

综述

多囊卵巢综合征颗粒细胞增殖凋亡相关信号通路的研究进展[▲]

谢婷婷 周 红

(广西壮族自治区妇幼保健院生殖医学中心,广西南宁市 530000)

【提要】 多囊卵巢综合征(PCOS)是育龄期妇女常见的内分泌代谢疾病,是导致育龄期妇女发生排卵障碍,甚至不孕的主要原因,严重影响女性的身心健康。PCOS因其临床表现具有异质性,发病机制目前尚无定论。PCOS患者卵泡发育过程中常表现为颗粒细胞的异常增殖或凋亡,但其机制尚不明确,可能与丝裂原活化蛋白激酶/细胞外信号调节激酶、核转录因子 κ B、转化生长因子 β /Smads、磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶B、Wnt/ β -连环蛋白等多种信号通路的相互作用有关。本文结合既往研究结果,对上述5条信号通路导致PCOS颗粒细胞异常增殖或凋亡的研究进展进行综述,以期为今后PCOS的治疗提供新的思路。

【关键词】 多囊卵巢综合征;颗粒细胞;信号通路;增殖;凋亡;综述

【中图分类号】 R 711.75 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 0253-4304(2024)05-0746-07

DOI: 10.11675/j.issn.0253-4304.2024.05.22

多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)是育龄期妇女常见的内分泌代谢紊乱性疾病,以雄激素过多、排卵功能障碍及卵巢多囊样改变为主要特征。PCOS发病机制复杂、个体临床表现具有差异性,确切的发病原因及机制尚未明确。研究表明,PCOS患者出现排卵功能障碍的主要原因是卵泡发育异常,并且其与卵母细胞周围的颗粒细胞异常增殖与凋亡密切相关^[1-3]。卵泡生长发育的过程精细且复杂,需要卵泡液、卵泡膜细胞、颗粒细胞等各种成分相互作用,其中颗粒细胞主要为卵母细胞提供营养物质,是卵母细胞生长发育的调节剂,还可合成雌激素,进而刺激卵泡生长。因此,PCOS患者卵泡发育异常与卵母细胞周围的颗粒细胞异常增殖和凋亡密切相关。目前研究大多关注PCOS患者颗粒细胞的异常凋亡,认为颗粒细胞异常凋亡会引起颗粒细胞数量严重减少,卵泡营养受限而发育不良,进而导致患者稀发排卵或无排卵^[4]。因此,促进颗粒细胞增殖是恢复PCOS患者正常卵泡发育的重要方式。但也有学者在PCOS患者颗粒细胞中观察到较低的凋亡率和较高的增殖率^[5],这可能是导致PCOS患者存在大量生长卵泡的主要原因。

由此可见,颗粒细胞增殖与凋亡之间的稳态尤为重要,其可通过影响卵母细胞的生存环境,进而影响卵母细胞的发育、受精、早期胚胎发育甚至妊娠结局^[6-7],通过改变颗粒细胞异常增殖或凋亡的病理状态可有效缓解PCOS的临床症状^[8]。目前发现丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)/细胞外信号调节激酶(extracellular signal regulated protein kinase, ERK)、核因子 κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)、转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF- β)/Smads、磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, AKT)、Wnt/ β -连环蛋白信号通路与颗粒细胞的异常增殖、凋亡有关。本文对上述5条信号通路进行总结,旨在深入探讨颗粒细胞在PCOS卵泡发育异常中的分子机制,为今后PCOS治疗靶点的研究提供新的思路。

1 MAPK/ERK 信号通路

MAPK作为一组进化保守的丝氨酸-苏氨酸激酶,在生物体内具有重要的调控作用,参与体内细胞生

▲基金项目:广西医疗卫生适宜技术开发与推广应用项目(S2020056);广西壮族自治区卫生健康委员会自筹经费科研课题(Z20210227)

第一作者简介:谢婷婷,硕士,住院医师,研究方向为妇产科学生殖内分泌。

通信作者简介:周红,硕士,主任医师,研究方向为不孕不育、生殖内分泌、生殖与遗传。

长、增殖、分化、凋亡、炎症及应激反应等多种生理、病理过程。MAPK家族的信号通路主要包括ERK1/2、p38激酶及c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)途径^[9],其中ERK1/2在控制细胞分裂、增殖和分化中具有重要作用,而ERK抑制剂作为抗癌药物被广泛研究,在促进癌细胞凋亡和抑制肿瘤进展方面发挥重要作用。

