

· 基础研究 ·

隐丹参酮对 Akt2 基因缺失雌鼠生殖功能及其效应机制的影响

王宇^{1,2} 胡敏² 张跃辉² 王馨悦³ 韩亚光² 丛晶² 李威² 吴效科²

摘要 **目的** 评估隐丹参酮对 Akt2 基因缺失雌鼠生殖功能的影响并探讨其分子机制。**方法** 将 12 周龄 Akt2 基因缺失 (Akt2^{-/-}) 雌鼠 50 只按不同干预方法分为 Akt2^{-/-} 对照组 (简称 Akt KO 组, 25 只) 及 Akt2^{-/-} 治疗组 (简称 Akt KO-cry 组, 25 只), 并将与其同窝出生的具有完整 Akt2 基因 (Akt2^{+/+}) 雌鼠 25 只设为 Akt2^{+/+} 对照组 (简称 WT 组)。Akt KO-cry 组给予隐丹参酮连续 2 周灌胃治疗, 而 Akt KO 组和 WT 组则给予等体积生理盐水灌胃。各组治疗结束后均进行口服葡萄糖耐量试验, 随后进行每日阴道涂片观察动情周期变化情况, 于动情间期进行取材并称重 (双侧卵巢、双侧子宫、子宫旁脂肪及腹股沟脂肪)。放射免疫法测定各组小鼠血清 17 羟孕酮 (17 α -hydroxy progesterone, 17 α -OHP) 及胰岛素 (insulin, INS) 水平。RT-PCR 法检测类固醇合成急性调节蛋白 (steroidogenic acute-regulatory protein, Star)、胆固醇侧链裂解酶 (cholesterol side-chain cleavage enzyme, Cyp11a1)、3 β 羟类固醇脱氢酶 (3 β -hydroxy steroid dehydrogenase, 3 β -HSD) 及 17 α -羟化酶 (17 α -hydroxylase, Cyp17a1) mRNA 的表达水平。**结果** Akt KO 组 17 α -OHP、INS、糖后 30 min、糖后 60 min 血糖及卵巢组织中 Star、Cyp11a1、3 β -HSD 及 Cyp17a1 mRNA 表达水平均显著高于 WT 组 ($P < 0.05$)。隐丹参酮治疗后, 与 Akt KO 组比较, Akt KO-cry 组子宫旁脂肪重量、17 α -OHP、INS、糖后 60 min 血糖、Star 及 3 β -HSD mRNA 表达的水平均显著降低 ($P < 0.05$)。**结论** Akt2 基因缺失导致雄激素水平升高及糖代谢异常, 分子机制为雄激素合成关键酶的表达升高。隐丹参酮可显著降低 17 α -OHP、INS 及血糖水平, 作用机制为降调雄激素合成关键酶的表达, 而其改善糖代谢及 INS 增敏作用的分子机制有待进一步研究。

关键词 隐丹参酮; Akt2 基因; 雄激素; 胰岛素

Effects and Mechanism of Cryptotanshione on Reproductive Function in the Female Mice Lacking of Akt2 WANG Yu^{1,2}, HU Min², ZHANG Yue-hui², WANG Xin-yue³, HAN Ya-guang², CONG Jing², LI Wei², and WU Xiao-ke² 1 Graduate School, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin (150040); 2 Department of Gynecology, First Affiliated Hospital, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin (150040); 3 First Clinical Medical College, Mudanjiang Medical University, Heilongjiang (157000)

ABSTRACT **Objective** To evaluate the effect of cryptotanshinone on the reproductive function in the female mice lacking of Akt2, and to study its molecular mechanism. **Methods** Totally 12 weeks old female Akt2^{-/-} mice and littermate wide type female Akt2^{+/+} mice were recruited in this study. Mice were divided into three groups: Akt2^{+/+} control group (WT group, $n = 25$), Akt2^{-/-} control group (Akt KO group, $n = 25$), and Akt2^{-/-} treatment group (Akt KO-cry group, $n = 25$). Mice in Akt KO-cry group were treated with cryptotanshinone by gastrogavage. Mice in Akt KO group and WT group were treated with equal volume of normal saline by gastrogavage. The treatment cycle was 2 weeks. Oral glucose tolerance

