME, et al. Role of the N, N'-dimethylbiguanide metformin in the treatment of female prepubertal BALB/c mice hyperandrogenized with dehydroepiandrosterone [J]. *Reproduction*, 2006, 131(3): 591-602.
- [22] 王玉荣, 谈勇. 多囊卵巢综合征动物模型与中医药干预研究进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2009, 17(6): 478-483.
- Wang YR, Tan Y. Progress in study on animal models of polycystic ovary syndrome and intervention with traditional Chinese medicine [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2009, 17(6): 478-483.
- [23] Oh H, Boghossian S, York DA, et al. The effect of high fat diet and saturated fatty acids on insulin signaling in the amygdala and hypothalamus of rats [J]. *Brain Res*, 2013, 1537: 191-200.
- [24] Walters KA, Allan CM, Handelsman DJ. Rodent models for human polycystic ovary syndrome [J]. *Biol Reprod*, 2012, 86(5): 149.
- [25] 吴峰, 都健, 王慧敏, 等. 胰岛素抵抗大鼠的肝脏中丝氨酸/酪氨酸磷酸化异常与血清 TNF- α 相关 [J]. *中国实验动物学报*, 2009, 17(5): 360-363.
- Wu F, Du J, Wang HM, et al. Serum TNF- α is correlated with the abnormality of serine/tyrosine phosphorylation of IRS-1 in the liver of insulin-resistant rats [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2009, 17(5): 360-363.
- [26] Chang EM, Han JE, Seok HH, et al. Insulin resistance does not affect early embryo development but lowers implantation rate in *in vitro* maturation-*in vitro* fertilization-embryo transfer cycle [J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2013, 79(1): 93-99.

[收稿日期] 2022-04-19