

论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.05.003

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20211117.0850.002.html\(2021-11-17\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20211117.0850.002.html(2021-11-17))水通道蛋白 9 在 PCOS 大鼠卵巢组织的表达^{*}潘海霞¹, 洗佩宜¹, 张春仁², 林 茜¹, 何晓莹¹, 唐慧珍¹, 赖毛华^{1△}

(1. 广州医科大学附属第一医院中西医结合临床妇科, 广州 510120;

2. 广州中医药大学第三附属医院中医妇科, 广州 510120)

[摘要] **目的** 观察水通道蛋白 9(AQP9)对来曲唑诱导多囊卵巢综合征(PCOS)发病的影响。**方法** 选取 6 周龄 SD 大鼠,采用来曲唑连续灌胃 21 d 构建 PCOS 模型,阴道涂片观察大鼠动情周期变化,记录大鼠体重变化,测量大鼠双侧卵巢质量,ELISA 测定血清黄体生成素(LH)、促卵泡生成素(FSH)、雄激素、雌二醇和空腹胰岛素,葡萄糖氧化酶法检测空腹血糖,观察卵巢形态组织学变化,免疫组织化学、Western blot 检测 AQP9 定位及蛋白表达变化。**结果** 与正常组比较,模型组大鼠体重和卵巢质量明显升高($P<0.05$)。正常组有规律动情周期,而模型组大鼠规律动情周期消失。与正常组比较,模型组血清 LH、LH/FSH、雄激素、空腹胰岛素和胰岛素抵抗指数水平均升高,FSH 和雌二醇水平降低($P<0.05$)。两组 AQP9 蛋白在卵巢颗粒细胞、卵泡膜细胞、黄体细胞均有表达,但主要表达在颗粒细胞;与正常组比较,模型组卵巢 AQP9 蛋白表达降低($P<0.05$)。**结论** AQP9 可能在 PCOS 大鼠卵泡发育障碍中起一定的作用。

[关键词] 水通道蛋白 9;来曲唑;多囊卵巢综合征;动物模型;颗粒细胞**[中图法分类号]** R711.59 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2022)05-0735-06Expression of aquaporin 9 in ovarian tissue of PCOS rats^{*}PAN Haixia¹, XIAN Peiyi¹, ZHANG Chunren², LIN Han¹, HE Xiaoying¹,
TANG Huizhen¹, LAI Maohua^{1△}

(1. Department of Clinical Gynecology of Integrated traditional Chinese and Western Medicine, the First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 510120, China; 2. Department of Gynecology of Traditional Chinese Medicine, the Third Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510120, China)

[Abstract] **Objective** To observe the effect of aquaporin 9 (AQP9) on the pathogenesis of letrozole-induced polycystic ovary syndrome (PCOS). **Methods** 6-week-old SD rats were intragastrically administrated with letrozole for 21 days to establish a PCOS model. Bodyweight and bilateral ovarian weight were measured and estrus cycle changes were identified by vaginal smear. Serum levels of luteinizing hormone (LH), follicle stimulating hormone (FSH), androgen, estradiol and insulin were determined by ELISA, as well as fasting blood glucose was detected by glucose oxidase method. The morphological and histological changes of the ovary were observed, and the localization and protein expression of AQP9 was detected by immunohistochemistry and Western blot. **Results** Compared with the normal group, the body and ovarian weight of the model group were significantly increased ($P<0.05$). The normal group had a regular estrous cycle, but the model group had no regular estrous cycle. Compared with the normal group, the levels of serum LH, LH/FSH, androgen, fasting insulin and insulin resistance index in the model group were increased ($P<0.05$), while FSH and estradiol were decreased ($P<0.05$). Both groups of AQP9 protein were expressed in granulosa cells, follicular membrane cells and luteal cells, but mainly in granulosa cells. Compared with the normal group, the expression of AQP9 protein in the ovary of the model group was decreased ($P<0.05$). **Conclusion** AQP9 may play a role in follicular dysplasia in PCOS rat.

