

# 干细胞应用于卵巢早衰的研究现状

邹昫桓<sup>1</sup>, 丁显平<sup>2\*</sup>, 郑勇凤<sup>1</sup>

(1. 成都中医药大学医学与生命科学学院, 四川成都 610000; 2. 四川大学生命科学学院, 四川成都 610000)

\*通讯作者: Brainding@scu.edu.cn

**【摘要】**卵巢早衰(POF)是一种以促性腺激素水平升高和雌激素水平降低为特征的内分泌综合征,它影响着全球大约1%的女性,是40岁以下女性不孕的重要因素之一。POF的病因复杂,涵盖了遗传因素、免疫系统异常、医疗操作影响、环境因素以及尚未明确分类的原发性因素。当前,激素替代疗法是POF的常规治疗方法,尽管它在一定程度上能够提升患者的生活质量,但遗憾的是,这种疗法无法逆转卵巢功能的衰退,并且可能增加患者罹患乳腺癌和心血管疾病的风险。因此,探索新的治疗方案显得尤为迫切。在这一背景下,干细胞疗法因其能够营造再生微环境、抑制细胞凋亡,为恢复卵巢功能提供了新的希望,成为了生物医学研究的热点领域。本研究旨在描述目前可用于治疗POF的干细胞类型,以及他们的生物学特性和作用机制,为进一步的研究和临床治疗提供理论依据。

**关键词:** 卵巢早衰; 干细胞; 间充质干细胞; 旁分泌; 再生医学

DOI:10.13404/j.cnki.cjbhh.2025.02.026

Current status of research on stem cells applications in premature ovarian failure

ZOU Yunhuan<sup>1</sup>, DING Xianping<sup>2</sup>, ZHENG Yongfeng<sup>1</sup>

(1. School of Medicine and Life Sciences, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu, Sichuan 610000, China; 2. School of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610000, China)

**ABSTRACT** Premature ovarian failure (POF) is an endocrine syndrome characterized by elevated levels of gonadotropins and decreased levels of estrogens, which affects approximately 1% of women and is an important factor in infertility in women under the age of 40. The etiology of POF is complex, encompassing genetic factors, abnormalities of the immune system, effects of medical manipulation, environmental factors, and primary factors that remain unclearly categorized. Currently, hormone replacement therapy (HRT) is the conventional treatment for POF, and although it can improve the quality of life of patients to a certain extent, unfortunately, it cannot reverse the decline of ovarian function and may increase the risk of breast cancer and cardiovascular disease. Therefore, it is urgent to explore new treatment options. In this context, stem cell therapy has emerged as a focal point of biomedical research, offering new hope for restoring ovarian function through its capacity to foster a regenerative microenvironment and inhibit apoptosis. This study aims to describe the types of stem cells currently available for the treatment of POF, as well as their biological characteristics and mechanisms of action, providing a theoretical basis for further research and clinical treatment.

**KEY WORDS** premature ovarian failure; stem cells; mesenchymal stem cells; paracrine; regenerative medicine

卵巢早衰(premature ovarian failure, POF)或称原发性卵巢功能不全(premature ovarian insufficiency, POI),是指女性在40岁之前出现卵巢功能异常,其主要临床特征包括月经不规律(至少连续4个月出现闭经或月经量减少)、血清促性腺激素水平异常升高(两次测量的促卵泡激素FSH水平平均超过25 IU/L,且两次测量间隔超过4周)以及雌激素(E2)水平的波动性下降<sup>[1]</sup>。POF的病因和发病机制复杂,一般认为主要与遗传因素、医源性疾病(如化疗、放疗)、自身免疫性和内分泌疾病、线粒体功能障碍、感染和环境因素有关,还可能与原始卵泡池储备不足、卵泡闭锁加速、优势卵泡募集改变、卵泡成熟障碍等多种因素有关。POF的发生率随年龄增长而增加,在40岁以下的女性中,POF的患病率约为1%,30岁以下女性中患病率约为0.1%。随着化疗药物在癌症

治疗的广泛使用,由化疗引起的POF病例也呈现上升趋势。临床上,POF患者常出现月经稀发或闭经、生育力降低或不孕、女性第二性征不发育或减退、潮热出汗、生殖道干涩及灼热感、情绪改变、性欲减退等一系列症状。此外,POF还与长期健康问题相关,如骨质疏松、心血管症状和代谢紊乱等症状,这些症状严重影响了患者的心理和生理健康<sup>[2]</sup>。

目前,针对POF的推荐治疗方法是激素补充治疗(hormone replacement therapy, HRT)<sup>[2]</sup>,其主要目的是补充体内雌激素,促进第二性征发育,维持正常的月经周期,并为不孕患者未来的受孕或接受辅助生殖治疗做好准备。除了HRT,其他治疗方法包括卵巢移植<sup>[3]</sup>、富血小板血浆疗法(platelet rich plasma, PRP)、心理疏导、生活方式调整,以及结合中成药、针灸、拔罐、穴位埋线等中医特色疗法<sup>[4]</sup>。然而,最常用的激素补充疗法并不能有效恢复卵巢的内分泌和生殖功能,而且长期使用激素替代疗法可能会增加患者患乳腺癌和心血管疾病的风

