

何瑞芬,杨永秀,梁晓磊. 卵巢储备功能减退动物模型研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2024, 32(2): 254-259.

HE R F, YANG Y X, LIANG X L. Research progress on animal models of diminished ovarian reserve [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2024, 32(2): 254-259.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2024.02.013

卵巢储备功能减退动物模型研究进展

何瑞芬¹, 杨永秀^{2*}, 梁晓磊^{2*}

(1. 兰州大学第一临床医学院, 兰州 730000;

2. 兰州大学第一医院妇产科, 甘肃省妇科肿瘤重点实验室, 兰州 730000)

【摘要】 卵巢储备功能减退(diminished ovarian reserve, DOR)由于女性卵巢内剩余的卵母细胞数量和/或质量下降,导致卵巢功能减退,是卵巢功能下降的早期阶段,包括与高龄相关的生理性 DOR 和病理因素导致的病理性 DOR。DOR 可进展为早发性卵巢功能不全、卵巢早衰,对女性健康产生深远影响,而目前仍无有效方法逆转卵巢功能衰退。人类卵巢资源的有限性和医学伦理的要求,使得必须通过建立合适的动物模型去探究卵巢功能衰退的分子机制,寻找其预测及治疗靶点。本文总结目前常用的 DOR 啮齿类动物造模方法,为相关基础研究提供参考。

【关键词】 卵巢储备;动物模型;啮齿类动物

【中图分类号】Q95-33 【文献标志码】A 【文章编号】1005-4847(2024)02-0254-06

Research progress on animal models of diminished ovarian reserve

HE Ruifen¹, YANG Yongxiu^{2*}, LIANG Xiaolei^{2*}

(1. the First Clinical Medical College of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China, China; 2. Department of Obstetrics and Gynecology, Key Laboratory for Gynecologic Oncology Gansu Province, the First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

Corresponding author: LIANG Xiaolei. E-mail: liangxl07@lzu.edu.cn; YANG Yongxiu. E-mail: yxyanglzu@163.com

【Abstract】 Diminished ovarian reserve (DOR) is associated with a reduced quantity and/or quality of retrieved oocytes, usually leading to low numbers of retrieved oocytes and poor reproductive outcomes. DOR may potentially progress to premature ovarian insufficiency and premature ovarian failure, which have adverse impacts on women's health. There is currently no effective clinical treatment to rescue ovarian function. The limited availability of human ovarian tissues and medical ethics issues mean that animal models are crucial for improving our understanding of the molecular pathogenesis of DOR and identifying preventive and therapeutic targets. This review thus aims to summarize the techniques and strategies used to establish rodent models of DOR, to provide a reference for future studies.

【Keywords】 ovarian reserve; animal model; rodent animal

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

随着女性生育年龄的推迟,肿瘤治疗生存率的提高,加之社会压力、环境污染等因素的影响,卵巢储备功能减退(diminished ovarian reserve, DOR)成

为女性寻求辅助生殖治疗的重要原因之一。DOR 是由于卵母细胞质量和/或质量的下降导致的卵巢功能不足。由于定义的不统一,DOR 的发病率约为

【基金项目】国家自然科学基金项目(81960278)。

Funded by National Natural Science Foundation of China (81960278).

【作者简介】何瑞芬,女,硕士,研究方向:卵巢储备功能减退机制研究。Email:Herflanzhou@163.com

【通信作者】梁晓磊,男,博士,副研究员,硕士生导师,研究方向:生殖内分泌疾病致病机制研究。Email:liangxl07@lzu.edu.cn;

杨永秀,女,博士,教授,博士生导师,研究方向:妇科肿瘤、妇科内分泌疾病机制研究。Email:yxyanglzu@163.com。

* 共同通信作者

10% ~ 35%^[1]。卵母细胞的质量和数量与年龄呈负相关,随着年龄增长而出现的卵巢功能下降称为生理性 DOR (physiologic DOR) 或高龄相关的 DOR (age-related DOR, AR-DOR);在生理性衰老基础上,病理因素的参与使得卵巢衰老加速而过早的发生卵巢功能下降称为病理性 DOR (pathologic DOR)^[2-3]。国内外对 DOR 的诊断尚未形成统一标准,其诊断有赖于对卵巢储备功能的评价,常用指标有抗苗勒管激素 (anti-Müllerian Hormone, AMH)、卵泡刺激素 (follicle-stimulating hormone, FSH)、窦卵泡计数 (antral follicular count, AFC)^[4]。

