



卵巢早衰动物模型制备研究进展

成杰^{1,3}, 丁利军², 胡娅莉³

(1. 东南大学医学院, 南京 210009; 2. 南京大学医学院附属鼓楼医院生殖医学中心, 南京 210008;
3. 南京大学医学院附属鼓楼医院妇产科, 南京 210008)

【摘要】 卵巢早衰是一种典型异质性疾病, 病因复杂多样。近年来, 卵巢早衰的发病率有明显上升趋势, 严重影响妇女身心健康和生活质量。建立一种理想可靠的卵巢早衰动物模型对研究卵巢早衰有着重要的临床意义。本文就国内外学者建立的卵巢早衰动物模型作一综述, 讨论比较各种方法的优缺点。

【关键词】 卵巢早衰; 动物模型; 雷公藤多苷

【中图分类号】 R33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2013)04-0066-05

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2013.004.015

Research progress of the establishment of animal models of premature ovarian failure

CHENG Jie^{1,3}, DING Li-jun², HU Ya-li³

(1. Medical School, Southeast University, Nanjing 210009, China; 2. Reproductive Medical Center,
3. Department of Obstetrics and Gynecology, Drum Tower Hospital Affiliated to Nanjing University
Medical School, Nanjing 210008)

【Abstract】 Premature ovarian failure (POF) is a typical heterogeneous disease developed due to diverse causes. In recent years, studies show a significant increase of its incidence. POF seriously affect physical and mental health of women. A reproducible and reliable animal model plays an important role in POF research. This review will summarize the relatively successful animal models established by researchers at home and abroad and briefly discuss their advantages and disadvantages.

【Key words】 Premature ovarian failure; Animal model; Tripterygium glycosides

卵巢早衰 (premature ovarian failure, POF) 是指发生在 40 岁以前女性的卵巢功能衰竭。近年来, POF 的发病率逐年上升, 已从不到 1%^[1] 上升到约 3.5%^[2]。据统计 4% ~ 18% 的继发性闭经患者及 10% ~ 20% 的原发性闭经患者确诊为 POF, POF 严重影响妇女身心健康和生活质量, 引发骨、心脑血管以及神经系统等病变^[3]。卵巢早衰是典型的异

质性疾病, 由于病因复杂, 机制尚且不明, 为临床治疗带来一定困难。建立一种理想可靠的卵巢早衰动物模型是研究卵巢早衰的重要手段, 也是深入研究和探讨卵巢早衰病因、发展、治疗的基础。目前国内学者从卵巢早衰的发病原因出发, 构建了多种模型, 但是对卵巢早衰模型建立的标准缺乏, 部分模型重复性、稳定性差。本课题组现将近年来较

[基金项目] 国家 973 计划项目 (2010CB945105)。

[作者简介] 成杰 (1988 -), 男, 江苏南通人, 东南大学医学院在读硕士研究生, 研究方向: 妇产科学。

[通讯作者] 胡娅莉, 女, 主任医师, 博士生导师, 研究方向: 妇产科学 E-mail: yali_hu@hotmail.com。

成熟的模型作一综述。

1 自身免疫模型

1988 年, LaBarbera 等在临床上发现自身免疫性卵巢疾病与部分女性卵巢早衰的发生相关^[4]。Horejsi 等通过调查原发性闭经患者 13 例, 发现其中 5 例患者抗透明带抗体阳性, 同时调查继发性闭经患者 60 例, 有 14 例患者抗透明带抗体阳性^[5]。因此利用自身免疫性卵巢炎制备动物模型具有一定的临床意义, 其具体机制尚不明确, 可能与调节性 T 细胞的缺乏有关, 导致卵巢对自身抗体免疫反应过强而产生自身免疫性卵巢炎, 从而导致卵巢的损伤^[6]。主要常见的造模方法有:

