生殖系统疾病

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001005

多囊卵巢综合征大鼠模型 AR 与 CARM1 及其产物的表达

刘　洋，赵纯全

（重庆医科大学附属第一医院妇产科，重庆　400016）

【摘　要】**目的**：探讨脱氢表雄酮（dehydroepiandrosterone，DHEA）诱导的 SD 大鼠多囊卵巢综合征（polycystic ovarian syndrome，PCOS）模型效果，检测该模型中雄激素受体（androgen receptor，AR）与共激活因子相关的精氨酸甲基转移酶 1（coactivator-associated arginine methyltransferase 1，CARM1）表达情况，研究 PCOS 模型中胰岛素抵抗、激素改变、AR 与 CARM1 及其产物非对称二甲精氨酸（asymmetric dimethylarginines，ADMA）之间的关系。**方法**：将 40 只 23 日龄雌性 SD 大鼠随机分为实验组和对照组，每组 20 只，实验组每日皮下注射 DHEA 0.6 mg/kg，对照组同时同位置注射等量注射用油。连续 20 d 后观察大鼠卵巢组织学形态及体质量、性激素、空腹血糖、胰岛素（insulin，Ins）及血清 ADMA 变化，评价胰岛素抵抗情况，并用免疫组化确定 CARM1 在卵巢组织中的表达情况，Western blot 及荧光定量 PCR 检测卵巢 AR、CARM1 蛋白及 mRNA 转录表达情况。**结果**：PCOS 实验组最终体质量、增加体质量、卵巢重量均明显高于对照组（$P<0.05$）；血清空腹血糖、胰岛素、胰岛素抵抗指数（homeostasis model assessment index，HOMA index）、ADMA、睾酮（testosterone，T）、雌二醇（estrodiol，E2）均明显高于对照组（$P<0.05$）；实验组卵巢出现大量闭锁卵泡、囊状卵泡，颗粒细胞层减少，卵母细胞消失等特征；卵巢组织中的 CARM1 主要由颗粒细胞表达；AR、CARM1 蛋白量及 mRNA 表达量实验组明显高于对照组（$P<0.05$）。**结论**：CARM1 及其产物 ADMA 与 PCOS 高雄激素血症、排卵功能障碍和胰岛素抵抗之间存在相关性，但二者与 PCOS 上述三大病理生理特点之间的内在联系及其具体机理仍需要进一步验证。

【关键词】多囊卵巢综合征；雄激素受体；共激活因子相关的精氨酸甲基转移酶 1；非对称二甲精氨酸

【中图分类号】R711.75　　【文献标志码】A　　【收稿日期】2015-11-06

Expression of AR and CARM1 as well as its product in rat PCOS model

Liu Yang, Zhao Chunquan

(*Department of Obsterics and Gynecology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University*)

【Abstract】***Objective***: To explore the efficacy of dehydroepiandrosterone (DHEA) induced SD rat polycystic ovarian syndrome (PCOS) model, to detect androgen receptor (AR) and coactivator-associated arginine methyltransferase 1 (CARM1) expressions, and to investigate the relationship between hormone change, insulin resistance, AR and CARM1, asymmetric dimethylarginines (ADMA). ***Methods***: The 23-day-old female SD rats were randomly divided into two groups. The rats in model group were injected with 0.6 ml/kg DHEA daily for 20 days while the rats in control group were injected with the same volum oil at the same time. Ovarian morphology changes, hormone in blood, insulin resistance, mRNA and protein expression of AR and CARM1 were dected one by one. Immunohistochemistry identified the expression of CARM1 in ovarian tissue. ***Results***: The average body weight of rats in model group at the end of this experiment was significantly higher than that in control group ($P<0.05$). The same result was achived concerning the average weight of ovaries and the weight gain of rats during the experiment ($P<0.05$). The fasting insulin and HOMA index, ADMA, testosterone, estrodiol were significantly higher in model group than those in control group ($P<0.05$), so as the mRNA and protein expression of AR and CARM1 ($P<0.05$). In ovarian tissue of rats in model group, a large number of atretic and cystic ovarian follicles emerged, granulosa cell layer decreased and oocytes disappeared. CARM1 expressed mainly by the granulosa cells in ovarian tissue. ***Conclusion***: There is a correlation between CARM1 and three major pathophysiological characteristics of PCOS, hyperandrogenism, ovarian dysfunction and insulin resistance, but the internal relations and specific mechanism still need further verification.

