

始基卵泡激活调控的研究进展

潘静¹, 于潇², 刘金星², 刘鹏飞²

(1. 山东中医药大学第一临床医学院, 山东 济南 250014; 2. 山东中医药大学附属医院妇科, 山东 济南 250014)

摘要:以早发性卵巢功能不全(premature ovarian insufficiency, POI)为代表的卵巢功能减退性疾病发生的本质是卵巢中卵泡数量的减少或(和)卵泡质量的降低,严重影响女性的生殖健康。卵巢功能减退患者的卵巢中仍然存在部分始基卵泡(primordial follicles, PFs),激活剩余的PFs,使其发育为成熟卵泡,可作为改善卵巢功能的途径之一。PFs是卵泡发育的起点,其休眠和激活的调节是女性维持生育力的重要基础。因此,本文从分子水平探讨PFs激活相关因子及信号通路对卵巢功能的作用机制,重点围绕维持PFs休眠状态的叉头框转录因子O3a(forkhead box O3a, FOXO3a)、叉头框转录因子L2(forkhead box L2, FOXL2)、生殖系 α 因子(factor in the germline alpha, FIGLA)、LIM同源盒基因8(LIM homeobox 8, LHX8)、精卵发生特异性HLH转录因子1/2(spermatogenesis and oogenesis specific basic helix-loop-helix transcription factor 1/2, SOHLH1/2)、细胞周期蛋白依赖性激酶抑制物1B(cyclin-dependent kinase inhibitor 1B, CDKN1B)、促进PFs激活的新生儿卵巢同源盒蛋白(newborn ovary homeobox gene, NOBOX)、生长分化因子9(growth differentiation factor 9, GDF9)、骨形态发生蛋白15(bone morphogenetic protein 15, BMP15)、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)、白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor, LIF),以及参与PFs激活调控的PI3K/AKT/FOXO3a、mTOR、Hippo、TGF- β 、AMPK、Notch、cAMP和Wnt等信号通路进行系统性总结和阐述,以期对卵巢功能减退性疾病的预防和治疗提供理论依据及潜在药物靶点。

关键词:卵巢功能减退性疾病;始基卵泡激活;抑制因子;促进因子;信号通路

中图分类号:R711.75

文献标志码:A

Research progress on the regulation of primordial follicle activation

PAN Jing¹, YU Xiao², LIU Jinxing², LIU Pengfei²

(1. The First Clinical College, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, Shandong, China;

2. Gynecology Department, Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine,

Jinan 250014, Shandong, China)

Abstract: Ovarian hypofunction diseases, represented by premature ovarian insufficiency (POI), occurs when the number or/and the quality of the follicles in the ovaries decrease, which seriously affects women's reproductive health. Some primordial follicles (PFs) still exist in the ovaries of patients with hypofunction diseases, and activation of the remaining PFs to mature follicles can be one of the ways to improve ovarian function. PFs are the starting point of follicular development, and the regulation of their dormancy and activation is an important basis for the maintenance of female fertility. This article systematically reviews and elucidates the molecular mechanisms underlying the activation of PFs, focusing on key factors such as forkhead box O3a (FOXO3a), forkhead box L2 (FOXL2), factor in the germline alpha (FIGLA), LIM homeobox 8 (LHX8), spermatogenesis and oogenesis specific basic helix-loop-helix transcription factors 1/2 (SOHLH1/2), cyclin-dependent kinase inhibitor 1B (CDKN1B/p27 Kip1), newborn ovary homeobox gene (NOBOX), growth differentiation factor 9 (GDF9), bone morphogenetic protein 15 (BMP15), basic fibroblast growth factor (bFGF/FGF2), and leukemia inhibitory factor (LIF). These factors play either a positive or negative

role in primordial follicle activation. Additionally, the article discusses various signaling pathways involved in regulating primordial follicle activation, including PI3K/AKT/FOXO3a, mTOR, Hippo, TGF- β , AMPK, Notch, cAMP, and Wnt signaling pathways. This review aims to provide a theoretical foundation and identify potential drug targets for the prevention and treatment of ovarian hypofunction diseases.

Key words: Ovarian hypofunction diseases; Primordial follicle activation; Inhibiting factors; Promoting factors; Signaling pathways

随着现代生活节奏的加快及压力的增大,卵巢功能减退性疾病的发病率逐年上升,且呈现年轻化趋势。卵巢功能减退性疾病不仅导致月经异常、不孕,还增加罹患心血管疾病、骨质疏松症、阿尔茨海默病和帕金森综合征等疾病的风险,严重影响女性的身心健康^[1-3]。研究表明,卵巢功能减退性疾病患者的卵巢中仍然不同程度地存在剩余的始基卵泡(primordial follicles, PFs)^[4],如何有效激活剩余的处于休眠状态的PFs,抑制其闭锁和凋亡,转而发育为成熟卵泡,可作为卵巢功能减退性疾病研究和治疗的突破口之一。PFs是女性卵巢储备和生育潜能的基本单位,每个周期只有少数被激活并发育为生长卵泡。因此,有序、适度的PFs激活是女性执行生殖功能的基础。本文概述有关PFs激活调控的重要因子及信号通路的研究进展,探讨PFs休眠和激活之间的平衡机制,从整体水平理解PFs在维持卵巢储备中的重要作用,为卵巢功能减退性疾病的预防和治疗提供参考,改善卵巢功能、保障生殖健康。

1 PFs激活是治疗卵巢功能减退性疾病的关键性起始步骤

卵巢功能减退性疾病包括卵巢储备功能减退(decreased ovarian reserve, DOR)、早发性卵巢功能不全(premature ovarian insufficiency, POI)和卵巢早衰(premature ovarian failure, POF),分别代表了卵巢功能减退进行性发展的三个阶段,均可导致生育障碍,影响生殖健康。因此,卵巢功能减退性疾病的早诊断、早治疗能有效延缓卵巢病理性衰老,改善临床症状。目前,治疗卵巢功能减退性疾病主要有激素替代疗法、诱导排卵和干细胞疗法等^[5],可缓解低雌激素症状,改善生殖结局,但远期效果并不理想。

卵巢功能减退性疾病的发病机制尚不明确,涉及遗传改变、免疫性疾病、医源性因素等^[6],是多种病理因素相互作用的结果,究其本质是卵巢中卵泡数量的减少或(和)质量的降低。研究发现,在近75%的POI中仍可检测到处于休眠状态的PFs^[4],激活POI患者卵巢中剩余的PFs、减少其损耗,成为POI

的重要治疗手段。PFs体外激活技术已被引入临床实践,成为POI患者辅助生殖治疗的有效办法^[7]。因此,PFs的相关研究有助于开发更安全、更可靠、更有效的PFs体外激活技术,同样也是治疗以POI为代表的卵巢功能减退性疾病的关键性起始步骤。

PFs作为卵巢的基本生殖单位,由停留在减数分裂双线期的初级卵母细胞及其周围单层的扁平前体颗粒细胞所形成,其数量在出生时已确定,是不可再生的生殖资源^[8]。当PFs周围的单层前体颗粒细胞由扁平向立方状转变,一层变成多层,并伴随卵母细胞体积增大时,表明PFs被激活,进入卵泡发生过程。调控PFs生长状态的抑制因子和激活因子之间的动态平衡对维持卵巢储备至关重要。当抑制因子水平减少或/和激活因子水平增加时,PFs被异常激活,影响卵泡募集,加速卵巢储备耗竭,导致卵巢功能减退性疾病的发生。因此,全面了解调控PFs激活的因子及相关信号通路是干预卵巢功能减退性疾病进展的理论基础。

2 调控PFs激活的重要因子

2.1 PFs激活抑制因子

2.1.1 叉头框转录因子(forkhead box, FOX)

2.1.1.1 叉头框转录因子O3a(forkhead box O3a, FOXO3a)

FOXO3a属于DNA结合域中含高度保守的翼状、螺旋结构的一类FOX因子,在维持细胞稳态和调节应激反应方面发挥关键作用^[9]。FOXO3a以非磷酸化的形式在休眠状态的PFs细胞核中高表达,磷酸化的FOXO3a从卵母细胞的细胞核中转移到胞质中意味着PFs已经进入激活状态^[10]。早期研究证实,FOXO3敲除小鼠的PFs全部被激活,使卵巢储备过早耗竭而出现卵巢功能减退性现象。因此,FOXO3的核质定位可判断PFs的激活状态,以评估卵巢储备。

既往文献报道,缺氧可诱导FOXO3a在细胞核中过表达,使PFs维持休眠状态,减少卵巢储备的耗竭^[11];脐带间充质干细胞作用于POF患者卵巢,可

磷酸化卵母细胞中 FOXO3a,并转移至细胞质中,以激活 PFs,改善卵泡发育^[12];重复超排卵会加速 PFs 的激活,且卵母细胞中 FOXO3a 的核表达随着超排卵次数的增加而降低^[13]。以上结果证实,FOXO3a 作为 PFs 激活的重要调控因子,可通过细胞核-胞浆穿梭作用改变 PFs 的激活状态,影响卵泡的生长进程^[14]。此外,FOXO3a 作为磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase B, AKT)通路的下游组分,可通过颗粒细胞与卵母细胞之间的信号交流及物质交换,调节 PFs 的激活^[15]。因此,FOXO3a 的检测常作为评估 PFs 体外激活及发育成熟的关键。

研究表明,FOXO3a 还会影响精卵发生特异性 HLH 转录因子 1/2 (spermatogenesis and oogenesis specific basic helix-loop-helix transcription factor 1/2, SOHLH1/2)对生长分化因子 9 (growth differentiation factor-9, GDF9)和骨形态发生蛋白 15 (bone morphogenetic protein 15, BMP15)的转录调控^[16],多因子之间相互作用形成复杂的 PFs 调控网络,共同参与卵泡的生长发育和成熟。

2.1.1.2 叉头框转录因子 L2 (forkhead box L2, FOXL2)

FOXL2 同样属于 FOX 家族,最早被发现可以调控哺乳动物的卵巢分化。PFs 的激活过程涉及卵巢颗粒细胞的增殖分化和初级卵母细胞的生长发育等多个环节,且卵巢颗粒细胞的增殖分化早于卵母细胞的生长发育。FOXL2 特异性表达在 PFs 的前体颗粒细胞中,与卵巢颗粒细胞的结构和活性有关,提示 FOXL2 可能在 PFs 的激活启动中发挥作用。

动物实验证实,FOXL2 可促进前体颗粒细胞向立方形颗粒细胞分化^[17];产前接触地塞米松可引起子代 FOXL2 和细胞周期蛋白依赖性激酶抑制物 1B (cyclin-dependent kinase inhibitor 1B, CDKN1B)表达下调,导致 PFs 数量减少^[18]。同样,有关人颗粒细胞中 FOXL2 转录水平的研究结果显示,PFs 中 FOXL2 表达明显高于初级卵泡^[19]。以上研究结果均提示,FOXL2 可调控 PFs 颗粒细胞的增殖分化,参与 PFs 激活。

体外实验发现,经血源性基质细胞可上调 FOXL2 的表达,促进前体颗粒细胞的增殖,加速卵巢皮质中休眠 PFs 的募集,促进 POI 模型大鼠卵泡体外发育,有助于恢复卵巢功能^[20];植物雌激素染料木素 (genestein, GEN)可通过上调雌激素受体和 FOXL2 表达,抑制 PFs 的异常激活,维持卵巢储备,在一定程度上延长生殖寿命^[21]。因此,经血源性基

质细胞移植和 GEN 的临床应用均可考虑作为 POI 或癌症化学性治疗患者保护卵巢储备的潜在治疗方案。因此,FOXL2 与 FOXO3a 转录因子同属 FOX 家族,分别从卵巢颗粒细胞和卵母细胞两方面参与 PFs 的激活调控,均可作为反映卵巢储备的重要标志物。

2.1.2 生殖系 α 因子 (factor in the germline alpha, FIGLA)

FIGLA 是碱性螺旋-环-螺旋 (basic helix-loop-helix, bHLH) 转录因子中第一个被证实可参与 PFs 生成的因子,在多种卵母细胞生长发育相关基因的特异性表达中起关键调控作用^[22],在卵泡发生早期阶段发挥重要作用。

动物实验表明,FIGLA 最早表达于雌性小鼠胚胎期,若发生突变会阻碍前体颗粒细胞的分化,影响 PFs 的形成^[23],此结论在人类基因研究中也得到验证:FIGLA 转录水平在女性胚胎 17~19 周时上升尤其明显,提示此时是卵巢储备建立的关键时期^[24]。进一步研究证实,FIGLA 缺失会阻碍卵母细胞减数分裂进程,引起卵母细胞 DNA 损伤和凋亡,影响 PFs 的生长发育,最终导致卵泡闭锁。由此可见,FIGLA 基因的稳态表达不仅调控前体颗粒细胞的增殖分化,还影响卵母细胞的生长发育,而这两方面正是 PFs 激活的基础。因此,FIGLA 表达的变化可同时反映前体颗粒细胞和卵母细胞的生长状态,可作为 PFs 形成及激活的生物学标志物。

FIGLA 除了参与 PFs 的形成外,还可调节 PFs 的激活。因此,全面分析 FIGLA 基因在生殖细胞中的表达模式是进一步了解机体生殖发育调控机制的前提,可为探究生育力的保存方法提供新思路。