1.1 新生小鼠胸腺切除

Taguchi 等摘除小鼠胸腺后 3 d, 通过间接免疫荧光法发现 74% 的 B6A 小鼠出现了抗卵巢抗体, 92% 的 C31 小鼠出现了抗卵巢抗体^[7]; Tong 等将刚出生 2~4 d 的幼鼠麻醉后切开胸骨, 将两片胸腺用玻璃吸管吸出后封闭切口, 继续与母鼠饲养, 结果 14 d 后 90% 的幼鼠出现了自身免疫性卵巢炎并伴有卵巢早衰的表现, 而且发现幼鼠产生一种大小为 125 kDa 的血清抗体, 定位于卵母细胞质中, 命名为卵巢浆特异性抗体-1 (ooplasm-specific protein 1, OP-1)^[8]。

1.2 透明带 (zona pellucida, ZP) 抗原免疫

1994 年, Smith 等首次报道了抗透明带抗体 (anti-ZP antibodies) 与 POF 的发生相关^[9]。Rhim 等以透明带 3 抗原诱导产生了自身免疫性卵巢炎, 发现单次注射后, 86% 的 B6AF₁ 小鼠产生了卵巢炎, 注射后第 6 天淋巴细胞充满了卵巢的间质区^[10]。付莉等根据小鼠卵巢透明带 3 的第 330-342 个氨基酸序列, 合成透明带多肽为免疫原, 于小鼠双后脚掌处进行皮下注射 0.1 mL, 结果发现 70% 的模型组小鼠表现为性周期紊乱, 其中 50% 无周期性、持续停留在动情期, 80% 的模型组小鼠出现外周血抗透明带抗体阳性, 90% 的模型组小鼠发生自身免疫性卵巢炎^[11]。

2 代谢模型

Guerreero 等研究发现半乳糖血症可导致育龄期女性原发及继发性闭经, 不孕及卵巢早衰^[12]。半乳糖血症为一种常染色体隐性遗传病, 是由于半乳糖-1-磷酸盐尿苷转移酶 (galactose-1-phosphate uridylyltransferase, GALT) 缺乏所致, 其导致卵巢损伤

的原因与半乳糖本身及其代谢产物对卵巢的损害有关^[13]。Bandyopadhyay 等通过外源性给予半乳糖的方法建立了大鼠 POF 模型^[14]。具体方法为: 给予怀孕第 3 d 的 SD 大鼠饲料里添加 35% 的半乳糖至断奶, 发现胎鼠体内原始生殖细胞明显减少, 同时发现实验组幼仔发情期显著推迟, FSH 水平显著上升, E₂ 水平显著降低, 卵巢出现病理损伤, 卵巢功能下降, 对 PMSG 联合 hCG 诱导的促排反应明显减弱^[15]。李洁等选用 8-12 周龄的昆明小鼠, 实验组给予外源性补充半乳糖食物丸, 对照组给予正常食物丸。在饲养 70 d 后实验组卵巢缩小, 重量为 (0.0223 ± 0.0032) g/卵巢, 显著低于对照组 (0.0301 ± 0.0055 g/卵巢, $P < 0.001$); 实验组血清 E₂ 为 (2.979 ± 0.393) pg/mL, 显著低于对照组 (9.701 ± 1.157) pg/mL, $P < 0.001$; 实验组血清 FSH 为 (2.836 ± 0.620) mIU/mL, 显著高于对照组 (1.058 ± 0.279) mIU/mL, $P < 0.001$ 。同时第 50 天和第 70 天行促排卵处理, 和对照组相比, 实验组卵母细胞数目显著减少^[16]。