【Key words】polycystic ovarian syndrome; androgen receptor; coactivator-associated arginine methyltransferase 1; asymmetric dimethylarginines

作者介绍：刘　洋，Email：410828478@qq.com，
研究方向：生殖内分泌方向。

通信作者：赵纯全，Email：zcq113@yahoo.com.cn。

基金项目：重庆市卫生局重点资助项目（编号：2012-1-016）。

优先出版：http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20160623.1548.016.html（2016-06-23）

多囊卵巢综合征(polycystic ovarian syndrome，PCOS)是妇科门诊中较为常见的生殖内分泌疾病，全世界约有 5%到 10%的育龄期女性受其影响[1-2]。PCOS 的临床特点在不同个体之间存在很大差异，目前公认的共同病理生理过程主要有①持续性排卵功能障碍，与体内激素代谢紊乱有关；②胰岛素抵抗，与内皮功能损伤有关；③高雄激素血症[1-3]，最终所导致的不孕、月经紊乱、激素代谢异常、心血管远期并发症等一系列症状影响女性的一生[4-8]。虽然 PCOS 目前针对以上三大病理生理过程分别有相对应的治疗方案，但它们作为相对独立的存在一直缺乏一个能将他们联系到一起的因子。最近发现的与多种激素依赖性肿瘤有密切联系的辅激活因子相关的精氨酸甲基转移酶 1 及其产物非对称性二甲基精氨酸通过一氧化氮/一氧化氮合酶(NO/NOS)等途径的调节作用，参与一些以内皮功能损伤为基础的全身代谢性疾病的发生。本实验通过皮下注射外源性雄激素去氢表雄酮建立 SD 大鼠 PCOS 模型的方法，研究精氨酸甲基转移酶 1(coactivator-associated arginine methyltransferase 1，CARM1)及其产物非对称二甲精氨酸(asymmetric dimethylarginines，ADMA)在模型中的变化及其与雄激素受体(androgen receptor，AR)的相关性，探究在外源性雄激素构建的 PCOS 模型中 CARM1 及其产物 ADMA 是否与 PCOS 的高雄激素血症、各种激素改变密切相关的排卵功能障碍及胰岛素抵抗这三大公认病理生理改变具有相关性，寻求它们之间的内在联系。

1 材料与方法

1.1 主要试剂材料

雌性 SD 大鼠 40 只，21 日龄，体质量 54~64 g 不等，由重庆医科大学实验动物中心提供(本研究符合重庆医科大学实验动物伦理委员会所制定的伦理学标准)。DHEA(成都艾科达，纯度>99%)，注射用大豆油(浙江田雨山)，血清雌二醇(estrodiol，E2)、睾酮(testosterone，T)、孕激素(progesterone，P)、促卵泡生长激素(follicle stimulating hormone，FSH)、促黄体生成激素(luteinizing hormone，LH)、胰岛素(insulin，Ins)、ADMA ELISA 试剂盒(罗氏，瑞士)，AR、CARM1 一抗(RD，美国)，羊抗兔 IgG(Sigma，美国)，GDS8000 凝胶扫描系统(UVP，美国)，梯度 PCR 仪(Eppendorf MG，德国)。

1.2 实验动物分组与模型建立

本造模方法参考 Anderson 等[9]造模方法，将 40 只雌性 SD大鼠(3 周龄)按照简单随机化分组法分为实验组(n=20)和对照组(n=20)。将 2 组 SD 大鼠 SPF 级饲养，并处于同一温度、湿度，饲养方法相同，2 组大鼠统一第 21 日龄断乳后将所有大鼠适应性喂养 2 d 于 23 日龄开始，实验组大鼠每日颈背部皮下注射 DHEA 6 mg/100 g 体质量+0.2 ml 注射用油，连续 20 d；对照组大鼠同法同时注射 0.2 ml 注射用油，连续 20 d。

