来曲唑对幼龄 SD 大鼠发育毒性的考察

付莉莉[1,2,3]，魏丽萍[2,4]，王　雁[2,4]，邱云良[2,4]*

（1. 安徽中医药大学药学院，安徽合肥 230012；2. 益诺思生物技术南通有限公司，江苏南通 226100；
3. 长三角药物高等研究院，江苏南通 226133；4. 上海益诺思生物技术有限公司，上海 201203）

摘要：来曲唑（**1**）属于第三代非甾体类芳香化酶抑制剂，可用于治疗周围性性早熟、先天性肾上腺皮质增生症和身材矮小症，但 **1** 在儿科人群中的安全性评估尚有欠缺。该研究采用幼龄 SD 大鼠为模型评估 **1** 的发育毒性，考察了 **1** 连续灌胃给药 28 d 后幼龄 SD 大鼠的临床体征、体质量、学习和记忆功能、组织病理学、生殖功能、性激素以及骨代谢指标的变化。结果表明，与对照组（用 0.5%羧甲纤维素溶液处理）相比，**1** 对幼龄大鼠的临床体征、体质量、学习和记忆功能及Ⅰ型胶原 C 末端肽均无明显影响。但 **1** 高剂量（135 mg/kg）雄鼠试验组睾丸中睾酮的含量显著升高；**1** 中、高剂量（1.5 和 15 mg/kg）雌鼠试验组卵巢中的雌二醇含量、子宫器官系数显著降低，且子宫可见萎缩。不同剂量（0.15、1.5 和 15 mg/kg）**1** 作用下，雌鼠均出现闭锁卵泡显著增多的现象，而且各剂量组雌鼠卵母细胞中的Ⅲ型受体酪氨酸蛋白激酶（c-Kit）表达减少。综上所述，**1** 会影响雌性幼龄大鼠生殖功能和雄性幼龄大鼠雄激素水平，主要与 **1** 的作用机制有关。

关键词：来曲唑；芳香化酶抑制剂；雌激素；幼龄大鼠；发育毒性

中图分类号：R992　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2023)03-0404-07

DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2023.03.014

Investigation on Developmental Toxicity of Letrozole to Juvenile SD Rats

FU Lili[1,2,3], WEI Liping[2,4], WANG Yan[2,4], QIU Yunliang[2,4]*

(*1. School of Pharmacy, Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230012; 2. InnoStar Biotechnology Nantong Co., Ltd., Nantong 226100; 3. Yangtze Delta Drug Advanced Research Institute, Nantong 226133; 4. Shanghai InnorStar Biotech Co., Ltd., Shanghai 201203*)

ABSTRACT: Letrozole(**1**), a third-generation nonsteroidal aromatase inhibitor, has been widely used to treat peripheral precocious puberty, congenital adrenal hyperplasia, and short stature. However, the safety assessment of **1** in the pediatric population need to be improved. In this study, juvenile SD rats were used as models to evaluate the developmental toxicity of **1**. Juvenile SD rats were intragastrically administrated of **1** for 28 days, and the changes in clinical signs, body weight, learning and memory function, histopathology, reproductive function, sex hormones, and bone metabolism indexes were evaluated. The results showed that compared with the control group(treated with 0.5% of carboxymethylcellulose solution), there were no significant influences in clinical signs, body weight, learning and memory function, and C-terminal telopeptides of type Ⅰ collagen of jurenile rats treated with **1**. However, the testosterone level in testicular tissue of male rats treated with **1** at high dosage of 135 mg/kg was significantly increased. The estradiol level in the ovary, organ coefficient of the uterus in female rats treated with medium- and high-dose (1.5 and 15 mg/kg) of **1** were significantly decreased, and uterine atrophy was observed. Moreover, the significant increase of atresia follicles and decrease of c-Kit level in oocytes were observed in all groups of female rats treated with different doses (0.15, 1.5 and 15 mg/kg) of **1**. In conclusion, **1** could affect the reproductive function of female juvenile rats and the androgen level of male juvenile rats, which was mainly related to the action mechanism of **1**.