3 基因敲除 (knock-out, KO) 模型

基因敲除是通过一定的途径使机体特定的基因失活或缺失的分子生物学技术。目前最普遍的是应用 DNA 同源重组原理, 用设计的同源片段替代靶基因片段, 从而达到基因敲除的目的。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。近年来, POF 基因敲除模型引起了越来越多的重视, 与之相关的研究也成为热点, 为 POF 病因的阐述做出了重要贡献, 但尚不能完全解释清楚 POF 病因。2010 年 Jagarlamudi 曾综述与 POF 相关的基因敲除小鼠模型^[17], 结合最近新发现的基因, 将与 POF 相关的主要基因敲除小鼠模型列表如下 (表 1)。目前研究比较确切的有 PTEN 敲除鼠和 FOXL2 敲除鼠等。Reddy 等发现当小鼠 PTEN 基因敲除之后, 原始卵泡池被激活, 在出生后第 23 天时, 敲除组已经没有明显的原始卵泡, 但是对照组仍有 69.2% 的卵泡为原始卵泡。小鼠在 12 周~13 周之后变得不孕, 敲除组血清 FSH 和 LH 水平也明显增高 ($P < 0.001$)^[18]。Schmidt 等研究发现当小鼠体内 FOXL2 基因突变后, 小鼠颗粒细胞停止发育, 卵母细胞逐渐闭锁, 8 周时原始卵泡池耗竭, 16 周时卵巢无正常的卵母细胞和卵泡, 致使小鼠不孕, 说明 FOXL2 参与卵泡发育^[19]。

表 1 导致类似 POF 表型的候选基因小鼠敲除模型^[17]
Tab. 1 KO mouse models exhibit phenotypes that are similar to POF in humans

小鼠模型 Mouse models	生育情况 Reproductive phenotype	小鼠模型 Mouse models	生育情况 Reproductive phenotype
AR KO	生育力低下, 40 周时卵泡完全丢失	Lhx8 KO	不孕, 出生后 7 d 卵母细胞缺失
Atm KO	无生育力	Lsh KO	不孕, 出生后 7 d 卵泡缺失
Akt1 ^[20] KO	生育力降低, 卵泡数减少	Msh4 KO	不孕, 出生后 4 d 卵母细胞缺失
Bcl-x KO	无生育力, 胚胎第 15.5 d 时原始生殖细胞减少	Msh5 KO	不孕, 2~3 个月卵母细胞缺失
Bmp4 KO	胚胎期原始生殖细胞丢失	Nanos3 KO	不孕, 胚胎第 12.5 d 原始生殖卵母细胞耗竭
Bmp2 KO	原始生殖细胞减少	Nobox KO	不孕, 出生后第 14 天卵母细胞缺失
Bmp8b KO	原始生殖细胞减少	P27kip1 KO	不孕, 12 周时大部分卵泡缺失
Bmp15 KO	生育力低下, 排卵和受精率减少	PDK1 ^[22] KO	不孕, 8 周时大部分卵泡缺失
Cdk2 KO	不孕, 出生后第 2 天卵泡减少	Pin1 KO	出生时卵母细胞数量减少
Connexin 37 KO	不孕, 卵泡发育停滞	Pog KO	不孕, 原始生殖细胞增殖受损
Connexin43 KO	出生后死亡, 原始生殖细胞减少, 向初级卵泡分化受损	Pten KO	生育力低下, 16 周时所有卵泡耗竭
CPEB KO	胚胎第 18.5 d 卵母细胞缺失, 3 周卵巢不成型	Rec8 KO	不孕, 出生后 5 d 时卵母细胞缺失
Dazla KO	不孕, 胚胎第 19 天生殖细胞/卵母细胞缺失	Skp2 ^[23] KO	生育力低下, 性成熟后卵子减少
Dmcl KO	不孕, 胚胎第 17.5 d 卵原细胞缺失, 出生后 31 d 卵母细胞缺失	Smad5 KO	原始生殖细胞减少
ER α KO	不孕, 排卵缺陷	Smad1 KO	原始生殖细胞减少
Fanca KO	生育力低下, 6 个月时卵泡耗竭	Sohlh1 KO	不孕, 出生 21 d 卵母细胞缺失
Fance KO	不孕, 没有幼仔或者只有一个幼仔, 10 周时卵泡耗竭	SPO11 KO	不孕, 胚胎第 15.5 d 卵原细胞数减少
Fancg KO	生育力低下, 36 周时卵泡耗竭	Steel Panda 突变	不孕, 出生后第 45 天大部分卵泡缺失
Figla KO	不孕, 出生后 2 d 生殖细胞消失	Steel (Sl) 缺乏	不孕, 卵巢缺失生殖细胞
Follistatin KO	不孕, 大约出生后生殖细胞缺失	Taf4b KO	不孕, 卵泡形成受损
Foxl2 KO	不孕, 卵泡发育停滞, 16 周时所有卵泡缺失	Tbp2 ^[24] KO	不孕, 卵泡形成受损
Foxo3a KO	生育力低下, 18 周时所有卵泡缺失	Tiar KO	不孕, 胚胎第 13.5 时卵原细胞缺失
Fsh β KO	不孕, 卵泡形成受限	Tsc1 ^[25] KO	不孕, 8 周时大部分卵泡开始降解
Fshr KO	不孕, 卵巢发育受限	White spotting (W) c-Kit 缺乏	不孕, 卵巢缺失生殖细胞
Gdf-9 KO	不孕, 卵泡形成受限	Wnt-4 KO	不孕, 出生时卵母细胞减少
Gata-4 ^[21] KO	生育力低下, 卵泡发育受限	Zfx KO	生育力低下, 胚胎第 11.5 d 时原始生殖细胞减少
Inhibin- α KO	不孕, 颗粒细胞肿瘤化增生		

