

间充质干细胞治疗卵巢早衰的最新进展及机制

<https://doi.org/10.12307/2022.024>

李仲康, 郑嘉华, 田彦鹏, 黄向华

投稿日期: 2020-09-18

送审日期: 2020-09-21

采用日期: 2020-11-09

在线日期: 2021-03-08

中图分类号:

R459.9; R318; R711.75

文章编号:

2095-4344(2022)01-00141-07

文献标识码: A

文章快速阅读:

文章描述—

△大量研究证实了间充质干细胞治疗卵巢早衰的有效性和安全性, 因而其已经成为该领域研究的热点方向;

△文章综述各类间充质干细胞治疗卵巢早衰的研究进展, 着重探究其内在治疗机制, 为其应用于临床提供理论支撑。

机制探究

- (1) 归巢;
- (2) 促进增殖;
- (3) 抑制凋亡;
- (4) 分化作用;
- (5) 自分泌和旁分泌;
- (6) 抗炎及免疫调节;
- (7) 调控基因;
- (8) 调节自噬。

最新进展

- (1) 胞外囊泡;
- (2) 女性生殖干细胞;
- (3) 组织工程。

文题释义:

卵巢早衰: 是一种常见的妇科内分泌疾病, 是女性在40岁以前由于遗传性因素、自身免疫性因素、医源性因素、环境因素等引起卵巢内卵泡耗竭, 导致患者出现雌孕激素水平降低、绝经、不孕等严重影响女性生理和心理功能的各类症状。

间充质干细胞: 是一类多能非造血祖细胞, 具有干细胞的共性, 即自我更新和多向分化能力, 在体内外可被诱导分化为多种成体细胞如成骨细胞、神经细胞、心肌细胞、脂肪细胞、肝脏细胞等, 并可定位于组织损伤部位, 分化为组织特定的细胞类型, 还可以通过增强内源性细胞功能、调节免疫反应及重建局部微环境参与组织损伤修复。

摘要

背景: 卵巢早衰是一种常见的妇科内分泌疾病, 严重影响患者的生理、生育、心理健康, 但目前针对卵巢早衰的治疗方法不能从根本上恢复患者的卵巢功能。间充质干细胞在各类疾病包括卵巢早衰的研究中展现出良好的治疗效果, 已成为该领域的热点研究方向, 且各项研究已经深入到探究其内在治疗机制。

目的: 总结并分析近年来关于间充质干细胞治疗卵巢早衰的研究进展, 深入探究其存在的相关治疗机制, 进而评估其应用于临床治疗的潜力, 为间充质干细胞治疗卵巢早衰的进一步研究及临床应用提供理论依据。

方法: 以“间充质干细胞, 卵巢早衰”及“mesenchymal stem cells, premature ovarian failure or premature ovarian insufficiency”分别作为中、英文关键词, 在中国知网数据库及PubMed数据库对近年的相关文献进行检索, 最终纳入符合要求的55篇文献进行综述。

结果与结论: 各类间充质干细胞对卵巢早衰的细胞、动物模型都有很好的治疗效果, 具体机制包括间充质干细胞归巢作用、促进细胞增殖、抑制细胞凋亡、分化、免疫调节、分泌多种细胞因子、调节细胞自噬和调节卵巢微环境等。除大量的基础研究, 相关临床研究也已有序展开, 但仍处于起步阶段, 其安全性和有效性仍需要进一步加以验证。

关键词: 卵巢早衰; 间充质干细胞; 外泌体; 微囊泡; 颗粒细胞; 卵泡; 治疗机制; 细胞增殖; 细胞凋亡; 综述

Latest progress and mechanisms of mesenchymal stem cells on premature ovarian failure

Li Zhongkang, Zheng Jiahua, Tian Yanpeng, Huang Xianghua

Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Li Zhongkang, Doctoral candidate, Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Corresponding author: Huang Xianghua, MD, Chief physician, Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Abstract

BACKGROUND: Premature ovarian failure is a common gynecological endocrine disease, which seriously affects the patient's physiological, fertility, and psychological functions. Unfortunately, curative therapies are not available at present, and current treatments are mainly address the symptoms. Mesenchymal stem cell transplantation is performed with excellent results and has been widely studied in premature ovarian failure. However, the mechanisms behind it are still undergoing intensive research.

河北医科大学第二医院, 河北省石家庄市 050000

第一作者: 李仲康, 男, 1990年生, 河北省邢台市人, 汉族, 河北医科大学在读博士, 主要从事普通妇科方面的研究。

通讯作者: 黄向华, 博士, 主任医师, 河北医科大学第二医院妇科, 河北省石家庄市 050000

<https://orcid.org/0000-0001-6654-4674> (李仲康)

引用本文: 李仲康, 郑嘉华, 田彦鹏, 黄向华. 间充质干细胞治疗卵巢早衰的最新进展及机制 [J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(1):141-147.



OBJECTIVE: To summarize and analyze the research progress of mesenchymal stem cells in the treatment of premature ovarian failure in recent years, to explore the related treatment mechanisms, and to evaluate its potential for clinical treatment so as to provide a theoretical basis for research and clinical application.

METHODS: We searched the articles in CNKI and PubMed with the keywords of "mesenchymal stem cells, premature ovarian failure, premature ovarian insufficiency" in Chinese and English, respectively. Finally, 55 articles met the criteria for review.

RESULTS AND CONCLUSION: All kinds of mesenchymal stem cells have a great therapeutic effect on premature ovarian failure cell and animal models. The therapeutic mechanisms include homing, promoting cell proliferation, inhibiting cell apoptosis, differentiation, immunoregulation, secreting a variety of cytokines, regulating autophagy and regulating ovarian microenvironment. In addition to a large number of basic researches, related clinical researches have also been carried out. However, its clinical application research is still in its infancy, and its safety and effectiveness still need to be verified by further clinical studies.

Key words: premature ovarian failure; mesenchymal stem cells; exosomes; microvesicles; granulosa cells; follicles; therapeutic mechanism; cell proliferation; apoptosis; review

How to cite this article: LI ZK, ZHENG JH, TIAN YP, HUANG XH. Latest progress and mechanisms of mesenchymal stem cells on premature ovarian failure. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu.* 2022;26(1):141-147.

0 引言 Introduction

卵巢早衰是一种常见的妇科内分泌疾病，发生在40岁以下女性，其主要特点是闭经、促性腺激素过高和雌激素缺乏，发病率在0.9%~1.2%^[1]。中华医学会妇产科学分会给出的诊断标准为：闭经时间 \geq 4~6个月，两次间隔4周以上卵泡刺激素 $>$ 40 U/L，伴有雌激素降低及绝经症状^[2]。大部分临床卵巢早衰的具体病因尚不明确，目前认为有遗传性因素、自身免疫性因素、医源性因素、环境因素等几种原因，随着化疗在妇科肿瘤的广泛应用，医源性继发性卵巢早衰的发病率正呈逐渐上升的趋势。

卵巢早衰对于女性的生理及心理健康影响巨大。首先，患者由于卵巢功能减退及衰竭，激素分泌急剧降低，其女性生理如月经周期、生育功能等会随之衰退，主要表现为停经或月经稀发，也可以出现潮热、盗汗、性交不适、情绪改变等绝经期症状^[1-2]；其次，由于卵巢早衰对生理的各种负面影响，女性心理也会出现波动，造成其心理的严重负担。所以探讨其有效的治疗方法是目前亟待解决的重要任务。

