

杨智惠,胡扬,宗政,等. 卵巢功能不全病因病机及动物模型构建研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(3): 149-160.
Yang ZH, Hu Y, Zong Z, et al. Etiology, pathogenesis and animal model building of premature ovarian insufficiency [J]. Chin J Comp Med, 2024, 34(3): 149-160.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2024.03.019

卵巢功能不全病因病机及动物模型构建研究进展

杨智惠,胡 扬*,宗 政,孙向明,宋 辉,陈鹰翔,徐蓓蕾,张文君,
陈鲁宁,李文兰*

(哈尔滨商业大学药学院,哈尔滨 150076)

【摘要】 卵巢功能不全(premature ovarian insufficiency, POI)又称“卵巢功能低下”,其发病率高达 1%~5%,近年来还呈现不断上升的趋势,已经严重影响女性的身心健康及生活质量。目前,关于 POI 的发病原因及机制尚不明确,模型构建方法与应用也较混乱,且绝大多数模型在针对性、稳定性等方面存在一定不足,这也极大的限制了 POI 的相关研究及其临床诊断和治疗。因此本文对 POI 的病因病机与 POI 动物模型的构建进行综述和讨论,以期对 POI 的病因病机研究及模型的选择和构建提供更多参考。

【关键词】 卵巢功能不全;动物模型;病因病机

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2024) 03-0149-12

Etiology, pathogenesis and animal model building of premature ovarian insufficiency

YANG Zhihui, HU Yang*, ZONG Zheng, SUN Xiangming, SONG Hui, CHEN Yingxiang, XU Beilei, ZHANG Wenjun,
CHEN Luning, LI Wenlan*

(College of Pharmacy, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China)

【Abstract】 Premature ovarian insufficiency (POI), also known as “ovarian insufficiency”, has an incidence of 1%~5%. The incidence has been on the rise in recent years, seriously affecting women's physical and mental health and quality of life. At present, the cause and mechanisms of POI are still unclear, and the method and applications of model construction are also confusing. Most models have some shortcomings in pertinence and stability. The limitations greatly limit research into the clinical diagnosis and treatment of POI. This paper summarizes and discusses the etiology and pathogenesis of POI and the construction of POI animal models to provide a comprehensive reference for those studying POI.

【Keywords】 premature ovarian insufficiency; animal model; etiology and pathogenesis

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

卵巢功能不全(premature ovarian insufficiency, POI)是指女性在 40 岁以前出现卵巢功能减退的一

种医学、心理和生殖性疾病^[1],主要表现为闭经、月经稀发或频发,同时伴有雌激素缺乏、促性腺激素

【基金项目】 黑龙江省重点研发计划项目(2022ZX02C08)。

【作者简介】 杨智惠(2000—),女,硕士研究生,研究方向:中药药效物质基础及质量标准化研究。E-mail:1318500392@qq.com

【通信作者】 胡扬(1986—),女,高级工程师,研究方向:中药药效物质基础及质量标准化研究。E-mail:huy0506@126.com

李文兰(1967—),女,博士生导师,教授,研究方向:中药药效物质基础及质量标准化研究。E-mail:lwldzd@163.com

* 共同通信作者

水平升高等表现。POI 还会导致骨质疏松、老年痴呆、糖尿病、心血管疾病等^[1]。相关研究表明,POI 的发生受遗传、医源(放化疗、手术等)、感染、环境、代谢和自身免疫性疾病等多种因素的影响^[2]。截至目前,POI 的发病原因、机制均不明确,给 POI 的治疗及相关研究带来诸多困难;而建立与病理特征、发病机制相符的动物模型对于深入研究其病因病机和临床治疗具有重要意义。因此本文分别从 POI 的发病原因、机制与 POI 动物模型的构建两个方面进行综述,以期为 POI 模型的选择提供更科学、更具针对性的造模信息,为 POI 病因病机以及临床治疗等研究提供参考。

1 卵巢功能不全病因病机研究

1.1 发病因素

1.1.1 遗传因素

相关研究表明,机体内的部分遗传物质异常可

诱导 POI 的发生,故 POI 具有较强的遗传异质性^[3]。现阶段在 POI 的发病因素中,遗传因素占 POI 病因的 20%~25%,其中包括染色体异常和基因变异^[4],具体信息见表 1。

1.1.2 免疫性因素

相关研究表明,机体的免疫功能失调会诱导 POI 的发生,即自身免疫性 POI (autoimmune POI, aPOI)。POI 患者中有 4%~30% 患有自身免疫性疾病^[14],如自身免疫性卵巢炎、类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮等^[14-16],自身免疫性卵巢炎通过淋巴细胞介导,增加体内促炎因子的含量并诱导 B 细胞分泌抗体,导致卵巢过度免疫,进而加快颗粒细胞的凋亡过程^[17];此外临床研究表明,类风湿性关节炎患者体内抗缪勒试管激素 (anti-miao Lei's tube hormone, AMH) 水平降低,导致生育能力减弱^[18];陈婉乐等^[19]研究推测,系统性红斑狼疮可通过抑制相关激素的分泌、影响促性腺激素释放激素

表 1 与卵巢功能不全相关的遗传异常类型

Table 1 Types of genetic factors associated with premature ovarian insufficiency		
遗传异常类型 Genetic anomaly type	异常基因或染色体 Abnormal gene or chromosome	表现 Expression
染色体异常 Chromosome abnormalities	45,X/46,XY 染色体混合体 45,X/46,XY chromosome mixture	不同程度的性别模糊,胎儿阶段出现卵母细胞凋亡 ^[5] 。 Different degrees of gender ambiguity, fetal stage of oocyte apoptosis.
	47,XXX	卵巢功能障碍,周期性闭经和不孕 ^[5] 。 Ovarian dysfunction, periodic amenorrhea and infertility.
	46,XX	不同程度的卵巢发育不良,特发性卵巢功能不全 ^[6] 。 Different degrees of ovarian dysplasia, idiopathic ovarian insufficiency.
	FMR1 基因 FMR1 gene	卵泡早期发育停滞、数量减少,闭经、雌激素不足 ^[7] 。 Early follicular development is stagnant, the number is reduced, amenorrhea and estrogen are insufficient.
	BMP15 基因 BMP15 gene	多种类型的卵巢功能紊乱,如性早熟及 POI ^[8-9] 。 Many types of ovarian dysfunction, such as precocious puberty and POI.
单基因异常 Single gene abnormality	NOBOX 基因 NOBOX gene	影响卵母细胞的形成和卵泡的发育,导致卵巢早衰 ^[10] 。 Affecting the formation of oocytes and the development of follicles, leading to premature ovarian failure.
	NR5A1 基因 NR5A1 gene	性腺、肾上腺、垂体促性腺激素表达受损,促卵泡生成素 (follicle stimulating hormone, FSH) 和促黄体生成素 (luteinizing hormone, LH) 受体失活现象 ^[11] 。 Expression of gonad, adrenal gland and pituitary gland is impaired, and the receptors of follicle stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH) are inactivated.
	FSHR 基因 FSHR gene	卵巢无法正常响应,阻断卵泡形成,抑制雌二醇 (estradiol 2, E ₂) 等激素的分泌 ^[9] 。 Ovary can't respond normally, blocking follicular formation and inhibiting the secretion of estradiol (E2) and other hormones.
多基因异常 Polygenic abnormality	FOXL2 基因 FOXL2 gene	破坏颗粒细胞和卵泡膜细胞的分化,影响类固醇生成,使生殖能力减弱 ^[9,12] 。 Destroy the differentiation of granulosa cells and theca cells, affect steroid production, and weaken reproductive ability.
	FIGLA 基因 FIGLA gene	破坏卵细胞,影响其生殖功能 ^[9] 。 Destroy egg cells and affect their reproductive function.
	GDF9 基因 GDF9 gene	颗粒细胞产生的孕激素含量降低 ^[13] 。 Content of progesterone produced by granulosa cells decreased.

