

# 多囊卵巢综合征模型大鼠卵巢中结缔组织生长因子及基质金属蛋白酶-9 的表达<sup>\*</sup>

张璐 刘明盛 杨旭 李兰

(成都市第五人民医院·成都中医药大学附属第五人民医院妇产科,四川 成都 611130)

**【摘要】** 目的 探讨卵巢中结缔组织生长因子(CTGF)及基质金属蛋白酶-9(MMP-9)的表达与多囊卵巢综合征的关系。方法 52 只 SPF 级 SD 雌性大鼠(6 周龄,具备规律动情周期)依照不同造模方式分为对照组和模型组,每组 26 只。对照组行羧甲基纤维素灌胃建模,模型组行等量来曲唑建模。分析研究对象动情周期不在出现固定规律,且具有连续性特征时,两组均采集其血清以及卵巢组织,采用放射免疫法(RIA)测定促黄体生成激素(LH)、促卵泡激素(FSH)、雌二醇(E<sub>2</sub>)、垂体泌乳素(PRL)、睾丸素等指标对大鼠内分泌改变情况进行评定分析;并应用免疫组织化学的方法使用 CTGF 一抗、二抗、三抗和 MMP-9 一抗、二抗、三抗来测定和分析两种因子在该疾病组织中的表达情况。结果 模型组 PRL、LH、睾丸素、窦前卵泡膜胞浆中 CTGF、黄体中 MMP-9 等表达高于对照组( $P < 0.05$ ),FSH、E<sub>2</sub>、卵泡基底膜内 MMP-9 表达水平均发生显著下降趋势( $P < 0.05$ )。结论 卵巢中结缔组织生长因子水平变化与该疾病中小卵泡过多表达或者排卵障碍之间存在一定关联性,MMP-9 则与多囊卵巢综合征的排卵障碍之间存在关联性。

**【关键词】** 多囊卵巢综合征;结缔组织生长因子;基质金属蛋白酶-9;促黄体生成激素;大鼠

**【中图分类号】** R711.75 **【文献标志码】** A **DOI:**10.3969/j.issn.1672-3511.2023.11.006

## Expression of connective tissue growth factor and matrix metalloproteinase-9 in ovary of rats with polycystic ovary syndrome

ZHANG Lu, LIU Mingsheng, YANG Xu, LI Lan

(Department of Obstetrics and Gynecology, The Fifth People's Hospital Affiliated to Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611130, China)

**【Abstract】** **Objective** To study the relationship between the expression of connective tissue growth factor (CTGF) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in ovary and polycystic ovarian syndrome. **Methods** 52 female rats (6 weeks of age, with regular estrous cycles) were divided into two groups (control group and model group) according to different modeling methods. The control group was given carboxymethyl cellulose by gavage, and the model group was given the same amount of letrozole. The serum and ovarian tissue of the two groups were collected when the estrous cycle of rats was not fixed and had the characteristics of continuity. RIA method was used to determine LH, FSH, E<sub>2</sub>, PRL, and testosterone, respectively. The endocrine changes of model mice were evaluated and analyzed by PRL, testosterone and other indexes. The expression of connective tissue growth factor and MMP-9 in ovarian tissues was determined and analyzed by immunohistochemical methods using CTGF primary antibody, secondary antibody, third antibody and MMP-9 primary antibody, secondary antibody and third antibody. **Results** The expression levels of PRL, LH, presinus follicular cytoplasm (CTGF, albumen CTGF, basal membrane cytoplasm of follicle CTGF) and MMP-9 in corpus luteum of the model group were significantly higher than those of the control group ( $P < 0.05$ ). However, the expression levels of FSH, serum estradiol and MMP-9 in the basal membrane of follicles were significantly decreased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** There is a certain correlation between the level of connective tissue growth factor in the ovary and the overexpression of

基金项目:四川省科技厅重点项目(22MZGC0259)

通讯作者:李兰,E-mail:1375844417@qq.com

引用本文:张璐,刘明盛,杨旭,等.多囊卵巢综合征模型大鼠卵巢中结缔组织生长因子及基质金属蛋白酶-9 的表达[J].西部医学,2023,35(11):

1589-1593. DOI:10.3969/j.issn.1672-3511.2023.11.006

small and medium follicles or ovulation disorder in this disease, and MMP-9 is associated with ovulation disorder in polycystic ovary syndrome.

