



# 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

祁冰<sup>1</sup>, 宋家欣<sup>2</sup>, 杨琳<sup>1</sup>, 吴效科<sup>1</sup>, 侯丽辉<sup>1</sup>

1. 黑龙江中医药大学附属第一医院妇产科, 哈尔滨 150040
2. 大庆中医医院妇产科, 黑龙江大庆 163111

**摘要** 应用基因芯片技术,从基因水平分析隐丹参酮对胰岛素抵抗卵巢颗粒细胞基因表达的影响。采用猪卵巢颗粒细胞作为体外研究对象,利用磷酸酯肌醇-3 激酶 (PI-3K) 特异性抑制剂——沃曼青霉素人工诱导猪卵巢胰岛素抵抗的细胞模型,以 0.02 g/L 隐丹参酮进行干预,继续培养 48 h 后,以 Trizol 法提取总 RNA,采用猪全基因表达谱芯片技术筛选出差异表达基因。隐丹参酮组与沃曼处理组相比,共筛选出 42 个差异基因,其中 22 个基因表达下调,20 个基因表达上调。研究表明,隐丹参酮可以通过调节多个基因、作用多个信号途径来改善胰岛素抵抗卵巢颗粒细胞的状态。

**关键词** 基因芯片;隐丹参酮;胰岛素抵抗;卵巢颗粒细胞

**中图分类号** R965.1, Q344+.13

**文章标识码** A

**文章编号** 1000-7857(2009)15-0039-05

## Studies on the Effect of Cryptotanshinone on Insulin Resistant Ovarial Granular Cells by DNA Microarray

QI Bing<sup>1</sup>, SONG Jiabin<sup>2</sup>, YANG Lin<sup>1</sup>, WU Xiaoke<sup>1</sup>, HOU Lihui<sup>1</sup>

1. Department of Obstetrics and Gynecology, The First Affiliated Hospital, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China
2. Department of Obstetrics and Gynecology, Daqing Hospital of Chinese Medicine, Daqing 163111, Heilongjiang Province, China

**Abstract** The mechanism of Cryptotanshinone in treating ovary insulin resistance is identified in this paper. The ovarian granulosa cells from porcine follicles were isolated and cultured *in vitro*, and insulin resistance was induced by treatment with Wortmannin. The cells were divided into 4 groups, the blank control group cultured with DMSO, the Wortmannin group cultured with Wortmannin 250

nmol/L, the Cryptotanshinone group cultured with Wortmannin 250 nmol/L as well as 0.02 g/L Cryptotanshinone. After being incubated for 48 h, the total RNA was isolated from cells, and the differently expressed genes were screened from them by the gene chip technique. Then they were analyzed by molecule annotation system to get differential gene expression profiles and pathways of the four groups. The results show that 42 differential genes are screened through the channel gene chip technique, including 22 down-regulation genes and 20 up-regulation genes. These differential expression genes have various biological functions, such as lipid metabolism, intercellular signal transmission and so on. And the Cryptotanshinone may improve ovary insulin resistance by adjusting many genes and signal pathway. It is implied that Cryptotanshinone may be used to treat endocrine disease and reproductive barrier of polycystic ovary syndrome.

**Keywords** DNA microarray; Cryptotanshinone; insulin resistance; ovarian granulosa cells

## 0 引言

多囊卵巢综合征 (Polycystic Ovary Syndrome, PCOS) 是育龄期妇女最常见的生殖内分泌疾病之一,临床以持续无排卵、雄激素分泌过多、胰岛素抵抗等为主要特征。其中胰岛素抵抗在 PCOS 患者的发生率可达 50%~70%。近年大量研究表

收稿日期: 2009-05-19

基金项目: 黑龙江省自然科学基金重点项目 (ZJY0606-01)

作者简介: 祁冰、宋家欣同为第一作者;侯丽辉(通信作者),教授,研究方向为中西医结合诊治妇科内分泌疾病和不孕症,电子邮箱:houlihui2007@sina.com