[Key words] aquaporin 9; letrozole; polycystic ovary syndrome; animal model; granulosa cells^{*} 基金项目:国家自然科学基金项目(81774353)。 作者简介:潘海霞(1993—),在读硕士研究生,主要从事中医妇科生殖内分泌研究。[△] 通信作者, E-mail:352334590@qq.com。

多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)是一种常见的妇科内分泌代谢紊乱性疾病,据报道,育龄妇女中 PCOS 的患病率为 6%~10%^[1],具有高度异质性、发病多因性、表现多态性的特点。临床主要表现为闭经、多毛、肥胖、高胰岛素血症、高雄激素血症、不孕,超声显示多囊卵巢等^[1]。文献报道,75%的 PCOS 患者表现为无排卵性不孕^[2],卵泡发育障碍是导致 PCOS 不孕的主要原因。因此,探究 PCOS 卵泡发育障碍的机制对提高 PCOS 患者的生育力具有重要意义。

水通道蛋白(aquaporins, AQP)是一组存在于细胞膜上的小分子蛋白家族,可使细胞膜对水的通透性增加,对维持细胞内外的水平衡意义重大。目前在哺乳动物中鉴定出 13 种 AQP(AQP0~12)亚型。AQP0、1、2、4、5、6 和 8 对水的通过具有高度的选择性,而 AQP3、7、9 和 10 不仅运输水,还运输中性溶质,包括甘油、尿素和其他小的非电解质^[3]。WAWRZKIEWICZ 等^[4]认为 AQP 可能参与了 PCOS 的发生,其表达的变化可能影响 PCOS 的卵泡发育和卵泡闭锁。QU 等^[5]发现 PCOS 患者颗粒细胞的细胞核、细胞质和细胞膜中存在 AQP9,PCOS 组的 AQP9 表达水平明显低于正常组,AQP9 与卵泡液的雄激素水平有明显的相关性。SONG 等^[6]发现 PCOS 患者颗粒细胞 AQP9 基因和蛋白表达水平较低,AQP9 的表达水平与胰岛素调节呈负相关,胰岛素可能通过改变 AQP9 的表达影响 PCOS 卵泡的成熟。因此,推测 AQP9 可能参与了 PCOS 的卵泡发育障碍的发生,但确切的机制尚不清楚。

本研究主要通过来曲唑灌胃建立 PCOS 大鼠模型,采用免疫组织化学和 Western blot 观察 AQP9 在卵巢组织中的定位及蛋白的表达,为进一步探讨 AQP9 与 PCOS 卵泡发育的关系提供理想的动物模型,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

SD 雌性大鼠 12 只,6 周龄,超级清洁(SPF)级,体重(155±10)g,购自广东省动物实验动物中心。自由摄取食物和水,温度 20~22℃,湿度 60%~65%,控制 12 h 光照、12 h 黑暗环境循环,喂食标准饲料。本研究获得广州医科大学动物科学学院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 PCOS 模型的建立

12 只 SD 雌性大鼠,分为正常组与模型组,每组 6 只。模型组参考文献[7]的造模方法,每天予来曲唑

(1 mg/kg)溶于 0.5%羧甲基纤维素(CMC,2 mL/kg)灌胃,构建 PCOS 模型;正常组每天灌胃 0.5% CMC(2 mL/kg),连续 21 d。

1.2.2 标本处理

最后 1 次灌胃后,称重,两组大鼠晚 8 时开始禁食,次日晨 8 时尾静脉采血,用葡萄糖氧化酶法测空腹血糖(罗氏血糖仪),然后异氟烷气体麻醉后进行心脏采血,3 000 r/min 离心 15 min,−80℃冻存用于进一步测试,最后断颈处死大鼠,摘取双侧卵巢,去除表面脂肪组织观察两组大鼠卵巢大体解剖情况,称重并记录后,一侧浸泡在 4%的多聚甲醛中进行固定以便后续的组织病理分析,一侧卵巢放在冻存管中,以便后续的蛋白和基因的检测分析。