针对前述病因，目前治疗卵巢早衰的主要措施包括激素替代治疗、免疫调节、卵巢组织冻存移植、胚胎冻存移植等^[2]，这些临床治疗方法可以改善卵巢早衰症状并能促进患者生育，但并不能从根本上恢复卵巢功能，且存在伦理争议及不良反应。因此，探寻一种能够高效、安全地恢复卵巢功能的治疗手段是学界的当务之急。

间充质干细胞是一种具有黏附性、成纤维样的多能非造血祖细胞，最初从骨髓中分离出来，具有多系分化潜能^[3-4]。目前研究中常用的间充质干细胞可以从多种组织中分离提取出来，它们都具有干细胞的共性，即自我更新和多向分化能力。间充质干细胞具有多向分化潜能及无限增殖特性，在体内外均可被诱导分化为多种成体细胞如成骨细胞、神经细胞、心肌细胞、脂肪细胞、肝脏细胞等，并可定位于组织损伤部位，分化为组织特定的细胞类型，还可以通过增强内源性细胞功能、调节免疫反应及重建局部微环境参与组织损伤修复^[5]。因此，间充质干细胞为临床诸多难治性疾病如类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、急性心肌梗死、糖尿病和肝硬化等提供了一个新的治疗途径。目前已有多种干细胞制剂用于治疗移植宿主病、急性心肌梗死、骨性关节炎等^[6-7]，且都取得了很好的临床效果，同时已有多种间充质干细胞应用于卵巢早衰治疗，包括骨髓间充质干细胞、脂肪间充质干细胞、脐带间充质干细胞和胎盘间充质干细胞等^[8-10]。多项关于间充质干细胞治疗卵巢早衰的基础研究阐述了其良好的治疗效果，并进一步探讨了其作用机制，如间充质干细胞移植促进颗粒细胞增殖、抑制细胞凋亡、免疫调节、分泌多种细胞因子和调节卵巢微环境等^[10-12]。除了大量的基础研究，相关临床研究也已有有序展开。该文章将

对间充质干细胞治疗卵巢早衰涉及的机制进行系统综述，以探究其内在原理，进而促使其合理有效地应用于临床治疗。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源 第一作者以“间充质干细胞，卵巢早衰”及“mesenchymal stem cells, premature ovarian failure or premature ovarian insufficiency”分别作为中、英文关键词，在中国知网数据库及PubMed数据库对近年的相关文献进行检索，其中中国知网数据库共检索到55篇，PubMed数据库共检索到70篇。

1.2 纳入和排除标准

1.2.1 纳入标准 ①各类间充质干细胞治疗卵巢早衰的相关文献；②探究间充质干细胞治疗卵巢早衰机制的相关文献；③细胞外囊泡治疗卵巢早衰及探究其机制的相关文献；④关于卵巢早衰治疗的指南性文献；⑤总结间充质干细胞临床应用现状和进展的相关文献。

1.2.2 排除标准 ①重复性及相似性研究：机制内容相同或者十分相似的文章，则只选取发布较早的文献加以综述；②缺乏可靠数据及数据不严谨的文献；③重复的单纯功能性研究，且没有探究治疗机制的文献。

1.3 数据提取 文献质量评价由第一作者独立完成。共检索得到文献125篇，其中英文文献70篇，中文文献55篇。通过阅读文章题目、摘要进行初步筛选及文献精读，排除与研究目的相关性差的研究、重复性研究、数据不严谨的研究及单纯功能性研究共70篇，纳入55篇符合标准的文献进行综述。这55篇文献包括11篇中文文献和44篇英文文献，其中治疗指南2篇，总结间充质干细胞临床应用现状和进展的综述8篇，探究间充质干细胞治疗卵巢早衰机制的文献45篇。

2 结果 Results

2.1 间充质干细胞治疗卵巢早衰的机制探究 间充质干细胞可以修复组织损伤，促进器官功能恢复，具有很好的临床应用价值，应用前景广阔。探究其内在机制将能指导临床更好地发挥其功能，并为间充质干细胞治疗卵巢早衰提供理论支持。表1总结了间充质干细胞治疗卵巢早衰的多种机制及主要治疗结果。

2.1.1 归巢 不同移植途径的间充质干细胞之所以会对靶器官起到治疗及恢复其功能的作用，很大程度上依赖其能够定向迁移至受损靶器官，也就是归巢作用。干细胞归巢定义为：干细胞在目标组织的脉管系统里被捕获，随后跨越血管内皮细胞迁移至目标组织的过程。当机体缺血、缺氧、损伤时，机体内或者外源性干细胞具有向损伤部位优势分布的特质。归巢效应是间充质干细胞安全有效应用于临床治疗的关键因素。WANG等^[13]证实人类经血来源间充质干细胞能定向迁移到卵巢早衰模型鼠

表 1 | 间充质干细胞治疗卵巢早衰的机制及治疗结果

治疗机制	间充质干细胞类型	主要结果	参考文献
归巢	(1) 经血来源间充质干细胞; (2) 骨髓间充质干细胞; (3) 骨髓间充质干细胞; (4) 骨髓间充质干细胞	(1) 间充质干细胞定向迁移到卵巢早衰模型鼠的卵巢间质中; (2) 标记有氧化铁颗粒的间充质干细胞归巢到卵巢组织中; (3) 绿色荧光标记的间充质干细胞主要分布于卵巢间质区; (4) 间充质干细胞归巢后能够长期在卵巢存活并发挥治疗作用	[9, 13-16]
促进增殖	(1) 脐血来源间充质干细胞; (2) 经血来源间充质干细胞	(1) 促进卵巢表面上皮细胞增殖和重新修复白膜; (2) 卵巢组织增殖标记物 ki67 升高	[12, 17]
抑制凋亡	(1) 胎盘来源间充质干细胞; (2) 脐带间充质干细胞; (3) 脐带间充质干细胞; (4) 热休克处理后的间充质干细胞; (5) 过表达 miR-21 的间充质干细胞; (6) 脐带间充质干细胞	(1) 内质网应激相关的 IRE1 α 信号通路介导减少颗粒细胞凋亡; (2) 抑制卵巢颗粒细胞凋亡并改善卵巢功能储备; (3) 减少卵巢细胞凋亡, 恢复激素分泌和卵泡生成; (4) 降低了卵泡刺激素水平和抑制卵巢颗粒细胞凋亡; (5) 下调凋亡相关基因 PTEN, 抑制卵巢颗粒细胞凋亡; (6) 通过调节 NGF/TrkA 通路抑制卵巢颗粒细胞凋亡	[8, 11, 19-24]
分化作用	(1) 子宫内膜间充质干细胞; (2) 经血来源间充质干细胞; (3) 经血来源间充质干细胞; (4) 经血来源间充质干细胞	(1) 恢复卵巢生殖干细胞的储备; (2) 间充质干细胞分化为颗粒细胞, 并直接参与卵巢卵泡形成; (3) 间充质干细胞在卵巢组织分化为颗粒细胞; (4) 间充质干细胞被诱导分化为卵巢组织样细胞	[18, 26-28]
自分泌和旁分泌	(1) 各类间充质干细胞; (2) 人绒毛膜板来源间充质干细胞; (3) 骨髓间充质干细胞; (4) 骨髓间充质干细胞	(1) 分泌血管内皮生长因子和肝细胞生长因子; (2) 间充质干细胞可以分泌多种生长因子; (3) 间充质干细胞通过 $\alpha 6 \beta 1$ 整合素受体促进血管生成; (4) 自体细胞卵巢内移植技术的治疗妊娠率为 33.3%	[30, 32-34]
抗炎及免疫调节	(1) 脐带间充质干细胞; (2) 人胎盘来源间充质干细胞; (3) 人胎盘来源间充质干细胞; (4) 皮肤来源间充质干细胞; (5) 脂肪间充质干细胞	(1) 卵巢功能和子宫内膜容受性恢复; (2) CD25 ⁺ CD4 ⁺ 调节性 T 细胞 (Treg) 增加; (3) 通过 PI3K/Akt 信号通路恢复卵巢功能; (4) 减轻炎症细胞因子的活性并调节卵巢中的炎症反应; (5) 通过上调 Treg 细胞的增殖, 从而发挥免疫调节功能	[10, 35-38]
调控基因	(1) 脐带间充质干细胞; (2) 经血来源间充质干细胞; (3) 骨髓间充质干细胞	(1) 间充质干细胞移植后卵巢组织转录水平接近正常卵巢组织; (2) 间充质干细胞移植后其基因表达谱与人类卵巢组织相似; (3) 间充质干细胞移植后上调卵泡发育相关基因的表达	[18, 39-40]
调节自噬	(1) 脐带间充质干细胞; (2) 生殖干细胞	(1) 激活 JNK/Bcl-2 信号通路, 调节细胞自噬; (2) 通过 GASS/miR-21a 轴影响细胞自噬	[42-43]