DOR 具有隐匿性和渐变性,可能进展为早发性卵巢功能不全 (premature ovarian insufficiency, POI)、卵巢早衰 (premature ovarian failure, POF),对女性远期健康产生影响,如因雌激素缺乏而罹患心血管疾病、骨质疏松等慢性疾病的风险增加^[5]。目前,DOR 发生的分子机制仍不清楚,多数患者的发病原因不能完全明确,建立合适的动物模型进行临床前研究,对机制探究和治疗开发尤为重要。已知卵巢功能下降与多个因素相关,如年龄、遗传、免疫、代谢、环境、生活方式,以及包括手术、放化疗在内的医源性因素等^[6]。DOR、POI、POF 的动物模型也多基于上述影响因素而建立。本文就目前报道的啮齿类动物模型建立方法进行文献汇总,以期开展相关基础研究提供参考。

1 年龄因素

随年龄增长卵母细胞的数量和质量逐渐下降,发生 AR-DOR,即卵巢的生理性老化。通过计数第 2、6、12、18 月龄雌鼠的卵泡数量,探究 C57BL/6 小鼠整个生殖周期中卵泡耗损进展,发现 2 月龄性成熟后,各级卵泡数随年龄增长均出现明显减少^[7]。有研究利用 32 周龄 (相当于人类 35 岁左右) 自然衰老的 C57BL/6 雌鼠建立了 AR-DOR 模型,与 12 周龄的对照组相比,老年雌鼠产崽数明显减少,血清 AMH、E₂ 显著下降,次级卵泡和窦卵泡数量明显减少^[3]。自然衰老模型的建立无需干预,方法简单便捷,可用于研究卵巢生理性衰老进展及抗衰老治疗等研究。

2 遗传因素

遗传是 DOR 发生的重要病因,多伴有家族史。目前发现多种基因参与 DOR 的发生,包括 FMR1、

GDF9、BMP15、BRCA1/2、AMHR2、HMGB2 等^[8]。FMR1 与卵巢功能的减退存在明显的相关性,LU 等^[9]建立了携带人 FMR1 前突变序列的转基因小鼠模型,该模型小鼠出现人类 POI 相似表型,表现为生育力降低,生长卵泡数量显著减少,血清 FSH、LH 及 17 β -E₂ 水平发生改变。该研究发现模型小鼠卵巢中 Akt 和 mTOR 蛋白的磷酸化都发生了改变,Akt/mTOR 通路可能为潜在的治疗靶点。随着现代生物技术的快速发展,遗传修饰动物模型在制作周期、费用支出及技术要求等方面已无明显劣势,对于研究特定基因在整体动物中的表达调控规律,理解疾病发生机制、预测治疗靶点具有极大促进作用,是科学研究的重点方向。

3 医源性因素

3.1 化学治疗

化疗是恶性肿瘤治疗的主要方法之一,卵巢对化疗毒性非常敏感,常导致卵巢功能损伤。利用化疗药物的生殖毒性建立卵巢损伤模型应用广泛,环磷酰胺 (cyclophosphamide, CTX) 和顺铂是临床上常用的抗肿瘤药物,可通过影响颗粒细胞和卵母细胞 DNA 合成,消耗卵巢储备,造成卵巢功能减退。环磷酰胺具有广谱抗癌作用,是常用的烷化剂代表药物之一。6 ~ 8 周龄 C57BL/6 小鼠单次腹腔注射 70 mg/kg 的 CTX,14 d 后,与对照组相比,CTX 组小鼠 FSH 水平增加 3 倍,E₂ 水平下降约 30%,原始卵泡、初级卵泡、次级卵泡分别下降约 50%、51%、66%,闭锁卵泡增加 58%^[10]。CTX 造模时剂量的选择和给药方式存在差异。在小鼠模型中,单次腹腔注射时 CTX 剂量 70 ~ 200 mg/kg,连续多次腹腔注射时常见剂量有 10、50 mg/kg 不等,连续给药 14 d 左右,也可采用首次大剂量单次注射 + 后续小剂量连续注射的方式^[11-13]。另外也有研究采用 CTX 联合白消安造模,单次腹腔注射和连续腹腔注射均可^[14-15]。该方法操作简单、耗时短、成功率高、应用广泛。

