



赵世斗, 山东大学生殖医学与子代健康全国重点实验室, 山东大学妇儿与生殖健康研究院/山东大学附属生殖医院、国家辅助生殖与优生工程技术研究中心、生殖内分泌教育部重点实验室教授、博士生导师, 国家级青年拔尖人才、山东省泰山学者青年专家、山东大学齐鲁青年学者。2011年毕业于山东大学医学院, 获医学博士学位, 之后加入山东大学妇儿与生殖健康研究院, 2014—2016年在香港中文大学进行合作课题研究。主要从事女性生殖衰老调控及干预研究, 以第一或通讯作者身份在*J Clin Invest*、*PNAS*、*Autophagy*、*Cell Mol Life Sci*、*Hum Reprod*等国际知名杂志发表论文30余篇。承担多项国家级及省部级科研项目, 包括国家重点研发计划课题4项、国家自然科学基金5项、山东省杰出青年基金1项。

DNA损伤修复与卵巢衰老研究进展

赵思敏 赵世斗* 秦莹莹

(山东大学生殖医学与子代健康全国重点实验室, 山东大学妇儿与生殖健康研究院/山东大学附属生殖医院, 山东大学国家辅助生殖与优生工程技术研究中心, 山东大学生殖内分泌教育部重点实验室, 山东省生殖健康技术创新中心, 山东省生殖健康临床医学研究中心, 山东省生殖医学重点实验室, 中国医学科学院配子发生与辅助生殖子代健康研究创新单元(2021RU001), 济南 250012)

摘要 女性随着年龄增加生育力逐渐下降, 卵巢衰老是女性生育力下降的关键原因。女性一般在35岁左右开始出现卵巢衰老, 表现为卵母细胞数量减少和质量下降, 共同导致生育力降低或不孕不育。遗传因素在卵巢衰老发生过程中发挥重要作用。随着高通量测序技术的发展, DNA损伤修复通路在卵巢储备建立和耗竭中的重要作用逐渐被揭示。该文就DNA损伤修复与卵巢衰老的研究进展进行了综述, 包括DNA损伤修复基因在原始生殖细胞发育、卵母细胞减数分裂和卵泡维持及发育等多个过程中的作用及其机制, 以及该通路基因突变与卵巢早衰的关系, 并且探讨了靶向DNA损伤修复通路延缓卵巢衰老的干预策略, 希望为女性生育力保护提供新的途径。

关键词 DNA损伤修复; 卵巢衰老; 原始生殖细胞; 卵母细胞; 减数分裂; 女性生育力保护

Advances in DNA Damage Repair and Ovarian Aging

ZHAO Simin, ZHAO Shidou*, QIN Yingying

(State Key Laboratory of Reproductive Medicine and Offspring Health, Center for Reproductive Medicine, Institute of Women, Children and Reproductive Health, Shandong University; National Research Center for Assisted Reproductive Technology and Reproductive Genetics, Shandong University; Key Laboratory of Reproductive Endocrinology (Shandong University), Ministry of Education; Shandong Technology Innovation Center for Reproductive Health; Shandong Provincial Clinical Research Center for Reproductive Health; Shandong Key Laboratory of Reproductive Medicine, Shandong Provincial Hospital Affiliated to Shandong First Medical University; Research Unit of Gametogenesis and Health of ART-Offspring, Chinese Academy of Medical Sciences (No.2021RU001), Jinan 250012, China)

收稿日期: 2024-01-01 接受日期: 2024-03-07

国家重点研发计划(批准号: 2022YFC2703800)、国家自然科学基金(批准号: 82125014、32170867、32370906)、山东省自然科学基金重大基础研究项目(批准号: ZR2021ZD33)和山东省泰山学者青年专家项目(批准号: tsqn202211370)资助的课题

*通信作者。Tel: 0531-82950556, E-mail: shidouzhao@sdu.edu.cn

Received: January 1, 2024 Accepted: March 7, 2024

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (Grant No.2022YFC2703800), the National Natural Science Foundation of China (Grant No.82125014, 32170867, 32370906), the Natural Science Foundation of Shandong Province for Grand Basic Projects (Grant No.ZR2021ZD33), and the Taishan Scholars Program for Young Experts of Shandong Province (Grant No.tsqn202211370)

*Corresponding author. Tel: +86-531-82950556, E-mail: shidouzhao@sdu.edu.cn

Abstract Female fertility gradually decreases with age, and ovarian aging is one key reason for female sub-fertility. Women generally begin to experience ovarian aging around the age of 35 years, which is manifested as decline in both the number and quality of oocytes, leading to female sub-fertility or infertility. Genetic factors play an important role in ovarian aging. With the development of high throughput sequencing technology, the important role of DNA repair pathway in the establishment and depletion of ovarian reserve has been revealed. This article reviews the progress of DNA damage repair and ovarian aging, including the role of DNA damage repair genes in primordial germ cell development, oocyte meiosis and follicle maintenance and development, and their mutations in premature ovarian failure. In addition, this review discusses the related research on targeting DNA damage repair pathway to delay ovarian aging, hoping to provide new insights for female fertility protection.