1.3 标本获取、空腹血糖测定及卵巢大体形态测量

2 组大鼠于注药第 20 天(42 日龄)20:00 开始禁食。注药第 21 日(43 日龄)同晨称质量后，采用指血糖法取大鼠尾血(第一滴血丢弃)测量其空腹血糖(fasting blood glucose，FBG)值，然后腹腔注入 7%水合氯醛(0.5 ml/100 g)麻醉，腹部75%酒精消毒后打开腹腔，暴露腹主动脉，以空针连接真空负压采血管抽取 2~5 ml 动脉血，4 ℃环境静置 3~4 h，经 3 000 r/min 10 min 离心后收集血清，分装，-80 ℃冰箱保存。取血后以 PBS 液经腹主动脉反复灌注卵巢至渗液清亮，尽量去除组织中的红细胞。待组织渗液清亮后切取双侧卵巢，在解剖显微镜下剔除卵巢表面多余组织，观察卵巢大体情况，部分卵巢组织以 4%多聚甲醛固定，待石蜡包埋切片，余放入液氮中保存备用。

1.4 性激素、空腹胰岛素及血清 ADMA 测定

大鼠血清 E2、T、LH、FSH、P、空腹 Ins 及血清 ADMA 的测定均采用酶联免疫法(enzyme-linked immunosorbent assay，ELISA)，操作均按照说明书进行。

1.5 HE 染色和卵巢形态学观察

将多聚甲醛固定后的卵巢组织，常规脱水、浸蜡、包埋、切片后经脱蜡、苏木精染色、1%盐酸酒精分化再以 0.5%伊红液染色；脱水、透明、中性树胶封片。光学显微镜下观察卵巢形态学变化；各类型卵泡的镜下诊断请参照 Anderson 等的标准[9]。

1.6 免疫组织化学检测卵巢组织 CARM1 表达情况

将 2 组石蜡包埋的大鼠卵巢组织常规切片，采用免疫组化 SP 法测定卵巢组织表达的 CARM1，操作步骤按说明书进行，DAB 显色。以 PBS 缓冲液替代一抗作为阴性对照实验证实此免疫组织化学反应具备特异性，结果采用 Image-Pro Plus6.0 软件检测组织阳性区域内的积分光密度值(integrated optical density，IOD)，并以 IOD 值均值作半定量分析。

1.7 Western blot 检测卵巢 CARM1 及 AR 的蛋白表达

分别取 2 组卵巢组织剪碎。加入 RIPA 裂解液(1 ml 裂解液：100 mg 组织)。匀浆，离心取上清液，以 BCA 法测蛋白浓度，上样量均为 20 μg，80~120 V SDSPAGE 电泳；260 mA 恒流电转膜 2 h，5%脱脂牛奶封闭，一抗 CARM1、AR(1∶500)，内参 GAPDH 一抗(1∶3 000)，二抗(1∶3 000)，常规方法显影、定影出电泳带。胶片扫描后以 UVP 凝胶图像处理系统 Labworks4.6 分析目的条带的灰度值，观察各组蛋白表达强弱。

1.8 qRT-PCR 检测卵巢 CARM1、AR 的 mRNA 表达情况

取 2 组卵巢新鲜组织，以 TRIzol 法提取 RNA 后将其逆转录为 cDNA(1 ml TRIzol：100 mg 组织)，反转录体系为 5 μl/20 μl，反转录反应条件：25 ℃ 10 min，42 ℃ 50 min，85 ℃ 5 min。荧光定量 PCR 反应体系为 2 μl/50 μl，荧光定量 PCR 扩增条件：94 ℃ 10 min，94 ℃ 20 s，60 ℃ 30 s，72 ℃ 30 s，循环 35 次，72 ℃检测信号；以 β-actin 作为内参。引物设计如下：

CARM1 上游引物：5'-CCAGACAGGCTCCAAATCCA-3'，下游引物：5'-CCCGCTGCTGAGATTGTAGG-3'，产物片段 154 bp；AR 上游引物：5'-GAACAGAGTCCCCTATCCCAGTC-3'，下游引物 5'-TTCTGGGGTGGGAAGTAATAGTC-3'，产物片段 147bp；内参 β-actin 上游引物：5'-CCCATCTATGAGGGTTACGC-3'，下游引物：5'-TTTAATGTCACGCACGATTTC-3'，产物片段 150 bp。每个样本 CARM1、AR 表达量由 β-actin 表达进行标准化，通过比较 C_t 值的方法分析表达差异。