2.1.3 LIM 同源盒基因 8 (LIM homeobox 8, LHX8)

LHX8 是富含半胱氨酸-组氨酸结构域的 LIM 蛋白家族的一员^[25],在雌性配子发育过程中发挥重要作用^[26],亦是 PFs 激活过程中重要的转录因子之一。LHX8 在雌性小鼠各级卵泡卵母细胞中持续高表达,LHX8 敲除后,卵母细胞大量丢失,PFs 数量急剧下降,使卵巢储备功能下降^[27]。后续研究表明,LHX8 的 RNA 结合蛋白 LIN28A 正向调控哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 信号通路,参与 PFs 的激活。而 LHX8 抑制 LIN28A 的活性,维持 PFs 的休眠状态,防止过度激活^[17]。

既往文献报道,LHX8 表达异常会引起卵母细胞发育停滞,导致生殖功能障碍^[28]。LHX8 可调控卵母细胞中新生儿卵巢同源盒蛋白 (newborn ovary

homeobox gene, NOBOX) 的表达,抑制 PFs 的激活^[29]。因此, LHX8 可直接影响卵母细胞的发育或作用于 PFs 激活相关基因,多途径参与 PFs 的生长,在生殖功能的正常发挥中起着重要作用。

2.1.4 SOHLH1/2

SOHLH 与 FIGLA 均属于 bHLH 家族,作为生殖细胞特异性转录因子,在卵泡发育早期发挥重要调控作用。SOHLH 表达集中于 PFs 和初级卵泡的卵母细胞、颗粒细胞和次级卵泡的卵膜细胞中,其中以 PFs 的卵母细胞为主^[30]。SOHLH1 敲除雌性小鼠表型与 LHX8 敲除小鼠相似,即卵母细胞在出生后被大量活化,使 PFs 丢失,卵巢储备在性成熟前基本耗竭^[24]。不同的是,SOHLH1 仅调控次级卵泡之前的卵母细胞。进一步研究表明,SOHLH1 可直接影响 LHX8 的转录^[31],SOHLH1 和 LHX8 组合可作为快速评估 PFs 数量的有效生物学标志物^[32]。

SOHLH1 和 SOHLH2 均参与生殖细胞的发生和发育,两者相互作用,在不影响卵母细胞减数分裂情况下,共同调节卵母细胞的分化^[33]。SOHLH1/2 单基因或者双基因敲除小鼠中,PI3K/AKT 信号通路受到抑制,后代小鼠卵巢中 PFs 和初级卵泡数量显著下降,且在 7 周左右发生卵母细胞的大量丢失^[34],说明 SOHLH1/2 可能通过 PI3K/AKT 信号通路调控卵母细胞生长,影响 PFs 向生长卵泡的分化。若 SOHLH1/2 基因异常表达,可导致卵巢功能减退和生育能力下降。因此,SOHLH1/2 可作为诊断卵巢功能减退性疾病的候选基因之一。

文献报道,卵母细胞特异性转录调节因子 SOHLH1/2、NOBOX、LHX8 在同一生殖细胞亚群中共表达,与卵巢储备能力高度相关。SOHLH1 与 FIGLA、LHX8 可共定位于同一卵母细胞的细胞核中,并相互作用,形成核复合物,共同调控下游靶基因,维持生殖细胞的分化,参与早期卵泡发育^[35]。因此,开展 SOHLH1/2 调控生殖细胞生长发育的相关机制研究,可为全面掌握 PFs 激活、保障女性生育能力提供新方向。

2.1.5 CDKN1B

CDKN1B 作为细胞周期进程的抑制性调控因子,可将细胞周期阻滞于 G1 期,参与肿瘤细胞的生长增殖和转移侵袭等过程。在生殖领域,CDKN1B 特异性地表达于生长卵泡的卵母细胞核中^[36],调控卵泡颗粒细胞的生长周期^[37],影响 PFs 激活,与卵巢减退性疾病的发生密切相关。研究表明,卵巢组织移植后,伴 CDKN1B 表达下降,表现为卵巢储备的消耗,造成卵巢功能减退^[38]。CDKN1B 是反映

卵巢储备的特征性蛋白之一,其表达的缺失会加速 PFs 的激活,导致 DOR、POI 或 POF 的发生。卵巢功能不全患者卵巢组织中,CDKN1B 蛋白表达水平与 FOXO3a、FOXL2 均降低^[39],提示 CDKN1B 缺失可能导致 PFs 过度激活,对卵巢减退性疾病的诊断和治疗具有重要的潜在价值。

文献报道,长期接触低剂量的拟除虫菊酯杀虫剂会上调雌性小鼠卵巢中 CDKN1B 的表达,抑制卵泡颗粒细胞的增殖并促进凋亡,导致 PFs 丢失,诱导产生类似于人类的 POI 表型^[40]。相关机制研究表明,CDKN1B 一方面可通过抑制 PFs 中细胞周期蛋白依赖性激酶 2 复合体的活性,负向调控 PFs 的激活;另一方面,CDKN1B 作为 FOXO3a 转录调控的下游靶基因,受 FOXO3a 作用,共同维持 PFs 的休眠状态^[41]。因此,后续可进一步探究 CDKN1B 对 PFs 前体颗粒细胞的调控及其与 PI3K/AKT/FOXO3a 通路之间的交互作用,为 CDKN1B 调控 PFs 激活的具体分子机制提供参考。

2.2 PFs 激活促进因子

2.2.1 NOBOX

NOBOX 是调控 PFs 激活的卵母细胞特异性同源框基因,在 PFs 和生长卵泡的卵母细胞中高表达,在早期卵泡发生中起关键作用^[42]。NOBOX 缺失会加速卵母细胞的丢失,同时抑制已经形成的 PFs 向生长卵泡的转变^[43],影响卵巢功能,危害生殖健康。研究表明,最早可于小鼠胚胎期 15.5 d 和 17.5 d 分别检测到 NOBOX 的 mRNA 和蛋白表达^[42]。NOBOX 表达缺失导致卵母细胞质量和数量下降,最终造成生殖障碍^[44]。在人类基因表达谱研究中,纯合的 NOBOX 截断变异体可导致卵母细胞中生长分化因子的转录障碍,进而诱发 POI^[45]。可见,NOBOX 基因突变可能是卵巢功能减退性疾病的病因之一,这一观点被 Sassi 等^[46]所证实。

文献报道,卵母细胞表面的跨膜蛋白酪氨酸激酶受体(receptor tyrosine kinase, RTK)启动子存在多个 NOBOX 结合位点,NOBOX 可通过 III 型 RTK 或调控转化生长因子 β (transforming growth factor beta, TGF- β) 信号通路的传导影响颗粒细胞增殖分化,干预 PFs 的激活及初级卵泡的生长发育^[47]。特异性定位于 PFs 卵母细胞膜的 E-钙黏蛋白通过穿梭蛋白 β -catenin 调控 NOBOX 的表达,在维持 PFs 数量、保存卵巢储备能力中至关重要^[48]。

由此可知,卵母细胞特异性基因 NOBOX 作为 PFs 激活的促进因子,可能通过 TGF- β 或 β -catenin 介导的信号通路干预卵母细胞或颗粒细胞的生长,

以调控 PFs 的激活进程。

2.2.2 GDF9

GDF9 是 TGF- β 超家族的成员,调节细胞增殖、分化和凋亡,影响组织生长发育^[49]。在卵巢中,卵母细胞分泌的 GDF9 可通过旁分泌调控颗粒细胞增殖分化及类固醇的生成^[50],影响卵母细胞的发育潜能,干预卵泡生长进程。GDF9 在初级卵泡及之后的所有卵泡发育阶段均有表达^[51],GDF9 与受体结合后激活 TGF- β 信号通路,在其下游信号分子协助下进入颗粒细胞的细胞核,调控靶基因的转录,促进颗粒细胞的增殖分化^[52]。卵母细胞 GDF9 缺失会导致颗粒细胞增殖障碍、卵母细胞发育异常,对卵巢功能造成损害^[53]。PFs 激活后,初级卵母细胞体积增大,特异性分泌促进颗粒细胞发育的 GDF9 和 BMP15,共同推动卵泡的进一步发育^[54]。

文献报道,在羊卵巢皮质体外培养体系中添加 50 ng/mL GDF9,可能通过磷酸化 AKT 和 FOXO3a,促进 PFs 的激活^[55];卵巢组织移植术后卵泡丢失严重,重要原因之一是 PFs 异常激活,生物学上表现为 GDF9 表达水平上升^[56];卵巢组织与卵泡膜干细胞共培养体系中,卵母细胞 GDF9 的表达显著上调,有利于 PFs 的体外发育^[57];重组抗缪勒管激素(anti-mullerian hormone, AMH)治疗可以影响卵巢组织移植术后生长卵泡中 GDF9 的表达,抵抗 PFs 的丢失^[58]。以上研究表明,GDF9 虽不直接作用于 PFs,但在 PFs 激活后进一步发育中发挥重要作用。

研究表明,卵母细胞中 GDF9 与 NOBOX 存在相互作用^[59],综合观察 GDF9 与其他 PFs 激活调控因子可以更好地评估 PFs 生长状态,从而指导 PFs 体外培养体系的改进,促进体外卵泡成熟,为生殖疾病的治疗提供新靶点。

2.2.3 BMP15

BMP15 与 GDF9 同属于 TGF- β 超家族,作为卵母细胞分泌因子,参与卵母细胞与颗粒细胞沟通的标志通路——TGF- β 信号通路的传导,共同调控卵泡早期生成及发育过程。BMP15 双等位基因缺失干扰 TGF- β 信号通路传导,抑制颗粒细胞增殖,使卵泡发育停滞,同时可激活 PI3K/AKT 信号通路,使 PFs 异常激活,降低卵巢储备^[60-61]。因此,BMP15 的表达与卵巢功能相关,若发生突变可导致 POI 等卵巢功能减退性疾病的发生^[62-64]。

动物实验表明,BMP15 可促进间充质干细胞向卵母样细胞的分化^[65];25 ng/mL BMP15 培养野猪腔前卵泡 6 d,可诱导 PFs 激活,获得较多数量的生长卵泡^[66];在新生小鼠卵巢组织培养基中加入亮氨

酸、谷氨酰胺、精氨酸或其组合可以上调 BMP15 和 GDF9 的表达,加速 PFs 的激活^[67]。BMP15 和 GDF9 可形成异二聚体,共同介导 TGF- β 信号通路的传导^[68]。POI 患者的 BMP15 和 GDF9 同步降低,说明两者在生物学功能的发挥上可能存在协同作用^[69]。由此推测,BMP15 可能以剂量依赖的方式,与 GDF9 相互作用,共同调控 PFs 的激活。

文献报道,食用煎炸油喂养的大鼠会出现生殖障碍,卵巢组织在生物学上表现为 PFs 数量减少,闭锁卵泡数量增加,BMP15 和 GDF9 表达下降^[70];慢性氟暴露会降低卵巢中的 BMP15 和 GDF9 水平,导致 PFs 和生长卵泡数量减少,诱导雌性大鼠卵巢功能减退^[71];同样,激素样内分泌干扰物 2,3,7,8-四氯苯对二恶英的暴露也会干扰雌性子代大鼠 BMP15 和 GDF9 的表达,影响 PFs 向初级卵泡和次级卵泡的转化,损伤卵巢功能^[72]。因此,了解饮食、环境及激素样内分泌干扰物通过调控 BMP15 的表达对卵巢功能产生的毒理学作用,对于明确危害生殖健康的潜在因素具有重要的意义。

研究证明,芍药和辅酶 Q10 可以提高小鼠卵巢中 BMP15 和 GDF9 的表达,提高卵母细胞质量,激活 PFs,增加生长卵泡的数量,改善 POI 模型小鼠的卵巢功能^[73-74]。因此,芍药及辅酶 Q10 的临床应用可以为卵巢功能减退性疾病的治疗提供新策略,但仍需要进一步的系统性研究来确定最佳服用剂量和时间。

2.2.4 碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)

bFGF 是成纤维细胞生长因子家族成员,由卵母细胞分泌,并具有旁分泌功能,刺激颗粒细胞的生长发育^[75]。动物实验表明,bFGF 促进了猫 PFs 的体外激活及生长^[76];bFGF 与局部细胞因子白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor, LIF)及促卵泡激素(follicle-stimulating hormone, FSH)具有协同作用,并可能通过 AKT 和 β -catenin 介导的信号通路调控颗粒细胞增殖,干预鸡 PFs 的激活^[77-78]。在人卵巢皮质体外培养中加入 bFGF 也观察到了相似的表现^[79]。由此可知,bFGF 作为 PFs 激活的促进因子,在 PFs 培养体系中发挥类似于 GDF9、BMP15 蛋白的作用,有助于 PFs 的体外激活和生长发育。

bFGF 在 PFs 的生长进程中发挥一定的促进作用,研究表明,bFGF 促进 PFs 激活的可能原因如下:
①bFGF 可促进颗粒细胞增殖和雌激素生成。
②bFGF 为成纤维细胞生长因子的亚类,可增加血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)分泌^[80],促进血管新生,增加血管密度,改善

卵巢周围组织血流及氧供,为 PFs 的激活及生长发育提供良好的微环境。因此,深入探究 bFGF 与其他转录因子、细胞因子及相关信号通路之间的关系,可以完善其在 PFs 激活中的分子作用机制,健全 PFs 激活调控体系,为生殖系统相关研究提供参考。

