

超声联合 Galectin-3、CK19 诊断甲状腺乳头状癌的准确性

贾丽琼 潘 炯 李小强

摘 要 **目的** 探讨超声联合 Galectin-3、CK19 诊断甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)的准确性。**方法** 收集甲状腺结节病例 150 例,其中 PTC 66 例分为 PTC 组,结节性甲状腺肿(nodular goiter, NG)84 例分为 NG 组。对两组的超声特征进行比较;以病理组织的检测为标准,分析以 FNAC 的标本检测 CK19 和 Galectin-3 的表达情况的敏感度、特异性和准确性;应用 ROC 曲线统计分析患者结节的 TI-RADS 分类、CK19 和 Galectin-3 的表达分级的情况,比较超声、CK19、Galectin-3 单独或联合诊断 PTC 的 ROC 曲线下面积(area under curve, AUC),分析约登指数最高时的敏感度和特异性。**结果** PTC 组出现边界不清、内部回声低、微钙化以及血流达 3 级的超声特征均较 NG 组显著,差异有统计学意义($P < 0.05$);FNAC 检测 CK19、Galectin-3 表达的敏感度、特异性、准确性分别为 90.16%、87.50%、89.51% 和 87.85%、87.270%、87.65%。单独超声、CK19 或 Galectin-3 诊断 NG、PTC 的 AUC 分别为 0.846、0.829、0.785,三者诊断效能均为中等水平;而联合超声、CK19 和 Galectin-3 诊断 NG 和 PTC 的 AUC 为 0.904,诊断效能较高,其敏感度为 83.3%、特异性为 79.6% 时约登指数可达 0.629。**结论** 术前对超声引导穿刺的标本进行 CK19 和 Galectin-3 表达强度的检测结合超声检查结果有助于提高对于 PTC 和 NG 的鉴别和诊断。

关键词 超声 Galectin-3 CK19 甲状腺乳头状癌

中图分类号 R736

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.12.022

Accuracy of Ultrasound Combined with Galectin-3, CK19 Accuracy to Diagnose Papillary Thyroid Carcinoma. Jia Liqiong, Pan Jiong, Li Xiaoqiang. Baoshan Branch of Shanghai First People's Hospital, Shanghai 200940, China

Abstract **Objective** To explore the accuracy of ultrasound combined with Galectin-3, CK19 accuracy to diagnose papillary thyroid carcinoma (PTC). **Methods** One hundred and fifty cases of thyroid nodule were collected, of which 66 cases of PTC were divided into PTC groups, 84 cases of nodular goiter (NG) were divided into NG groups. A comparison was carried on the ultrasound characteristics of the two groups. Pathological tissue was detected and used as the standard. The expression of CK19 and Galectin-3 in FNAC specimens were detected, and their sensitivity, specificity and accuracy were analyzed. Nodule TI-RADS classification, CK19 and Galectin-3 expression grade of patients were counted and compared by ROC curve. The area under curve (AUC) of ultrasound, CK19, Galectin-3, alone or combined to diagnosis PTC were compared and the sensitivity and specificity of the highest Youden's index were analyzed. **Results** The sonographic features of ill-defined, low internal echo, microcalcifications and bloodstream reached three in the PTC group were significantly more than those in NG group. The difference was statistically significant ($P < 0.05$). The sensitivity, specificity and accuracy of CK19 and Galectin-3 expression in FNAC specimens were 90.16%, 87.50%, 89.51% and 87.85%, 87.27%, 87.65%, respectively. The AUC of ultrasound, CK19 or Galectin-3 alone to diagnostic NG or PTC were 0.846, 0.829, 0.785. All of their diagnostic performance were moderate level. However, the AUC of combined ultrasound, CK19 and Galectin-3 to diagnostic NG or PTC were 0.904, the diagnostic efficiency was higher. And the sensitivity and specificity were 83.3% and 79.6% when Youden's index up to 0.629. **Conclusion** In the preoperative, detection of CK19 and Galectin-3 expression intensity in ultrasound-guided biopsy specimens combined with ultrasound results will help to improve the identification and diagnosis of PTC and NG.