Key Words: letrozole; aromatase inhibitor; estrogen; juvenile rat; developmental toxicity

来曲唑（letrozole，**1**）是一个具有高选择性、可逆性的第三代非甾体类芳香化酶抑制剂，可抑制外周组织中芳香化酶（aromatase，CYP19）的活性，产生低雌激素环境。CYP19 是细胞色素 P450 酶系中的一种，可催化雄烯二酮和睾酮脱去 19 位碳并使 A 环芳构化，分别形成雌二醇和雌酮，是雌激素生物合成的限速酶[1]。雌激素在生殖功能、骨骼发育和认知功能维持方面的作用，以及芳香化酶对雌激素在周围组织局部作用的重要性已被广泛认识[2]。芳香化酶抑制剂已被用于治疗周围性性早熟、先天性肾上腺皮质增生症和身材矮小症[3]。由于在儿童和青少年中使用，其对生殖功能和骨骼健康的潜在影响受到了广泛关注。儿科研究[4—6]表明，**1** 存在肝肾功能障碍、脂质代谢紊乱、高雄激素血症、骨代谢紊乱等风险。

幼龄动物研究表明，**1** 会影响幼猪睾丸生精小管细胞的生长发育[7]，且对 27 日龄大鼠的骨骼强度和生长有不良影响[8]。虽然可以从 **1** 的作用机制中预测这些不良作用，但 **1** 对幼龄大鼠发育毒性的研究仍较匮乏，而且 **1** 在儿科人群中属于超说明书用药，对儿童的临床应用仍存在争议。因此，本研究采用幼龄 SD 大鼠为模型，连续 28 d 灌胃给予不同剂量的 **1**，并观察大鼠临床体征、体质量、学习和记忆功能、组织病理学、生殖功能、性激素以及骨代谢指标，以此评估 **1** 对幼龄 SD 大鼠的发育毒性，为儿科临床更安全、有效地使用 **1** 提供依据。

1 仪器与试药

SpectraMax Plus 型多功能酶标仪［美谷分子仪器（上海）有限公司］；DigBehv 动物行为分析系统（上海吉量软件科技有限公司）；Eclipse Ci-L 型生物显微镜［尼康仪器（上海）有限公司］；MP FastPrep-24 5G 型匀浆仪［芮科电子科技（上海）有限公司］。

1 片（浙江海正药业股份有限公司，批号 22005211，规格 2.5 mg）；注射用盐酸替来他明盐酸唑拉西泮（法国维克有限公司，商品名为舒泰® 50，批号 8HAAA）；盐酸赛拉嗪注射液（吉林省华牧动物保健品有限公司，批号 20220430）；4％多聚甲醛固定液（上海碧云天生物技术有限公司）；10％中性福尔马林缓冲液（pH 7.2 ～ 7.4）、改良 Davidson 固定液、0.5％羧甲基纤维素（carboxylmethyl cellulose，CMC）溶液均为自制；二甲苯（上海沃凯生物技术有限公司）；苏木精染液、伊红染液（珠海贝索生物技术有限公司）；3％过氧化氢溶液（江西草珊瑚消毒用品股份有限公司）；无水乙醇、95％乙醇（国药集团化学试剂有限公司）；乙二胺四乙酸（EDTA）抗原修复液（pH 9.0）、二氨基联苯胺（DAB）试剂盒（北京中杉金桥生物技术有限公司）；磷酸盐缓冲液（PBS，pH 7.2 ～ 7.4，北京索莱宝科技有限公司）；兔单克隆Ⅲ型受体酪氨酸蛋白激酶（Ⅲ receptor tyrosine kinase，c-Kit）抗体、山羊抗兔二抗［艾博抗（上海）贸易有限公司］；中性树胶［莱卡显微系统（上海）贸易有限公司］；大鼠雌二醇（estradiol，E2）、睾酮（testosterone，T）、Ⅰ型胶原 C 末端肽（C-terminal telopeptides of type Ⅰ collagen，CTX-Ⅰ）酶联免疫吸附试验（ELISA）试剂盒（武汉华美生物工程有限公司）。

3 ～ 4 周龄 SPF 级 SD 大鼠 38 只，雌雄各半，雌性体质量为 40 ～ 60 g、雄性体质量为 76 ～ 97 g，购于浙江维通利华实验动物技术有限公司，许可证编号 SCXK（浙）2019-0001，实验动物使用许可证号 SCXK（苏）2018-0034，动物质量合格证编号 20211206Aazz0619000456。大鼠饲养于 20 ～ 26 ℃，相对湿度 40％～ 70％的环境中，置昼夜节律光照条件下，自由进食进水。本研究方案获得益诺思生物技术南通有限公司实验动物伦理委员会的批准。

2 方法及结果

2.1 分组及给药

设置 3 d 检疫期和 3 d 适应期饲养，使动物适应新环境。选取 32 只健康幼龄 SD 大鼠，采用随机区组法分为 4 组，分别为对照组和 **1** 低、中、高剂量组，每组 8 只，雌雄各半。根据临床使用途径选择灌胃给药，对照组经口灌胃给予 0.5％ CMC 溶液，**1** 低、中、高剂量组雌性大鼠每日分别经口灌胃给予 0.15、1.5 和 15 mg·kg^{-1}，雄性大鼠每日分