明,PCOS 的卵巢功能异常与其局部胰岛素抵抗有关<sup>[1]</sup>。中医临床上,采用“活血化淤”的中药治疗 PCOS 代谢异常和生殖障碍,其症状得到明显改善,但作用机理尚不明确。本研究选用猪卵巢颗粒细胞作为体外研究的对象,用 PI-3K 特异性抑制剂作为干预因素,诱导胰岛素抵抗的细胞模型<sup>[2]</sup>,使用具有“活血化淤”作用的中药丹参提取物——隐丹参酮作用于模型细胞,应用芯片技术从基因水平探讨胰岛素抵抗的卵巢内各种信号传导途径间的相互关系<sup>[3]</sup>,探讨隐丹参酮在改善和治疗卵巢功能障碍方面的作用。

## 1 材料

成熟雌性家猪卵巢颗粒细胞;沃曼青霉素 Wortmannin (美国 Sigma 公司);隐丹参酮(上海康九化工有限公司);猪全基因组 cDNA 芯片(北京博奥生物科技有限责任公司)。

## 2 方法

### 2.1 卵巢颗粒细胞的培养

获取新鲜猪卵巢放入预先准备好的加有双抗(各 80 万单位的青霉素、链霉素/500 mL)的无菌生理盐水中(37℃),在 1 h 内带回实验室,用加有双抗的无菌生理盐水反复冲洗卵巢表面,剪去卵巢周围多余组织,在超净台中剥离卵巢外膜,用无菌磷酸盐缓冲液(PBS)再冲洗 3 次,将卵巢放入无菌玻璃平皿中;用 1 mL 的注射器刺破卵泡抽取卵泡液,然后将卵泡液注入到 15 mL 离心管中,放入离心机,1 500 r/min,离心 10 min;离心后弃上清,向离心管中的细胞沉淀加入无菌 PBS 液反复吹匀,1 500 r/min,离心 10 min;弃上清后再加入 PBS,反复冲洗 3 次,最后一次离心后向细胞沉淀中加入培养基(DMEM/F12,10% FCS)稀释后计数,以  $1 \times 10^6/\text{mL}$  的密度接种到 25 cm<sup>2</sup> 培养瓶中,放入 37℃、5% CO<sub>2</sub> 的细胞培养箱中培养 48 h。

### 2.2 胰岛素抵抗细胞模型的建立

胰岛素抵抗模型的诱导方法参考 Monica Montagnani<sup>[2]</sup>,运用 PI-3K 的特异性抑制剂沃曼青霉素阻断 PI-3K 信号转导通路,阻断细胞对葡萄糖的摄取,从而诱导卵巢颗粒细胞的胰岛素抵抗。

### 2.3 实验分组

细胞培养 48 h 贴壁后换无血清培养液,随机分为 3 组:① 溶剂组:加 DMSO(对照组);② 沃曼处理组:沃曼青霉素 250 nmol/L<sup>[4]</sup>;③ 隐丹参酮组:同时加入沃曼青霉素 250 nmol/L 和隐丹参酮 0.02 g/L。加入相应的干预药物后继续培养 48 h。

### 2.4 Trizol 法提取总 RNA

细胞干预 48 h 后弃上清,PBS 冲洗细胞 1 次,在细胞沉淀(细胞数为  $1 \times 10^6/\text{mL}$ )中加 2.5 mL Trizol,彻底匀浆后用细胞刮刀轻刮,室温静置 10 min。在倒置显微镜下观察,细胞悬浮,转至 1.5 mL 无酶的离心管。标记后在低温条件下(干冰)邮寄至北京博奥生物有限公司,进行猪全基因组基因芯片分析。

## 3 结果

### 3.1 芯片扫描图、散点图

3 组基因芯片扫描图像分别见图 1~图 3;质控芯片扫描图像见图 4;基因表达荧光信号散点图见图 5、图 6,分别为沃曼青霉素组/对照组,隐丹参酮组/对照组细胞的荧光信号散点图,其差异表达基因分布在远离散点图对角线( $y=x$ )位点上。