Keywords DNA damage repair; ovarian aging; primordial germ cell; oocyte; meiosis; female fertility protection

近年来我国出生人口大幅减少,人口问题已成为制约我国经济社会发展的关键因素。与此同时,婚育年龄不断推迟,不孕不育率持续升高,生殖健康形势严峻。其中,女性生殖衰老是导致生育力降低的关键因素。女性随着年龄增加卵巢功能逐渐减退,即发生生理性卵巢衰老,表现为卵母细胞数量减少及质量降低。女性在50岁左右由于卵母细胞数量减少至不足以维持月经周期,发生自然绝经,而女性在绝经前10年便出现生育功能的减退^[1]。另外,部分女性表现为病理性卵巢衰老,其中在45岁之前出现绝经,被称为早绝经;在40岁之前出现明显卵巢功能减退和月经异常,被称为早发性卵巢功能不全(premature ovarian insufficiency, POI)或卵巢早衰(premature ovarian failure, POF)^[2]。卵巢衰老不仅导致不孕不育,还与骨质疏松、糖尿病、心血管疾病、神经系统疾病等多种慢性疾病发生密切相关,严重危害女性的长期身心健康^[3]。因此,阐明卵巢衰老的发生机制,实现早期预警并制定相应的干预措施,对于提高女性生育力和维持身心健康至关重要。

女性卵巢寿命依赖于卵巢储备的建立及其耗竭的速度。胚胎期原始生殖细胞(primordial germ cell, PGC)通过有丝分裂增殖形成大量卵原细胞,随后卵原细胞进入减数分裂并停滞于第一次减数分裂双线期,形成原始卵泡池,构成了卵巢储备。出生后,随着原始卵泡不断激活,卵泡发生闭锁或排卵,卵母细胞数量逐渐减少,直至耗竭,导致生育力下降或不育^[1]。卵巢储备建立不足和/或耗竭加速都会导致卵巢过早发生衰老。已知卵巢衰老受到遗传、自身免疫、生活方式、医源性损伤、代谢、环境等多种因素的影响^[4]。其中,遗传因素能够解释大约50%的绝经年龄差异^[5]。最新大规模人群全基因组

关联研究(genome-wide association study, GWAS)将自然绝经年龄相关遗传位点从56个增加到290个,其中59个DNA损伤修复相关基因参与复制压力应答、多种DNA损伤识别和修复、细胞凋亡等生物学过程,提示DNA损伤修复与卵巢衰老密切相关^[6]。最近,我们针对1 030例中国POI患者的全外显子组测序(whole exome sequencing, WES)研究绘制了POI致病变异全景图,发现了20个新的卵巢衰老相关基因,将基因突变的病因贡献度由15%提高至23.5%,为揭示卵巢生理性衰老机制及病理性衰老的预测及干预提供了方向和靶点^[7]。其中特别值得注意的是,通路分析发现POI致病基因在减数分裂和DNA损伤修复通路显著富集,其中DNA损伤修复通路以同源重组(homologous recombination, HR)修复和范可尼贫血(Fanconi anemia, FA)通路为主^[7]。以上研究提示,DNA损伤修复功能对于卵巢寿命极其重要。本文对DNA损伤修复通路在卵巢储备建立和耗竭中的研究进展进行综述,并总结靶向DNA损伤修复通路延缓卵巢衰老的研究现状,探讨女性生育力保护的未來研究方向。

1 卵母细胞发生发育过程中面临高水平DNA损伤风险

成熟卵子是由胚胎期PGC经过复杂而漫长的过程(包括PGC特化、迁移、增殖、表观遗传重编程、性别分化、减数分裂和卵泡发育等)发育而来的^[8]。卵母细胞作为雌性遗传物质的载体,其发生发育过程需维持高度的基因组稳定性,以保证物种繁衍。但由于多种内源性及外源性因素的威胁,卵母细胞发生发育过程中面临高水平的DNA损伤风险^[7,9](图1)。