1.2.3 观察指标

1.2.3.1 大鼠体重、阴道涂片及卵巢质量

每天灌胃之前对大鼠进行称重,且记录数据。灌胃第 10 天开始对模型组大鼠进行阴道涂片,阴道涂片两个动情周期(10 d),使用瑞氏-吉萨姆进行染色,通过分析白细胞、上皮细胞和角化细胞的相对比例来监测动情周期。吸入麻醉处死大鼠后,称重双侧卵巢,左、右卵巢的质量计算卵巢质量。

1.2.3.2 性激素及糖代谢检测

使用 ELISA 法进行血清中黄体生成素(LH)、促卵泡生成素(FSH)、雄激素、雌二醇和空腹胰岛素测定,罗氏血糖仪测空腹血糖。计算 LH/FSH 和胰岛素抵抗指数(HOMA-IR), $HOMA-IR = (\text{空腹胰岛素} \times \text{空腹血糖}) \times 22.5$ 。

1.2.3.3 卵巢组织学改变

在解剖镜下剥除卵巢外周脂肪,观察卵巢大体解剖情况。卵巢用 4%多聚甲醛固定,进行常规石蜡包埋、切片及苏木素-伊红(HE)染色,光镜下观察其形态学改变。

1.2.3.4 免疫组织化学检测

按照试剂说明书,石蜡包埋,蜡块做 5 μm 的切片,将玻片置于 60℃恒温箱烤 30 min,二甲苯脱蜡,梯度乙醇脱水。3%过氧化氢溶液 10 min 灭活内源性过氧化物酶。微波修复抗原。滴加 5%牛血清,38℃下孵育 10 min,倾去勿洗。滴加一抗抗大鼠 AQP9(美国 Santa Cruz 公司),4℃过夜,磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗 5 min,3 次。滴加对应生物素标记的二抗,37℃下孵育 30 min,PBS 冲洗。滴加 SABC,37℃下孵育 20 min,PBS 冲洗。DAB 显色;除去 PBS,每张切片加新鲜配制的 DAB 溶液显色,自来水冲洗。梯度乙醇脱水、二甲苯透明,中性树胶封片。

1.2.3.5 Western blot

按照试剂说明书,将 100 mg 的卵巢组织放入 0.6 mL 裂解液(RIPA : PMSF=100 : 1, v/v)中裂解,用冰冻露卡匀浆机强力粉碎。匀浆于 4 ℃、1 200 r/min 离心 20 min。转移并收集上清液用于蛋白分析。每个样品的蛋白浓度采用 BCA 蛋白测定试剂盒(南京建成生物工程研究所)测定。随后,将提取的样品煮沸 10 min, -80 ℃ 保存待分析。负载蛋白(50 g)电泳,在 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)上分离,然后转移到聚偏二氟乙烯(PVDF)膜(0.22 m, 美国 Pall 公司)。PVDF 膜在 5% 脱脂牛奶中室温封闭 2 h,然后用不同的一抗孵育 4 夜,包括抗 AQP9 (美国 Santa Cruz 公司)和抗 β -actin(美国 Abcam 公司)。一抗一般用 TBST (Tris-HCl 5 mmol/L, pH 7.6, NaCl 136 mmol/L, 0.05% Tween-20) 1 : 1 000 稀释。洗后 TBST 3 次,再与辣根过氧化物(HRP)结合二抗(1 : 5 000 稀释 TBST)孵育 2 h,与一抗结合。Western blot 采用增强化学发光法(ECL)。图像采用 Bio-Rad 进行采集,Image-J 软件进行密度测定分析。

1.3 统计学处理

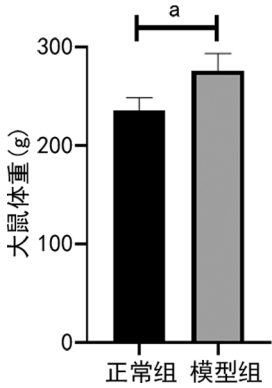
采用 SPSS25.0 软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组体重、卵巢质量和阴道涂片比较