研究显示,MAPK信号通路可介导卵巢颗粒细胞增殖、凋亡、分化和氧化应激等多个过程^[10]。MAPK/ERK信号通路在颗粒细胞的病理生理中发挥着重要作用,ERK1/2信号通路异常激活可增加卵巢颗粒细胞的增殖能力,促使颗粒细胞发生增殖和迁移,抑制其凋亡,最终可能导致多个异常卵泡发育及卵巢局部雄激素生成过多^[11-12]。研究表明,通过降低PCOS患者卵巢颗粒细胞中ERK1/2磷酸化水平,可抑制异常活化的MAPK/ERK信号通路,进而降低颗粒细胞的异常增殖水平,促进细胞凋亡^[13]。PCOS大鼠模型研究也证实,抑制ERK1/2信号通路可以抑制颗粒细胞增殖并诱导颗粒细胞凋亡^[14]。miRNA是一类高度保守的单链非编码RNA,miRNA的过表达或下调会影响细胞增殖、凋亡、分化等多种生物学功能^[15]。不同miRNA亦可以通过MAPK/ERK信号通路调控颗粒细胞的异常增殖及凋亡,如PCOS大鼠模型卵巢组织中的miR-141-3p表达水平显著降低,过表达miR-141-3p可靶向作用于MAPK/ERK信号通路,抑制颗粒细胞凋亡^[16];在PCOS患者卵巢组织及人卵巢颗粒细胞系KGN细胞中,miR-184呈高表达,并通过激活MAPK/ERK信号通路而抑制颗粒细胞凋亡,促进其增殖,MAPK信号通路特异性抑制剂SB203580则能抑制颗粒细胞增殖^[17]。

综上所述,MAPK/ERK信号通路是调节卵巢颗粒细胞异常增殖、凋亡的重要通路。PCOS疾病状态下,MAPK/ERK信号通路既能被激活也可被抑制,导致颗粒细胞表现为异常增殖或凋亡,这与PCOS的疾病阶段不同有关。卵泡发育早期多表现为颗粒细胞的异常增殖,导致多卵泡发育;卵泡发育后期则多表现为颗粒细胞的异常凋亡,可能导致排卵障碍。因此,针对不同时期对MAPK/ERK信号通路的调控可能为PCOS的治疗提供潜在的作用靶点。

2 NF-κB信号通路

NF-κB是机体细胞核内重要的转录调节因子,几乎存在于所有细胞类型中,主要参与细胞增殖与凋亡、机体炎症及免疫反应等多种生理、病理过程。NF-κB可双向调节细胞凋亡过程,在细胞静息状态下,NF-κB与其内源性抑制因子核因子κB抑制因子(inhibitory subunit of NF-κB, IκB)α结合,组成异源多聚体,呈现无活性状态;当细胞受到各种促炎细胞因子、细菌及某些理化因素等刺激时,IκB激酶被激活,使IκB蛋白磷酸化及泛素化,导致IκB蛋白降解,NF-κB二聚体被释放并转移至细胞核诱导目的基因的转录表达,以调控炎症反应、细胞凋亡、机体免疫应答等过程^[18]。

NF-κB在PCOS的炎症反应中发挥至关重要的作用。有研究发现,NF-κB信号传导与颗粒细胞凋亡有着密切联系,PCOS大鼠模型卵巢组织中抑制因子IκB表达下降,对NF-κB的抑制作用减弱,导致NF-κB过度活化,使促凋亡蛋白Caspase-3表达增加,诱导细胞凋亡;活化的NF-κB能激活下游抗凋亡B细胞淋巴瘤2(B-cell lymphoma 2, Bcl-2)基因,Bcl-2可以与NF-κB形成Bcl-2-NF-κB复合物,发挥自身抗凋亡作用^[19-20]。上述理论可能是PCOS卵巢多个卵泡发育的基础,而PCOS出现排卵障碍则更多考虑与颗粒细胞凋亡相关,即卵泡发育早期,Bcl-2表达较高,随着PCOS卵泡发育,Bcl-2表达下降,Caspase-3表达增加,使颗粒细胞凋亡增加,卵泡停滞发育在次级卵泡阶段,导致卵巢多囊样改变。有研究报告,PCOS患者颗粒细胞中miR-93-5p表达水平升高,其通过对NF-κB信号通路的负调控,导致下游Bcl-2表达水平降低,Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)表达水平升高,进而使颗粒细胞凋亡增加,而NF-κB抑制剂Bay 11-7082可以逆转miR-93-5p对颗粒细胞的作用,降低颗粒细胞凋亡水平^[21]。研究显示,长链非编码RNA LINC00511在人卵巢颗粒细胞系KGN细胞中表达增加,干扰LINC00511表达后,NF-κB信号通路活化被抑制,诱导颗粒细胞凋亡,而炎症因子的表达水平显著下降^[22]。