Key words Ultrasound; Galectin-3; CK19; Papillary thyroid carcinoma

甲状腺结节是最常见的内分泌系统疾病,其恶性

结节中最常见的是甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC),且近年来发生率呈现逐年上升趋势^[1]。甲状腺乳头状癌的早期发现和正确诊断对患者正确且及时的治疗极其重要。由于超声检查具有经济、无创、操作方便等优点,是临床上检查甲状腺结节的首选方法^[2,3]。但有的时候出现甲状腺良恶性

基金项目:上海市宝山区区科委基金资助项目(14-E-13)

作者单位:200940 上海第一人民医院宝山分院超声科(贾丽琼),外科(潘炯),病理科(李小强)

通讯作者:贾丽琼,电子信箱:jlq30222@126.com

结节声像图重叠,或是在不典型病例的检查中,超声的诊断结果可能会出现漏诊、误诊^[4,5]。王春雷等^[6]的研究显示,CK19 和 Galectin-3 在 PTC 组织中有较强的弥漫性表达,而在结节性甲状腺肿(nodular goiter,NG)组织中呈现局灶性、弱阳性的表达。但对于超声引导下细针穿刺细胞学检查(fine needle aspiration cytopathology,FNAC)标本检测 CK19 和 Galectin-3 的表达能否也能辅助鉴别 PTC 和 NG 的研究较少,使得术前应用 FNAC 标本检测分子标志物辅助临床鉴别诊断缺少依据。因此,本研究对 PTC 和 NG 患者的超声特征、FNAC 标本的 Galectin-3 和 CK19 表达情况进行比较分析,并分析三者在 PTC 和 NG 中的鉴别诊断价值,为临床提高术前鉴别诊断 PTC 和 NG 的准确性提供帮助。

对象与方法

1. 研究对象:收集 2012 年 3 月~2015 年 6 月在笔者医院诊治甲状腺乳头状癌患者 66 例(74 个结节)分为 PTC 组,结节性甲状腺肿患者 84 例(共 88 个结节)分为 NG 组。PTC 组有男性 13 例,女性 53 例,患者年龄 24~75 岁,平均年龄 41.40 ± 4.12 岁;NG 组有男性 9 例,女性 45 例,患者年龄 29~70 岁,平均年龄 44.70 ± 3.90 岁。入选病例均符合:①术前均接受了超声检查并在超声引导下进行了细针穿刺,影像资料和穿刺标本保存完整,超声成像清晰;②均接受手术切除结节,并进行了病理检查确定诊断为 NG 或 PTC;③术前均无接受相关的内分泌治疗、放化疗;④无其他恶性肿瘤病史。本研究经医院伦理会同意,所有入选患者了解研究意义及签署知情同意书。

2. 方法:(1)超声检查:本研究病例均接受美国 GE 公司生产的 L9 彩色超声仪进行检查;患者去枕平卧进行甲状腺二维和彩色多普勒超声扫描。二维超声扫描时应注意观察甲状腺的左右两叶及峡部,观察到结节后进行多轴位的扫查并重点记录结节的数目、部位、大小、边界是否清晰、内部回声强度、是否有钙化。彩色多普勒则需要着重观察结节内部的血流情况,结节内血流丰富情况分级参考 Alder 的血流分级法划分:①无检测到血流信号记为 0 级;②仅有 1~2 个点状或是短棒状的血流信号记为 I 级;③可观察到 3~4 个点状信号或是有 1 条较清晰的血管记为 II 级;④可见有网状或是片状的较多彩色血流,或是 2 条较清晰的血管记为 III 级。(2)CK19 和 Galectin-3 检测:患者进行超声检查,确定穿刺结节。患取仰卧