1.9 统计学分析

实验数据以 SPSS 19.0 统计软件处理，2 组数据间检验采用独立样本 t 检验，结果以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示。检验水准 α=0.05（双侧）。

2 结 果

2.1 一般情况

2 组大鼠均发育正常，外观、行为、体征未见明显异常且 2 组无明显差异。与对照组比较，实验组大鼠的最终体质量大于照组，差异具有统计学意义（P<0.05），实验组在整个实验中增加的体质量较对照组增加的体质量多，差异具有统计学意义（P<0.05）实验组大鼠卵巢质量大于对照组（P<0.05），但去除大鼠体质量减少的影响后，每 100 g 体质量的卵巢相对重量在实验组和对照组未见统计学差异（P>0.05）（表 1）。

2.2 空腹血糖及胰岛素抵抗情况

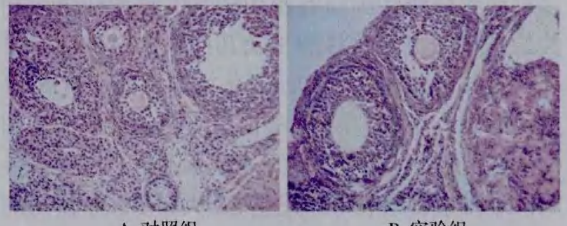
与对照组比较，实验组大鼠 FBG、空腹胰岛素值及HOMA 指数升高，差异具有统计学意义（P<0.05）（表 2）。

2.3 血清性激素及 ADMA 检测

与对照组比较，实验组血清 ADMA 明显升高（P=0.000），T、E2 升高（P<0.05），差异具有统计学意义；P、LH、FSH 实验组较对照组有所降低且 LH/FSH 也有所下降，但差异并无统计学意义（P>0.05）（表 3）。

2.4 卵巢大体情况及 HE 染色

与对照组比较，解剖显微镜下可见实验组卵巢大体色泽苍白，其内可见多个扩张囊泡及透明囊泡液，卵巢组织经切片染色后可见较多发育早期小卵泡、闭锁卵泡及囊状扩张卵泡，卵巢内颗粒细胞层数减少，卵泡内卵母细胞或放射冠消失，黄体数目明显减少，卵巢间质细胞及卵泡膜细胞数量增多，白膜厚度增加。对照组卵巢组织大体外观色泽较红润，镜下见多个黄体及不同发育阶段的卵泡，卵泡内颗粒细胞层数增多（图 1）。



A. 对照组　　B. 实验组

图 1　2 组大鼠卵巢 HE 染色（200×）

Fig.1　Ovarian HE staining（200×）

2.5 免疫组化检测结果

与对照组比较，实验组卵巢组织表达 CARM1 较多，呈棕黄色颗粒，着色较深，主要阳性表达区域位于卵巢颗粒细胞，

表 1　2 组大鼠一般情况比较

Tab.1　Body weight and ovarian weight in two groups

组别	n	起始体质量（g）	最终体质量（g）	增加的体质量（g）	卵巢重量（mg）	卵巢相对重量（mg/100 g 体质量）
实验组	20	57.9 ± 5.5	148.9 ± 9.2	90.9 ± 9.8	42.97 ± 10.98	28.98 ± 7.79
对照组	20	60.8 ± 4.6	137.6 ± 15.5	76.8 ± 16.7	35.61 ± 9.07	26.03 ± 6.82
t 值		−1.810	2.800	3.270	2.310	1.270
P 值		0.078	0.009	0.003	0.026	0.212

表 2　2 组大鼠 FBG、Ins 及 HOMA 指数

Tab.2　FBG, Ins and HOMA index in two groups

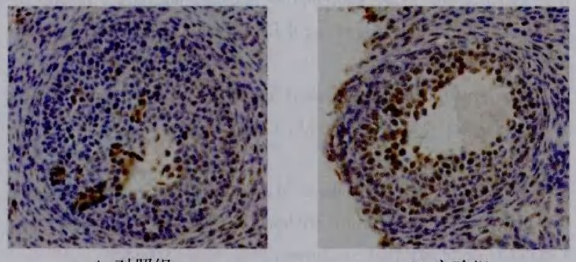
组别	n	FBG（mmol/L）	Ins（mU/L）	HOMA指数
实验组	20	4.79 ± 0.64	18.76 ± 5.47	4.01 ± 1.31
对照组	20	4.27 ± 0.58	11.47 ± 3.81	2.17 ± 0.77
t 值		2.688	4.890	5.405
P 值		0.011	0.000	0.000