综上所述,在PCOS疾病中,NF-κB信号通路对于颗粒细胞的凋亡存在双向调节作用,既能促进细胞凋亡也能抑制细胞凋亡,但目前有关NF-κB信号通路

与PCOS卵巢颗粒细胞凋亡之间分子机制研究较少,今后应开展更深入的探究,积极研发特异性NF- κ B靶向药物,在减轻颗粒细胞的凋亡的同时亦能抑制炎症因子的产生,以缓解PCOS的临床症状。

3 TGF- β /Smads 信号通路

TGF- β 家族由具有多功能及多效性的细胞因子组成,在早期卵泡发育、颗粒细胞增殖、卵泡闭锁及排卵等方面发挥重要作用。TGF- β 主要通过Smads信号蛋白发挥效应,Smads蛋白依据其不同的结构及功能分为3种类型,Smad1、Smad2、Smad3、Smad5、Smad8为受体激活型,Smad4为共同介导型,即协同TGF- β /Smads信号通路进行细胞内转导,Smad6、Smad7为抑制型,对受体激活型Smads与受体的结合产生竞争性抑制作用^[23]。

TGF- β 是促进卵巢雄激素合成的关键介质,雄激素水平会影响卵泡生长发育,雄激素水平升高会导致卵巢颗粒细胞凋亡增加,使卵泡发育异常^[24]。Smad4作为TGF- β 信号通路的核心调节因子,在卵巢中主要位于卵母细胞和颗粒细胞,Smad4的过表达或下调可分别导致卵巢颗粒细胞异常增殖或凋亡,参与PCOS的发病^[25]。研究显示,卵巢颗粒细胞中miR-26b过表达可抑制Smad4 mRNA及蛋白水平,使抗凋亡蛋白Bcl-2的表达水平降低,从而加重颗粒细胞凋亡,促使卵泡闭锁^[26]。而在PCOS大鼠模型卵巢颗粒细胞中,miR-215-5P呈低表达,颗粒细胞处于异常凋亡状态,上调miR-215-5P的表达可激活TGF- β /Smad4信号通路,促进大鼠颗粒细胞增殖,降低颗粒细胞异常凋亡水平^[27]。Smad3也是TGF- β 家族信号转导通路的关键分子,亦能调控颗粒细胞及卵母细胞功能,发挥促进卵泡发育的重要作用^[28]。研究表明,中医化痰补肾法可以通过促进卵巢颗粒细胞中TGF- β /Smad3信号通路转导,增强芳香化酶Cyp19a1的表达,使雄激素转化为雌激素,从而维持机体性激素平稳,同时可提高细胞周期蛋白cyclin D2的表达水平,减轻颗粒细胞异常凋亡,促进其增殖,从而使卵泡发育成熟,以改善卵泡的发育障碍^[29]。

综上,过度抑制TGF- β /Smads信号通路可能会导致颗粒细胞异常凋亡,影响卵泡发育。但当PCOS卵巢颗粒细胞处于异常凋亡状态时,会在一定程度上激活TGF- β /Smads信号通路,反而促进颗粒细胞增殖,

利于卵泡发育,减少卵泡闭锁。针对TGF- β /Smads信号通路,结合中医疗法可能可以为PCOS疾病的临床诊疗提供更多的思路及方向。

4 PI3K/AKT 信号通路

PI3K/AKT信号通路参与调节机体众多细胞的生长发育过程,如葡萄糖代谢、细胞增殖与凋亡、细胞生长及迁移等^[30]。PI3K将质膜上的磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol, PI)转化为PI-3,4,5三磷酸,即第二信使脂质磷脂酰肌醇三磷酸(phosphatidylinositol 3-phosphate, PIP3),PIP3招募磷脂酰肌醇依赖激酶1和AKT,随后使AKT磷酸化并激活,AKT通过直接抑制促凋亡蛋白或抑制叉头框转录因子O1(forkhead box O1, FOXO1)产生的促凋亡信号来降低细胞凋亡水平。