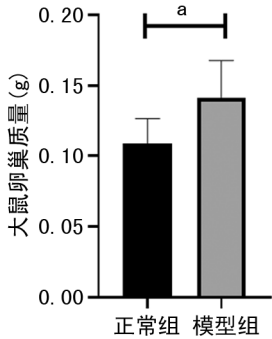
与正常组比较,模型组体重和卵巢质量明显增

加,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 1、2。正常组具有规律的动情周期,模型组则几乎处于以白细胞为主的动情间期,见图 3。



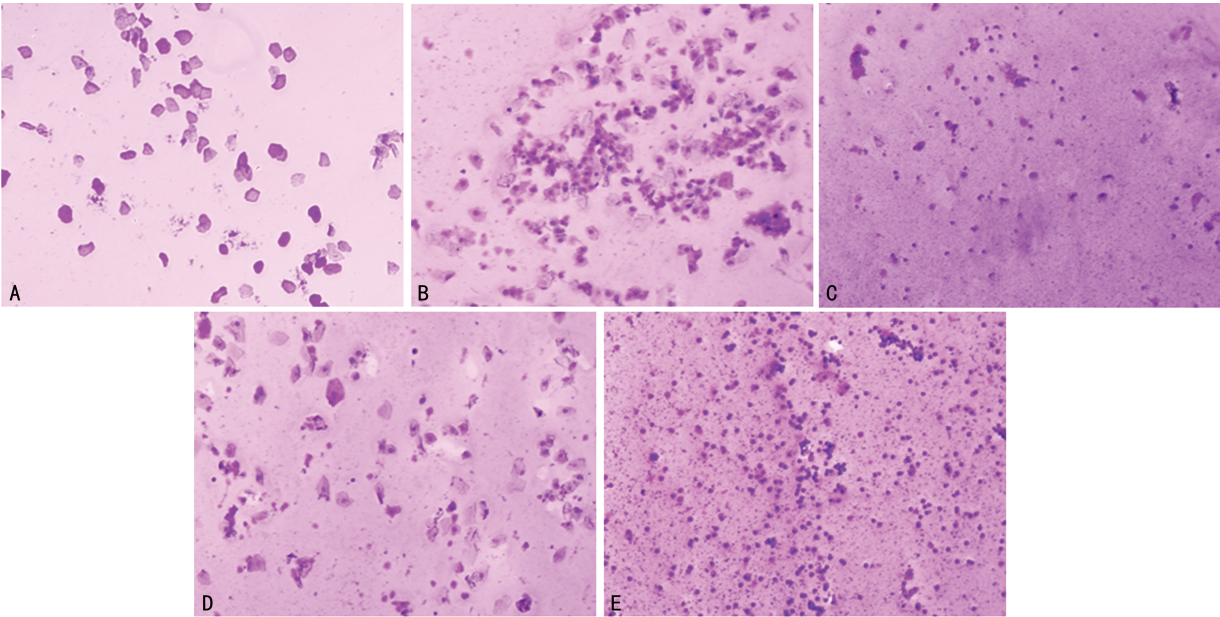
^a: $P < 0.05$.

图 1 两组体重比较



^a: $P < 0.05$.

图 2 两组卵巢质量比较



A: 正常组动情期; B: 正常组动情前期; C: 正常组动情间期; D: 正常组动情后期; E: 模型组动情间期。

图 3 两组大鼠阴道涂片光镜图(HE, $\times 100$)

2.2 两组血清性激素及糖代谢指标比较

与正常组比较,模型组 LH、LH/FSH、雄激素、空

腹胰岛素和 HOMA-IR 水平升高,FSH 和雌二醇水平降低,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