基金项目: 国家公益性中医行业专项 (No. 201507001); 国家中医药管理局国家中医临床研究基地业务建设科研专项 (No. JDZX2015060)

作者单位: 1. 黑龙江中医药大学研究生院 (哈尔滨 150040); 2. 黑龙江中医药大学附属第一医院妇科一科 (哈尔滨 150040); 3. 牡丹江医学院第一临床学院 (黑龙江 157000)

通讯作者: 吴效科, Tel: 13796025599, E-mail: xiaokewu2002@vip.sina.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20190201.102

test was carried out in each group after interventions. The changes of estrous cycle were observed by vaginal smear daily. Related tissues were harvested and weighed (bilateral ovary, bilateral uterus, parametrial fat, and inguinal fat) during anoestrus. 17α -hydroxy progesterone (17α -OHP) and insulin (INS) levels were measured by radioimmunoassay. mRNA expression levels of steroidogenic acute-regulatory protein (Star), cholesterol side-chain cleavage enzyme (Cyp11a1), 3beta-hydroxy steroid dehydrogenase (3β -HSD), and 17alpha-hydroxylase (Cyp17a1) were detected by RT-PCR. Results Compared with the WT group, 17α -OHP level, INS level, blood glucose level at 30 min, blood glucose level at 60 min, and mRNA expression levels of Star, Cyp11a1, 3β -HSD, and Cyp17a1 in the ovary were all significantly higher in Akt KO group ($P < 0.05$). After treatment with cryptotanshinone, compared with Akt KO group, weight of parametrial fat, 17α -OHP level, INS level, blood glucose level at 60 min, Star and 3β -HSD mRNA expression levels were all significantly decreased in Akt KO-cry group ($P < 0.05$). Conclusions Lacking of Akt2 gene resulted in increased level of androgens and abnormal glycometabolism. The molecular mechanism was associated with elevated expressions of key enzymes for androgen synthesis. Cryptotanshinone significantly reduced levels of 17α -OHP, INS, and blood glucose, and its mechanism might be associated with down-regulating the expressions of key enzymes for androgen synthesis. However, the molecular mechanism of improving glucose metabolism and enhancing INS sensitization needs further research.

KEYWORDS cryptotanshinone; Akt2 gene; androgen; insulin

多囊卵巢综合征 (polycystic ovary syndrome, PCOS) 是生殖障碍与代谢异常并存的妇科内分泌紊乱性疾病, 发病率约 10% [1]。PCOS 生殖障碍主要表现为排卵异常和雄激素水平升高, 且该病同 2 型糖尿病亦存在类似的临床表现和病理特征, 如胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR) 和高胰岛素血症 [2,3]。PCOS 雄激素水平升高主要是由于黄体生成激素分泌亢进及 (或) 发生 IR [4], 而有关 IR 和高胰岛素血症相关因素分析证实, IR 又与睾酮水平升高密切相关 [5]。

隐丹参酮是从丹参干燥根及根茎中提取的一种脂溶性二萜类物质。国内外研究显示其不仅有抗雄激素作用 [6], 也具有明显的降糖作用 [7,8]。对雄性 SD 大鼠进行连续 2 周的隐丹参酮灌胃治疗, 发现隐丹参酮可降低睾酮前体合成物质 17α -羟孕酮 (17α -hydroxy progesterone, 17α -OHP) 水平, 说明其能够拮抗雄激素合成 [9]。而隐丹参酮作为一种新型蛋白激酶通路激活剂, 又具有抗糖尿病和抵抗肥胖的作用 [8]。动物实验也发现其可通过调节胰岛素受体底物 1 (insulin receptor substrate 1, IRS-1)、磷酸化细胞外信号调节激酶 (phosphorylated extracellular signal-regulated kinase, p-ERK) 改善 IR 状态 [10]。PCOS 是高雄激素水平和 IR 并存的疾病, 很多药物只针对单方面起作用, 而隐丹参酮又同时兼具降低雄激素及胰岛素增敏作用。