表 3　2 组血清性激素及 ADMA 情况

Tab.3　Sex hormones and ADMA in serum in two groups

组别	n	ADMA（μmol/L）	T（ng/ml）	LH（IU/L）	FSH（IU/L）	E_2（ng/L）	P（ng/ml）	LH/FSH
实验组	20	1.60 ± 0.15	1.31 ± 0.22	1.69 ± 0.29	1.61 ± 0.35	15.99 ± 3.05	32.91 ± 8.61	1.09 ± 0.28
对照组	20	0.90 ± 0.11	0.39 ± 0.09	2.04 ± 0.46	1.77 ± 0.41	8.61 ± 1.98	28.47 ± 6.21	1.21 ± 0.39
t 值		16.765	17.543	−2.893	−1.374	9.065	1.869	−1.061
P 值		0.000	0.000	0.007	0.178	0.000	0.069	0.296

对照组细胞仅有少量表达且着色较浅。Image-Pro Plus6.0 半定量分析结果与对照组比较，DHEA 实验组卵巢雄 CARM1 的表达量明显升高，差异具有统计学意义（$P<0.05$）（表 4，图2）。



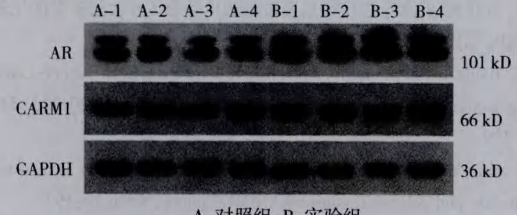
A. 对照组　　B. 实验组

图 2　CARM1 在卵巢组织中的表达（400×）

Fig.2　Expressions of CARM1 in rats' ovarian tissues（400×）

2.6　Western blot 检测结果

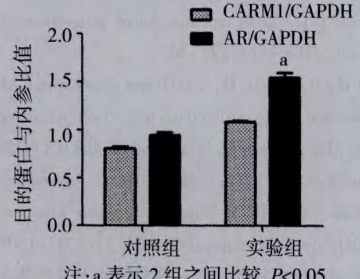
Western blot 检测结果显示，以 GAPDH 为内参，表达处于 36 kD 处，在 CARM1 及 AR 表达分别处于 66 kD 及 101 kD 处，实验组及对照组均有条带显示，采用 Labworks4.6 分析目的条带的灰度值，与对照组比较，DHEA 实验组卵巢雄激素受体及 CARM1 的蛋白表达量明显升高，差异具有统计学意义（$P<0.05$）（图 3、4；表 4）。



A：对照组；B：实验组

图 3　Western blot 检测结果

Fig.3　Result of Western blot



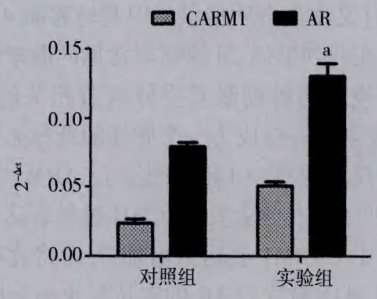
注：a 表示 2 组之间比较，$P<0.05$

图 4　Western bot 结果分析

Fig.4　Analysis of Western blot results

2.7　qRT-PCR 检测结果

qRT-PCR 结果以所测指标 $2^{-\Delta Q}$ 值作量化比较，结果显示实验组与对照组比较，卵巢 AR 与 CARM1 的 mRNA 表达量明显增高，差异具有统计学意义（$P<0.05$）（表 4，图 5）。