收稿日期：2022-10-27
基金项目：江苏省新药一站式高效非临床评价公共服务平台建设（BM2021002）
作者简介：付莉莉（1994—），女，硕士研究生，研究方向：药物毒理学。
通信作者：邱云良（1978—），男，研究员，主要从事新药临床前安全评价研究。
E-mail：ylqiu@innostar.cn

别经口灌胃给予 **1** 15、45 和 135 mg·kg^{-1}，每日 1 次，连续 28 d 给药，给药期末解剖所有动物。此外，另取 3 只雄性大鼠用于免疫组化试验，每日经口灌胃给予正常饮食和饮水，连续 28 d，期末解剖并取睾丸组织染色，分别用作免疫组化试验的阳性对照组和阴性对照组。

2.2 统计学方法

采用 SPSS Statistics 23 软件进行统计分析。计量资料以“均数 ± 标准差”表示，采用 Levene's 检验检测数据的方差齐性，当方差齐，则进行单因素方差分析（ANOVA）；当方差不齐，则进行变量变换，然后进行 ANOVA；当方差分析结果有统计学差异，则进一步用 Dunnett *t* 检验进行组间比较检验。以 $P \leqslant 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2.3 大鼠临床体征观察

给药期间，每天观察幼龄大鼠临床体征，包括饮食饮水、精神状态、被毛及大小便状况，定期称量幼龄大鼠体质量。结果显示，幼龄大鼠给予不同剂量 **1** 的 28 d 期间，未见与 **1** 相关的动物死亡，各组幼龄大鼠的临床体征均正常。如图 1 所示，与对照组相比，幼龄大鼠经口灌胃给予 **1** 28 d 后，雌鼠平均体质量随剂量增加而增加，雄鼠平均体质量随剂量增加而降低，但整体上并无显著性差异。尽管高剂量组雄鼠在 d4 和 d7 的体质量与对照组大鼠相比有显著差异（$P \leqslant 0.05$），但随着给药次数的增加，体质量未见持续下降，毒理学意义不大。

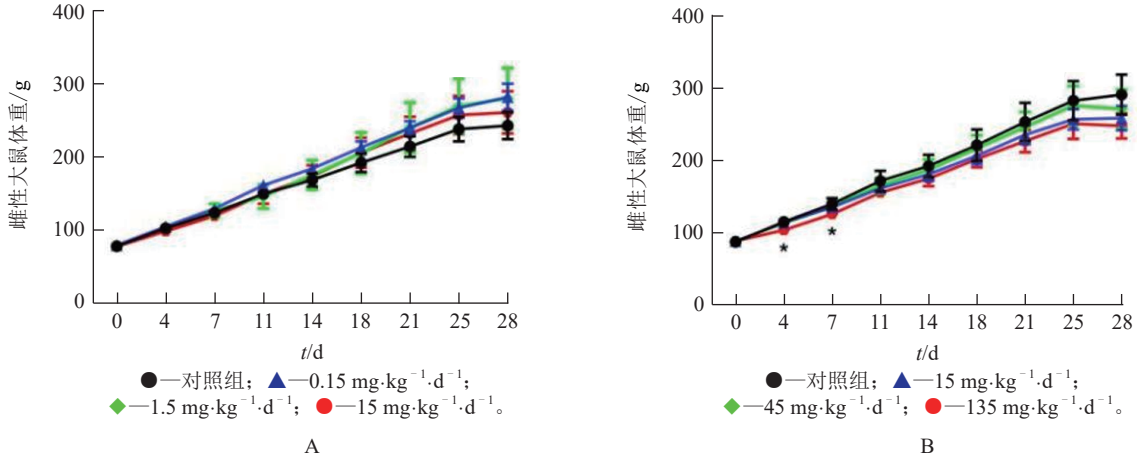
2.4 被动回避试验

在 d26 对所有存活动物采用 DigBehv 动物行为分析系统进行被动回避试验，测试装置为被动回避反应箱，箱底部有铜栅均匀分布，通 36 V 交流电，内设安全台供大鼠躲避电击，评价其学习和记忆能力。动物首先进行训练（学习过程），测试动物在测试箱内接受条件刺激（如光照）和非条件刺激（电击），结束学习训练 24 h 后，在相同条件下对其进行记忆力保持测试。重复测试 15 次。仪器自动采集记录下列参数：潜伏期和穿梭次数。计算下列参数：各组记忆率、各组平均潜伏期、15 次试验中动物发生穿梭的比例、平均穿梭次数，结果如表 1 所示。