的卵巢间质中, 减少颗粒细胞凋亡和减轻卵巢间质纤维化来改善卵巢微环境进而恢复卵巢功能, 而不是直接分化为卵母细胞。另一项动物实验证明标记有氧化铁颗粒的间充质干细胞归巢到卵巢组织中^[9], 其组织学结果显示, 间充质干细胞归巢于卵巢基质而不是卵泡中。该研究持这样的假设: 间充质干细胞不分化为卵母细胞或颗粒细胞, 但它们可能通过在卵巢卵母细胞周围的微环境中发挥重要的辅助作用来恢复卵巢功能, 但需要进一步的研究来确定干细胞归巢涉及的不同机制。而另一项研究将转染了绿色荧光蛋白基因的小鼠骨髓间充质干细胞注射入早衰模型鼠卵巢中^[14], 在卵巢中可见绿色荧光, 并且主要分布于卵巢间质区, 卵泡周围也可见绿色荧光标记细胞, 卵泡内未见绿色信号, 同时卵巢间质纤维化减轻, 这说明骨髓间充质干细胞可在小鼠损伤卵巢组织中定位存活, 对卵巢组织结构及功能有修复作用。陈京京等^[15]也将绿色荧光蛋白转基因小鼠的骨髓间充质干细胞经尾静脉注射至卵巢早衰模型小鼠体内, 2 个月后卵巢间质内可见大量绿色荧光标记的骨髓间充质干细胞, 骨髓间充质干细胞归巢后能够长期在定植部位存活并发挥治疗作用。在相关临床研究中, 大多数移植体内的间充质干细胞无法到达靶器官, 所以试验结果不尽如人意。因此, 提高间充质干细胞归巢至靶器官效率是提高其治疗效果的关键。柳颖灵等^[16]认为趋化因子家族及其受体是白细胞迁移和体内重分配的重要因子, 同时也是操控间充质干细胞迁移的重要因子, 其中基质细胞衍生因子 1(stromal cell derived factor-1, SDF-1) 及其受体 CXCR4(CXC chemokine receptor 4) 组成的 SDF-1/CXCR4 轴在间充质干细胞迁移中起重要作用, 过表达该趋化因子轴能够提高间充质干细胞归巢率, 增加移植入体内的间充质干细胞的利用效率, 从而确保其对于卵巢早衰的治疗效果。深入研究其机制进而提高间充质干细胞归巢和存活率将是其发挥治疗作用的重要保证。

2.1.2 促进增殖 增殖是生物体最为重要的生命特征。促进卵巢各类细胞尤其是卵巢颗粒细胞的增殖、激活卵泡功能同样是治疗卵巢早衰的重要途径。只有颗粒细胞数量增加、各级卵泡数量恢复, 卵巢功能才能够逐步恢复。因此, 促进增殖也是间充质干细胞治疗卵巢早衰各项研究中关注的重要治疗机制。国外一项动物研究证实脐血来源间充质干细胞通过促进卵巢表面上皮细胞增殖和重新修复白膜来直接恢复现存卵母细胞的功能进而治疗卵巢早衰, 并通过抑制胱氨酸蛋白酶 3, 激活细胞角蛋白 8/18、转化生长因子 β 、同源丢失性磷酸酶张力蛋白基因 (phosphatase and tensin homologue, PTEN) 来间接修复受损的卵巢功能^[12]。LIU 等^[17]向培养基添加不同的诱导因子, 将多能干细胞诱导为卵巢颗粒样细胞, 并将诱导成功的颗粒样细胞移植入环磷酰胺诱导的卵巢早衰模型鼠中, 检测指标显示其治疗效果明显。由此可见外来颗粒细胞也能够起到治疗卵巢早衰的效果, 不过其安全性和具体机制仍需要进一步探究。另一项研究利用人经血来源间充质干细胞治疗卵巢早衰小鼠, 卵巢组织增殖标记物 Ki67 升高, 证明其治疗机制可能为促进细胞增殖^[18]。该研究同时证明人经血来源间充质干细胞也可以被诱导分化为卵巢组织样细胞, 尤其是卵巢颗粒样细胞。这一研究中 cDNA 表达谱的微阵列分析结果表明, 人经血来源间充质干细胞表达谱在移植前与人卵巢组织存在明显差异, 而在早衰卵巢中存活数天后, 其基因表达谱与人类卵巢组织相似, 这一结果有力地证明了人经血来源间充质干细胞在卵巢中被诱导分化为卵巢组织样细胞。因此, 促进增殖是间充质干细胞治疗卵巢早衰的一项重要内在机制, 也是干细胞能够恢复卵巢功能的核心机制, 但是其纷繁复杂的具体机制仍需要进一步深入的研究。

2.1.3 抑制凋亡 卵巢颗粒细胞位于卵母细胞透明带外侧, 是卵巢的重要功能细胞, 在卵泡刺激素和其他细胞因子的作用下可分泌雌激素, 并通过缝隙连接与卵母细胞相连, 对卵母细胞起