4 抗肿瘤药物模型

临床发现血液病、肿瘤病患者在接受化疗药物治疗后卵巢功能常受到损害^[26], 如何恢复化疗后育龄期妇女的生殖能力是目前关注的热点, 因此很多研究选择化疗药物来构建 POF 动物模型。比较常见的用于制备卵巢早衰动物模型的抗肿瘤药物包括紫杉醇 (paclitaxel)、顺铂 (cisplatin)、环磷酰胺 (cyclophosphamide, CTX) 和雷公藤多苷 (tripterygium glycosides)。

4.1 化疗药物模型

Fatih 等发现 5-6 周 BALB/c 小鼠腹腔分别注射 2.5、5.0、7.5 mg/kg 的紫杉醇 7 d 后, 其原始卵泡数出现明显变化, 7.5 mg/kg 紫杉醇组相比于正常对照组降低了 36% (353.8 \pm 94.8 vs. 227.7 \pm 45.8,

$P = 0.001$)^[27]。Mehmet 等则分别利用紫杉醇和顺铂建立大鼠 POF 模型, 分别给予腹腔注射 7.5 mg/kg 紫杉醇和 5 mg/kg 顺铂, 对照则腹腔注射灭菌生理盐水。统计发现, 对照组的原始卵泡为 23.07 \pm 16.11, 而紫杉醇组为 10.3 \pm 13.04 ($P = 0.001$), 顺铂组为 13.9 \pm 15.2 ($P = 0.01$), 均出现显著下降, 同时紫杉醇组和顺铂组相比差异没有显著性^[28]。1999 年 Meirou 等给小鼠注射环磷酰胺, 发现对卵巢有损害, 并且随着浓度增大, 卵巢的原始卵泡数越少^[29]。何援利等腹腔注射环磷酰胺, 负荷剂量 50 mg/kg 后以 8 mg/kg·d 的维持剂量连续注射 14 d, 发现大鼠卵巢功能明显衰退, 卵巢组织学及内分泌改变与临床卵巢早衰患者相似, 大鼠动情周期在注射药物 7~10 d 后发生紊乱, 表现为持续的动情间期、无动情前期或动情期。同时血清雌激素水平