2.3 卵巢组织学改变

正常组卵巢色泽红,表面光滑,卵巢结构清晰,可见不同发育阶段的卵泡,多个黄体,颗粒细胞呈多层,形态完整,排列整齐。模型组卵巢形态苍白,可见较多的早期发育小卵泡及闭锁卵泡,有较多扩张的囊泡,卵泡内卵母细胞消失,卵巢颗粒细胞层数减少,卵泡膜细胞增生,黄体数量明显下降,见图 4。

2.4 两组卵巢 AQP9 蛋白免疫组织化学染色情况

两组卵巢颗粒细胞、卵泡膜细胞、黄体细胞及间质细胞均可见 AQP9 蛋白表达,但以颗粒细胞较明显,主要位于细胞膜和细胞质中,呈棕黄色,模型组大

鼠卵巢颗粒细胞 AQP9 蛋白的表达较正常组降低,见图 5。

表 1 两组血清性激素及糖代谢指标比较($n=6,\bar{x}\pm s$)

项目	正常组	模型组
LH(IU/L)	19.51±3.64	32.10±5.12 ^a
FSH(IU/L)	11.48±1.18	9.01±1.01 ^a
LH/FSH	1.72±0.38	3.58±0.54 ^a
雄激素(ng/mL)	5.01±0.94	7.12±1.02 ^a
雌二醇(pg/mL)	52.11±7.18	39.87±1.08 ^a
空腹胰岛素(mU/L)	16.94±4.05	25.30±5.03 ^a
空腹血糖(mmol/L)	6.05±1.49	6.55±1.41
HOMA-IR	4.68±2.08	7.33±1.94 ^a

^a: $P<0.05$,与正常组比较。

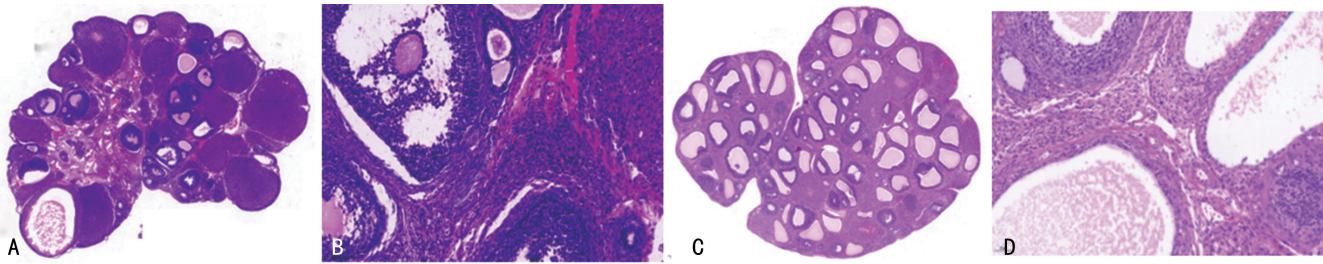


图 4 两组大鼠卵巢形态学比较(HE)

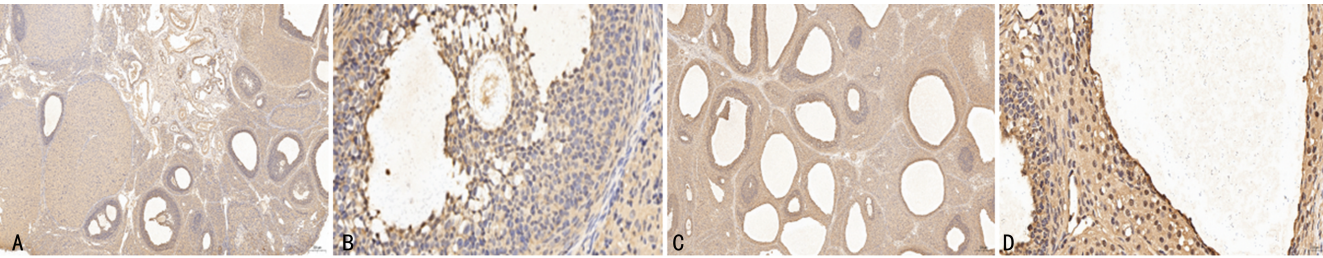
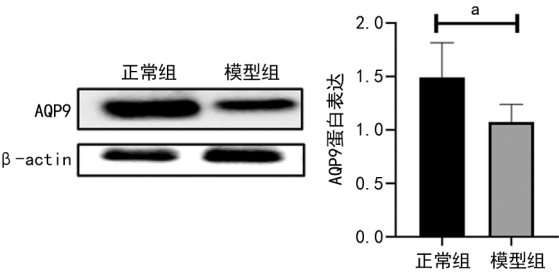


