

生殖系疾病

DOI:10.13406/j.cnki.cyx.002349

早发性卵巢功能不全的颗粒细胞自噬机制研究进展

万云慧,陈晓勇

(江西省妇幼保健院中医科,南昌 330006)

【摘要】早发性卵巢功能不全(premature ovarian insufficiency,POI)是指年龄不足 40 岁的女性,出现卵巢功能减退甚至衰竭。POI 的发病机制尚不十分明确,目前越来越多的研究发现,颗粒细胞的自噬诱导了 POI 的发生,本文将对 POI 的颗粒细胞自噬研究进展进行阐述。

【关键词】早发性卵巢功能不全;颗粒细胞;自噬

【中图分类号】R711.75

【文献标志码】A

【收稿日期】2019-06-26

Advances in studies on the mechanism of autophagy granulosa cells in premature ovarian insufficiency

Wan Yunhui, Chen Xiaoyong

(Department of Traditional Chinese Medicine of Jiangxi Maternal and Child Health Hospital)

【Abstract】Premature ovarian insufficiency(POI) refers to the decline or even failure of ovarian function in women under the age of 40. At present, the pathogenesis of POI is still not very clear. More and more studies have found that the autophagy of granulosa cells induces the occurrence of POI. This paper will elaborate the research progress of the autophagy of granulosa cells of POI.

【Key words】premature ovarian insufficiency; granule cells; autophagy

早发性卵巢功能不全(premature ovarian insufficiency, POI)是指年龄不足 40 岁的女性出现闭经或月经稀发 4 个月以上,间隔 4~6 周连续 2 次的血清促卵泡激素(follicle-stimulating hormone,FSH)水平大于 25 IU/L^[1-2]。POI 包括以往的卵巢功能减退(deline in ovarian reserve,DOR)及卵巢早衰(premature ovarian failure,POF),临床以月经异常(停经或月经稀发)为主,有时伴有雌激素缺乏的症状(如潮热、盗汗、性交不适、阴道干涩、睡眠不佳、情绪改变、注意力不能集中、尿频、性欲低下等)^[3],甚至引起不孕。POI 的西医病因病机尚无明确的阐述,主要包括如遗传、免疫、医源性、感染、环境及个人因素等^[4]。越来越多的研究发现,卵巢颗粒细胞(granule cells,GCs)自噬导致的卵泡闭锁、停止发育,可能是 POI 的发病机制之一^[5-7]。下面将对 POI 的颗粒细胞自噬发病机制研究进展进行阐述。

1 POI 的概述

我国 POI 的发病率约为 0.1%^[8]。近年来,POI 的发病率呈逐年升高且呈低龄化趋势^[9]。现代医学中 POI 的病因病机尚不明确,而这些病因导致的卵泡闭锁或卵泡功能丧失,可引起月经失调或闭经、不孕、流产、绝经,以及影响全身的器官如骨骼、代谢、心脑血管和神经等,会给女性的生理健康带来严重的影响。同时,也给女性带来严重的心理创伤,如因生育能力下降或丧失带来的心理压力,和因低雌激素引起的相关症状(如烦躁易怒、焦虑抑郁等),因此有必要研究 POI 的发病机制。目前越来越多的研究发现,颗粒细胞的自噬诱导了 POI 的发生。

2 颗粒细胞自噬

自噬是指细胞内的长寿命蛋白质及受损的细胞器经溶酶体途径被降解的过程,是真核细胞所特有的现象^[10]。自噬与机体的发育、代谢、免疫调节和衰老等多种过程密切相关。

作者简介:万云慧,Email:wanyunhui88216@163.com,

研究方向:妇科生殖内分泌。

基金项目:江西省卫计委中医药科研基金资助项目(编号:2018A360)。

优先出版:http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20191118.1659.006.html

(2019-11-19)

且有研究发现,自噬能够通过过度的自我消化和降解细胞内重要的组成结构来促进细胞死亡^[1]。在正常女性的卵巢中,随着年龄的增加,原始卵泡池中的卵泡逐渐减少,在每个月经周期中,一般仅有 1 个卵泡成熟并参与排卵,其他绝大多数卵泡都会闭锁而死亡。卵泡过早过快的闭锁是 POI 发生的主要病理机制。虽然卵泡闭锁随着卵巢周期的发生而周期性地出现,但是大量卵泡死亡的机制尚不明确。GCs 围绕在卵泡周围,参与卵泡的生长、发育与成熟。而 GCs 自噬发生在卵泡的各个发育阶段,并参与卵巢疾病的发生和发展^[2]。近年来有研究认为,GCs 的自噬参与了卵泡的大量闭锁^[3]。冯逊逊和董晓英^[4]通过总结近些年细胞自噬的相关研究,发现细胞自噬与免疫性卵巢早衰的发生具有一定的关系。梁嘉丽^[5]研究发现,GCs 自噬参与了 POI 的发病过程。还有研究显示,多刺鼠死亡的卵母细胞胞质中含有丰富的溶酶体和自噬体,证实卵母细胞只发生自噬死亡途径^[6]。