1.1 PGC有丝分裂增殖

作为生殖细胞的前体细胞, PGC在小鼠胚胎6.25天(embryonic day 6.25, E6.25)或人胚胎2~3周左右由特定的祖细胞特化而来, 随后逐渐迁移并定植于生殖嵴^[8]。在到达生殖嵴前后, PGC通过有丝分裂进行快速增殖, 产生大量生殖细胞, 是生殖储备建立的基础。在快速增殖期间, PGC同时发生高水平的DNA复制和转录^[10]。当一个基因组区域同时发生转录与复制时, 转录复制冲突(transcription-replication conflict, TRC)就会不可避免地发生, 引起复制叉速度减慢或停滞, 导致复制压力增加, 是基因组内源性损伤的重要来源^[11]。

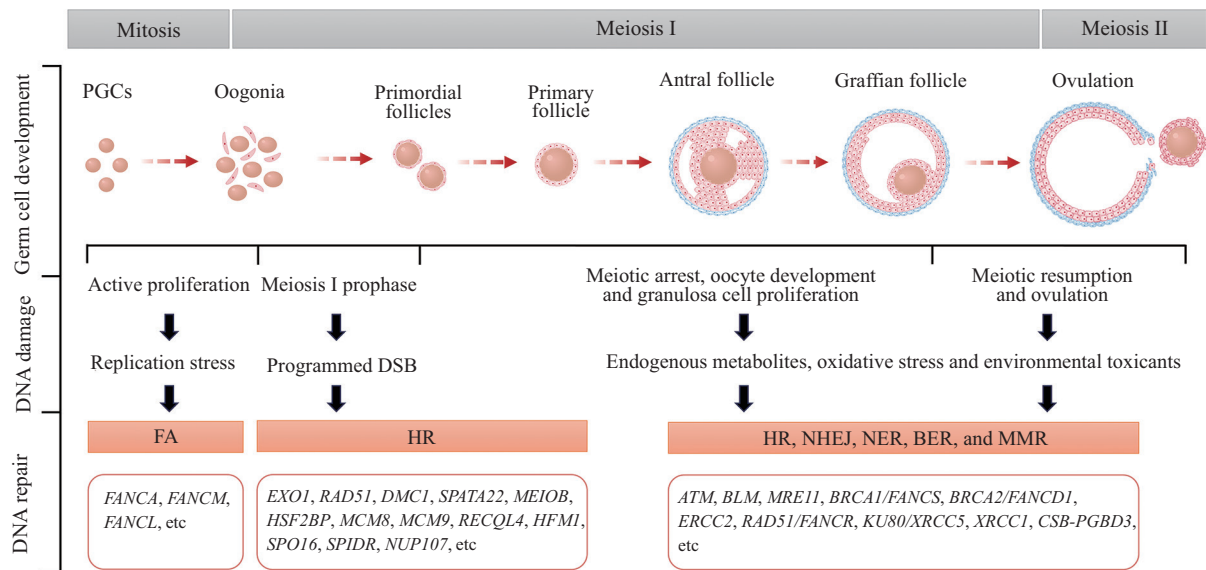
1.2 卵母细胞减数分裂

随后, 在雌性小鼠胚胎E13.5或女性胚胎第10周左右, PGC停止有丝分裂, 开始进入减数分裂, DNA复制一次, 细胞分裂两次, 从而产生单倍体配子^[8,12]。减数分裂分为前期、中期、后期和末期, 根据染色

体行为学特征, 第一次减数分裂前期又分为细线期、偶线期、粗线期、双线期和终变期。在第一次减数分裂前期, 生殖细胞于细线期在全基因组范围内产生程序性DNA双链断裂(double-strand break, DSB), 并在偶线期通过HR途径进行修复, 从而促进同源染色体配对和联会, 粗线期基本完成DSB修复, 同源染色体完成联会并形成交叉, 以保证第一次减数分裂时遗传物质的交换和同源染色体的准确分离, 随后在双线期同源染色体逐渐解联会, 仅依赖交叉相互连接, 终变期染色体浓缩并向赤道板移动^[12]。以上过程的有序进行, 是产生具有稳定遗传物质卵母细胞的基础。然而, 程序性DSB的产生增多或修复障碍会增加卵母细胞基因组不稳定的风险。

1.3 卵母细胞休眠与生长发育

完成HR的卵母细胞停滞于第一次减数分裂前期的双线期, 与前颗粒细胞组装形成原始卵泡, 从而建立卵巢储备。休眠的原始卵泡在小鼠体内可以存



原始生殖细胞经过快速的有丝分裂产生大量卵原细胞, 在此过程中, 活跃增殖的PGC中存在高水平复制压力, 依赖FA通路维持基因组稳定性及快速增殖; 卵原细胞随后启动减数分裂, 在第一次减数分裂前期产生程序性DSB, 通过HR通路完成修复; 原始卵泡期卵母细胞停滞于第一次减数分裂双线期, 在出生后陆续启动卵母细胞发育, 并伴随颗粒细胞活跃增殖, 在此过程中, 卵母细胞在内源性代谢物及外界环境毒物诱导下, DNA损伤不断累积, 依赖HR、NHEJ、NER、BER、MMR等多种损伤修复途径维持基因组稳定性。图中展示了与人类卵巢衰老相关的DNA损伤修复基因。