顺铂 (cisplatin) 作为单独或联合化疗的基础药物,广泛应用于多种癌症治疗。有研究探究了顺铂建立 SD 大鼠 POF 模型的最佳剂量,腹腔注射不同剂量 (0.5、1、1.5、2、3、4 mg/kg) 的顺铂,连续注射 10 d,观察大鼠的一般健康状况和卵巢功能的改变,结果显示 1.5 mg/kg 连续注射 10 d 可建立理想的 POF 大鼠模型。该研究中高剂量顺铂影响大鼠一般状况,在注射第 7 天大鼠出现进食减少,行动缓

慢,出现稀便、水样便或血便,在干预结束时只有一半的大鼠存活^[16]。

综上,化疗诱导建立卵巢功能减退模型简单易操作,模型性状稳定,成功率高,应用广泛,常用于卵巢化疗损伤机制和卵巢损伤的预防治疗等相关研究。但应注意化疗药物毒副作用严重,可影响其他系统功能,建模过程中动物容易死亡。因此,建模时需掌握合适的给药剂量及持续时间,过程中注意观察动物的一般状况变化。

3.2 放射治疗

卵巢是对射线最为敏感的器官之一,全身照射或盆腔靶向照射均可损伤卵巢卵泡,加速生殖衰老。NMRI 小鼠接受不同剂量 X 或 γ 射线(0.02、0.1、0.5、2、8 Gy)的单次全身照射,从 0.1 Gy 开始就可观察到原始卵泡的减少^[17]。全身照射同样会损害其他系统,对研究造成干扰。为此,有研究建立了靶向照射大鼠模型,该研究对盆腔照射靶区进行 CT 定位,避开重要脏器,给予单侧局部照射后,Wistar 大鼠卵巢重量减轻,动情周期和激素水平发生改变,卵泡减少,该模型对于研究放疗引起的卵巢损伤更有针对性^[18]。射线照射造模方法简单、耗时短、成功率高,对卵巢的损伤呈剂量依赖性。但对仪器设备的要求较高,靶向照射需要专业人员协助,且射线可能对实验人员存在潜在健康威胁,需要做好防护,在一定程度上限制了其广泛应用。

3.3 其他生殖毒性药物

雷公藤常用于自身免疫疾病的治疗,随着临床的广泛应用,其生殖毒性日益受到关注。大鼠腹腔注射不同剂量(25、50、75 mg/kg)的雷公藤多苷,连续注射 15 d 后,三组 SD 大鼠血清 FSH 水平增高,卵泡闭锁增加,卵泡数目减少,有剂量依赖趋势^[19]。该模型构建方法简单、耗时较短,卵巢损伤程度有剂量依赖趋势,提示可用来构建相似的 DOR 模型。

4 免疫因素

DOR 的发生与多种自身免疫疾病相关,如桥本甲状腺炎、Addison 病、类风湿关节炎、系统系红斑狼疮等。卵巢是常见的自身免疫攻击靶点,在查找 DOR 病因时自身免疫因素时常被考虑,特别是在存在抗卵母细胞抗体、自身免疫疾病或活检中出现淋巴细胞性卵巢炎时^[20]。建立免疫性 DOR 动物模型有助于探究自身免疫、炎症应答在 DOR 发生中的病理机制,寻找有效干预措施。

ZP3 是一种透明带糖蛋白,是精卵结合的初级受体。BALB/c 小鼠接种 ZP3 进行主动免疫,可导致卵巢炎症,使卵泡进行性耗竭,生育力下降,诱发卵巢功能障碍^[21]。在该模型的建立过程中,需注意 ZP3 的注射需要弗氏佐剂乳化,多选择小鼠前后足垫或尾根部皮下多点注射,根据研究需求可进行多次加强免疫。用 ZP3 建立免疫型卵巢功能下降模型,该方法技术成熟、操作相对简单、耗时较短,已广泛应用于自身免疫性 DOR/POI/POF 的相关研究中。

脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)是革兰氏阴性细菌细胞壁的主要成分,是一种有效的免疫刺激物。BALB/c 小鼠尾静脉连续注射 LPS 7 d 后,血清 FSH 浓度显著升高, E_2 浓度降低^[22]。LV 等^[23]通过腹腔注射 LPS,同样成功建立了 POI 模型,表现为 C57BL/6N 小鼠发情周期延长、原始卵泡数减少和血清激素水平改变。该研究同时评估了卵巢炎症水平,结果显示 LPS 促进 IL-1 β 的表达和产生。需要注意的是 LPS 作为重要的内毒素,可引起全身系统性炎症反应,在急性肺损伤、脓毒症等其他炎症模型中亦被经常运用。

此外,也可用小鼠自体卵巢组织进行主动免疫建立免疫型 DOR 模型,该方法需要提取卵巢组织,操作过程较为繁琐,限制了其在相关研究中应用。此外,还可采用切除胸腺的方法建立免疫型 DOR 模型。胸腺是 T 细胞分化、发育、成熟的场所,与机体免疫功能密切相关。新生小鼠切除胸腺后发生自身免疫性卵巢炎,表现为卵巢发育迟缓,卵巢萎缩,卵泡减少,导致小鼠生育力下降^[24]。但切除胸腺同时可导致其他腺体也出现自身免疫性炎症,发生免疫功能紊乱,因此该方法在单一的卵巢功能研究中的应用并不多见。

5 代谢因素

典型半乳糖血症是由于缺乏 1-磷酸-半乳糖尿苷基转移酶而导致的一种罕见的先天性半乳糖代谢障碍。POI 是半乳糖血症女性最常见的长期并发症,表现为高促性腺激素性、低雌激素性不孕^[25]。利用 D-半乳糖(D-galactose)建立 POI 动物模型技术成熟,产前母体暴露或产后子代自身暴露均可诱发卵巢功能损伤,产前母体暴露常用饮食添加的方式给予干预,子代自身暴露采取饮食添加或连续腹腔内注射均可。ROSTAMI DOVOM 等^[26]对 D-半乳糖诱导 POI 的研究进行了系统综述,纳入 14 项研究,

根据暴露时间将其分为产前($n = 4$)和产后($n = 10$)。结果表明,产前和产后 D-半乳糖暴露影响不同阶段卵泡的发育,产前暴露时,半乳糖毒性主要影响原始卵泡和初级卵泡,而产后暴露主要影响窦前卵泡和窦卵泡。总的来说,该造模方法操作简单,但造模耗时较长,产前暴露在母体妊娠时便给予干预,子代小鼠饲养时间需要根据研究目的选择;即便是产后暴露,腹腔注射需连续 42 d 左右,饮食干预则需 70 ~ 80 d。此外,各研究中 D-半乳糖的干预剂量存在较大差异。因此,利用 D-半乳糖建模时需要根据研究目的选择合适的暴露方式、暴露时间及暴露剂量。

6 环境因素

越来越多研究表明,环境中的某些化学物质能够引起生殖功能损害。去氧乙烯基环己烯(4-vinylcyclohexene diepoxide, VCD)就是一个很好的例子。VCD 是环境低浓度的有害化学物质,作为橡胶轮胎、增塑剂、阻燃剂和杀虫剂化学合成过程中的副产品释放到环境中。4 周龄 C57BL/6J 小鼠给予不同剂量 VCD(40、80、120 和 160 mg/kg),连续腹腔注射 15 d,观察小鼠卵泡数量和 AMH 变化,结果显示暴露于 80 ~ 160 mg/kg 剂量的 VCD 显著减少了原始卵泡数量,120 ~ 160 mg/kg 时次级卵泡和窦卵泡也显著减少,血清 AMH 水平 80 ~ 160 mg/kg 剂量下显著下降。该研究评估了高剂量组(160 mg/kg,连续 15 d)在不同时间卵巢功能的变化,结果显示 VCD 暴露 15 d 后,小鼠卵巢原始卵泡和初级卵泡显著减少,相当于卵巢功能下降的初期。25 d 还有少量处于发育阶段的次级卵泡,35 d 时成熟卵泡几乎完全耗竭。在 45 d 时小鼠的发情周期出现紊乱。45 d 时血清中 FSH 明显升高,在 35 d 之前 E_2 水平组高于对照组,但在 45 d 后 E_2 水平下降,105 d 时 E_2 水平显著下降,几乎检测不到,卵巢功能衰竭。因此,VCD 对卵泡影响的最佳观察时间为干预结束后 30 d 以内,其诱导的卵巢损伤呈现剂量-时间依赖性^[27]。