2.2.5 LIF

LIF 属于白介素 6 家族的分泌型糖蛋白,可促进干细胞生长,在卵巢颗粒细胞及卵母细胞上均有表达。LIF 在体外可调节颗粒细胞增殖,并提高卵母细胞减数分裂能力^[81],参与卵泡的生长发育。

动物实验表明,LIF 可能通过激活 PI3K/AKT 和 Stat3 信号通路,抑制鸡卵泡闭锁^[82],提高鸡 PFs 体外存活率^[83]; LIF 和 bFGF 可通过调节雌激素受体、AKT 和 Wnt/ β -catenin 信号通路,促进雏鸡卵泡细胞的增殖并抑制凋亡,并产生协同作用,利于 PFs 激活^[77, 84];羊卵巢组织进行玻璃化冷冻融化前使用 LIF 预处理,可以增加 GDF9 和 BMP 的表达,减少卵巢组织低温保存对卵泡造成的损伤,维持 PFs 数量并促进其生长发育^[85],提示 LIF 与 GDF9、BMP 之间可能存在相互作用,共同调控 PFs 的激活。

文献报道,POI 患者卵泡液和血清中 LIF、bFGF、GDF9 的表达增加,以此为特征的细胞因子谱的改变与卵巢功能减退进程相关^[86]。因此,对 LIF 与其他 PFs 激活相关因子的综合研究,可预测卵巢功能状态,对卵巢功能减退性疾病具有一定的诊断价值,并有望在特定群体中实现靶向疗法,以延缓卵巢衰老进程。

3 参与 PFs 激活的相关信号通路

3.1 PI3K/AKT/FOXO3a 信号通路

PI3K 是一种脂质激酶,参与细胞增殖、分化和凋亡等过程。AKT 是多种通路的交叉信号分子,表达于人卵巢卵母细胞和颗粒细胞中,对细胞存活和凋亡起调控作用^[87]。大量研究证明,PI3K/AKT/FOXO3a 信号通路在维持 PFs 的休眠中发挥重要作用,是调节 PFs 激活的关键信号通路^[17]。当初级卵母细胞膜上的 PI3K 受到上游受体 RTK 刺激,促使磷脂酰肌醇二磷酸 [phosphatidylinositol (4,5)-bisphosphate, PIP₂] 转化为磷脂酰肌醇三磷酸 [phosphatidylinositol (3,4,5)-trisphosphate, PIP₃], 并激活磷脂酰肌醇依赖性激酶 1 (phosphatidylinositol-dependent kinase1, PDK1) 后,可磷酸化 AKT 和 FOXO3a,使 FOXO3a 向细胞核外转移,诱导 PFs 激活。当 AKT 去磷酸化后,FOXO3a 移回细胞核内,

抑制 PFs 激活^[17,88-91]。

文献报道,卵巢癌化疗患者的 PFs 过度激活,磷酸酶与张力蛋白同源物 (phosphatase and tension homology, PTEN) 的含量显著减少^[92],提示 PTEN 可将 PIP₃ 去磷酸化为 PIP₂,抑制 PI3K 和 AKT 活性,负调控 PI3K/AKT/FOXO3a 信号传导^[14,93]; PTEN 缺失时,胰岛素和胰岛素样生长因子 1 能够促进颗粒细胞增殖,兴奋 PI3K/AKT/FOXO3a 信号通路,激活 PFs 并使其发育为初级卵泡^[94-96]。PTEN 负调控 PI3K/AKT/FOXO3a 信号传递进而影响 PFs 激活的结论在动物实验中也得到验证,对蛋鸡经行诱导脱壳会降低 PTEN 表达,激活 PI3K/AKT/FOXO3a 信号通路,促进 PFs 激活^[97]; PTEN 抑制剂孵育猪卵巢组织可显著激活 PFs,增加生长卵泡的百分比^[98]。然而,抑制 PTEN 会降低非生长卵泡的 DNA 损伤修复能力^[99],干扰卵母细胞和颗粒细胞之间的信号交流,影响卵泡质量。因此,后续应进行大量体内或体外实验,明确 PTEN 抑制剂调控 PI3K/AKT/FOXO3a 信号通路的作用机制,优化 PFs 体外激活的方案。此外,VEGF、细胞周期分裂蛋白 42、细胞功能调节因子过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 、神经营养因子和褪黑激素均被证实可通过 PI3K/AKT/FOXO3a 信号通路参与 PFs 的激活^[100-104]。

研究表明,子宫内膜异位症患者卵巢组织中的 PI3K/PTEN/AKT/FOXO3a 信号异常激活,可引起 PFs 的过早耗竭,提示该通路相关信号分子可作为预防和治疗卵巢储备能力降低的有效药物靶点^[105];脐带间充质干细胞和脂肪组织来源的干细胞可分别通过激活、抑制 PI3K/AKT/FOXO3a 信号通路,调控 PFs 的生长发育,保护卵巢储备^[106-107]; 槲皮素、姜黄素可通过抑制 PI3K/AKT/FOXO3a 通路,避免 PFs 过度消耗,用于减轻癌症化疗后、POF 和不孕症的治疗^[108-110]; PI3K 激活剂和 PTEN 抑制剂干预 POI 患者卵巢组织,可成功激活卵巢中剩余的 PFs,使其进一步生长发育^[111-112]; 死盒解旋酶 6 (deadbox helicase 6, DDX6) 缺陷会增强 PI3K/AKT 信号传导,导致 PFs 过早耗竭^[113],强调了 DDX6 在维持 PFs 数量中的必要性,为保护卵巢储备、保障生殖寿命提供了新启发。因此,优化 PFs 的体外激活技术,建立完善的 PFs 的体外培养体系,可为卵巢功能减退及不孕患者提供潜在治疗策略。除此之外,还应该注意减少在环境 PM_{2.5}^[114] 及内分泌干扰物正己烷^[115] 中的暴露,避免 PI3K/AKT/FOXO3a 信号异常传导,以免对生殖功能产生不必要的损害。

3.2 mTOR 信号通路

mTOR 属于 PI3K 相关激酶家族,是一种在进化上保守的丝氨酸/苏氨酸激酶,可调节细胞增殖及蛋白合成。mTOR 作为细胞状态感受器,接受各种细胞内、外的信号刺激的同时,与其他信号相互作用,是多条信号通路汇合的枢纽。mTOR 处于 PI3K/AKT 信号通路的下游,参与卵泡发育的各个阶段,并在 PFs 向初级卵泡转化过程中至关重要^[19,116],提示 PI3K/AKT/mTOR 通路可通过影响前体颗粒细胞的增殖,进而调控 PFs 的激活。

研究表明,羧基丙酯的暴露会加速成年小鼠的卵巢衰老^[117]、胱氨酸-谷氨酸转运体基因缺陷会损害小鼠生育力^[118]、cc-趋化因子受体 2^[119]和组蛋白脱乙酰基酶 6^[120]参与了卵泡生长发育、褪黑素会影响 POI 模型大鼠卵巢自噬^[121],这些均被证明与 PI3K/AKT/mTOR 信号通路调控 PFs 激活有关,而 mTOR 复合体 1/2(mTOR complex 1/2, mTORc1/2)在抑制 PFs 激活中发挥重要作用^[122],其中 mTORc1 参与了 PFs 激活过程中颗粒细胞的增殖分化,mTORc2 则与卵泡的存活密切相关^[123]。同时,mTORc 受上游结节性硬化症复合物 1/2(tuberous sclerosis complex 1/2, TSC1/2)的负调控^[124],腺苷酸活化蛋白激酶(AMP activated protein kinase, AMPK)抑制剂可抑制小鼠 TSC2 的活性,诱导 mTORc 以及下游核糖体蛋白磷酸化,从而激活 PFs^[125]。在前体颗粒细胞中,mTORc1 是接收卵泡激活信号的关键因子,并分泌 Kit 配体(Kit ligand, KitL),通过与卵母细胞表面的跨膜蛋白 Kit 相结合,兴奋 PI3K/AKT 通路,抑制 TSC1/2 活性,从而解除其对 mTORc 的抑制作用,加速 PFs 激活并向初级卵泡转变^[17]。因此,Kit/KitL-PI3K-AKT-TSC1/2-mTORc 通路是 AKT 参与的 mTOR 介导 PFs 激活的完整信号通路,与 PTEN/PI3K/AKT/FOXO3a 通路存在相互作用。与此相似,钩端蛋白受体突变小鼠的 PFs 丢失与 PTEN/PI3K/mTOR 信号通路的传导有关^[126]。除了 AKT 外,mTOR 还可以接受丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)^[127]和内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)^[128]的刺激,与 TSC 和 PTEN 的缺失会同时影响 mTOR 和 PTEN/PI3K/AKT/FOXO3a 信号通路类似,相互串扰的通路可能在 PFs 激活中发挥协同或拮抗作用。

文献报道,mTOR 抑制剂雷帕霉素及其类似物依维莫司的应用,可以阻断 PI3K/AKT/mTORc1 通路,同时调节 GDF9、BMP15 的表达,抑制 PFs 的异

常激活,改善卵巢储备能力^[56,129-130]。白藜芦醇(resveratrol, RSV)通过激活 POI 模型大鼠中的 PI3K/AKT/mTOR 信号通路,减轻颗粒细胞的氧化应激,抑制细胞凋亡^[131]。因此,mTOR 抑制剂、RSV 在治疗卵巢功能减退性疾病或不孕症方面具有潜在价值,但其有效性和安全性仍待进一步研究。后续研究发现,RSV 还可促进沉默信息调节因子 1(silencing information regulator 1, Sirt1)与 AKT 和 mTOR 启动子的直接结合,调控 PFs 激活^[132],提示 Sirt1 作为转录辅助因子可直接调节 AKT 和 mTOR 的转录,干预 PFs 的生长进程。与此相似,Sirt1 过表达小鼠 mTOR 信号传导受阻,PFs 细胞核内 FOXO3a 表达增强,使 PFs 维持休眠状态,防止过度激活^[133],而 Sirt1/3 的缺失会激活 mTOR 信号传导,加速 PFs 的丢失^[134]。此外,Sirt 可通过 mTOR 信号通路发挥表观遗传调控作用,参与 PFs 的生长进程^[135],完善了 mTOR 介导的信号通路在 PFs 激活调控中的作用机制。

中医药在治疗 POI 中发挥独特优势。中药方剂补肾促卵方^[136]、中成药坤泰胶囊^[137]和定坤丹^[138]、电针疗法^[139]均能通过 PI3K/AKT/mTOR 信号通路调控 PFs 的激活,影响早期卵泡的增殖和凋亡,具有保护女性生殖能力、延长生殖寿命的作用。今后可深入探究中医内治、外治及特色疗法在 PFs 激活中的作用机制,拓展中医药的应用范围,发挥中医药最大价值,以获得卵巢功能减退性疾病的最佳诊疗方案。

3.3 河马(Hippo)信号通路

Hippo 信号通路由不同的负性生长调节因子组成,具有限制组织生长,调节细胞增殖、分化和凋亡的作用^[50]。Hippo 通路信号分子的表达可以调控卵巢生殖干细胞的生长,与多囊卵巢综合征^[140]、POI 以及相关卵巢肿瘤的发生密切相关。

在哺乳动物中,当 Hippo 通路开放时,Ste20 样激酶(mammalian Ste20-like kinases 1/2, MST1/2)、大肿瘤抑制激酶(large tumor suppressor kinase 1/2, LATS1/2)、Salvador 同系物 1(Salvador homolog 1, SAV1)和 MOB 激酶激活因子 1A/B(MOB kinase activator 1A/B, MOB1A/B)形成复合物,在细胞质中磷酸化 Hippo 信号通路的效应因子 Yes 相关蛋白(Yes-associated protein, YAP)和具有 PDZ 结合基序的转录共激活因子(transcriptional co-activator with PDZ-binding motif, TAZ),使 YAP/TAZ 转换为 p-YAP/p-TAZ 后失活;当 Hippo 信号通路关闭时,YAP/TAZ 易位到细胞核中,与转录增强相关结

构域 (transcriptional enhanced associate domain, TEAD) 结合, 并诱导下游结缔组织生长因子 (connective tissue growth factor, CTGF/CCN2) 和凋亡重复序列的柱状病毒抑制剂 (baculoviral inhibitors of apoptosis repeat containing, BIRC) 的转录和表达^[141]。而 YAP 蛋白主要定位于初级卵泡至排卵前卵泡的颗粒细胞核中^[142], 上调 YAP 的表达会促进 PFs 激活^[143]。而 CCN2 和 BIRC 也具有促进前体颗粒细胞发育的作用^[54, 144]。因此, 抑制 Hippo 通路可调控前体颗粒细胞生长发育, 还可与 TGF- β 信号通路产生交互作用^[142], 共同促进 PFs 的激活。