营养和支持作用。颗粒细胞的增殖凋亡水平是反映卵巢功能的重要指标。卵巢颗粒细胞凋亡将导致体内雌激素水平下降,影响卵母细胞的正常发育。颗粒细胞凋亡和卵泡闭锁被认为是导致卵巢早衰的重要机制,因此减缓细胞凋亡和抑制卵泡闭锁是治疗卵巢早衰的重要途径。国内外多项研究证实间充质干细胞可以有效抑制颗粒细胞的凋亡,从而达到治疗卵巢早衰的效果。LI 等^[8]通过人胎盘来源间充质干细胞治疗自身免疫诱导型卵巢早衰小鼠模型,证明其机制与内质网应激相关的 IRE1 α 信号通路介导降低颗粒细胞凋亡有关。另一项研究也证实脐带间充质干细胞可抑制卵巢早衰大鼠的卵巢颗粒细胞凋亡并改善卵巢功能储备^[19]。SONG 等^[20]将脐带间充质干细胞移植入化疗药物环磷酰胺诱导的大鼠卵巢早衰模型中,除了可以减少卵巢细胞凋亡外,还可以促进卵巢早衰大鼠的激素分泌和卵泡生成,并通过荧光原位杂交技术示踪卵巢中移植的脐带间充质干细胞,结果表明其可以在卵巢组织中较长时间存活。CHEN 等^[21]发现 1 h 42 °C 热休克预处理可显著抑制间充质干细胞凋亡并促进其增殖;将热休克处理的间充质干细胞注入大鼠卵巢后,卵巢质量增加,雌二醇水平增加,不同阶段的卵泡数量也相应增加,并降低了卵泡刺激素水平和颗粒细胞凋亡。由此他们认为热休克预处理增强了间充质干细胞的生命力,对化疗诱导的卵巢早衰的修复作用也得到了强化,进而更大程度地抑制了卵巢颗粒细胞的凋亡。YANG 等^[11]证明了骨髓间充质干细胞可以通过分泌外泌体传递 miR-144-5p 来治疗大鼠卵巢滤泡闭锁,并将外泌体转移至与环磷酰胺共培养的卵巢颗粒细胞中以减少其凋亡。机制研究表明,miR-144-5p 通过 PTEN/PI3K/AKT 信号通路靶向 PTEN 抑制卵巢颗粒细胞凋亡;当 miR-144-5p 被抑制时,显示相反的作用。另一项研究表明过表达 miR-21 的间充质干细胞体外凋亡减少、活力增加,并通过下调 PTEN 和程序性死亡蛋白 4 基因表达抑制在体外与磷酸氮芥共培养的卵巢颗粒细胞凋亡^[22];同时过表达 miR-21 的间充质干细胞移植到被化疗破坏的大鼠卵巢中可以更有效地抑制卵巢颗粒细胞的凋亡。ZHENG 等^[23]将脐带间充质干细胞移植入小鼠卵巢早衰模型后 2 周检测到卵巢中凋亡明星蛋白 Caspase-3 表达下降而神经生长因子、原肌球蛋白受体激酶 A(tropomyosin receptor kinase A, TrkA) 的表达增加,从而证明脐带间充质干细胞是通过调节 NGF/TrkA 通路抑制卵巢颗粒细胞凋亡。

干细胞移植后的存活率为 10%-20%,凋亡及坏死大多发生于移植后的 4 d 内^[24]。间充质干细胞凋亡率也是影响其疗效的关键问题,所以干细胞移植后存活率有待提高。汪庆如等^[25]将构建的 miR-21 慢病毒表达载体转染到骨髓间充质干细胞中,降低了骨髓间充质干细胞的凋亡率,提高了其针对卵巢早衰的治疗效果。该研究认为 miR-21 的抗凋亡作用依赖于其对靶基因的调控,miR-21 相关的靶基因包括 PTEN、程序性死亡蛋白 4 (PDCD4)、叉头转录因子 1 (FoxO1)、Rho 亚家族蛋白 B(RhoB) 等。

综上,间充质干细胞通过降低卵巢颗粒细胞凋亡率恢复卵巢储备及其功能,并且间充质干细胞自身的凋亡率也会影响治疗效果,所以降低干细胞凋亡也同样重要。

2.1.4 分化作用 间充质干细胞的治疗作用主要是旁分泌作用还是分化作用一直是学界争论的焦点,但可以肯定的是分化作用是间充质干细胞发挥治疗效果的重要组成部分。正是因为间充质干细胞特有的多项分化能力,才会使间充质干细胞移植成为最具潜力的治疗受损器官的方式。一项以人类子宫内膜间充质干细胞治疗卵巢早衰模型鼠的研究显示,归巢于卵巢的子宫内膜间充质干细胞可以分化为颗粒细胞,但不能分化为卵泡细胞和卵母细胞^[26]。最重要的是,子宫内膜间充质干细胞可以恢复

卵巢生殖系干细胞的储备。另一项关于人类经血来源间充质干细胞的研究显示,人类经血来源间充质干细胞被追踪并发现其可以在早衰卵巢中分化为颗粒细胞,并且其直接参与卵巢卵泡形成、改善卵泡结构和分泌激素^[27]。另一项动物研究也证实人类经血来源间充质干细胞移植后 2 个月在卵巢组织中分化为颗粒细胞^[28]。LIU 等^[18]证明人类经血来源间充质干细胞移植入卵巢早衰动物模型后可以被诱导分化为卵巢组织样细胞,尤其是卵巢颗粒样细胞。李慧等^[29]总结了间充质干细胞与颗粒细胞的交互作用:间充质干细胞在体内外与颗粒细胞共培养时,可能通过影响颗粒细胞潜能、调控颗粒细胞凋亡或诱导分化为颗粒细胞来发挥各种生物学功能,从而促进卵泡的生长和发育,改善卵巢储备和功能,逆转卵巢早衰。由此推测,间充质干细胞治疗卵巢早衰可以通过修复颗粒细胞等来修复受损卵巢,或者直接分化为卵巢内颗粒细胞参与卵泡的形成,但具体何种作用起主要作用尚无定论,进一步深入探究间充质干细胞分化和分泌功能的关系是指导干细胞临床应用的关键步骤。

2.1.5 自分泌和旁分泌 自分泌和旁分泌作用同样被认为是间充质干细胞治疗卵巢早衰的重要机制。已经证实由间充质干细胞分泌的生长因子,例如血管内皮生长因子和肝细胞生长因子,在恢复卵巢功能中起重要作用^[30],其可能的机制是生长因子减少了颗粒细胞凋亡并恢复了卵泡发育。据一项动物研究报道,血管内皮生长因子及其受体是抑制颗粒细胞凋亡和促进卵泡发育的关键信号通路^[31]。另一项动物研究推测人绒毛膜板来源间充质干细胞恢复卵巢早衰卵巢功能可能是由于干细胞可以分泌多种生长因子,而不仅仅是因为单个生长因子增多^[32]。

促进血管生成:血管生成对于早衰卵巢功能恢复也很关键,因为它将为受损卵巢提供营养。前文描述的间充质干细胞分泌的细胞因子,如血管内皮生长因子和循环生长因子 2,尤其是血管生成素,将会促进干细胞定植组织的血管新生。据报道,骨髓间充质干细胞通过 $\alpha 6\beta 1$ 整合素受体促进血管生成^[33]。

诱导自身干细胞:一项创新的临床研究对多名卵巢反应不良的妇女(<40 岁)进行了自体细胞卵巢内移植^[34]。首先,通过皮下给予粒细胞集落刺激因子将干细胞从骨髓动员到外周血;然后,通过血液分离术分离骨髓间充质干细胞,并通过动脉导管将其注入一条卵巢动脉,治疗后卵巢储备生物标志物卵泡计数和抗苗勒管激素的改善率高达 81.3%,并与循环生长因子 2 和血小板反应蛋白 1 的存在呈正相关。该研究使 5 例患者怀孕,3 例活产。该项自体细胞卵巢内移植技术的治疗妊娠率为 33.3%,这表明无需采取有创的细胞收集、选择、培养程序,通过直接向卵巢基质中输注即可恢复生育能力。在未输注卵巢中的窦卵泡计数也有所改善,这表明干细胞动员期间循环中的骨髓间充质干细胞对卵巢功能的恢复也存在积极作用。这项研究向大家展示了一个新思路:激活自身干细胞,定向植入受损器官达到治疗目的,但该途径的安全性和具体操作过程仍需要进一步探究。