本研究通过对 PCOS 动物模型进行隐丹参酮干

预, 旨在探讨隐丹参酮的疗效及其分子机制, 为隐丹参酮的用于临床治疗 PCOS 提供科学依据。本研究结果还可有助于发挥中药单体优势, 开发该药临床新用途。

材料与方法

1 材料

1.1 动物 本实验中 12 周龄 50 只 Akt2 基因缺失 (Akt2^{-/-}) 品系雌鼠及其同窝出生的 25 只具有完整 Akt2 基因 (Akt2^{+/+}) 品系雌鼠均来源于美国宾州大学医学院 [11], 初期经南京大学模式动物中心保种、繁殖, 后期运输至黑龙江中医药大学 GLP 动物实验中心, 标准饲养环境下进行单笼喂养, 实验动物质量合格 (No. 2300160000006)。实验中严格遵循国家及黑龙江中医药大学动物实验中心的实验动物保护与使用准则。

1.2 药物 隐丹参酮: 西安昊轩生物科技有限公司 (产品批号: Ydst-0811-16)。隐丹参酮溶液的配制: 使用 5% 吐温 80 溶液 400 mL 溶解药品粉末 40 g, 后用生理盐水稀释成 100 mg/mL 浓度, 水平摇床过夜摇匀 [12]。

1.3 试剂及仪器 0.9% 氯化钠注射液 500 mL: 四川沱牌药业有限责任公司 (批号: B121227); 50% 葡萄糖注射液 20 mL: 哈药集团三精制药股份有限公司 (批号: 08070823); 17α -OHP 及 INS 检测试剂盒: 北方试剂生物研究公司、天津协和医

药科技有限公司;模板 cDNA 合成试剂盒:TakaRa 公司 Prime script RT Master Mix perfect real time 试剂盒。吐温 80:江苏省海安石油化工厂生产;WD 型水平摇床:北京市六一仪器厂生产;血糖仪及血糖试纸:ACCU-CHEK® Active,哈尔滨市远大医疗器械有限公司;高纯总 RNA 快速提取试剂盒(离心柱型):北京百泰克生物技术公司。

2 方法

2.1 分组及给药方法 12 周龄 Akt2^{-/-} 雌鼠

50 只按不同干预方法分为 Akt2^{-/-} 对照组(简称 Akt KO 组,25 只)及 Akt2^{-/-} 治疗组(简称 Akt KO-cry 组,25 只),并将与其同窝出生的 Akt2^{+/+} 雌鼠 25 只设为 Akt2^{+/+} 对照组(简称 WT 组)。Akt KO-cry 组给予隐丹参酮 0.2 mL 灌胃(按照 40 mg/kg 标准比例换算,溶剂为 5%吐温 80 溶液)^[12],WT 组和 Akt KO 组均给予等体积生理盐水。每晚禁食 8~12 h 后,次晨 8:00 灌胃,每日 1 次,连续治疗 2 周。

2.2 口服葡萄糖耐量试验(oral glucose tolerance test, OGTT) OGTT 开始前晚 8:00 禁食不禁水,次日早 8:00 各组小鼠称重,灌服 50%葡萄糖溶液(2 g/kg 体重)^[13,14]。在 0 min 及服糖后 30、60、120 min 行尾尖采血,测得血糖值并准确记录。

2.3 取材、称重 各组小鼠禁食 12 h 后,次日早 8:00 开始进行阴道涂片观察动情周期,并选择在动情间期进行取材。眶静脉采血后,血样本常温静置 30 min 后,离心 5 000 r/min、10 min,取上层血清置于 -80 °C 冰箱保存。采血后断头处死小鼠,随后迅速将卵巢、子宫、子宫旁脂肪及腹股沟旁脂肪取出,称重并记录数值,后将组织放入液氮中速冻,最后置于 -80 °C 冰箱保存以用于后续 RT-PCR 检测。