在人和小鼠卵泡发育过程中,PI3K/AKT信号通路在调控颗粒细胞增殖及凋亡中发挥着至关重要的作用^[30-32]。PI3K/AKT能与各种下游分子结合而发挥作用,促凋亡蛋白Bax及抗凋亡蛋白Bcl-2均是PI3K/AKT信号通路重要的下游因子,对调控颗粒细胞凋亡起关键作用^[33]。FOXO1是PI3K/AKT信号通路的下游靶点,可调控下游促凋亡基因的表达,通过Caspase家族诱导颗粒细胞凋亡^[34-36]。研究表明,上调淋巴细胞衔接蛋白(lymphocyte adaptor protein, LNK)基因可通过负调控PI3K/AKT/FOXO3信号通路,促进颗粒细胞凋亡和功能障碍,从而影响卵母细胞的成熟,而敲除LNK基因可改善上述症状^[37]。已有研究证实,PCOS患者卵巢中PI3K/AKT信号通路呈现失调状态^[38-39],激活PI3K/AKT信号通路可使下游促凋亡因子FOXO1、Bax、Caspase诱导的颗粒细胞凋亡作用减弱,进而改善卵母细胞质量和辅助生殖结局^[40-42]。而上调颗粒细胞中去泛素化酶USP25表达可抑制磷酸酶与张力蛋白同源物(phosphatase and tensin homolog, PTEN)去泛素化,使PTEN表达增加,进而对PI3K/AKT信号通路产生负调控,促进颗粒细胞的凋亡,影响卵泡的生长发育,最终导致PCOS的发生及进展^[43]。PI3K/AKT/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白信号通路是体内调控细胞增殖及凋亡的主要信号转导途径,同时也参与卵泡生长发育过程、颗粒细胞增殖与分化等生物学行为,PCOS患者卵巢颗粒细胞中miR-141 mRNA表

达水平增高,可通过调控PI3K/AKT/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白信号通路的活化,促进颗粒细胞异常增殖,抑制细胞凋亡,而使用PI3K/AKT/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白信号通路抑制剂可显著逆转颗粒细胞异常增殖状态,促进其凋亡^[44]。研究表明,多种药物均可靶向作用于PI3K/AKT信号通路以缓解PCOS的临床表现,如经甘草素处理的人卵巢颗粒细胞系KGN细胞存活率降低,细胞凋亡率增加,磷酸化AKT表达明显降低^[45],表明甘草素可能通过PI3K/AKT信号通路在KGN细胞中发挥抗增殖和诱导凋亡的作用,调控PI3K/AKT信号通路可能是治疗PCOS的有效靶点。经白芦藜醇治疗后的PCOS大鼠模型的多囊特征明显改善,其机制是通过抑制PI3K/AKT信号通路而促进颗粒细胞凋亡,缓解颗粒细胞异常增殖状态^[46]。相反,采用生长激素治疗PCOS的作用机制为激活PI3K/AKT信号通路,从而减弱PCOS患者颗粒细胞凋亡程度^[33]。中成药褪黑素、桂枝茯苓丸、苍附导痰汤亦可通过激活PI3K/AKT信号通路,降低颗粒细胞自噬水平,从而减少颗粒细胞凋亡,改善PCOS排卵障碍及提高卵巢功能^[32,47-48]。六味地黄丸则是通过调控PI3K/AKT信号通路来缓解PCOS大鼠模型胰岛素抵抗相关症状,减少卵巢闭锁卵泡数量,从而改善卵泡发育^[49]。

综上所述,目前针对PI3K/AKT信号通路的研究较多,结论相对比较统一,在一定程度上激活PI3K/AKT信号通路能降低颗粒细胞异常凋亡水平,而抑制过度激活的PI3K/AKT信号通路则能减轻颗粒细胞异常增殖,两者均能在一定程度上改善卵泡质量,促进卵泡排出,缓解PCOS相关临床症状。目前的药物治疗大多是通过调控PI3K/AKT信号通路的活化来改善PCOS排卵障碍及提高卵巢功能。

5 Wnt/ β -连环蛋白信号通路

Wnt信号通路在机体细胞分化、维持稳态和生长发育等方面具有重要作用,其中经典Wnt/ β -连环蛋白信号通路已被证实与女性生殖过程密切相关,其参与卵巢颗粒细胞增殖、凋亡及分泌功能的调节^[50]。Wnt作为一类分泌型糖蛋白,可通过自分泌或旁分泌发挥作用,Wnt蛋白分泌后与细胞表面特异性受体结合并产生效应,通过一系列下游蛋白的磷酸化及去

磷酸化,引起细胞质内 β -连环蛋白的累积,增多的 β -连环蛋白转移至细胞核内,与T细胞转录因子/淋巴样增强因子结合,促进转录机制的改变,导致靶基因*cyclin D1*、*MYC*原癌基因的激活,最终影响细胞增殖和凋亡^[51-52]。