综上所述,GCs 自噬诱导的卵泡过度闭锁可能是 POI 的发病机制。

3 自噬的分子机制

Song 等^[7]的研究表明,GCs 的自噬能够调节原始卵泡的储备,自噬相关基因可能是导致 POI 发生的潜在致病基因。迄今为止发现 40 多种基因参与自噬,这些基因被称作自噬相关基因 (autophagy related gene, Atg)^[8]。自噬最主要的特征是双层膜结构的自噬小体形成,自噬小体的形成主要包括诱导、成核、延伸和完成 4 个步骤^[9]。Atg1 激酶复合物由 Atg1、Atg13、Atg17 等组成,可以诱导自噬的发生。由 Vps15、Atg6/Beclin1、Atg18 等组成的磷脂酰肌醇三磷酸激酶复合物参与自噬泡的形成。Atg12 蛋白结合系统和 Atg8/微管相关蛋白-1 轻链 3 (microtubule associated protein 1 light chain3, LC3) 脂化系统是自噬泡成核所必需的 2 个类泛素样蛋白结合系统。Atg12 蛋白结合系统^[20]由 Atg5、Atg7、Atg10 及 Atg12 等组成。Atg8/LC3 脂化系统由 Atg3、Atg4、Atg7 及 Atg8/LC3 等组成^[21]。在延伸过程中,LC3 结合于自噬小体膜上直至自噬小体与溶酶体融合才分离^[9],现在人们常常用 LC3^[22]及 Beclin 1 来评价自噬的活性。

4 参与颗粒细胞自噬的信号通路

4.1 PI3K-AKT-mTOR 信号通路

最经典的是 PI3K-AKT-mTOR 信号通路,磷脂酰肌醇-3 激酶 (phosphoinositide 3 kinase, PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase B, AKT) 参与细胞增殖、分化、凋亡及自噬等多种细胞功能的调节^[23]。杨静等^[24]的研究表明,PI3K-Akt 信号通路参与了 POF 的发生。目前认为,信号传导复合物和多种生长因子,如血管内皮生长因子、人生长因子、成纤维细胞生长因子、胰岛素和血管内皮生长因子 I 都能活化 PI3K。活化后的 PI3K 磷酸化 IRS-1 使其产生 PIP3,PIP3 能与蛋白 AKT 和 PDK1 结合,促使 AKT 活化。活化后的 AKT 可直接磷酸化 mTOR 分

子并激活 mTOR,进而抑制自噬。而在饥饿、缺氧、压力等应激条件下,会引起 PI3K 下游 AKT 活化减少,使细胞周期停滞,从而抑制细胞增殖,诱导细胞自噬,从而引起细胞死亡^[25]。PI3K/AKT/mTOR 信号通路也参与 GCs 自噬。白俊等^[26]的研究表明,卡铂可能是通过抑制 PI3K/AKT/mTOR 信号通路诱导 GCs 自噬。Choi 等^[27]的研究表明,卵泡发育和闭锁是 GCs 通过 PI3K/AKT/mTOR 途径介导的自噬调控的。

4.2 AMPK 信号通路

腺苷酸激活的蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 是细胞内能量的传感器。在营养丰富的状态下,AMPK 处于失活状态;当 AMP/ATP 的比率增高或细胞能量需求增加时,AMPK 被激活,激活的 AMPK 通过磷酸化 TSC1/2 复合物,使 mTORC1 的活性受到抑制,进而促进自噬的发生。AMPK 也可以直接作用于 RAPTOR,使其与 mTORC1 分离,解除对 mTORC1 的抑制^[28]。邢玉等^[29]的研究表明,归术益坤方可以通过调控 p53/AMPK 信号通路来抑制颗粒细胞的自噬。

4.3 Beclin 1 信号通路

Beclin1 基因是哺乳动物参与细胞自噬的特异基因,是酵母菌 ATG6/VSP30 在哺乳动物的同源基因。Beclin1 能够和很多种蛋白相结合形成复合物,从而参与调节自噬的形成^[30]。Beclin1 若与 Ambra1 蛋白相结合,可以促使细胞自噬囊泡膜的集聚,从而促进自噬的形成^[31]。Beclin 1 与 UVRAG 蛋白 (为抗紫外线相关基因的产物蛋白) 相结合,可诱导自噬体的成熟,而与 Rubicon 相结合,则使自噬体的成熟受到抑制^[32]。有研究认为,B 细胞淋巴瘤/白血病-2 癌基因 (B-cell lymphoma/leukemia-2, Bcl-2) 是调节细胞凋亡的关键因子,同时也参与调节细胞的自噬,而 Beclin-1 蛋白的 BH3 结构域与 Bcl-2 蛋白的相互作用调节自噬^[33]。有研究认为,和自噬相关的信号通路 mTOR、Beclin-1-Vps34-Vps15 复合体、FoxO 转录因子任何一处发生异常,都有可能影响卵巢颗粒细胞的自噬水平,导致卵泡的过度消耗,从而参与 POI 的发病过程^[5]。