VCD 可选择性地损伤原始和初级卵泡,随着时间延长,成熟卵泡在自然周期中的不断损耗,进入募集的卵泡越来越少,紧接着出现卵巢功能衰竭,呈现出卵巢功能减退的动态变化过程。而且 VCD 不影响包括肝和脾在内的其他外周组织,也不影响大脑炎症标志物^[28]。因此,通过控制造模时间的长

短,该模型不仅可用来研究代表卵巢功能下降不同阶段的 DOR、POI、POF,还可用于研究围绝经期的生理变化及相关并发症。虽然 VCD 建模周期较长,但其成功率高,且相对安全稳定。

7 生活方式

众所周知,吸烟对妇女的生殖健康有不利影响,暴露在香烟烟雾中会加速卵巢储备的衰减,导致卵巢储备功能减退和更年期的提前^[29]。Foster 团队探究了香烟烟雾对 C57BL/6 小鼠卵巢卵泡的影响,利用烟雾暴露系统将小鼠全身暴露于香烟烟雾,每天 2 次,每周 5 d,比较不同暴露周数(4、8、9、17 周)后卵泡数目的变化,发现在暴露 4 周后原始卵泡显著减少;在暴露 8 周后原始卵泡和总卵泡数均显著减少,卵巢重量也明显下降。因此,香烟烟雾暴露 8 周足以引起原始卵泡和总卵泡数的减少^[30-31]。将 Wistar-Albino 大鼠暴露于香烟烟雾,每天 2 次,连续暴露 45 d 后,卵巢各级卵泡数均明显下降^[32]。因此,DOR 动物模型也可以通过香烟烟雾暴露建立。需要说明的是,以上大小鼠研究中均未观察香烟烟雾对激素和动情周期的影响,需相关研究对该部分数据加以补充。

近年研究发现,焦虑、抑郁等负面情绪与卵巢储备功能下降密切相关。SD 大鼠、C57BL/6 小鼠在慢性不可预见应激(chronic unpredictable stress, CUS)诱导下出现卵巢功能下降,表现为卵泡数减少,发情周期紊乱,血清 FSH 水平升高、 E_2 和 AMH 水平降低,成功建立了心理应激诱导的 DOR/POI 模型^[33-34]。有研究评估了长期高密度饲养环境诱导的应激对卵巢储备的影响,将 8 周龄雌性 C57BL/6 小鼠按不同饲养密度饲养 10 周,发现饲养密度越高的小鼠皮质酮水平越高,AMH 水平越低,原始卵泡和初级卵泡越低^[35]。一般认为,应激反应下皮质酮的分泌增加。因此,有研究者利用皮质酮,连续给药 21 d,同样成功构建了心理应激诱导的 SD 大鼠 POI 模型^[36]。利用皮质酮建立心理因素的卵巢功能损伤模型,相比慢性应激诱导操作简单、耗时短,但两者的损伤机制是否完全一致需要进一步证实。

8 结语

DOR 是卵巢功能下降的早期阶段,尽早发现、治疗 DOR 对延缓卵巢功能进一步衰退具有重要意义。

义。DOR 动物模型的建立使得有机会全面阐明其发生机制,寻求最佳治疗方法。目前,构建卵巢功能衰退动物模型已取得一定进展,但仍有一些局限。首先,大多研究忽略了 DOR、POI、POF 模型的差异,造模过程中不注重模拟卵巢功能从轻度下降到卵巢功能完全衰竭的动态进展。其次,各研究中模型构建成功的评价指标不尽相同,导致各研究结果的普适性不强。最后,自然衰老、基因修饰、免疫、代谢,以及化放疗诱导的造模方式基于单一的病因学,只能模拟单一病因的卵巢功能衰减;VCD、慢性应激、香烟烟雾诱导更有可能模拟特发性的卵巢功能减退,其中 VCD 造模方法成熟,诱导的卵巢损伤呈现剂量-时间依赖性,能动态地模拟卵巢衰退的不同阶段,在机制研究和防治研究中可能具有广阔应用前景。

参 考 文 献(References)

[1] JIAO Z, BUKULMEZ O. Potential roles of experimental reproductive technologies in infertile women with diminished ovarian reserve [J]. J Assist Reprod Genet, 2021, 38(10): 2507-2517.