已有研究报告,PCOS患者卵巢颗粒细胞凋亡受Wnt/ β -连环蛋白信号通路影响^[53]。基因表达谱证实,PCOS患者Wnt/ β -连环蛋白信号通路相关基因表达升高,提示PCOS患者卵巢颗粒细胞中Wnt信号通路的异常调控与疾病发生密切相关^[54]。研究显示,Wnt信号通路可激活叉头框蛋白家族成员FOXO3a,进而调控Bim、FasL等前凋亡蛋白以激活凋亡蛋白Caspase-3、Caspase-8的表达,导致细胞凋亡增加,影响卵泡正常发育,还可以通过抑制细胞核内P27、*cyclin D1*的表达而调控细胞周期,抑制细胞增殖^[55-56]。PCOS患者卵巢颗粒细胞中 β -连环蛋白及FOXO3a表达增高,凋亡蛋白Caspase-3、Caspase-8水平亦升高,提示颗粒细胞异常凋亡,而Wnt/ β -连环蛋白信号通路抑制剂IWR-1可降低颗粒细胞异常凋亡水平,从而促进卵泡发育^[55],中药苍附导痰汤、虾青素等也通过抑制Wnt/ β -连环蛋白信号通路,减轻卵巢颗粒细胞异常凋亡,促进颗粒细胞增殖,进而改善卵巢状态^[57-58]。相反,中药启宫丸可显著降低颗粒细胞异常凋亡水平,其作用机制在于激活Wnt/ β -连环蛋白信号通路,最终使PCOS大鼠模型闭锁卵泡减少^[59]。研究表明,在PCOS患者颗粒细胞中低表达的miR-23a-3p与颗粒细胞异常增殖有关,上调KGN细胞中miR-23a-3p表达水平可阻断Wnt/ β -连环蛋白信号通路,抑制颗粒细胞增殖,促进其凋亡^[60],然而该分子机制尚未在动物实验中得到进一步验证。

综上,有关Wnt/ β -连环蛋白信号通路在PCOS疾病中的研究较多,但由于研究对象不同或疾病中Wnt/ β -连环蛋白信号通路的基础状态不一致,激活或抑制Wnt/ β -连环蛋白信号通路均可降低颗粒细胞凋亡水平,导致众多研究结果存在争议,需要开展进一步研究深入探讨PCOS疾病中Wnt/ β -连环蛋白信号通路的分子机制。目前,已有不少药物可通过靶向抑制Wnt/ β -连环蛋白信号通路,尤其是作用于FOXO3a来促进PCOS卵泡发育,这为今后PCOS的治疗提供了新的方向。

6 结语与展望

PCOS是育龄期女性常见的生殖内分泌代谢紊乱性疾病,严重影响女性的身心健康。PCOS的发病机制目前尚不明确,大多数研究已经证实卵巢颗粒细胞在卵泡发育与PCOS的发生、发展过程中发挥着重要作用,但异常增殖或凋亡的颗粒细胞涉及众多分子信号通路的共同调控。NF- κ B信号通路对细胞凋亡有双向作用,而MAPK/ERK、TGF- β /Smads、PI3K/AKT信号通路的激活均能促进颗粒细胞增殖,减少颗粒细胞异常凋亡,减少闭锁卵泡数量,改善卵泡质量,促进卵泡发育;抑制MAPK/ERK、PI3K/AKT信号通路均可促进颗粒细胞凋亡,改善颗粒细胞异常增殖,减少多卵泡发育,促使成熟卵泡适时排卵,改善多囊特征。然而,仍有少数相关研究的结论不尽相同,结果存在异质性,其原因可能为:(1)研究对象如PCOS动物模型的建立存在差别,从PCOS患者中获取的颗粒细胞与疾病的严重程度和卵泡发育阶段具有差异性;(2)各信号通路之间存在相互作用,信号通路网络之间可能通过某些蛋白进一步整合,在致炎因子、氧化应激产物激活下产生级联影响,最终影响研究结果。因此,深入研究卵泡内颗粒细胞异常增殖或凋亡可能是今后PCOS诊治的方向,但仅针对某一条信号通路进行针对性调控的效果有限。倘若能找到同时调控多条信号通路的共同靶点或者能同时针对多条信号通路的单个药物对PCOS进行多靶点治疗,可能更有助于提高该病的临床诊疗效果。此外,由于PCOS病因复杂,除了卵巢颗粒细胞异常增殖与凋亡,还涉及雄激素增高、胰岛素抵抗、慢性炎症反应及氧化应激等复杂的临床特征,进一步探究上述多条信号通路的交互作用将有助于深入了解上述疾病特征与颗粒细胞异常增殖/凋亡间的潜在关联,为PCOS的诊治及靶向药物的选择提供新的思路。

