



女性卵巢储备及相关生育力保护手段

涂婉^{1,2,3,4†}, 郭致远^{1,2,3,4†}, 何北佳^{1,2,3,4}, 王红梅^{1,2,3,4}, 闫龙^{1,2,3,4*}

1. 中国科学院动物研究所, 干细胞与生殖生物学国家重点实验室, 北京 100101;

2. 中国科学院干细胞与再生医学创新研究院, 北京 100101;

3. 中国科学院大学, 北京 100049;

4. 北京干细胞与再生医学研究院, 北京 100101

† 同等贡献

* 联系人, E-mail: yanlong@ioz.ac.cn

收稿日期: 2023-08-01; 接受日期: 2023-08-29; 网络版发表日期: 2024-01-10

国家重点研发计划(批准号: 2019YFA0110900, 2022YFA1104100)资助

摘要 卵巢储备是指卵巢内原始卵泡数量和卵母细胞质量, 代表女性生育力水平, 卵巢储备的消耗是生育力下降的主要原因。在生理状态下, 原始卵泡的周期性募集和卵母细胞质量降低导致卵巢储备逐年下降, 并在绝经后耗竭。病理状态下, 卵巢储备的过早耗竭导致排卵提前停止, 雌激素缺乏, 女性患骨质疏松症和心血管疾病的风险增加。因此, 卵巢储备对于女性健康至关重要。随着女性生育年龄的推迟以及对自身生育力保护意识的增强, 女性生育力保护的社会需求日益增加。因此, 围绕卵巢储备讨论相关的生育力保护措施不可或缺。本文综述了卵巢储备的变化规律, 卵巢储备下降引起的疾病, 卵巢储备下降的分子机制和相关的生育力保护手段, 旨在为女性生育力保护提供支持。

关键词 卵巢储备, 卵巢储备下降机制, 女性生育力保护, 干细胞治疗

女性生殖健康是人口健康的基石。卵巢是女性生殖系统的主要器官之一, 具有分泌激素和产生卵母细胞的功能。卵巢主要由皮质和髓质组成, 皮质中分布着大量的卵泡, 卵泡是卵巢的基本功能单元, 根据发育阶段可分为原始卵泡、初级卵泡、次级卵泡、窦卵泡和排卵前卵泡。原始卵泡的数量和卵母细胞的质量代表着卵巢储备。女性出生时拥有大约100万个不可再生的原始卵泡, 进入青春期后, 卵泡的周期性募集导致原始卵泡数量下降, 卵巢储备逐年降低, 并在绝经后耗竭。卵巢储备下降导致女性面临怀孕概率降低, 分娩结局不良等生育力下降问题。随着生活环境和习

惯的变化、社会压力增加及女性生育年龄推迟, 高龄及卵巢储备功能下降人群增多, 癌症患者的生育力保存诉求增加。因此, 了解卵巢储备变化规律, 建立生育力保护措施对我国人口健康战略具有重要价值。

1 卵巢储备

卵巢储备大小是决定女性生育潜能高低的重要指标。在哺乳动物中, 代表着卵巢储备的原始卵泡库在出生前后建立, 随着年龄的增长, 原始卵泡数量和质量逐年下降。当卵泡数量下降到一定阈值时, 女性进入绝经

引用格式: 涂婉, 郭致远, 何北佳, 等. 女性卵巢储备及相关生育力保护手段. 中国科学: 生命科学, 2024, 54: 161–172

Tu W, Guo Z Y, He B J, et al. Ovarian reserve and fertility preservation (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2024, 54: 161–172, doi: [10.1360/SSV-2023-0165](https://doi.org/10.1360/SSV-2023-0165)

期, 丧失生育力. 因此, 原始卵泡库的初始大小和耗竭的速率决定了女性的生殖寿命.

1.1 卵巢储备的建立

在哺乳动物的早期胚胎发育阶段, 原始生殖细胞(primordial germ cells, PGCs)经背侧肠系膜迁移到生殖嵴并快速增殖, 形成胞质相连的生殖细胞团, 称为“cyst”^[1,2]. Cyst中的细胞进入第一次减数分裂, 并停滞在双线期, 发育为初级卵母细胞(primary oocyte). 出生前后, cyst开始破裂, 大量卵母细胞凋亡, 剩余的卵母细胞被一层前体颗粒细胞包围, 形成原始卵泡(primordial follicle)^[2]. 啮齿类、非人灵长类动物和人类卵巢储备的建立时间各不相同^[2-10].

小鼠(*Mus musculus*)是经典的啮齿类模式动物, 该物种的生殖细胞在胚胎期13.5天开始减数分裂, 出生后1天原始卵泡开始形成, 出生后5天原始卵泡组装完成^[2], 因此它的原始卵泡库在出生后不久建立. 值得注意的是, 一种生活在非洲的社会性啮齿类动物裸鼯鼠(*Heterocephalus glaber*)具有极长的生殖寿命(>30岁), 整个生命周期都能繁殖, 这得益于它巨大的原始卵泡库^[9]. 裸鼯鼠的原始卵泡在出生后第8天开始形成, 但直到出生后6个月卵巢内仍然存在cyst, 此时的卵巢内大约有11万原始卵泡, 是同等体积大小哺乳动物的10倍以上^[9]. 裸鼯鼠生殖细胞减数分裂、原始卵泡组装等事件在出生后发生并且持续六个月以上, 因此可以作为研究生殖细胞发育和卵巢储备建立的理想模式动物. 不同非人灵长类动物的卵巢储备建立情况不尽相同, 狨猴(*Callithrix jacchus*)和日本猕猴(*Macaca fuscata*)新生儿卵巢内含有大量正在进行有丝分裂的生殖细胞^[7,8], 28日龄的日本猕猴卵巢内仍然存在少量cyst. 而食蟹猴(*Macaca fascicularis*)原始卵泡库则在出生后两周内建立完成^[10]. 人类(*Homo sapiens*)卵泡发生早在胚胎期就已启动, 胚胎发育的第11~12周, 生殖细胞进入减数分裂阶段^[5], 第13周原始卵泡开始形成^[4], 原始卵泡库在出生后不久建立^[6]. 人类在胚胎期5个月时生殖细胞数量达到峰值680万, 但这并不能代表卵巢储备的最大值, 因为绝大多数卵母细胞在cyst破裂之后经历凋亡, 出生时仅有约100万卵母细胞存活并形成卵泡, 此时原始卵泡的数量和卵母细胞质量代表卵巢储备的初始水平^[3]. 啮齿类、非人灵长类和人类的卵泡发生模式基本相似, 即早期生殖细胞总数开始上升,

随着cyst破裂, 原始卵泡开始形成, 卵母细胞总数迅速下降, 当所有卵母细胞被颗粒细胞包裹形成原始卵泡时, 原始卵泡库建立完成.

1.2 卵巢储备动态变化

生理状态下, 随着年龄的增长, 卵巢储备逐年降低. 在病理状态下, 卵巢储备短期内可能出现急剧下降. 目前, 围绕卵巢储备变化的研究已在啮齿类、非人灵长类动物和人类中开展, 卵巢储备的研究方法也日益完善.