综上,间充质干细胞通过分泌作用减少颗粒细胞凋亡、促进颗粒细胞增殖、促进血管生成和诱导自身干细胞恢复卵泡发育等机制恢复卵巢功能。

2.1.6 抗炎及免疫调节 临床大多数卵巢早衰的确切病因尚不清楚,为特发性早衰,据估计自身免疫机制缺陷导致 4%-30% 的中年女性患病。自身免疫性卵巢疾病在免疫病理学上主要由卵巢炎、卵巢萎缩和血清抗卵巢抗原自身抗体等组成。自身免疫机制引起的卵巢功能异常可能与透明带(ZP)抗原有关。一项研究通过注射透明带 3 多肽片段(pZP3)对小鼠产生自身免疫损伤^[10],建立了小鼠卵巢早衰动物模型,并验证脐带间充质干细胞治疗

能促进卵巢早衰小鼠卵巢功能和子宫内膜容受性恢复, 主要依赖 Th1/Th2 细胞因子平衡和子宫内膜自然杀伤细胞表达的调节。另一项研究采用了相同的造模方法, 证实了人胎盘来源间充质干细胞移植可恢复免疫诱导小鼠卵巢早衰的卵巢功能^[35], 且卵巢功能的恢复与 γ -干扰素和转化生长因子 β 细胞因子介导的 CD25⁺CD4⁺ 调节性 T 细胞 (Tregs) 增加和炎症调节有关。YIN 等^[36] 证实人胎盘来源间充质干细胞通过 PI3K/Akt 信号通路改变 Th17/Tc17 和 Th17/Treg 细胞的比例来恢复卵巢早衰小鼠卵巢功能。另一项关于皮肤来源间充质干细胞治疗卵巢早衰的动物研究证实其通过减轻炎症细胞因子的活性调节卵巢中的炎症反应^[37], 研究显示干细胞移植还上调了受化疗破坏的小鼠卵巢的卵母细胞特异性转录因子, 包括 Nobox, Nanos3 和 Lhx8。宋开静等^[38] 指出卵巢早衰患者外周血 Treg 细胞数量明显减少, 认为寻求促进 Treg 细胞增殖的有效方法可能是间充质干细胞成功治疗卵巢早衰的关键。在此项研究中, 研究者将异体脂肪间充质干细胞与卵巢早衰患者的外周血单个核细胞共培养, 结果证实脂肪间充质干细胞可以通过上调 Treg 细胞的增殖, 从而发挥免疫调节功能。

综上, 间充质干细胞对于自身免疫缺陷引起的卵巢早衰也有明显的治疗效果, 其机制大多涉及调节免疫系统。

2.1.7 调控基因 干细胞迁移到达靶器官后, 除了定向分化外, 还会调节组织的 DNA 和 RNA 表达, 发挥表观遗传功能, 促使损伤组织的自我修复。WANG 等^[39] 通过对比脐带间充质干细胞移植前后卵巢早衰小鼠卵巢组织 RNA 表达, 证明移植后组织转录水平比卵巢早衰组更接近野生型; 该研究也比较了野生型和卵巢早衰组之间的基因表达, 发现许多通路受到影响, 包括转录调控、G 蛋白偶联受体蛋白信号传导途径、MAPK 途径和胰岛素途径; 脐带间充质干细胞治疗组表达更多的蛋白质参与 DNA 修饰表观遗传途径、转录途径、蛋白质修饰途径和细胞信号转导, 可见干细胞通过调节卵巢组织的 DNA、RNA、蛋白和相关通路, 进而恢复卵巢储备和功能。不仅干细胞可以诱导靶器官的基因表达改变, 靶器官也会调节归巢的干细胞基因水平, 从而使其发挥治疗作用。另一项动物研究中 cDNA 表达谱的微阵列分析结果表明, 人类经血来源间充质干细胞表达谱在移植前与人卵巢组织存在明显差异, 而移植后其基因表达谱与人类卵巢组织相似^[18]。彭静等^[40] 证实骨髓间充质干细胞移植后卵巢组织中卵泡发育相关基因 Nano3、Nobox 和 Lhx8 的 mRNA 水平明显高于对照组, 提示骨髓间充质干细胞移植可能通过上调卵泡发育相关基因的表达, 促进卵巢早衰小鼠卵泡发育和卵巢组织结构恢复。

总结以上研究, 可以发现间充质干细胞通过影响靶器官表观遗传达到治疗目的, 同时干细胞自身也会被卵巢组织诱导分化为颗粒细胞从而恢复卵巢储备功能, 其中涉及的深层分子机制仍需要进一步深入研究。

2.1.8 调节自噬 自噬是一种细胞自我降解的过程, 细胞通过自噬作用清除受损或多余的蛋白质、细胞器以及外来的病菌, 以维持细胞功能。在生理状态下, 自噬能够维持细胞稳态, 在短期压力下, 它可以促进细胞生存和分裂能力。有研究证明自噬参与保存幼鼠原始卵泡池, 并且参与卵泡发育过程中劣势卵泡的淘汰^[41]。YIN 等^[42] 证明脐带间充质干细胞中表达的血红素加氧酶 1 基因可以通过激活 JNK/Bcl-2 信号通路调节细胞自噬和上调 CD8⁺CD28⁺T 细胞循环来恢复卵巢早衰小鼠的卵巢功能。一项关于生殖细胞的研究首次利用苯并咪唑类化合物 ZCL-082 诱导小鼠生殖干细胞发生自噬^[43], 该研究认为 GAS5/miR-21a 轴影响细胞自噬, 可能是临床卵巢早衰的潜在治疗靶标。因此, 间充质干细胞对于自噬的调节也是其治疗卵巢早衰的机制之一。

研究者从多个方面探究了间充质干细胞治疗卵巢早衰的内在机制, 见图 1。当然, 仍有一些机制需要进一步探究, 相信随着这一热点问题的深入研究, 间充质干细胞治疗卵巢早衰这一新型疗法最终会应用于临床, 为患者带来希望。