表 1　1 对幼龄大鼠学习记忆的影响（*n*=4）

Tab.1　Effect of **1** on Learning and Memory Functions of Juvenile Rats（*n*=4）

性别	组别	记忆率/%	平均潜伏期/s	穿梭次数/次	穿梭率/%
雄性	对照组	0.97±0.04	9.71±0.34	0.50±0.58	0.04±0.04
	低剂量组	0.95±0.04	9.76±0.27	0.75±0.50	0.05±0.04
	中剂量组	0.95±0.04	9.83±0.19	0.75±0.50	0.05±0.04
	高剂量组	0.95±0.04	9.84±0.19	0.75±0.50	0.05±0.04
雌性	对照组	1.00	10.00	0	0
	低剂量组	0.94±0.00	9.84±0.26	0.75±0.50	0.05±0.04
	中剂量组	0.93±0.05	9.12±1.14	1.00±0.82	0.06±0.05
	高剂量组	0.95±0.04	9.89±0.09	0.75±0.50	0.05±0.04



A—雌性大鼠；B—雄性大鼠。

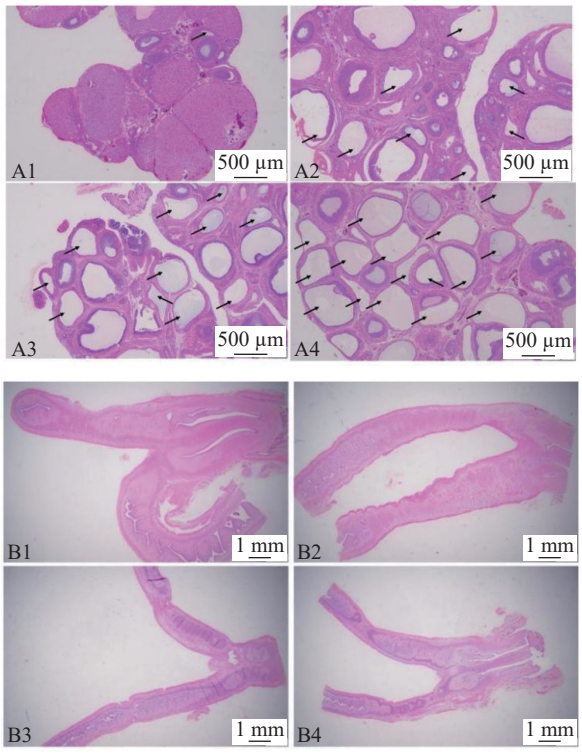
图 1　1 对大鼠平均体质量的影响（* 表示与对照组比较，$P \leqslant 0.05$；*n*=4）

Fig.1　Effect of **1** on the Average Body Weight of Rats（Compared with the Control Group, * Represents $P \leqslant 0.05$; *n*=4）

与对照组相比，给予 **1** d28 后，各剂量组幼龄大鼠的学习和记忆功能、记忆率、潜伏期、穿梭次数以及穿梭率均无显著影响（P>0.05）。

2.5 病理组织学观察

对给药期末所有动物实施安乐死，并进行大体解剖，采集卵巢（左侧用于 HE 染色，右侧用于免疫组化染色）、子宫、股骨、海马体、睾丸及附睾组织，除睾丸和附睾组织在改良 Davidson 固定液中固定外，其他组织均在 10%福尔马林缓冲液中固定。固定 48 h 后取材、上样、包埋和切片，子宫、左侧卵巢、股骨、海马体、睾丸及附睾组织采用苏木精 - 伊红（hematoxylin-eosin，HE）染色，在显微镜下观察，结果如图 2 所示。



A1—对照组卵巢闭锁卵泡（黑色箭头，×40），A2 ～ A4—0.15、1.5、15 mg/kg **1** 组卵巢闭锁卵泡（黑色箭头，×40）；B1—对照组子宫（×12.5），B2 ～ B4—0.15、1.5、15 mg/kg **1** 组子宫萎缩（×12.5）。

图 2 1 对大鼠卵巢、子宫的影响

Fig.2 Effects of **1** on Ovary and Uterus of Rats

HE 染色结果显示，对照组雌鼠各组织切片均未见明显异常。与对照组相比，各剂量 **1** 组雌性大鼠卵巢的闭锁卵泡增多（图 2A），子宫萎缩（图 2B），而且随着 **1** 浓度增高，卵巢和子宫的病变程度加重；各剂量组雌性的其他组织未见与 **1** 有关的病理改变。