不同品系小鼠的卵巢储备可相差2倍以上, 出生后小鼠原始卵泡数量为3000~6000个^[11], 性成熟后卵泡数量为1000~3000个^[11,12]. 在非人灵长类动物中, 豚尾猴(*Macaca nemestrina*)出生时大约有14万原始卵泡, 到12岁剩余约1000个原始卵泡, 该物种的卵巢储备呈对数线性下降速率^[13]. 食蟹猴出生时原始卵泡大约为30万, 青春期下降到15万, 成年后原始卵泡数量为8万左右, 23岁食蟹猴卵巢内剩余1000多个原始卵泡^[10]. 卷尾猴和松鼠猴目前只有成年期卵巢储备的研究, 成年雌性卷尾猴(*Cebus apella*)的卵巢储备大约为15万^[14], 松鼠猴(*Saimiri* spp.)成年后储备为9万^[15]. 人类女性出生时大约有100万个原始卵泡^[3], 在卵泡周期性募集之前, 部分卵泡发生闭锁和凋亡, 到青春期开始时大约只有30万~40万原始卵泡^[16]. 进入成年期后, 卵巢储备不断耗竭, 37岁时下降至2.5万^[17], 当卵巢储备达到1000左右的阈值时, 月经开始不规律, 进入围绝经期, 绝经后的卵巢中没有卵泡^[18]. 由于人类卵巢材料稀缺以及伦理的限制, 大多数卵巢储备研究只针对特定年龄段女性, 很少有均匀跨越女性整个生命周期的卵巢储备研究. 目前, 年龄跨度较广, 样本量较大的三个研究分别发表于1952年、1992年和2008年. 1952年, 瑞典卡罗林斯卡医学院Block教授^[19]以6~7岁为一个年龄组, 统计了6~44岁44个女性卵巢中原始卵泡数量. 每个年龄组原始卵泡数量分别为: 6~9岁48.4万, 12~16岁38.2万, 18~24岁15.5万, 25~31岁5.9万, 32~38岁7.4万, 40~44岁8300个. 1992年, Faddy^[17]对43例19~50岁女性卵巢进行了卵泡计数, 并结合1952年Block和自己1987年发表的卵巢储备研究数据, 建立了卵巢储备的双指数预测模型, 认为卵巢储备的下降速率分为两个阶段, 在37岁前下降速率较慢, 37岁后加速下降. 2008年, Hansen等人^[16]收集了122例0~51岁的女性卵巢标本并

统计原始卵泡数量,建立了卵巢储备随年龄衰减的数学模型,认为卵泡数量衰减符合一个简单的幂函数: $\log(y)=ax^b+c$, 其中 a , b , c 为常数, $y=x$ 岁时的卵泡数. 这一模型认为,随着年龄的增长,卵泡数量衰减的速率会越来越快^[16]. 卵巢储备的测量方法也在不断发展,早在1952年,Block教授^[19]使用连续切片系统研究了女性卵巢储备,简单来说就是将石蜡包埋的卵巢连续切片,以一定间隔计数,随后将计数的卵泡数乘以采样分数的倒数,引入校正因子,得到卵巢中的总卵泡数,该方法此后被广泛用于卵巢储备研究^[19,20]. 但是该方法对于切片技术操作要求极高,需要投入巨大的时间和精力. 1997年,Miller等人^[21]将体视学方法应用于卵泡计数,即计算一定体积内的卵泡数量,该方法无需使用校正因子并大大减少了切片的工作量,后续不断改进并成为卵巢储备研究的金标准^[22].

女性卵巢储备下降的最终结局是进入绝经期,不同国家和地区女性的绝经年龄从44.6岁到52岁不等. 非洲、中东、部分拉丁美洲和亚洲国家的妇女绝经年龄较早,欧洲国家、澳大利亚、加拿大和美国的妇女较晚^[23]. 绝经年龄的差异可能是不同国家女性卵巢储备的差异所导致,因此制定卵巢储备保护策略需要了解不同地区女性卵巢储备的动态变化. 但关于卵巢储备的研究主要是在欧洲和北美洲人群中进行的^[16-19],因此研究亚洲,特别是中国女性的卵巢储备十分必要.

1.3 卵巢储备检测指标

目前,临床上结合年龄因素进行激素水平和超声检测是评估卵巢储备的常用手段^[24].

卵巢储备评估的激素指标有: 雌激素(17 β -estradiol, E2)、卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)、抗缪勒氏管激素(anti-Müllerian hormone, AMH)和抑制素B(inhibin B, INHB)^[24]. 其中, E2和FSH通常在月经周期早期(第2~4天)进行测量,这一时间段测量结果为基础雌激素与基础促卵泡素. E2最主要的来源是生长卵泡的颗粒细胞,其水平随卵泡生长而升高,因此可作为检测卵巢储备的重要指标. 当卵巢储备下降时,基础E2水平下降. 然而,有研究指出, E2水平受到月经周期影响较大,作为独立检测指标准确度较低^[25]. 受E2水平下降的影响,在下丘脑-垂体-卵巢轴的调节下,垂体分泌的促性腺激素FSH出现代

偿性升高,因此FSH也常作为卵巢储备的预测指标. 但其明显变化仅在卵巢储备功能下降较严重时才发生,需要联合其他指标预测卵巢储备. 卵巢储备低下的患者通常出现低水平E2和高水平FSH的症状,因此E2与FSH水平经常共同作为卵巢储备的评价标准. AMH主要由窦前卵泡和早期窦卵泡的颗粒细胞分泌,受月经周期的影响较小. 大量临床研究已经证实, AMH的降低可预测卵巢储备下降,对卵巢储备评估有着很高的参考价值^[26]. INHB由生长的窦前卵泡和小窦卵泡的颗粒细胞产生,与AMH同为TGF- β 超家族成员,对垂体FSH的合成和分泌具有负反馈调节作用,能够反映生长卵泡的数量与质量,但其在月经周期内的波动较大,是否能准确反映卵巢储备水平存在争议^[27].

基础窦卵泡数(antral follicle count, AFC)是检测卵巢功能最典型的超声标志物^[28]. AFC指卵泡期经阴道超声检测到的直径2~10毫米的窦卵泡数量, AFC作为单一指标预测卵巢功能和反应性很可靠,但无法直接预测卵巢储备. 此外,利用超声对卵巢体积与卵巢基质血流进行检测也是评估卵巢储备的可靠手段^[29]. 目前,临床上对卵巢储备的评价常联合多种指标进行综合判断.

2 卵巢储备下降与相关疾病

女性卵巢储备下降是生理或病理性卵巢衰老的主要原因. 卵巢内卵泡数量和卵母细胞质量的下降在影响女性生殖健康的同时也会给女性多组织器官带来不利影响,降低女性生活质量.

