

化疗引起原始卵泡过度激活的机制及相关治疗的新进展

陶欢,王淑军,查庆兵

(暨南大学附属第一临床医学院临床医学检验中心,广东广州510000)

摘要 女性在胚胎时期就已确定了反映卵巢储备功能的原始卵泡的数量,这对女性在育龄时期起着不可忽视的作用。随着癌症年轻化,许多女性在育龄期遭受了癌症与化疗的打击。因此,原始卵泡的激活与休眠的调节途径变的至关重要。当原始卵泡受到干扰时,引起原始卵泡异常的过度激活,最后导致女性卵巢早衰(POF)。本文就化疗引起原始卵泡的过度激活的原因做出了概述,为女性化疗后的不孕症治疗提供了新的视野。并概述了聚焦在原始卵泡层面上的治疗方法,为女性的不孕不育提供了更多的选择。

关键词 原始卵泡;过度激活;化疗;卵巢早衰

中图分类号:R321.1 文献标识码:A 文章编号:2095-9664(2024)02-0069-06

New development of hyperactivation of primordial follicles induced by chemotherapy and the new progress of related treatment

TAO Huan, WANG Shujun, ZHA Qingbing

(Department of medical detection, First Hospital, Jinan University, Guangzhou 510000, Guangdong, China)

Corresponding author: ZHA Qingbing, Email: zhaqingbb@sina.com

原始卵泡是卵巢的基本单位,女性的生殖寿命主要取决于卵巢库中的原始卵泡的数量。因此原始卵泡的过度激活将会导致卵巢早衰(premature ovarian failure, POF)^[1-2]、卵巢功能不全、排卵失败、卵泡发育迟缓等疾病,最后导致不孕不育的发生。由于癌症年轻化、环境、社会压力的增加等POF的发病率呈上升趋势。人群中发病率为1%~2%^[3] 目前已有报道称接受化疗的女性癌症患者卵巢功能受到不同程度损伤^[4]。因此,本文就化疗和原始卵泡激活的影响和防治的研究进展进行概述。同时作为一种干预手段以保持卵巢的储备,以便我们可以为那些面临早期生育能力丧失的人提供解决方案。

1 原始卵泡的激活

人的一生中,大约有300~400个卵子能够完全

发育^[5],并能够顺利地排出。这些卵子历经生殖干细胞、原始卵泡,最终生长为成熟卵泡。但原始卵泡的数量是有限的,随着每一次招募排卵,原始卵泡都相应的减少。在青春期前,生殖干细胞向原始卵泡生长的过程始终受到限制,进入青春期后原始卵泡开始向初级卵泡、次级卵泡、成熟卵泡发育,并进行周期性的排卵。但并不是每一个原始卵泡都能够顺利的发育为成熟的卵泡,由于化疗、炎症、药物、免疫等因素使原始卵泡在发育的过程中卵泡发生凋亡、闭锁;最后仅少量卵泡能达到排卵前阶段进行顺利排卵。为实现规律的排卵周期,以渐进的方式增加了不孕率,直到卵巢库耗尽。有研究者提出,原始卵泡在被激活的过程中原始卵泡的激活、颗粒细胞的分化、卵巢的内环境和原始卵泡周围的微环境三个方面是相互影响的^[6]。无论哪一个因素发生变化,都会使原始卵泡发生耗损。最终导致女

性生殖功能的下降。而女性的生殖寿命主要取决于卵巢库中的原始卵泡的数量,原始卵泡库的损失耗是POF的主要原因^[7]