2.4 血清 17 α -OHP 及 INS 水平测定 血清 17 α -OHP 及 INS 的检测于黑龙江省医院同位素科进行。采用放免法测定,批内、批间变异系数 <10%。

2.5 Star、Cyp11a1、3 β -HSD、Cyp17a1 mRNA 表达 采用 RT-PCR 检测。

2.5.1 准备工作 配制 0.1% 的 DEPC 水:DEPC/双蒸水 = 1/1 000,过夜处理后高压灭菌 30 min。实验前将取材所需器皿进行去 RNA 酶处理,金属及玻璃器皿 180 °C 烘烤 4 h,塑料制品经含 0.1% DEPC 水室温浸泡过夜后高压灭菌 30 min,烘干以备用。

2.5.2 引物设计 参照 NCBI 基因库基因序列设计引物,由南京金斯瑞生物技术公司制作,采用 PAGE 方法进行纯化,具体如下。

表 1 引物表

基因名称		基因序列(5' - 3')	引物长度(bp)
Star	正	TTGTGCCGACTCCCTAC	417
	反	GGATGC TGAGATTGACC	
Cyp11a1	正	CTGGAAGAAAGACCGAATC	590
	反	GTGCCATCTCA TAAAGTTCT	
Cyp17a1	正	CTCTGTGCTGAGCTGGAT	385
	反	ACCCCTGGGGTTATAACA	
3 β -HSD	正	AAAAGATGGCTGAGAAGG	809
	反	GCAAGTTTGTGAGTGGGT	
GAPDH	正	ACCACAGTCCATGCCATCAC	452
	反	TCCACCACCCCTGTTGCTGTA	

2.5.3 总 RNA 提取 利用高纯总 RNA 快速提取试剂盒一步法进行组织裂解及 RNA 酶灭活来提取总 RNA(按相关试剂盒说明书进行操作)。

2.5.4 RNA 浓度测定 取 1 μ L 总 RNA 样品进行浓度测定,应用 Bioteck 酶标仪器测定样品总 RNA 浓度及纯度并记录。根据逆转录体系及上样量计算出各样品上样体积。

2.5.5 模板 cDNA 合成 使用试剂盒进行逆转录反应(按试剂盒说明书进行操作)。

2.5.6 扩增反应 (1)10 μ L 反应体系:2 \times 荧光定量探针法反应预混液 5 μ L, Sence primer (10 μ mol/L)0.5 μ L, Antisense primer (10 μ mol/L)0.5 μ L, 模板 cDNA \times μ L (<10%), ddH₂O 补充至 10 μ L(反应体系不超过 20 μ L)。(2)Holding 阶段:95 °C 10 min; Cycle 阶段:变性 95 °C 15 s, 退火 60 °C 1 min, 采集荧光信号,40 个循环; Melt curve 阶段:95 °C 15 s, 60 °C 1 min, 95 °C 15 s, 采集荧光信号。每个目的基因在同一条件下重复 3 次,且每次反应设有相应的内参 GAPDH 组。计算:目的基因扩增倍数 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 值 = $2^{-[(目的基因平均CT值-GAPDH平均CT值)-(对照基因平均CT值-GAPDH平均CT值)]}$ 。

3 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计软件处理数据。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,3 组间比较采用方差分析后进行 Dunnett 或 Bonferroni 事后检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组小鼠卵巢、子宫、子宫旁脂肪、腹股沟脂肪重量比较(表 2) 与 Akt KO 组比较,隐丹参酮干预后,Akt KO-cry 组小鼠子宫旁脂肪重量显著降低 ($P < 0.05$)。

2 各组小鼠血清 17 α -OHP 及 INS 水平比较(表 3) Akt KO 组 17 α -OHP 及 INS 水平均显著高于 WT 组($P < 0.05$);隐丹参酮干预后,Akt KO-cry 组 17 α -OHP 及 INS 水平均显著低于 Akt KO 组($P < 0.05$)。