2.1 早发性卵巢功能不全

病理条件下,卵巢储备的过早耗竭导致女性患早发性卵巢功能不全(premature ovarian insufficiency, POI). POI患者通常表现为40岁前出现月经异常(闭经、月经稀发或频发),血清FSH水平升高,血清E2水平下降^[30]. 患有POI的妇女可能出现围绝经期症状以及骨质疏松^[31]、心血管疾病等^[32]. 其导致的不孕、早绝经等症状严重损害了女性生殖健康. 值得注意的是,约有四分之三的POI女性卵巢内存有剩余卵泡^[33],因此,使用休眠卵泡激活的治疗手段理论上可以恢复患者生育力^[34].

2.2 卵巢储备下降引起其他疾病

女性卵巢储备耗竭不仅影响生殖健康, 对中枢神经系统^[35], 体重和代谢^[36,37], 皮肤和肌肉骨骼^[38], 心血管系统^[39]等也会产生一系列影响, 降低女性的生活质量^[40].

(1) 中枢神经系统疾病. 与卵巢储备下降相关的中枢神经系统相关症状主要表现为血管舒缩症状, 睡眠障碍, 焦虑和抑郁, 偏头痛和认知功能改变等. 有研究显示, 约75%的妇女在围绝经期经历血管舒缩症状, 如潮热和出汗. 在65~79岁的女性中, 约有三分之一仍有血管舒缩症状^[35]. 血管舒缩症状不仅影响白天的生活状态, 还可能引起晚间的睡眠障碍, 其与围绝经期女性常见的阻塞性睡眠呼吸暂停可进一步对认知能力造成影响^[41]. 已有研究报道, 潮热和抑郁可能是围绝经期女性睡眠障碍的原因之一, 其机制可能与围绝经期激素水平不稳定导致大脑出现体温调节以及昼夜节律调节功能障碍密切相关^[42,43].

(2) 代谢障碍和心血管疾病. 与卵巢储备下降相关的代谢和心血管相关症状主要表现为皮下与内脏脂肪的积累. 现已证实, 绝经后女性的肥胖率远高于绝经前女性^[36]. 大量研究提供了皮下脂肪积累与卵泡耗竭密切相关的证据^[44]. 卵泡接近耗竭的女性罹患动脉粥样硬化、心血管疾病的风险显著上升, 这可能是雌激素与雄性激素比例失衡、内脏脂肪前体细胞的脂肪积累增加、内脏脂肪组织中促炎因子和脂肪因子产生所导致的^[37,45]. 研究显示, 绝经后女性的心脏脂肪量明显大于绝经前女性, 且这种差异与种族、地域、肥胖无关^[39]. 同时, 该年龄段女性的血脂谱也会发生变化, 总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇和载脂蛋白B显著增加^[46], 使得动脉粥样硬化发生风险大幅升高. 随着雌激素分泌减少, 血管平滑肌细胞的生长和增殖也会受到抑制^[47], 进一步增加心血管疾病发生的概率. 值得注意的是, 绝经年龄早于45岁的女性心血管疾病发生的风险更大^[48].

(3) 骨质疏松及其他疾病. 骨质疏松也是围绝经期女性的高发疾病, 女性在围绝经期晚期骨密度急剧下降, 骨折风险大幅增加. 绝经后第3~5年发生的骨丢失主要影响骨小梁组织, 而在绝经后10~20年, 骨小梁和皮质骨均有丢失. 有报道显示, 绝经后女性脊柱的年平均丢失率高达1.8%~2.3%, 臀部骨丢失率则为1.0%

~1.4%^[38]. 同时, 女性肌肉质量随着围绝经期的到来也会下降. 目前虽然没有证据表明肌肉组织的退化与卵巢储备下降有关, 但这种退化过程在老年女性中比老年男性中更为明显, 而且在绝经后似乎发生得更快^[49]. 处于围绝经期的女性皮肤厚度、弹性和水分减少, 皱纹增多. 这些变化主要由真皮层产生胶原的成纤维细胞减少, 弹性蛋白多糖含量和水滞留减少造成^[50]. 此外, 雌激素缺乏时黏膜对病原体的通透性增加、黏膜损伤概率增加、黏膜愈合时间延长^[51].

3 卵巢储备下降及卵巢衰老的分子机制

卵巢储备下降是引起卵巢衰老的主要原因之一. 卵巢衰老是一个多因素、多机制参与的病理生理过程. 遗传变异、氧化应激、线粒体功能障碍、慢性炎症和纤维化等多种因素通过影响卵母细胞数量和质量以及卵巢微环境, 引起卵巢储备下降, 导致卵巢病理或生理衰老(图1).

3.1 遗传变异

遗传变异包括X染色体或常染色体的点突变和染色体变异, 是POI的发病机制之一. POI相关的X染色体异常主要包括X单体或三体、X染色体部分缺失、等臂染色体、染色体倒位和染色体平衡易位. 在非整倍体中, 特纳综合征(X单体)的发病率为0.04%, 并与身材矮小、性腺发育不全和原发性闭经有关^[52]. X染色体的缺失通常出现在Xq24~Xq27区, 易位断点主要发生在Xq13~Xq21区, 对卵巢发育及功能极具重要性的基因主要集中在这些区域. 与POI相关的基因变异主要包括: 性腺发育相关基因(*NR5A1*, *WT1*, *FOXL2*, *BMP15*, *GDF9*, *FIGLA*, *NOBOX*, *SALL4*)、减数分裂过程中的同源重组修复基因(*SYCE1*, *SPIDR*, *PSMC3IP*)、DNA错配修复相关基因(*MSH4*, *MSH5*, *ERCC6*, *EXO1*, *UIMC1*)、DNA双链断裂修复基因(*MCM8*, *MCM9*, *FANCI*, *HELQ*)、DNA复制相关基因(*PRIM1*, *TLK1*, *POLG*, *HFM1*)、mRNA转运和翻译相关基因(*FMRI*, *STAG3*, *KHDRBS1*, *NUP107*)、生殖细胞发育相关基因(*NANOS3*, *eIF4ENIF1*, *SOHLH1*)、性激素相关基因(*PGRMC1*, *AMH*, *AMHR2*, *FSHR*), 这些基因的突变均会导致不同程度的卵巢衰老^[53].