4.4 转化生长因子 (transforming growth factor, TGF)- β /Smad3 信号通路

TGF- β /Smad3 信号通路是典型的自/旁分泌调节通路。该通路能够影响内分泌激素的产生,所以能够调节卵泡的发育及 GC 的增殖分化,因此可以调节卵巢的功能^[34]。有研究表明,Smad3 可以与 Bcl-2 结合,进而影响 Bcl-2 与 Beclin-1 结合,起到调节自噬水平的作用^[35]。Smad3 的表达与 LC3 II/I 的表达呈正相关^[36]。LC3 是自噬体膜形成的标记蛋白,可以通过检测其水平来评估自噬水平,所以,Smad3 途径对自噬有着重要的调节作用,且 TGF- β /Smad3 信号通路与 PI3K/Akt 信号通路是互相联系的。因此,TGF- β /Smad3 信号通路的过表达可以促进 GC 自噬,导致卵泡的过度消耗,从而引起 POI。

5 展望

自噬普遍存在于真核细胞中,近年来,越来越多的研究发现很多疾病与自噬相关。自噬的诱导同时参与了卵泡的生长、闭锁和分化,介导了颗粒细胞的程序性死亡,从而导致卵

巢疾病,所以 POI 的产生与颗粒细胞的自噬密切相关。而参与自噬的信号通路,如 PI3K-AKT-mTOR 信号通路、AMPK 信号通路、Beclin 1 信号通路、TGF- β /Smad3 信号通路,任何一处发生异常都有可能致卵泡发育异常,导致 POI 出现,但其具体机制尚未完全清楚。因此,进一步深入研究自噬在 POI 发病中的机制,可以为临床治疗 POI 提供更好的理论依据和治疗策略。