Primordial germ cells undergo rapid mitosis to produce a large number of oogonia. During this process, a high level of replication stress exists in the actively proliferating PGC, which maintains genomic stability and rapid proliferation through the FA pathway. Oogonia initiates meiosis and generates programmed DSB in the prophase of meiosis I, which are repaired through the HR pathway. Oocytes in primordial follicular stage arrest at diplotene stage, and initiate development after birth, accompanied by the active proliferation of granulosa cells. In this process, DNA damage accumulates in oocytes due to exposure to endogenous metabolites and external environmental agents, and genomic stability is maintained through multiple damage repair pathways including HR, NHEJ, NER, BER, and MMR. DNA damage repair genes associated with human ovary aging are shown in this figure. .

图1 雌性生殖细胞发育过程中的DNA损伤风险及DNA损伤修复途径(根据参考文献[7,9]修改)

Fig.1 DNA damage and damage repair pathways during female germ cell development (modified from references [7,9])

活数月,在人体内可以存活长达数十年。在休眠过程中,原始卵泡卵母细胞维持低代谢水平,在多种内源性代谢物如低水平的活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)和外界环境毒物如电离辐射、化疗药物等影响下,卵母细胞内DNA损伤会不断发生积累^[13]。原始卵泡激活后,颗粒细胞开始活跃增殖,卵母细胞开始发育,体积增大,进入活跃转录状态,最终发育为成熟卵泡,卵母细胞恢复减数分裂并排卵,产生成熟的具有受精能力的卵子。从原始卵泡激活到产生成熟卵子,小鼠大约需要2个月,而人类大约需要6个月^[14]。在卵泡生长发育过程中,卵母细胞的活跃代谢产生多种内源性代谢产物如醛类代谢物、ROS等,也可以诱导卵母细胞产生DNA损伤^[13]。

由此可见,卵母细胞在发生发育的多个阶段都面临着高度的DNA损伤风险。为了维持自身基因组稳定性,卵母细胞需具备高度的DNA损伤修复能力及严密的损伤监测机制,这对于维持卵母细胞的数量和质量、保证遗传物质的稳定传递至关重要。

2 卵母细胞发生发育依赖多种DNA损伤修复通路

已有研究表明,与体细胞相比,生殖细胞具有更高的维持基因组稳定性的能力^[15-16]。面对高水平DNA损伤风险,卵母细胞在不同的发育阶段依赖多种DNA损伤修复通路包括FA通路、HR修复通路、非同源末端连接(nonhomologous end joining, NHEJ)通路、核苷酸切除修复(nucleotide excision repair, NER)通路、碱基切除修复(base excision repair, BER)通路和错配修复(mismatch repair, MMR)通路等维持其基因组稳定性(图1)^[13]。

FA通路主要参与DNA链间交联(inter-strand crosslink, ICL)修复及复制压力应答。当细胞受到特定的内源性因素(如醛类代谢物)或外源性因素(如化疗药物丝裂霉素、顺铂)刺激时,DNA双链间可发生交联,阻碍复制和转录进程。ICL发生后FA通路被激活,FA核心复合体识别ICL位点,泛素化范可尼贫血蛋白I(FA complementation group I, FANCI)-范可尼贫血蛋白D2(FA complementation group D2, FANCD2)复合体,后者募集下游多种DNA损伤修复因子完成修复过程^[17]。另外,当同一基因组区域内转录复合体和复制复合体碰撞发生TRC时,复制进程减慢或发生停滞,导致复制压力增加。此时FA通

路激活以解除TRC,从而减轻复制压力,维持基因组稳定性^[11]。HR通路和NHEJ通路是DSB修复的主要途径^[18-19]。相较于NHEJ通路,HR通路以同源染色体或姐妹染色单体为模板进行修复,更为准确,错误率更低^[19]。HR因子也在FA通路下游参与有丝分裂细胞ICL修复,核酸酶在ICL处剪切DNA双链,然后通过跨损伤合成及HR通路完成修复^[17]。NER通路主要参与较大的DNA损伤、交联或氧化损伤等能使DNA双螺旋结构扭曲的损伤修复,在特异性识别损伤位点后,核酸内切酶切除DNA损伤位点周围30个左右核苷酸,随后重新合成新的核苷酸^[20]。BER通路主要修复细胞内氧化剂导致的DNA单个碱基损伤,如8-氧鸟嘌呤(8-oxoG)^[21]。BER通路通过DNA糖基化酶识别特定的损伤碱基并将其切除,产生脱碱基位点,随后通过核酸内切酶、DNA聚合酶和连接酶等完成损伤碱基的替代^[21]。MMR通路参与DNA复制或重组过程中产生的DNA错配、微小插入/缺失的修复^[22]。