(gonadotropin releasing hormone, GnRH) 的反馈机制等途径损伤下丘脑-垂体-卵巢轴进而诱发 aPOI。此外透明带糖蛋白(zona pellucida glycoprotein 3, ZP3)等自身免疫抗体会导致下丘脑-垂体-卵巢轴功能发生异常,从而引发月经不调、不孕等症状^[20]。同时相关报道,POI 的发生与接种四价人乳头瘤病毒疫苗具有一定的相关性,推测疫苗的免疫原含量、佐剂等可能会诱导 POI,但临床研究较少,还需进一步探索^[17]。

1.1.3 医源性因素

在 POI 的诸多发病因素当中,医源性因素尤为普遍,包括放疗、化疗、手术等。在癌症治疗当中放疗、化疗等手段在杀死癌细胞的同时,也会对卵巢的正常组织造成损伤。放疗过程中电离辐射如 X-射线、 γ -射线可抑制生殖细胞 DNA 的合成,使卵母细胞丢失,导致卵巢萎缩^[21];化疗药物包括顺铂、环磷酰胺、表柔比星等具有较强的毒性,顺铂作为一种 DNA 交联剂,可干扰 DNA 修复过程,抑制细胞分裂,诱导 DNA 损伤,并引发细胞凋亡、死亡过程;环磷酰胺的主要活性代谢产物为磷酰胺氮芥,可诱导 DNA 交联,抑制 DNA 复制过程,同时可减少原始卵泡数量、促进颗粒细胞的凋亡进而导致卵巢功能的减弱^[22];表柔比星可影响 DNA 损伤修复能力,损害卵巢血管系统,导致血管痉挛和卵巢皮质纤维化^[5],同时也会蓄积于卵母细胞中,产生剂量依赖性的毒性作用^[22]。此外研究表明,在一些妇科手术后也会出现 POI 的相关症状,比如卵巢子宫内异位症手术,在手术过程中使用电凝止血手术器械、意外破坏卵巢组织等会加速卵泡耗竭,使卵巢功能异常^[23]。

1.1.4 环境因素

日常环境中具有生殖毒性的化合物会诱导 POI 的发生,这些化合物可通过食物、空气、灰尘等经消化系统、呼吸系统进入人体,影响内分泌系统的正常功能与卵巢周围的环境,进一步影响卵巢功能。比如双酚 A、邻苯二甲酸酯类、全氟烷基和聚氟烷基等物质,双酚 A 可过度激活原始卵泡,使原始卵泡数量显著减少^[21,24];研究发现邻苯二甲酸酯类可减少原始卵泡、窦卵泡数量,抑制颗粒细胞的增殖并降低颗粒细胞类固醇激素的分泌,导致相关激素水平下降,氧化应激水平升高,进而诱导 POI 的发生^[21,25];全氟辛酸是全氟烷基类物质之一,研究表明全氟辛酸能显著降低血清孕酮水平,降低黄体数

量,进而诱发 POI^[26]。

1.2 发生机制

卵巢功能不全是一个复杂的病理状态,可能由多种机制引起。而对卵巢功能不全机制的深入了解对于研究该疾病、开发治疗策略、建立动物模型和指导临床实践具有重要影响,具体信息见表 2。

2 动物模型构建方法及机制

卵巢功能不全仍是影响女性健康的重大疾病之一,其发病机制尚未明确,还需更深入的研究。目前,POI 动物模型的构建方法多以西医理论为指导,根据其发病因素可分为医源性模型、代谢性模型、免疫性模型、基因工程模型、环境干扰模型等,其模型构建方法及其机制见表 3。

3 讨论与展望

3.1 不同发病因素模型的选择

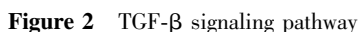
在 POI 动物模型构建时,基于不同的病因应当选择更有针对性的模型。根据医源性因素构建 POI 动物模型时,可采用药物或者射线相关方法进行模型的构建;药物造模可选择环磷酰胺、顺铂、皮质酮、雷公藤多苷等,目前药物造模多数采用雷公藤多苷及环磷酰胺造模;研究放疗与 POI 疾病之间的关系时,通常选择 X-射线、 γ -射线照射,此类造模方法多用于肿瘤研究中,该方法虽然成功率高,但不具普遍性,因此本方法应用具有较强针对性,在肿瘤与 POI 相关研究中可选择应用。根据代谢因素构建 POI 动物模型时可选择 D-半乳糖进行造模,此方法适用于 POI 与代谢相关研究。根据免疫因素构建 POI 动物模型时可选择注射免疫制剂,该方法比较适用于 POI 与免疫相关研究。根据遗传因素构建 POI 动物模型时可选择基因工程法进行造模,该方法目前应用较少,但由于遗传因素导致 POI 占比较大,因此加强此类研究尤为重要。综上所述,在研究不同因素导致的 POI 疾病时,临床上可根据不同的致病因素选择合适的方法进行动物模型的构建。

3.2 不同发病机制模型的选择

POI 的发病机制主要涉及到细胞凋亡、自噬、氧化应激等途径,其相关通路有 TGF- β /Smad、PI3K/Akt、Wnt/ β -catenin、SIRT、VEGF/VEGF-2、Hedgehog 等。目前研究发现,医源性模型中诱导 POI 的主要途径有 PI3K/Akt/FOXO3a 信号通路;其中环磷酰胺