表 2 各组小鼠卵巢、子宫、子宫旁脂肪、腹股沟脂肪重量比较 (g, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	卵巢	子宫	子宫旁脂肪	腹股沟脂肪
WT	25	0.0044 ± 0.0004	0.0477 ± 0.0025	0.1158 ± 0.0080	0.1670 ± 0.0220
Akt KO	25	0.0047 ± 0.0004	0.0474 ± 0.0039	0.1836 ± 0.0140	0.2041 ± 0.0120
Akt KO-cry	25	0.0034 ± 0.0003	0.0486 ± 0.0046	0.1028 ± 0.0180*	0.1545 ± 0.0110

注:与 Akt KO 组比较, * $P < 0.05$

表 3 各组小鼠血清 17 α -OHP 及 INS 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	17 α -OHP (pmol/L)	INS (mIU/L)
WT	25	0.17 ± 0.07	0.13 ± 0.01
Akt KO	25	0.59 ± 0.06*	0.23 ± 0.01*
Akt KO-cry	25	0.35 ± 0.02 Δ	0.15 ± 0.01 Δ

注:与 WT 组比较, * $P < 0.05$;与 Akt KO 组比较, $\Delta P < 0.05$

3 各组小鼠 OGTT 试验后各时段血糖值比较 (表 4) OGTT 试验后 30、60 min 时, Akt KO 组小鼠血糖水平显著高于 WT 组 ($P < 0.05$); 隐丹参酮干预后, Akt KO-cry 组 60 min 血糖水平显著低于 Akt KO 组 ($P < 0.05$)。

4 各组小鼠 Star、Cyp11a1、 3β -HSD、Cyp17a1 mRNA 表达水平比较 (表 5) 与 WT 组比较, Akt KO 组 Star、Cyp11a1、 3β -HSD、Cyp17a1 mRNA 表达水平显著升高 ($P < 0.05$); 隐丹参酮干预后, 与 Akt KO 组比较, Akt KO-cry 组 Star、 3β -HSD mRNA 表达水平显著下降 ($P < 0.05$)。

讨 论

目前多项研究表明 Akt2 基因与 PCOS 生殖功能密切相关。Akt 信号转导通路可促进并维持排卵前卵泡颗粒细胞层细胞功能^[15]; Akt2 磷酸化过表达可促进卵细胞分化^[16]并增加 PCOS 发病风险^[17]; Akt2 基因缺失小鼠出现睾酮水平增高及卵巢多囊肿样改变, 与临床 PCOS 患者表型颇为类似^[18]。此外, Akt2 基

缺失小鼠空腹血糖和肝源性葡萄糖数量也明显升高且存在 IR, 说明 Akt2 基因也作用于能量代谢调节方面^[19]。

本课题组前期对 Akt2 基因缺失雌鼠生殖功能进行了评估, 证实该小鼠具有动情周期显著延长, 平均每胎产仔数量显著降低, 卵巢体积增大及血清 17 α -OHP 水平显著升高等表型特征^[13]。同时 Akt2 基因缺失小鼠也存在 IR 和糖尿病样综合征等代谢异常^[11, 20]。说明此模式动物兼具 PCOS 生殖异常和代谢异常的特点。因此本研究选择该模式动物进行研究以探讨隐丹参酮治疗 PCOS 生殖障碍和代谢异常的疗效, 并探讨其分子机制。

本实验中发现, 同 WT 组比较, Akt KO 组 17 α -OHP 水平也显著升高, INS 以及 OGTT 试验后 30、60 min 血糖均也显著升高, 说明 Akt2 基因的缺失引起小鼠生殖及糖代谢异常, 与张跃辉等^[13]研究结果一致。