以上多种DNA损伤修复机制共同保证了卵母细胞的正常发生发育,DNA损伤修复缺陷会引起卵母细胞发生发育障碍,导致卵巢储备建立不足或卵泡耗竭加速,从而促进卵巢衰老的发生。目前,已发现多种DNA损伤修复通路异常影响卵巢储备建立及卵泡耗竭过程,从而导致卵巢早衰的发生(图1)。

3 DNA损伤修复参与卵巢储备建立和耗竭全过程

由于卵母细胞不同发育阶段具有其独特的生理特点,面临不同的DNA损伤风险,各阶段卵母细胞依赖不同的DNA损伤修复通路维持其基因组稳定性。例如,PGC的快速有丝分裂增殖引起的高复制压力状态使PGC更依赖于能够解除复制压力的修复通路,如FA通路^[10-11];而在减数分裂时期,全基因组程序性DSB的形成使卵母细胞高度依赖HR通路,以确保DSB完全修复^[12];出生后,休眠的原始卵泡卵母细胞长期停滞于第一次减数分裂前期的双线期,在内源及外源性因素干扰下容易产生DNA损伤,研究表明原始卵泡卵母细胞损伤后产生的DSB更倾向于通过HR途径修复,从而维持基因组稳定性^[23-24]。

3.1 PGC发育与DNA损伤修复

3.1.1 PGC发育与BER通路 雌性生殖细胞只有在PGC阶段发生增殖,因此PGC正常发育形成足够数

量的生殖细胞,是正常卵巢储备建立的基础^[9-10]。在小鼠胚胎中,PGC发生特化后,从E9.0~E9.5开始,从后肠内胚层经背肠系膜逐渐迁移至生殖嵴,至E11.5左右,PGC几乎全部定植于生殖嵴。在迁移过程中,PGC发生了全基因组范围的表观遗传重编程,包括DNA去甲基化、组蛋白修饰重塑、基因印记擦除和X染色体重新激活^[10]。其中,PGC DNA去甲基化伴随着单链DNA(single-strand DNA, ssDNA)断裂及BER通路的激活^[25]。同时,多种关键BER组分如X线修复交叉互补蛋白1(X-ray repair cross complementing 1, XRCC1)、多聚ADP核糖转移酶[poly(ADP-ribose) polymerase 1, PARP1]和无嘌呤/无嘧啶内切酶1(apurinic/aprimidinic endonuclease 1, APE1)等在经历DNA去甲基化的PGC中特异性高表达^[25-26]。在受精卵DNA去甲基化过程中也表现为相似的特征,抑制BER能够干扰受精卵DNA去甲基化过程^[25]。以上研究提示BER通路可能参与调节PGC表观遗传重编程,但其具体作用机制有待进一步研究。

3.1.2 PGC发育与FA通路 PGC在到达生殖嵴前后,从E9.5至E12.5进行快速增殖,倍增时间约12.6 h,数量由约350个增加至约1万个^[27]。同时,PGC在E9.25~E10.0开始表现出高转录状态^[28]。与此相一致,我们的研究表明,相较于体细胞,E11.5快速增殖的PGC中存在高频率TRC,引起高水平复制压力。PGC中高频率TRC可以激活FA通路,继而通过减少R-loop和稳定复制叉应对TRC,从而维持PGC基因组稳定性和快速增殖,保证生殖储备的正常建立;FA通路失活则导致PGC中TRC持续存在,R-loop累积,引起DNA损伤增加,导致PGC增殖障碍和生殖储备建立不足^[29-30]。除此之外,我们进一步的研究发现FA通路还可以通过保护常见脆性位点从而维持PGC基因组稳定性和快速增殖^[31]。最近一项研究还发现,*Fancd2*^{-/-}小鼠胚胎PGC中逆转录转座元件长间隔元件1(long interspersed element 1, Line1)的表达水平升高,导致PGC DNA损伤增加和增殖缺陷^[32]。到目前为止,19个FA基因敲除小鼠均出现类似POI表型,并且多数FA基因(*Fanca*、*Fancd2*、*Fance*、*Fancm*、*Fanci*和*Fanct*等)敲除小鼠均表现出PGC数目明显减少^[29,31,33]。以上研究均提示了FA通路在维持PGC增殖及保证卵巢储备正常建立中的关键作用。