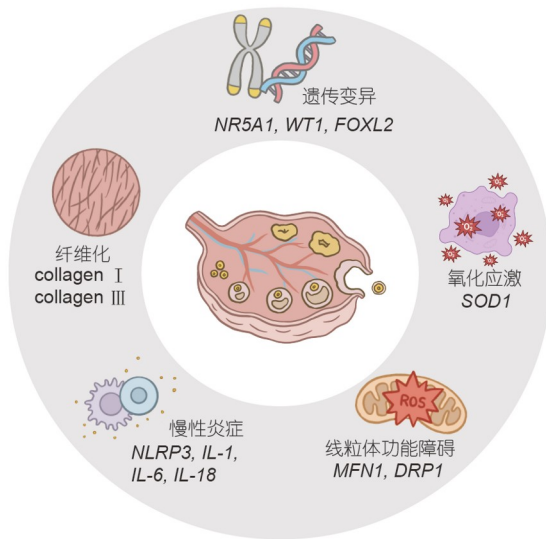


图 1 卵巢储备下降和卵巢衰老的分子机制

Figure 1 The molecular mechanisms of declining ovarian reserve and ovarian aging

3.2 氧化应激

活性氧(reactive oxygen species, ROS)是线粒体氧化磷酸化的副产物,适量的ROS对于卵巢的正常生理功能必不可少。ROS不仅参与活性物质的合成、细胞解毒和免疫功能,还作为重要的第二信使参与细胞间信号转导和基因表达的调节,从而维持细胞内平衡。在生理条件下,氧化和抗氧化系统处于动态平衡状态。然而,当ROS产生过多时,会导致氧化还原稳态的失衡,过量的ROS与周围的蛋白质、脂质和DNA发生反应,导致突变和大分子损伤,并在体内诱导氧化应激(oxidative stress, OS)状态。OS会导致卵泡发育异常、卵母细胞质量下降、卵母细胞和颗粒细胞凋亡,从而加速卵巢储备下降。研究表明,卵巢中抗氧化基因的缺失会导致卵泡生长异常,如*Sod1*缺陷小鼠卵巢的排卵前卵泡减少,产仔数减少^[54]。在卵母细胞中,氧化应激会引起纺锤体组装和染色体排列异常,进而导致减数分裂异常^[55]。OS引起的端粒磨损也会导致卵母细胞减数分裂异常^[56]。在减数分裂早期,端粒连接染色体,促进染色体的排列、配对,端粒磨损会导致染色体错位和纺锤体的破坏,从而降低卵母细胞的成熟度和质量,促进卵巢衰老^[57]。OS通过多种途径诱导卵巢细胞凋亡,卵母细胞的凋亡直接导致生殖细胞丧失,颗粒细胞的凋亡导致卵泡闭锁,从而加剧卵巢储备下

降。卵巢组织中过量的ROS可以激活Fas/FasL途径,募集caspase-8,从而诱导细胞凋亡^[58]。此外,OS还可以激活肌醇需求酶1(inositol-requiring enzyme 1, IRE1)和蛋白激酶RNA样内质网激酶(protein kinase RNA-like ER kinase, PERK),诱导未折叠蛋白反应因子(unfolded protein response, UPR),最终通过内质网应激途径促进颗粒细胞的凋亡,引起卵泡闭锁,导致卵巢储备下降^[59]。

3.3 线粒体功能障碍

线粒体是包括卵母细胞在内多种细胞的能量供应细胞器,它通过电子传递链上的氧化磷酸化作用生成三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)。由于卵母细胞的核成熟,特别是在排卵前维持减数分裂停滞,是环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, CAMP)依赖的过程,而CAMP是由ATP环化形成,因此线粒体产生足够的ATP对卵母细胞发育至关重要。线粒体功能障碍是卵巢衰老的标志之一,线粒体驱动卵巢衰老的机制包括线粒体DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)缺失和损伤、融合和分裂受损、代谢障碍等。衰老会导致线粒体生物合成减少,表现为mtDNA含量降低,在POI、卵巢储备功能减退(diminished ovarian reserve, DOR)和生理性卵巢老化过程中经常观察到。此外,mtDNA的突变、碱基氧化和双链断裂也会导致卵巢衰老^[60]。线粒体通过融合和裂变改变形状以适应代谢环境,小鼠卵母细胞中线粒体融合蛋白Mfn1和裂变蛋白Drp1的特异性缺失会使卵母细胞发育受阻,进一步加速卵巢储备的耗竭^[61,62]。线粒体是细胞内产生ROS的主要部位,因此也是最易受ROS损伤的部位之一。ROS损伤会导致线粒体膜电位降低和ATP产生减少,这些都会导致线粒体代谢障碍和结构改变^[63]。线粒体对卵母细胞的发育、成熟和受精后胚胎发育至关重要,因此线粒体功能障碍会导致卵母细胞质量降低,进而导致卵巢储备下降^[64]。

3.4 慢性炎症

2000年,Franceschi等人^[65]提出了炎症老化(inflamm-aging)的概念,是指随年龄增长而在体内发生的慢性、无菌、低度炎症,这一过程会加速组织器官衰老。炎症通常以巨噬细胞等先天免疫细胞中*Nlrp3*基因的激活为特征,并增加IL-6, TNF- α , IL-1 β 和IL-18等

促炎因子的分泌^[66]。在小鼠生殖衰老过程中, 卵巢中 *Nlrp3* 的表达呈年龄依赖性增加。抑制 *Nlrp3* 的表达可以延缓雌性小鼠卵巢衰老, 改善与雌性生殖衰老相关的激素和代谢特征, 改善自噬, 减少细胞凋亡^[66]。Banerjee 等人^[67]报道, 高浓度的 IL-6 会对第二次减数分裂中期 (metaphase II, MII) 的小鼠卵母细胞的纺锤体形成和染色体排列产生负面影响, 表明 IL-6 等促炎因子水平的升高可能会导致卵母细胞减数分裂能力下降。此外, 慢性炎症还会导致胶原沉积, 进一步导致纤维化而促进卵巢衰老。

3.5 纤维化

排卵过程依赖细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 重塑, ECM 由胶原、弹性蛋白、糖蛋白和蛋白多糖组成。随着年龄增长, ECM 过度积累取代实质组织, 扰乱卵巢的结构和功能。以 I 型和 III 型胶原沉积为特征的纤维化是卵巢老化的特征之一^[68,69]。卵巢内胶原沉积导致排卵能力下降, 可能是因为卵泡周围的胶原蛋白增加, 形成了坚硬的屏障, 阻碍卵泡发育和排卵所需的蛋白水解性组织重塑^[70]。研究表明, 纤维化也是化疗引起卵巢损伤的原因之一, 化疗后的卵巢皮质纤维化程度增加, 这可能导致卵巢皮质中原始卵泡的丢失^[71]。一些抗纤维化药物如二甲双胍 (metformin)、吡非尼酮 (pirfenidone) 和 BGP-15 均可以通过消除胶原纤维来延缓生殖衰老和提高排卵能力^[68,70]。

4 卵巢储备相关的女性生育力保护

卵巢储备相关的生育力保护主要针对因遗传或特殊机制导致的 POI, 以及医源性因素导致的卵巢储备下降。对于卵巢储备较为充足但未来可能面临卵巢储备迅速下降的群体, 冷冻保存卵母细胞和卵巢组织是最主要的治疗手段^[72]。对于卵巢储备已经十分低下的女性, 干细胞治疗技术为从根本上挽救女性生育力带来了希望, 有望在未来成为生育力保护的首要治疗方法。此外, 中医药、小分子药物和一些新型治疗手段也被证实对女性生育力有一定的保护作用^[73~76]。