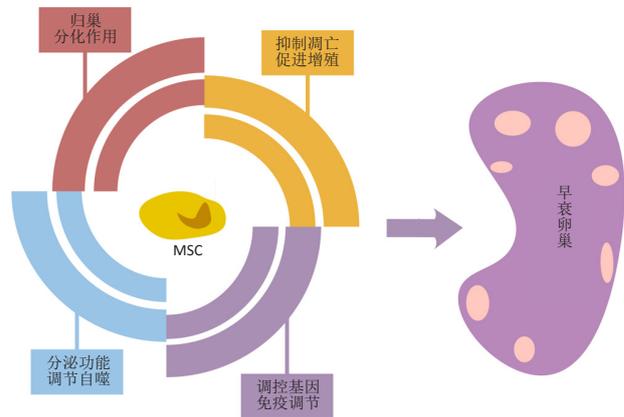


图 1 | 间充质干细胞 (MSC) 治疗卵巢早衰机制示意图

2.2 细胞外囊泡 近年来, 随着再生医学中干细胞领域的发展, 间充质干细胞治疗卵巢早衰的有效性已经被大量研究证实。但是, 同种异体间充质干细胞移植期间可能存在免疫排斥的风险。另外, 自体间充质干细胞移植前取材面临着侵入性手术的问题, 同时间充质干细胞还面临移植后存活率较低的问题。因此, 进一步研究间充质干细胞分泌的胞外囊泡, 如外泌体和微囊泡, 是解决这些问题的突破口。胞外囊泡是细胞间通讯的重要介质, 是干细胞治疗各类疾病的另一项重要机制, 故详细综述以全面概括其治疗卵巢早衰的内在机制。外泌体和微囊泡构造不同但功能类似, 二者都是细胞分泌的携带小分子蛋白质、miRNA、lncRNA 和细胞因子的囊泡, 主要参与细胞间通讯并调节受体细胞的功能。一项关于间充质干细胞分泌的微囊泡研究显示^[44]: 微囊泡可以促进共培养的颗粒细胞的增殖, 其可以通过激活 PI3K/AKT 通路恢复化疗诱导的小鼠早衰卵巢的功能并抑制颗粒细胞的凋亡。YANG 等^[41] 证明了骨髓间充质干细胞可以通过分泌外泌体传递 miR-144-5p 来治疗大鼠卵巢滤泡闭锁, 并将外泌体转移至与环磷酰胺共培养的卵巢颗粒细胞中以减少其凋亡。另一项研究证实 miR-23a 和 miR-27a 在卵巢早衰患者的血浆中高度表达, 并证明间充质干细胞中的 miR-23a 和 miR-27a 靶向颗粒细胞 SMAD5 基因^[45], 通过 FasL-Fas 途径调节人颗粒细胞的凋亡。DING 等^[46] 证实人脐带间充质干细胞来源外泌体通过传递 miR-17-5P 抑制 SIRT7 表达进而减少活性氧的积累, 恢复了卵巢早衰小鼠的卵巢表型和功能。另一项研究证明人羊膜间充质干细胞来源外泌体可改善卵巢早衰患者的颗粒细胞增殖, 抑制细胞凋亡^[47], 探究其内在机制为: 外泌体携带的 miR-320 靶向 SIRT4 从而抑制细胞氧化应激的发生。由此可见, 外泌体及微囊泡通过自身携带的物质可以起到与移植间充质干细胞同样甚至更佳的治疗效果, 针对细胞外囊泡的研究将会是未来干细胞治疗领域研究的重点。

2.3 女性生殖干细胞 以往传统观念认为哺乳动物的卵母细胞不能在出生后或成年后更新, 暗示哺乳动物卵巢中没有生殖干细胞。但是近年来一些关于小鼠、大鼠和人类的最新研究提供了卵巢中雌性生殖干细胞存在的有力证据。因此, 刺激卵巢内生殖干细胞的原位增殖来恢复卵巢功能将是自体干细胞原位治疗的新方式。一项开创性的研究显示在出生后的小鼠卵巢中观察到原始卵泡的更新, 这也就表明卵巢中存在生殖干细胞^[48]。有

研究者开发了一种从新生小鼠卵巢中分离雌性生殖干细胞的快速有效方法,并证明雌性生殖干细胞移植入小鼠体内后分化为卵母细胞^[49]。一篇关于卵巢干细胞的综述认为卵巢干细胞是否存在是有一定争议的,但目前主流观点支持卵巢干细胞存在理论^[50],基本上已经否定了卵母细胞数量固定学说。在人类卵巢皮质中确实检测到有丝分裂活性的卵巢干细胞,并且实验工作也证明了这些细胞能够分化产生卵母细胞。因此,利用女性生殖系统存在的干细胞,寻找激活并促进其增殖的新方法也许是未来治疗卵巢早衰的新思路。

2.4 组织工程 间充质干细胞移植治疗会受到靶组织中细胞沉降不足的限制,此外,由于炎症、凋亡、缺血性损伤等多种因素相互作用,移植入体内的间充质干细胞难以长期保留在靶器官中。因此,将组织工程材料复合间充质干细胞是弥补这些不足的重要措施。一项关于组织工程的研究显示^[51]:胶原蛋白支架复合脐带间充质干细胞移植后通过促进卵巢早衰模型小鼠的颗粒细胞增殖、卵巢血管生成和卵泡发育从而改善卵巢功能;使用胶原蛋白支架可以增加干细胞的存活时间,限制干细胞向外转移,同时支持细胞的附着和增殖;胶原蛋白支架上的脐带间充质干细胞仍具有生物活性,具有长期的治疗作用;干细胞与胶原蛋白支架相互作用可以构造3D微环境,保持干细胞存活率和高表达血管内皮生长因子、转化生长因子 $\beta 1$ 、肝细胞生长因子和成纤维细胞生长因子2,从而促进颗粒细胞形成和增殖。因此,利用组织工程材料复合间充质干细胞的诸多优势来提高治疗卵巢早衰的效果将是该领域研究的前沿方向。

3 讨论 Discussion

3.1 该领域存在的一些问题 间充质干细胞移植为卵巢早衰患者带来了希望,因为它们易于获得,且治疗效果在多项研究中得到了肯定。但是,该治疗方法仍然存在一些问题,亟需进一步解决。如同种异体间充质干细胞移植可能导致卵巢早衰患者经历排斥反应,也可能存在治疗后遗症。一项临床研究表明,自体骨髓间充质干细胞移植比同种异体移植具有更好的治疗率(25%/7%),并且异体移植后大约25%的患者可能并发慢性移植排斥反应^[52]。因此,间充质干细胞移植需要准确的治疗前评估和治疗期间的密切监测。间充质干细胞治疗卵巢早衰还存在一些关键问题需要解决:①移植的具体方法,是静脉注射、原位移植还是腹腔注射;②治疗的剂量;③治疗后后遗症的处理;④抗氧化、抗炎和免疫调节等分子机制尚待进一步研究等。虽然间充质干细胞在卵巢早衰动物模型中有明显的治疗作用,但临床试验仍存在一些问题,间充质干细胞移植的治愈率还不足以确保大多数卵巢早衰患者恢复其卵巢储备^[34],因此,深入、系统的基础和临床研究仍需要继续开展。全面地评价间充质干细胞移植治疗的安全性和有效性,尤其是对亲代和子代长远影响的评价,同样是亟待解决的关键问题。

3.2 间充质干细胞的选择 哪种间充质干细胞是治疗卵巢早衰的最佳选择目前尚无定论,研究者们目前只是针对某一种干细胞的治疗效果和机制进行研究,横向对比不同种类间充质干细胞优劣的研究并不多见。骨髓间充质干细胞和脂肪间充质干细胞是应用最早的治疗卵巢早衰的间充质干细胞,近年来人胎盘来源间充质干细胞、人脐带间充质干细胞和人羊膜间充质干细胞等因为具有取材无创、低免疫抵抗等优点,逐渐进入治疗卵巢早衰的领域。李慧等^[53]总结人脐带间充质干细胞优势:取材方便,来源广泛;不受伦理、道德、法律等约束;相对纯净,较为原始,分化能力强;具有自我更新和向多组织细胞分化潜能;更重要的是它不表达主要组织相容性复合物II型或低表达主要组织相