与FA基因缺陷小鼠相一致,FA患者通常存在生育障碍,约50% FA女性患者不育,表现为POI^[33]。相

较于FA患者严重的全身表型,非综合征型POI患者中也发现了多个FA基因突变(表1)。*FANCA*突变导致蛋白表达水平降低,对丝裂霉素诱导的交联损伤敏感性增加,相应杂合突变小鼠生育力降低,卵巢中卵母细胞过早耗竭^[34]。*FANCL*突变导致FANCL蛋白不能定位于细胞核,泛素连接酶活性下降,FA通路激活障碍^[35]。另外,在一个非综合征型POI家系中发现了*FAMCM*纯合截短突变,该患者淋巴细胞基因组不稳定性增加,FA通路激活障碍^[36]。以上研究表明FA基因缺陷具有独立的生殖系统致病性,其影响PGC发育导致生殖储备建立不足是重要的致病机制。

3.1.3 PGC发育与HR通路 除FA通路外,研究发现多个HR基因对于维持PGC正常发育也非常重要。微小染色体维持蛋白9(minichromosome maintenance 9, MCM9)是HR修复途径的关键因子,具有ATP酶和DNA解旋酶活性,参与DNA复制、有丝分裂及减数分裂DSB修复。*Mcm9*^{-/-}小鼠PGC增殖速度减慢,数量明显减少,雌性小鼠不育^[37]。目前发现多例POI患者携带*MCM9*基因突变,突变细胞DNA损伤修复能力下降^[38-40]。DNA依赖ATP酶RAD54也是一种HR蛋白,可以与重组酶RAD51直接结合,延长并稳定RAD51-dsDNA纤丝,并在重组启动后促进RAD51从DNA上解离,参与DSB修复^[41]。*Rad54*^{-/-}小鼠在胚胎期E11.5观察到PGC数量减少,出生后卵母细胞数量减少,雌鼠生育力降低^[42]。已知HR基因通常参与减数分裂中的DSB修复,但以上研究提示HR基因在维持PGC正常发育中也发挥重要作用,其具体作用机制还有待深入研究。

总之,PGC发育过程中面临高水平的DNA损伤风险,需要严密的DNA损伤修复机制维持其基因组稳定性。多种DNA损伤修复通路,如BER通路、FA通路及HR通路,通过复杂的机制维持PGC的正常发育,从而保证正常卵巢储备的建立。DNA损伤修复缺陷可以引起PGC发育障碍及数量减少,导致卵巢储备建立不足和卵巢早衰。

3.2 卵母细胞减数分裂与HR修复

PGC完成有丝分裂增殖后,于雌性小鼠胚胎E13.5开始启动减数分裂,通过HR完成程序性DSB的修复。然而,DSB的形成和修复过程增加了基因组不稳定风险,HR修复缺陷会导致卵母细胞DNA损伤累积,不仅会引起减数分裂进程停滞和细胞凋