2 化疗引起原始卵泡过度激活的机制

2.1 顺铂通过PTEN-PI3K-AKT-FOXO3a信号通路加速卵泡激活

化疗后POF的风险取决于多种因素,某些化疗方案的不良反应是巨大的。目前市面上最常见的化疗药物顺铂、环磷酰胺和阿霉素等不仅诱导原始卵泡加速激活,同时它们还损伤卵泡的间质以及影响卵泡内环境^[8]。目前关于化疗药物对卵巢影响的具体机制有很多研究,顺铂作为抗癌一线用药,通过PTEN-PI3K-AKT-FOXO3a诱导卵泡激活,细胞内重要生存信号转导通路磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(PI3K/AKT),通过调节下游众多效应蛋白的活性,发挥抗凋亡、促增殖的作用。PI3k/AKT信号通路对卵巢肿瘤的形成和卵泡的生长起着重要作用,过度刺激导致原有的卵泡提前成熟,并加速其衰老。研究人员在卵子内部敲除了丙酮酸脱氢酶激酶1,导致PI3K信号通路的抑制,并造成大量的原始卵泡丢失^[9]。而PTEN作为全身广泛表达的抑癌基因,存在于细胞质中通过磷酸酶活性抑制细胞周期进程;调节磷脂酰肌醇-3,4,5-三磷酸(PIP3)的细胞内水平,通过催化肌醇环的去磷酸化,此功能抵消生长刺激PI3K/AKT信号通路的活性,从而抑制增殖。因此,在PTEN缺陷小鼠中,原始卵泡不能被抑制,被阻止进入休眠,最后导致卵泡被过度激活^[10]。随后,AKT被PDK1激活使其磷酸化,激活的AKT向核内转移使FOXO3a从卵泡核转移至卵泡质,FOXO3a过度磷酸化^[11]。FOXO3a属于叉形头转录因子的O亚型,在抑制细胞周期进程中发挥核心作用^[12]。在FOXO3a突变的小鼠中,卵泡过度激活在卵巢中表现明显^[13],当进行化学药物治疗时,发育中的卵泡受到干扰,原始卵泡休眠的抑制物急速下降,加速了原始卵泡的招募,这也导致卵巢库中的原始卵泡被过度激活以补充被化疗干扰的卵泡,最终卵巢库中的卵泡被丢失。近几年的研究验证了这一点,与对照组比较,化疗组小鼠和培养的人类卵巢组织中的原始卵泡被过度活化,且抗缪勒氏管激素(Anti-Mullerian hormone, AMH)激素水平降低^[14]。临床研究上Gracia等人进行了一项前瞻性队列研究,目的是观察接受化疗的育龄期妇女与未接

受化疗的同龄健康妇女的卵巢储备是否存在差异。结果显示与对照组相比,接受化疗组的卵巢储备标志物大大减低^[15]。研究提示,与年轻女性相比,诊断为乳腺癌的女性随着年龄的增长在烷基化药物化疗后闭经的发生率更高。除此之外,这些患者的卵巢储备标志物也大大降低,这表明化疗对生育能力是有影响的^[16]。综上所述提示PTEN与FOXO3a可抑制原始卵泡激活,阻止了大量休眠期原始卵泡进入生长周期,降低了卵泡过度消耗。

2.2 环磷酰胺调控颗粒细胞凋亡增加卵泡闭锁

但卵巢细胞对不同类型的药物有不同的敏感性,Meirow等^[17]调查发现接受烷化剂治疗后的年轻女性患者发生卵巢早衰的概率大约42%。实验研究发现烷基化剂环磷酰胺治疗的小鼠伴有早期卵泡与原始卵泡比例的增加。原始卵泡凋亡和早期卵泡数量的显著增加,引起加速自噬过度激活,增加颗粒细胞的自噬及死亡,加速原始卵泡衰竭和卵泡闭锁;表明环磷酰胺过早地诱导原始卵泡进入生长卵泡池,最终导致卵巢储备迅速下降^[14]。在卵泡的早期,大量研究表明环磷酰胺暴露与卵泡闭锁和颗粒细胞的凋亡有关,生长中的卵泡暴露于环磷酰胺,特别在早期阶段,可能与胚胎的异常和怀孕后期畸形的下一代有关。低氧诱导因子-1(hypoxia inducible factor-1, HIF-1)是一种具有转录活性的核蛋白;在机体对低氧浓度或缺氧反应中至关重要,在环磷酰胺诱导的小鼠中HIF-1的蛋白表达量显著升高^[18]。病理性的缺氧大大降低了大鼠卵巢储备,损害了大鼠卵泡发育,同时加速了颗粒细胞活性氧的产生和衰老。同时,早期的POF可能与化疗剂量有关。在环磷酰胺造模的小鼠中,随着环磷酰胺剂量的增加,原始卵泡逐渐被活化排出,卵泡库的损失也逐渐地增加^[19]。然而,当Bax、PARP等凋亡相关蛋白过表达、抗凋亡蛋白下降时,这就会导致卵泡出现闭锁,细胞出现凋亡,最终卵巢丧失功能。在实验动物中,环磷酰胺诱导的卵巢早衰表现出相似的结果,其中表现在Bcl-2的表达下降,Bax、caspase-3的表达增加。这些作用共同诱导卵泡颗粒细胞的凋亡以增加卵泡的闭锁。卵巢早衰的程度和不孕不育的风险取决于化疗药物的剂量和类型,且与女性接受治疗时的年龄有关^[20]。但是,目前的研究主要是采用监测卵巢储备标志物和观察原始卵泡或颗粒细胞的数量来确定卵巢受损的程度,这是本研究的主要局限性。且缺少对化疗引起