2.6 性腺脏器器官系数

称量“**2.5**”项下采集的大鼠睾丸和附睾、卵巢以及子宫，根据式①计算脏器器官系数，结果如图 3 所示。

器官系数 = 器官质量 (g)/ 体质量 (g) 式①

给药期末，与对照组相比，中、高剂量组雌性幼龄大鼠子宫的器官系数均显著低于对照组（$P \leqslant 0.05$）；其他各剂量组幼龄大鼠性腺器官系数与对照组相比均无显著差异。

2.7 c-Kit 表达

由于 c-Kit 在大鼠睾丸精母细胞、精原细胞及间质细胞中阳性表达，所以选择大鼠睾丸组织作为阳性对照组织。解剖获得雄性大鼠的睾丸组织，用 4%多聚甲醛固定液固定 48 h；大鼠睾丸组织加等量的 c-Kit 作为阳性对照组，加等量的 1×PBS 作为阴性对照组。设置阳性对照组和阴性对照组的目的是为了确定免疫组化染色是否成功，以及排除假阳性结果。将“**2.5**”项下采集的右侧卵巢组织于 10%福尔马林固定 48 h。固定后的组织均用石蜡包埋、切片，厚度为 3 μm。切片在二甲苯中脱蜡，然后用无水乙醇、95%、90%、80%和 70%乙醇梯度水化。接着，在体积分数 3%的过氧化氢溶液中孵育 20 min 以阻断内源性过氧化物酶。将处理好的切片放入盛有 EDTA 抗原修复液（pH 9.0）切片盒，放入微波炉加热 15 min，修复抗原；加入正常山羊血清室温孵育 20 min，封闭非特异性抗原；弃去血清，直接加入兔单克隆 c-Kit 一抗（1×PBS，1 ∶ 200 稀释），阴性对照组加等量 1×PBS，4 ℃孵育过夜；用 1×PBS 冲洗 5 min，重复 3 次，加入山羊抗兔二抗（1×PBS，1 ∶ 200 稀释），于 37 ℃恒温孵育 20 min，再用 1×PBS 冲洗 5 min，重复 3 次；加 DAB 试剂显色，经苏木精染液复染，然后用中性树胶封片后进行镜检。细胞无着色为阴性，浅黄色

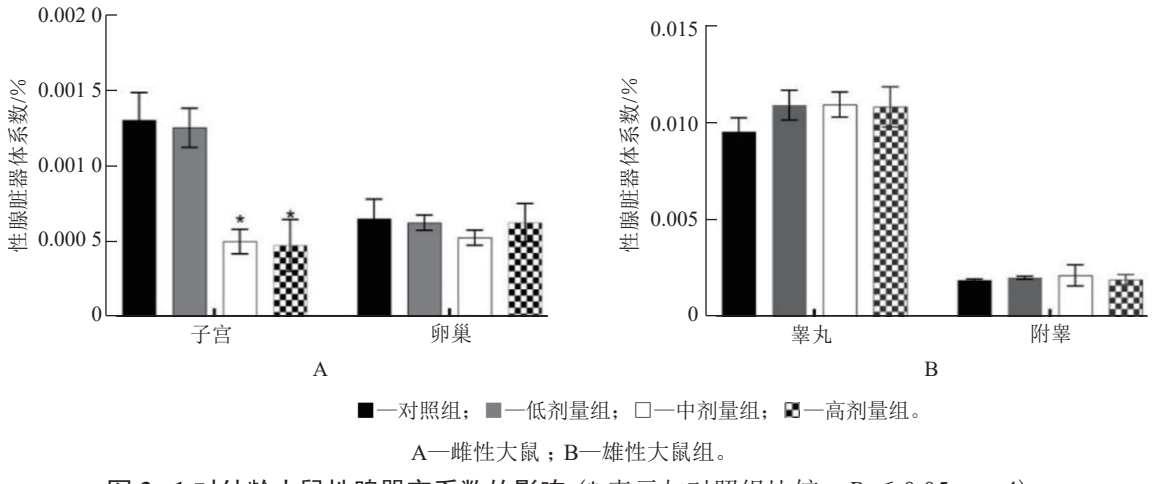


图 3　1 对幼龄大鼠性腺器官系数的影响（* 表示与对照组比较，$P \leqslant 0.05$；n=4）

Fig.3　Effect of **1** on Genital Organ Coefficients of Juvenile Rats
(Compared with the Control Group, * Represents $P \leqslant 0.05$; n=4)