头低位,侧向非穿刺侧以暴露穿刺部位。消毒局部麻醉后,在超声引导下,细胞针接 10ml 的注射器约呈 45°的角度刺入皮肤,来回针栓,以 2~3ml 的负压提插不同的方向 5 次,将抽吸物进行涂片、固定。穿刺时应注意取到超声可疑征象处,如微钙化。送病理科进行 CK19 和 Galectin-3 检测、读片。病理组织固定后也送于病理科进行 CK19 和 Galectin-3 检测、读片。染色观察包括着色程度和阳性细胞比例两部分,兼顾两者采用半定量方法对染色结果分级:①阴性(-),无着色或弱阳性局部着色,阳性细胞 <10%;②1+,弱阳性局部着色,阳性细胞 10%~50%;③2+,强阳性局部表达,阳性细胞 10%~50%;④3+,弱阳性弥漫表达,阳性细胞 >50%;⑤4+,强阳性弥漫表达,阳性细胞 >50%。

3. 评价指标:对 NG 组和 PTC 组的超声特征进行比较,包括边界不清、内部回声低、微钙化以及血流达 3 级^[8];以病理组织检测的 CK19 和 Galectin-3 表达为标准,分析以 FNAC 的标本检测 CK19 和 Galectin-3 的表达情况的敏感度、特异性和准确性,以观察细针穿刺的细胞检测 CK19 和 Galectin-3 表达的能力。根据患者的超声检查情况,参考 TI-RADS 分类判定结节类别,本研究主要分析 TI-RADS 2~6 类。统计 NG 组和 PTC 组的 TI-RADS 分类(TI-RADS 2、TI-RADS 3、TI-RADS 4、TI-RADS 5、TI-RADS 6)、CK19 和 Galectin-3 的表达分级(-、1+、2+、3+、4+)的情况,并进行 ROC 曲线绘制,比较 ROC 曲线下面积(area under curve,AUC)以评价各自的诊断效能,分析约登指数最高时的敏感度和特异性。

4. 统计学方法:所有数据用 SPSS 11.5 软件进行统计分析,采用 χ^2 检验对 NG 组和 PTC 组的超声特征进行比较;对超声、CK19 和 Galectin-3 单独或联合对 PTC、NG 的诊断情况进行 ROC 曲线绘制,并分析诊断效能,当 $0.7 > AUC > 0.5$ 时,认为该方法诊断准确性比较低,当 $0.9 > AUC > 0.7$ 时,认为该方法诊断准确性为中等水平,当 $AUC > 0.9$ 时,认为该方法的诊断准确性较高,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 超声特征的比较:NG 和 PTC 超声图见图 1、图 2。PTC 组出现边界不清、内部回声低、微钙化以及血流达 3 级的超声特征均较 NG 组显著,差异有统计学意义($P < 0.05$,表 1)。

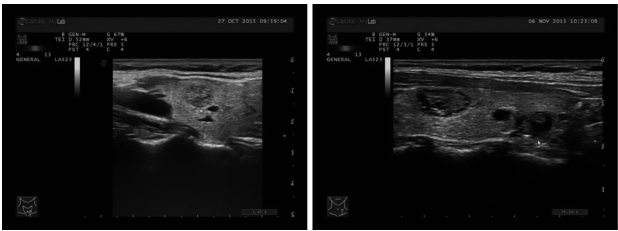


图 1 结节性甲状腺肿超声图

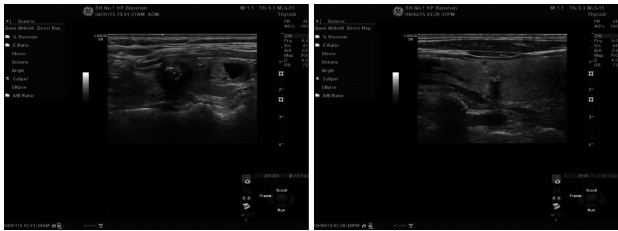


图 2 甲状腺乳头状癌超声图

表 1 NG 组和 PTC 组的超声特征的比较 (n)

组别	边界		内部回声		钙化		血流	
	清晰	模糊	低	其他	微钙化	其他	3 级	其他
NG 组 (n = 84)	78	6	11	73	13	71	8	76
PTC 组 (n = 66)	39	27	57	9	48	18	58	8
χ^2	24.557		80.062		50.207		92.093	
P	0.000		0.000		0.000		0.000	