表 2 卵巢功能不全的发生机制
Table 2 Pathogenesis of premature ovarian insufficiency

机制类型 Mechanism type	相关信号通路 Correlation signal path	调控过程 Regulation process	相关基因或分子 Related genes or molecules
细胞凋亡 Apoptosis	磷脂酰肌醇 3-激酶信号通路 (PI3K/Akt) ^[27] Phosphatidylinositol 3-kinase signal pathway (PI3K/Akt)	包括刺激因子与受体结合、PI3K 激活、Akt 的激活、下游信号传导等过程(图 1)。 Including the binding of stimulator and receptor, PI3K activation, Akt activation, downstream signal transduction and other processes (Figure 1).	PI3K 酶、PIP2、PIP3、含 PH 结构域的蛋白质 (Akt、PDK 和 SGK 等)、半胱氨酸蛋白酶 (caspase)、B 淋巴细胞瘤 2 基因 (<i>Bcl-2</i>)、促凋亡蛋白 Bax、Bak、凋亡相关因子 Fas 和 Fas-L mRNA、NF-κB、FOXO3 因子等 ^[28] 。 PI3K enzyme, PIP2, PIP3, protein with PH domain (Akt, PDK, SGK, etc.), cysteine protease (caspase), B lymphocyte tumor 2 gene (<i>Bcl-2</i>), pro-apoptosis proteins Bax, Bak, apoptosis-related factors Fas and Fas-L mRNA, NF-κB, FOXO3, etc.
	转化生长因子-β 信号通路 (TGF-β) ^[29] Transforming growth factor-β signaling pathway (TGF-β)	包括刺激因子与受体结合、受体激活、Smad 磷酸化、Smad 核转录因子复合物形成、基因转录调控等过程(图 2)。 Including the binding of stimulator and receptor, receptor activation, Smad phosphorylation, Smad nuclear transcription factor complex formation, gene transcription regulation and other processes (Figure 2).	TGF-β 分子、Smad 激酶等。 TGF-β molecule, Smad kinase, etc.
	Wnt/β-catenin 信号通路 ^[30] Wnt/β-catenin signaling pathway	包括无 Wnt 信号状态、Wnt 信号的激活、复合物形成、β-catenin 核转位、基因转录调控等过程(图 3)。 Including Wnt-free state, Wnt signal activation, complex formation, β-catenin nuclear translocation, gene transcription regulation and so on (Figure 3).	FOXO3a、Wnt3a ^[31] 、Wnt 蛋白、TCF/LEF 等染色质蛋白等。 FOXO3a, Wnt3a, Wnt protein, TCF/LEF and other chromatin proteins.
	血管内皮生长因子信号通路 (VEGF) ^[5] Vascular endothelial growth factor signaling pathway (VEGF).	包括 VEGF 与受体结合、受体激活、下游信号传导(可激活 PI3K/Akt、MAPK/ERK 信号通路)等过程 ^[32] 。 Including VEGF binding to receptor, receptor activation, downstream signal transduction (which can activate PI3K/Akt and MAPK/ERK signal pathways) and other processes.	VEGF-A、RTK、PI3K 酶、PIP2、PIP3、含 PH 结构域的蛋白质 (Akt、PDK 和 SGK 等)。 VEGF-A, RTK, PI3K enzyme, PIP2, PIP3, protein with PH domain (Akt, PDK and SGK, etc.).
	刺猬信号通路 (Hedgehog) ^[33] Hedgehog signaling pathway	包括无刺猬信号状态、刺猬信号的激活、Gli 转录因子的激活、基因转录调控等过程(图 4)。 Including hedgehog-free signal state, hedgehog signal activation, Gli transcription factor activation, gene transcription regulation and other processes (Figure 4).	Gli 转录因子、Smo 蛋白、Gli1 蛋白、kinesin 家族蛋白 (Kif7)、Hh 通路调节分子 (SUFU) 等 ^[34] 。 Gli transcription factor, Smo protein, Gli1 protein, kinesin family protein (Kif7), Hh pathway regulator (SUFU), etc.
细胞自噬 Autophagy	氧感知通路 ^[35] Oxygen sensing pathway	包括氧感受器(如缺氧诱导因子-HIF)激活、HIFα 亚基稳定化、缺氧条件下的稳定化、HIFα 与 HIFβ 的结合、HIF 复合物的转录活性、基因转录调控等过程。 Include activation of oxygen receptors (such as hypoxia inducible factor-HIF), stabilization of HIFα subunit, stabilization under hypoxia, combination of HIFα and HIFβ, transcription activity of HIF complex, gene transcription regulation, etc.	HIF、VHL 蛋白、缺氧响应元件 (HRE)、VEGF、促红细胞生成素 (EPO) 等。 HIF, VHL protein, hypoxia response element (HRE), VEGF, erythropoietin (EPO), etc.
	去乙酰化酶 (SIRT) 信号通路 ^[36-37] Deacetylase (SIRT) signaling pathway	包括 SIRT 蛋白的活性激活、NAD ⁺ 催化、底物去乙酰化、基因表达调控等过程。 Including SIRT protein activation, NAD ⁺ catalysis, substrate deacetylation, gene expression regulation and other processes.	SIRT 蛋白家族、辅酶 NAD ⁺ 、p53、FOXO 转录因子等。 SIRT protein family, coenzyme NAD ⁺ , p53, FOXO transcription factor, etc.
	SIRT 信号通路 ^[36-37] SIRT signaling pathway	包括 SIRT 蛋白的活性激活、NAD ⁺ 催化、底物去乙酰化、基因表达调控等过程。 Including SIRT protein activation, NAD ⁺ catalysis, substrate deacetylation, gene expression regulation and other processes.	SIRT 蛋白家族、辅酶 NAD ⁺ 、p53、FOXO 转录因子等。 SIRT protein family, coenzyme NAD ⁺ , p53, FOXO transcription factor, etc.
	氧化应激 PI3K/Akt 信号通路 ^[28] PI3K/Akt signaling pathway	包括刺激因子与受体结合、PI3K 激活、Akt 的激活、下游信号传导等过程。 Including the binding of stimulator and receptor, PI3K activation, Akt activation, downstream signal transduction and other processes.	RTK、PI3K 酶、PIP2、PIP3、含 PH 结构域的蛋白质 (Akt、PDK 和 SGK 等)、半胱氨酸蛋白酶 (caspase) 等 ^[28] 。 RTK, PI3K enzyme, PIP2, PIP3, protein containing PH domain (Akt, PDK and SGK, etc.), cysteine protease (caspase), etc.