容性复合物I型,免疫原性低,减弱了同种异体移植免疫排斥反应,适宜于不同个体之间的移植。一项研究对比了人羊膜间充质干细胞和人羊膜上皮细胞治疗卵巢早衰模型动物的效果^[54],结果表明人羊膜间充质干细胞治疗效果更好且其细胞生物学特性(端粒酶活性、多能标记物的表达水平、细胞因子和胶原蛋白的分泌等)优于后者,但人羊膜上皮细胞移植后显示出更少的免疫排斥。所以究竟哪种干细胞综合效果最佳还需要研究者们进一步探究。

3.3 展望 鉴于间充质干细胞极低的免疫原性,以及可以轻松获得并能在体外大量扩增等优势,使其成为治疗卵巢早衰最具潜力的选择。间充质干细胞移植体内后迁移到受损的卵巢发生定向分化并通过外泌体传递关键的细胞因子,通过抗凋亡、促增殖、抗纤维化^[55]、抗炎、调节免疫、抗氧化、促进血管生成和调节自噬等机制改善卵巢功能。同时,利用间充质干细胞分泌的胞外囊泡、原位生殖干细胞的激活、间充质干细胞复合组织工程材料等在干细胞基础上延伸出的治疗方案经过科研人员的验证,正在优化间充质干细胞治疗卵巢早衰的治疗效果。间充质干细胞从最初的发现到现在逐渐应用于临床疾病的治疗,经历了漫长科研探索和治疗方案、方法创新的过程。探索其内在的机制是揭开干细胞治疗奥秘、促使其应用于临床的必要途径,所以需要更多、更深入的关于其治疗机制的研究来补充完善干细胞治疗卵巢早衰的诸多细节。虽然间充质干细胞治疗卵巢早衰的临床试验已逐步开展,但诸多细节仍需要进一步完善和摸索。相信不久的将来,通过科研工作者和临床医生的不懈努力,应用间充质干细胞治疗卵巢早衰将为患者带来康复的希望。

作者贡献: 李仲康负责综述构思设计、文献收集、分析总结,郑嘉华、田彦鹏负责文献整理,黄向华负责文章写作校对、项目指导。全体作者都阅读并同意最终的文本。

经费支持: 该文章没有接受任何经费支持。

利益冲突: 文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

写作指南: 该研究遵守《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA指南)。

文章查重: 文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章外审: 文章经小同行外审专家双盲外审,同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- TORREALDAY S, KODAMAN P, PAL L. Premature Ovarian Insufficiency- an update on recent advances in understanding and management. F1000Res. 2017;6:2069.
- 吴洁,陈蓉.早发性卵巢功能不全的激素补充治疗专家共识[J].中华妇产科杂志,2016,51(12):881-886.
- PITTENGER MF, MACKAY AM, BECK SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. Science. 1999;284(5411):143-147.
- JIANG Y, JAHAGIRDAR BN, REINHARDT RL, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. Nature. 2002; 418(6893):41-49.
- KRAMPERA M, PASINI A, PIZZOLO G, et al. Regenerative and immunomodulatory potential of mesenchymal stem cells. Curr Opin Pharmacol. 2006;6(4):435-441.
- ULLAH I, SUBBARAO RB, RHO GJ. Human mesenchymal stem cells- current trends and future prospective. Biosci Rep. 2015;35(2):e00191.
- ZAHER W, HARKNESS L, JAFARI A, et al. An update of human mesenchymal stem cell biology and their clinical uses. Arch Toxicol. 2014;88(5):1069-1082.