的卵巢早衰与年龄之间差异的解释。除此之外,本研究仅限于啮齿小鼠动物数据,是否能在人类身上观察到相同的数据还有待考究。

2.3 阿霉素直接抑制DNA合成致细胞凋亡

阿霉素是一类有细胞毒性的蒽环类抗生素,常用作肿瘤化疗剂。作为蒽环类广谱化疗药物,目前公认的机制是抑制核酶拓扑异构酶II;抑制DNA片段的合成,最终诱导细胞凋亡或自噬。相关研究发现阿霉素造模后的小鼠,卵巢的损伤以凋亡为主,主要表现在荧光Tunel染色阳性表达率增加^[21]。此外,阿霉素也刺激氧自由基和其他活性氧的产生,并导致线粒体肿胀,失去相应的功能。自由基的产生和线粒体损伤都对细胞代谢和膜完整性产生负面影响,且对卵巢微血管以及卵巢间质组织的损伤也是加剧的^[22]。阿霉素不仅引起卵巢激素分泌受损,且它对子宫也产生潜在的影响^[23]子宫能正常发挥功能主要受卵巢激素的控制;且子宫对于胚胎的着床至关重要,由于阿霉素扰乱卵巢的激素分泌,间接改变了子宫对激素的应答。因此阿霉素可能会潜在地影响子宫对胚胎着床成功率,但具体的机制尚不清楚。最近研究者也提出阿霉素通过激活PI3K通路诱导原始卵泡激活,但该说法还只观察到初步的迹象。

2.4 多重耐药加速卵泡的过度丢失

众所周知,化学药物可以通过体内的血管到达全身范围进行治疗,因此成为临床上常用的治疗手段之一。上面我们已经提到了临床上常用的三种化疗药物对卵巢的损伤,这里就不得不提多药耐药给化疗进程和女性的卵巢所带来治疗的限制与预后的严重的问题。

2015年Huser等^[24]对霍奇金病人开展了联合药物的试验。目的是研究联合药物对癌症病人的生殖功能是否有保护效果。他们共采集了108例霍奇金病人,把这108例病人按照目前采用的化疗方法的不同分成了三组,并在对他们进行化疗药物治疗的同时给予促性腺激素及其类似物的药物。根据FSH水平和怀孕成功率作为对生殖功能的主要评估指标,研究结果表明各种与化学治疗的结合使用的方法会导致由化疗用药所引起的卵巢早衰的发病率大幅上升。国外一项研究^[25]为了探究化疗药物对卵巢原始卵泡和卵巢储备的影响。通过对已采集到的26例患者正准备进行卵巢体外冷冻保存以保留卵巢生育功能的病人进行了研究,其中十例曾

进行过全身化疗,其余16例尚未进行过化疗。在除了年龄等相关因素后,研究结果显示与尚未进行化疗组的相比,曾进行过化疗组的十例病人卵巢中原始卵泡数量显著下降。今年,有研究团队发现对不同的卵巢癌细胞系使用化疗药物顺铂和紫杉醇处理后,与对照组相比,化疗组中的卵泡抑制素(FST)增加了10~72倍。他们的结论是化疗药物通过激活NFATC4转录因子,使处于G₀期静止态的卵巢癌细胞分泌大量卵泡抑制素,从而促进周围肿瘤细胞耐药^[26]。目前,虽然化疗带来的副作用影响很大,但对于存在手术禁忌证或因为各种原因不能手术的患者来说,化疗对这些癌症患者仍是不可缺少的治疗方式之一。若能解决耐药和对女性生殖系统带来的创伤将大大改善患者的预后。