研究表明, 卵泡发育过程中 MST、LATS 的表达呈下降趋势, 而 YAP 的表达呈上升趋势^[145], 表明 PFs 的生长启动可能与 YAP 介导的 Hippo 通路信号传导有关。卵泡的体外激活技术中卵巢皮层的碎片化旨在利用 E-钙黏蛋白、血管紧张素等活性物质促进肌动蛋白细胞骨架变性, 改变细胞的几何结构, 使 YAP/TAZ 入核后阻断 Hippo 信号传导, 以激活卵巢皮质中的 PFs^[54, 146-149]。对卵巢组织进行的机械操作 (如活检、搔刮、卵巢打孔术等) 均可不同程度地阻断 Hippo 信号通路传导, 促使休眠的 PFs 进入生长发育的轨道^[111, 150-153]。因此, 干扰 Hippo 信号传导可起到非药物性体外激活 PFs 的效应。文献报道, YAP 同样为 AKT 信号的下游效应因子^[145, 154], PI3K/AKT 和 Hippo 信号通路存在相互作用^[143, 155], 协同促进 PFs 激活。

以上有关 Hippo 通路的研究强调了机械信号传导在 PFs 激活中的调控作用, 中药护阳养坤方可抑制 Hippo/YAP 信号传导, 增加窦卵泡数量, 调节卵巢内分泌功能^[156], 其可能与颗粒细胞和卵母细胞之间的信号交流及卵巢周围微环境密切相关。因此, 了解 Hippo 通路相关机械信号传导对 PFs 激活的调控, 有利于理解 POI 等卵巢功能减退性疾病的发病机制, 并更好地指导临床相关治疗。

3.4 TGF- β 信号通路

TGF- β 作为卵巢卵母细胞与颗粒细胞沟通的标志性通路^[157], 可由 Smads 蛋白介导, 以 TGF- β /Smads 形式传递信号, 也可通过激活 MAPK 产生级联效应。通常认为, 当 PFs 激活发育为初级卵泡后, 卵母细胞分泌 GDF9 和 BMP15, 兴奋 TGF- β /Smads 信号传导, 调控卵泡的发育。前体颗粒细胞中 TGF- β 和 Smad2/3 的共定位表明了 TGF- β /Smads 信号通路可调控颗粒细胞增殖分化, 参与 PFs 的激活^[158-159]。

研究表明, TGF- β 体内或体外干预 5 日龄雏鸡卵巢组织可抑制 PFs 激活, 维持生殖细胞数量^[160];

多次静脉注射人类胎盘源性间充质干细胞 (human placenta-derived mesenchymal stem cell, hPD-MSC) 可通过 BMP/Smads 信号通路促进老年大鼠 PFs 的激活^[161-162]; 天然黄酮类化合物白杨素 (Chrysin) 可以通过抑制 TGF- β /Smads 和下游 MAPK 级联反应, 减少卵泡不必要的丢失, 改善 POF 卵巢功能^[163]。以上研究提示 TGF- β 、hPD-MSCs 及 Chrysin 在保护卵巢储备、改善卵巢功能方面具有研究价值。

文献报道, 环境增塑剂邻苯二甲酸二酯会影响 TGF- β 介导的卵巢细胞之间的相互作用, 调控 PFs 激活过程中相关因子的表达, 威胁生殖健康^[164]。而中药四物汤和左归丸可调节 TGF- β /Smads 信号传导, 调控 PFs 的激活, 抑制卵泡闭锁, 利于卵泡生长发育, 给生殖系统相关疾病的治疗提供了新思路。

3.5 AMPK 信号通路

AMPK 与 mTOR 均属于高度保守的丝氨酸/苏氨酸激酶, 主要调控腺嘌呤核苷三磷酸的合成和分解, 维持细胞内能量代谢的平衡。AMPK 位于 mTOR 和 YAP 的上游, 可分别通过磷酸化 TSC2 和 mTORc1 支架蛋白, 改变 YAP 的核定位, 影响 mTOR 和 Hippo 信号传导, 参与 PFs 的激活调控。AMPK 抑制剂干预 10 日龄小鼠卵巢可以激活 mTOR 信号通路, 促进下游靶基因 CTGF 的转录, 促进 PFs 激活并发育为成熟卵泡^[125]。丙酮酸干预小鼠卵巢体外培养可降低 AMPK 活性, 增加 mTOR 信号传递, 使 FOXO3a 被磷酸化, 导致小鼠 PFs 大量激活^[165]。此外, AMPK 抑制剂处理小鼠卵巢组织还可兴奋 Wnt 信号传导, 影响 FOX 相关基因表达, 促进 PFs 的激活^[166]。因此, AMPK 可以与 mTOR、Hippo 和 Wnt 信号通路协调配合, 共同参与 PFs 的激活调控。丝氨酸/苏氨酸激酶 11 又称肝激酶 (liver kinase B1, LKB1), 可影响 AMPK 的磷酸化, 参与 PFs 的激活。中药四物汤可通过调控 LKB1-AMPK 通路, 增加多囊卵巢综合征模型大鼠卵巢组织内各级卵泡数量, 保护卵巢储备^[167], 提示 LKB1-AMPK 信号通路可能是维持 PFs 休眠状态的通路之一。

AMPK 还可介导其他信号通路, 共同调节卵巢功能。如内分泌干扰物邻苯二甲酸二酯可激活 AMPK/SKP/CARM1 信号通路诱导自噬, 影响 PFs 的形成, 降低生育能力^[168]。降糖药物二甲双胍能够通过 AMPK/p53/p21 通路增加窦卵泡数量, 保护卵巢免受化疗药物环磷酰胺的影响^[169], 提示二甲双胍有望成为癌症患者化疗后保护生育力的辅助药物, 但其对 PFs 激活的作用机制有待完善。

3.6 环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)-蛋白激酶A(protein kinase A, PKA)信号通路

cAMP作为细胞内普遍存在的第二信使,可接受胞外信号并作用于胞内效应分子,参与基因转录、物质代谢和细胞生长分化等多种生理过程^[170]。cAMP影响卵巢早期减数分裂和PFs形成^[171],可调控PKA,介导相关信号通路,调节卵母细胞和颗粒细胞生长发育,参与PFs的激活^[172-173]。研究表明,磷酸二酯酶3B(phosphodiesterase 3B, PDE3B)抑制剂处理小鼠卵巢的体外培养,可调节cAMP,减少PFs的激活^[174]。有机氯杀菌剂五氯硝基苯的暴露可能通过激活cAMP/PKA信号通路,加速卵巢组织中PFs的募集,导致PFs异常激活,降低卵巢功能^[175]。促黄体生成素可以通过cAMP/PKA通路抑制卵母细胞凋亡,减少顺铂对卵巢储备能力的损害^[176],提示促黄体生成素的应用可能减轻辐射或化疗对PFs的损耗,保护卵巢储备。

cAMP/PKA信号通路可与PI3K/AKT、mTOR及TGF- β /Smads信号通路相互作用,调控卵巢中靶基因的表达,调节卵泡生长发育,影响卵巢功能^[177-179]。因此,后续可进行多信号通路交互作用的深入研究,以明确卵母细胞和颗粒细胞对PFs激活的影响,为自分泌和旁分泌途径调控PFs激活提供新证据。

3.7 Wnt信号通路

Wnt信号通路是一种高度保守的通路,调节细胞代谢和干细胞生长发育等过程。Wnt/ β -catenin是Wnt信号通路中的经典分支,参与机体胚胎早期发育和生殖系统相关生理活动^[180]。Wnt通路关键效应因子 β -catenin主要在PFs中表达,并在激活的PFs卵母细胞核内发挥作用^[181-182]。 β -catenin的核积聚与Wnt/ β -catenin信号的过表达有关,并在前体颗粒细胞向颗粒细胞的过渡中发挥关键作用,Wnt信号传导的减弱是PFs激活机制高度选择性的体现^[183]。新生小鼠颗粒细胞转录组分析揭示了Wnt通路拮抗剂与PFs激活抑制因子WNT3A之间的相互作用^[184],强调了颗粒细胞增殖分化在PFs激活过程中的重要性,并为Wnt/ β -catenin信号通路在PFs激活中的作用提供了理论基础。

研究表明,具有类雌激素作用的玉米赤霉烯酮饲养仔猪可通过Wnt1/ β -catenin降低PFs数量^[185];抗癌药物5-氟尿嘧啶干预小鼠会改变 β -catenin表达,导致PFs异常激活,损害卵巢储

备^[186];葛根素可抑制Wnt/ β -catenin信号传导,增加PFs百分比,降低卵泡闭锁率,对POF模型起保护作用^[187]。因此,Wnt/ β -catenin信号通路可通过调控前体颗粒细胞的生长干预PFs的激活。此外,Wnt/ β -catenin信号通路与AKT、TGF- β 和Hippo多条通路相互交错^[77, 188],形成复杂的PFs激活调控网络,共同调节卵巢储备,影响卵巢功能。

3.8 Notch信号通路

Notch信号通路最初在果蝇中被发现,通过与邻近细胞间的相互作用,调控组织器官的发育及分化^[189]。Notch信号通路可能调控卵巢生殖干细胞的增殖,与卵巢的衰老进程有关^[190]。在哺乳动物中已经发现了四种Notch受体(Notch1、Notch2、Notch3、Notch4)和五种配体(Dll1、Dll3、Dll4、Jagged1和Jagged2),不同Notch受体的激活影响PFs的形成、颗粒细胞的增殖和类固醇激素的分泌,在卵巢功能中起关键调控作用。Notch信号传导的主要已知机制是裂解激活的Notch受体,释放转录因子NICD,在翻译或翻译后水平上影响减数分裂。因此,阻断Notch信号传导可抑制卵母细胞的减数分裂,影响PFs激活^[191-192]。此外,AKT可能是NICD2的关键靶点,阻断Notch信号通路后,靶基因Hes1的表达显著降低,而Hes1与PTEN之间存在相互作用^[192],说明Notch通路和PI3K/AKT通路相互作用,共同参与卵泡的生长进程。TGF- β 家族成员卵泡抑制素也可以阻断Notch通路,影响PFs的激活^[193]。

研究表明,跨膜蛋白Gm364通过维持Notch2信号传导,参与卵泡存活和发育,影响女性生育能力以及卵泡质量^[194]。类固醇生成因子1会增加Notch信号传导,显著降低PFs的数量^[195]。外源性雌激素双酚S(bisphenol S, BPS)暴露可增强Notch信号,降低卵母细胞质量,促进前体颗粒细胞的增殖和PFs的生长启动,此研究为BPS对女性生殖的不良影响提供了证据,明确了围产期减少BPS暴露的必要性^[196]。lncRNA HOTAIR和生长激素均通过上调Notch1表达,刺激Notch1信号传导,调节类固醇激素的生成,改善卵巢内分泌功能^[197]。同样,中药左归丸可兴奋Notch信号传导,维持卵巢干细胞的活性,缓解环磷酸胺诱导的卵巢衰老^[198]。因此,Notch信号通路可通过影响颗粒细胞增殖、卵母细胞质量及类固醇激素的分泌,调控PFs的数量,保障卵巢储备。生长激素和左归丸的临床应用为POF的治疗带来新启发,但其具体分子作用机制有待进一步完善。

4 展望与思考

卵巢功能下降、性激素分泌不足会导致生殖内分泌相关疾病,还可并发心脑血管、骨骼运动及神经系统疾病,严重影响女性的身心健康及生活质量。因此,明确卵巢功能减退性疾病的发病机制,尽早采取有效干预措施,对改善卵巢功能、降低并发症风险、提高生活质量具有重大意义。卵巢功能减退性疾病具有异质性,是遗传性、免疫性、感染性、医源性、环境性等致病因素共同作用的结果,究其本质是卵巢中卵泡数量的减少或(和)卵泡质量的降低。卵泡是卵巢的基本功能单位,PFs 作为不可再生的卵泡群,是卵泡发育的主要储备和高质量卵母细胞的产出资源,与生殖健康息息相关。PFs 从休眠状态中被激活,按照一定的速率进入生长进程,称为卵泡的始动募集,此过程一旦启动便不可逆转。PFs 的激活与休眠维持是一个精密有序的过程,受卵母细胞质量和前体颗粒细胞增殖分化的影响,涉及众多转录因子、细胞因子及多重信号通路。PFs 过度激活或者闭锁速率增加,都会造成卵巢储备丢失过快而过早耗竭,导致 POI 等卵巢功能减退性疾病的发生。因此,探究 PFs 的激活调控可为明确卵巢功能减退性疾病的发病机制、寻求卵巢功能减退性疾病的最佳治疗方案及药物作用靶点提供重要参考。

PFs 选择性的激活离不开维持 PFs 休眠状态的 FOXO3a、FOXL2、FIGLA、LHX8、SOHLH1/2、CDKN1B 与 PFs 激活促进因子 NOBOX、GDF9、BMP15、bFGF、LIF 之间的协调配合。研究证实,PFs 激活抑制因子 FIGLA、LHX8、SOHLH2 和 PFs 激活促进因子 NOBOX 相互影响,共同调控卵泡的生长发育,避免 PFs 过度激活,保护卵巢储备^[199]。转录组学研究也证实,LHX8、SOHLH 和 NOBOX 的表达水平与 PFs 数量具有高度的相关性,提示这些因子可作为评估卵巢储备能力的生物学标志物^[35]。此外,部分激素也参与 PFs 激活调控,例如生长卵泡颗粒细胞分泌的 AMH,与 BMP15、GDF9 同属于 TGF-β 超家族,可通过 BMP 介导的信号传导维持 PFs 的休眠状态,还可诱导自噬,避免 PFs 过度激活,保护卵巢储备^[200]。后续可进行此类激素对 PFs 激活的机制研究,进一步完善 PFs 激活的调控网络。