图 5 两组卵巢 AQP9 蛋白免疫组织化学染色情况

2.5 两组卵巢 AQP9 蛋白表达情况

模型组 AQP9 蛋白表达水平较正常组减少,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 6。



^a: $P<0.05$ 。

图 6 两组卵巢 AQP9 蛋白表达情况

3 讨 论

来曲唑是一种高选择性非甾体类芳香化酶抑制

剂,通过抑制它的底物芳香化酶阻断雄激素向雌激素的转换,降低雌二醇浓度,升高雄激素,导致无排卵^[8]。本研究 PCOS 大鼠模型组特征与前期研究利用来曲唑灌胃法成功构建 PCOS 大鼠模型报道相似^[7,9]。因此,本实验采用来曲唑诱导的大鼠模型无论是内分泌、代谢紊乱方面,还是从卵巢解剖及组织学方面均与人类 PCOS 特征相似,是研究 PCOS 机制的理想动物模型。

卵泡发育历经原始卵泡、窦前卵泡、窦卵泡,最终成为成熟卵泡这一系列过程中,卵泡液的形成及卵泡窦腔的扩大有着极其重要的地位^[10]。窦卵泡主要是通过颗粒细胞上的水通道实现水的转运,在卵泡发育过程中形成卵泡液,最终成为成熟卵泡^[11]。在卵泡发育过程中,AQP9 主要表达于窦状卵泡的颗粒细胞

中^[11],其参与了颗粒细胞的水转运,可能与卵泡发育有关^[12]。SALES 等^[13]研究认为 AQP9 在卵泡的发育中起着重要的作用。RIBEIRO 等^[12]对小鼠进行超促排探究卵泡发育,过程中发现 AQP9 在卵泡快速发育阶段表达明显增加,且对 AQP9 进行抑制发现卵泡体积明显变小、排卵数减少,推测 AQP9 在卵泡腔迅速形成过程中促进了水和其他物质的大量纳入,为卵泡的进一步发育和成熟提供了环境和物质基础。

在 PCOS 患者卵巢内存在大量的窦前卵泡、少数窦状卵泡、众多的闭锁卵泡、滤泡囊肿和变性的囊肿。这些卵泡缺乏足够多的成熟颗粒细胞,不能产生大量的雌激素,最终导致排卵障碍。另一方面,卵巢间质和卵泡膜组织增生持续产生雄激素^[14-15]。有研究报道,PCOS 患者卵巢组织 AQP9 mRNA 表达明显降低^[2]。AQP9 的表达可能是受雄激素调控^[16]。一项临床研究发现 PCOS 患者颗粒细胞中 AQP9 表达水平降低,这一改变可能与卵泡液中高雄激素有关,雄激素可降低颗粒细胞中 AQP9 基因和蛋白表达^[5]。另一项研究也支持这个观点,通过在母猪的卵巢进行免疫组织化学定位发现,AQP9 主要在正发育的颗粒细胞中表达,研究结果提示颗粒细胞中雄激素转换为雌激素可能需要通过 AQP9 转运的物质来实现^[17]。此外,SONG 等^[6]发现 AQP9 广泛分布在 PCOS 卵巢组织,PCOS 壁层颗粒细胞和卵丘颗粒细胞中均有 AQP9 基因及蛋白质,PCOS 患者卵巢颗粒细胞 AQP9 的表达水平明显下降。胰岛素可能通过改变 AQP9 基因的表达,PCOS 卵巢局部高雄激素和高胰岛素可使颗粒细胞增殖能力下降,从而导致其卵巢内形成较多的初级卵泡,引起卵泡发育障碍^[18-19]。推测过高的胰岛素水平和雄激素可能会损害颗粒细胞的增殖功能,导致 AQP9 的低表达,从而引起卵泡发育障碍,这为探讨 PCOS 患者的发病机制提供了一个潜在的新思路和治疗的新靶点。本研究表明 PCOS 大鼠模型卵巢 AQP9 主要表达在卵巢颗粒细胞,定位在细胞膜和细胞质,AQP9 蛋白表达水平较正常组降低,这些特征符合 PCOS 患者在卵巢的表达特征。