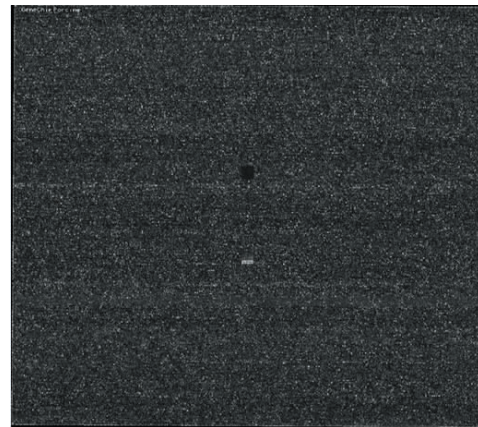


图 1 溶剂组基因表达芯片扫描图

Fig.1 Probe array scanogram of DMSO group

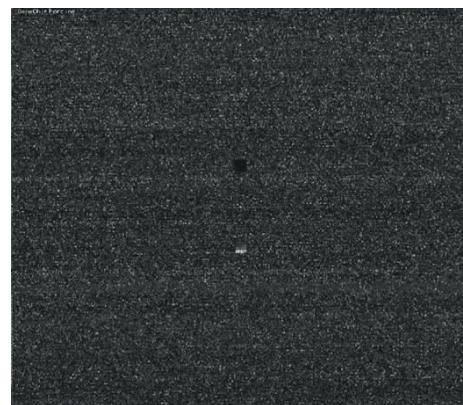


图 2 沃曼组基因表达芯片扫描图

Fig. 2 Probe array scanogram of Wortmannin group



图 3 隐丹参酮组基因表达芯片扫描图

Fig. 3 Probe array scanogram of Cry group

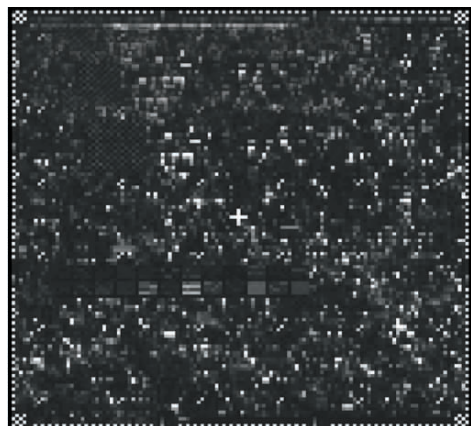


图 4 质控芯片扫描图  
Fig. 4 Genechip test

### 3.2 差异表达基因的筛选

隐丹参酮组的基因信号值分别与沃曼青霉素组对比,筛选出比值大于 2 倍或小于 0.5 倍的基因。

### 3.3 差异基因的结果分析

将筛选出的数据项,输入 MAS (Molecule Annotation System) 系统中进行 Pathway 显著性统计分析,发现 42 个差异基因,其中 22 个基因表达下调(表 1),20 个基因表达上调(表 2)。这些差异表达的基因具有多种生物学功能,如脂类代谢调节、细胞间的信号传导和免疫炎症反应等。