隐丹参酮是中药丹参提取物主要活性成分^[8], 有研究表明, 其可降调雄激素受体信号转导通路或抑制雄激素受体活性^[9]。本课题组前期大量研究发现, 高雄激素血症雌鼠持续 14 天隐丹参酮干预后血清 17 α -OHP 水平显著降低, 具有抗雄激素作用^[21]; 提示隐丹参酮可调节卵巢内胰岛素信号转导通路上关键分子的表达及甾体激素合成酶的表达, 调节雄激素合成^[22]; 尧良清等^[23]发现其可改善滋养细胞 IR, 通过调节多基

表 4 各组小鼠 OGTT 试验后各时段血糖值比较 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	血糖			
		0 min	30 min	60 min	120 min
WT	25	5.63 ± 0.34	7.68 ± 1.53	7.56 ± 0.35	6.41 ± 0.34
Akt KO	25	7.90 ± 0.58	19.12 ± 2.19*	16.73 ± 2.48*	7.67 ± 0.47
Akt KO-cry	25	6.91 ± 0.34	13.65 ± 1.43	10.60 ± 1.25 Δ	6.80 ± 0.37

注:与 WT 组比较, * $P < 0.05$;与 Akt KO 组比较, $\Delta P < 0.05$

表 5 各组小鼠 Star、Cyp11a1、 3β -HSD、Cyp17a1 mRNA 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Star mRNA	Cyp11a1 mRNA	3β -HSD mRNA	Cyp17a1 mRNA
WT	3	0.76 ± 0.63	1.06 ± 0.45	1.03 ± 0.28	1.00 ± 0.09
Akt KO	3	3.01 ± 0.36*	2.06 ± 0.34*	1.53 ± 0.16*	1.87 ± 0.19
Akt KO-cry	3	1.43 ± 0.32 Δ	1.97 ± 0.45	1.06 ± 0.04 Δ	1.49 ± 0.37

注:与 WT 组比较, * $P < 0.05$;与 Akt KO 组比较, $\Delta P < 0.05$

因、作用多信号途径从而改善卵巢颗粒细胞 IR 程度并降低雄激素合成。

卵巢或肾上腺中与雄激素合成相关的一系列酶的活性变化是导致 PCOS 雄激素水平升高的原因之一^[24]。与雄激素合成途径相关的候选基因主要包括 CYP11a、CYP11B2、CYP17a、CYP19、CYP21 及 UGT2B 基因等。Cyp11a 是唯一可将胆固醇转化为孕烯醇酮的酶^[25], 该基因启动子区域基因的多态性同 PCOS 发病密切相关^[26]。此外, Star 作为雄激素合成过程中重要的调节因素也参与胆固醇由线粒体外膜向内膜的转运过程。而 3 β -HSD 在雄激素合成过程中也起到了关键作用。 $\Delta 5$ 途径是雄激素合成主要途径, 而胆固醇转变为睾酮的过程是一个多步酶促反应过程, 该过程中 3 β -HSD mRNA 催化脱氢异雄酮转变为睾酮进而促进了睾酮的最后合成^[27,28]。由此可见, 3 β -HSD 的活性及表达同雄激素密切相关。

本实验发现在 Akt2 KO 组小鼠卵巢组织中存在 Cyp11a1、Cyp17a1、Star 和 3 β -HSD mRNA 表达显著增高, 同时血清 17 α -OHP 水平也显著增高, 说明 Akt2 KO 组小鼠卵巢存在雄激素合成关键酶的过表达, 雄激素合成功能亢进; 而在给予隐丹参酮治疗后, 血清 17 α -OHP 水平显著下降, 卵巢 3 β -HSD mRNA 表达显著降低, Star、Cyp11a1、Cyp17a1 mRNA 表达也均呈不同程度降低, 说明隐丹参酮显著降低雄激素水平的作用机制为降调雄激素合成关键酶表达, 从而抑制雄激素分泌, 最终起到降雄的作用。

本研究还发现, 隐丹参酮干预后 PCOS 模式小鼠 INS 水平明显降低, 高胰岛素血症得到改善; 通过 OGTT 结果发现 Akt KO 组空腹血糖及随机血糖均有下降的趋势, 其中给糖后 60 min 血糖下降显著。说明隐丹参酮具有改善糖代谢异常的作用, 而其作用机制尚待后续进一步研究。

利益冲突: 无

参 考 文 献

[1] Ehrmann DA. Polycystic ovary syndrome [J]. *N Engl J Med*, 2005, 352(12): 1223–1236.