2. Galectin - 3、CK19 的表达情况: Galectin - 3、CK19 在 PTC 和 NG 中病理组织的免疫组化检测见图 3、图 4。以病理组织中表达的 Galectin - 3、CK19 为标准,分析 FNAC 检测 CK19 表达的敏感性、特异性、准确性分别为 90.16%、87.50% 和 89.51%,见表 2。FNAC 检测 Galectin - 3 的敏感性、特异性、准确性分别为 87.85%、87.27% 和 87.65%,见表 3。

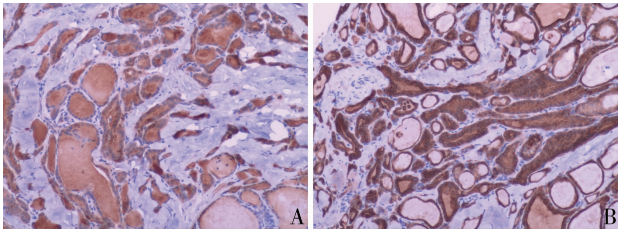


图 3 甲状腺乳头状癌 (免疫组化染色, ×400)
A. Galectin - 3 (+); B. CK19 (+)

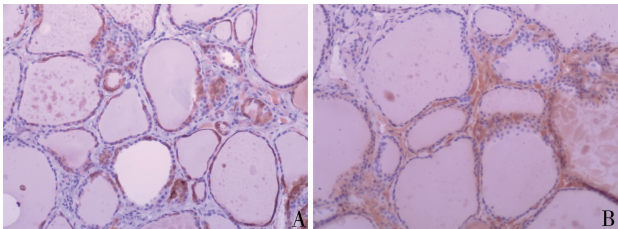


图 4 结节性甲状腺肿 (免疫组化染色, ×400)
A. Galectin - 3 (+); B. CK19 (+)

3. 诊断情况: 超声、Galectin - 3、CK19 单独或联合对 NG、PTH 的诊断情况的 ROC 曲线见图 5,可见单独超声、CK19 或 Galectin - 3 诊断 NG、PTC 的 AUC 分别为 0.846、0.829、0.785,三者诊断效能均为中等

表 2 病理组织和 FNAC 的 CK19 的表达情况 (结节)

组别	病理组织的 CK19	
	阳性	阴性
FNAC 的 CK19	阳性	110
	阴性	12

表 3 病理组织和 FNAC 的 Galectin - 3 的表达情况 (结节)

组别	病理组织的 Galectin - 3	
	阳性	阴性
FNAC 的 Galectin - 3	阳性	94
	阴性	13

水平;而联合超声、CK19 和 Galectin - 3 诊断 NG 和 PTC 的 AUC 为 0.904,诊断效能较高,高于单独超声、CK19 或 Galectin - 3 的诊断效能,其敏感度为 83.3%、特异性为 79.6% 时约登指数可达 0.629。