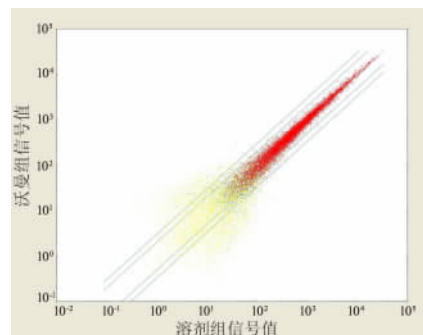


图 5 沃曼组/溶剂组基因表达散点图

Fig. 5 Scatter diagram of Wortmannin vs DMSO

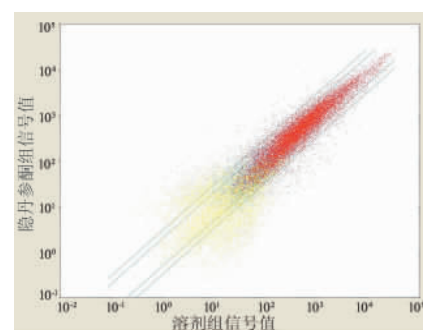


图 6 沃曼+隐丹参酮组/溶剂组基因表达散点图  
Fig. 6 Scatter diagram of Cry vs DMSO

表 1 下调基因  
Table 1 Genes in down-regulation

| 基因库序号          | 基因名称                                           | 信号值      |          |
|----------------|------------------------------------------------|----------|----------|
|                |                                                | 沃曼组      | 隐丹参酮组    |
| NM_214308.1    | <i>apolipoprotein E</i>                        | 880.806  | 368.128  |
| NM_214256.1    | <i>insulin-like growth factor</i>              | 346.895  | 72.565 5 |
| NM_214427.1    | <i>cytochrome P450 11A1</i>                    | 398.252  | 115.283  |
| NM_214449.1    | <i>choriogonadotropin receptor</i>             | 122.267  | 39.472 6 |
| NM_001003662.1 | <i>folliculin</i>                              | 907.455  | 283.633  |
| NM_214192.1    | <i>gelatinase A</i>                            | 1 133.18 | 843.905  |
| BE030707       | <i>Transforming growth factor-beta 3</i>       | 362.585  | 53.730 2 |
| NM_214438.1    | <i>caveolin 1</i>                              | 188.691  | 55.165 6 |
| NM_214288.1    | <i>Neuropeptide Y Y1 receptor</i>              | 559.772  | 278.659  |
| NM_213931.1    | <i>arachidonate 12-lipoxygenase</i>            | 554.593  | 19.766 4 |
| CO945718       | <i>SDF-1</i>                                   | 9.497 2  | 2.262 14 |
| CO946277       | <i>COL5A1 mRNA for collagen type 5 alpha 1</i> | 1634.2   | 633.099  |
| NM_214088.1    | <i>cyclin D2</i>                               | 1 587.59 | 540.742  |
| BI182181       | <i>decorin</i>                                 | 488.006  | 120.615  |
| NM_214213.1    | <i>phospholamban</i>                           | 250.73   | 22.739 2 |
| NM_214153.1    | <i>ATP-diphosphohydrolase</i>                  | 1 379.26 | 299.652  |
| NM_213891.1    | <i>vascular cell adhesion molecule</i>         | 349.768  | 170.486  |
| Z19540.1       | <i>Vinculin</i>                                | 262.347  | 100.676  |
| AF232699.2     | <i>3-beta-hydroxysteroid dehydrogenase</i>     | 217.318  | 94.946 7 |
| NM_214195.1    | <i>alpha-amylase</i>                           | 1 393.05 | 370.439  |
| NM_213882.1    | <i>endothelin</i>                              | 476.08   | 230.698  |
| AF117655.1     | <i>5-HT1D receptor</i>                         | 281.776  | 120.685  |

表 2 上调基因  
Table 2 Genes in up-regulation

| 基因库序号       | 基因名称                                                      | 信号值      |          |
|-------------|-----------------------------------------------------------|----------|----------|
|             |                                                           | 沃曼组      | 隐丹参酮组    |
| M86730.1    | <i>interleukin 1-alpha</i>                                | 487.755  | 977.663  |
| AY450287.1  | <i>interleukin-18</i>                                     | 174.47   | 456.337  |
| NM_214214.1 | <i>monocyte chemoattractant protein 1</i>                 | 106.986  | 538.21   |
| AB097926.1  | <i>peroxisome proliferator-activated receptor gamma 1</i> | 84.319 2 | 236.817  |
| AY072734.1  | <i>vascular endothelial growth factor</i>                 | 125.776  | 548.541  |
| NM_213880.1 | <i>C-JUN protein</i>                                      | 757.707  | 2 271.74 |
| AJ657841    | <i>Heat shock protein 70.2 (HSP70.2), mRNA</i>            | 1 021    | 2 324.29 |
| NM_213773.1 | <i>CXCR4</i>                                              | 20.801 4 | 112.284  |
| NM_214412.1 | <i>cytochrome P450 1A1</i>                                | 24.242 9 | 509.377  |
| NM_214050.1 | <i>glutathione S-transferase omega</i>                    | 1 382.02 | 3 200.31 |
| NM_214389.1 | <i>glutathione S-transferase</i>                          | 26.332 6 | 144.573  |
| NM_214023.1 | <i>secreted phosphoprotein-I</i>                          | 89.080 4 | 816.166  |
| X60677.1    | <i>heme oxygenase</i>                                     | 1 553.25 | 4 009.39 |
| AF156712.1  | <i>intercellular adhesion molecule-1</i>                  | 41.373 8 | 106.33   |
| NM_214181.1 | <i>putative inhibitor of apoptosis</i>                    | 619.673  | 1 257.71 |
| NM_214355.1 | <i>epoxide hydrolase</i>                                  | 381.144  | 878.169  |
| NM_214201.1 | <i>cytosolic glutathione peroxidase</i>                   | 2 626.31 | 6 977.26 |
| NM_214321.1 | <i>prostaglandin G/H synthase-2</i>                       | 16.353   | 44.229 6 |
| AY349426.1  | <i>complement component C1s</i>                           | 128.6    | 421.788  |
| NM_213943.1 | <i>pyridoxal kinase</i>                                   | 323.336  | 798.338  |