$\beta 1$ /Smad3 等通路;雷公藤多苷诱导 POI 是通过线粒体凋亡途径诱导 POI。环境干扰模型则多采用

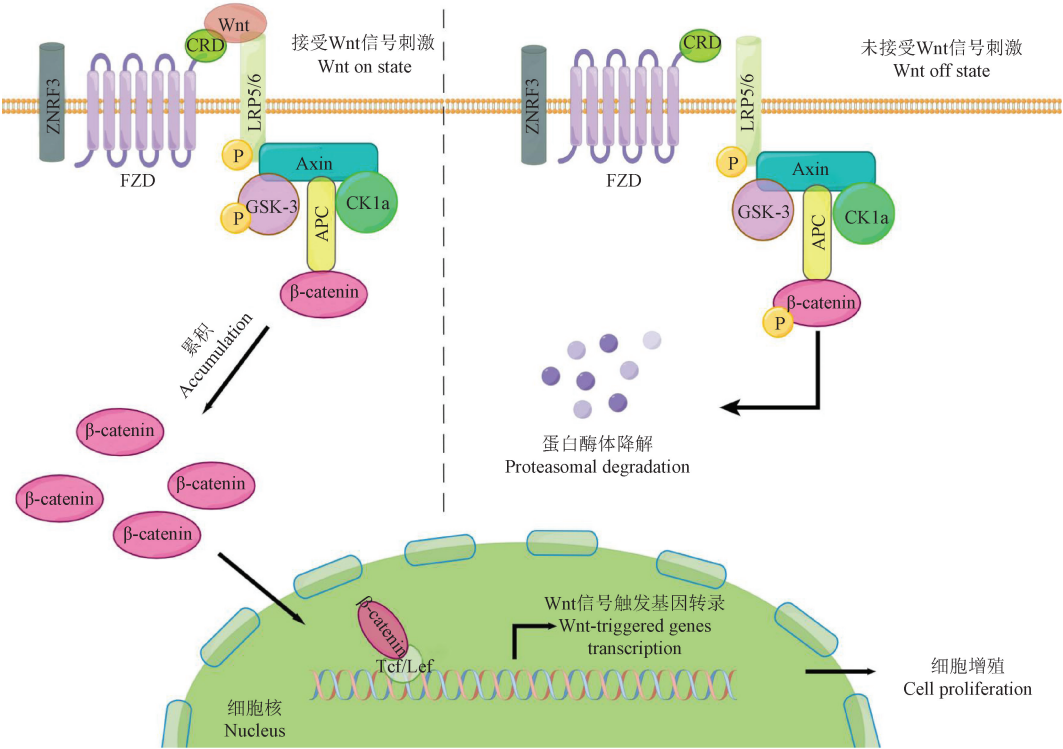


图 3 Wnt/β catenin 信号通路

Figure 3 Wnt/β catenin signaling pathway

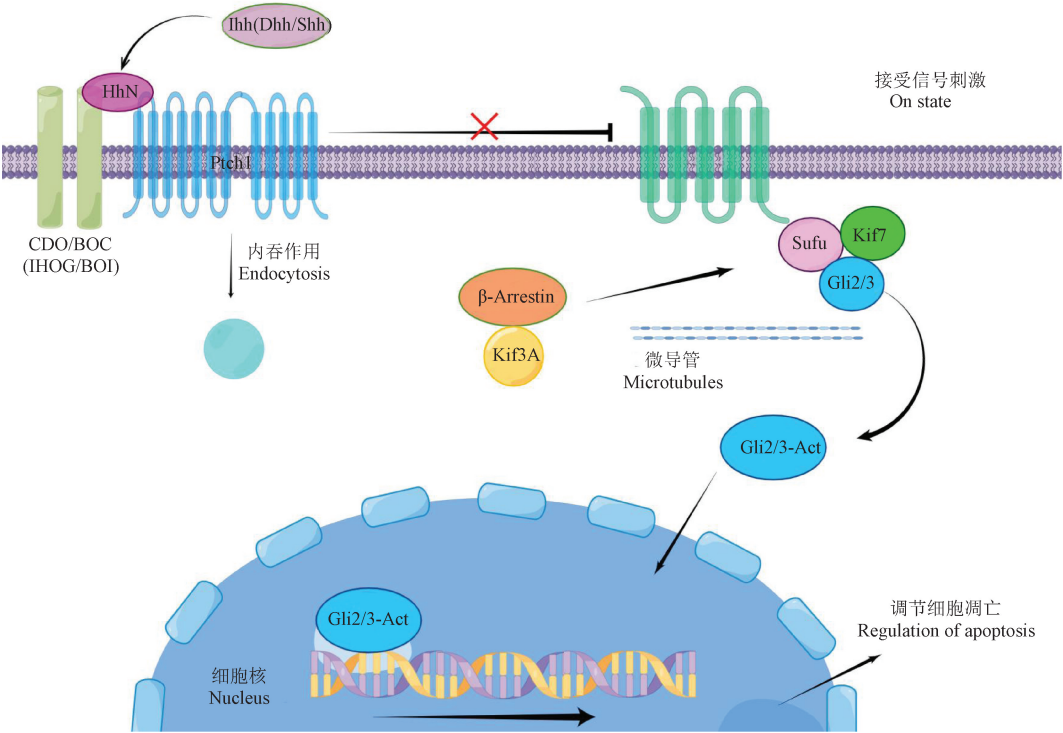


图 4 Hedgehog 信号通路

Figure 4 Hedgehog signaling pathway

VCD,其通过细胞凋亡、细胞自噬途径以及 PI3K/Akt/mTOR 信号通路诱导 POI。免疫性模型则多采用注射混合免疫制剂进行模型的构建,其主要通过影响 Treg 细胞和 Th17 细胞中的特异性转录因子

表 3 POI 动物模型构建方法

Table 3 POI animal model construction methods

模型类型 Types of models	实验动物 Experimental animal	构建方法 Construction method	构建结果 Construction result	相关机制 Related mechanism	优缺点 Advantages and disadvantages	
	SD 大鼠 SD rats	腹腔注射 2 mg/mL 环磷酰胺溶液, 共 15 d ^[38] 。 2 mg/mL cyclophosphamide solution was injected intraperitoneally for 15 d.	体重下降, 动情周期紊乱; 卵巢间质增生和纤维化明显; 子宫腺体萎缩; 次级卵泡数及成熟卵泡数明显减少; AMH、E ₂ 水平降低, FSH 水平升高, Bax 表达水平升高, Bcl-2 表达水平下降。 Weight loss, estrous cycle disorder; Ovarian interstitial hyperplasia and fibrosis are obvious; Uterine gland atrophy; The number of secondary follicles and mature follicles decreased significantly; AMH and E ₂ levels decreased, FSH level increased, Bax expression level increased, and Bcl-2 expression level decreased.	Bax 及 Bcl-2 的调控使颗粒细胞凋亡; 释放 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 等因子诱发机体的氧化应激反应 ^[38] 。 Regulation of Bax and Bcl-2 makes granulosa cells apoptosis; Release of TNF-α, IL-1β, IL-6 and other factors induces oxidative stress in the body.	造模方法简单、构建时间短、成功率高、成本低; 但对实验操作要求高 ^[12] 。 Modeling method is simple, the construction time is short, the success rate is high and the cost is low; But it requires high experimental operation.	
	医源性 Iatrogenic	SD 大鼠 SD rats	腹腔注射 0.5 mg/mL 的顺铂溶液, 共 7 d ^[39] 。 0.5 mg/mL cisplatin solution was injected intraperitoneally for 7 d.	体重下降, 动情周期紊乱; 卵巢组织萎缩, 子宫内壁薄; 成熟卵泡数减少; AMH 水平降低。 Weight loss, estrous cycle disorder; ovarian tissue atrophy, thin uterine wall; Number of mature follicles decreased; AMH level decreased.	促进卵巢颗粒细胞中的铁性下垂并引起大鼠卵巢发育不良和卵巢组织纤维化 ^[40] ; 诱发内质网应激引发颗粒细胞的自噬 ^[41] ; 抑制泡细胞 TGF-β1/Smad3 途径调控卵巢的功能 ^[29] 。 It promotes iron sagging in ovarian granulosa cells and causes ovarian dysplasia and ovarian tissue fibrosis in rats; Inducing endoplasmic reticulum stress leads to autophagy of granular cells; Inhibition of follicular TGF-β1/Smad3 pathway to regulate ovarian function.	造模方法简单、构建时间短、成功率高、成本低; 但需注意注射剂量 ^[12] 。 Modeling method is simple, the construction time is short, the success rate is high and the cost is low; But pay attention to the injection dose.
	C57BL6 小鼠 C57BL6 mice		全身 0 Gy、2 Gy、4 Gy、6 Gy X-射线, 共 7 d ^[42] 。 Whole body X-rays of 0 Gy, 2 Gy, 4 Gy and 6 Gy for 7 d.	体重下降, 动情周期紊乱; 双侧卵巢体积缩小; 原始卵泡数量减少; FSH 水平升高, AMH 水平降低。 Weight loss, estrous cycle disorder; Bilateral ovarian volume reduction; Number of primordial follicles decreased; FSH level increased and AMH level decreased.	氧化损伤、炎症损伤激活 PI3K/Akt/FOXO3a 信号通路, 导致 POI ^[43] 。 Oxidative injury and inflammatory injury activate PI3K/Akt/FOXO3a signaling pathway, leading to POI.	造模方法简单、构建时间短、成功率高; 但成本高、临床适用性低 ^[12] 。 Modeling method is simple, the construction time is short, and the success rate is high; But the cost is high and the clinical applicability is low.
	Balb/c 小鼠 Balb/c mice	灌胃 40 mg/kg 雷公藤多苷混悬液, 共 14 d ^[44] 。 40 mg/kg tripterygium wilfordii polyglycoside suspension was given orally for 14 d.	受孕率呈下降趋势; 体重下降, 动情周期紊乱; 卵巢组织受损; 原始卵泡数量减少; FSH 呈上调趋势, E ₂ 呈下调趋势。 Pregnancy rate showed a downward trend; Weight loss, estrous cycle disorder; Ovarian tissue is damaged; Number of primordial follicles decreased; FSH showed an upward trend, while E ₂ showed a downward trend.	通过激活线粒体凋亡途径, 损伤线粒体功能, 使促凋亡蛋白 caspase3、caspase9、Bax 表达水平升高, 加速细胞凋亡 ^[45] 。 By activating mitochondrial apoptosis pathway and damaging mitochondrial function, the expression levels of pro-apoptosis proteins caspase3, caspase9 and Bax are increased and apoptosis is accelerated.	造模方法简单、成功率高、成本低 ^[12] 。 Modeling method is simple, with high success rate and low cost.	
	SD 大鼠 SD rats	下肢肌注射氢化可的松 32 mg/kg, 共 12 d ^[46] 。 Hydrocortisone 32 mg/kg was injected into lower limbs for 12 d.	体重下降, 动情周期紊乱; 卵巢指数下降; E ₂ 水平降低, FSH 水平升高。 Weight loss, estrous cycle disorder; Ovarian index decreased; E ₂ level decreased and FSH level increased.	导致负反馈增加, 抑制下丘脑产生的 GnRH, 降低 FSH 和 LH 的分泌 ^[47] ; 抑制 VEGF 和其受体表达, 导致卵巢缺氧和萎缩。 It leads to the increase of negative feedback, inhibits GnRH produced by hypothalamus and reduces the secretion of FSH and LH; Inhibition of VEGF and its receptor expression leads to ovarian hypoxia and atrophy.	是一种中医证候相关模型, 造模方法简单、成本低; 但缺乏重复性 ^[12] 。 It is a TCM syndrome-related model with simple modeling method and low cost. But it lacks repeatability.	