[2] PASTORE L M, CHRISTIANSON M S, STELLING J, et al. Reproductive ovarian testing and the alphabet soup of diagnoses: DOR, POI, POF, POR, and FOR [J]. J Assist Reprod Genet, 2018, 35(1): 17-23.

[3] LIU H, JIANG C, LA B, et al. Human amnion-derived mesenchymal stem cells improved the reproductive function of age-related diminished ovarian reserve in mice through Ampk/FoxO3a signaling pathway [J]. Stem Cell Res Ther, 2021, 12(1): 317.

[4] PRACTICE COMMITTEE OF THE AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE. Testing and interpreting measures of ovarian reserve: a committee opinion [J]. Fertil Steril, 2020, 114(6): 1151-1157.

[5] PIEDADE K C, SPENCER H, PERSANI L, et al. Optimizing fertility in primary ovarian insufficiency: case report and literature review [J]. Front Genet, 2021, 12: 676262.

[6] STUENKEL C A, GOMPEL A, DAVIS S R, et al. Approach to the patient with new-onset secondary amenorrhea: is this primary ovarian insufficiency? [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2022, 107(3): 825-835.

[7] LLIBEROS C, LIEW S H, ZAREIE P, et al. Evaluation of inflammation and follicle depletion during ovarian ageing in mice [J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 278.

[8] MOISEEVA A V, KUDRYAVTSEVA V A, NIKOLENKO V N, et al. Genetic determination of the ovarian reserve: a literature review [J]. J Ovarian Res, 2021, 14(1): 102.

[9] LU C, LIN L, TAN H, et al. Fragile X premutation RNA is sufficient to cause primary ovarian insufficiency in mice [J].

Hum Mol Genet, 2012, 21(23): 5039-5047.

[10] LI Q, AN X, MAN X, et al. Transcriptome analysis reveals that cyclophosphamide induces premature ovarian failure by blocking cholesterol biosynthesis pathway [J]. Life Sci, 2019, 239: 116999.

[11] LUAN Y, EDMONDS M E, WOODRUFF T K, et al. Inhibitors of apoptosis protect the ovarian reserve from cyclophosphamide [J]. J Endocrinol, 2019, 240(2): 243-256.

[12] ZHAO Y T, YIN H, HU C, et al. *Tilapia* skin peptides restore cyclophosphamide-induced premature ovarian failure via inhibiting oxidative stress and apoptosis in mice [J]. Food Funct, 2022, 13(3): 1668-1679.

[13] LI J, YU Q, HUANG H, et al. Human chorionic plate-derived mesenchymal stem cells transplantation restores ovarian function in a chemotherapy-induced mouse model of premature ovarian failure [J]. Stem Cell Res Ther, 2018, 9(1): 81.

[14] SALVATORE G, DE FELICI M, DOLCI S, et al. Human adipose-derived stromal cells transplantation prolongs reproductive lifespan on mouse models of mild and severe premature ovarian insufficiency [J]. Stem Cell Res Ther, 2021, 12(1): 537.

[15] BAHREHBAR K, REZAZADEH VALOJERDI M, ESFANDIARI F, et al. Human embryonic stem cell-derived mesenchymal stem cells improved premature ovarian failure [J]. World J Stem Cells, 2020, 12(8): 857-878.

[16] LI D, CHEN Y, QI L, et al. Differentially expressed genes in cisplatin-induced premature ovarian failure in rats [J]. Anim Reprod Sci, 2013, 137(3-4): 205-213.

[17] PUY V, BARROCA V, MESSIAEN S, et al. Mouse model of radiation-induced premature ovarian insufficiency reveals compromised oocyte quality: implications for fertility preservation [J]. Reprod Biomed Online, 2021, 43(5): 799-809.

[18] HE L, LONG X, YU N, et al. Premature ovarian insufficiency (POI) induced by dynamic intensity modulated radiation therapy via P13K-AKT-FOXO3a in rat models [J]. Biomed Res Int, 2021, 2021: 7273846.