险。鉴于这种疾病的复杂性，目前尚未建立统一标准和有效的治疗方法。

干细胞 (stem cells, SCs) 是一类在胚胎、胎儿或成年阶段发现的未特化、未分化的细胞，它们可以来源于脂肪、脐带、羊水、胎盘和骨髓等多种组织。干细胞大致分为胚胎干细胞 (embryonic stem cells, ESCs)、成人干细胞 (adult stem cells, ASCs) 和诱导多能干细胞 (induced pluripotent stem cells, iPSCs)，其中间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 是 ASCs 的一个重要亚群。干细胞因其未分化的特性、自我更新能力、免疫调节能力和旁分泌细胞因子的功能，被认为是治疗多种疾病的有前途的替代方法，并在再生医学领域占据重要地位。2017 年 3 月，我国启动了干细胞移植修复卵巢早衰的临床备案项目<sup>[5]</sup>，标志着干细胞治疗 POF 进入了一个新的发展阶段。多种类型的干细胞可以通过特定的因子诱导迁移到受损的组织部位，并通过其旁分泌功能和潜在分化能力来支持组织修复，为治疗 POF 提供了充满希望的新途径，其种类可见图 1。根据我国最新的人口普查数据，总生育率已经降至历史最低水平，这对我国“三孩”政策的实施提出了挑战。因此，深入研究干细胞治疗机制，推动其在 POF 临床治疗中的应用，对于提高女性生殖健康水平和支持国家生育政策具有重要意义。

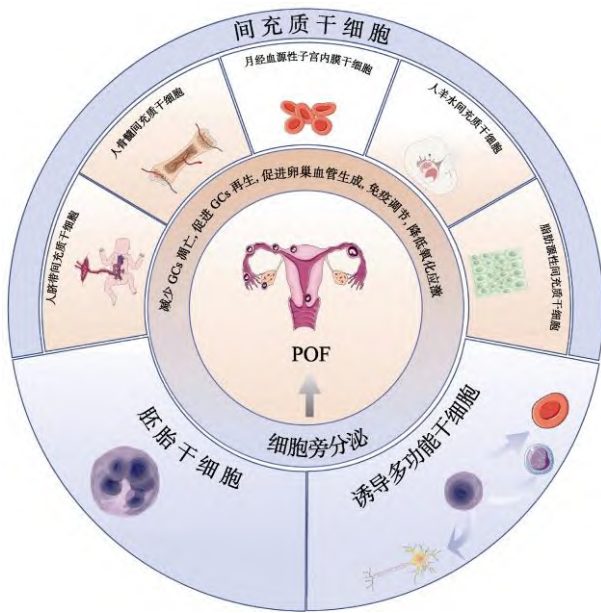


图 1 应用于临床治疗 POF 的不同种类的干细胞

### 1 干细胞在治疗卵巢早衰中的应用

干细胞在治疗 POF 方面的潜力主要体现在其归巢能力和旁分泌作用，这些特性使得干细胞能够积极参与组织修复和再生。在 POF 的治疗中，干细胞可通过减少颗粒细胞 (granulosa cells, GCs) 凋亡、促进 GCs 再生、促进卵巢血管生成、免疫调节以及降低氧化应激反应等途径<sup>[6]</sup>，恢复卵巢内分泌功能和卵巢储备，有效缓解 POF

症状，为 POF 的治疗开辟了一条充满希望的崭新途径。目前 SCs 针对 POF 的治疗方式包括：静脉细胞输注、动脉介入卵巢动脉、子宫动脉细胞注入、腹腔镜或者阴道超声直视下注射到卵巢局部<sup>[5]</sup>。国内外的研究已经充分肯定了干细胞在卵巢早衰治疗中的价值，多项临床试验和研究正在进行中，旨在进一步验证干细胞疗法的有效性和安全性。随着研究的深入，干细胞疗法有望成为 POF 治疗领域的重要手段。

#### 1.1 胚胎干细胞 (ESCs)

ESCs 是唯一具有无限分化潜能的干细胞，能被诱导分化为几乎所有的细胞类型，这一特性使得它们在再生医学和细胞治疗领域具有巨大的应用潜力，但由于使用胚胎干细胞涉及伦理问题，近年来 ESCs 在卵巢早衰中的研究相对较少。研究发现，ESCs 与颗粒细胞共培养后，能在体外分化为 GC 样细胞，这些细胞能够合成和分泌雌激素，并表达 GC 细胞的特异性受体 FSHR<sup>[7]</sup>。Liu 等<sup>[8]</sup>通过静脉注射 ESCs 的细胞外囊泡，成功恢复小鼠激素水平，并增加了卵泡数量，其治疗机制与 PI3K/AKT 信号通路调节和细胞凋亡减少有关，从而改善了卵巢功能。刘梦宇<sup>[9]</sup>的研究也支持这一观点。

ESCs 也可作为间充质祖细胞 (mesenchymal progenitor cells, MPCs) 的来源，用于治疗 POF。一项研究<sup>[10]</sup>利用透明质酸 (hyaluronic acid, HA) 凝胶作为生物支架，在小鼠背部局部给药人胚胎干细胞来源的间充质祖细胞显著提高了细胞存活率，并恢复了 POF 小鼠的卵巢功能，包括卵巢储备、雌激素和 AMH 水平的增加及卵母细胞质量的改善。ES-MSCs 相比其他来源的 MSCs，表现出更高的细胞增殖和白细胞生长抑制能力<sup>[11]</sup>，并在 POF 小鼠中显著改善卵巢结构和功能，恢复 FSH 和 E2 水平至接近正常，提高存活率，主要通过减少卵泡凋亡发挥治疗作用。