4.1 冷冻保存技术

冷冻保存技术主要包括卵母细胞冷冻和卵巢组织冷冻。1986年, 慢速冷冻和快速解冻卵母细胞的方法首

次应用并实现成功妊娠^[77]。开放式以及封闭式玻璃化快速冷冻法的出现进一步增加了妊娠的成功率^[78,79]。开放式玻璃化冷冻法可以保证卵母细胞的超微结构不受破坏, 其妊娠效率与新鲜卵母细胞大致相当, 但存在污染的风险。因此, 研究人员开发了封闭式玻璃化冻存的手段, 避免了污染的发生。值得注意的是, 在玻璃化冻存卵母细胞的过程中, 升温环节比降温环节更加重要, 却容易被忽视^[80]。卵母细胞的获取不可避免地存在一些风险, 同时可能带来一定的社会问题, 因此我国对于该方法的受众群体有着较为严格的限制。目前, 该方法主要应用于罹患恶性肿瘤希望保留生育力的女性群体。

相对于卵母细胞冻存, 卵巢组织冻存能更大幅度地保留卵巢储备, 因为一片卵巢组织内含有数百个卵泡, 该方法已被证实可以应用于自体移植, 并最终获得活产新生儿^[81]。卵巢组织冷冻已经受到美国生殖医学学会的认可并应用于癌症治疗^[82]。1996年人卵巢组织首次实现成功冻存。2004年, 借助卵巢组织冻存后自体移植技术的首个婴儿出生^[83,84]。2015年, 该技术的成功妊娠率约为29%, 活产率为23%^[85]。从那时起, 活产率进一步攀升, 最近在3个不同的中心接受冷冻-解冻组织卵巢组织再植术的60名患者中活产率达到41%^[86]。目前, 该方法的患者选择标准是年龄在35岁以下 (卵巢储备仍然相对较高), 有五年以上存活期, 以及存在至少50%的卵巢功能不全风险^[87]。冻存技术的日益成熟和伦理要求的进一步规范将会使这一技术为女性生育力保存提供更多的选择方案。

4.2 干细胞治疗

目前广泛应用的冷冻保存技术只能维持已有卵巢储备不被过早破坏, 但是无法从根本上缓解卵巢衰老。近年来快速发展的再生医学手段有望为生育力保护带来全新思路。间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 可以通过同时刺激多种途径 (营养、旁分泌、免疫调节) 改善微环境, 恢复组织功能。MSCs 作为来源广泛, 无致瘤性且不受伦理争议的成体干细胞, 在女性生育力保护方面有着巨大潜力^[88]。从脐带、胎盘、骨髓、脂肪和子宫内膜等各种组织和器官中提取的 MSCs 可改善卵母细胞质量, 促进卵泡发育和排卵^[88,89]。目前基于小鼠等啮齿类动物的研究已经证实, MSCs 对 POI 和放化疗导致的卵巢衰老有较好的治疗

效果^[88]。在和人类生殖特性更相似的非人灵长类动物中, MSC治疗也成功改善了卵巢功能^[90]。MSCs已经在几项临床试验中被证明可以恢复卵巢功能并为女性不孕症提供有效的治疗^[91,92]。截至目前, 干细胞治疗POI的国际临床备案共有26例, 在中国、埃及、美国等7个国家开展(<https://clinicaltrials.gov>)。2016年, 埃及爱资哈尔大学的Edessy等人^[93]通过自体骨髓MSC移植, 治疗10例POI患者, 其中一例11个月后怀孕并产下足月健康女婴“Zeinab”, 这是世界首例干细胞治疗POI患者成功产下婴儿的案例。在2018年和2020年, 中国学者相继将脐带MSCs或胶原/脐带MSCs移植到POI患者卵巢中并使其成功妊娠和分娩^[91,92]。

此外, 干细胞来源的外泌体对POI具有较好的治疗效果^[94]。研究发现, 干细胞来源的外泌体可以改善卵巢储备, 促进卵泡生长, 减少卵泡闭锁, 恢复卵泡刺激素和雌激素水平。其作用机制包括抑制卵巢颗粒细胞凋亡, 抑制活性氧, 抑制炎症反应, 促进颗粒细胞增殖和血管生成。因此, 干细胞来源的外泌体在治疗POI方面具备很大的潜力。

4.3 其他治疗

除了上述机制较为明确的治疗方法, 传统医学如中医药、针灸等方法也被证明对卵巢早衰有一定疗效^[75]。靶向神经内分泌功能障碍的治疗(如促性腺激素释放激素的拮抗剂)^[74], 靶向胰岛素拮抗的治疗^[74], 以及生物等同激素^[73]的治疗也有望在临床对卵巢功能降低相关疾病起到治疗作用。同时, 使用线粒体替换技

术以恢复卵母细胞质量, 同样有助于提高生育能力^[95]。此外, 一些新型体外治疗方法, 如体外激活休眠卵泡^[76]、经皮耳迷走神经刺激^[96]等也可能对女性生育力降低相关疾病具有治疗作用。

5 展望

对于卵巢储备相关的女性生育力保护, 现阶段较为成熟的治疗方法仍然是冷冻保存技术, 但该方法适用于肿瘤治疗前有生育需求的女性, 无法从根本上提高女性生育力。干细胞疗法可以通过旁分泌作用改善卵巢微环境, 动员卵巢内剩余原始卵泡发育, 有望成为生育力保护的主流治疗方法, 但应用于临床仍然需要诸多努力: (i) 目前干细胞治疗仍然倾向于用一种细胞类型治疗多种疾病, 分离培养卵巢组织特异性MSCs治疗卵巢疾病, 是未来干细胞治疗卵巢衰老的发展方向之一。(ii) 制定标准的生产、运输、储存和治疗的干细胞产品是未来的努力方向之二。

与常规提高女性生育力策略相比, 人造卵母细胞则另辟蹊径, 在体外实现卵母细胞的分化和培养。在小鼠上已经实现从雌性多能干细胞诱导分化形成可育的卵母细胞^[97], 甚至利用雄性体细胞诱导分化成卵母细胞并产生后代^[98]。2022年, Saitou团队^[99]成功将人类和食蟹猴胚胎卵巢中的卵原细胞分离并在体外分化为卵母细胞。虽然这类研究距离应用于人类还有很长的路要走, 但它提供了体外生命孕育的理论支持, 为治疗不孕不育带来了新的希望。

致谢 感谢本实验室肖振宇博士、翟晶磊博士指导文章修改。

参考文献

- 1 Molyneux K A, Stallock J, Schaible K, et al. Time-lapse analysis of living mouse germ cell migration. *Dev Biol*, 2001, 240: 488–498
- 2 Pepling M E, Spradling A C. Mouse ovarian germ cell cysts undergo programmed breakdown to form primordial follicles. *Dev Biol*, 2001, 234: 339–351
- 3 Baker T G. A quantitative and cytological study of germ cells in human ovaries. *Proc R Soc Lond B*, 1963, 158: 417–433
- 4 Kurilo L F. Oogenesis in antenatal development in man. *Hum Genet*, 1981, 57: 86–92
- 5 Gondos B, Westergaard L, Byskov A G. Initiation of oogenesis in the human fetal ovary: Ultrastructural and squash preparation study. *Am J Obstet Gynecol*, 1986, 155: 189–195
- 6 Forabosco A, Sforza C, De Pol A, et al. Morphometric study of the human neonatal ovary. *Anat Rec*, 1991, 231: 201–208