为弱阳性，棕黄色为中度阳性，棕褐色为强阳性。结果如图 4 所示。

结果显示，c-Kit 在阳性对照组睾丸精母细胞、精原细胞及间质细胞上有中等强度阳性表达（图 4A），在阴性对照组睾丸精母细胞、精原细胞及间质细胞上无表达（图 4B）；在对照组雌性大鼠卵巢的各级卵泡的卵母细胞、膜细胞、间质细胞有强阳性表达（图 4C），**1** 组雌性大鼠的卵巢各级卵泡的卵母细胞、膜细胞、间质细胞均中等强度阳性表达（图 4D、4E）。与对照组相比，中剂量和高剂量组 **1** 处理的大鼠卵母细胞 c-Kit 阳性反应显著减弱（$P \leqslant 0.05$）。

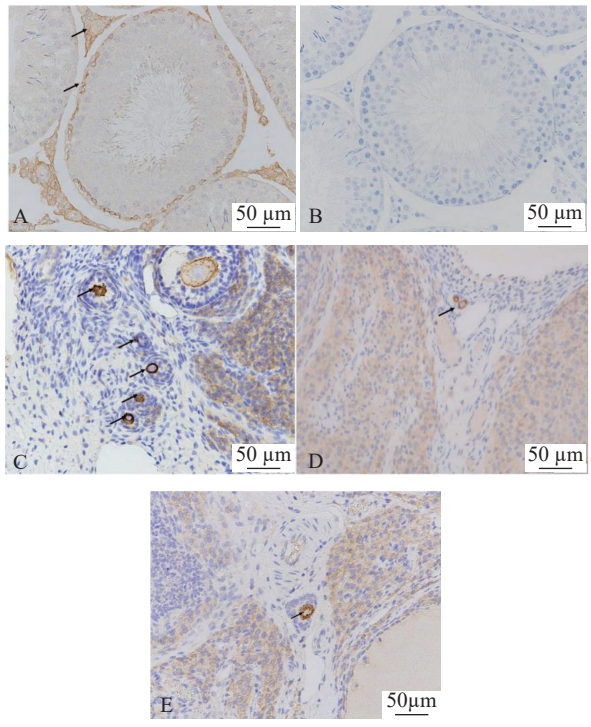
2.8　骨代谢生物标记物

所有 SD 大鼠在 d28 腹腔注射舒泰 ® 和赛拉嗪混合液进行动物麻醉，暴露腹腔，并通过腹主动脉收集血液 2 mL 于含促凝剂和分离胶的管中，4 ℃过夜 12 h，离心（1 000×*g*）15min，取上清液用于骨代谢生物标志物 CTX-Ⅰ的检测。检测采用 ELISA 试剂盒，批内差精密度 <15%，批间差精密度 <15%。结果如图 5 所示。

1 各剂量组幼龄大鼠血清 CTX-Ⅰ含量与对照组相比，CTX-Ⅰ含量变化无显著差异（P>0.05）。

2.9　性激素水平

采用 ELISA 法分别测定大鼠组织（睾丸中 T，以及海马体和卵巢中 E2）、血清中的 T、E2 的含量。



A—睾丸阳性对照组（黑色箭头指示了 c-Kit 在睾丸精原细胞、精母细胞和间质细胞的阳性表达，从染色结果看为中等强度）；B—睾丸阴性对照组（睾丸精原细胞、精母细胞和间质细胞上无着色，表明 c-Kit 无表达）；C—对照组卵巢组织（黑色箭头指示对照组卵巢卵母细胞上存在 c-Kit 的强阳性表达）；D、E—**1** 中、高剂量组卵巢组织（黑色箭头指示 1.5、15 mg/kg 组卵巢卵母细胞上存在 c-Kit 的中等强度阳性表达）。

图 4　1 对大鼠睾丸和卵巢组织中 c-Kit 表达的影响（×400）

Fig.4　Effects of **1** on c-Kit Expressions in Rats Ovarian and Testicnlar Tissue（×400）