这些研究表明，ESCs 及其衍生细胞在治疗 POF 方面具有潜在的应用价值，尽管存在伦理挑战，但科学界仍在探索如何安全有效地利用这些细胞进行治疗。

#### 1.2 诱导多能干细胞 (iPSCs)

诱导多能干细胞 (induced pluripotent stem cells, iPSCs) 是通过向成体细胞引入特定的转录因子 (如 Oct4、Sox2、Klf4 和 c-Myc) 进行重新编程而产生的，它们具有与胚胎干细胞 (ESCs) 相似的分化潜能，能够生成多种细胞类型，包括卵巢细胞。iPSCs 技术为治疗卵巢早衰 (POF) 提供了新可能性，并有望克服 ESCs 的免疫排斥和伦理问题。Yang 等<sup>[12]</sup>成功将 POI 患者的成纤维细胞重编程为 iPSCs，建立了新的系统细胞模型来研究 POI 患者的发病机制。这些 POI-iPSCs 能够被诱导分化为具有减数分裂潜力的人类 GCs，而 DNA 去甲基化可在体外加速这一分化过程。

另一项研究<sup>[13]</sup>利用小鼠颗粒细胞衍生的 iPSCs 来产生卵巢内分泌组织和功能卵母细胞，成功恢复化疗诱导卵巢衰竭小鼠的生育能力，人卵泡液 (human follicular

fluid, HFF) 促进了这一过程。有研究团队<sup>[14]</sup>将 iPSCs 诱导为间充质干细胞, 并成功分离其细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs), 发现 iPSC-MSCs-EVs 可显著恢复小鼠卵巢卵泡数量, 改善颗粒细胞增殖, 并抑制化疗损伤的颗粒细胞、培养卵巢和体内卵巢的凋亡。从机制上讲, iPSC-MSC-EVs 通过转移功能性 miRNA 下调 PTEN 表达, 激活 ILK-PI3K/AKT 通路, 发挥治疗作用。

这些研究表明, iPSCs 技术在治疗 POF 方面具有巨大的潜力, 不仅能够为研究 POF 的发病机制提供模型, 还可能为临床治疗提供新的策略。

### 1.3 间充质干细胞(MSCs)

MSCs 是从基质组织中提取的多能细胞, 具有可塑性黏附能力、免疫调节能力和组织修复能力。它们可以从多种人体组织中获得, 如骨髓(bone marrow, BM)、脐带(umbilical cord, UC)、外周血、脂肪组织、胎盘和月经<sup>[15]</sup>。基于 MSCs 的疗法主要是通过增强卵巢细胞抗凋亡能力、减少卵巢卵泡闭锁、促进血管生成及卵泡生长、改善受损卵巢结构来发挥治疗作用, 并在卵巢功能障碍方面取得了有希望的进展<sup>[16-18]</sup>。值得注意的是, CD146+MSCs 表现出明显更强的增殖能力, 在再生医学中表现出优越的生物活性和治疗潜力<sup>[19]</sup>。目前, 许多基于不同来源的 MSCs 治疗卵巢早衰的方法已经被探索和测试。

**1.3.1 人脐带间充质干细胞(hUC-MSCs)** 人脐带间充质干细胞(human umbilical cord mesenchymal stem cells, hUC-MSCs) 因其收集过程快速无痛、分离培养简单、自我更新能力强、肿瘤风险低、免疫排斥概率小及伦理问题少等优点, 成为治疗卵巢早衰的一个有希望的细胞来源。hUC-MSCs 治疗能通过调节激素水平、修复线粒体损伤、调节胆固醇代谢途径和过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferators-activated receptors, PPAR) 途径<sup>[20]</sup>, 进而调节 GCs, 局部改善卵巢内分泌。研究表明, 使用 HA 作为生物支架可以提高 hUC-MSCs 的治疗效率。HA 不仅延长了细胞在卵巢中的滞留时间, 还增强了旁分泌功能, 提高了对 POF 的治疗效果<sup>[21]</sup>。

化疗药物, 特别是烷基化细胞毒性药物如环磷酰胺(cyclophosphamide, CTX) 是诱导 POF 的重要因素, 而 hUC-MSCs 通过调节 GCs 中卵泡刺激素受体(follicle stimulating hormone receptor, FSHR)、抗米勒管激素(anti-Müllerian hormone, AMH)、Cyp19a1 等蛋白以及增殖标志物增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA), 恢复卵巢功能和生育能力。余昊清等<sup>[22]</sup>也进行了类似研究, 进一步支持了 hUC-MSCs 在调节 GCs 凋亡过程中可能发挥作用。hUC-MSCs 进入体内后可能通过 JAK-STAT 信号通路改善炎症反应, 进而改善 POF 患者的卵巢功能。为了探究其治疗机制, 杨宏等<sup>[23]</sup>在 hUC-MSCs 治疗 POF 大鼠的基础上, 通过蛋白芯片技术发现, hUC-MSCs 可能通过 JAK-STAT 信号通路改善炎症