- [8] LI H, ZHAO W, WANG L, et al. Human placenta-derived mesenchymal stem cells inhibit apoptosis of granulosa cells induced by IRE1 α pathway in autoimmune POF mice. *Cell Biol Int*. 2019;43(8):899-909.
- [9] GABR H, RATEB MA, EL SISSY MH, et al. The effect of bone marrow-derived mesenchymal stem cells on chemotherapy induced ovarian failure in albino rats. *Microsc Res Tech*. 2016;79(10):938-947.
- [10] LU X, CUI J, CUI L, et al. The effects of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cell transplantation on endometrial receptivity are associated with Th1/Th2 balance change and uNK cell expression of uterine in autoimmune premature ovarian failure mice. *Stem Cell Res Ther*. 2019;10(1):214.
- [11] YANG M, LIN L, SHA C, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomal miR-144-5p improves rat ovarian function after chemotherapy-induced ovarian failure by targeting PTEN. *Lab Invest*. 2020;100(3):342-352.
- [12] ELFAYOMY AK, ALMASRY SM, EL-TARHOUNY SA, et al. Human umbilical cord blood-mesenchymal stem cells transplantation renovates the ovarian surface epithelium in a rat model of premature ovarian failure: Possible direct and indirect effects. *Tissue Cell*. 2016;48(4):370-382.
- [13] WANG Z, WANG Y, YANG T, et al. Study of the reparative effects of menstrual-derived stem cells on premature ovarian failure in mice. *Stem Cell Res Ther*. 2017;8(1):11.
- [14] 王琰, 杨瑛, 刘兵, 等. 骨髓间充质干细胞移植对 VCD 所致卵巢损伤的修复研究 [J]. *现代生物医学进展*, 2011, 11(10):1844-1846, 1850.
- [15] 陈京京, 殷慧群, 汪存利, 等. 骨髓间充质干细胞移植在卵巢早衰小鼠卵巢及生育功能重建中的作用 [J]. *安徽医科大学学报*, 2017, 52(11):1611-1615.
- [16] 柳颖灵, 刘炜, 纪亚忠. SDF-1/CXCR4 轴在间充质干细胞治疗卵巢早衰中的研究进展 [J]. *实用临床医学*, 2015, 16(7):100-103, 107.
- [17] LIU T, LI Q, WANG S, et al. Transplantation of ovarian granulosa-like cells derived from human induced pluripotent stem cells for the treatment of murine premature ovarian failure. *Mol Med Rep*. 2016;13(6):5053-5058.
- [18] LIU T, HUANG Y, ZHANG J, et al. Transplantation of human menstrual blood stem cells to treat premature ovarian failure in mouse model. *Stem Cells Dev*. 2014;23(13):1548-1557.
- [19] 杜静, 刘文慧, 王婷, 等. 人脐带间充质干细胞对卵巢早衰大鼠卵巢超微结构和功能的影响 [J]. *现代妇产科进展*, 2018, 27(2):127-130.
- [20] SONG D, ZHONG Y, QIAN C, et al. Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells Therapy in Cyclophosphamide-Induced Premature Ovarian Failure Rat Model. *Biomed Res Int*. 2016;2016:2517514.
- [21] CHEN X, WANG Q, LI X, et al. Heat shock pretreatment of mesenchymal stem cells for inhibiting the apoptosis of ovarian granulosa cells enhanced the repair effect on chemotherapy-induced premature ovarian failure. *Stem Cell Res Ther*. 2018;9(1):240.
- [22] FU X, HE Y, WANG X, et al. Overexpression of miR-21 in stem cells improves ovarian structure and function in rats with chemotherapy-induced ovarian damage by targeting PDCD4 and PTEN to inhibit granulosa cell apoptosis. *Stem Cell Res Ther*. 2017;8(1):187.
- [23] ZHENG Q, FU X, JIANG J, et al. Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell Transplantation Prevents Chemotherapy-Induced Ovarian Failure via the NGF/TrkA Pathway in Rats. *Biomed Res Int*. 2019;2019:6539294.
- [24] ZHANG M, METHOT D, POPPA V, et al. Cardiomyocyte grafting for cardiac repair: graft cell death and anti-death strategies. *J Mol Cell Cardiol*. 2001;33(5):907-921.
- [25] 汪庆如, 陈小莹, 李欣然, 等. 过表达 miR-21 的骨髓间充质干细胞对化疗性卵巢早衰的修复作用 [J]. *解放军医学杂志*, 2019, 44(3): 203-209.
- [26] LAI D, WANG F, YAO X, et al. Human endometrial mesenchymal stem cells restore ovarian function through improving the renewal of germline stem cells in a mouse model of premature ovarian failure. *J Transl Med*. 2015;13:155.
- [27] MANSHADI MD, NAVID S, HOSHINO Y, et al. The effects of human menstrual blood stem cells-derived granulosa cells on ovarian follicle formation in a rat model of premature ovarian failure. *Microsc Res Tech*. 2019;82(6):635-642.
- [28] NOORY P, NAVID S, ZANGANEH BM, et al. Human Menstrual Blood Stem Cell-Derived Granulosa Cells Participate in Ovarian Follicle Formation in a Rat Model of Premature Ovarian Failure In Vivo. *Cell Reprogram*. 2019;21(5):249-259.
- [29] 李慧, 陈曦, 吕晓红. 脐带间充质干细胞与卵巢早衰中颗粒细胞交互作用的研究进展 [J]. *中国医药生物技术*, 2019, 14(3):263-265.
- [30] FU X, HE Y, XIE C, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell transplantation improves ovarian function and structure in rats with chemotherapy-induced ovarian damage. *Cytotherapy*. 2008;10(4):353-363.
- [31] YAO X, GUO Y, WANG Q, et al. The Paracrine Effect of Transplanted Human Amniotic Epithelial Cells on Ovarian Function Improvement in a Mouse Model of Chemotherapy-Induced Primary Ovarian Insufficiency. *Stem Cells Int*. 2016;2016:4148923.
- [32] 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. *Stem Cell Res Ther*. 2018;9(1):81.
- [33] CARRION B, KONG YP, KAIGLER D, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells enhance angiogenesis via their α 6 β 1 integrin receptor. *Exp Cell Res*. 2013;319(19):2964-2976.
- [34] HERRAIZ S, ROMEU M, BUIGUES A, et al. Autologous stem cell ovarian transplantation to increase reproductive potential in patients who are poor responders. *Fertil Steril*. 2018;110(3):496-505.
- [35] YIN N, ZHAO W, LUO Q, et al. Restoring Ovarian Function With Human Placenta-Derived Mesenchymal Stem Cells in Autoimmune-Induced Premature Ovarian Failure Mice Mediated by Treg Cells and Associated Cytokines. *Reprod Sci*. 2018;25(7):1073-1082.
- [36] YIN N, WANG Y, LU X, et al. hPMSC transplantation restoring ovarian function in premature ovarian failure mice is associated with change of Th17/Tc17 and Th17/Treg cell ratios through the PI3K/Akt signal pathway. *Stem Cell Res Ther*. 2018;9(1):37.
- [37] LAI D, WANG F, DONG Z, et al. Skin-derived mesenchymal stem cells help restore function to ovaries in a premature ovarian failure mouse model. *PLoS One*. 2014;9(5):e98749.
- [38] 宋开静, 何援利, 蔡慧华, 等. 异位脂肪间充质干细胞对卵巢早衰患者外周血调节性 T 细胞的影响 [J]. *解放军医学杂志*, 2018, 43(4):294-298.
- [39] WANG S, YU L, SUN M, et al. The therapeutic potential of umbilical cord mesenchymal stem cells in mice premature ovarian failure. *Biomed Res Int*. 2013;2013:690491.
- [40] 彭静, 肖娜, 程腊梅. 骨髓来源间充质干细胞对卵巢早衰小鼠的修复作用 [J]. *中南大学学报 (医学版)*, 2018, 43(1):7-13.
- [41] HUŁAS-STASIAK M, GAWRON A. Follicular atresia in the prepubertal spiny mouse (*Acomys cahirinus*) ovary. *Apoptosis*. 2011;16(10):967-975.
- [42] YIN N, WU C, QIU J, et al. Protective properties of heme oxygenase-1 expressed in umbilical cord mesenchymal stem cells help restore the ovarian function of premature ovarian failure mice through activating the JNK/Bcl-2 signal pathway-regulated autophagy and upregulating the circulating of CD8+CD28- T cells. *Stem Cell Res Ther*. 2020;11(1):49.
- [43] LI B, HU X, YANG Y, et al. GASS/miR-21 Axis as a Potential Target to Rescue ZCL-082-Induced Autophagy of Female Germline Stem Cells In Vitro. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2019;17:436-447.
- [44] 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. *Stem Cell Res Ther*. 2020;11(1):3.
- [45] NIE M, YU S, PENG S, et al. miR-23a and miR-27a promote human granulosa cell apoptosis by targeting SMAD5. *Biol Reprod*. 2015;93(4):98.
- [46] DING C, ZHU L, SHEN H, et al. Exosomal miRNA-17-5p derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells improves ovarian function in premature ovarian insufficiency by regulating SIRT7. *Stem Cells*. 2020;38(9):1137-1148.
- [47] DING C, QIAN C, HOU S, et al. Exosomal miRNA-320a Is Released from hAMSCs and Regulates SIRT4 to Prevent Reactive Oxygen Species Generation in POI. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2020;21:37-50.
- [48] JOHNSON J, CANNING J, KANEKO T, et al. Germline stem cells and follicular renewal in the postnatal mammalian ovary. *Nature*. 2004; 428(6979):145-150.
- [49] LIU J, SHANG D, XIAO Y, et al. Isolation and characterization of string-forming female germline stem cells from ovaries of neonatal mice. *J Biol Chem*. 2017;292(39):16003-16013.
- [50] SILVESTRI E, D'ORONZO S, CAFFORIO P, et al. In Vitro Generation of Oocytes from Ovarian Stem Cells (OSCs): In Search of Major Evidence. *Int J Mol Sci*. 2019;20(24):6225.
- [51] YANG Y, LEI L, WANG S, et al. Transplantation of umbilical cord-derived mesenchymal stem cells on a collagen scaffold improves ovarian function in a premature ovarian failure model of mice. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*. 2019;55(4):302-311.
- [52] TAUCHMANOVÀ L, SELLERI C, DE ROSA G, et al. Estrogen-progestin therapy in women after stem cell transplant: our experience and literature review. *Menopause*. 2007;14(2):320-330.
- [53] 李慧, 张琛, 崔恒, 等. 人脐带间充质干细胞治疗早发性卵巢功能不全的研究进展 [J]. *中国妇产科临床杂志*, 2017, 18(5):478-480.
- [54] DING C, LI H, WANG Y, et al. Different therapeutic effects of cells derived from human amniotic membrane on premature ovarian aging depend on distinct cellular biological characteristics. *Stem Cell Res Ther*. 2017;8(1):173.
- [55] 叶小凤, 何援利, 付霞霏, 等. 骨髓间充质干细胞移植治疗顺铂致卵巢的化疗性损伤 [J]. *中国组织工程研究*, 2015, 19(10):1597-1602.