**【Key words】** Polycystic ovary syndrome; Connective tissue growth factor; Matrix metalloproteinase-9; Luteinizing hormone; Rat

多囊卵巢综合征作为临床常见的一种内分泌系统疾病,育龄期女性作为该疾病的高发群体,发病几率高达 10%,近年来有上升趋势<sup>[1]</sup>。患者伴随闭经、肥胖、不孕以及双侧卵巢发生多囊性增大等临床症状,患者需面临较为严重的身心健康压力<sup>[2]</sup>。国内外针对该疾病的研究资料中指出,在卵泡发育、成熟、排卵、三黄体形成退化等一系列过程中,与细胞外基质(ECM)之间存在密切关联性,其中基质金属蛋白酶-9(Matrix metalloproteinase-9, MMP-9)作为特殊的胶原酶,发挥降解 IV 型胶原的功能<sup>[3]</sup>,胶原又是 ECM 的主要组成之一。另外研究资料针对结缔组织生长因子(Connective tissue growth factor, CTGF)进行分析发现,该物质对 ECM 的形成也发挥重要作用<sup>[4]</sup>。研究表明 MMP-9 和 CTGF 均为卵巢局部调节因子,但是目前针对多卵巢综合征与上述两种因子之间的关联性的相关研究并不多见<sup>[5]</sup>。本研究拟采用 Poresky 试验法制作多囊卵巢综合征大鼠模型进行对照分析,借助测定并深度对比分析试验对象的促黄体生成激素(Luteinizing hormone, LH)、促卵泡激素(Follicle-stimulating hormone, FSH)、雌二醇( $E_2$ )、垂体泌乳素(PRL)、睾丸素性等激素含量及 CTGF 和 MMP-9 含量来探讨这两种因子在多囊卵巢综合征中的作用。

## 1 材料与方法

1.1 实验动物 选择 52 只 6 周龄、规律动情周期的健康 SPF 级 SD 雌性大鼠。随机分为对照组及模型组,每组 26 只。进行实验前两组大鼠均放置在温度以及湿度适宜的同等环境下,饮水、饮食等环境一致。实验所有项目均符合动物伦理要求以及对应的实验管理要求(AF/54/2020-02.3)。

1.2 主要实验试剂 LH 放免试剂盒(天津中新科炬生物制药公司);FSH 放免试剂盒(上海沪宇生物科技有限公司); $E_2$  放免试剂盒(上海沪宇生物科技有限公司);PRL 放免试剂盒(天津中新科炬生物制药有限公司);睾丸素放免试剂盒(天津中新科炬生物制药有限公司);CTGF 一抗(武汉博士德生物工程公司);CTGF 二抗/三抗(北京中杉公司);MMP-9 一抗/二抗/三抗(北京中杉公司);免疫组化试剂盒(PV-9000)(北京中山金桥生物科技有限公司)。

1.3 造模方法 构建满足实验需求的模型大鼠:对

对照组与模型组造模应用 Poresky 法进行;对照组大鼠每日灌胃浓度为 1% 的羧甲基纤维素,连续灌胃 21 d,该段时间内每天进行阴道涂片以明确该组大鼠的动情周期是否存在变化。模型组大鼠先将来曲唑溶解至浓度为 1% 的羧甲基纤维素后再行灌胃给药操作,该过程需注意给药计量控制为 1 mg/kg,精确完成操作,时间为 21 d。见图 1。