- 7 Nozaki M, Yamashita K, Shimizu K. Age-related changes in ovarian morphology from birth to menopause in the Japanese monkey, *Macaca fuscata fuscata*. [Primates](#), 1997, 38: 89–100
- 8 Fereydouni B, Drummer C, Aeckerle N, et al. The neonatal marmoset monkey ovary is very primitive exhibiting many oogonia. [Reproduction](#), 2014, 148: 237–247
- 9 Place N J, Prado A M, Faykoo-Martinez M, et al. Germ cell nests in adult ovaries and an unusually large ovarian reserve in the naked mole-rat. [Reproduction](#), 2021, 161: 89–98
- 10 Tu W, Ni D, Yang H, et al. Deciphering the dynamics of the ovarian reserve in cynomolgus monkey through a quantitative morphometric study. [Sci Bull](#), 2022, 67: 1854–1859
- 11 Canning J, Takai Y, Tilly J L. Evidence for genetic modifiers of ovarian follicular endowment and development from studies of five inbred mouse strains. [Endocrinology](#), 2003, 144: 9–12
- 12 Halpin D M G, Jones A, Fink G, et al. Postnatal ovarian follicle development in hypogonadal (hpg) and normal mice and associated changes in the hypothalamic—pituitary ovarian axis. [Reproduction](#), 1986, 77: 287–296
- 13 Miller P B, Charleston J S, Battaglia D E, et al. Morphometric analysis of primordial follicle number in pigtailed monkey ovaries: symmetry and relationship with age. [Biol Reprod](#), 1999, 61: 553–556
- 14 Domingues S F S, Diniz L V, Furtado S H C, et al. Histological study of capuchin monkey (*Cebus apella*) ovarian follicles. [Acta Amaz](#), 2004, 34: 495–501
- 15 Lopes G P, Santos R R, Almeida D V, et al. Population estimate and morphometry of ovarian preantral follicles from three recently recognized squirrel monkey species: a comparative study. [Zygote](#), 2017, 25: 279–287
- 16 Hansen K R, Knowlton N S, Thyer A C, et al. A new model of reproductive aging: the decline in ovarian non-growing follicle number from birth to menopause. [Hum Reprod](#), 2008, 23: 699–708
- 17 Faddy M J, Gosden R G, Gougeon A, et al. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause. [Hum Reprod](#), 1992, 7: 1342–1346
- 18 Richardson S J, Senikas V, Nelson J F. Follicular depletion during the menopausal transition: evidence for accelerated loss and ultimate exhaustion. [J Clin Endocrinol Metab](#), 1987, 65: 1231–1237
- 19 Block E. Quantitative morphological investigations of the follicular system in women. [Cells Tissues Organs](#), 1952, 14: 108–123
- 20 Gougeon A, Ecochard R, Thalabard J C. Age-related changes of the population of human ovarian follicles: increase in the disappearance rate of non-growing and early-growing follicles in aging women. [Biol Reprod](#), 1994, 50: 653–663
- 21 Miller P B, Charleston J S, Battaglia D E, et al. An accurate, simple method for unbiased determination of primordial follicle number in the primate ovary. [Biol Reprod](#), 1997, 56: 909–915
- 22 Sarma U C, Winship A L, Hutt K J. Comparison of methods for quantifying primordial follicles in the mouse ovary. [J Ovarian Res](#), 2020, 13: 121
- 23 Laisk T, Tšuiiko O, Jatsenko T, et al. Demographic and evolutionary trends in ovarian function and aging. [Hum Reprod Update](#), 2019, 25: 34–50
- 24 Brown J R, Liu H C, Sewitch K F, et al. Variability of day 3 follicle-stimulating hormone levels in eumenorrheic women. [J Reprod Med](#), 1995, 40: 620–624
- 25 Sun N, Lin S Q, Lin H J, et al. Comparison of follicle-stimulating hormone, estradiol, ovarian volume, and antral follicle count, based on the Stages of Reproductive Aging Workshop system, among community-based women in China. [Menopause](#), 2013, 20: 736–741
- 26 La Marca A, Malmusi S, Giulini S, et al. Anti-Müllerian hormone plasma levels in spontaneous menstrual cycle and during treatment with FSH to induce ovulation. [Hum Reprod](#), 2004, 19: 2738–2741
- 27 Tharnprisarn W, Leepipatpaiboon S, Boonkasemsanti W, et al. Day 3 serum inhibin B level of poor and good ovarian responders in the IVF-program. [J Med Assoc Thai](#), 2002, 85: 612–616
- 28 Vural B, Kakiroglu Y, Vural F, et al. Hormonal and functional biomarkers in ovarian response. [Arch Gynecol Obstet](#), 2014, 289: 1355–1361
- 29 Jokubkiene L, Sladkevicius P, Rovas L, et al. Assessment of changes in volume and vascularity of the ovaries during the normal menstrual cycle using three-dimensional power Doppler ultrasound. [Hum Reprod](#), 2006, 21: 2661–2668
- 30 Hoek A, Schoemaker J, Drexhage H A. Premature ovarian failure and ovarian autoimmunity. [Endocrine Rev](#), 1997, 18: 107–134
- 31 Nguyen H H, Milat F, Vincent A J. New insights into the diagnosis and management of bone health in premature ovarian insufficiency. [Climacteric](#), 2021, 24: 481–490
- 32 Roeters van Lennep J E, Heida K Y, Bots M L, et al. Cardiovascular disease risk in women with premature ovarian insufficiency: A systematic