2.5 卵巢血管的损伤引起原始卵泡耗竭

卵泡发育和凋亡都是极其依赖于卵巢周围血管的生成。卵巢中,血管不仅是氧气、营养物质的传输中介,更是各种激素和蛋白传递的中间角色^[27]。但卵巢中各级卵泡的血管系统分布不均匀^[28],原始卵泡因不具有独立的血管,主要依赖于它们与间质血管的接近^[22]。虽然没有明确的证据证明血管的损伤与化疗的直接关系。但有学者在研究中提出卵泡液中血管内皮生长因子A(VEGF-A)和E₂水平之间存在相关性这一说法,且这一说法与高水平的VEGF-A加快了生长卵泡到排卵这一过程的观点相同^[29]。因此,当化疗引起E₂下降时,由于正反馈使得VEGF-A水平降低,原始卵泡周围少量的血管供血在原有的基础上供血进一步减少。另一方面化疗在引起激素下降的同时可导致卵巢的应激反应,引起卵巢血管的痉挛,从而导致卵巢供血、供氧急速下降。持续、重度的缺氧,会激活凋亡、坏死和自噬等多种细胞死亡途径;供氧的来源的切断大大降低了大鼠的卵巢储备,影响了大鼠卵泡的发育,加速了卵泡颗粒细胞、卵泡活性氧的产生和衰老。最后的结果是DNA损伤和卵泡的减少。且有研究者发现暴露在环磷酸胺代谢产物磷酰胺芥末(PM)治疗后的小鼠的卵巢的血流量大幅度减少。Bar-Joseph等观察到给予阿霉素后的体内血流监测提示卵巢血容量急剧下降,卵巢的小血管收缩、痉挛^[30]。此外,血管损伤和卵巢皮质的纤维化是化疗诱导卵巢损伤的其他机制。因此,卵巢血管损伤可能是化疗减少原始卵泡数量的间接机制。另一项研究^[31]采用人卵巢组织在多孔板中用阿霉

素和无菌生理盐水进行培养24~72 h。最后发现,阿霉素相比生理盐水组,人卵巢组织血管密度呈现急速降低,这表明化疗可诱导卵巢血管和间质的异常。这些结果与其他研究者的结果相符^[32]。虽然证明化疗引起的损伤和血管的异常有直接的关系是困难的,但在近期的一项研究中,发现随着卵巢血管密度的降低,原始卵泡呈现上升的趋势,两者呈负相关^[31]。他们的结论是原始卵泡的发育生长是不依赖卵巢间质的血液灌注,但基于卵巢组织移植的临床经验中并不赞同这一观点^[33]。由于缺血缺氧的应激引起卵泡中大量的颗粒细胞的损伤,且另一项研究中清楚地验证了原始卵泡是依靠于健康的血管来维持卵泡的寿命的^[33]。因此,卵巢血管损伤可能是化疗减少原始卵泡数量的间接机制。

2.6 化疗产生的炎性物质激活氧化应激诱导原始卵泡激活

氧化应激可以被定义为一系列的生理反应,其中包括氧化和抗氧化的平衡。若卵巢长期处于炎症的微环境可导致病理性损伤,其中包括原始卵泡的发育异常、卵泡颗粒细胞凋亡等,最后的结果是POF。外在的条件如:温度、天气、心情、生病、重大创伤事故等都会使机体长期处于应激状态。化疗在体内产生的代谢炎症物质不断刺激细胞内ROS的产生^[34],卵巢不断被刺激且长期处于应激的微环境,让卵巢处于不利的环境。近几年的研究主张氧化应激与POF之间有着密切的联系,研究人员观察到顺铂造模后的大鼠血清中丙二醛(MDA)含量升高,超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)下降;且促卵泡生长激素(FSH)、黄体生成素(LH)升高, E_2 降低,该结果符合卵巢早衰的诊断标准^[35]。另一项研究发现甲氨蝶呤(MTX)作为抗叶酸类抗肿瘤药在发挥药理作用的同时也会使NADPH和抗氧化酶下降,并诱导线粒体肿胀、溶解,诱导卵巢进入应激状态,从而导致卵母细胞成熟障碍^[36]。在炎症反应与化疗的作用下,卵泡走向闭锁、凋亡,卵巢最终提前走向早衰。