反应, 从而改善 POF 患者的卵巢功能。

还有研究<sup>[24]</sup>比较单次和多次注射 hUC-MSCs 的研究显示, 多次注射对于化疗后 60 d 时 AMH 和 Ki-67 水平的提升更为显著, 刺激激素受体、抑制素  $\alpha$  和  $\beta$  的表达也明显恢复, 表明多次移植 hUC-MSCs 对卵巢功能恢复更有效最近的研究还证实了 hUC-MSCs 对于卵膜间质细胞(TICs)功能的恢复作用, 这与孤儿核受体(NR4A1)的表达以及 NR4A1 磷酸化的提高有关<sup>[25]</sup>。

hUC-MSCs 的异质性限制了其研究和应用。对此, Shen 等<sup>[26]</sup>利用 10xGenomics 技术对 hUC-MSCs 进行了单细胞异质性分析, 确定了 lrp1 高亚群 hUC-MSCs 能改善 POF 小鼠的卵巢功能, 机制涉及独特的分泌功能、线粒体动力学恢复、卵巢微环境调节和细胞外基质重塑。为了探究 hUC-MSCs 治疗的安全性, 一项研究指出, hUC-MSCs 注射可能对卵巢和输卵管产生毒性, 而卵巢内注射可有效提高 hUC-MSCs 在卵巢内的利用率, 减少对其他器官的不良反应。对于这一疗法的安全性需要更多深入的研究来阐明。而在临床研究中, Yan 等<sup>[27]</sup>为 61 例 POF 患者进行了 hUC-MSCs 的卵巢原位移植, 发现不同阶段的卵泡在卵巢中生长, 并且没有患者出现移植相关的严重并发症。同时, 该研究发现在移植前闭经持续时间较短以及卵巢状况更好的患者在干细胞治疗后改善更加明显。

**1.3.2 人骨髓间充质干细胞(hBM-MSCs)** 骨髓间充质干细胞(bone marrow-derived mesenchymal stem cells, hBM-MSCs) 通常从胫骨或髂骨中提取, 在体外培养中易于获得和扩增, 是 POF 患者移植的良好选择。这些细胞具有抗凋亡、抗纤维化、抗炎和免疫调节作用, 能够迁移到受损卵巢并改善其功能。

临床研究方面, 2018 年印度 1 例 POI 患者通过自体 hBM-MSCs 移植后成功分娩 1 名 2700 g 的女婴, 系世界首例干细胞治疗 POF 不孕成功的病例<sup>[28]</sup>。在另一项临床试验中<sup>[29]</sup>, 50 例年龄在 30~50 岁的患者被诊断为 POF 和不孕症, 联合应用自体 hBM-MSCs 和生长因子, 在卵巢组织再移植前活化, 并采用 SEGOVA 手术进行治疗(一种微创方法, 包括卵巢皮腹腹腔镜生物切片检查和再移植)。结果表明, hBM-MSCs 在解决 POF 患者的不孕问题以及改善卵巢内分泌功能方面发挥重要作用。

为了验证 hBM-MSCs 通过卵巢内移植治疗 POF 的安全性, 一项研究<sup>[30]</sup>通过卵巢内注射 hBM-MSCs 治疗化疗诱导的 POF 小鼠模型, 进而通过基因组 DNA 聚合酶链反应(PCR)和冷冻成像系统上的全身切片分析了移植细胞的迁移情况, 结果发现移植的 hBM-MSCs 仅在小鼠卵巢中被检测到, 没有迁移到任何其他主要器官, 并且人类 DNA 没有被转移到胎儿体内。而最近的研究表明<sup>[31]</sup>, 经过基因组低甲基化处理的 hBM-MSCs 能够维持其多能性和活力, 并提高其在化疗诱导的 POF 小鼠中的治疗效果, 这可能作为 MSCs 移植的一种研究方向。

1.3.3 月经血源性子宫内膜干细胞(MenSCs) 月经血来源的间充质干细胞 (menstrual blood-derived mesenchymal stem cells, MenSCs) 作为一种新的 MSC 来源, 具有无创收集、周期性获得、无伦理风险等优点。这些细胞来源丰富, 具有高增殖活性、低免疫原性和自体移植的优势, 在多种疾病治疗中显示出良好效果<sup>[16]</sup>。与 hUCMSCs、hBM-MSCs 相比, MenSCs 具有更高的增殖活性和分化潜能, 可直接分化为来自 3 个不同胚层的细胞。在体外实验中, 顺铂诱导的颗粒细胞损伤在与 MenSCs 非接触式共培养或接受 MenSCs 条件培养基 (MenSC-CM) 干预后得到显著改善, 细胞抗凋亡能力提高, 尤其是 MenSC-CM 干预效果更为明显。MenSCs 通过上调自噬活性和激活 PI3K/Akt 信号通路, 增强了顺铂损伤卵巢颗粒细胞 (GCs) 的抗凋亡能力和存活率, 并提高了正常卵巢 GCs 的存活率<sup>[32]</sup>。2023 年 Zafardoust 等进行了大样本双侧卵巢靶向治疗, 他们将 180 名卵巢低反应 (poor ovarian response, POR 及 POF 同属卵巢功能减退, 也是导致女性不孕的主要原因) 的女性分为接受双侧 MenSCs 卵巢内注射组和未注射组各 90 人。结果发现治疗效果稳定, 表现出良好的耐受性<sup>[33]</sup>。这些研究表明, MenSCs 在治疗 POF 方面具有显著的潜力, 尤其是在改善卵巢颗粒细胞的抗凋亡能力和存活率方面。