参 考 文 献

- [1] Li X, Feng Y, Lin JF, et al. Endometrial progesterone resistance and PCOS[J]. J Biomed Sci, 2014, 21(1):2.
- [2] Peng SL, Wu QF, Xie Q, et al. PATL2 regulated the apoptosis of ovarian granulosa cells in patients with PCOS[J]. Gynecol Endocrinol, 2021, 37(7):629-634.
- [3] Rimón-Dahari N, Yerushalmi-Heinemann L, Alyagor L, et al. Ovarian folliculogenesis[J]. Results Probl Cell Differ, 2016, 58:167-190.
- [4] 徐秋霞, 乔岩岩. 颗粒细胞凋亡影响多囊卵巢综合征患者卵泡闭锁的研究进展[J]. 中国优生与遗传杂志, 2024, 32(1):214-219.
- [5] Das M, Djahanbakhch O, Hacıhanefioglu B, et al. Granulosa cell survival and proliferation are altered in polycystic ovary syndrome[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2008, 93(3):881-887.
- [6] Sen A, Hammes SR. Granulosa cell-specific androgen receptors are critical regulators of ovarian development and function[J]. Mol Endocrinol, 2010, 24(7):1393-1403.
- [7] Munakata Y, Kawahara-Miki R, Shiratsuki S, et al. Gene expression patterns in granulosa cells and oocytes at various stages of follicle development as well as in *in vitro* grown oocyte - and - granulosa cell complexes[J]. J Reprod Dev, 2016, 62(4):359-366.
- [8] Zhang JF, Yu CM, Yan LL, et al. Effect of anti-mullerian hormone on stem cell factor in serum, follicular fluid and ovarian granular cells of polycystic ovarian syndrome patients[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(22):7877-7882.
- [9] Sun Y, Liu WZ, Liu T, et al. Signaling pathway of MAPK/ERK in cell proliferation, differentiation, migration, senescence and apoptosis[J]. J Recept Signal Transduct Res, 2015, 35(6):600-604.
- [10] Chen MJ, Chou CH, Shun CT, et al. Iron suppresses ovarian granulosa cell proliferation and arrests cell cycle through regulating p38 mitogen - activated protein kinase/p53/p21 pathway[J]. Biol Reprod, 2017, 97(3):438-448.
- [11] Liu CY, Pan B, Yang L, et al. Beta defensin 3 enhances ovarian granulosa cell proliferation and migration *via* ERK1/2 pathway *in vitro*[J]. Biol Reprod, 2019, 100(4):1057-1065.
- [12] He M, Mao GH, Xiang YG, et al. MicroRNA-664a-3p inhibits the proliferation of ovarian granulosa cells in polycystic ovary syndrome and promotes apoptosis by targeting BCL2A1[J]. Ann Transl Med, 2021, 9(10):852.
- [13] Cai GQ, Ma XD, Chen BL, et al. MicroRNA-145 negatively regulates cell proliferation through targeting IRS1 in isolated ovarian granulosa cells from patients with polycystic ovary syndrome[J]. Reprod Sci, 2017, 24(6):902-910.
- [14] 孙彩萍, 张丹, 张珂. 干扰CLDN6基因表达通过调控MAPK/ERK信号通路对多囊卵巢综合征大鼠卵巢颗粒细胞凋亡的影响[J]. 现代妇产科进展, 2022, 31(2):96-101, 106.