PFs 激活相关因子广泛存在于卵泡发育的各个阶段,作用于卵母细胞或颗粒细胞,并通过不同的信号通路共同调节 PFs 的激活,以改善卵巢微环境,促进卵泡的生长发育,提高卵巢储备功能。PI3K/AKT/FOXO3a、mTOR、Hippo、TGF-β、AMPK、cAMP、Wnt 和 Notch 信号通路在 PFs 激活过程中彼此交错,影响 PFs 激活抑制因子与促进因子的表达,维持 PFs 休眠和激活的动态平衡,共同构成 PFs 激活调控的复杂性和特殊性。具体作用机制见图 1。

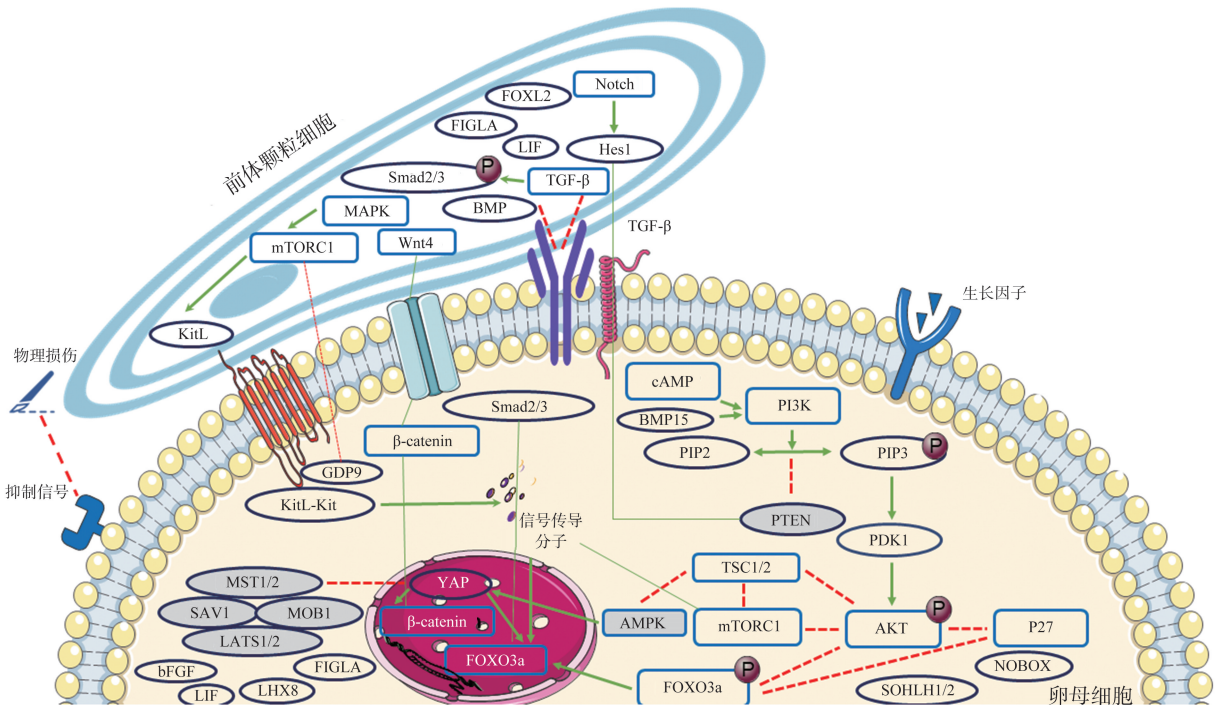


图 1 PFs 激活相关因子及信号通路,图中绿色箭头代表激活作用,红色虚线代表抑制作用
 Figure 1 Factors and signaling pathways associated with PFs activation. Green arrows represent activation, and red dotted lines represent inhibition

越来越多的研究表明,PFs 卵母细胞中的 PI3K/AKT/FOXO3a 和 mTOR 通路、前颗粒细胞中的 mTOR 和 Wnt 通路以及沟通卵母细胞与颗粒细胞的 TGF- β 通路信号传导异常,会导致 PFs 休眠和激活的失衡,降低卵巢储备,诱发 POI 等卵巢功能减退性疾病。因此,研发调控 PFs 激活并靶向某些因子及信号通路的药物,激活卵巢中剩余的 PFs 并使其发育为成熟卵泡,可能为卵巢功能减退性疾病的治疗提供理论依据及新的可能性。此外,可深入研究干预 PFs 激活的潜在调节剂,有利于临床个体化治疗方案的制定和实施。

PFs 适时且适量的激活是卵巢寿命和生育能力的有力保障,但调节 PFs 休眠和激活之间的平衡以启动卵泡非生理性生长发育的结论大多来自于啮齿类动物的在体研究或相关生殖细胞的体外实验。由于伦理或技术问题,PFs 激活因子和信号通路的调控作用在大型哺乳动物体内或生理情况下是否同样有效尚不明晰。因此,激活卵巢功能减退性疾病患者卵巢中尚存的 PFs 并获得成熟、高质量的卵母细胞具有极大的挑战性。此外,PFs 细胞外基质、卵巢微环境及表观遗传修饰等在 PFs 激活调控中的作用也得到了关注。今后可选择更合适的实验模型,如构建 3D 卵巢以完整复制 PFs 的生长环境,或通过大规模临床试验进行高质量的纵向研究,尽可能全面地探究 PFs 激活的微观机制,为多因子、多通路调控 PFs 的激活提供更可靠的证据,为卵巢功能减退性疾病的治疗带来新思路,为激发生育潜能、延长生殖寿命、改善生殖结局提供一定的理论基础。

参考文献:

[1] Sochocka M, Karska J, Pszczolowska M, et al. Cognitive decline in early and premature menopause[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(7): 6566. doi:10.3390/ijms24076566.

[2] Gosset A, Pouillès JM, Trémollières F. Menopausal hormone therapy for the management of osteoporosis[J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2021, 35(6): 101551. doi:10.1016/j.beem.2021.101551.

[3] Vujovic S, Brincat M, Erel T, et al. EMAS position statement: managing women with premature ovarian failure[J]. *Maturitas*, 2010, 67(1): 91-93.

[4] De Vos M, Devroey P, Fauser BCJM. Primary ovarian insufficiency[J]. *Lancet*, 2010, 376(9744): 911-921.

[5] 柳晓亮,刘一鸣,苏原,等. 卵巢早衰中医病因病机

及治疗研究进展[J]. *长春中医药大学学报*, 2023, 39(7): 811-816.

- LIU Xiaoliang, LIU Yiming, SU Yuan, et al. Research progress in the etiology, pathogenesis and treatment of premature ovarian failure in traditional Chinese and western medicine [J]. *Journal of Changchun University of Chinese Medicine*, 2023, 39(7): 811-816.
- [6] 王世宣,张金金. 卵巢衰老的机制与预防研究进展[J]. *山东大学学报(医学版)*, 2019, 57(2): 16-22. WANG Shixuan, ZHANG Jinjin. Advances in the mechanisms research and preventive measures of ovarian aging [J]. *Journal of Shandong University (Health Sciences)*, 2019, 57(2): 16-22.
- [7] Vo KCT, Kawamura K. In vitro activation early follicles: from the basic science to the clinical perspectives[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(7): 3785. doi:10.3390/ijms22073785.
- [8] 宋文广,付浩,郭敏,等. 原发性卵巢功能不全患者原始卵泡体外激活技术[J]. *国际生殖健康/计划生育杂志*, 2021, 40(6): 486-489. SONG Wenguang, FU Hao, GUO Min, et al. In vitro activation of primordial follicles in patients with primary ovarian insufficiency[J]. *Journal of International Reproductive Health/Family Planning*, 2021, 40(6): 486-489.
- [9] Fasano C, Disciglio V, Bertora S, et al. FOXO3a from the nucleus to the mitochondria: a round trip in cellular stress response [J]. *Cells*, 2019, 8(9): 1110. doi:10.3390/cells8091110.
- [10] Nagamatsu G, Shimamoto S, Hamazaki N, et al. Mechanical stress accompanied with nuclear rotation is involved in the dormant state of mouse oocytes [J]. *Sci Adv*, 2019, 5(6): eaav9960. doi: 10.1126/sciadv.aav9960.
- [11] Shimamoto S, Nishimura Y, Nagamatsu G, et al. Hypoxia induces the dormant state in oocytes through expression of Foxo3 [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(25): 12321-12326.
- [12] Ding LJ, Yan GJ, Wang B, et al. Transplantation of UC-MSCs on collagen scaffold activates follicles in dormant ovaries of POF patients with long history of infertility[J]. *Sci China Life Sci*, 2018, 61(12): 1554-1565.
- [13] Wang Q, Zhao SX, He JN, et al. Repeated superovulation accelerates primordial follicle activation and atresia [J]. *Cells*, 2022, 12(1): 92. doi:10.3390/cells12010092.
- [14] Kallen A, Polotsky AJ, Johnson J. Untapped reserves: controlling primordial follicle growth activation [J]. *Trends Mol Med*, 2018, 24(3): 319-331.
- [15] Sonigo C, Beau I, Grynberg M, et al. AMH prevents primordial ovarian follicle loss and fertility alteration in cyclophosphamide-treated mice[J]. *FASEB J*, 2019, 33(1): 1278-1287.

- [16] 刘源. FOXO3 抑制转录因子 SOHLH1 对卵母细胞特异性表达基因 Bmp15/Gdf9 转录活性的研究[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2019.
- [17] Ford EA, Beckett EL, Roman SD, et al. Advances in human primordial follicle activation and premature ovarian insufficiency[J]. *Reproduction*, 2020, 159(1): R15-R29.
- [18] Gong XH, Dai SY, Wang TT, et al. MiR-17-5p/FOXL2/CDKN1B signal programming in oocytes mediates trans-generational inheritance of diminished ovarian reserve in female offspring rats induced by prenatal dexamethasone exposure[J]. *Cell Biol Toxicol*, 2023, 39(3): 867-883.
- [19] Ernst EH, Franks S, Hardy K, et al. Granulosa cells from human primordial and primary follicles show differential global gene expression profiles[J]. *Hum Reprod*, 2018, 33(4): 666-679.
- [20] Zhang SW, Huang BX, Su P, et al. Concentrated exosomes from menstrual blood-derived stromal cells improves ovarian activity in a rat model of premature ovarian insufficiency[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1): 178. doi:10.1186/s13287-021-02255-3.
- [21] Haddad YH, Said RS, Kamel R, et al. Phytoestrogen genistein hinders ovarian oxidative damage and apoptotic cell death-induced by ionizing radiation: co-operative role of ER- β , TGF- β , and FOXL-2[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 13551. doi:10.1038/s41598-020-70309-2.
- [22] Kleppe L, Edvardsen RB, Furmanek T, et al. bmp15l, figla, smc1bl, and larp6l are preferentially expressed in germ cells in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)[J]. *Mol Reprod Dev*, 2017, 84(1): 76-87.
- [23] Fukuda K, Muraoka M, Kato Y, et al. Decoding the transcriptome of pre-granulosa cells during the formation of primordial follicles in the mouse[J]. *Biol Reprod*, 2021, 105(1): 179-191.
- [24] Wang ZP, Liu CY, Zhao YG, et al. FIGLA, LHX8 and SOHLH1 transcription factor networks regulate mouse oocyte growth and differentiation[J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(7): 3525-3541.
- [25] Kitanaka J, Takemura M, Matsumoto K, et al. Structure and chromosomal localization of a murine LIM/homeobox gene, Lhx8[J]. *Genomics*, 1998, 49(2): 307-309.
- [26] Pangas SA, Choi Y, Ballow DJ, et al. Oogenesis requires germ cell-specific transcriptional regulators Sohlh1 and Lhx8[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(21): 8090-8095.
- [27] D'Ignazio L, Michel M, Beyer M, et al. Lhx8 ablation leads to massive autophagy of mouse oocytes associated with DNA damage[J]. *Biol Reprod*, 2018, 98(4): 532-542.
- [28] Shimizu M, Shibuya H. WNK1/HSN2 mediates neurite outgrowth and differentiation via a OSR1/GSK3 β -LHX8 pathway[J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 15858. doi:10.1038/s41598-022-20271-y.
- [29] Zhao L, Li Q, Kuang YP, et al. Heterozygous loss-of-function variants in LHX8 cause female infertility characterized by oocyte maturation arrest[J]. *Genet Med*, 2022, 24(11): 2274-2284.
- [30] Zhang XL, Liu RH, Su ZX, et al. Immunohistochemical study of expression of Sohlh1 and Sohlh2 in normal adult human tissues[J]. *PLoS One*, 2015, 10(9): e0137431. doi:10.1371/journal.pone.0137431.
- [31] Salomon AK, Leon K, Campbell MM, et al. Folliculogenic factors in photoregressed ovaries: differences in mRNA expression in early compared to late follicle development[J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2018, 260: 90-99. doi:10.1016/j.ygcen.2018.01.003.
- [32] Liu L, Liu BT, Wang L, et al. Sohlh1 and Lhx8 are prominent biomarkers to estimate the primordial follicle pool in mice[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2023, 21(1): 46. doi:10.1186/s12958-023-01097-3.
- [33] Shin YH, Ren Y, Suzuki H, et al. Transcription factors SOHLH1 and SOHLH2 coordinate oocyte differentiation without affecting meiosis I[J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(6): 2106-2117.
- [34] Liu GQ, Li Y, Du B, et al. Primordial follicle activation is affected by the absence of Sohlh1 in mice[J]. *Mol Reprod Dev*, 2019, 86(1): 20-31.
- [35] Liu L, Liu BT, Li K, et al. Identification of biomarkers for predicting ovarian reserve of primordial follicle via transcriptomic analysis[J]. *Front Genet*, 2022, 13: 879974. doi:10.3389/fgene.2022.879974.
- [36] Rajareddy S, Reddy P, Du C, et al. p27kip1 (cyclin-dependent kinase inhibitor 1B) controls ovarian development by suppressing follicle endowment and activation and promoting follicle atresia in mice[J]. *Mol Endocrinol*, 2007, 21(9): 2189-2202.
- [37] Zhao J, Xu JY, Wang WS, et al. Long non-coding RNA LINC-01572: 28 inhibits granulosa cell growth via a decrease in p27 (Kip1) degradation in patients with polycystic ovary syndrome[J]. *EBioMedicine*, 2018, 36: 526-538. doi:10.1016/j.ebiom.2018.09.043.
- [38] Celik S, Celikkan FT, Ozkavukcu S, et al. Expression of inhibitor proteins that control primordial follicle reserve decreases in cryopreserved ovaries after autotransplantation[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2018, 35(4): 615-626.
- [39] Thanatsis N, Kaponis A, Koika V, et al. Reduced Foxo3a, FoxL2, and p27 mRNA expression in human ovarian tissue in premature ovarian insufficiency[J]. *Hormones*, 2019, 18(4): 409-415.