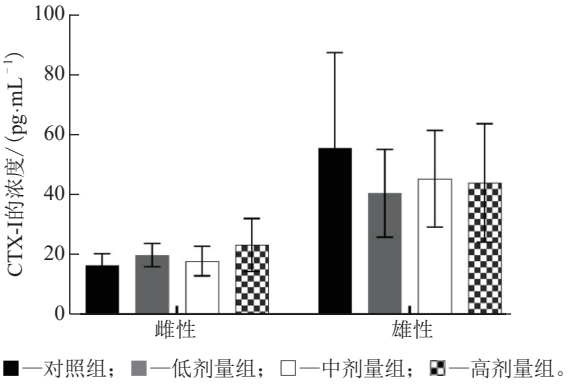


图 5　1 对大鼠血清 CTX-Ⅰ含量的影响（*n*=4）

Fig.5　Effect of **1** on the CTX-Ⅰ Level in Rats Serum (*n*=4)

d28 取大鼠左侧睾丸、海马体、卵巢及血液 2 mL。

血清制备：血液于 4 ℃离心（1 000×*g*）15 min，立即检测或 －80 ℃保存待测。

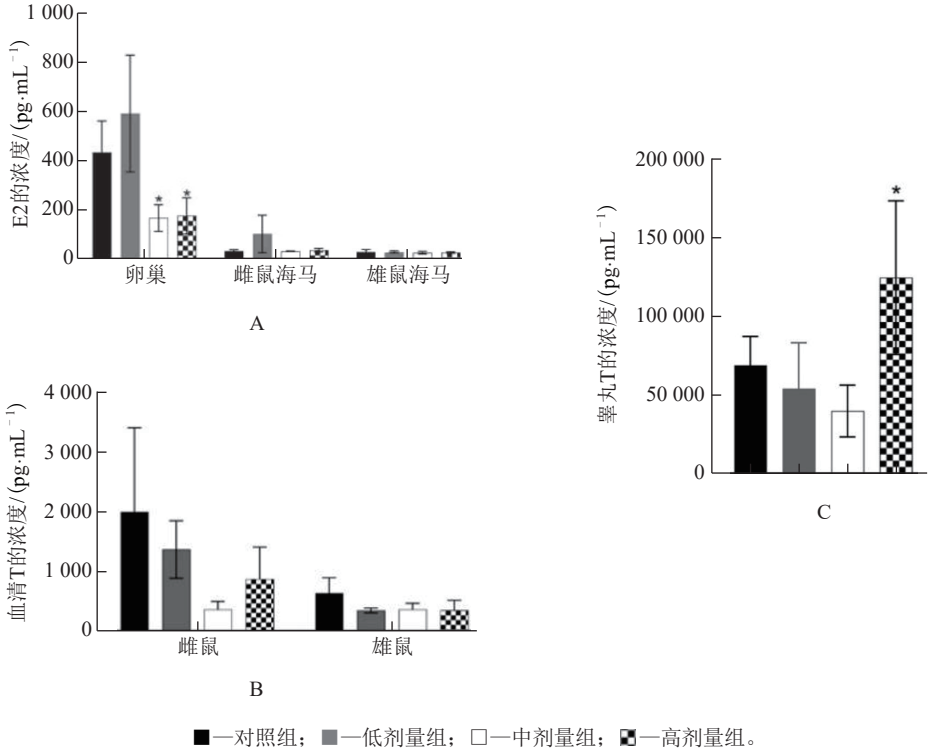
左侧睾丸、海马和卵巢组织匀浆制备：称取各组织 100 mg，用 1×PBS 清洗血污后置匀浆管中，加入 1×PBS 1 mL，放入组织研磨器中制成匀浆，然后于 －20 ℃孵育 12 h，复融后离心（5 000×*g*）5 min，取上清液储存于低温冰箱（－80 ～ －20℃）。使用时重复冻融 1 次，但应避免反复冻融。

各个指标的检测均严格按照 ELISA 试剂盒说明书操作，结果如图 6 所示。

与对照组比较，中、高剂量组雌性幼鼠卵巢 E2 含量显著降低（$P \leqslant 0.05$）；高剂量组雄性幼鼠睾丸 T 含量显著升高（$P \leqslant 0.05$）。其他剂量组幼龄大鼠血清 T、E2 及海马组织 E2 含量变化无显著性差别（$P>0.05$）。

3　讨论

本研究对幼龄大鼠灌胃给予 **1**，检测了给药后大鼠的生存情况、临床症状、体质量、学习和记忆



A—卵巢和海马组织 E2 浓度；B—血清 T 浓度；C—睾丸 T 浓度。

图 6　1 对幼龄大鼠血液和组织中 T、E2 含量的影响（* 表示与对照组比较，$P \leqslant 0.05$；*n*=4）

Fig.6　Effects of **1** on T and E2 Levels in Serum and Tissues of Rats (Compared with the Control Group, * Represents $P \leqslant 0.05$; *n*=4)

功能、组织病理学、生殖功能、性激素以及骨代谢指标的变化。结果显示，给予 **1** 28 d 后，高剂量组雄性大鼠睾丸中的 T 含量显著升高；中、高剂量组雌性大鼠卵巢中的 E2 含量显著降低。这与 **1** 抑制芳香化酶催化 T 向 E2 的转化，从而导致 E2 水平的降低和 T 水平的升高有关。