续表3

模型类型 Types of models	实验动物 Experimental animal	构建方法 Construction method	构建结果 Construction result	相关机制 Related mechanism	优缺点 Advantages and disadvantages
	SD 大鼠 SD rats	皮下注射 40 mg/kg 皮质酮混悬液 ^[48] 。 Subcutaneous injection of 40 mg/kg corticosterone suspension.	体重下降,动情周期紊乱;卵巢萎缩;原始、窦前卵泡和成熟卵泡数量减少;AMH、E ₂ 水平降低,FSH 水平升高。 Weight loss, estrous cycle disorder; Ovarian atrophy; Number of primordial, preantral follicles and mature follicles decreased; Levels of AMH and E ₂ decreased and FSH increased.	通过激活 GR-CREB/AP1 轴抑制卵巢中促黄体素受体 (luteinizing hormone receptor, LHR) 的表达,影响相关激素表达水平 ^[49] 。 By activating GR-CREB/AP1 axis, the expression of luteinizing hormone receptor (LHR) in ovary was inhibited, and the expression level of related hormones was affected.	造模方法简单、成功率高、成本低、使用范围较广;但需严格把控用药剂量、时间 ^[12] 。 Modeling method is simple, the success rate is high, the cost is low, and the application range is wide; However, the dosage and time should be strictly controlled.
代谢性 Metabolic	Balb/c 小鼠 Balb/c mice	背部皮下注 200 mg/(kg·d)D-半乳糖,共 42 d ^[50] 。 200 mg/(kg·d) D-galactose was injected subcutaneously into the back for 42 d.	卵巢质量系数降低;各级卵泡数量减少;E ₂ 、LH 水平降低。 Ovarian mass coefficient decreased; Number of follicles at all levels decreased; Level of E ₂ and LH decreased.	通过下调 SIRT3/SOD2 表达水平,LH、E ₂ 水平降低 ^[51] 。 By down-regulating the expression level of SIRT3/SOD2, the levels of LH and E ₂ decreased.	造模方法简单、成本较低;但造模时间长 ^[12] 。 Modeling method is simple and the cost is low; But the modeling time is long.
免疫性 Immune	C57BL6 小鼠 C57BL6 mice	脚掌、尾根注射免疫抑制剂溶液;7 d 后注射混合免疫抑制剂 ^[52] 。 Inject immune preparation solution into sole and tail root; After 7 days, mixed immune preparation was injected.	动情周期紊乱;卵巢萎缩;卵巢、子宫脾、胸腺指数下降;各级卵泡数量减少;AMH、E ₂ 水平降低,FSH、LH 水平升高,抗透明带抗体水平升高。 Estrous cycle disorder; Ovarian atrophy; Index of ovary, uterus, spleen and thymus decreased; Number of follicles at all levels decreased; AMH and E ₂ levels decreased, FSH and LH levels increased, and anti-zona pellucida antibody levels increased.	通过影响 Treg 细胞和 Th17 细胞中的特异性转录因子 Foxp3 和 ROR- γ t 的基因表达水平,卵巢指数下降,出现卵巢早衰 ^[53] 。 By affecting the gene expression levels of specific transcription factors Foxp3 and ROR- γ t in Treg cells and Th17 cells, the ovarian index decreased and premature ovarian failure appeared.	成功率高、造模时间短;但造模方法繁琐、成本略高 ^[12] 。 High success rate and short modeling time; But the modeling method is complicated and the cost is slightly higher.
基因工程 Genetic engineering	<i>Gdf9</i> ^{cre+} 小鼠、 <i>Fkbp38</i> ^{fllox/fllox} 小鼠 <i>Gdf9</i> ^{cre+} mice、 <i>Fkbp38</i> ^{fllox/fllox} mice	通过两种小鼠交配获得卵母细胞特异性敲除 <i>Fkbp38</i> 转基 因小鼠 ^[54] 。 Oocyte-specific knock-out of <i>Fkbp38</i> transposon was obtained by mating two kinds of mice.	生育力下降;原始卵泡数量减少;颗粒细胞凋亡显著增加;E ₂ 、AMH、抑制素 B (inhibin B, INHB) 降低,FSH 水平升高。 Decline in fertility; Number of primordial follicles decreased; Granulocyte apoptosis increased significantly; E ₂ , AMH and B inhibin (NHB) decreased, while FSH level increased.	激活 mTORC1,过度活化原始卵泡从而导致卵巢早衰和不孕症 ^[54] 。 Activation of mTORC1 overactivates the primordial oocyte, which leads to premature ovarian failure and infertility.	造模时间短、成功率高;但造模方法繁琐、成本高,难以推广 ^[12] 。 Short modeling time and high success rate; However, the modeling method is complicated and costly, so it is difficult to popularize.
环境干扰 Environmental disturbance	SD 大鼠 SD rats	腹腔注射 160 mg/mL VCD 溶液,共 15 d ^[55] 。 160 mg/mL VCD solution was injected intraperitoneally for 15 d.	动情周期紊乱;卵巢组织受损;卵巢细胞凋亡水平升高;GnRH、FSH、LH 水平升高,AMH、E ₂ 水平降低。 Estrous cycle disorder; Ovarian tissue is damaged; Apoptosis level of ovarian cells increased; Levels of GnRH, FSH and LH increased, while the levels of AMH and E ₂ decreased.	抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路来激活颗粒细胞的自噬过程 ^[56] 。 Inhibition of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway to activate autophagy of granulosa cells.	造模方法简单、成本低、成功率高;但需注意用量 ^[12] 。 Modeling method is simple, low in cost and high in success rate; But pay attention to the dosage.

Foxp3 和 ROR- γ t 的基因表达水平而诱导 POI。基因工程模型则利用卵母细胞特异性敲除 *Fkbp38* 转基因小鼠进行研究,其通过激活 mTORC1,过度活化原始卵泡而诱导 POI。由于 POI 的发生尤为复杂,并不是通过单一途径或通路诱导产生,往往是多途径、多通路共同作用产生,因此对 POI 的相关机制通路进行研究时,需要结合发病因素及机制相结合选择合适的模型进行研究。

3.3 不同模型的优缺点

在研究过程中,大多数 POI 动物模型是根据其不同的发病因素构建的。根据医源性因素构建模型可选择药物(如环磷酰胺、顺铂、雷公藤多苷、氢化可的松、皮质酮)以及放射等方法进行诱导,均有造模方法简单、成功率高的优点,但注射环磷酰胺、顺铂时需注意注射剂量,避免剂量过高对模型动物造成其他损伤,影响造模效果;氢化可的松可构建