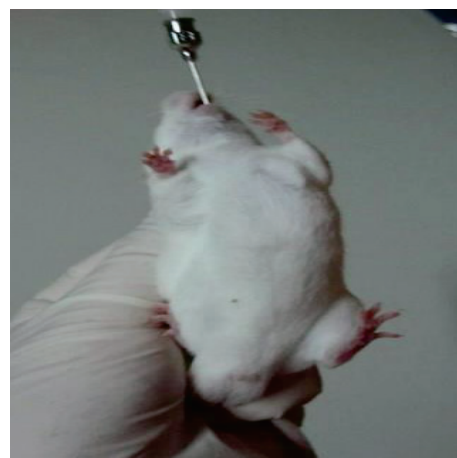


图 1 大鼠灌胃示意图

Figure 1 Schematic representation of the oral administration of mice

1.4 造模成功的检测标准 模型大鼠制作期间,两组大鼠需同等饲养环境下,自由饮食,灌胃期间需每周周六对其体重、血清 LH 以及胰岛素情况进行测定。一旦所测定指标出现异常,并且实验个体的空腹血糖水平出现上升趋势(测定参照指标为  $>6$  mM/L 时),尿糖量也出现一定波动( $>4.7$  mM/L),则表明本次实验所需的样本依照相关文献研究标准,满足实验要求<sup>[5]</sup>,即所需要的多囊卵巢综合征大鼠模型制作成功。

1.5 标本采集 当模型组大鼠动情周期发生变化且连续出现间期时,开始标本采集,对照组在其间期采集标本。具体方法如下:①21 d 最后 1 次完成灌胃操作后需对所有实验大鼠进行禁食干预,时间为 12 h,随后以缺血法处死实验个体,完成操作后立即采集其 5 mL 的心脏血液,并 2 000 r/min 离心操作后取上层血清,在零下 40 °C 保存备用。②随后摘取各组实验个体的子宫及卵巢,完成称重操作,做好个体记录后,对卵巢进行剖开操作,操作时需注意沿长径方向,随后以 10% 福尔马林固定备用。

1.6 观察指标及测量方法

1.6.1 放射免疫法(RIA) 测定 LH、FSH、 $E_2$ 、PRL

和睾丸素等指标对模型大鼠内分泌改变情况,并对其进行评价。切片制备和组织学观察:修剪卵巢组织并行石蜡包埋处理,以 4  $\mu\text{m}$  厚度进行切片并进行 HE 染色,具体方法如下:①脱蜡:切片放置入烘箱中完成烘干操作,温度调节为 60  $^{\circ}\text{C}$ ,时间设定为 0.5 h,完成烘干后将样本拿出快速放置在二甲苯溶液中,浸泡 15 min 后将切片放置在新鲜的二甲苯溶液中完成浸泡处理,时间设定为 15 min,脱蜡操作完成。②水化:切片放入无水乙醇 I 后取出放置进入无水乙醇 II,并以此按照 95%、90%、80%、70% 的顺序放置进乙醇溶液中,时间为 5 min,浸泡完成后需放入自来水中完成冲洗,冲洗时间设定为 3 min。③苏木素染色:苏木素染料浸泡染色,15 min,自来水冲洗 3 min。④伊红染色:伊红染料浸泡染色,2 min,自来水冲洗 3 min。⑤脱水:依次放在 80% 乙醇中,30 s,95% (I)、95% (II)、100% (I)、100% (II) 乙醇各 1 min。⑥透明:切片放入二甲苯 I、II 中各 5 min。⑦封片:脱水后的切片需放置在平整的桌面上,待二甲苯挥发干后,在切片上滴加适量中性树胶进行封片。⑧拍摄:待中性树胶完全干燥后,借助倒置显微镜完成切片的观察以及拍摄操作。

1.6.2 免疫组织化学法 测定卵巢组织中 MMP-9 和 CTGF 的表达,明确为阳性的切片划分为阳性对照组,而 PBS 代替一抗为阴性对照对上述含量表达进行评定,观察到胞浆组织内有棕黄色或者棕褐色的颗粒状物质时判定为阳性,选择合适角度进行拍照处理后,经过 Biosens Digital Imaging System 分析对其影像学的灰度值进行确定,具体方法如下:①脱蜡:与 1.6.1 中 HE 染色中的方法相同。②水化:与 1.6.1 中 HE 染色中的方法相同。③内源性酶灭活:切片滴加 3%  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,室温条件下,避光孵育 10 min,去离子水清洗 5 min,重复 3 次。④抗原修复:切片放在柠檬酸盐冲洗液中浸泡,微波炉加热至沸腾,95  $^{\circ}\text{C}$  保温