3 利用原始卵泡激活防治卵巢早衰

原始卵泡的急速下降可能是由于化疗药物发挥作用的同时干扰正处于减数分裂中的卵母细胞,导致卵母细胞排卵周期停滞,甚至引起卵泡的闭锁;因此卵巢中各个阶段的卵泡数量减少。此时卵泡库中收到指令,从卵泡的休眠池中释放大量的原

始卵泡进行下一次的周期发育。随着每一次化疗疗程的治疗,都会重复以上过程,使得原始卵泡被阻止进入休眠,提前被过度激活。随着癌症的年轻化,目前放疗的治疗手段都是大有成效的,但卵巢卵泡对化疗和放疗极为敏感,因此抗癌治疗经常导致卵巢早衰和不孕。保护女性生育能力的治疗主要集中在卵巢组织、卵母细胞和胚胎的冷冻保存。但冷冻保存针对的是生育功能,对保护卵巢本身并没有实际的保护作用。最好的方法是用免疫抑制剂或物理疗法让卵巢免受化疗的药理损伤。雷帕霉素是一种有效的联合用药,它可以阻断环磷酸胺对原始卵泡的刺激,从而有效地保护卵巢的休眠状态,这一机制是由PI3K-Akt-mTOR信号通路实现的。卵巢冷冻、中西医治疗、激素药物的联合使用等治疗都可供选择,但这些治疗方式还应在临床环境中得到验证。保存生育能力在很大程度上得益于辅助生殖技术,如体外受精。Kawamura等^[37]通过手术卵巢碎裂,破坏卵巢的Hippo信号通路,加速下游生长因子水平增加,随后进行Akt治疗并对破碎的卵巢进行自体移植以诱导原始卵泡生长。最后将诱导成功的原始卵泡进行体外受精以及胚胎移植,最终得到了一个健康的婴儿。当卵巢受到物理损伤时,Hippo通路信号中断,下游效应因子yes相关癌蛋白(YAP)磷酸化降低,引起YAP核水平上升。YAP和转录辅激活因子与细胞骨架蛋白协同作用后,被滞留在胞质内,从而降低它的转录作用;后使用药物治疗以刺激Akt信号,使得卵泡生长迅速,从而达到治疗不孕症的目的。此种物理治疗很大程度解决了化疗后导致失去生育功能的卵巢。但后期还需要大量的临床数据去支撑。

4 小结和展望

综上所述,化疗对女性患者生育功能的毒性作用影响着卵泡的发育,其中包括是原始卵泡的过度激活耗损、卵泡成熟障碍、颗粒细胞凋亡等,女性的生育能力受到严重损害,最终导致POF。这对她们的生殖健康和社会稳定都构成了威胁。POF对长期身体的健康后果可能负面的,但当患者被诊断为POF时,其次要诊断可能是心理方面的疾病。因此,不断深入了解POF的发病机制能更好地指导我们预防卵巢早衰及生殖相关疾病。卵巢早衰的治疗方法很局限,聚焦在保护原始卵泡的层面上以达到保护卵巢的储备功能,这是一个干预早期卵巢早衰

的珍贵机会。但我们发现很多的文献中所提到的各种治疗方法,若要从实验室推广到临床上使用,却有很大的不确定性和不安全性。要在化疗发挥药效的基础上防治它所带来的副作用,这本身就需要我们进行大量、更深层次的实验和临床实验。临床上使用的化疗药物种类繁多,不同种类的化疗药物有各自的优点缺点;且它们损伤所涉及的分子机制也不同。这也就给我们带来很多困难,这就是为什么很多保护剂只能被证明只对具体的一方面具有防治作用,而不是全方位的保护。本文讨论的化疗、原始卵泡激活过程信号通路和卵巢防治研究将为临床上治疗相关疾病提供诊疗思路。