此外，各剂量组的 **1** 对雌性幼龄大鼠卵巢和子宫均表现出明显毒性，卵巢闭锁卵泡增多和子宫萎缩，与卵巢 E2 水平的降低结果一致；而对雄性幼龄大鼠各剂量组睾丸及附睾未表现出明显毒性表现。ARORA 等[9]研究表明 **1** 在雌性幼龄大鼠体内的血浆浓度和性腺的吸收水平与雄性幼龄大鼠存在着较大的差异，提示 **1** 的生殖毒性可能会存在性别差异，而且临床研究表明 **1** 对男童短期影响不明显。本研究结果与此一致，给药 28 d，**1** 尚未表现对雄性幼鼠的影响，但仍需更长周期的重复给药毒性试验研究确认。

c-Kit 可特异性地结合干细胞因子（SCF），SCF/c-Kit 对卵巢和睾丸的增殖和分化有重要作用，其表达水平受到激素的调控[10]。**1** 因抑制芳香化酶会使体内雌激素降低，从而会影响 SCF/c-Kit 信号通路的表达。FIGUEIRA 等[11]研究表明雌激素水平和卵巢卵母细胞中 c-Kit 的表达呈正相关。本研究表明，与对照组相比，**1** 组雌性大鼠卵巢组织雌激素降低，免疫组化结果显示试验组雌性大鼠 c-Kit 表达减少。这表明 **1** 对雌性幼鼠的卵巢毒性可能是由于 **1** 抑制卵巢卵母细胞中 c-Kit 的表达，从而影响卵母细胞的增殖和分化。

综上所述，**1** 对幼龄大鼠学习和记忆功能以及骨代谢指标 CTX-Ⅰ无明显影响，但会导致内源性雌激素减少，使雌性幼龄大鼠卵巢中闭锁卵泡增多、子宫萎缩，且卵巢卵母细胞 c-Kit 的表达减少，会影响卵巢卵母细胞的生长和分化成熟过程，具体作用机制和安全剂量仍待进一步深入研究。

参考文献：

[1] BLAKEMORE J, NAFTOLIN F. Aromatase: contributions to physiology and disease in women and men [J]. *Physiology* (Bethesda), 2016, **31**(4): 258-269.

[2] PORRAS L, ISMAIL H, MADER S. Positive regulation of estrogen receptor alpha in breast tumorigenesis [J]. *Cells*, 2021, **10**(11): 2966.

[3] 乔晓红. 芳香化酶抑制剂在儿科领域应用研究进展[J]. 世界临床药物, 2020, **41**(3): 160-165.

[4] 李小玲, 叶　进. 第三代芳香化酶抑制剂促生长作用的有效性及安全性[J]. 中南药学, 2020, **18**(4): 630-634.

[5] MAURAS N, ROSS J L, GAGLIARDI P, *et al*. Randomized trial of aromatase inhibitors, growth hormone, or combination in pubertal boys with idiopathic, short stature [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2016, **101**(12): 4984-4993.

[6] 王春林, 梁　黎. 第三代非甾体类芳香化酶抑制剂在儿科内分泌临床应用的再认识[J]. 浙江大学学报(医学版), 2020, **49**(3): 275-282.

[7] 陈力力, 田兴贵, 张爱琼. 来曲唑对香猪睾丸波形蛋白表达的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2021, **57**(7): 155-158.

[8] BAJPAI A, SIMM P J, MCPHERSON S J, *et al*. Peripubertal aromatase inhibition in male rats has adverse long-term effects on bone strength and growth and induces prostatic hyperplasia [J]. *J Endocrinology*, 2010, **207**(1): 27-34.

[9] ARORA P, GUDELSKY G, DESAI P B. Gender-based differences in brain and plasma pharmacokinetics of letrozole in sprague-dawley rats: application of physiologically-based pharmacokinetic modeling to gain quantitative insights [J]. *PLoS One*, 2021, **16**(4): e0248579.

[10] MARTINEZ-ANTON A, GRAS D, BOURDIN A, *et al*. KIT as a therapeutic target for non-oncological diseases [J]. *Pharmacol Ther*, 2019, **197**: 11-37.

[11] FIGUEIRA M I, CARDOSO H J, CORREIA S, *et al*. The stem cell factor (SCF)/c-Kit system in carcinogenesis of reproductive tissues: what does the hormonal regulation tell us? [J]. *Cancer Lett*, 2017, **405**: 10-21.