- review and meta-analysis. *Eur J Prev Cardiol*, 2016, 23: 178–186
- 33 Hubayter Z R, Popat V, Vanderhoof V H, et al. A prospective evaluation of antral follicle function in women with 46,XX spontaneous primary ovarian insufficiency. *Fertil Steril*, 2010, 94: 1769–1774
 - 34 Kawamura K, Cheng Y, Suzuki N, et al. Hippo signaling disruption and Akt stimulation of ovarian follicles for infertility treatment. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 17474–17479
 - 35 Zeleke B M, Bell R J, Billah B, et al. Vasomotor and sexual symptoms in older Australian women: a cross-sectional study. *Fertil Steril*, 2016, 105: 149–155.e1
 - 36 Davis S R, Castelo-Branco C, Chedraui P, et al. Understanding weight gain at menopause. *Climacteric*, 2012, 15: 419–429
 - 37 Pou K M, Massaro J M, Hoffmann U, et al. Visceral and subcutaneous adipose tissue volumes are cross-sectionally related to markers of inflammation and oxidative stress. *Circulation*, 2007, 116: 1234–1241
 - 38 Finkelstein J S, Brockwell S E, Mehta V, et al. Bone mineral density changes during the menopause transition in a multiethnic cohort of women. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008, 93: 861–868
 - 39 El Khoudary S R, Shields K J, Janssen I, et al. Cardiovascular fat, menopause, and sex hormones in women: the SWAN Cardiovascular Fat Ancillary Study. *J Clin Endocrinol Metab*, 2015, 100: 3304–3312
 - 40 Luo M, Cui X J, Zhen J R, et al. From being alive to living a good life: development and outlook of menopause management (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2021, 51: 1024–1030 [罗敏, 崔小娟, 甄璟然, 等. 从活着到生活——绝经健康管理的发展沿革. 中国科学: 生命科学, 2021, 51: 1024–1030]
 - 41 Kerner N A, Roose S P. Obstructive sleep apnea is linked to depression and cognitive impairment: evidence and potential mechanisms. *Am J Geriatr Psychiatry*, 2016, 24: 496–508
 - 42 Epperson C N, Sammel M D, Freeman E W. Menopause effects on verbal memory: findings from a longitudinal community cohort. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013, 98: 3829–3838
 - 43 Boulant J A. Role of the Preoptic-Anterior Hypothalamus in Thermoregulation and Fever. *Clin Infect Dis*, 2000, 31: S157–S161
 - 44 Lovejoy J C, Champagne C M, de Jonge L, et al. Increased visceral fat and decreased energy expenditure during the menopausal transition. *Int J Obes*, 2008, 32: 949–958
 - 45 Sutton-Tyrrell K, Zhao X, Santoro N, et al. Reproductive hormones and obesity: 9 years of observation from the Study of Women's Health Across the Nation. *Am J Epidemiol*, 2010, 171: 1203–1213
 - 46 Matthews K A, Crawford S L, Chae C U, et al. Are changes in cardiovascular disease risk factors in midlife women due to chronological aging or to the menopausal transition? *J Am Coll Cardiol*, 2009, 54: 2366–2373
 - 47 Mendelsohn M E. Mechanisms of estrogen action in the cardiovascular system. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2000, 74: 337–343
 - 48 Muka T, Oliver-Williams C, Kunutsor S, et al. Association of age at onset of menopause and time since onset of menopause with cardiovascular outcomes, intermediate vascular traits, and all-cause mortality. *JAMA Cardiol*, 2016, 1: 767
 - 49 Rolland Y M, Perry H M, Patrick P, et al. Loss of appendicular muscle mass and loss of muscle strength in young postmenopausal women. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2007, 62: 330–335
 - 50 Archer D F. Postmenopausal skin and estrogen. *Gynecol Endocrinol*, 2012, 28: 2–6
 - 51 Grishina I. Gender differences, aging and hormonal status in mucosal injury and repair. *Aging Dis*, 2014, 5: 160–169
 - 52 Hook E B, Warburton D. Turner syndrome revisited: review of new data supports the hypothesis that all viable 45,X cases are cryptic mosaics with a rescue cell line, implying an origin by mitotic loss. *Hum Genet*, 2014, 133: 417–424
 - 53 Di-Battista A, Moysés-Oliveira M, Melaragno M I. Genetics of premature ovarian insufficiency and the association with X-autosome translocations. *Reproduction*, 2020, 160: R55–R64
 - 54 Ho Y S, Gargano M, Cao J, et al. Reduced fertility in female mice lacking copper-zinc superoxide dismutase. *J Biol Chem*, 1998, 273: 7765–7769
 - 55 Jia Z Z, Zhang J W, Zhou D, et al. Deltamethrin exposure induces oxidative stress and affects meiotic maturation in mouse oocyte. *Chemosphere*, 2019, 223: 704–713
 - 56 Keefe D L, Liu L, Marquard K. Telomeres and meiosis in health and disease. *Cell Mol Life Sci*, 2007, 64: 139–143
 - 57 Cattani V, Mercier N, Gardner J P, et al. Chronic oxidative stress induces a tissue-specific reduction in telomere length in CAST/Ei mice. *Free Radic Biol Med*, 2008, 44: 1592–1598
 - 58 Kong L, Gao X, Zhu J, et al. Mechanisms involved in reproductive toxicity caused by nickel nanoparticle in female rats. *Environ Toxicol*, 2016,

- 31: 1674–1683
- 59 Kunitomi C, Harada M, Takahashi N, et al. Activation of endoplasmic reticulum stress mediates oxidative stress-induced apoptosis of granulosa cells in ovaries affected by endometrioma. *Mol Hum Reprod*, 2020, 26: 40–52
- 60 Ross J M, Stewart J B, Hagström E, et al. Germline mitochondrial DNA mutations aggravate ageing and can impair brain development. *Nature*, 2013, 501: 412–415
- 61 Zhang M, Bener M B, Jiang Z, et al. Mitofusin 2 plays a role in oocyte and follicle development, and is required to maintain ovarian follicular reserve during reproductive aging. *Aging*, 2019, 11: 3919–3938
- 62 Udagawa O, Ishihara T, Maeda M, et al. Mitochondrial fission factor Drp1 maintains oocyte quality via dynamic rearrangement of multiple organelles. *Curr Biol*, 2014, 24: 2451–2458
- 63 Zhang X, Wu X Q, Lu S, et al. Deficit of mitochondria-derived ATP during oxidative stress impairs mouse MII oocyte spindles. *Cell Res*, 2006, 16: 841–850
- 64 Zheng B J, Zhang Y, Yang J Y, et al. Mitochondrial protease and human disease (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2023, 53: 1345–1360 [郑斌娇, 张煜, 杨佳钰, 等. 线粒体蛋白酶与人类疾病. 中国科学: 生命科学, 2023, 53: 1345–1360]
- 65 Franceschi C, Bonafè M, Valensin S, et al. Inflamm-aging: an evolutionary perspective on immunosenescence. *Ann N Y Acad Sci*, 2000, 908: 244–254
- 66 Navarro-Pando J M, Alcocer-Gómez E, Castejón-Vega B, et al. Inhibition of the NLRP3 inflammasome prevents ovarian aging. *Sci Adv*, 2021, 7: eabc7409
- 67 Banerjee J, Sharma R, Agarwal A, et al. IL-6 and mouse oocyte spindle. *PLoS ONE*, 2012, 7: e35535
- 68 McCloskey C W, Cook D P, Kelly B S, et al. Metformin abrogates age-associated ovarian fibrosis. *Clin Cancer Res*, 2020, 26: 632–642
- 69 Briley S M, Jasti S, McCracken J M, et al. Reproductive age-associated fibrosis in the stroma of the mammalian ovary. *Reproduction*, 2016, 152: 245–260
- 70 Umehara T, Winstanley Y E, Andreas E, et al. Female reproductive life span is extended by targeted removal of fibrotic collagen from the mouse ovary. *Sci Adv*, 2022, 8: eabn4564
- 71 Meirow D, Dor J, Kaufman B, et al. Cortical fibrosis and blood-vessels damage in human ovaries exposed to chemotherapy. Potential mechanisms of ovarian injury. *Hum Reprod*, 2007, 22: 1626–1633
- 72 Wan J, Huang Y Y, Yang J, et al. Research progress on fertility protection in patients with gynecological malignancies (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2023, 53: 1439–1454 [万姣, 黄优优, 杨景, 等. 妇科恶性肿瘤生育力保护研究进展. 中国科学: 生命科学, 2023, 53: 1439–1454]
- 73 Stuenkel C A. Compounded bioidentical menopausal hormone therapy —a physician perspective. *Climacteric*, 2021, 24: 11–18
- 74 Skorupskaite K, George J T, Veldhuis J D, et al. Kisspeptin and neurokinin B interactions in modulating gonadotropin secretion in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod*, 2020, 35: 1421–1431
- 75 Lin J, Li X, Song H, et al. A general description for Chinese medicine in treating premature ovarian failure. *Chin J Integr Med*, 2017, 23: 91–97
- 76 Kawamura K, Kawamura N, Hsueh A J W. Activation of dormant follicles. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2016, 28: 217–222
- 77 Chen C. Pregnancy after human oocyte cryopreservation. *Lancet*, 1986, 327: 884–886
- 78 Kuwayama M, Vajta G, Kato O, et al. Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes. *Reprod Biomed Online*, 2005, 11: 300–308
- 79 Smith G D, Serafini P C, Fioravanti J, et al. Prospective randomized comparison of human oocyte cryopreservation with slow-rate freezing or vitrification. *Fertil Steril*, 2010, 94: 2088–2095
- 80 Seki S, Mazur P. The dominance of warming rate over cooling rate in the survival of mouse oocytes subjected to a vitrification procedure. *Cryobiology*, 2009, 59: 75–82
- 81 Donnez J, Dolmans M M, Pellicer A, et al. Restoration of ovarian activity and pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue: a review of 60 cases of reimplantation. *Fertil Steril*, 2013, 99: 1503–1513
- 82 Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Fertility preservation in patients undergoing gonadotoxic therapy or gonadectomy: a committee opinion. *Fertil Steril*, 2019, 112: 1022–1033
- 83 Hovatta O, Silye R, Krausz T, et al. Cryopreservation of human ovarian tissue using dimethylsulphoxide and propanediol-sucrose as cryoprotectants. *Hum Reprod*, 1996, 11: 1268–1272
- 84 Donnez J, Dolmans M M, Demylle D, et al. Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet*, 2004, 364: 1405–