肾阳虚卵巢早衰动物模型,但判定实验结果时存在主观因素的影响,同时该造模方法缺乏重复性,会影响实验结果的准确性;注射皮质酮时,模型构建时间较长;放射诱导 POI 时,通常选择 X-射线、 γ -射线进行照射,该方法成本较高,在临床上应用适用性、广泛性较低。根据代谢因素进行模型构建时,通常选择 D-半乳糖进行诱导,造模方法简单、成本低但造模周期较长。根据免疫性因素构建模型时通常选择免疫制剂及其混合制剂进行诱导,该方法成功率高、造模时间短但成本略高、造模方法较为繁琐。根据遗传因素进行模型构建时,目前研究中一般选择基因工程法,该方法造模时间短、成功率高,但成本高、操作繁琐,难以推广。根据环境干扰因素诱导时通常选择 VCD 溶液,该方法成功率高、造模时间短、成本低,但需要注意注射剂量。综上所述,从发病因素角度考虑,医源性模型可优先选择环磷酰胺、顺铂、雷公藤多苷进行诱导,其中以雷公藤多苷进行诱导最常见;代谢性模型可选择 D-半乳糖进行诱导,其应用较为广泛;构建免疫性模型时可选择免疫抑制剂及其混合制剂;在目前研究中,遗传性模型常用基因工程法进行构建;环境干扰模型可应用 VCD 进行诱导。从降低成本角度考虑,可构建医源性、代谢性、环境干扰型模型,使用环磷酰胺、顺铂、雷公藤多苷等化疗药物以及 D-半乳糖、VCD 进行 POI 诱导。从节省时间角度考虑,可构建医源性、免疫性动物模型以及应用基因工程法进行诱导,其中以医源性模型最为简洁、高效和常见。所以在构建 POI 动物模型时,可根据实验具体情况选择造模方法,同时在临床上研究 POI 的病因病机时,可根据不同的致病物质选择合适的方法进行动物模型的构建,更具针对性。

3.4 总结与展望

随着生活环境的变化、节奏的加快、手术和药品使用等诸多因素的影响,女性 POI 的发病率也逐年上升。据统计,全球 15% 的女性在生育年龄内会出现 POI 的症状。截至目前,关于 POI 的发病机制和治疗等方面仍存在诸多问题,其发病因素主要有遗传、免疫、医学、环境等,且其相关机制更为复杂。现阶段临床上 POI 已经有多种治疗手段,但仍存在许多的不足和难点。研究表明激素替代疗法虽可以改善症状,但长期使用可能会增加患者患乳腺癌、心血管等疾病的风险^[57];植物雌激素、细胞治疗和生殖技术等新兴治疗方法虽然有潜力,但其安全

性、有效性及适用范围等问题还需进一步研究^[58]。因此对 POI 的病因病机进行研究具有重要的意义。中医药是我国的传统瑰宝,而现阶段将 POI 与中医病证结合的动物模型研究较少,大部分均以西医标准进行评判。POI 在中医证候里面往往归结于虚证,如肾阳虚等,但仍缺少客观可行的统一标准。因此将 POI 与中医证候结合的研究具有十分重要的意义,这也将有助于 POI 的临床诊断以及中医药的治疗。

动物模型的构建对于 POI 的病因病机及相关研究尤为重要,但现阶段关于 POI 动物模型构建仍然存在许多问题。首先,目前 POI 动物模型多采用化学物质、手术等方法进行构建,这些方法极易导致其他不必要的伤害,且构建的模型在生理学和代谢方面可能与人类存在较大差异性,因此其可靠性尚需进一步验证;其次,POI 的发病机制复杂,还有很多未知的因素需要解析;此外当前大部分动物模型是通过损伤或注射药物来诱导疾病,但这些方法只能反映病理生理状态的变化,对于疾病的深度机制研究较为有限。随着现代医学技术的不断发展,许多新技术孕育而生,如基因编辑、诱导多能干细胞(iPSC)技术、基因传递等。在 POI 模型的构建当中,可以将一些新技术与传统方法相结合,如利用基因剔除小鼠加以医源性药物相结合进行造模;手术结合药物进行造模。模型的成模判断方面可以结合现代新兴组学技术寻找证候标志物加以判别。

本研究整理归纳了 POI 的发病因素、发病机制以及 POI 动物模型的构建方法,旨在为模型应用过程中能够选择与临床患者病症、指标更为符合的造模方法,有助于对不同病因、病机导致的 POI 进行深入研究,寻找更准确、更科学的 POI 治疗、预防方案。为 POI 模型的选择提供更科学、更具针对性的造模信息;为 POI 病因病机以及临床治疗等研究提供参考。

参考文献:

- [1] ISHIZUKA B. Current understanding of the etiology, symptomatology, and treatment options in premature ovarian insufficiency (POI) [J]. *Front Endocrinol*, 2021, 12: 626924.
- [2] KIRSCHENBAUM M, ORVIETO R. Premature ovarian insufficiency (POI) and autoimmunity-an update appraisal [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2019, 36(11): 2207-2215.
- [3] 陈子江, 孙赞. 早发性卵巢功能不全的遗传因素 [J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2021, 37(1): 7-12.
CHEN Z J, SUN Y. Hereditary factors of primary ovarian

- insufficiency [J]. Chin J Pract Gynecol Obstet, 2021, 37(1): 7-12.
- [4] 吴瑞瑾.《早发性卵巢功能不全的临床诊疗中国专家共识》解读[A]. 2018 年浙江省医学会妇产科学与围产医学学术年会暨 2018 年浙江省医师协会妇产科医师分会学术年会论文汇编[C]; 2018.
- WU R J. Interpretation of the Chinese Expert Consensus on Clinical Diagnosis and Treatment of Early-Onset Ovarian Insufficiency [A]. Proceedings the 2018 Academic Annual Meeting of Obstetrics and Gynecology and Perinatal Medicine of Zhejiang Medical Association and the 2018 Academic Annual Meeting of the Branch of Obstetricians and Gynecologists of Zhejiang Physicians Association[C]; 2018.
- [5] 孙璐, 郑群, 范晓东, 等. 早发性卵巢功能不全病因学及发病机制的研究进展 [J]. 吉林大学学报(医学版), 2023, 49(2): 534-541.
- SUN L, ZHENG Q, FAN X D, et al. Research progress in etiology and pathogenesis of premature ovarian insufficiency [J]. J Jilin Univ Med Ed, 2023, 49(2): 534-541.
- [6] 张碧云, 孟钊, 李秀媚, 等. TLR4 启动子遗传变异及环境交互与 46XX 早发性卵巢功能不全的关系 [J]. 广东医学, 2018, 39(2): 207-211.
- ZHANG B Y, MENG Z, LI X M, et al. Correlations between the susceptibility of premature ovarian insufficiency and TLR4 promoter SNPs or environmental factors [J]. Guangdong Med J, 2018, 39(2): 207-211.
- [7] ROSARIO R, STEWART H L, CHOUDHURY N R, et al. Evidence for a fragile X messenger ribonucleoprotein 1 (FMR1) mRNA gain-of-function toxicity mechanism contributing to the pathogenesis of fragile X-associated premature ovarian insufficiency [J]. FASEB J, 2022, 36(11): e22612.
- [8] LIU M N, ZHANG K, XU T M. The role of BMP15 and GDF₉ in the pathogenesis of primary ovarian insufficiency [J]. Hum Fertil, 2021, 24(5): 325-332.
- [9] CHEN M, JIANG H, ZHANG C. Selected genetic factors associated with primary ovarian insufficiency [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(5): 4423.
- [10] LI L, WANG B, 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.
- [11] BASHAMBOO A, MCELREAVEY K. NR5A1/SF-1 and development and function of the ovary [J]. Ann Endocrinol, 2010, 71(3): 177-182.
- [12] 李虹璇, 李思慧, 冯嘉欣, 等. 卵巢早衰动物模型构建方法及比较研究进展 [J]. 实验动物与比较医学, 2021, 41(6): 505-514.
- LI H X, LI S H, FENG J X, et al. Construction methods and comparative research progress of premature ovarian failure animal models [J]. Lab Anim Comp Med, 2021, 41(6): 505-514.
- [13] DALBIES-TRAN R, CADORET V, DESMARCHAIS A, et al. A comparative analysis of oocyte development in mammals [J]. Cells, 2020, 9(4): 1002-1002.
- [14] 黄燕靖, 张明敏, 周凡茹, 等. 早发性卵巢功能不全致病因素及机制研究进展 [J]. 中西医结合研究, 2022, 14(1): 48-51, 55.
- HUANG Y J, ZHANG M M, ZHOU F R, et al. Research progress on pathogenic factors and mechanism of early-onset ovarian insufficiency [J]. Res Integr Tradit Chin West Med, 2022, 14(1): 48-51, 55.
- [15] JIAO X, ZHANG X, LI N, et al. T_{reg} deficiency-mediated T_H 1 response causes human premature ovarian insufficiency through apoptosis and steroidogenesis dysfunction of granulosa cells [J]. Clin Transl Med, 2021, 11(6): e448.
- [16] 徐孜惟. 自身免疫性甲状腺疾病与早发性卵巢功能不全的相关性研究 [D]. 杭州: 浙江中医药大学, 2022.
- XU Z W. Correlation between autoimmune thyroid disease and early onset ovarian insufficiency [D]. Hangzhou: Zhejiang Chinese Medical University, 2022.
- [17] 朱璨, 夏宛廷, 韩娜娜, 等. 早发性卵巢功能不全与免疫的相关性及临床研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2023, 41(5): 111-114.
- ZHU C, XIA W T, HAN N N, et al. Correlation between premature ovarian insufficiency and immunity and its clinical research progress [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2023, 41(5): 111-114.
- [18] BROUWER J, HAZES J M, LAVEN J S, et al. Fertility in women with rheumatoid arthritis: influence of disease activity and medication [J]. Ann Rheum Dis, 2015, 74(10): 1836-1841.
- [19] 陈婉乐, 刘玉东, 李雪兰, 等. 早发性卵巢功能不全患者赠卵 IVF 获得妊娠在孕早期合并系统性红斑狼疮: 1 例报告并文献复习 [J]. 南方医科大学学报, 2017, 37(12): 1683-1687.
- CHEN W L, LIU Y D, LI X L, et al. Pregnancy outcome in a woman with premature ovarian insufficiency complicated by systemic lupus erythematosus during pregnancy: a case report [J]. J South Med Univ, 2017, 37(12): 1683-1687.
- [20] 林艇, 李潭, 杨非易. 排卵功能障碍不孕患者与卵巢自身抗体的关系 [J]. 北京大学学报(医学版), 2001, 33(2): 187-188.
- LIN T, LI T, YANG F Y. Relationship between infertility patients with ovulation dysfunction and ovarian autoantibodies [J]. J Beijing Med Univ, 2001, 33(2): 187-188.
- [21] DING N, HARLOW S D, RANDOLPH J F, et al. Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances (PFAS) and their effects on the ovary [J]. Hum Reprod Update, 2020, 26(5): 724-752.
- [22] CACCIOTTOLA L, DONNEZ J, DOLMANS M M. Ovarian tissue and oocyte cryopreservation prior to iatrogenic premature ovarian insufficiency [J]. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2022, 81: 119-133.
- [23] 姜立娟, 张思辰, 刘斐然, 等. 医源性早发型卵巢衰老和功能不全的研究进展 [J]. 中国老年保健医学, 2021, 19(2): 82-85.
- JIANG L J, ZHANG S C, LIU F R, et al. Research progress of