4 讨论

中医学将 PCOS 归属于“月经后期”、“闭经”、“不孕”等范畴,认为 PCOS 与肾、肝、脾多个脏器以及痰湿、瘀血多个病理产物相关,将 PCOS 归结为肾虚导致“瘀瘀胞宫”的生殖障碍性疾病,其病机核心为“瘀瘀胞宫”<sup>[5]</sup>,可见西医卵巢局部“胰岛素抵抗”与中医“瘀瘀胞宫”理论具有关联性。中医临床采用“活血化瘀”的中药丹参治疗 PCOS 内分泌紊乱和高雄激素血症具有一定作用。本实验采用丹参提取物——隐丹参酮,应用基因芯片技术,从基因水平初步分析中药丹参在治疗 PCOS 卵巢功能障碍的作用机制。

1) C-Jun 氨基端激酶 (c-Jun N-terminal kinase,JNK)是在哺乳动物体内发现的第 3 类促分裂原活化蛋白激酶 (Mitogen Activated Protein Kinase,MAPK) 的家族成员之一。JNK 广泛参与胚胎发育、细胞分化和凋亡、免疫反应以及胰岛素抵抗 (Insulin Resistance,IR) 等多种生理病理过程。抑制 JNK 蛋白的表达或者过度活化可以显著改善机体的 IR 状态<sup>[6]</sup>。本实验应用基因芯片检测后发现,隐丹参酮过渡活化 C-JUN 基因的表达。沃曼处理组与正常溶剂组相比 C-JUN 基因的表达没有明显改变,说明 PI-3K 途径阻断后并没有引起 C-JUN 的变化。使用隐丹参酮后 C-JUN 基因上调且上升为沃曼处理组的 3 倍,推测 C-JUN 过渡活化,结果是改善了 IR。其进一步说明隐丹参酮通过过渡活化 C-JUN 达到改善 IR。

2) IGF-1 的结构和功能与胰岛素相似,对细胞的增殖、

生长、分化和代谢有重要作用。IGF-1 在 PCOS 高雄激素血症的形成和无排卵中起着重要的作用,作为 PCOS 特征的肥胖和高胰岛素血症又影响着 IGF-1 的作用和水平。近年来的研究表明,IGF-1 在 PCOS 发生中表达明显上调<sup>[7-8]</sup>。本实验结果显示,使用隐丹参酮后 IGF-1 表达明显下调,说明隐丹参酮通过调控 IGF-1 达到改善卵巢局部 IR 及高雄激素状况,从而逐渐恢复排卵。

3) 卵泡抑素 (Follistatin,FST)是近年来受到重视的具有重要生殖调节作用的一种多肽,是主要由性腺分泌的糖蛋白激素。许多研究表明,来自卵巢及其他组织的 FST 与 PCOS 妇女的卵泡发育停滞有很大关系,FST 基因是 PCOS 的主要候选基因之一。研究发现 FST mRNA 的异常表达可能与 PCOS 发病相关<sup>[9]</sup>。至今未发现 PCOS 患者 FST 的编码基因有突变点<sup>[10]</sup>,说明 PCOS 基因对 FST 的致病作用并不是通过基因突变改变编码蛋白质来发挥作用,而有可能是通过 FST 基因在局部表达的上调来发挥作用的。并且 FST 的升高还与高雄激素和高胰岛素血症有关<sup>[11]</sup>。本实验结果显示,使用隐丹参酮后 FST 基因明显下调,推测隐丹参酮作用 FST 从而改善了 IR 的水平,进一步恢复卵巢的生殖功能。