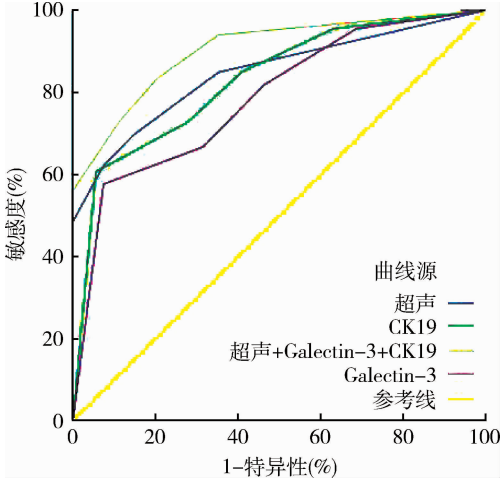


图 5 超声、Galectin - 3、CK19 单独或联合诊断 NG、PTH 的 ROC 曲线图

讨 论

目前,随着人们的健康意识的增强和医疗保障的普及完善,以及超声多普勒等检验技术的进步,越来越多人进行常规体检,相应的提高了发现甲状腺结节的人数,尤其隐匿性甲状腺结节较以往更容易被筛查出来了,甲状腺恶性肿瘤已占头颈部恶性肿瘤的首位^[7-9]。甲状腺结节好发于中年女性,多数为良性病变,主要为结节性甲状腺肿等,而恶性病变中最多见的是乳头癌^[10]。快速且准确地诊断甲状腺结节的良恶性、类型以给予患者相应的治疗建议成为许多内分泌科医师的常见任务之一,除了详细收集病史和进行触诊等,应用高分辨率的超声对甲状腺结节进行检查具有无创、操作简便,可实时监测、经济,可观察结节数量、形态、体积、血流情况等优势,已成为国内外临床上对于甲状腺结节的首选检查方法^[11,12]。

寻找合适的检查手段辅助提高术前对甲状腺结节的正确诊断避免对不必要的甲状腺结节手术极其重要。选择合适的分子标志物进行检测,有助于提高术前正确诊断结节的性质,使得患者得到更合适准确的治疗。CK19 和 Galectin-3 在 PTC 组织中有较强的表达,对于 PTC 和 NG 的鉴别诊断有一定的帮助^[13,14]。本研究观察并比较了 PTC 和 NG 病例的超声特征及其 FNAC 标本的 CK19、Galectin-3 的表达,并分析单独应用超声、CK19、Galectin-3 或者三者联合应用于鉴别诊断 NG 和 PTC 的价值。

本研究发现,PTC 组出现边界不清、内部回声低、微钙化以及血流达 3 级的超声特征均较 NG 组显著。考虑是因为癌细胞的无序生长以及侵袭特性使其与周围组织之间分界不清,呈现锯齿状等改变。而癌细胞较一般细胞大而且恶性增殖使细胞间有所重叠,间质较少,使其相较正常和良性组织引起的反射较弱,显示内部回声低。微钙化是砂砾体引起或细胞恶性增殖较快,供血不足以致组织坏死等出现钙化盐等沉积在超声图上的表现。良性结节的血流丰富度多为 0 级和 I 级,少数血流丰富显著有别于恶性结节的血流信号杂乱和无规则^[15,16]。但是从表 1 中也可见,部分 NG 患者的结节在超声检查中也有呈现边界不清、微钙化等超声征象。这些情况的发生可能是超声图像的重叠或结节不典型等原因引起的。而且凭借超声对结节进行 TI-RADS 分类的 ROC 曲线 AUC 为 0.846。可见单凭超声检查鉴别诊断 NG 和 PTC 的诊断效能为中等,仍需寻找其他方式协助提高诊断的准确性。

CK19 是一种细胞角蛋白,可存在于正常和肿瘤上皮中,因而 PTC 和 NG 均可见表达^[17,18]。但 de Matos 等^[19]研究表明,CK19 在鉴别诊断甲状腺良恶性病变中的敏感度可达 98%。而 Galectin-3 是半乳糖凝集素家族中的一种,其也可表达与正常和肿瘤组织中,其参与细胞的调控,与癌细胞的生长、肿瘤的浸润转移等相关^[17,18]。Galectin-3 的过度表达与胃、乳腺、甲状腺等恶性肿瘤有关^[18]。且 Galectin-3 在 PTC 中强表达,而在良性结节的表达较弱且局灶。因而本研究对超声引导下进行的细胞穿刺物进行 CK19 和 Galectin-3 的检测,观察其是否能良好的辅助诊断 PTC 和 NG。

本研究发现,以病理组织中表达的 Galectin-3、CK19 为标准,FNAC 检测 CK19 和 Galectin-3 表达的敏感度、特异性、准确性分别为 90.16%、87.50%、89.51% 和 87.85%、87.27%、87.65%。可见超声引导下细针穿刺细胞学检测 CK19 和 Galectin-3 能良好反映结节中的 CK19 和 Galectin-3 的表达情况,且进一步分析其诊断效能,发现单独 CK19 和 Galectin-3 诊断 NG、PTC 的诊断效能均为中等水平,而联合超声、CK19 和 Galectin-3 诊断 NG 和 PTC 的 AUC 为 0.04,诊断效比单独超声或分子标志物诊断均高。提示术前鉴别诊断 PTC 和 NG,除了进行超声检查之外,进行超声引导下的细针穿刺细胞学检测 CK19 和 Galectin-3 的表达情况,有助于提高诊断的准确性。