参 考 文 献

- [1] Webber L, Davies M, Anderson R, et al. ESHRE guideline; management of woman with premature ovarian insufficiency[J]. Hum Reprod, 2016, 31(5): 926-937.
- [2] 中华医学会妇产科学分会绝经学组. 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.
- [3] 吴洁. 早发性卵巢功能不全诊断及遗传学进展[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2018, 34(3): 243-245.
- [4] Tucker EJ, Grover SR, Bachelot A, et al. Premature ovarian insufficiency: new perspectives on genetic cause and phenotypic spectrum[J]. Endocr Rev, 2016, 37(6): 609-635.
- [5] 王灿, 廖海燕, 刘慧萍, 等. 自噬机制与卵巢早衰的关系[J]. 生殖与避孕, 2016, 36(8): 637-641.
- [6] Choi J, Jo M, Lee E, et al. Induction of apoptotic cell death via accumulation of autophagosomes in rat granulosa cells[J]. Fertil Steril, 2011, 95(4): 1482-1486.
- [7] 刘慧萍, 曾柳庭, 张国民, 等. 颗粒细胞与卵母细胞自噬对卵泡发育和闭锁的调控[J]. 生殖与避孕, 2017, 37(1): 67-74.
- [8] 王慧源, 浦丹华, 吴洁. 早发性卵巢功能不全与 TGF- β 超家族基因突变关系探讨[J]. 中国计划生育学杂志, 2018, 26(8): 754-757.
- [9] Wu X, Cai H, Kallianpur A, et al. Impact of premature ovarian failure on mortality and morbidity among Chinese women[J]. PLoS One, 2014, 9(3): e89597.
- [10] 喻琴琴, 杨俊, 李馨欣. 自噬及其抑制剂的研究进展[J]. 实用医学杂志, 2013, 29(17): 2908-2910.
- [11] Mattiolo P, Yuste VJ, Boix J, et al. Autophagy exacerbates caspase-dependent apoptotic cell death after short times of starvation[J]. Biochem Pharmacol, 2015, 8(4): 573-586.
- [12] 黄姗姗, 刘慧萍, 张钰玉, 等. 卵巢颗粒细胞自噬与 PI3K/AKT/FOXO3a 信号通路的相关性[J]. 湖南中医药大学学报, 2019, 39(6): 775-780.
- [13] Tiwari M, Prasad S, Tripathi A, et al. Apoptosis in mammalian oocytes: a review[J]. Apoptosis, 2015, 20(8): 1019-1025.
- [14] 冯逊逊, 董晓英. 基于细胞自噬探讨免疫性卵巢早衰形成机制[J]. 医学研究杂志, 2017, 46(8): 15-18.
- [15] 梁嘉丽. 左归丸改善顺铂所致的早发性卵巢功能不全的实验研究[D]. 广州: 暨南大学, 2018.
- [16] Hulas-Stasiak M, Gawron A. Follicular atresia in the prepubertal spiny mouse (*Acomys cahirinus*) ovary[J]. Apoptosis, 2011, 16(10): 967-975.
- [17] Song ZH, Yu HY, Wang P, et al. Germ cell-specific Atg7 knock-out results in primary ovarian insufficiency in female mice[J]. Cell Death Dis, 2015, 6: e1589.
- [18] Mochida K, Oikawa Y, Kimura Y, et al. Receptor-mediated selective autophagy degrades the endoplasmic reticulum and the nucleus[J]. Nature, 2015, 522(7556): 359-362.
- [19] 徐倩, 哈小琴. 自噬在缺氧应激中的保护作用及其调控机制[J]. 医学研究杂志, 2017, 46(2): 7-9.
- [20] Sakoh-Nakatogawa M, Matoba K, Asai E, et al. Atg12-Atg5 conjugate enhances E2 activity of Atg3 by rearranging its catalytic site[J]. Nat Struct Mol Biol, 2013, 20(4): 433-439.
- [21] Lee YK, Lee JA. Role of the mammalian ATG8/LC3 family in autophagy: differential and compensatory roles in the spatiotemporal regulation of autophagy[J]. BMB Rep, 2016, 49(8): 424-430.
- [22] Feng Y, Backues SK, Baba M, et al. Phosphorylation of Atg9 regulates movement to the phagophore assembly site and the rate of autophagosome formation[J]. Autophagy, 2016, 12(4): 648-658.
- [23] Zhang DM, Liu JS, Deng LJ, et al. Arenobufagin, a natural bufadienolide from toad venom, induces apoptosis and autophagy in human hepatocellular carcinoma cells through inhibition of PI3K/Akt/mTOR pathway[J]. Carcinogenesis, 2013, 34(6): 1331-1342.
- [24] 杨静, 梁嘉丽, 秦佳佳, 等. PI3K/Akt 信号通路卵巢早衰相关性的研究进展[J]. 现代妇产科进展, 2016, 25(2): 156-158.
- [25] 张升, 吴友苹, 顾利强, 等. 细胞自噬进程的分子信号通路研究进展[J]. 生命的化学, 2018, 38(2): 213-223.
- [26] 白俊, 吴也可, 吴克明, 等. 雷公藤甲素通过 PI3K/AKT/mTOR 通路诱导卵巢颗粒细胞自噬的实验研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(16): 3429-3434.
- [27] Choi J, Jo M, Lee E, et al. Induction of apoptotic cell death via accumulation of autophagosomes in rat granulosa cells[J]. Fertil Steril, 2011, 95(4): 1482-1486.
- [28] Wang Z, Liu N, Liu K, et al. Autophagy mediated CoCrMo particle induced peri-implant osteolysis by promoting osteoblast apoptosis[J]. Autophagy, 2015, 11(12): 2358-2369.
- [29] 邢玉, 刘欣, 刘杰, 等. 通过 p53/AMPK 信号通路研究归术益坤方对多囊卵巢综合征大鼠颗粒细胞自噬的影响[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(11): 5074-5077.
- [30] Zhang H, Bosch-Marce M, Shimoda LA, et al. Mitochondrial autophagy is an HIF-1-dependent adaptive metabolic response to hypoxia[J]. J Biol Chem, 2008, 283(16): 10892-10903.
- [31] Fimia GM, Di Bartolomeo S, Piacentini M, et al. Unleashing the Ambra1-Beclin 1 complex from dynein chains: Ulk1 sets Ambra1 free to induce autophagy[J]. Autophagy, 2011, 7(1): 115-117.
- [32] Takahashi Y, Meyerkord CL, Hori T, et al. Bif-1 regulates Atg9 trafficking by mediating the fission of Golgi membranes during autophagy[J]. Autophagy, 2011, 7(1): 61-73.
- [33] 贾静文. 细胞自噬的研究进展[J]. 山西农经, 2017, 37(3): 105.
- [34] 申春艳, 董静霞, 徐健. Smad3 促进大鼠卵巢颗粒细胞自噬[J]. 解剖学报, 2014, 45(1): 109-113.
- [35] 秦庆华. 调节性 T 细胞促效应 T 细胞凋亡在脓毒症免疫抑制中的作用及机制研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2013.
- [36] 古艳婷. 二氢生物蝶呤还原酶下调 TGF- β 1/Smad3 信号传导通路参与糖尿病肾病发生发展的实验研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2013.

(责任编辑: 唐秋姗)