参考文献

- [1] Menezes C, Pravata GR, Yela DA, et al. Women with premature ovarian failure using hormone therapy do not experience increased levels of depression, anxiety and stress compared to controls [J]. *J Affect Disord*, 2020, 273:562-566.
- [2] Lliberos C, Liew SH, Zareie P, et al. Evaluation of inflammation and follicle depletion during ovarian ageing in mice[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1):278.
- [3] Bedoschi G, Navarro PA, Oktay K. Chemotherapy - induced damage to ovary: mechanisms and clinical impact[J]. *Future Oncol*, 2016, 12(20):2333-2344.
- [4] 孙萍,王智慧,张琪,等. 化疗性卵巢早衰的中西医结合防治研究[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2021, 27(11): 1838-1842.
- [5] Wang S, Zheng Y, Li J, et al. Single-Cell Transcriptomic Atlas of Primate Ovarian Aging[J]. *Cell*, 2020, 180(3): 585-600.
- [6] 张华,代燕丽,张佳伟. 原始卵泡的激活与临床应用[J]. *山东大学学报:医学版*, 2018, 56(4):8-17.
- [7] 毛菁沁,冒韵东. 原始卵泡激活与卵泡发育相关机制的研究进展[J]. *国际生殖健康/计划生育杂志*, 2020, 39(3):225-228.
- [8] Ibrahim MA, Albahlol IA, Wani FA, et al. Resveratrol protects against cisplatin - induced ovarian and uterine toxicity in female rats by attenuating oxidative stress, inflammation and apoptosis [J]. *Chem Biol Interact*, 2021, 338:109402.
- [9] Liu M, Qiu Y, Xue Z, et al. Small extracellular vesicles derived from embryonic stem cells restore ovarian function of premature ovarian failure through PI3K/AKT signaling pathway [published correction appears in *Stem Cell Res Ther*. 2023 Sep 29; 14(1):276][J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1):3.
- [10] Nagamatsu G. Regulation of primordial follicle formation, dormancy, and activation in mice [J]. *J Reprod Dev*, 2021, 67(3):189-195.
- [11] Lee HN, Chang EM. Primordial follicle activation as new treatment for primary ovarian insufficiency [J]. *Clin Exp Reprod Med*, 2019, 46(2):43-49.
- [12] Wang L, Huang Y, Huang CH, et al. A Marine Alkaloid, Ascomylactam A, Suppresses Lung Tumorigenesis via Inducing Cell Cycle G1/S Arrest through ROS/Akt/Rb Pathway[J]. *Mar Drugs*, 2020, 18(10):494.
- [13] Nie Z, Zhang L, Chen W, et al. The protective effects of pretreatment with resveratrol in cyclophosphamide - induced rat ovarian granulosa cell injury: In vitro study [J]. *Reprod Toxicol*, 2020, 95:66-74.
- [14] Zhou L, Xie Y, Li S, et al. Rapamycin Prevents cyclophosphamide-induced Over-activation of Primordial Follicle pool through PI3K/Akt/mTOR Signaling Pathway in vivo[J]. *J Ovarian Res*, 2017, 10(1):56.
- [15] Gracia CR, Sammel MD, Freeman E, et al. Impact of cancer therapies on ovarian reserve [J]. *Fertil Steril*, 2012, 97(1):134-40. e1.
- [16] D'Avila ÂM, Biolchi V, Capp E, et al. Age, anti-müllerian hormone, antral follicles count to predict amenorrhea or oligomenorrhea after chemotherapy with cyclophosphamide [J]. *J Ovarian Res*, 2015, 8:82.
- [17] Meirou D, Lewis H, Nugent D, et al. Subclinical depletion of primordial follicular reserve in mice treated with cyclophosphamide: clinical importance and proposed accurate investigative tool [J]. *Hum Reprod*, 1999, 14(7):1903-1907.
- [18] Zhu F, Gao J, Zeng F, et al. Hyperoside protects against cyclophosphamide induced ovarian damage and reduced fertility by suppressing HIF - 1 α /BNIP3 - mediated autophagy[J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 156:113743.
- [19] Oubiña G, Pascual N, Scotti L, et al. Local application of low level laser therapy in mice ameliorates ovarian damage induced by cyclophosphamide [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2021, 531:111318.
- [20] Kerr JB, Hutt KJ, Cook M, et al. Cisplatin-induced primordial follicle oocyte killing and loss of fertility are not prevented by imatinib [J]. *Nat Med*, 2012, 18(8): 1170-1172.
- [21] Roti Roti EC, Ringelstetter AK, Kropp J, et al. Bortezomib prevents acute doxorubicin ovarian insult and follicle demise, improving the fertility window and pup birth weight in mice[J]. *PLoS One*, 2014, 9(9):e108174.