[2] Diamanti-Kandarakis E, Piperi C. Genetics of polycystic ovary syndrome: searching for the way out of the labyrinth [J]. *Hum Reprod Update*, 2005, 11(6): 631–643.

[3] Escobar-Morreale HF, Luque-Ramírez M, San Millán JL. The molecular-genetic basis of functional hyperandrogenism and the polycystic ovary syndrome [J]. *Endocr Rev*, 2005, 26(2): 251–282.

[4] 林金芳. 多囊卵巢综合征患者高雄激素血症的诊治 [J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2013, 29(11): 860–863.

[5] 崔玉倩. 睾酮对胰岛 β 细胞胰岛素分泌和凋亡的影响及机制 [D]. 济南: 山东大学, 2012.

[6] 刘逸超, 李威, 王秀秀, 等. 隐丹参酮对小鼠卵巢胰岛素抵抗调控的机制研究 [J]. *中华糖尿病杂志*, 2009, 1(6): 427–432.

[7] 闫妙娥, 刘阳, 吴效科. 胰岛素增敏剂对卵巢颗粒细胞胰岛素抵抗的调控作用 [J]. *科技导报*, 2008, 26(24): 77–81.

[8] Kim EJ, Jung SN, Son KH, et al. Antidiabetes and antiobesity effect of cryptotanshinone via activation of AMP-activated protein kinase [J]. *Mol Pharmacol*, 2007, 72(1): 62–72.

[9] 李喜鹤, 杨新鸣, 吴效科, 等. 中药隐丹参酮降低孕期高雄激素血症大鼠雄性子代的雄激素合成 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2008, 28(11): 1001–1004.

[10] 行俊秀, 张跃辉, 胡敏, 等. 丹参酮对滋养细胞胰岛素抵抗下 IRS-1 和 p-ERK 表达的影响 [J]. *科技导报*, 2009, 27(4): 75–79.

[11] Cho H, Mu J, Kim JK, et al. Insulin resistance and a diabetes mellitus-like syndrome in mice lacking the protein kinase Akt2 (PKB beta) [J]. *Science*, 2001, 292(5522): 1728–1731.

[12] 赵玲玲, 张跃辉, 王娜梅, 等. 隐丹参酮对 Akt2 基因缺失雄性小鼠生殖及代谢影响的研究 [J]. *中华男科学杂志*, 2011, 17(7): 662–668.

[13] 张跃辉, 郭文艳, 王娜梅, 等. 雌性 Akt2 基因缺失小鼠生殖表型研究 [J]. *科技导报*, 2011, 29(2): 65–69.

[14] 张跃辉, 吕占强, 王娜梅, 等. 雄性 Akt2 基因缺失小鼠生殖表型研究 [J]. *生殖医学杂志*, 2011, 20(4): 319–323.

[15] Johnson AL, Bridgham JT, Swenson JA. Activation of the Akt/protein kinase B signaling pathway is associated with granulosa cell survival [J]. *Biol Reprod*, 2001, 64(5): 1566–1574.

[16] Wood JR, Nelson-Degrave VL, Jansen E, et al. Valproate-induced alterations in human theca cell gene expression: clues to the association between valproate use and metabolic side effects [J]. *Physiol Genomics*, 2005, 20(3): 233–243.

[17] Goodarzi MO, Jones MR, Chen YD, et al. First evidence of genetic association between AKT2 and polycystic ovary syndrome [J]. *Diabetes Care*, 2008, 31(12): 2284–2287.

[18] Restuccia DF, Hynx D, Hemmings BA. Loss of PKB β /Akt2 predisposes mice to ovarian cyst formation and increases the severity of polycystic

ovary formation *in vivo* [J]. *Dis Model Mech*, 2012, 5(3): 403-411.