1.3.4 人羊水间充质干细胞 (HuAFSC) 羊水间充质干细胞 (amniotic fluid-derived mesenchymal stem cells, AFSCs) 是一组存在于孕妇羊水间的干细胞, 它们具有低免疫原性, 可在特定条件下诱导多能分化为各种三胚层细胞, 这些干细胞在再生医学和细胞治疗领域显示出巨大的潜力。研究表明, HuAFSC 能够减少顺铂诱导的大鼠 GCs 凋亡, 降低顺铂对 GCs 增殖的抑制作用, 并减少顺铂对 FSHR 蛋白表达的影响, 从而改善卵巢功能。Geng 等<sup>[34]</sup>从 CD44<sup>+</sup>/CD105<sup>+</sup> 的 HuAFSC 亚群中分离外泌体, 并将其移植到体外和体内 POF 模型中, 从而产生显著的治疗效果。其机制是携带 miR-369-3p 的 CD44<sup>+</sup>/CD105<sup>+</sup> HuAFSC-外泌体可以特异性下调 YAF2 的表达, 抑制 PDCD5/p53 的稳定性, 减少卵巢 OGCs 的凋亡, 从而对 POF 起到治疗作用。

1.3.5 脂肪源性间充质干细胞 (ADSCs) 脂肪源性间充质干细胞 (adipose-derived mesenchymal stem cells, ADSCs) 因其含量丰富、易于分离、微创收集、增殖能力强及免疫原性低等优点, 成为理想的细胞治疗选择。ADSCs 主要来源于白色脂肪组织, 通过促血管生成、细胞归巢和免疫调节作用发挥治疗潜力。在临床前化疗诱导的 POF 动物模型中, ADSCs 已被证明可以修复受损的卵巢功能, 静脉移植 ADSCs 可以减轻化疗对卵巢储备、卵母细胞质量、卵巢功能和生殖性能有害影响<sup>[35]</sup>。ADSCs 还可以通过改善 POF 小鼠的卵巢内分泌功能, 减少颗粒细胞凋亡从而发挥其治疗作用。最近的一项研究显示, 通过移植 ADSCs 至 CTX 诱导的 POF 大鼠后, 其

卵巢颗粒细胞凋亡明显减少, 促卵泡激素分泌提高, 其机制与抑制 PI3K/Akt/mTOR 轴的激活有关<sup>[36]</sup>。有研究<sup>[37]</sup>发现, 自体 ADSCs 经褪黑素预处理后, 其增殖和分泌功能显著增强, 移植后可明显改善化疗诱导的小鼠卵巢损伤, 这与 SIRT6/NF- $\kappa$ B 通路有关, 但具体激活机制尚不清楚。

目前已有 ADSCs 与用于人体以治疗 POF 的报道, 一项非随机一期临床试验<sup>[38]</sup>将 9 名 POF 患者分为三组, 分别接受不同数量的自体 ADSCs 悬液移植于单卵巢。在定期随访期间, 参与者未出现任何早发性可能的不良反应和继发性并发症, 其中 4 例患者月经恢复。结果表明卵巢内植入 ADSCs 是安全可行的, 并且与血清 FSH 不一致的下降有关。然而, 快速扩散和保留不足是 ADSCs 治疗应用的主要限制, 故其常与生物功能支架结合使用<sup>[39]</sup>。为了解决这些问题, Li 等<sup>[40]</sup>设计了一个结合无药物体外激活 (IVA) 技术和 ADSCs 的 3D 生物打印工程卵巢, 应用于 POF 大鼠后, 显著提高了卵泡计数、GCs 增殖、新生血管生成及激素水平, 同时延长了 ADSCs 的保留时间, 构建了早期血管微环境, 改善了 POF 大鼠的卵巢功能。

## 2 重要的治疗机制——干细胞的旁分泌

干细胞 (stem cells, SCs) 在卵巢早衰 (POF) 治疗中的研究取得了显著进展。SCs 通过直接分化和旁分泌提供治疗优势, 其中后者被认为是促进卵泡细胞生长更关键的机制。SCs 迁移至卵巢后发挥旁分泌作用, 包括分泌细胞因子、趋化因子、生长因子和细胞外囊泡。细胞衍生外泌体是 EVs 的重要亚类, 这些外泌体中的细胞信号包括蛋白质、细胞表面受体、酶、细胞因子、生长因子、转录因子、信号脂质、信使 RNA 和调节性 miRNA 等。这些生物活性分子通过抗凋亡、抗纤维化、抗血管生成和调节激素水平等途径来改善受损卵巢的状况<sup>[41-42]</sup>。

目前认为 SCs 是分泌外泌体能力最强的细胞类型之一。SCs 及其来源的外泌体对 GCs 的调控作用包括: 归巢、分化、凋亡、增殖和氧化应激<sup>[43]</sup>, 已有多项研究证实了干细胞旁分泌功能对于治疗 POF 的重要作用。

携带 mir-126-3p、miR-146a 和 miR-10a 的外泌体已被证明对化疗诱导的小鼠卵巢卵泡闭锁有保护作用。为了进一步解释其治疗机制, 一项研究<sup>[44]</sup>采用顺铂诱导的 POF 细胞模型, 通过细胞增殖和凋亡实验, 发现 mir-126-3p-hUCMSC-外泌体可以在体外内化到卵巢颗粒细胞(OGCs)中, 并可促进顺铂损伤 OGCs 的增殖和抑制凋亡, 证实了 mir-126-3p 修饰的 hUCMSC-Exos 在卵巢早衰治疗中的作用, 其机制与 PI3K/AKT/mTOR 信号通路的参与有关。其他研究<sup>[21,45-46]</sup>也证实了相似观点, 肯定了 PI3K/Akt/mTOR 通路在级联恢复 POF 小鼠卵巢功能中的重要作用, 以及缓解卵巢早衰大鼠卵巢颗粒细胞过度自噬的功能。