- [40] Ma XC, Zhang W, Song JY, et al. Lifelong exposure to pyrethroid insecticide cypermethrin at environmentally relevant doses causes primary ovarian insufficiency in female mice[J]. *Environ Pollut*, 2022, 298: 118839. doi: 10.1016/j.envpol.2022.118839.
- [41] Jang H, Na Y, Hong K, et al. Synergistic effect of melatonin and ghrelin in preventing cisplatin-induced ovarian damage via regulation of FOXO3a phosphorylation and binding to the p27Kip1 promoter in primordial follicles[J]. *J Pineal Res*, 2017, 63(3). doi:10.1111/jpi.12432.
- [42] Rajkovic A, Pangas SA, Ballow D, et al. NOBOX deficiency disrupts early folliculogenesis and oocyte-specific gene expression[J]. *Science*, 2004, 305(5687): 1157-1159.
- [43] Lechowska A, Bilinski S, Choi Y, et al. Premature ovarian failure in nobox-deficient mice is caused by defects in somatic cell invasion and germ cell cyst breakdown[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2011, 28(7): 583-589.
- [44] Rodriguez A, Briley SM, Patton BK, et al. Loss of the E2 SUMO-conjugating enzyme Ube2i in oocytes during ovarian folliculogenesis causes infertility in mice[J]. *Development*, 2019, 146(23): dev176701. doi:10.1242/dev.176701.
- [45] Li L, Wang BB, Zhang W, et al. A homozygous NOBOX truncating variant causes defective transcriptional activation and leads to primary ovarian insufficiency[J]. *Hum Reprod*, 2017, 32(1): 248-255.
- [46] Sassi A, Désir J, Duerinckx S, et al. Compound heterozygous null mutations of NOBOX in sisters with delayed puberty and primary amenorrhea[J]. *Mol Genet Genomic Med*, 2021, 9(10): e1776. doi:10.1002/mgg3.1776.
- [47] 张雪. 小鼠生殖细胞特异性转录因子 NOBOX 调控初级卵泡发育机制的研究[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2021.
- [48] Yan H, Wen J, Zhang T, et al. Oocyte-derived E-cadherin acts as a multiple functional factor maintaining the primordial follicle pool in mice[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(3): 160. doi:10.1038/s41419-018-1208-3.
- [49] Yan TM, Zhang SP, Cai YP, et al. Estradiol upregulates the expression of the TGF- β receptors ALK5 and BMP2 during the gonadal development of *Schizothorax prenanti*[J]. *Animals*, 2021, 11(5): 1365. doi:10.3390/ani11051365.
- [50] Bernabé BP, Woodruff T, Broadbelt LJ, et al. Ligands, receptors, and transcription factors that mediate inter-cellular and intra-cellular communication during ovarian follicle development[J]. *Reprod Sci*, 2020, 27(2): 690-703.
- [51] Dranow DB, Hu K, Bird AM, et al. Bmp15 is an oocyte-produced signal required for maintenance of the adult female sexual phenotype in zebrafish[J]. *PLoS Genet*, 2016, 12(9): e1006323. doi:10.1371/journal.pgen.1006323.
- [52] Karagül M, Aktaş S, Coşkun Yılmaz B, et al. GDF9 and BMP15 expressions and fine structure changes during folliculogenesis in polycystic ovary syndrome[J]. *Balkan Med J*, 2018, 35(1): 43-54.
- [53] Chen PR, Uh K, Monarch K, et al. Inactivation of growth differentiation factor 9 blocks folliculogenesis in pigs[J]. *Biol Reprod*, 2023, 108(4): 611-618.
- [54] Grosbois J, Demeestere I. Dynamics of PI3K and Hippo signaling pathways during in vitro human follicle activation[J]. *Hum Reprod*, 2018, 33(9): 1705-1714.
- [55] Monte APO, Bezerra MÉS, Menezes VG, et al. Involvement of phosphorylated Akt and FOXO3a in the effects of growth and differentiation factor-9 (GDF-9) on inhibition of follicular apoptosis and induction of granulosa cell proliferation after in vitro culture of sheep ovarian tissue[J]. *Reprod Sci*, 2021, 28(8): 2174-2185.
- [56] Celik S, Ozkavukcu S, Celik-Ozenci C. Altered expression of activator proteins that control follicle reserve after ovarian tissue cryopreservation/transplantation and primordial follicle loss prevention by rapamycin[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2020, 37(9): 2119-2136.
- [57] Dalman A, Adib S, Amorim CA, et al. Co-culture of human cryopreserved fragmented ovarian tissue with theca progenitor cells derived from theca stem cells[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2023, 40(7): 1611-1622.
- [58] Celik S, Ozkavukcu S, Celik-Ozenci C. Recombinant anti-Mullerian hormone treatment attenuates primordial follicle loss after ovarian cryopreservation and transplantation[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2023, 40(5): 1117-1134.
- [59] Bayne RA, Kinnell HL, Coutts SM, et al. GDF9 is transiently expressed in oocytes before follicle formation in the human fetal ovary and is regulated by a novel NOBOX transcript[J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0119819. doi:10.1371/journal.pone.0119819.
- [60] Jiao YF, Jiang TT, Lin QY, et al. Molecular characterization of the follicular development of BMP15-edited pigs[J]. *Reproduction*, 2023, 166(4): 247-261.
- [61] 赵安, 郭长权, 周烁, 等. 骨形态发生蛋白 15(BMP15) 通过 Smads 信号通路促进雏鸡原始卵泡的激活[J]. *中国兽医学报*, 2022, 42(10): 2099-2108. ZHAO An, GUO Changquan, ZHOU Shuo, et al. Promoting effect of BMP15 on activation of chicken primordial follicles through Smads signaling pathway[J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2022, 42(10): 2099-2108.
- [62] Fukami M. Ovarian dysfunction in women with Turner syndrome[J]. *Front Endocrinol*, 2023, 14: 1160258. doi:10.3389/fendo.2023.1160258.
- [63] Rossetti R, Ferrari I, Bestetti I, et al. Fundamental role

- of BMP15 in human ovarian folliculogenesis revealed by null and missense mutations associated with primary ovarian insufficiency [J]. *Hum Mutat*, 2020, 41(5): 983-997.
- [64] 王慧源, 浦丹华, 吴洁. 早发性卵巢功能不全与 TGF- β 超家族基因突变关系探讨 [J]. *中国计划生育学杂志*, 2018, 26(8): 754-758.
- WANG Huiyuan, PU Danhua, WU Jie. Relationship between POI and genetic mutations of TGF- β superfamily [J]. *Chinese Journal of Family Planning*, 2018, 26(8): 754-758.
- [65] Taheri MM, Saki G, Nikbakht R, et al. Bone morphogenetic protein 15 induces differentiation of mesenchymal stem cells derived from human follicular fluid to oocyte-like cell [J]. *Cell Biol Int*, 2021, 45(1): 127-139.
- [66] Gomes HAN, Campos LB, Praxedes éCG, et al. BMP-15 activity on in vitro development of collared peccary (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758) preantral follicles [J]. *Zuchthygiene*, 2020, 55(8): 958-964.
- [67] Alborzi P, Jafari Atrabi M, Akbarinejad V, et al. Incorporation of arginine, glutamine or leucine in culture medium accelerates in vitro activation of primordial follicles in 1-day-old mouse ovary [J]. *Zygote*, 2020; 1-8. doi: 10.1017/S096719942000026X.
- [68] Sanfins A, Rodrigues P, Albertini DF. GDF-9 and BMP-15 direct the follicle symphony [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2018, 35(10): 1741-1750.
- [69] Mottershead DG, Sugimura S, Al-Musawi SL, et al. Cumulin, an oocyte-secreted heterodimer of the transforming growth factor- β family, is a potent activator of granulosa cells and improves oocyte quality [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(39): 24007-24020.
- [70] Shooshtar MJP, Ramezani M, Andoohjerdi RB. Effect of *Lactobacillus plantarum* on folliculogenesis in deep frying oil-fed rats [J]. *Reprod Toxicol*, 2023, 115: 157-162. doi:10.1016/j.reprotox.2022.12.009.
- [71] Tang XK, Li HJ, Wang YL, et al. Chronic fluoride exposure induces ovarian dysfunction and potential association with premature ovarian failure in female rats [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2024, 202(7): 3225-3236.
- [72] Zhang XL, Ji MM, Tan XM, et al. Impairment of ovaries by 2, 3, 7, 8-tetrachlorobenzo-p-dioxin (TCDD) exposure in utero associated with BMP15 and GDF9 in the female offspring rat [J]. *Toxicology*, 2018, 410: 16-25. doi:10.1016/j.tox.2018.08.015.
- [73] Lee HJ, Park MJ, Joo BS, et al. Effects of coenzyme Q10 on ovarian surface epithelium-derived ovarian stem cells and ovarian function in a 4-vinylcyclohexene diepoxide-induced murine model of ovarian failure [J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2021, 19(1): 59. doi:10.1186/s12958-021-00736-x.
- [74] Park MJ, Han SE, Kim HJ, et al. *Paonia lactiflora* improves ovarian function and oocyte quality in aged female mice [J]. *Anim Reprod*, 2020, 17(2): e20200013. doi: 10.1590/1984-3143-AR2020-0013.
- [75] Jeon MJ, Choi YS, Yoo JJ, et al. Optimized culture system to maximize ovarian cell growth and functionality in vitro [J]. *Cell Tissue Res*, 2021, 385(1): 161-171.
- [76] Müller MC, Monte APO, Lins TLBG, et al. Fibroblast growth factor-2 promotes in vitro activation of cat primordial follicles [J]. *Zygote*, 2022, 30(5): 730-734.
- [77] Guo CQ, Dong J, Ma YF, et al. LIF and bFGF enhanced chicken primordial follicle activation by Wnt/ β -catenin pathway [J]. *Theriogenology*, 2021, 176: 1-11. doi: 10.1016/j.theriogenology.2021.09.008.
- [78] Guo CQ, Zhang GL, Lin X, et al. Reciprocal stimulating effects of bFGF and FSH on chicken primordial follicle activation through AKT and ERK pathway [J]. *Theriogenology*, 2019, 132: 27-35. doi: 10.1016/j.theriogenology.2019.04.005.
- [79] Ghezelayagh Z, Abtahi NS, Rezazadeh Valojerdi M, et al. The combination of basic fibroblast growth factor and kit ligand promotes the proliferation, activity and steroidogenesis of granulosa cells during human ovarian cortical culture [J]. *Cryobiology*, 2020, 96: 30-36. doi: 10.1016/j.cryobiol.2020.08.011.
- [80] Motozawa K, Motoyoshi M, Saiki A, et al. Functional comparison of high and low molecular weight basic fibroblast growth factors [J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(9): 7818-7826.
- [81] Cadoret V, Jarrier-Gaillard P, Papillier P, et al. Leukemia inhibitory factor modulates the differentiation of granulosa cells during sheep in vitro preantral to antral follicle development and improves oocyte meiotic competence [J]. *Mol Hum Reprod*, 2021, 27(9): gaab051. doi:10.1093/molehr/gaab051.
- [82] Dong J, Guo CQ, Zhou S, et al. Leukemia inhibitory factor prevents chicken follicular atresia through PI3K/AKT and Stat3 signaling pathways [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2022, 543: 111550. doi: 10.1016/j.mce.2021.111550.
- [83] Leghari IH, Zhao D, Mi YL, et al. Isolation and culture of chicken primordial follicles [J]. *Poult Sci*, 2015, 94(10): 2576-2580.
- [84] 郭长权. 细胞因子 bFGF 和 LIF 对雏鸡原始卵泡发育的调节作用及其机理的研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2020.
- [85] Mohammadzadeh F, Ajdary M, Mohammadzadeh A, et al. Leukemia inhibitory factor's effect on the growth and survival of sheep's follicles of ovarian tissue during vitrifica-