表1 与POI发生相关的DNA损伤修复相关基因
Table 1 DNA damage repair genes related to POI

基因 Genes	别名 Alias	损伤修复通路/功能 Damage repair pathway/function	表型 Phenotype	参考文献 References
<i>FANCA</i>	–	FA/ICL repair, replication stress response	PA, SA	[34,64]
<i>FANCL</i>	–	FA/ ICL repair, replication stress response	PA, SA	[35]
<i>FANCM</i>	<i>POF15</i>	FA/HR/ ICL repair, replication stress response, DSB repair	SA	[36]
<i>FANCU</i>	<i>XRCC2, POF17</i>	FA/HR/ ICL repair, replication stress response, DSB repair	SA	[64]
<i>EXO1</i>	–	HR/MMR/NER/DSB repair, replication stress response	PA	[45]
<i>STAG3</i>	<i>POF8</i>	Component of cohesin complex	PA	[64]
<i>SMC1B</i>	–	Component of cohesin complex	PA, SA	[64]
<i>REC8</i>	–	Component of cohesin complex	PA, SA	[64]
<i>C14ORF39</i>	<i>POF18</i>	Component of the synaptonemal complex	SA	[65-66]
<i>SYCE1</i>	<i>POF12</i>	Component of the synaptonemal complex	SA	[64]
<i>PRDM9</i>	–	Meiotic DSB formation	SA	[67]
<i>ANKRD31</i>	–	Meiotic DSB formation	SA	[67]
<i>BRCA2</i>	<i>FANCD1</i>	HR/DSB repair	PA	[52-53]
<i>MEIOB</i>	<i>POF23</i>	HR/DSB repair	SA	[57]
<i>SPATA22</i>	–	HR/DSB repair	SA	[59]
<i>HSF2BP</i>	<i>POF19</i>	HR/DSB repair	SA	[68-69]
<i>RAD51B</i>	–	HR/DSB repair	PA	[70]
<i>RAD51</i>	<i>FANCR</i>	HR/DSB repair	PA	[45]
<i>DMC1</i>	–	HR/DSB repair	SA	[47]
<i>PSMC3IP</i>	–	HR/DSB repair	PA, SA	[64]
<i>SPIDR</i>	–	HR/DSB repair	PA	[71-72]
<i>NUP107</i>	–	HR/ DSB repair	PA	[73]
<i>MCM8</i>	<i>POF10</i>	HR/DSB repair, replication fork progression	PA, SA	[40,62]
<i>MCM9</i>	–	HR/DSB repair, replication fork progression	PA, SA	[40]
<i>HFM1</i>	<i>POF9</i>	HR/crossover formation	SA	[74]
<i>SPO16</i>	–	HR/crossover formation	SA	[75]
<i>MSH4</i>	<i>POF20</i>	MMR/stabilization of double holiday junction	SA	[60]
<i>MSH5</i>	<i>POF13</i>	MMR/stabilization of double holiday junction	SA	[60]
<i>NHEJ1</i>	–	NHEJ/DSB repair	SA	[76]
<i>CSB-PGDB3</i>	<i>POF11</i>	NER/transcription-coupled DSB repair	PA	[77]
<i>BLM</i>	–	HR/NHEJ/DSB repair, DNA replication	SA	[78]
<i>RECQL4</i>	–	HR/NHEJ/DSB repair, DNA replication	SA	[79]
<i>ATM</i>	–	DSB sensor, DSB repair, cell apoptosis	PA, SA	[80-81]
<i>TP63</i>	<i>POF21</i>	Oocyte apoptosis	PA, SA	[82]

PA: 原发性闭经; SA: 继发性闭经。–: 无。

PA: primary amenorrhea; SA: secondary amenorrhea. –: none.

亡,而且会引起同源染色体联会异常,导致染色体错误分离和非整倍体率增加,严重影响卵母细胞质量。因此,HR基因对于减数分裂正常进行,生成高质量的卵子至关重要。

减数分裂HR过程中,程序性DSB首先被MRN(MRE11-RAD50-NBS1)复合物等多种核酸酶加工形成ssDNA,后者被复制蛋白A(replication protein A, RPA)等结合,保护其免受核酸酶降解^[43]。

随后,同源重组酶RAD51和DNA减数分裂重组酶1(DNA meiotic recombinase 1, DMC1)以乳腺癌蛋白2(breast cancer 2, BRCA2)依赖的方式结合到ssDNA上,促进后者寻找同源染色体上的同源序列,并以此为模板完成DSB修复^[43]。研究发现多种HR基因异常通过影响卵母细胞减数分裂过程参与调控卵巢衰老的发生(表1)。首先,外切酶1(exonuclease 1, EXO1)是一种5'→3'核酸外切酶,对减数分裂DSB

末端加工形成 ssDNA 和重组中间体解离非常重要。*Exo1*^{-/-} 小鼠生殖细胞在第一次减数分裂中期发生同源染色体错误分离, 引起减数分裂异常和生殖细胞凋亡, 最终导致小鼠不育^[44]。我们在中国 POI 患者中发现了一个 *EXO1* 杂合错义突变, 该突变导致 RPA 及 RAD51 蛋白在 DSB 处的结合减少, 同源重组效率下降, 引起减数分裂异常^[45]。同时, 大规模人群 GWAS 研究发现, *EXO1* 基因与女性自然绝经年龄也密切相关^[6]。

DMC1 与 RAD51 为 HR 中关键的两个同源重组酶, 其中 DMC1 在减数分裂细胞中特异性表达, 与 RAD51 共同促进单链入侵, 通过 HR 途径修复减数分裂 DSB。*Dmcl*^{-/-} 小鼠卵母细胞减数分裂 DSB 修复异常, 停滞于第一次减数分裂前期, 导致卵母细胞数量减少, 雌性小鼠不育^[46]。在一例 POI 患者和一例非梗阻性无精症 (non-obstructive azoospermia, NOA) 患者的近亲婚配家系中发现一个 *DMC1* 纯合错义突变, 该突变导致蛋白错误折叠; 进一步发现 NOA 患者精母细胞阻滞在第一次减数分裂前期的偶线期, 提示该家系中女性 POI 患者也是由减数分裂停滞引起卵母细胞发育障碍所致的^[47]。*Rad51*^{-/-} 小鼠胚胎致死, 在成年雄鼠睾丸生殖细胞中敲降 *Rad51* 引起初级精母细胞减数分裂 DSB 不能完全修复, 交叉形成减少, 提示 RAD51 对减数分裂进程至关重要^[48]。我们在中国散发性 POI 患者中发现一个 *RAD51* 杂合错义突变, 该突变导致 RAD51 不能定位于细胞核, HR 修复效率降低, 提示 RAD51 对卵母细胞减数分裂的关键作用^[45]。