- iatrogenic early-onset ovarian aging and dysfunction [J]. Chin J Geriatr Care, 2021, 19(2): 82-85.
- [24] HU Y, YUAN D Z, WU Y, et al. Bisphenol A initiates excessive premature activation of primordial follicles in mouse ovaries via the PTEN signaling pathway [J]. Reprod Sci, 2018, 25(4): 609-620.
- [25] LIU J C, XING C H, XU Y, et al. DEHP exposure to lactating mice affects ovarian hormone production and antral follicle development of offspring [J]. J Hazard Mater, 2021, 416: 125862.
- [26] CHEN Y, ZHOU L, XU J, et al. Maternal exposure to perfluorooctanoic acid inhibits luteal function via oxidative stress and apoptosis in pregnant mice [J]. Reprod Toxicol, 2017, 69: 159-166.
- [27] 李德保, 周莉, 孙祖越. 早发性卵巢功能不全相关信号通路研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(2): 121-127. LI D B, ZHOU L, SUN Z Y. Research advances of premature ovarian insufficiency-related signaling pathways [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(2): 121-127.
- [28] CAI L, ZONG D K, TONG G Q, et al. Apoptotic mechanism of premature ovarian failure and rescue effect of Traditional Chinese Medicine; a review [J]. J Tradit Chin Med, 2021, 41(3): 492-498.
- [29] 丁艳. TGF- β 1/Smad 信号通路在卵巢功能衰退中的表达及意义 [D]. 张家口: 河北北方学院, 2018. DING Y. Expression and significance of TGF- β 1/Smad signaling pathway in ovarian function decline [D]. Zhangjiakou: Hebei North University, 2018.
- [30] 刘雪玲, 胡春艳, 刘港, 等. 卵巢早衰发病机制及相关治疗机制的最新研究进展 [J]. 江苏大学学报(医学版), 2021, 31(6): 541-548. LIU X L, HU C Y, LIU G, et al. The latest research progress on the pathogenesis and related treatment mechanism of premature ovarian failure [J]. J Jiangsu Univ Med Ed, 2021, 31(6): 541-548.
- [31] 余庆. Wnt/ β -Catenin 信号通路的激活或抑制对水牛颗粒细胞雌二醇和孕酮合成的影响 [D]. 南宁: 广西大学, 2021. YU Q. Effects of activation or inhibition of Wnt/ β -Catenin signaling pathway on estradiol and progesterone synthesis in buffalo granulosa cells [D]. Nanning: Guangxi University, 2021.
- [32] YANG Z, DU X, WANG C, et al. Therapeutic effects of human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived microvesicles on premature ovarian insufficiency in mice [J]. Stem Cell Res Ther, 2019, 10(1): 250.
- [33] 于潇, 王玉超, 刘金星, 等. 补肾养精颗粒灌胃对早发性卵巢功能不全大鼠卵巢颗粒细胞凋亡的抑制作用及其机制 [J]. 山东医药, 2022, 62(26): 12-16. YU X, WANG Y C, LIU J X, et al. Inhibitory effect of Bushen Yangjing Granule on apoptosis of ovarian granulosa cells in rats with premature ovarian insufficiency and its mechanism [J]. Shandong Med J, 2022, 62(26): 12-16.
- [34] JIANG Y, ZHU D, LIU W, et al. Hedgehog pathway inhibition causes primary follicle atresia and decreases female germline stem cell proliferation capacity or stemness [J]. Stem Cell Res Ther, 2019, 10(1): 198.
- [35] 朱轶轩, 董晓英. 基于卵母细胞线粒体探讨早发性卵巢功能不全发生机制 [J]. 生殖医学杂志, 2020, 29(4): 545-549. ZHU Y X, DONG X Y. Exploring mechanism of premature ovarian insufficiency based on oocyte mitochondria [J]. J Reprod Med, 2020, 29(4): 545-549.
- [36] 向恬, 马瑞红, 王宝娟, 等. SIRT1 调控卵泡发育、延缓卵巢衰老的研究进展 [J]. 中国生育健康杂志, 2020, 31(4): 389-391. XIANG T, MA R H, WANG B J, et al. Research progress of SIRT1 regulating follicular development and delaying ovarian aging [J]. Chin J Reprod Health, 2020, 31(4): 389-391.
- [37] 贲涵芝, 邱丙全, 杨洋. SIRT1 调控其下游非组蛋白分子乙酰化修饰影响细胞凋亡的分子机制 [J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2021, 37(10): 1281-1289. BEN H Z, QIU B Q, YANG Y. The molecular mechanism of SIRT1-catalysed deacetylation on non-histone proteins and its impact on cell apoptosis [J]. Chin J Biochem Mol Biol, 2021, 37(10): 1281-1289.
- [38] 魏天琴, 凌丽, 冯秀山, 等. 环磷酰胺对大鼠卵巢结构与功能的影响及机制 [J]. 解放军医学杂志, 2018, 43(3): 195-200. WEI T Q, LING L, FENG X S, et al. Effects and mechanism of cyclophosphamide on the ovarian structure and function of rats with premature ovarian failure [J]. Med J Chin People's Liberation Army, 2018, 43(3): 195-200.
- [39] 刘希萍. 基于动物实验和网络药理研究调经汤对 POI 的作用及机制 [D]. 杭州: 浙江中医药大学, 2022. LIU X P. A study on the effects and mechanisms of tonifying menstruation on POI based on animal experiments and network pharmacology [D]. Hangzhou: Zhejiang Chinese Medical University, 2022.
- [40] DU R, CHENG X, JI J, et al. Mechanism of ferroptosis in a rat model of premature ovarian insufficiency induced by cisplatin [J]. Sci Rep, 2023, 13(1): 4463.
- [41] 吴玉萍. 内质网应激在顺铂诱发早发性卵巢功能不全中的作用机制 [D]. 广州: 南方医科大学, 2018. WU Y P. Mechanisms of endoplasmic reticulum stress in cisplatin-induced early onset ovarian insufficiency [D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2018.