然而,对于甲状腺结节的 CK19 和 Galectin-3 表达的检测,目前研究较多的还是采用组织进行检测,但本研究采用的是细针穿刺的标本,取材者的操作对于标本反映结节分子表达准确性影响较大^[20]。而且仅进行了 PTC 和 NG 的分析比较,甲状腺滤泡癌等其他类型结节并未纳入研究,因此,仍需更多的研究进一步分析其他类型结节的 FNAC 标本检测和诊断情况。综上所述,术前对超声引导穿刺的标本进行 CK19 和 Galectin-3 表达强度的检测结合超声检查结果有助于提高对于 PTC 和 NG 的鉴别和诊断。

参考文献

- 1 郑星沪. CK19、Galectin-3 及 AAT 在甲状腺乳头状病变的表达及其意义 [J]. 中国医师杂志, 2012, 14(1): 123-124
- 2 Fujimoto T, Hirokawa M, Ota H, *et al.* Characteristic sonographic features of cribriform papillary thyroid carcinoma for differentiation from other thyroid nodules [J]. J Med Ultrasonics, 2015, 42(1): 83-87
- 3 Maciel RM. Thyroid ultrasound: beyond the diagnosis of thyroid nod-

- ules [J]. Arch Endocrinol Metabol, 2015, 59(6): 479-481
- 4 李选峰, 朱张茜, 潘高云, 等. 综合应用三种超声弹性成像指标鉴别甲状腺结节的良恶性 [J]. 实用医学杂志, 2012, 28(8): 1355-1356
 - 5 Trzebinska A, Dobruch - Sobczak K, Jakubowski W, *et al.* Standards of the Polish Ultrasound Society - Update. Ultrasound examination of thyroid gland and ultrasound - guided thyroid biopsy [J]. J Ultrason, 2014, 14(56): 49-60
 - 6 王春雷, 韩丽霞, 李莉, 等. PAX-8、CK19、HBME-1 和 Galectin-3 在甲状腺乳头状癌与结节性甲状腺肿中的表达情况 [J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2014, 35(10): 1413-1415
 - 7 Cui W, Sang W, Zheng S, *et al.* Usefulness of cytokeratin-19, galectin-3, and Hector Battifora mesothelial-1 in the diagnosis of benign and malignant thyroid nodules [J]. Clin Lab, 2012, 58(7-8): 673-680
 - 8 Falch C, Axt S, Scuffi B, *et al.* Rapid thyroid nodule growth is not a marker for well-differentiated thyroid cancer [J]. World J Surg Oncol, 2015, 13(1): 338
 - 9 Senol K, Katar K, Yuksel C, *et al.* Prediction of malignancy in Bethesda category III nodules: application of thyroid Imaging reporting system [J]. Ame Surg, 2015, 81(11): 351-352
 - 10 Gao Q, Chen X, Hu X, *et al.* Diagnosis value of thyroid imaging reporting and data system in thyroid nodules [J]. J Clin Otorhinolaryngol, 2015, 29(14): 1264-1267
 - 11 Wu Y, Liang J, Xia C, *et al.* Application of color doppler ultrasound examination of thyroid in occupational health care of radiation-exposed physicians [J]. Chinese J Indust Hyg Occup Dis, 2015, 33(7): 524-526
 - 12 董屹婕, 詹维伟. 超声引导下细针穿刺在甲状腺结节诊断和鉴别诊断中的价值 [J]. 中国实用外科杂志, 2015, 35(6): 613-619
 - 13 Zhu X, Sun T, Lu H, *et al.* Diagnostic significance of CK19, RET, galectin-3 and HBME-1 expression for papillary thyroid carcinoma [J]. J Clin Pathol, 2010, 63(9): 786-789
 - 14 白杨, 孙璐, 郭爱桃, 等. CK19、galectin-3 和 syndecan-1 在甲状腺乳头状病变鉴别诊断中的意义 [J]. 诊断病理学杂志, 2013, 20(12): 771-774
 - 14 Li F, Zhang J, Wang Y, *et al.* Clinical value of elasticity imaging and contrast-enhanced ultrasound in the diagnosis of papillary thyroid microcarcinoma [J]. Oncol Lett, 2015, 10(3): 1371-1377
 - 15 Liu BJ, Lu F, Xu HX, *et al.* The diagnosis value of acoustic radiation force impulse (ARFI) elastography for thyroid malignancy without highly suspicious features on conventional ultrasound [J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(9): 15362-15372
 - 16 Nechifor - Boila A, Borda A, Sassolas G, *et al.* Immunohistochemical markers in the diagnosis of papillary thyroid carcinomas: the promising role of combined immunostaining using HBME-1 and CD56 [J]. Pathol Res Prac, 2013, 209(9): 585-592
 - 17 杨如菊, 滕晓东, 丁伟, 等. MCM2、Ki67、CyclinD1 在甲状腺滤泡性癌和滤泡性腺瘤组织中的表达及与 Galectin-3、CK19 的对比研究 [J]. 肿瘤基础与临床, 2013, 26(6): 464-468
 - 18 de Matos PS, Ferreira AP, de Oliveira Facuri F, *et al.* Usefulness of HBME-1, cytokeratin 19 and galectin-3 immunostaining in the diagnosis of thyroid malignancy [J]. Histopathology, 2005, 47(4): 391-401
 - 19 de Matos PS, Ferreira AP, de Oliveira Facuri F, *et al.* Usefulness of HBME-1, cytokeratin 19 and galectin-3 immunostaining in the diagnosis of thyroid malignancy [J]. Histopathology, 2005, 47(4): 391-401
 - 20 Lee S, Hong S, Koo JS. Immunohistochemical subclassification of thyroid tumors with a prominent hyalinizing trabecular pattern [J]. AP-MIS, 2011, 119(8): 529-536