- [22] Tang D, Feng X, Ling L, et al. Experimental study for the establishment of a chemotherapy - induced ovarian insufficiency model in rats by using cyclophosphamide combined with busulfan [J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2021, 122: 104915.
- [23] Andersen CL, Liu M, Wang Z, et al. Chemotherapeutic agent doxorubicin alters uterine gene expression in response to estrogen in ovariectomized CD-1 adult mice [J]. *Biol Reprod*, 2019, 100(4): 869-871.
- [24] Huser M, Smardova L, Janku P, et al. Fertility status of Hodgkin lymphoma patients treated with chemotherapy and adjuvant gonadotropin -releasing hormone analogues [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2015, 32(8): 1187-1193.
- [25] Oktem O, Oktay K. Quantitative assessment of the impact of chemotherapy on ovarian follicle reserve and stromal function [J]. *Cancer*, 2007, 110(10): 2222-2229.
- [26] Cole AJ, Panesso-Gómez S, Shah JS, et al. Quiescent Ovarian Cancer Cells Secrete Follistatin to Induce Chemotherapy Resistance in Surrounding Cells in Response to Chemotherapy [J]. *Clin Cancer Res*, 2023, 29(10): 1969-1983.
- [27] Devesa J, Caicedo D. The Role of Growth Hormone on Ovarian Functioning and Ovarian Angiogenesis [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2019, 10: 450.
- [28] 魏小晶, 段恒, 唐立明, 等. 右归丸通过调节 CXCL8/CXCR1/2 信号通路及 Ang-1, Ang-2 表达促进大鼠卵巢血管生成的作用 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(1): 50-57.
- [29] 张莉, 王艳清, 袁梦琴, 等. 卵巢癌细胞上清液对血管内皮细胞增殖、迁移和管形成能力的影响 [J]. *武汉大学学报(医学版)*, 2021, 42(2): 277-281.
- [30] Bar-Joseph H, Ben-Aharon I, Tzabari M, et al. In vivo bioimaging as a novel strategy to detect doxorubicin - induced damage to gonadal blood vessels [J]. *PLoS One*, 2011, 6(9): e23492.
- [31] Soleimani R, Heytens E, Darzynkiewicz Z, et al. Mechanisms of chemotherapy - induced human ovarian aging: double strand DNA breaks and microvascular compromise [J]. *Aging (Albany NY)*, 2011, 3(8): 782-793.
- [32] Marcello MF, Nuciforo G, Romeo R, et al. Structural and ultrastructural study of the ovary in childhood leukemia after successful treatment [J]. *Cancer*, 1990, 66(10): 2099-2104.
- [33] Oktay K, Bedoschi G, Pacheco F, et al. First pregnancies, live birth, and in vitro fertilization outcomes after transplantation of frozen - banked ovarian tissue with a human extracellular matrix scaffold using robot - assisted minimally invasive surgery [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2016, 214(1): 94. e1-94. e949.
- [34] Yan F, Zhao Q, Li Y, et al. The role of oxidative stress in ovarian aging: a review [J]. *J Ovarian Res*, 2022, 15(1): 100.
- [35] 饶晨晨, 高文雅, 陶仕英, 等. 二仙汤抗化疗性卵巢早衰氧化应激的效应观察 [J]. *湖南中医药大学学报*, 2019, 39(5): 578-583.
- [36] 郭路, 刘晓程, 顾超, 等. SIRT1-cAMP 在白藜芦醇改善小鼠卵巢储备中的作用 [J]. *复旦学报(医学版)*, 2022, 49(4): 529-536.
- [37] 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 USA*, 2013, 110(43): 17474-17479.
- [38] Zhang Z, Schlamp F, Huang L, et al. Inflammaging is associated with shifted macrophage ontogeny and polarization in the aging mouse ovary [J]. *Reproduction*, 2020, 159(3): 325-337.
- [39] 王洋, 李蓉. 卵巢储备功能减退患者助孕治疗策略 [J]. *实用妇产科杂志*, 2021, 37(10): 734-736.

(收稿日期: 2023-09-02)

(本文编辑: 欧阳菁)