hUCMSC 来源的含有 miR-10a 的外泌体可以显著增加 Bcl-2 的表达, 降低 Bax 和 Caspase-3 的表达, 从而保

护细胞免受顺铂的损伤<sup>[47]</sup>。hUCMSC-Exos 还可以增加超排卵巢的排卵数量, 以及囊胚的形成, 其维持生育能力的潜在机制与 p53 相关细胞凋亡的下调及其抗炎功能有关。另一项研究<sup>[48]</sup>发现, 经过 hUCMSC-Exos 处理后, 颗粒细胞的活性氧(ROS)生成、游离铁离子和脂质过氧化水平降低, 铁死亡标志蛋白 Nrf2、xCT 和 GPX4 也降低。这一发现揭示了 hUCMSC-Exos 在 POI 治疗中的新机制, 即通过 Nrf2/GPX4 信号通路抑制铁凋亡, 从而保护 CTX 诱导的卵巢损伤和颗粒细胞凋亡。在先前的研究中<sup>[49]</sup>也证实, 人胎盘间充质干细胞(hPMSCs)能够分泌表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF), 进而通过剂量依赖性上调 NRF2/HO-1 通路的表达抑制氧化应激并抑制颗粒细胞凋亡。

Sun 等<sup>[50]</sup>通过靶扫描、microT-CDS 和 qRT-PCR 等技术, 发现 hBM-MSCs 来源的外泌体携带的 miR-644-5p 通过靶向细胞的 p53 改善了 POF 小鼠的卵泡形态, 并抑制卵巢颗粒细胞的凋亡, 证实了 hBM-MSCs 来源的外泌体可以改善 POF。hBM-MSCs 来源的外泌体也可以通过 miRNA-22-3p 抑制 CTX 诱导的卵巢颗粒细胞损伤<sup>[51]</sup>。还有研究<sup>[52]</sup>表明, 对于 CTX 诱导的小鼠 POF 样模型, 人多能干细胞-间充质干细胞(hi-MSC)外泌体能恢复血清性激素水平, 显著促进颗粒细胞的增殖, 并抑制其凋亡。

### 3 讨论与总结

卵巢早衰是一种严重影响女性生育能力和整体健康的疾病, 其复杂性和病因的多样性使得目前的治疗方法尚不理想。干细胞治疗技术的出现为改善卵巢功能提供了新的可能性, 并成为再生医学和生殖医学领域的研究热点。本文全面且系统地综述了当前细胞及动物实验阶段所涉及的常用干细胞种类及其作用机制。虽然多项研究的结果令人鼓舞, 但干细胞(stem cells, SCs)及其衍生的细胞外囊泡在未来临床应用仍面临一系列挑战。这些挑战包括 SCs 异质性的限制、EV 生产及纯化的困难、SCs 卵巢靶向能力的提高、SCs 的增殖率和治疗效率的提高等。为了克服这些挑战, 研究人员可以探索 SCs 与其他疗法的联合应用、个性化治疗方案的制定以及安全性的长期评估。虽然 ESCs 和 iPSCs 展示了巨大的潜力, 但由于伦理和技术上的挑战, 它们距离大规模临床应用还有一定距离。相比之下, MSCs 因其来源广泛、易获取、低免疫原性等特点, 在现阶段可能具有更高的临床转化价值, 已有较多的临床应用案例证明了 MSCs 的安全性和可行性, 尤其在卵巢功能恢复方面显示出了良好的效果。此外, MSCs 还可以与其他疗法联合使用, 以提高治疗效率和靶向能力。随着研究的深入和技术的进步, 尤其是 iPSCs 的优化和 MSCs 的深入研究, 未来可能会有更多的突破, 为延缓卵巢衰老、保护女性生育力开辟新的道路, 干细胞治疗技术有望成为预防及治疗 POF 导致的生殖系统疾病的有力手段, 为女性健康和生育力的保护提供新的思路。