综上所述,来曲唑诱导的 PCOS 大鼠模型是符合 PCOS 病理生理机制的理想动物模型。本实验通过免疫组织化学和 Western blot 测定了 PCOS 大鼠卵巢 AQP9 的定位和蛋白的表达特点,但 AQP9 影响 PCOS 卵泡发育及卵母细胞成熟的机制仍需进一步研究。

参考文献

- [1] SURESH K. Polycystic ovary syndrome: diagnosis and management of related infertility[J]. Obstet Gynaecol Reproduct Med, 2012, 22(12):347-353.
- [2] XIONG Z, LI B, WANG L, et al. AQP8 and AQP9 expression in patients with polycystic ovary syndrome and its association with in vitro fertilization-embryo transfer outcomes[J]. Exp Ther Med, 2019, 18(1):755-760.
- [3] IM J W, LEE C Y, KIM D H, et al. Differential expressions of aquaporin subtypes in female reproductive tract of mice[J]. Dev Reprod, 2020, 24(3):177-185.
- [4] WAWRZKIEWICZ J A, KOWALCZYK K, PLUTA D, et al. The role of aquaporins in polycystic ovary syndrome: a way towards a novel drug target in PCOS[J]. Med Hypotheses, 2017, 102:23-27.
- [5] QU F, WANG F F, LU X E, et al. Altered aquaporin expression in women with polycystic ovary syndrome: hyperandrogenism in follicular fluid inhibits aquaporin-9 in granulosa cells through the phosphatidylinositol 3-kinase pathway [J]. Hum Reprod, 2010, 25(6):1441-1450.
- [6] SONG W Y, WANG Y, HOU X M, et al. Different expression and localization of aquaporin 7 and aquaporin 9 in granulosa cells, oocytes, and embryos of patients with polycystic ovary syndrome and the negatively correlated relationship with insulin regulation [J]. Fertil Steril, 2021, 115(2):463-473.
- [7] DU D F, LI X L, FANG F, et al. Expression of anti-mullerian hormone in letrozole rat model of polycystic ovary syndrome[J]. Gynecol Endocrinol, 2014, 30(12):885-889.
- [8] XU J, DUN J, YANG J, et al. Letrozole rat model mimics human polycystic ovarian syndrome and changes in insulin signal pathways [J]. Med Sci Monit, 2020, 26:e923073.
- [9] SURIYAKALAA U, RAMACHANDRAN R, DOULATHUNNISA J A, et al. Upregulation of Cyp19a1 and PPAR-gamma in ovarian steroidogenic pathway by Ficus religiosa: a potential cure for polycystic ovary syndrome [J]. J Ethnopharmacol, 2021, 267:113540.
- [10] RICHARDS J S, REN Y A, CANDELARIA N, et al. Ovarian follicular theca cell recruitment,