[19] Dummler B, Tschopp O, Hynx D, et al. Life with a single isoform of Akt: mice lacking Akt2 and Akt3 are viable but display impaired glucose homeostasis and growth deficiencies [J]. *Mol Cell Biol*, 2006, 26(21): 8042-8051.

[20] Bae SS, Cho H, Mu J, et al. Isoform-specific regulation of insulin-dependent glucose uptake by Akt/protein kinase B [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(49): 49530-49536.

[21] Yang X, Zhang Y, Wu X, et al. Cryptotanshinone reverses reproductive and metabolic disturbances in prenatally androgenized rats via regulation of ovarian signaling mechanisms and androgen synthesis [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2011, 300(4): R869-R875.

[22] 祁冰, 宋家欣, 吴效科, 等. 基因芯片研究隐丹参酮对胰岛素抵抗卵巢颗粒细胞基因表达的影响 [J]. *科技导报*, 2009, 27(15): 39-43.

[23] 尧良清, 邝健全, 杨冬梓, 等. 多囊卵巢与神经内分泌及卵巢局部致病因素关系的研究 [J]. *现代妇产科进展*, 2005, 14(3): 206-209.

[24] Hiort O, Holterhus PM, Werner R, et al. Homozy-

gous disruption of P450 side2chain cleavage (CYP11A1) is associated with prematurity, complete 46, XY sex reversal, and severe adrenal failure [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005, 90(1): 538-541.

[25] 丁浩, 王勇. CYP11A 与多囊卵巢综合征 [J]. *国际妇产科学杂志*, 2010, 37(6): 416-419.

[26] Miao J, Chan KW, Chen GG, et al. Blocking BRE expression in Leydig cells inhibits steroidogenesis by down-regulating 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase [J]. *J Endocrinol*, 2005, 185(3): 507-517.

[27] Mindnich R, Haller F, Halbach F, et al. Androgen metabolism via 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 3 in mammalian and non-mammalian vertebrates: comparison of the human and the zebrafish enzyme [J]. *J Mol Endocrinol*, 2005, 35(2): 305-316.

[28] 闫妙娥, 刘阳, 吴效科. 胰岛素增敏剂对卵巢颗粒细胞胰岛素抵抗的调控作用 [J]. *科技导报*, 2008, 26(24): 77-81.

(收稿: 2018-08-06 在线: 2019-04-22)

责任编辑: 段碧芳
英文责编: 张晶晶

2019 年第三十四届全国危重病急救医学学术交流会征文通知

2019 年第三十四届全国危重病急救医学学术交流会拟定于 2019 年 11 月在武汉召开, 会议由中国中西医结合学会急救医学专业委员会主办, 武汉市第一医院承办, 现将征文事宜通知如下。

征文内容 中西医结合急救医学的基础、临床科研进展; 脓毒症的国际、国内研究成果交流、回顾和展望; 中西医结合急救医学治疗的新技术、新进展; 急救医学领域的临床治疗成果; 老年多脏器功能不全的诊断与治疗; 急救护理。

征文范围 (1) 中医、西医、中西医结合的内科、外科、妇科、儿科、神经科、五官科、麻醉、急诊、ICU、血液净化、医学检验、医学影像、窥镜、创伤、中毒、烧伤、微创治疗、护理、心理、干细胞移植医学等专业的临床、基础研究论文; (2) 全身炎症反应综合症及脓毒症、多脏器功能不全综合症、危重病临床监测新技术、急救用药、急诊、ICU、干细胞移植医学质量控制标准、急救医疗行政管理和危重病急救医学领域的循证医学研究等方面的论文。

征文要求 (1) 全文 3000 字以内, 附 400 字中英文摘要(包括目的、方法、结果、结论), 要求标点符号准确, 著者顺序排列, 自留底稿; (2) 投稿以 word 文档格式, 投稿邮箱: wdqklm@sina.com, 注明“会议征文”; (3) 截稿日期: 2019 年 8 月 30 日(以发送电子邮件时间为准)。