10 min,溶液冷却至室温用 PBS 清洗 5 min,重复 3 次。⑤封闭:取 1x 羊血清封闭液滴加于肺组织切片上,随后将切片置于湿盒中,在 37  $^{\circ}\text{C}$  条件下孵育 30 min。⑥孵育一抗:弃去封闭液,向组织切片上滴加一抗 200  $\mu\text{L}$ ,切片组织放置在湿盒中,并将湿盒置于温度为 4  $^{\circ}\text{C}$  的环境下完成孵育过夜。⑦复温清洗:取出切片组织放置在恒温箱中,将温度设定为 37  $^{\circ}\text{C}$ ,完成孵育操作,时间约为 30 min,使用 PBST 清洗 10 min,重复清洗 3 次。⑧孵育二抗过程:向组织上滴入荧光二抗,随后将切片组织放置在湿盒中,调节好恒温环境,在 37  $^{\circ}\text{C}$  条件下孵育 3 h。⑨清洗:吸弃荧光二抗,使用 PBST 清洗 10 min,重复清洗 3 次。⑩脱水、透明、封片方法 HE 染色相同。⑪拍摄:使用显微镜进行切片观察。

1.7 统计学分析 采用 SPSS 17.0 软件进行数据分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,组间采用  $t$  检验,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 造模成功动物数量及过程 本实验共收集 52 只 SD 大鼠,根据不同灌胃给药方法分为对照组和实验组,并采用 Poresky 法进行造模,两组每周 6 测定大鼠体重变化,持续 3 周,并评定造模效果。两组大鼠在制作过程中未发生死亡和感染,结果显示,52 只大鼠造模成功。

2.2 实验模型的改进 应用 Poresky 法进行造模,在此基础上给予胃灌药的同时给予皮下注射,将剂量下调,确保了造模成功率和缩短了给药时间,且 SD 大鼠与人类发育机制相近,已被用于临床各种疾病的造模实验,且 Poresky 法方法造模稳定性较高。

2.3 两组大鼠内分泌改变情况比较 模型组 LH、PRL、睾丸素含量明显高于对照组( $P<0.05$ ),FSH、 $\text{E}_2$  明显低于对照组( $P<0.05$ ),见表 1。

表 1 两组大鼠血清性激素分泌情况比较( $\bar{x}\pm s$ )

Table 1 Serum sex hormone secretion in both groups of rats

组别	$n$	LH (IU/L)	FSH (IU/L)	$\text{E}_2$ (Pmol/L)	PRL (mIU/L)	睾丸素 (nmol/L)
模型组	26	3.98 $\pm$ 2.32 <sup>①</sup>	1.04 $\pm$ 0.37 <sup>①</sup>	69.01 $\pm$ 22.34 <sup>①</sup>	35.11 $\pm$ 21.16 <sup>①</sup>	5.32 $\pm$ 0.23 <sup>①</sup>
对照组	26	1.62 $\pm$ 1.12	2.80 $\pm$ 0.19	87.11 $\pm$ 17.24	22.40 $\pm$ 11.32	2.53 $\pm$ 1.11
$t$		5.003	3.234	4.135	6.250	5.146
$P$		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注:与对照组比较, $P<0.05$ 。

2.4 两组大鼠卵巢中 CTGF 的表达情况 统计切片结果显示,CTGF 在卵巢中卵泡基底膜、白膜、颗粒细胞和窦前卵泡卵泡膜胞浆中均有表达。但在多囊卵

巢综合征模型组卵巢组织中,窦前卵泡卵泡膜、卵泡基底膜中 CTGF 表达情况均有明显变化,故本文只对两者进行讨论;其中模型组大鼠窦前卵泡卵泡膜胞浆

中的 CTGF 表达量较对照组明显偏高 ( $t=4.260, P<0.05$ ); 在卵泡基底膜胞浆以及白膜中, 模型组大鼠的 CTGF 表达量较对照组均有明显升高 ( $t=5.001, P<0.05; t=5.261, P<0.05$ ), 见图 2。