降低和 FSH 升高,大鼠的总卵泡数、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^[30]。

4.2 雷公藤多苷模型

雷公藤多苷作为一种传统中药,具有免疫抑制、抗炎作用,目前主要应用为自身免疫性疾病,如肾小球肾炎、类风湿关节炎^[31]。近年来,由于其主要成分雷公藤内酯醇具有抗胰腺癌作用引起国内外的重视^[32,33]。临床上发现雷公藤多苷具有明显的生殖损伤作用,秦万章等^[34]报告育龄妇女长期服用雷公藤可导致月经紊乱,月经量减少,甚至闭经。因此雷公藤多苷可用于制备卵巢早衰模型。Yu 等用 40 mg/kg·d 雷公藤多苷给 12 周龄 SD 大鼠连续灌胃 10 周后,大鼠表现出卵巢衰竭的特征,表现出动情周期紊乱,延长至 7~8 d,卵巢指数(ovarian index)的下降,模型组为 34.29 ± 2.51 mg/100 g,明显低于对照组(45.32 ± 3.2 mg/g, $P < 0.05$);雌激素水平降低,正常对照组血清雌激素为 57.27 ± 4.61 pg/mL,而模型组血清雌激素明显下降,为 27.30 ± 7.24 pg/mL,相比差异有显著性($P < 0.05$);抑制素 B(inhibin B, INHB)水平也有明显的下降,对照组为 21.45 ± 6.99 pg/mL,而模型组为 (13.36 ± 2.93) pg/mL($P < 0.05$)^[35]。高慧等比较了不同浓度雷公藤灌胃来构建 SD 大鼠卵巢早衰模型的效果,发现 50 mg/kg·d 连续 14 d 灌胃后,卵巢组织中各级卵泡减少,部分卵泡内可见淋巴细胞浸润^[36]。

5 小结

随着对 POF 研究的逐渐深入,成功的 POF 动物模型愈发显出其重要性。关于 POF 动物模型报道并不少见,综合起来较为常见的有自身免疫性疾病模型、半乳糖血症模型、基因模型和化疗药物模型。这些方法其实都侧重于不同的病因学,均有着各自的独特性和局限性。

基因敲除模型优势在于能明确某一基因的作用,对阐述 POF 发生的机制有重要的作用,但是往往一种基因敲除模型只能解释一个或者某几个基因,而 POF 的发生不仅仅是一个基因的缺陷或突变导致的,因而不能完全解释 POF 病因,在后续的治疗及临床意义方面有其局限性,同时又由于敲除小鼠模型成本较高,难以推广。

半乳糖血症为常染色体显性遗传病,该模型可

以较好地使动物出现 POF 表型,但是半乳糖血症在临床中发病率很低,上海市新生儿筛查 30 余万例中没有出现半乳糖血症患儿^[37],半乳糖血症导致的 POF 临床病例很少,缺乏实用的临床意义。同时有文献报道以半乳糖血症为模型构建的 POF 模型尽管卵泡数出现了明显的下降,但是其生育能力是正常的^[38]。

自身免疫性疾病和化疗药物模型目前国内外研究都很多,堪称经典模型,都有着各自的临床意义,可作为探讨 POF 发病机制和病理改变的实验性模型,但往往人们把关注的重点放在血清雌激素的变化和卵泡数的减少上,缺乏生育功能的研究。雷公藤作为传统中药,在构建 POF 模型方面有重要的意义,同时由于其简单易行,不失为一种较好的方法,但是目前缺乏可靠性及重复性,需要进行更进一步研究。

卵巢早衰目前临床上缺乏明确的诊断标准,Shelling 认为低于 40 岁的妇女因某种原因导致的闭经、低雌激素水平和高促性腺激素水平,伴随着 POF 的进展出现不孕,可以诊断为 POF^[39]。因此生育实验在验证 POF 模型中显得尤为重要。我们认为良好的卵巢早衰模型应包含下列几个因素:(1)动情周期的改变;(2)血清雌激素明显降低;(3)卵泡数显著减少;(4)生育试验证实产仔数明显减少。以上 4 点符合人类 POF 疾病特征,反应了卵巢早衰所导致的卵巢损伤。在实际研究中应根据研究的条件和目的来选择合适的 POF 动物模型,更好地进行 POF 机制、发展、治疗的深入研究。