- [15] Mohr AM, Mott JL. Overview of microRNA biology [J]. *Semin Liver Dis*, 2015, 35(1):3-11.
- [16] Li DD, Xu D, Xu Y, et al. MicroRNA-141-3p targets DAPK1 and inhibits apoptosis in rat ovarian granulosa cells [J]. *Cell Biochem Funct*, 2017, 35(4):197-201.
- [17] 陈龙,王曼,刘利平.MiR-184通过MAPK信号通路促进多囊卵巢综合征卵巢颗粒细胞的增殖[J]. *临床与病理杂志*, 2019, 39(1):1-8.
- [18] 严思思,丁锦丽,杨菁.核转录因子- κ B及其调控因子在多囊卵巢综合征中的研究进展[J]. *生殖医学杂志*, 2020, 29(9):1244-1247.
- [19] 刘秀兰,杨宏新,武瑞兵,等.多囊卵巢颗粒细胞凋亡中NF- κ B的作用机制[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2019, 35(5):596-598.
- [20] Chi XX, Zhang T, Chu XL, et al. The regulatory effect of genistein on granulosa cell in ovary of rat with PCOS through Bcl-2 and Bax signaling pathways[J]. *J Vet Med Sci*, 2018, 80(8):1348-1355.
- [21] Tan W, Dai FF, Yang DY, et al. MiR-93-5p promotes granulosa cell apoptosis and ferroptosis by the NF- κ B signaling pathway in polycystic ovary syndrome[J]. *Front Immunol*, 2022, 13:967151.
- [22] 卫玲,张燕,陈晓娟.LINC00511调控NF- κ B通路对多囊卵巢综合征卵巢颗粒细胞凋亡和炎症反应的影响[J]. *河北医药*, 2022, 44(16):2435-2438.
- [23] Miyazawa K, Miyazono K.Regulation of TGF- β family signaling by inhibitory smads [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2017, 9(3):a022095.
- [24] Laird M, Thomson K, Fenwick M, et al. Androgen stimulates growth of mouse preantral follicles *in vitro*: interaction with follicle-stimulating hormone and with growth factors of the TGF β superfamily[J]. *Endocrinology*, 2017, 158(4):920-935.
- [25] Yu C, Zhang YL, Fan HY. Selective Smad4 knockout in ovarian preovulatory follicles results in multiple defects in ovulation[J]. *Mol Endocrinol*, 2013, 27(6):966-978.
- [26] Liu JY, Du X, Zhou JL, et al. MicroRNA-26b functions as a proapoptotic factor in porcine follicular granulosa cells by targeting Sma- and Mad-related protein 4[J]. *Biol Reprod*, 2014, 91(6):146.
- [27] 陈莹莹,齐小雪,苟元钦.miR-215-5p调控YY1通过TGF- β 1/Smad信号通路对PCOS大鼠卵巢颗粒细胞凋亡的影响[J]. *西部医学*, 2023, 35(5):662-669.
- [28] Tian X, Halfhill AN, Diaz FJ. Localization of phosphorylated SMAD proteins in granulosa cells, oocytes and oviduct of female mice[J]. *Gene Expr Patterns*, 2010, 10(2/3):105-112.
- [29] 雒芙蓉.补肾化痰法对肥胖PCOS模型大鼠卵泡发育影响的实验研究[D]. 成都:成都中医药大学, 2019.
- [30] 高玥,丁锦丽,杨菁.PI3K/Akt信号通路在多囊卵巢综合征发病中的作用研究进展[J]. *医学综述*, 2022, 28(3):563-568.
- [31] Xie FF, Zhang JH, Zhai MX, et al. Melatonin ameliorates ovarian dysfunction by regulating autophagy in PCOS *via* the PI3K-Akt pathway[J]. *Reproduction*, 2021, 162(1):73-82.
- [32] Tian WY, Zhang HX, Zhang Y, et al. High level of visfatin and the activation of Akt and ERK1/2 signaling pathways are associated with endometrium malignant transformation in polycystic ovary syndrome[J]. *Gynecol Endocrinol*, 2020, 36(2):156-161.
- [33] Gong Y, Luo S, Fan P, et al. Growth hormone activates PI3K/Akt signaling and inhibits ROS accumulation and apoptosis in granulosa cells of patients with polycystic ovary syndrome [J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2020, 18(1):121.
- [34] Shen M, Lin F, Zhang JQ, et al. Involvement of the up-regulated FoxO1 expression in follicular granulosa cell apoptosis induced by oxidative stress [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(31):25727-25740.
- [35] Ding Y, Jiang ZC, Xia BH, et al. Mitochondria-targeted antioxidant therapy for an animal model of PCOS-IR [J]. *Int J Mol Med*, 2019, 43(1):316-324.
- [36] Zhu L, Yuan H, Guo CZ, et al. Zearalenone induces apoptosis and necrosis in porcine granulosa cells *via* a caspase-3- and caspase-9-dependent mitochondrial signaling pathway [J]. *J Cell Physiol*, 2012, 227(5):1814-1820.
- [37] Tan M, Cheng YX, Zhong XZ, et al. LNK promotes granulosa cell apoptosis in PCOS *via* negatively regulating insulin-stimulated AKT-FOXO3 pathway [J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(3):4617-4633.
- [38] Zheng WJ, Nagaraju G, Liu ZL, et al. Functional roles of the phosphatidylinositol 3-kinases (PI3Ks) signaling in the mammalian ovary [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2012, 356(1/2):24-30.
- [39] Li TT, Mo H, Chen WF, et al. Role of the PI3K-Akt signaling pathway in the pathogenesis of polycystic ovary syndrome [J]. *Reprod Sci*, 2017, 24(5):646-655.
- [40] Hu CL, Cowan RG, Harman RM, et al. Cell cycle progression and activation of Akt kinase are required for insulin-like growth factor I-mediated suppression of apoptosis in granulosa cells [J]. *Mol Endocrinol*, 2004, 18(2):326-338.