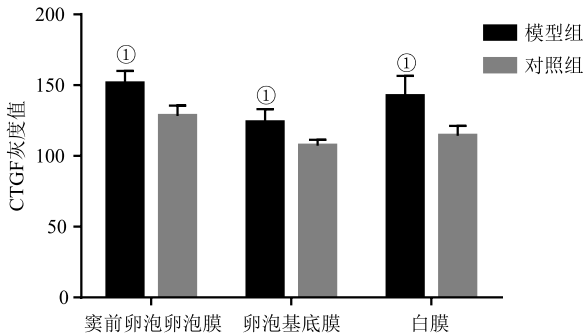


图 2 两组大鼠卵巢组织中 CTGF 的表达情况

Figure 2 Expression of CTGF in ovarian tissues of the two groups

注: 与对照组比较, ①  $P<0.05$ 。

### 2.5 两组大鼠卵巢组织中 MMP-9 的表达情况比较

研究发现 MMP-9 在卵巢颗粒细胞, 卵泡基底膜, 始基卵泡、白膜、窦前卵泡卵泡膜胞浆等组织液内均有表达, 而实验结果也显示, PCOS 大鼠模型组中并不是所有的卵巢组织内的 MMP-9 都会出现表达异常, 只有黄体与卵泡基底膜中 MMP-9 表达情况均有明显变化, 故本文只对两者进行讨论; 模型组 MMP-9 在黄体中的表达明显高于对照组 ( $P<0.05$ ); 卵泡基底膜内的 MMP-9 表达情况低于对照组 ( $P<0.05$ ), 见表 2。

表 2 大鼠卵巢组织中 MMP-9 的表达情况分析 ( $\bar{x} \pm s, \text{ng/mL}$ )

Table 2 Expression of MMP-9 in rat ovarian tissue

组别	n	黄体	卵泡基底膜
模型组	26	136.14 ± 4.25 <sup>①</sup>	103.15 ± 3.27 <sup>①</sup>
对照组	26	123.24 ± 6.32	137.62 ± 4.63
t		4.007	4.106
P		<0.05	<0.05

注: 与对照组比较, ①  $P<0.05$ 。

### 3 讨论

多囊卵巢综合征这一疾病在患者日常工作、生活中具有严重影响, 不利于其正常生理活动, 患者会伴随不排卵、闭经等一些列生理变化, 导致其无法正常受孕, 不仅影响其身心健康, 还会对其家庭和和睦造成不良影响<sup>[6-8]</sup>。该病涉及广泛病理和生理学改变, 如遗传、神经内分泌、物质代谢、卵巢局部调控等变化, 因此该疾病的研究成为生殖内分泌研究人员重点关注项目<sup>[9-10]</sup>。大多数多囊卵巢综合征患者的排卵功能异常, 也有极少数患者伴随稀少排卵, 但是存在黄体功能异常等现象, 因该疾病缺乏深度分析, 针对疾病同卵泡发育以及排卵之间的关联性尚处于待研究或研究状态中<sup>[11-12]</sup>。本次实验的主要目的就是构建

大鼠多囊卵巢综合征模型, 深入研究样本血清性激素水平的变化情况。有文献报道<sup>[13-14]</sup>指出, CTGF 及 MMP-9 在多囊卵巢综合征中表达异常, 可能是由不同分子机制引起的。本研究还深度分析 CTGF、MMP-9 在卵巢组织中的变化以及对应表达现状, 为该病发病机制的后续研究提供一定的参考, 也可以为研究两者背后的分子机制提供一个可以参考的实验数据。

目前动物模型因其操作简单、成功率高和重复性好等优点已被广泛应用于临床各项疾病实验中, 而使用大鼠和兔动物实验较多<sup>[15]</sup>。本文选取 52 只 SD 雌性大鼠进行实验, 因大鼠造模较为稳定, 生长速度快及繁殖能力强等优点, 广泛使用与生长发育的研究, 且本文应用 Poresky 法有效提高了造模成功率, 因此并未发现其他因素对恩赐研究数据以及研究结果的准确性产生的明显影响<sup>[16]</sup>。研究发现, 当多囊卵巢综合征大鼠造模成功后发现血清性激素含量发生较为明显的变化, 另外用药期间研究对象体内的性激素水平与未用药之前对比, 也发生较为明显的变化, 因此分析研究样本体内性激素与该疾病发生、发展存在明显相关性<sup>[17-18]</sup>。本研究显示模型组中 PRL、LH 和睾酮等水平含量明显较对照组升高 ( $P<0.05$ ), 说明模型组中的睾酮在由雄激素转向雌激素时被阻断, 从而导致睾酮蓄积, LH 水平升高与睾酮水平异常表达之间也可能存在一定联系, PRL 的升高会造成卵巢局部 PRL 水平增加, 从而导致雄性激素向雌性激素的转换变化。本研究还发现模型组中 FSH 和  $E_2$  含量明显较对照组下降, 发生这种情况的因素可能与芳香化酶抑制剂造成雌激素合成速率降低有关<sup>[19-20]</sup>。