参考文献:

- [1] Coulam CB, Adamson SC, Annegers JF. Incidence of premature ovarian failure [J]. *Obstet Gynecol*, 1986, 67(4): 604-606.
- [2] Anasti JN. Premature ovarian failure: an update [J]. *Fertil Steril*, 1998, 70(1): 1-15.
- [3] Taylor AE. Systemic adversities of ovarian failure [J]. *J Soc Gynecol Invest*, 2001, 8(1): S7-S9.
- [4] LaBarbera AR, Miller MM, Ober C, et al. Autoimmune etiology in premature ovarian failure [J]. *Am J Reprod Immunol Microbiol*. 1988, 16(3): 115-122.
- [5] Horejs í 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.
- [6] Tuohy VK, Altuntas CZ. Autoimmunity and premature ovarian failure [J]. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2007, 19(4): 366-369.

- [7] Taguchi O , Nishizuka Y , Sakakura T , et al. Autoimmune oophoritis in thymectomized mice: detection of circulating antibodies against oocytes [J]. *Clin Exp Immunol* , 1980 , 40 (3) : 540 - 553.
- [8] Tong ZB , Nelson LM. A mouse gene encoding an oocyte antigen associated with autoimmune premature ovarian failure [J]. *Endocrinology* , 1999 , 140(8) : 3720 - 3726.
- [9] Smith S , Hosid S. Premature ovarian failure associated with autoantibodies to the zona pellucida [J]. *Int J Fertil Menopausal Stud* , 1994 , 39(6) : 316 - 319.
- [10] Rhim SH , Millar SE , Robey F , et al. Autoimmune disease of the ovary induced by a ZP3 peptide from the mouse zona pellucida [J]. *J Clin Invest* , 1992 , 89(1) : 28 - 35.
- [11] 付莉 , 赵怡璇 , 李守柔. 卵巢早衰实验动物模型的建立 [J]. *生殖医学杂志* , 2006 , 15(3) : 179 - 183.
- [12] Guerrero NV , Singh RH , Manatunga A , et al. Risk factors for premature ovarian failure in females with galactosemia [J]. *J Pediatr* , 2000 , 137(6) : 833 - 841.
- [13] Forges T , Monnier-Barbarino P , Leheup B , et al. Pathophysiology of impaired ovarian function in galactosaemia [J]. *Hum Reprod Update* , 2006 , 12(5) : 573 - 584.
- [14] Bandyopadhyay S , Chakrabarti J , Banerjee S , et al. Prenatal exposure to high galactose adversely affects initial gonadal pool of germ cells in rats [J]. *Hum Reprod* , 2003 , 18(2) : 276 - 282.
- [15] Bandyopadhyay S , Chakrabarti J , Banerjee S , et al. Galactose toxicity in the rat as a model for premature ovarian failure: an experimental approach readdressed [J]. *Hum Reprod* , 2003 , 18 (10) : 2031 - 2038.
- [16] 李洁 , 杨菁 , 陈媛 , 等. D(+) 半乳糖对小鼠卵巢功能影响的实验性研究 [J]. *中国优生与遗传杂志* , 2006 , 14(12) : 98 - 100.
- [17] Jagarlamudi K , Reddy P , Adhikari D , et al. Genetically modified mouse models for premature ovarian failure (POF) [J]. *Mol Cell Endocrinol* , 2010 , 315(1 - 2) : 1 - 10.
- [18] 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.
- [19] Schmidt D , Ovitt CE , Anlag K , et al. The murine winged-helix transcription factor Foxl2 is required for granulosa cell differentiation and ovary maintenance [J]. *Development* , 2004 , 131(4) : 933 - 942.
- [20] Brown C , LaRocca J , Pietruska J , et al. Subfertility caused by altered follicular development and oocyte growth in female mice lacking PKB/alpha/Akt1 [J]. *Biol Reprod* , 2010 , 82(2) : 246 - 256.