注：a 表示 2 组之间比较，$P<0.05$

图 5　qRT-PCR 分析

Fig.5　Analysis of qRT-PCR results

3　讨　论

目前大多数研究者认为 PCOS 具有很大的异质性，其病因复杂，涉及遗传学、内分泌学、心血管疾病和糖脂蛋白质代谢等多方面因素，并且其临床表现多样而目前以内分泌治疗为主的特点使其缺乏足够的标本进行相关研究。以往已知的动物模型很难同时模拟该病全部特征，但持续性排卵功能障碍、高雄激素血症、胰岛素抵抗是目前较为公认的PCOS模型共有的三大病理生理特征。现存研究大部分通过动物模型针对其中一种或两种特点进行独立观察而缺乏某种因子将三大病理生理特点连接到一起进行整体探讨。本研究建模方法根据 Yen[10]提出的肾上腺初现亢进假说由 Anderson 等[9]建模成功后经国内外学者不断改良而来，由结果可见，此模型成功模拟出 PCOS 病人血清 T 升高、E2 升高、空腹血糖上升等内分泌方面的改变且并存着明显的胰岛素抵抗，更接近 PCOS 的发病机制，国内张晓薇[11]、刘艳丽[12]等也得出类似结果。

蛋白质精氨酸甲基转移酶（protein aiginine me-

表 4　2 组大鼠 CARM1 及 AR 表达情况

Tab.4　Expression of CARM1 and AR in two groups

组别	免疫组化	Western blot		qRT-PCR	
	卵巢 CARM1 IOD	CARM1/GAPDH	AR/GAPDH	CARM1（$2^{-\Delta G}$）	AR（$2^{-\Delta G}$）
实验组	22.03 ± 7.86	1.09 ± 0.03	1.55 ± 0.09	0.050 8 ± 0.006 6	0.130 6 ± 0.017 4
对照组	9.96 ± 2.68	0.81 ± 0.03	0.94 ± 0.07	0.023 9 ± 0.005 8	0.079 5 ± 0.006 5
t 值	2.905	11.940	10.670	6.140	5.510
P 值	0.027	0.000	0.000	0.001	0.006

thyltransferase，PRMT）是广泛存在于哺乳动物体内负责对蛋白质底物中的精氨酸进行甲基化的酶类。精氨酸甲基化是一种广泛的翻译后修饰方式，涉及转录调控、DNA 修复、信号转导等多种方面[13-14]。CARM1（又称蛋白质精氨酸甲基转移酶 4，PRMT4）是最近在前列腺癌、乳腺癌等常见的激素依赖性肿瘤中新发现与肿瘤激素受体调节相关的因子，研究[15-16]发现其有望成为一个肿瘤的新标志物。研究人员发现乳腺癌中 ERα 表达与 CARM1 的表达呈正相关[17]。也有学者发现在 AR 过量表达的前列腺癌细胞中 CARM1 表达量增加[14]，而将此类细胞的 CARM1 基因敲减后 AR 的表达量也会下降[18]。AR 是 PCOS 病理生理过程中占重要地位的雄激素的介质，本研究中也发现了相类似结论，即模型中 AR 和 CARM1 蛋白及 mRNA 表达增多。

CARM1 催化精氨酸甲基化后生成的产物 ADMA 能通过 NO/NOS 途径参与某些内皮功能损伤为基础的全身代谢性疾病的发生。前期实验[19]证明临床 PCOS 患者血清 ADMA 含量升高。已有文献证实[20-21]高血压、冠心病、2 型糖尿病等以血管内皮功能受损为基础的心血管疾病与 ADMA 的升高有关。越来越多的研究发现糖尿病、心血管疾病已成为 PCOS 患者的远期并发症，表明 AMDA 与 PCOS 之间可能存在某种联系，这就使得 CARM1 可能在某些疾病的发生发展中有不可忽视的地位。

综上所述，通过本次实验本文发现 PCOS 模型大鼠的 CARM1 表达升高，血清 ADMA 累积与PCOS 内皮功能受损有一些联系，本文推测 CARM1 及其产物对促进 PCOS 疾病的发展及引起血管功能紊乱、胰岛素抵抗甚至远期心血管疾病及糖尿病的发生可能有一定关系，但 CARM1 在其中具体作用如何，仍需进一步讨论。

参 考 文 献

[1] Nandi A, Chen Z, Patel R, et al. Polycystic ovary syndrome[J]. Endocrinol Metab Clin North Am, 2014, 43(1), 123-147.

[2] Nam H, Kim CH, Cha MY, et al. Polycystic ovary syndrome woman with heterozygous androgen receptor gene mutation who gave birth to a child with androgen insensitivity syndrome[J]. Obstet Gynecol Sci, 2015, 58(2): 179-182.