研究表明, 神经细胞、上皮细胞和血管内皮细胞中均可分泌 CTGF, 此因子在成纤维细胞增殖变化以及有丝分裂过程中发挥重要的促进作用。有研究发现 CTGF 参与了 ECM 形成和多种病理过程, 而这一因子的研究中, 正常卵巢组织中的表达并未明了<sup>[21]</sup>。本研究发现, CTGF 这一因子在黄体组织、白膜组织以及颗粒细胞组织、窦前卵泡膜等胞浆中均有不同程度的表达, 窦前卵泡膜、卵泡基底膜中 CTGF 表达情有明显变化, 模型组各项表达含量高于对照组, 说明 CTGF 的表达与该疾病发生、发展有联系。且实验发现 FSH 可抑制 CTGF 在卵巢组织中的表达, 而本实验 FSH 表达量明显下降, 这可能是该疾病大鼠卵巢组织中 CTGF 高表达的主要原因之一<sup>[22-23]</sup>。MMP-9 属于胶原酶, 此指标在破骨细胞中表达量较高。研究发现 MMP-9 与细胞转移和组织重建有明显相关性, 且在雌性动物体内发现 MMP-9 随着生理周

期的波动而变化<sup>[24-25]</sup>。本研究发现, MMP-9 在窦前卵泡膜胞浆、颗粒细胞、始基卵泡和白膜中均有表达, 但 MMP-9 在黄体 and 基底膜胞浆中的表达较其他细胞中的表达更加明显, 与对照组比较具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