- tion[J]. *Cell Tissue Bank*, 2023, 24(1): 109-123.
- [86] Liu PH, Zhang XR, Hu JM, et al. Dysregulated cytokine profile associated with biochemical premature ovarian insufficiency[J]. *Am J Reprod Immunol*, 2020, 84(4): e13292. doi:10.1111/aji.13292.
- [87] Mirza-Aghazadeh-Attari M, Ekrami EM, Aghdas SAM, et al. Targeting PI3K/Akt/mTOR signaling pathway by polyphenols: implication for cancer therapy [J]. *Life Sci*, 2020, 255: 117481. doi: 10.1016/j.lfs.2020.117481.
- [88] Masciangelo R, Hossay C, Donnez J, et al. Does the Akt pathway play a role in follicle activation after grafting of human ovarian tissue? [J]. *Reprod Biomed Online*, 2019, 39(2): 196-198.
- [89] Maidarti M, Anderson RA, Telfer EE. Crosstalk between PTEN/PI3K/akt signalling and DNA damage in the oocyte: implications for primordial follicle activation, oocyte quality and ageing[J]. *Cells*, 2020, 9(1): 200. doi:10.3390/cells9010200.
- [90] Masciangelo R, Hossay C, Chiti MC, et al. Role of the PI3K and Hippo pathways in follicle activation after grafting of human ovarian tissue [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2020, 37(1): 101-108.
- [91] Terren C, Munaut C. Molecular basis associated with the control of primordial follicle activation during transplantation of cryopreserved ovarian tissue[J]. *Reprod Sci*, 2021, 28(5): 1257-1266.
- [92] Albamonte MI, Calabró LY, Albamonte MS, et al. FOXO3 and PTEN expression in the ovary of girls with extra-gonadal cancer with or without chemotherapy treatment prior to cryopreservation [J]. *BMC Womens Health*, 2023, 23(1): 509. doi:10.1186/s12905-023-02648-x.
- [93] Hsueh AJ, Kawamura K, Cheng Y, et al. Intraovarian control of early folliculogenesis[J]. *Endocr Rev*, 2015, 36(1): 1-24.
- [94] Adib S, Valojerdi MR, Alikhani M. Dose optimisation of PTEN inhibitor, bpV (HOPic), and SCF for the in vitro activation of sheep primordial follicles[J]. *Growth Factors*, 2019, 37(3/4): 178-189.
- [95] 洪雯丽, 黄瑶琪, 祝费隐, 等. PTEN 调控大鼠原始卵泡启动和生长[J]. *基础医学与临床*, 2019, 39(8): 1077-1084.
- HONG Wenli, HUANG Yaoqi, ZHU Feiyin, et al. PTEN regulates primordial follicular initiation and growth in rats[J]. *Basic & Clinical Medicine*, 2019, 39(8): 1077-1084.
- [96] Bezerra MéS, Barberino RS, Menezes VG, et al. Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) promotes primordial follicle growth and reduces DNA fragmentation through the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B (PI3K/AKT) signalling pathway [J]. *Reprod Fertil Dev*, 2018, 30(11): 1503-1513.
- [97] Wang PY, Gong YJ, Li DH, et al. Effect of induced molting on ovarian function remodeling in laying hens [J]. *Poult Sci*, 2023, 102(8): 102820. doi:10.1016/j.psj.2023.102820.
- [98] Raffel N, Klemm K, Dittrich R, et al. The effect of bpV (HOPic) on in vitro activation of primordial follicles in cultured swine ovarian cortical strips[J]. *Zuchthygiene*, 2019, 54(8): 1057-1063.
- [99] Maidarti M, Clarkson YL, McLaughlin M, et al. Inhibition of PTEN activates bovine non-growing follicles in vitro but increases DNA damage and reduces DNA repair response[J]. *Hum Reprod*, 2019, 34(2): 297-307.
- [100] Komatsu K, Masubuchi S. Increased supply from blood vessels promotes the activation of dormant primordial follicles in mouse ovaries[J]. *J Reprod Dev*, 2020, 66(2): 105-113.
- [101] Yan H, Zhang JW, Wen J, et al. CDC42 controls the activation of primordial follicles by regulating PI3K signaling in mouse oocytes[J]. *BMC Biol*, 2018, 16(1): 73. doi:10.1186/s12915-018-0541-4.
- [102] Yoon SY, Kim R, Jang H, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma modulator promotes neonatal mouse primordial follicle activation in vitro [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(9): 3120. doi: 10.3390/ijms21093120.
- [103] Chang HM, Wu HC, Sun ZG, et al. Neurotrophins and glial cell line-derived neurotrophic factor in the ovary: physiological and pathophysiological implications [J]. *Hum Reprod Update*, 2019, 25(2): 224-242.
- [104] Barberino RS, Macedo TJS, Lins TLBG, et al. Immunolocalization of melatonin receptor type 1 in the sheep ovary and involvement of the PI3K/Akt/FOXO3a signaling pathway in the effects of melatonin on survival and in vitro activation of primordial follicles [J]. *Mol Reprod Dev*, 2022, 89(10): 485-497.
- [105] Takeuchi A, Koga K, Satake E, et al. Endometriosis triggers excessive activation of primordial follicles via PI3K-PTEN-akt-Foxo3 pathway [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2019, 104(11): 5547-5554.
- [106] Jiao WL, Mi X, Yang YJ, et al. Mesenchymal stem cells combined with autocrosslinked hyaluronic acid improve mouse ovarian function by activating the PI3K-AKT pathway in a paracrine manner [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1): 49. doi: 10.1186/s13287-022-02724-3.
- [107] Cacciottola L, Courtoy GE, Nguyen TYT, et al. Adipose tissue-derived stem cells protect the primordial follicle pool from both direct follicle death and abnormal

- activation after ovarian tissue transplantation[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2021, 38(1): 151-161.
- [108] 李江慧. 槲皮素通过调控 PI3K/AKT/FOXO3a 通路抑制环磷酸胺引起的始基卵泡损耗[D]. 上海: 上海交通大学, 2020.
- [109] Li JH, Long H, Cong YY, et al. Quercetin prevents primordial follicle loss via suppression of PI3K/Akt/Foxo3a pathway activation in cyclophosphamide-treated mice[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2021, 19(1): 63. doi:10.1186/s12958-021-00743-y.
- [110] Lv Y, Cao RC, Liu HB, et al. Single-oocyte gene expression suggests that curcumin can protect the ovarian reserve by regulating the PTEN-AKT-FOXO3a pathway[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(12): 6570. doi:10.3390/ijms22126570.
- [111] Kawamura K, Cheng Y, Suzuki N, et al. Hippo signaling disruption and Akt stimulation of ovarian follicles for infertility treatment[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(43): 17474-17479.
- [112] Li J, Kawamura K, Cheng Y, et al. Activation of dormant ovarian follicles to generate mature eggs[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(22): 10280-10284.
- [113] Kato Y, Saga Y. Antagonism between DDX6 and PI3K-AKT signaling is an oocyte-intrinsic mechanism controlling primordial follicle growth[J]. *Biol Reprod*, 2023, 109(1): 73-82.
- [114] Chen YY, Xi YY, Li ML, et al. Maternal exposure to PM2.5 decreases ovarian reserve in neonatal offspring mice through activating PI3K/AKT/FoxO3a pathway and ROS-dependent NF- κ B pathway[J]. *Toxicology*, 2022, 481: 153352. doi:10.1016/j.tox.2022.153352.
- [115] Zeng JW, Sun Y, Li XQ, et al. 2, 5-Hexanedione influences primordial follicular development in cultured neonatal mouse ovaries by interfering with the PI3K signaling pathway via miR-214-3p[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2020, 409: 115335. doi:10.1016/j.taap.2020.115335.
- [116] Guo J, Zhang T, Guo YS, et al. Oocyte stage-specific effects of MTOR determine granulosa cell fate and oocyte quality in mice[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115(23): E5326-E5333.
- [117] Li ML, Zhou S, Wu YL, et al. Prenatal exposure to propylparaben at human-relevant doses accelerates ovarian aging in adult mice[J]. *Environ Pollut*, 2021, 285: 117254. doi:10.1016/j.envpol.2021.117254.
- [118] Watanabe R, Takano T, Sasaki S, et al. Retention of higher fertility depending on ovarian follicle reserve in cystine-glutamate transporter gene-deficient mice[J]. *Histochem Cell Biol*, 2022, 157(3): 347-357.
- [119] Santos AGA, Pereira LAAC, Viana JHM, et al. The CC-chemokine receptor 2 is involved in the control of ovarian folliculogenesis and fertility lifespan in mice[J]. *J Reprod Immunol*, 2020, 141: 103174. doi:10.1016/j.jri.2020.103174.
- [120] Zhang T, He MN, Zhao LH, et al. HDAC6 regulates primordial follicle activation through mTOR signaling pathway[J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(6): 559. doi:10.1038/s41419-021-03842-1.
- [121] 李琰珉. 褪黑素调控 PI3K/AKT/mTOR 自噬通路治疗早发性卵巢功能不全的机制研究[D]. 济南: 山东大学, 2020.
- [122] 朱静, 杨庆岭, 孙莹璞. mTOR 与卵泡发育[J]. *国际生殖健康/计划生育杂志*, 2019, 38(2): 150-153.
- ZHU Jing, YANG Qingling, SUN Yingpu. mTOR with the follicular development[J]. *Journal of International Reproductive Health/Family Planning*, 2019, 38(2): 150-153.
- [123] Correia B, Sousa MI, Ramalho-Santos J. The mTOR pathway in reproduction: from gonadal function to developmental coordination[J]. *Reproduction*, 2020, 159(4): R173-R188.
- [124] Guo ZX, Yu Q. Role of mTOR signaling in female reproduction[J]. *Front Endocrinol*, 2019, 10: 692. doi:10.3389/fendo.2019.00692.
- [125] Lu XW, Guo S, Cheng Y, et al. Stimulation of ovarian follicle growth after AMPK inhibition[J]. *Reproduction*, 2017, 153(5): 683-694.
- [126] Xia HX, Zhang RX, Guan HY, et al. Follicle loss and PTEN/PI3K/mTOR signaling pathway activated in LepR-mutated mice[J]. *Gynecol Endocrinol*, 2019, 35(1): 44-48.
- [127] Zhao Y, Zhang Y, Li J, et al. MAPK3/1 participates in the activation of primordial follicles through mTORC1-KITL signaling[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(1): 226-237.
- [128] Zhao PK, Song ZD, Wang Y, et al. The endothelial nitric oxide synthase/cyclic guanosine monophosphate/protein kinase G pathway activates primordial follicles[J]. *Aging*, 2020, 13(1): 1096-1119.
- [129] Xie YQ, Li S, Zhou LY, et al. Rapamycin preserves the primordial follicle pool during cisplatin treatment in vitro and in vivo[J]. *Mol Reprod Dev*, 2020, 87(4): 442-453.
- [130] Vallet N, Boissel N, Elefant E, et al. Can some anti-cancer treatments preserve the ovarian reserve? [J].