- [21] Bennett J , Wu YG , Gossen J , et al. Loss of GATA-6 and GATA-4 in granulosa cells blocks folliculogenesis , ovulation , and follicle stimulating hormone receptor expression leading to female infertility [J]. *Endocrinology* , 2012 , 153(5) : 2474 - 2485.
- [22] Reddy P , Adhikari D , Zheng W , et al. PDK1 signaling in oocytes controls reproductive aging and lifespan by manipulating the survival of primordial follicles [J]. *Hum Mol Genet* , 2009 , 18(15) : 2813 - 2824.
- [23] Fotovati A , Abu-Ali S , Nakayama K , et al. Impaired ovarian development and reduced fertility in female mice deficient in Skp2 [J]. *J Anat* , 2011 , 218(6) : 668 - 677.
- [24] Gazdag E , Santenard A , Ziegler-Birling C , et al. TBP2 is essential for germ cell development by regulating transcription and chromatin condensation in the oocyte [J]. *Genes Dev* , 2009 , 23 (18) : 2210 - 2223.
- [25] Adhikari D , Zheng W , Shen Y , et al. Tsc/mTORC1 signaling in oocytes governs the quiescence and activation of primordial follicles [J]. *Hum Mol Genet* , 2010 , 19(3) : 397 - 410.
- [26] Schover LR , Rybicki LA , Martin BA , et al. Having children after cancer. A pilot survey of survivors' attitudes and experiences [J]. *Cancer* , 1999 , 86(4) : 697 - 709.
- [27] Fatih G. Effect of paclitaxel on primordial follicular reserve in mice [J]. *Fertil Steril* , 2001 , 76(3) : 628 - 629.
- [28] Yucebilgin MS , Terek MC , Ozsaran A , et al. Effect of chemotherapy on primordial follicular reserve of rat: an animal model of premature ovarian failure and infertility [J]. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* , 2004 , 44(1) : 6 - 9.
- [29] Meirou D , Lewis H , Nugent D , et al. Subclinical depletion of primordial follicular reserve in mice treated with cyclophosphamide: clinical importance and proposed accurate investigative tool [J]. *Hum Reprod* , 1999 , 14 (7) : 1903 - 1907.
- [30] 付霞霏 , 何援利. 化疗所致卵巢早衰动物模型的建立 [J]. *广东医学* , 2008 , 29(12) : 1952 - 1954.
- [31] 李昌 , 李玲. 不同剂量雷公藤治疗类风湿性关节炎的临床观察 [J]. *福建中医药* , 1995 , 26(2) : 11.
- [32] Phillips PA , Dudeja V , McCarroll JA , et al. Triptolide induces pancreatic cancer cell death via inhibition of heat shock protein 70 [J]. *Cancer Res* , 2007 , 67(19) : 9407 - 9416.
- [33] Chugh R , Sangwan V , Patil SP , et al. A preclinical evaluation of Minnelide as a therapeutic agent against pancreatic cancer [J]. *Sci Transl Med* . 2012 , 4(156) : 156 - 139.
- [34] 秦万章. 雷公藤治疗红斑性狼疮等结缔组织病的研究体会 [J]. *江苏医药* , 1987 , 13(12) : 655.
- [35] 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.
- [36] 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.
- [37] 叶军 , 顾学范 , 沈永年 , 等. 上海部分地区 19 年新生儿疾病筛查回顾 [J]. *广东医学* , 2000 , 21(7) : 540 - 541.
- [38] Chen YT , Mattison DR , Feigenbaum L , et al. Reduction in oocyte number following prenatal exposure to a diet high in galactose [J]. *Science* , 1981 , 214(4525) : 1145 - 1147.
- [39] Shelling AN. Premature ovarian failure [J]. *Reproduction* , 2010 , 140(5) : 633 - 641.

(修回日期)2013-02-18