#### 4 结论

卵巢中 CTGF 水平变化与该疾病中小卵泡过多表达或者排卵障碍之间存在一定关联性, MMP-9 则与多囊卵巢综合征的排卵障碍之间存在关联性。

#### 【参考文献】

- [1] ZHOU F, SHI L B, ZHANG S Y. Ovarian Fibrosis: A Phenomenon of Concern[J]. Chin Med J (Engl), 2017, 130(3): 365-371.
- [2] MORAN L J, LOMBARD C B, LIM S, *et al.* Polycystic ovary syndrome and weight management[J]. Womens Health(Lond), 2010, 6(2): 271-283.
- [3] 赵志明, 徐素欣, 刘敬泽. 多囊卵巢综合征患者卵泡液和血清中 MMP-2、MMP-9、TIMP-2、TIMP-1 水平分析[J]. 河北医科大学学报, 2012, 33(8): 869-873.
- [4] 王威, 乔杰, 李美芝, 等. 多囊卵巢综合征妇女促排卵后着床窗口期子宫内膜 MMP-9 和 TIMP-1 的表达[J]. 中国生育健康杂志, 2005, 16(5): 271-273, 276, 封 3.
- [5] SU Y, WU J, HE J, *et al.* High insulin impaired ovarian function in early pregnant mice and the role of autophagy in this process[J]. Endocr J, 2017, 64(6): 613-621.
- [6] 蔡志明, 孙涛声. 多囊卵巢综合征不孕女性血清 INHB、AMH、bFSH 水平及评估卵巢储备功能价值[J]. 中国计划生育学杂志, 2023, 31(3): 586-589.
- [7] 王瑞杰, 李晖, 邱方, 等. 补肾活血化痰汤对多囊卵巢综合征模型大鼠卵巢血供及形态的影响[J]. 中国药房, 2017, 28(4): 479-482.
- [8] MOORE A M, CAMPBELL R E. Polycystic ovary syndrome: Understanding the role of the brain [J]. Front Neuroendocrinol, 2017, 46: 1-14.
- [9] 赵彦楠, 刘洪祥, 马晓欣. 晚期糖基化终产物受体在多囊卵巢综合征大鼠模型中的表达[J]. 中国医科大学学报, 2017, 46(9): 769-772.
- [10] 刘莉, 熊露, 胡雅君, 等. IGF-I 和 IGF-II 在多囊卵巢综合征大鼠模型卵巢组织中的表达及意义[J]. 中国妇幼保健, 2019, 34(5): 1152-1155.
- [11] 陈兰, 谈勇, 陈淑萍. 定坤丹对 PCOS 模型大鼠 TGF- $\beta$ 1、CTGF 和 AR 表达的影响[J]. 中国免疫学杂志, 2018, 34(2): 218-222.
- [12] 张瑞端, 潘文, 康开彪, 等. 补肾化痰方对多囊卵巢综合征模型大鼠细胞因子 NF- $\kappa$ B(P65) 的影响[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(6): 2703-2706.
- [13] 陈欣, 宋岩, 邓永志, 等. 补肾活血方对多囊卵巢综合征大鼠抗苗勒氏管激素作用[J]. 中医临床研究, 2017, 9(17): 1-3.
- [14] 高雪, 张悦, 李霞. CTGF 在多囊卵巢综合征中的表达及对卵巢颗粒细胞增殖凋亡的影响研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2017, 16(17): 1686-1689.
- [15] SONG D K, HONG Y S, SUNG Y A, *et al.* Insulin resistance according to  $\beta$ -cell function in women with polycystic ovary syndrome and normal glucose tolerance[J]. Plos One, 2017, 12(5): e0178120.
- [16] LOWE P, KOVACS G, HOWLETT D, *et al.* Incidence of polycystic ovaries and polycystic ovary syndrome amongst women in Melbourne, Australia[J]. Aust N Z J Obstet Gynaecol, 2005, 45(1): 17-19.
- [17] 刘彩云, 郭影. 结缔组织生长因子在去卵巢大鼠骨丢失中的作用[J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(2): 310-312.
- [18] 董小敏, 李睿, 杨进, 等. miR-204-5p 对卵巢早衰大鼠卵巢颗粒细胞凋亡的调控机制[J]. 西部医学, 2021, 33(5): 636-643, 649.
- [19] 范刚, 王经全. 腹腔镜手术剥离卵巢皮样囊肿的临床价值[J]. 西部医学, 2011, 23(12): 2373-2374.
- [20] 孙亚男. 多囊卵巢综合征模型大鼠卵巢中结缔组织生长因子及基质金属蛋白酶 9 的表达[J]. 中国组织工程研究, 2015(27): 4412-4416.
- [21] 于鸿, 叶军, 焦霞, 等. 结缔组织生长因子反义寡核苷酸对胰腺瘤细胞基质金属蛋白酶-9、血管内皮生长因子表达及细胞增殖与侵袭的影响[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2012, 6(16): 4615-4620.
- [22] 李灿宇, 王婷婷, 刘欢欢, 等. SIS3 抑制 TGF  $\beta$ 1/Smad3 信号通路对大鼠宫腔粘连的影响及其机制[J]. 中华妇产科杂志, 2019, 54(7): 470-474.
- [23] 原振宇, 刘梅梅, 张艳华, 等. 两种多囊卵巢综合征动物模型比较及来曲唑诱导的动物模型卵巢组织中血管内皮生长因子和内皮素 1 的表达[J]. 国际免疫学杂志, 2015, 38(2): 124-128.
- [24] 田洪成, 马鹤, 张向卉, 等. 表皮-钙黏蛋白、增殖细胞核抗原在来曲唑诱导大鼠多囊卵巢综合征模型卵巢中的表达[J]. 实用妇产科杂志, 2023, 39(3): 217-220.
- [25] 周嘉禾, 陈志静, 李洁明, 等. PGRMC1 在多囊卵巢综合征患者中的表达及其调控卵巢颗粒细胞凋亡和糖脂代谢的分子机制[J]. 中南大学学报(医学版), 2023, 48(4): 538-549.

(收稿日期: 2022-09-04; 修回日期: 2023-08-07; 编辑: 刘灵敏)