### 参 考 文 献

- [1] 郁琦, 唐瑞怡. 全方位提升早发性卵巢功能不全的诊治水平[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2023, 39(9): 865-868.
- [2] Wang CY, Tang XD, Zhang L et al. Huangqin-tang and ingredients in modulating the pathogenesis of ulcerative colitis[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2017, 2017: 7016468.
- [3] Khattak H, Malhas R, Craciunas L, et al. Fresh and cryopreserved ovarian tissue transplantation for preserving reproductive and endocrine function: A systematic review and individual patient data meta-analysis[J]. Hum Reprod Update, 2022, 28(3): 400-416.
- [4] 邵森森, 崔亚文, 周阁. 中医药治疗早发性卵巢功能不全的研究进展[J]. 中医药信息, 2024, 41(8): 67-71.
- [5] 车祺, 董曦. 卵巢储备功能低下的诊治进展[J]. 实用妇产科杂志, 2024, 40(7): 517-9.
- [6] 巴雅力格, 韩霞, 云升. 间充质干细胞治疗卵巢早衰的机制研究进展[J]. 基础医学与临床, 2023, 43(12): 1891-1895.
- [7] Zhang J, Li H, Wu Z, et al. Differentiation of rat iPS cells and ES cells into granulosa cell-like cells *in vitro*[J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2013, 45(4): 289-295.
- [8] Liu MY, Qiu Y, Xue ZW, et al. Small extracellular vesicles derived from embryonic stem cells restore ovarian function of premature ovarian failure through PI3K/AKT signaling pathway[J]. Stem Cell Res Ther, 2020, 11(1): 3.
- [9] 刘梦宇. ESCs-sEVs 治疗 POI 的效果与机制研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2020.
- [10] Shin EY, Kim DS, Lee MJ, et al. Prevention of chemotherapy-induced premature ovarian insufficiency in mice by scaffold-based local delivery of human embryonic stem cell-derived mesenchymal progenitor cells[J]. Stem Cell Res Ther, 2021, 12(1): 431.
- [11] Hawkins KE, Corcelli M, Dowding K, et al. Embryonic stem cell-derived mesenchymal stem cells (MSCs) have a superior neuroprotective capacity over fetal MSCs in the hypoxic-ischemic mouse brain[J]. Stem Cells Transl Med, 2018, 7(5): 439-449.
- [12] Yang S, Ding SF, He SW, et al. Differentiation of primordial germ cells from premature ovarian insufficiency-derived induced pluripotent stem cells[J]. Stem Cell Res Ther, 2019, 10(1): 156.
- [13] Elias KM, Ng NW, Dam KU, et al. Fertility restoration in mice with chemotherapy-induced ovarian failure using differentiated iPSCs[J]. EBioMedicine, 2023, 94: 104715.
- [14] Cao RC, Lv Y, Lu G, et al. Extracellular vesicles from iPSC-MSCs alleviate chemotherapy-induced mouse ovarian damage via the ILK-PI3K/AKT pathway[J]. Zool Res, 2023, 44(3): 620-635.
- [15] Fu YX, Ji J, Shan F, et al. Human mesenchymal stem cell treatment of premature ovarian failure: New challenges and opportunities[J]. Stem Cell Res Ther, 2021, 12(1): 161.
- [16] Zhang S, Yahaya BH, Pan Y, et al. Menstrual blood-derived endometrial stem cell, a unique and promising alternative in the

- stem cell-based therapy for chemotherapy-induced premature ovarian insufficiency[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2023, 14(1): 327.
- [17] Yang ZL, Du X, Wang CL, 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.
- [18] Geng ZX, Guo HL, Li YF, et al. Stem cell-derived extracellular vesicles: A novel and potential remedy for primary ovarian insufficiency[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2023, 11: 1090997.
- [19] Zhang L, Sun Y, Zhang XX, et al. Comparison of CD146<sup>+</sup> mesenchymal stem cells in improving premature ovarian failure[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1): 267.
- [20] Li Q, An X, Man X, et al. Transcriptome analysis reveals that cyclophosphamide induces premature ovarian failure by blocking cholesterol biosynthesis pathway[J]. *Life Sci*, 2019, 239: 116999.
- [21] Jiao WL, Mi X, Yang YJ, et al. Mesenchymal stem cells combined with autocrosslinked hyaluronic acid improve mouse ovarian function by activating the PI3K-AKT pathway in a paracrine manner[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1): 49.
- [22] 余昊清, 李嘉, 高祯, 等. 人脐带间充质干细胞尾静脉移植对围绝经期大鼠卵巢凋亡相关蛋白的影响[J]. *现代妇产科进展*, 2024, 33(4): 264-269+274.
- [23] 杨宏, 代文杰, 杜星, 等. 人脐带间充质干细胞对卵巢早衰大鼠模型的潜在治疗机制 [J]. *宁夏医科大学学报*, 2023, 45(12): 1214-1221.
- [24] Lv XD, Guan CY, Li Y, et al. Effects of single and multiple transplantations of human umbilical cord mesenchymal stem cells on the recovery of ovarian function in the treatment of premature ovarian failure in mice[J]. *J Ovarian Res*, 2021, 14(1): 119.
- [25] Luo QQ, Tang Y, Jiang ZL, et al. hUCMSCs reduce theca interstitial cells apoptosis and restore ovarian function in premature ovarian insufficiency rats through regulating NR4A1-mediated mitochondrial mechanisms[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2022, 20(1): 125.
- [26] Shen JC, Wu L, Shi XY, et al. Transplantation of the LRP1 (high) subpopulation of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells improves ovarian function in mice with premature ovarian failure and aged mice[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2024, 15(1): 64.
- [27] Yan L, Wu YX, Li L, et al. Clinical analysis of human umbilical cord mesenchymal stem cell allograft transplantation in patients with premature ovarian insufficiency[J]. *Cell Prolif*, 2020, 53(12): e12938.
- [28] Gupta S, Lodha P, Karthick MS, et al. Role of autologous bone marrow-derived stem cell therapy for follicular recruitment in premature ovarian insufficiency: Review of literature and a case report of world's first baby with ovarian autologous stem cell therapy in a perimenopausal woman of age 45 years[J]. *J Hum Reprod Sci*, 2018, 11(2): 125-130.
- [29] Tinjić S, Abazović D, Ljubić D, et al. Influence of autologous *in vitro* activation of ovaries by stem cells and growth factors on endocrine and reproductive function of patients with ovarian insufficiency—a clinical trial study[J]. *Int J Fertil Steril*, 2021, 15(3): 178-188.
- [30] Park HS, Chugh RM, Elsharoud A, et al. Safety of intraovarian injection of human mesenchymal stem cells in a premature ovarian insufficiency mouse model[J]. *Cell Transplant*, 2021, 30: 963689720988502.
- [31] Nabil SA, Badr EAE, Holah NS, et al. Conservative hypomethylation of mesenchymal stem cells and their secretome restored the follicular development in cisplatin-induced premature ovarian failure mice[J]. *Reprod Sci*, 2024, 31(4): 1053-1068.
- [32] Pan RM, Wang RL, Cheng FY, et al. Endometrial stem cells alleviate cisplatin-induced ferroptosis of granulosa cells by regulating Nrf2 expression[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2024, 22(1): 41.
- [33] Zafardoust S, Kazemnejad S, Fathi-KM, et al. The effects of intraovarian injection of autologous menstrual blood-derived mesenchymal stromal cells on pregnancy outcomes in women with poor ovarian response[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2023, 14(1): 332.
- [34] Geng ZX, Chen HY, Zou G, et al. Human amniotic fluid mesenchymal stem cell-derived exosomes inhibit apoptosis in ovarian granulosa cell via miR-369-3p/YAF2/PDCD5/p53 pathway[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 3695848.
- [35] Salvatore G, De FM, Dolci S, et al. Human adipose-derived stromal cells transplantation prolongs reproductive lifespan on mouse models of mild and severe premature ovarian insufficiency[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1): 537.
- [36] Ai G, Meng M, Guo J, et al. Adipose-derived stem cells promote the repair of chemotherapy-induced premature ovarian failure by inhibiting granulosa cells apoptosis and senescence[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2023, 14(1): 75.
- [37] Huang QY, Chen SR, Zhao YX, et al. Melatonin enhances autologous adipose-derived stem cells to improve mouse ovarian function in relation to the SIRT6/NF- $\kappa$ B pathway[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1): 399.
- [38] Mashayekhi M, Mirzadeh E, Chekini Z, et al. Evaluation of safety, feasibility and efficacy of intra-ovarian transplantation of autologous adipose derived mesenchymal stromal cells in idiopathic premature ovarian failure patients: Non-randomized clinical trial, phase I, first in human[J]. *J Ovarian Res*, 2021, 14(1): 5.
- [39] Su J, Ding LJ, Cheng J, et al. Transplantation of adipose-derived stem cells combined with collagen scaffolds restores ovarian function in a rat model of premature ovarian insufficiency[J]. *Hum Reprod*, 2016, 31(5): 1075-1086.
- [40] Li Q, Zheng JH, Li ZK, et al. Drug-free *in vitro* activation combined with 3D-bioprinted adipose-derived stem cells restores ovarian function of rats with premature ovarian insufficiency[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1): 347.
- [41] Huang QY, Chen SR, Chen JM, et al. Therapeutic options for premature ovarian insufficiency: An updated review[J]. *Reprod*