4) 高雄激素血症是 PCOS 突出的特征,参与合成类固醇激素的酶活性的改变可能是 PCOS 高雄激素形成的原因之一。胆固醇侧链裂解酶 (P450<sub>scc</sub>)是类固醇激素合成过程中第一个关键酶,由 CYP11 $\alpha$  基因编码,CYP11 $\alpha$  基因的任何突变



或变异将可能导致 P450<sub>scc</sub> 酶活性的提高,从而增加卵巢或肾上腺雄激素的分泌<sup>[12]</sup>,故 CYP11 $\alpha$  与高雄激素血症关系密切。本实验结果显示,使用隐丹参酮后 CYP11 $\alpha$  基因表达下调,可能进一步引起 P450<sub>scc</sub> 酶活性下降,最终导致雄激素分泌的降低,说明隐丹参酮在治疗 PCOS 高雄激素血症上有直接作用,进而还可以改善 IR,恢复卵巢正常排卵。

5) NPY 是较早发现的下丘脑产生的促进食欲的神经肽类,在对胰岛素敏感的情况下,瘦素抑制 NPY 的生成,其间构成一种闭合的负反馈环路。在 PCOS 妇女,瘦素水平较对照组高,血浆瘦素与 NPY 水平呈正相关,即随着瘦素的升高,NPY 亦增加,这是瘦素在下丘脑作用的调定点上移,不能抑制 NPY 的结果<sup>[13]</sup>。PCOS 妇女瘦素、NPY 水平较高,且与 FT、LH、胰岛素分泌异常升高有关,高 NPY 和瘦素水平与 PCOS 患者的肥胖和胰岛素抵抗密切相关。本实验通过基因芯片筛选出 NPY 的受体基因,其表达在隐丹参酮作用后下调,亦反映出 NPY 的含量降低,推测隐丹参酮通过下调 NPY 受体基因,从而在一定程度上改善 IR,同时还可以控制肥胖的发生。

6) PPAR $\gamma$  已被公认在调控脂肪细胞分化和多种代谢(糖、脂肪、能量代谢等)中起重要作用。近年发现 PPAR $\gamma$  基因的多态性及对脂肪细胞因子的调控作用与 PCOS IR 的发生密切相关,而噻唑烷二酮类药物激活 PPAR $\gamma$  后可以改善 PCOS IR 的研究结果,进一步说明 PPAR $\gamma$  的作用可能是 PCOS IR 多种形成机制中的重要途径之一<sup>[14]</sup>。本实验显示隐丹参酮作用后其表达上调,加强了胰岛素的信号转导,从而改善了 IR。推测隐丹参酮通过上调 PPAR $\gamma$ ,增强其作用,进一步达到治疗 PCOS IR 和继发引起的高雄激素血症。

## 5 结论

本研究在卵巢颗粒细胞发生 IR 的基础上,用隐丹参酮干预后,从基因水平分析了差异基因的变化,发现隐丹参酮可以通过调节多个基因、作用多个信号途径来改善卵巢颗粒细胞胰岛素抵抗的程度、降低其雄激素的合成,提示中药丹参在临床治疗 PCOS 的内分泌紊乱和生殖障碍方面具有一定的疗效,同时也为中医对 PCOS 病机认识的“痰瘀胞宫”理论提供了实验支持。由于中药作用“多靶点”的特点,隐丹参酮影响各途径的综合效应还不十分确切,需要在以后的工作中进一步地深入探索和研究。前期的细胞培养虽然进行了多次的重复试验,但是基因芯片的筛选工作没有进行重复,本课题组将在随后的工作中对筛选出的与 PCOS 有密切关系的基因进行 PCR 或蛋白方面的研究,并且期待着将类似的工作延伸到 PCOS 患者的卵巢颗粒细胞的研究中。