- Oncologist, 2021, 26(6): 492-503.
- [131] Li N, Liu LL. Mechanism of resveratrol in improving ovarian function in a rat model of premature ovarian insufficiency[J]. J Obstet Gynaecol Res, 2018, 44(8): 1431-1438.
- [132] Zhang T, Du XH, Zhao LH, et al. SIRT1 facilitates primordial follicle recruitment independent of deacetylase activity through directly modulating Akt1 and mTOR transcription[J]. FASEB J, 2019, 33(12): 14703-14716.
- [133] Long GY, Yang JY, Xu JJ, et al. SIRT1 knock-in mice preserve ovarian reserve resembling caloric restriction[J]. Gene, 2019, 686: 194-202. doi:10.1016/j.gene.2018.10.040.
- [134] Tatone C, Di Emidio G, Barbonetti A, et al. Sirtuins in gamete biology and reproductive physiology: emerging roles and therapeutic potential in female and male infertility[J]. Hum Reprod Update, 2018, 24(3): 267-289.
- [135] Sun YC, Wang YY, Sun XF, et al. The role of autophagy during murine primordial follicle assembly[J]. Aging, 2018, 10(2): 197-211.
- [136] 陈燕霞. 补肾促卵方调控 PI3K 和 Nrf2 信号通路保护卵巢储备功能低下的机制研究[D]. 北京: 中国中医科学院, 2020.
- [137] Zhang H, Qin FF, Liu AL, et al. Kuntai capsule attenuates premature ovarian failure through the PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. J Ethnopharmacol, 2019, 239: 111885. doi:10.1016/j.jep.2019.111885.
- [138] Ma K, Chen YX, Fan XD, et al. Dingkun Pill replenishes diminished ovarian reserve through the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in TWP-induced mice[J]. J Ethnopharmacol, 2020, 262: 112993. doi:10.1016/j.jep.2020.112993.
- [139] Zhang H, Qin FF, Liu AL, et al. Electro-acupuncture attenuates the mice premature ovarian failure via mediating PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. Life Sci, 2019, 217: 169-175. doi:10.1016/j.lfs.2018.11.059.
- [140] Maas K, Mirabal S, Penzias A, et al. Hippo signaling in the ovary and polycystic ovarian syndrome[J]. J Assist Reprod Genet, 2018, 35(10): 1763-1771.
- [141] Díaz-García C, Herraiz S, Pamplona L, et al. Follicular activation in women previously diagnosed with poor ovarian response: a randomized, controlled trial[J]. Fertil Steril, 2022, 117(4): 747-755.
- [142] Lv XM, He CB, Huang C, et al. Timely expression and activation of YAP1 in granulosa cells is essential for ovarian follicle development[J]. FASEB J, 2019, 33(9): 10049-10064.
- [143] Gao JY, Song TF, Che DH, et al. Deficiency of Pdk1 contributes to primordial follicle activation via the up-regulation of YAP expression and the pro-inflammatory response[J]. Int J Mol Med, 2020, 45(2): 647-657.
- [144] Herta AC, Lolicato F, Smitz JEJ. In vitro follicle culture in the context of IVF[J]. Reproduction, 2018, 156(1): F59-F73.
- [145] Hu LL, Su T, Luo RC, et al. Hippo pathway functions as a downstream effector of AKT signaling to regulate the activation of primordial follicles in mice[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(2): 1578-1587.
- [146] Hsueh AJW, Kawamura K. Hippo signaling disruption and ovarian follicle activation in infertile patients[J]. Fertil Steril, 2020, 114(3): 458-464.
- [147] Shah JS, Sabouni R, Cayton Vaught KC, et al. Biomechanics and mechanical signaling in the ovary: a systematic review[J]. J Assist Reprod Genet, 2018, 35(7): 1135-1148.
- [148] Kawashima I, Kawamura K. Regulation of follicle growth through hormonal factors and mechanical cues mediated by Hippo signaling pathway[J]. Syst Biol Reprod Med, 2018, 64(1): 3-11.
- [149] Wang MN, Dai ML, Wang D, et al. The regulatory networks of the Hippo signaling pathway in cancer development[J]. J Cancer, 2021, 12(20): 6216-6230.
- [150] Zhang XR, Han T, Yan L, et al. Resumption of ovarian function after ovarian biopsy/scratch in patients with premature ovarian insufficiency[J]. Reprod Sci, 2019, 26(2): 207-213.
- [151] Simpson JL, Ory SJ. Can pregnancies be achieved in premature ovarian insufficiency? [J]. Reprod Sci, 2019, 26(2): 157-158.
- [152] Lunding SA, Pors SE, Kristensen SG, et al. Biopsying, fragmentation and autotransplantation of fresh ovarian cortical tissue in infertile women with diminished ovarian reserve [J]. Hum Reprod, 2019, 34(10): 1924-1936.
- [153] 许冰心. 机械刺激在体小鼠早衰卵巢激活休眠卵泡的实验研究[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2020.
- [154] 孙晖. FHL2 基因对小鼠卵泡发育及繁殖力的调控作用及机制研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2021.
- [155] Barretta M, Cacciottola L, Hossay C, et al. Impact of human ovarian tissue manipulation on follicles: evidence of a potential first wave of follicle activation during fertility preservation procedures[J]. J Assist Reprod Genet, 2023, 40(12): 2769-2776.

- [156] Xie L, Wu SN, Cao DD, et al. Huyang Yangkun formula protects against 4-Vinylcyclohexene diepoxide-induced premature ovarian insufficiency in rats via the Hippo-JAK2/STAT3 signaling pathway [J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2019, 116: 109008. doi: 10.1016/j.biopha.2019.109008.
- [157] Ernst EH, Nielsen J, Ipsen MB, et al. Transcriptome analysis of long non-coding RNAs and genes encoding paraspeckle proteins during human ovarian follicle development [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2018, 6: 78. doi:10.3389/fcell.2018.00078.
- [158] Hardy K, Mora JM, Dunlop C, et al. Nuclear exclusion of SMAD2/3 in granulosa cells is associated with primordial follicle activation in the mouse ovary [J]. *J Cell Sci*, 2018, 131(17): jcs218123. doi:10.1242/jcs.218123.
- [159] Granados-Aparici S, Hardy K, Franks S, et al. SMAD3 directly regulates cell cycle genes to maintain arrest in granulosa cells of mouse primordial follicles [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 6513. doi: 10.1038/s41598-019-42878-4.
- [160] Zhou S, Zhao D, Liu SQ, et al. TGF- β 1 sustains germ cell cyst reservoir via restraining follicle formation in the chicken [J]. *Cell Biol Int*, 2020, 44(3): 861-872.
- [161] Kim KH, Kim EY, Kim GJ, et al. Human placenta-derived mesenchymal stem cells stimulate ovarian function via miR-145 and bone morphogenetic protein signaling in aged rats [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1): 472. doi:10.1186/s13287-020-01988-x.
- [162] Kim KH, Lee KA. Metabolic rewiring by human placenta-derived mesenchymal stem cell therapy promotes rejuvenation in aged female rats [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(1): 566. doi:10.3390/ijms23010566.
- [163] Mantawy EM, Said RS, Abdel-Aziz AK. Mechanistic approach of the inhibitory effect of chrysin on inflammatory and apoptotic events implicated in radiation-induced premature ovarian failure: emphasis on TGF- β /MAPKs signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109: 293-303. doi: 10.1016/j.biopha.2018.10.092.
- [164] Wang JJ, Tian Y, Li MH, et al. Single-cell transcriptome dissection of the toxic impact of di (2-ethylhexyl) phthalate on primordial follicle assembly [J]. *Theranostics*, 2021, 11(10): 4992-5009.
- [165] Zhang XD, Zhang WB, Wang ZJ, et al. Enhanced glycolysis in granulosa cells promotes the activation of primordial follicles through mTOR signaling [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(1): 87. doi: 10.1038/s41419-022-04541-1.
- [166] Madsen JF, Ernst EH, Amoushahi M, et al. Dorsomorphin inhibits AMPK, upregulates Wnt and Foxo genes and promotes the activation of dormant follicles [J]. *Commun Biol*, 2024, 7(1): 747. doi:10.1038/s42003-024-06418-9.
- [167] 刘亚敏, 张明昊, 王瑾瑾, 等. 四物汤通过激活 LKB1/AMPK 通路对多囊卵巢综合征大鼠的改善作用 [J]. *中药新药与临床药理*, 2023, 34(7): 895-903.
- LIU Yamin, ZHANG Minghao, WANG Jinjin, et al. Ameliorative effect of Siwu Decoction on polycystic ovary syndrome in rats through activation of LKB1/AMPK pathway [J]. *Traditional Chinese Drug Research & Clinical Pharmacology*, 2023, 34(7): 895-903.
- [168] Zhang Y, Mu XY, Gao RF, et al. Foetal-neonatal exposure of di (2-ethylhexyl) phthalate disrupts ovarian development in mice by inducing autophagy [J]. *J Hazard Mater*, 2018, 358: 101-112. doi:10.1016/j.jhazmat.2018.06.042.
- [169] Huang CC, Chou CH, Yang YS, et al. Metformin: a novel promising option for fertility preservation during cyclophosphamide-based chemotherapy [J]. *Mol Hum Reprod*, 2021, 27(1): gaaa084. doi:10.1093/molehr/gaaa084.
- [170] Hernández-Ramírez LC, Trivellin G, Stratakis CA. Cyclic 3', 5'-adenosine monophosphate (cAMP) signaling in the anterior pituitary gland in health and disease [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2018, 463: 72-86. doi:10.1016/j.mce.2017.08.006.
- [171] Wang YJ, Teng Z, Li G, et al. Cyclic AMP in oocytes controls meiotic prophase I and primordial folliculogenesis in the perinatal mouse ovary [J]. *Development*, 2015, 142(2): 343-351.
- [172] Dey S, Brothag C, Vijayaraghavan S. Signaling enzymes required for sperm maturation and fertilization in mammals [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2019, 7: 341. doi:10.3389/fcell.2019.00341.
- [173] Liu JC, Yan ZH, Li B, et al. Di (2-ethylhexyl) phthalate impairs primordial follicle assembly by increasing PDE3A expression in oocytes [J]. *Environ Pollut*, 2021, 270: 116088. doi: 10.1016/j.envpol.2020.116088.
- [174] Madsen JF, Amoushahi M, Choi CP, et al. Inhibition of phosphodiesterase PDE8B reduces activation of primordial follicles in mouse ovaries [J]. *Mol Reprod Dev*, 2023, 90(6): 378-388.

- [175] Kuai YR, Gao XB, Yang HX, et al. Pentachloronitrobenzene alters progesterone production and primordial follicle recruitment in cultured granulosa cells and rat ovary[J]. *Biol Reprod*, 2020, 102(2): 511-520.
- [176] Rossi V, Lispi M, Longobardi S, et al. LH prevents cisplatin-induced apoptosis in oocytes and preserves female fertility in mouse[J]. *Cell Death Differ*, 2017, 24(1): 72-82.
- [177] Zhao LX, Ge YH, Li JB, et al. M1 muscarinic receptors regulate the phosphorylation of AMPA receptor subunit GluA1 via a signaling pathway linking cAMP-PKA and PI3K-Akt[J]. *FASEB J*, 2019, 33(5): 6622-6631.
- [178] Yang Y, Xiang P, Chen Q, et al. The imbalance of PGD2-DPs pathway is involved in the type 2 diabetes brain injury by regulating autophagy[J]. *Int J Biol Sci*, 2021, 17(14): 3993-4004.
- [179] Bertoldo MJ, Cheung MY, Sia ZK, et al. Non-canonical cyclic AMP SMAD1/5/8 signalling in human granulosa cells[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2019, 490: 37-46. doi:10.1016/j.mce.2019.04.003.
- [180] Zhao LD, Jin YH, Donahue K, et al. Tissue repair in the mouse liver following acute carbon tetrachloride depends on injury-induced Wnt/ β -catenin signaling[J]. *Hepatology*, 2019, 69(6): 2623-2635.
- [181] Bothun AM, Woods DC. Dynamics of WNT signaling components in the human ovary from development to adulthood[J]. *Histochem Cell Biol*, 2019, 151(2): 115-123.
- [182] Chen J, Liu WM, Lee KF, et al. Overexpression of Lin28a induces a primary ovarian insufficiency phenotype via facilitation of primordial follicle activation in mice[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2022, 539: 111460. doi:10.1016/j.mce.2021.111460.
- [183] Habara O, Logan CY, Kanai-Azuma M, et al. WNT signaling in pre-granulosa cells is required for ovarian folliculogenesis and female fertility[J]. *Development*, 2021, 148(9): dev198846. doi:10.1242/dev.198846.
- [184] Ford EA, Frost ER, Beckett EL, et al. Transcriptomic profiling of neonatal mouse granulosa cells reveals new insights into primordial follicle activation[J]. *Biol Reprod*, 2022, 106(3): 503-514.
- [185] Yang LJ, Zhou M, Huang LB, et al. Zearalenone-promoted follicle growth through modulation of wnt-1/ β -catenin signaling pathway and expression of estrogen receptor genes in ovaries of postweaning piglets[J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66(30): 7899-7906.
- [186] Almeida JZ, Lima LF, Vieira LA, et al. 5-Fluorouracil disrupts ovarian preantral follicles in young C57BL/6 mice[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2021, 87(4): 567-578.
- [187] Chen C, Li S, Hu C, et al. Protective effects of puerarin on premature ovarian failure via regulation of Wnt/ β -catenin signaling pathway and oxidative stress[J]. *Reprod Sci*, 2021, 28(4): 982-990.
- [188] El-Derany MO, Said RS, El-Demerdash E. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells reverse radiotherapy-induced premature ovarian failure: emphasis on signal integration of TGF- β , Wnt/ β -catenin and hippo pathways[J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2021, 17(4): 1429-1445.
- [189] Egan SE, St-Pierre B, Leow CC. Notch receptors, partners and regulators; from conserved domains to powerful functions[J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 1998, 228: 273-324. doi:10.1007/978-3-642-80481-6_11.
- [190] 梁夏, 潘泽政, 叶海峰, 等. Notch 信号通路参与卵巢生殖干细胞的调控及卵巢的衰老进程[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2019, 35(4): 428-435. LIANG Xia, PAN Zezheng, YE Haifeng, et al. The Notch signaling pathway is involved in the regulation of ovarian germline stem cells and the aging process of ovaries[J]. *China Industrial Economics*, 2019, 35(4): 428-435.
- [191] Feng YM, Liang GJ, Pan B, et al. Notch pathway regulates female germ cell meiosis progression and early oogenesis events in fetal mouse[J]. *Cell Cycle*, 2014, 13(5): 782-791.
- [192] Wang LQ, Liu JC, Chen CL, et al. Regulation of primordial follicle recruitment by cross-talk between the Notch and phosphatase and tensin homologue (PTEN)/AKT pathways[J]. *Reprod Fertil Dev*, 2016, 28(6): 700-712.
- [193] Wang ZP, Niu WB, Wang YJ, et al. Follistatin288 regulates germ cell cyst breakdown and primordial follicle assembly in the mouse ovary[J]. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0129643. doi:10.1371/journal.pone.0129643.
- [194] Chen LJ, Zhang NN, Zhou CX, et al. Gm364 coordinates MIB2/DLL3/Notch2 to regulate female fertility through AKT activation[J]. *Cell Death Differ*, 2022, 29(2): 366-380.
- [195] Hughes CHK, Smith OE, Meinsohn MC, et al. Steroidogenic factor 1 (SF-1; Nr5a1) regulates the formation of the ovarian reserve[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2023, 120(32): e2220849120. doi: 10.1073/pnas.2220849120.