- Biol Endocrinol, 2022, 20(1): 28.
- [42] Hadé MD, Suire CN, Suo Z, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes: Applications in regenerative medicine[J]. Cells, 2021, 10(8): 1959.
- [43] 刘维宏, 邵娜, 于艺. 间充质干细胞及其外泌体对卵巢早衰颗粒细胞调控作用的研究进展[J]. 中国优生与遗传杂志, 2024, 32(3): 659-65.
- [44] Qu QX, Liu LH, Cui YQ, 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[J]. Stem Cell Res Ther, 2022, 13(1): 352.
- [45] Li N, Fan X, Liu LH, et al. Therapeutic effects of human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles on ovarian functions through the PI3K/Akt cascade in mice with premature ovarian failure[J]. Eur J Histochem, 2023, 67(3): 3506.
- [46] Dai WJ, Yang H, Xu B, et al. Human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells (hUC-MSCs) alleviate excessive autophagy of ovarian granular cells through VEGFA/PI3K/AKT/mTOR pathway in premature ovarian failure rat model[J]. J Ovarian Res, 2023, 16(1): 198.
- [47] Jiang F, Hong JZ, Jiang JJ, et al. The effect of human umbilical cord mesenchymal stem cells on premature ovarian cell senescence through miR-10a[J]. Int J Womens Health, 2024, 16: 1023-1032.
- [48] Zhou Y, Huang JF, Zeng LL, et al. Human mesenchymal stem cells derived exosomes improve ovarian function in chemotherapy-induced premature ovarian insufficiency mice by inhibiting ferroptosis through Nrf2/GPX4 pathway [J]. J Ovarian Res, 2024, 17(1): 80.
- [49] Ding CY, Zou QY, Wu YF, et al. EGF released from human placental mesenchymal stem cells improves premature ovarian insufficiency via NRF2/HO-1 activation[J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(3): 2992-3009.
- [50] Sun B, Ma YJ, Wang F, et al. miR-644-5p carried by bone mesenchymal stem cell-derived exosomes targets regulation of p53 to inhibit ovarian granulosa cell apoptosis[J]. Stem Cell Res Ther, 2019, 10(1): 360.
- [51] 吴洁, 刘彦礼, 秦艺璐, 等. 骨髓间充质干细胞来源外泌体的微小 RNA-22-3p 参与抑制环磷酸腺苷诱导卵巢颗粒细胞损伤的机制研究[J]. 实用临床医药杂志, 2024, 28(4): 39-44.
- [52] Zhang LF, Ma YB, Xie XG, et al. Human pluripotent stem cell-mesenchymal stem cell-derived exosomes promote ovarian granulosa cell proliferation and attenuate cell apoptosis induced by cyclophosphamide in a POI-like mouse model[J]. Molecules, 2023, 28(5): 2112.

收稿日期: 2024-12-18