- differentiation, and impact on fertility: 2017 update[J]. *Endocr Rev*, 2018, 39(1): 1-20.
- [11] LEE S, KANG H G, RYOU C, et al. Spatio-temporal expression of aquaporin 9 is critical for the antral growth of mouse ovarian follicles[J]. *Biol Reprod*, 2020, 103(4): 828-839.
- [12] RIBEIRO J C, ALVES M G, YESTE M, et al. Aquaporins and (in) fertility: more than just water transport[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2021, 1867(3): 166039.
- [13] SALES A D, LOBO C H, CARVALHO A A, et al. Structure, function, and localization of aquaporins: their possible implications on gamete cryopreservation[J]. *Genet Mol Res*, 2013, 12(4): 6718-6732.
- [14] RYAN G E, MALIK S, MELLON P L. Antandrogen treatment ameliorates reproductive and metabolic phenotypes in the letrozole-induced mouse model of PCOS [J]. *Endocrinology*, 2018, 159(4): 1734-1747.
- [15] ZHOU R, LI S, LIU J, et al. Up-regulated FHL2 inhibits ovulation through interacting with androgen receptor and ERK1/2 in polycystic ovary syndrome[J]. *EBioMedicine*, 2020, 52: 102635.
- [16] WAWRZKIEWICZ -J A, KOWALCZYK K, TRYBEK P, et al. In Search of new therapeutics-molecular aspects of the PCOS pathophysiology: genetics, hormones, metabolism and beyond[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(19): 7054.
- [17] LEE H J, JEE B C, KIM S K, et al. Expressions of aquaporin family in human luteinized granulosa cells and their correlations with IVF outcomes[J]. *Hum Reprod*, 2016, 31(4): 822-831.
- [18] ZHANG Y, HU M, JIA W, et al. Hyperandrogenism and insulin resistance modulate gravid uterine and placental ferroptosis in PCOS-like rats[J]. *J Endocrinol*, 2020, 246(3): 247-263.
- [19] NGUYEN T T, DOAN H T, QUAN L H, et al. Effect of letrozole for ovulation induction combined with intrauterine insemination on women with polycystic ovary syndrome [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2020, 36(10): 860-863.
- (收稿日期: 2021-05-22 修回日期: 2021-09-27)
-
- (上接第 734 页)
- [12] 杨美玲, 黎静. 全中枢放射治疗的进展[J]. *医学综述*, 2014, 20(2): 276-279.
- [13] MYERS P A, MAVROIDIS P, PAPANIKOLAOU N, et al. Comparing conformal, arc radiotherapy and helical tomotherapy in craniospinal irradiation planning[J]. *J Appl Clin Med Phys*, 2014, 15(5): 4724.
- [14] FARACE P, BIZZOCCHI N, RIGHETTO R, et al. Supine craniospinal irradiation in pediatric patients by proton pencil beam scanning[J]. *Radiother Oncol*, 2017, 123(1): 112.
- [15] BARNEY C L, BROWN A P, GROSSHANS D R, et al. Technique, outcomes, and acute toxicities in adults treated with proton beam craniospinal irradiation [J]. *Neuro Oncol*, 2014, 16(2): 303-309.
- [16] 陈珊, 李荣清. 全脑全脊髓放疗骨髓保护的初步研究[J]. *中华放射肿瘤学杂志*, 2018, 32(5): 445-448.
- [17] FRANCOIS-GEORGES R STÉPHANIE B, CAROLINE B, et al. RO-12, Craniospinal irradiation in children with high-risk medulloblastoma: haematological toxicity and risk factors[J]. *Neuro Oncol*, 2016, 18(Suppl 3): 161.
- [18] PETERSSON K, GEBRE-MEDHIN M, CEBERG C, et al. Haematological toxicity in adult patients receiving craniospinal irradiation: indication of a dose-bath effect [J]. *Radiother Oncol*, 2014, 111(1): 47-51.
- [19] 山东省肿瘤防治研究院(山东省肿瘤医院). 一种基于 SUV 值的调强放疗监测系统与方法 CN201910543518. 2[P]. 2019-10-25.
- [20] 张碧云, 王逸君, 鹿红, 等. MRI 识别盆腔内活性骨髓优化老年直肠癌放疗计划的可行性研究 [J]. *影像诊断与介入放射学*, 2020, 29(5): 323-328.
- (收稿日期: 2021-05-28 修回日期: 2021-09-28)