[3] Hurliman A, Brown JK, Maille N, et al. Hyperandrogenism and insulin resistance, Not changes in body weight, mediate the development of endothelial dysfunction in a female rat model of polycystic ovary syndrome (PCOS)[J]. Endocrinology, 2015, 156(11): 4071-4080.

[4] Sam S. Adiposity and metabolic dysfunction in polycystic ovary syndrome[J]. Horm Mol Biol Clin Investig, 2015, 21(2): 107-116.

[5] Eriksen MB, Glintborg D, Nielsen MF, et al. Testosterone treatment increases androgen receptor and aromatase gene expression in myotubes from patients with PCOS and controls, but does not induce insulin resistance[J]. Biochemical Biophysical Res Commun, 2014, 451(4): 622-626.

[6] Randeva HS, Tan BK, Weickert MO, et al. Cardiometabolic aspects of the polycystic ovary syndrome[J]. Endocrine Reviews, 2012, 33(5): 812-841.

[7] Miyoshi A, Nagai S, Takeda M, et al. Ovarian morphology and prevalence of polycystic ovary syndrome in Japanese women with type 1 diabetes mellitus[J]. Diabetes Invest, 2013, 4(3): 326-329.

[8] Toulis KA, Goulis DG, Mintziori G, et al. Meta-analysis of cardiovascular disease risk markers in women with polycystic ovary syndrome [J]. Hum Reprod Update, 2011; 17(6): 741-760.

[9] Anderson E, Lee GY, O'Brein K, et al. Polycystic ovarian condition in the dehydroepiandrosterone-treated rat model: hyperandrogenism and the resumption of meiosis are major initial events associated with cystogenesis of antral follicles[J]. Anat Rec, 1997, 249(1): 44-53.

[10] Yen SS. The polycystic ovary syndrome[J]. Clin Endocrinol, 1980, 12(2): 177-207.

[11] 张晓薇，邝健全.脱氢表雄酮诱导多囊卵巢综合征动物模型的研究[J].广州医学院学报，2000，28(3)：14-18.

[12] 刘艳丽.来曲唑法和脱氢表雄酮法诱导 PCOS 大鼠模型的比较研究[D].郑州大学，2011.

[13] Baldwin RM, Morettin A, Cote J. Role of PRMTs in cancer: Could minor isoforms be leaving a mark?[J]. World J Biol Chem, 2014, 5(2): 115-129.

[14] Kim YR, Lee BK, Park RY, et al. Differential CARM1 expression in prostate and colorectal cancers[J]. BMC Cancer, 2010; 10: 197.

[15] Bedford MT, Clarke SG. Protein arginine methylation in mammals: who, what, and why[J]. Mol Cell, 2009, 33(1): 1-13.

[16] Wang L, Zhao Z, Meyer MB, et al. Carm1 methylates chromatin remodeling factor BAF155 to enhance tumor progression and metastasis [J]. Cancer Cell, 2014, 25(1): 21-36.

[17] Cheng H, Qin Y, Fan H, et al. Overexpression of CARM1 in breast cancer is correlated with poorly characterized clinicopathologic parameters and molecular subtypes[J]. Diagn Pathol, 2013(8): 129.

[18] Majumder S, Liu Y, Ford OH 3rd, et al. Involvement of arginine methyltransferase CARM1 in androgen receptor function and prostate cancer cell viability[J]. Prostate, 2006, 66(12): 1292-1301.

[19] 石雯沁，赵纯全. 精氨酸甲基转移酶 4 及其产物不对称二甲基精氨酸在多囊卵巢综合征中的初步探讨[J]. 重庆医科大学学报，2013，38(3)：248-251.

[20] Valtonen P, Punnonen K, Saarelainen H, et al. ADMA concentration changes across the menstrual cycle and during oral contraceptive use: the cardiovascular risk in young finns study[J]. Eur J Endocrinol, 2010, 162(2): 259-265.

[21] Hanai K, Babazono T, Nyumura I, et al. Asymmetric dimethylarginine is closely associated with the development and progression of nephropathy in patients with type 2 diabetes[J]. Nephrol Dial Transplant, 2009, 24(6): 1884-1888.

（责任编辑：冉明会）