(收稿日期: 2016-04-04)

(修回日期: 2016-04-29)

(上接第 162 页)

- 14 Trau HA, Duffy DM, Brännström M, *et al.* Prostaglandin E2 and vascular endothelial growth factor A mediate angiogenesis of human ovarian follicular endothelial cells [J]. Human Reprod, 2016, 31(2): 436-444
- 15 Jepsen MR, Kløverpris S, Bøtkjær JA, *et al.* The proteolytic activity of pregnancy-associated plasma protein-A is potentially regulated by stanniocalcin-1 and -2 during human ovarian follicle development [J]. Hum Reprod, 2016, 31(4): 866-874
- 16 Streiter S, Sabbah B, Fisch B, *et al.* The importance of neuronal growth factors in the ovary [J]. Mol Human Reprod, 2016, 22(1): 3-17
- 17 Fernandez T, Palomino J, Parraguez VH, *et al.* Differential expression of GDF-9 and BMP-15 during follicular development in canine ovaries evaluated by flow cytometry [J]. Anim Reprod Sci, 2016, 167: 59-67
- 18 García - Pintos C, Menchaca A. Luteal response and follicular dynamics induced with equine chorionic gonadotropin (eCG) administration after insemination in sheep [J]. Small Ruminant Res, 2016, 136: 202-207
- 19 Campello CC, Figueiredo JR, Carvalho AA, *et al.* Immunolocalization of the anti-Müllerian hormone (AMH) in caprine follicles and the effects of AMH on in vitro culture of caprine pre-antral follicles enclosed in ovarian tissue [J]. Reprod Domest Anim, 2016, 51(2): 212-219
- 20 Fernandois D, Cuevas F, Lara HE, *et al.* Kisspeptin is involved in ovarian follicular development during aging in rats [J]. JOE, 2016, 288(3): 161-170
- 21 Wu YQ, Zhang ZH, Liao XH, *et al.* High fat diet triggers cell cycle arrest and excessive apoptosis of granulosa cells during the follicular development [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 466(3): 599-605

(收稿日期: 2016-04-24)

(修回日期: 2016-05-08)