- [41] Baur JA, Sinclair DA. Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2006, 5(6): 493-506.
- [42] John GB, Shidler MJ, Besmer P, et al. Kit signaling *via* PI3K promotes ovarian follicle maturation but is dispensable for primordial follicle activation [J]. *Dev Biol*, 2009, 331(2): 292-299.
- [43] Gao Y, Chen J, Ji R, et al. USP25 regulates the proliferation and apoptosis of ovarian granulosa cells in polycystic ovary syndrome by modulating the PI3K/AKT pathway *via* deubiquitinating PTEN [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 779718.
- [44] 陈 娇, 张 妍, 钟媛媛. MicroRNA-141 通过 PI3K/Akt/mTOR 信号通路促进 PCOS 卵巢颗粒细胞增殖的机制研究 [J]. *天津医药*, 2021, 49(7): 673-678.
- [45] Cui X, Zhou SS, Lin YT. Protective effects of liquiritin on polycystic ovary syndrome through modulating ovarian granulosa cell proliferation and apoptosis *via* miR-206/PI3K/AKT pathway [J]. *Cytotechnology*, 2022, 74(3): 385-393.
- [46] Cai ZW, He SJ, Li T, et al. Plumbagin inhibits proliferation and promotes apoptosis of ovarian granulosa cells in polycystic ovary syndrome by inactivating PI3K/Akt/mTOR pathway [J]. *Anim Cells Syst(Seoul)*, 2020, 24(4): 197-204.
- [47] Liu M, Zhu HQ, Zhu Y, et al. Guizhi fuling wan reduces autophagy of granulosa cell in rats with polycystic ovary syndrome *via* restoring the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 270: 113821.
- [48] 张雨微, 周海丽, 丁彩飞. 基于 PI3K/Akt 信号通路探讨苍附导痰汤对肥胖型多囊卵巢综合征模型大鼠卵巢增殖和凋亡的影响 [J]. *浙江中西医结合杂志*, 2023, 33(4): 297-302.
- [49] Qiu ZX, Dong JJ, Xue C, et al. Liuwei Dihuang Pills alleviate the polycystic ovary syndrome with improved insulin sensitivity through PI3K/Akt signaling pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 250: 111965.
- [50] Liu XY, Chen DL, Wu ZJ, et al. Ghrelin inhibits high glucose - induced 16HBE cells apoptosis by regulating Wnt/ β -catenin pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 477(4): 902-907.
- [51] Habas R, Dawid IB. Dishevelled and Wnt signaling: is the nucleus the final frontier? [J]. *J Biol*, 2005, 4(1): 2.
- [52] Moon RT, Bowerman B, Boutros M, et al. The promise and perils of Wnt signaling through beta-catenin [J]. *Science*, 2002, 296(5573): 1644-1646.
- [53] Wu XQ, Wang YQ, Xu SM, et al. The WNT/ β -catenin signaling pathway May be involved in granulosa cell apoptosis from patients with PCOS in North China [J]. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*, 2017, 46(1): 93-99.
- [54] Ismail AB, Naji M'S, Nebih I, et al. The expression profile of WNT/ β -catenin signalling genes in human oocytes obtained from polycystic ovarian syndrome (PCOS) patients [J]. *Zygote*, 2022, 30(4): 536-542.
- [55] Li L, Ji SY, Yang JL, et al. Wnt/ β -catenin signaling regulates follicular development by modulating the expression of Foxo3a signaling components [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2014, 382(2): 915-925.
- [56] Castrillon DH, Miao LL, Kollipara R, et al. Suppression of ovarian follicle activation in mice by the transcription factor Foxo3a [J]. *Science*, 2003, 301(5630): 215-218.
- [57] Zhang YW, Zhou HL, Ding CF. The ameliorative effect of Cangfu Daotan Decoction on polycystic ovary syndrome of rodent model is associated with m6A methylation and Wnt/ β -catenin pathway [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2023, 39(1): 2181637.
- [58] 宋 玉, 朱争艳, 黄 桓, 等. 虾青素通过调节 Klotho 表达和 Wnt/ β -Catenin 信号通路对多囊卵巢综合征大鼠的改善作用 [J]. *天津医药*, 2023, 51(10): 1098-1103.
- [59] 李晓俊, 杨 斌, 谢京红. 启宫丸对多囊卵巢综合征大鼠 WNT/ β -catenin 信号通路的影响 [J]. *环球中医药*, 2023, 16(1): 33-38.
- [60] Wei J, Cheng P, Kong M, et al. MicroRNA-23a-3p overexpression represses proliferation and accelerates apoptosis of granular cells in polycystic ovarian syndrome by targeting HMGA2 [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2023, 39(1): 2172155.

(收稿日期: 2024-01-12 修回日期: 2024-03-17)