1410

- 85 Donnez J, Dolmans M M, Diaz C, et al. Ovarian cortex transplantation: time to move on from experimental studies to open clinical application. *Fertil Steril*, 2015, 104: 1097–1098
- 86 Shapira M, Dolmans M M, Silber S, et al. Evaluation of ovarian tissue transplantation: results from three clinical centers. *Fertil Steril*, 2020, 114: 388–397
- 87 Wallace W H B, Smith A G, Kelsey T W, et al. Fertility preservation for girls and young women with cancer: population-based validation of criteria for ovarian tissue cryopreservation. *Lancet Oncol*, 2014, 15: 1129–1136
- 88 Zhao Y, Chen S, Su P, et al. Using mesenchymal stem cells to treat female infertility: an update on female reproductive diseases. *Stem Cells Int*, 2019, 2019: 1–10
- 89 Zhang S, Zhu D, Mei X, et al. Advances in biomaterials and regenerative medicine for primary ovarian insufficiency therapy. *Bioact Mater*, 2021, 6: 1957–1972
- 90 Tian C, He J, An Y, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells derived from juvenile macaques reversed ovarian ageing in elderly macaques. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12: 460
- 91 Ding L, Yan G, Wang B, et al. Transplantation of UC-MSCs on collagen scaffold activates follicles in dormant ovaries of POF patients with long history of infertility. *Sci China Life Sci*, 2018, 61: 1554–1565
- 92 Yan L, Wu Y, Li L, et al. Clinical analysis of human umbilical cord mesenchymal stem cell allotransplantation in patients with premature ovarian insufficiency. *Cell Prolif*, 2020, 53: e12938
- 93 Edessy M, Hosni H N, Shady Y, et al. Autologous stem cells therapy, the first baby of idiopathic premature ovarian failure. *Acta Med Int*, 2016, 3: 19–23
- 94 Qu Q, Liu L, Cui Y, et al. miR-126-3p containing exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells promote angiogenesis and attenuate ovarian granulosa cell apoptosis in a preclinical rat model of premature ovarian failure. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13: 352
- 95 Labarta E, de los Santos M J, Herraiz S, et al. Autologous mitochondrial transfer as a complementary technique to intracytoplasmic sperm injection to improve embryo quality in patients undergoing *in vitro* fertilization—a randomized pilot study. *Fertil Steril*, 2019, 111: 86–96
- 96 Zhang S, He H, Wang Y, et al. Transcutaneous auricular vagus nerve stimulation as a potential novel treatment for polycystic ovary syndrome. *Sci Rep*, 2023, 13: 7721
- 97 Yoshino T, Suzuki T, Nagamatsu G, et al. Generation of ovarian follicles from mouse pluripotent stem cells. *Science*, 2021, 373: eabe0237
- 98 Murakami K, Hamazaki N, Hamada N, et al. Generation of functional oocytes from male mice *in vitro*. *Nature*, 2023, 615: 900–906
- 99 Mizuta K, Katou Y, Nakakita B, et al. *Ex vivo* reconstitution of fetal oocyte development in humans and cynomolgus monkeys. *EMBO J*, 2022, 41: e110815

Ovarian reserve and fertility preservation

TU Wan^{1,2,3,4}, GUO ZhiYuan^{1,2,3,4}, He BeiJia^{1,2,3,4}, WANG HongMei^{1,2,3,4} & YAN Long^{1,2,3,4}

1 State Key Laboratory of Stem Cell and Reproductive Biology, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;

2 Institute for Stem Cell and Regeneration, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;

3 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;

4 Beijing Institute for Stem Cell and Regenerative Medicine, Beijing 100101, China

Ovarian reserve refers to the quantity of primordial follicles and the quality of oocytes residing in the ovary, indicating female fertility. The depletion of ovarian reserve is the primary cause of fertility decline. Under physiological conditions, the cyclical recruitment of primordial follicles and the decline in oocyte quality gradually decrease the ovarian reserve until menopause. Under pathological conditions, premature depletion of ovarian reserve leads to early cessation of ovulation, estrogen deficiency, and increased risk of osteoporosis and cardiovascular diseases. Therefore, the ovarian reserve is crucial for female health. As the average age of childbearing increases and awareness of fertility preservation grows, there is a growing social demand for protecting female fertility. Thus, discussing the methods of fertility preservation related to the ovarian reserve is vital. Here, we review the dynamics of ovarian reserve, the diseases caused by declining ovarian reserve, the mechanisms of ovarian reserve depletion, and the relevant fertility preservation methods.

ovarian reserve, mechanisms of ovarian reserve depletion, female fertility preservation, stem cell therapy

doi: [10.1360/SSV-2023-0165](https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2023-0165)