## 参考文献 (References)

- [1] Schuring A N, Schulte N, Sonntag B, *et al.* Androgens and insulin—two key players in polycystic ovary syndrome [J]. *Gynakol Geburtshilfliche Rundsch*, 2008, 48: 9–15.
- [2] Montagnani M, Golovchenko I, *et al.* Inhibition of phosphatidylinositol 3-

- kinase enhances mitogenic[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2002, 1(18): 1794–1799.
- [3] Zhang X, Feng J, Heng Y, *et al.* Characterization of differentially expressed gene sinovarian cancer by DNA microarrays [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2005, 15(1): 50–57.
- [4] 宋娟娟, 丛晶, 吴效科, 等. 卵巢自身胰岛素抵抗放大其颗粒细胞增殖功能[J]. 科技导报, 2008, 26(6): 58–62.  
Song Juanjuan, Cong Jing, Wu Xiaoke, *et al.* *Science & Technology Review*, 2008, 26(6): 58–62.
- [5] 侯丽辉, 王晓冰, 吴效科. 从“痰壅胞宫”病机理论论多囊卵巢综合征排卵障碍[J]. 中国中医基础医学杂志, 2008, 14(10): 725–726.  
Hou Lihui, Wang Xiaobing, Wu Xiaoke. *Chinese Journal of Basic Medicine in Traditional Chinese Medicine*, 2008, 14(10): 725–726.
- [6] 郭红辉, 凌文华. C-Jun 氨基端激酶与胰岛素抵抗[J]. 中国医药生物技术, 2007, 2(5): 391–393.  
Guo Honghui, Ling Wenhua. *Chinese Medicinal Biotechnology*, 2007, 2(5): 391–393.
- [7] van Dam E W, Roellsema F, Helmerhorst F H, *et al.* Low amplitude and disorderly spontaneous growth hormone release in obese women with or without polycystic ovary syndrome[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, 87(9): 4225–4230.
- [8] Amin A F, Abd El Aal D M, Darwish A M, *et al.* Evaluation of the impact of laparoscopic ovarian drilling on Doppler indices of ovarian stromal blood flow, serum vascular endothelial growth factor, and insulin-like growth factor-1 in women with polycystic ovary syndrome[J]. *Fertil Steril*, 2003, 79(4): 938–941.
- [9] 程春霞, 薛敏. 多囊卵巢综合征与卵泡抑素关系的初步研究 [J]. 中国现代医学杂志, 2004, 14(24): 67–69.  
Cheng Chunxia, Xue Min. *China Journal of Modern Medicine*, 2004, 14(24): 67–69.
- [10] Calvo R M, Villuendas G, Sancho J, *et al.* Role of the follistatin gene in women with polycystic ovary syndrome [J]. *Fertil Steril*, 2001, 75(5): 1020–1023.
- [11] 陈小平, 沈宗姬, 陈友国, 等. 多囊卵巢综合征患者血清抑制素-激活素-卵泡抑素系统功能的改变[J]. 中华妇产科杂志, 2005, 40(2): 124–125.  
Chen Xiaoping, Shen Zongji, Chen Youguo, *et al.* *Chinese Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2005, 40(2): 124–125.
- [12] 谭丽, 朱桂金. 中国汉族 CYP11 $\alpha$  微卫星多态性与多囊卵巢综合征高雄性激素血症关系的研究 [J]. 中华医学遗传学杂志, 2005, 22(2): 216–218.  
Tan Li, Zhu Guijin. *Chinese Journal of Medical Genetics*, 2005, 22(2): 216–218.
- [13] 邹大进. 实用临床肥胖病学 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1999: 24.  
Zhou Dajin. *Practical clinical bariatrics* [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 1999: 24.
- [14] 王玉霞, 孙永玉. PPAR $\gamma$  与多囊卵巢综合征胰岛素抵抗的研究[J]. 国外医学妇幼保健分册, 2004, 15(3): 185–187.  
Wang Yuxia, Sun Yongyu. *Foreign Medical Sciences Section of Maternal and Child Health*, 2004, 15(3): 185–187.

(责任编辑 李慧政)