- [42] 贺宇恒. 放疗致卵巢早衰鼠模型的构建及卵巢早衰患者 MCL-1 基因的初步研究 [D]. 南京: 南京医科大学, 2018. HE Y H. Construction of a murine model of radiotherapy-induced premature ovarian failure and a preliminary study of the MCL-1 gene in patients with premature ovarian failure [D]. Nanjing: Nanjing Medical University, 2018.
- [43] 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.
- [44] 袁苑, 陈燕霞, 马堃, 等. 探索建立雷公藤多苷致早发性卵巢功能不全肾虚血瘀证的小鼠模型 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(9): 1895–1903.
- YUAN Y, CHEN Y X, MA K, et al. Establishment of premature ovarian insufficiency kidney deficiency and blood stasis pattern mouse model with *Tripterygium wilfordii* polyglycoside for Bushen Culuan Decoction therapy [J]. China J Chin Mater Med, 2019, 44(9): 1895–1903.
- [45] 楚玉凤. 雷公藤多苷诱导卵巢颗粒细胞经线粒体途径凋亡及枸杞多糖拮抗该损伤的机制研究 [D]. 银川: 宁夏医科大学, 2022.
- CHU Y F. GTW induced apoptosis of ovarian granulosa cells through mitochondrial pathway and the mechanism of LBP antagonizing the injury [D]. Yinchuan: Ningxia Medical University, 2022.
- [46] 王凯, 刘帅帅, 郭起岳, 等. 氢化可的松致 SD 大鼠肾阳虚证卵巢早衰模型研究 [J]. 成都医学院学报, 2016, 11(1): 10–15.
- WANG K, LIU S S, GUO Q Y, et al. Study on premature ovarian failure model induced by hydrocortisone in SD rats with kidney Yang deficiency pattern [J]. J Chengdu Med Coll, 2016, 11(1): 10–15.
- [47] 王秀秀, 李威, 吴效科. 肾上腺与多囊卵巢综合征 [J]. 世界中西医结合杂志, 2008, 3(11): 681–683.
- WANG X X, LI W, WU X K. Adrenal gland and polycystic ovary syndrome [J]. World J Integr Tradit West Med, 2008, 3(11): 681–683.
- [48] 廖梦琦, 石高峰, 卢燕, 等. 补肾方药干预皮质酮所致早发性卵巢功能不全大鼠比较研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2020, 27(8): 63–67.
- MIAO M Q, SHI G F, LU Y, et al. Comparative study on effect of tonifying kidney prescriptions on corticosterone induced premature ovarian insufficiency rats [J]. Chin J Inf Tradit Chin Med, 2020, 27(8): 63–67.
- [49] 魏莹晖. 皮质酮对小鼠卵巢卵泡发育及卵巢颗粒细胞 LHR 表达的影响及机制 [D]. 南京: 南京农业大学, 2020.
- WEI Y H. Effect and mechanism of corticosterone on ovarian follicle development and LHR expression in ovarian granulosa cells in mice [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2020.
- [50] 江银, 王徽, 于潇, 等. 枸杞多糖调控 AMPK/Sirt 自噬途径延缓 D-gal 诱导的卵巢早衰的机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(22): 6175–6182.
- JIANG Y, WANG H, YU X, et al. *Lycium barbarum* polysaccharides regulate AMPK/Sirt autophagy pathway to delay D-gal-induced premature ovarian failure [J]. China J Chin Mater Med, 2022, 47(22): 6175–6182.
- [51] 王翠丽, 韩艳军, 刘小虎, 等. SIRT3/SOD2 通路在 D-半乳糖介导的卵巢早衰中的作用 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(98): 278–280.
- WANG C L, HAN Y J, LIU X H, et al. To explore the pathway of SIRT3/SOD2 on regulating the mice of premature ovarian failure by d-gal [J]. World Latest Med Inf, 2019, 19(98): 278–280.
- [52] 陈思. 补肾活血汤改善早发性卵巢功能不全的临床研究和调节模型小鼠 Keap1/Nrf2/ARE 信号通路的机制研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2021.
- CHEN S. Clinical study of premature ovarian insufficiency improved by bu Shen Huo Xue Tang and mechanism study of Keap1/Nrf2/ARE signaling pathway regulated by bu Shen Huo Xue Tang in model mice [D]. Nanjing: Nanjing University of Chinese Medicine, 2021.
- [53] 王佩娟, 陈思, 卢燕. 基于免疫性卵巢早衰小鼠模型的建立研究卵巢早衰的免疫机制 [J]. 中国临床研究, 2017, 30(3): 298–301.
- WANG P J, CHEN S, LU Y. Study on immune regulatory mechanism of premature ovarian failure in mouse model [J]. Chin J Clin Res, 2017, 30(3): 298–301.
- [54] 周玉霞, 赵茜茜, 帅领, 等. Fkbp38 基因缺失导致小鼠早发性卵巢功能不全: 基于激活 mTOR 通路并诱导细胞凋亡 [J]. 南方医科大学学报, 2022, 42(11): 1611–1617.
- ZHOU Y X, ZHAO H H, SHUAI L, et al. Fkbp38 deletion induces premature ovarian insufficiency in mice by activating mTOR signaling and inducing granulosa cell apoptosis [J]. J South Med Univ, 2022, 42(11): 1611–1617.
- [55] 加秀凤, 陈瑞, 罗丹, 等. 调经养巢方对卵巢早衰模型大鼠卵巢超微结构及细胞凋亡的影响 [J]. 湖北中医药大学学报, 2022, 24(2): 5–9.
- JIA X F, CHEN R, LUO D, et al. Research on effect of Tiaojing Yangchao Paste and Decoction on ovarian ultrastructure and cell apoptosis in premature ovarian failure rats [J]. J Hubei Univ Chin Med, 2022, 24(2): 5–9.
- [56] ZHOU Q, JIN X, WANG J, et al. 4-vinylcyclohexene diepoxide induces premature ovarian insufficiency in rats by triggering the autophagy of granule cells through regulating miR-144 [J]. J Reprod Immunol, 2023, 157: 103928.
- [57] 陈莉, 马晓娟, 史大卓. 激素替代疗法: 获益还是风险 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2022, 20(11): 2012–2016.
- CHEN L, MA X J, SHI D Z. Hormone replacement therapy: benefit or risk [J]. Chin J Integr Med Cardio Cerebrovasc Dis, 2022, 20(11): 2012–2016.
- [58] 尹仕红, 邹秀兰. 植物雌激素的作用及安全性 [J]. 国际内分泌代谢杂志, 2006, 26(6): 427–430.
- YIN S H, ZOU X L. Effect and safety of phytoestrogen [J]. Int J Endocrinol Metab, 2006, 26(6): 427–430.