[19] LIU T E, ZHANG L, WANG S, et al. *Tripterygium* glycosides induce premature ovarian failure in rats by promoting p53 phosphorylation and activating the serine/threonine kinase 11-p53-p21 signaling pathway [J]. Exp Ther Med, 2015, 10(1): 12-18.

[20] SZELIGA A, CALIK-KSEPKA A, MACIEJEWSKA-JESKE M, et al. Autoimmune diseases in patients with premature ovarian insufficiency-our current state of knowledge [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(5): 2594.

[21] O'LEARY S, LLOYD M L, SHELLAM G R, et al. Immunization with recombinant murine cytomegalovirus expressing murine zona pellucida 3 causes permanent infertility in BALB/c mice due to follicle depletion and ovulation failure [J]. Biol Reprod, 2008, 79(5): 849-860.

[22] HE F, LIU Y, LI T, et al. microRNA-146 attenuates lipopolysaccharide induced ovarian dysfunction by inhibiting the TLR4/NF-κB signaling pathway [J]. Bioengineered, 2022, 13

(5): 11611–11623.

[23] LV S J, HOU S H, GAN L, et al. Establishment and mechanism study of a primary ovarian insufficiency mouse model using lipopolysaccharide [J]. Anal Cell Pathol, 2021, 2021: 1781532.

[24] NISHIZUKA Y, SAKAKURA T. Thymus and reproduction: sex-linked dysgenesis of the gonad after neonatal thymectomy in mice [J]. Science, 1969, 166(3906): 753–755.

[25] ABIDIN Z, TREACY E. Insights into the pathophysiology of infertility in females with classical galactosaemia [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(20): 5236.

[26] ROSTAMI DOVOM M, NOROOZZADEH M, MOSAFFA N, et al. Induced premature ovarian insufficiency by using D galactose and its effects on reproductive profiles in small laboratory animals: a systematic review [J]. J Ovarian Res, 2019, 12(1): 96.

[27] CAO L B, LEUNG C K, LAW P W, et al. Systemic changes in a mouse model of VCD-induced premature ovarian failure [J]. Life Sci, 2020, 262: 118543.

[28] VAN KEMPEN T A, MILNER T A, WATERS E M. Accelerated ovarian failure: a novel, chemically induced animal model of menopause [J]. Brain Res, 2011, 1379: 176–187.

[29] RICHARDSON M C, GUO M, FAUSER B C, et al. Environmental and developmental origins of ovarian reserve [J]. Hum Reprod Update, 2014, 20(3): 353–369.

[30] TUTTLE A M, STÄMPFLI M, FOSTER W G. Cigarette smoke causes follicle loss in mice ovaries at concentrations representative of human exposure [J]. Hum Reprod, 2009, 24(6): 1452–1459.

[31] GANNON A, STÄMPFLI M, FOSTER W. Cigarette smoke exposure leads to follicle loss via an alternative ovarian cell death pathway in a mouse model [J]. Toxicol Sci, 2012, 125(1): 274–84.

[32] KOLE E, OZKAN S O, ERALDEMIR C, et al. Effects of melatonin on ovarian reserve in cigarette smoking: an experimental study [J]. Arch Med Sci, 2020, 16(6): 1376–1386.

[33] FU X Y, CHEN H H, ZHANG N, et al. Effects of chronic unpredictable mild stress on ovarian reserve in female rats: feasibility analysis of a rat model of premature ovarian failure [J]. Mol Med Rep, 2018, 18(1): 532–540.

[34] GAO L, ZHAO F, ZHANG Y, et al. Diminished ovarian reserve induced by chronic unpredictable stress in C57BL/6 mice [J]. Gynecol Endocrinol, 2020, 36(1): 49–54.

[35] KIM J, YOU S. High housing density-induced chronic stress diminishes ovarian reserve via granulosa cell apoptosis by angiotensin II overexpression in mice [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(15): 8614.

[36] MIAO M, GAO M, LI T, et al. Tandem mass tag-based proteomic analysis reveals the treatment mechanism of Bushen Huoxue Formula on psychological stress-induced premature ovarian insufficiency [J]. J Ethnopharmacol, 2020, 258: 112870.

[收稿日期] 2023-08-22