BRCA2 在 DSB HR 修复中参与促进 RAD51 与 ssDNA 结合形成 RAD51-ssDNA 纤丝, 并维持其稳定性^[49]。由于 *Brca2* 基因敲除小鼠胚胎致死, 有研究通过在 *Brca2*^{-/-} 小鼠中表达人 *BRCA2* 基因构建类似生殖细胞条件性敲除的小鼠模型, 结果显示该基因在减数分裂 HR 修复中发挥重要作用^[50]。目前已在 POI 患者中发现了 *BRCA2* 的 4 对复合杂合突变和 2 个纯合突变^[51-54]。其中, 2 例复合杂合突变和 1 例纯合突变携带者表现为原发性闭经, 同时伴有小头畸形等全身表型和肺癌、结直肠癌、甲状腺癌或白血病等肿瘤发生, 其他 3 个突变携带者仅表现为原发性或继发性闭经。以上研究说明了 *BRCA2* 基因在卵巢发育和功能维持中的重要作用, 不同 *BRCA2* 突变引起蛋白功能不同程度丧失, 可能是导致临床表型多样的原因。

减数分裂特异 OB 折叠蛋白 (meiosis specific with OB-fold, MEIOB) 在第一次减数分裂前期生殖细胞中特异性高表达, 与精子发生相关蛋白 22 (spermatogenesis associated 22, SPATA22) 和 RPA 形成复合体结合于 ssDNA 上, 募集重组蛋白 RAD51 及 DMC1, 促进减数分裂 HR 过程。*Meiob*^{-/-} 及 *Spata22*^{-/-} 小鼠卵母细胞均发生减数分裂 HR 修复异常, 导致卵巢内卵母细胞完全丧失^[55-56]。已分别在一例 POI 家系和一例散发性 POI 患者中发现 *MEIOB* 纯合突变, 导致 *MEIOB* 和 *SPATA22* 均不能定位于 DSB 处, 引起 DSB 修复缺陷^[57-58]。我们在中国一个 POI/NOA 家系中发现一个 *SPATA22* 纯合突变, NOA 患者精母细胞阻滞在第一次减数分裂前期, 提示该家系中女性 POI 患者也是由减数分裂停滞引起卵母细胞发育障碍所致^[59]; 并且我们在一例散发性 POI 患者中也发现了 *SPATA22* 复合杂合突变, 更加说明了该基因异常的致病性^[59]。

微小染色体维持蛋白 8 (minichromosome maintenance 8, MCM8) 在减数分裂中促进 MRN 复合物介导的 ssDNA 加工, 参与重组中间体的解离及交叉形成。*Mcm8*^{-/-} 新生雌鼠卵巢内卵母细胞数量明显减少, 成年雌鼠完全不育; *Mcm8*^{-/-} 雄鼠精母细胞同源染色体联会异常, 被阻滞在第一次减数分裂前期的偶线期^[60]。最早于 2015 年在一个近亲婚配 POI 家系中发现 *MCM8* 纯合错义突变, 导致细胞 DNA 损伤修复能力下降, 提示了该基因突变的致病性^[61]。目前已在多个家族性和散发性 POI 患者中发现 *MCM8* 突变^[61-63], 并且大规模人群研究发现该基因是与女性自然绝经年龄密切相关的一个核心基因^[6]。以上研究提示了 *MCM8* 基因在卵巢衰老发生中的关键作用。

到目前为止, 已有超过 75 个基因被认为是 POI 的独立致病基因, 其中约 1/3 的基因均参与减数分裂 HR 过程 (表 1)。同时, 已发现 HR 基因与女性自然绝经年龄密切相关^[6], 并且我们对 1 030 例 POI 患者的 WES 研究也发现 POI 致病突变基因在 HR 通路高度富集^[7]。以上研究提示了减数分裂 HR 基因功能缺陷对卵巢衰老发生的重要贡献。

3.3 卵巢储备耗竭与 DNA 损伤修复

停滞在第一次减数分裂双线期的卵母细胞与前颗粒细胞组装形成原始卵泡, 并长期处于休眠状态。休眠的原始卵泡有 3 种命运: 维持休眠状态、在休眠过程中发生凋亡和激活后开始发育。大部分激活后的卵泡在生长过程中发生闭锁, 只有少部分卵

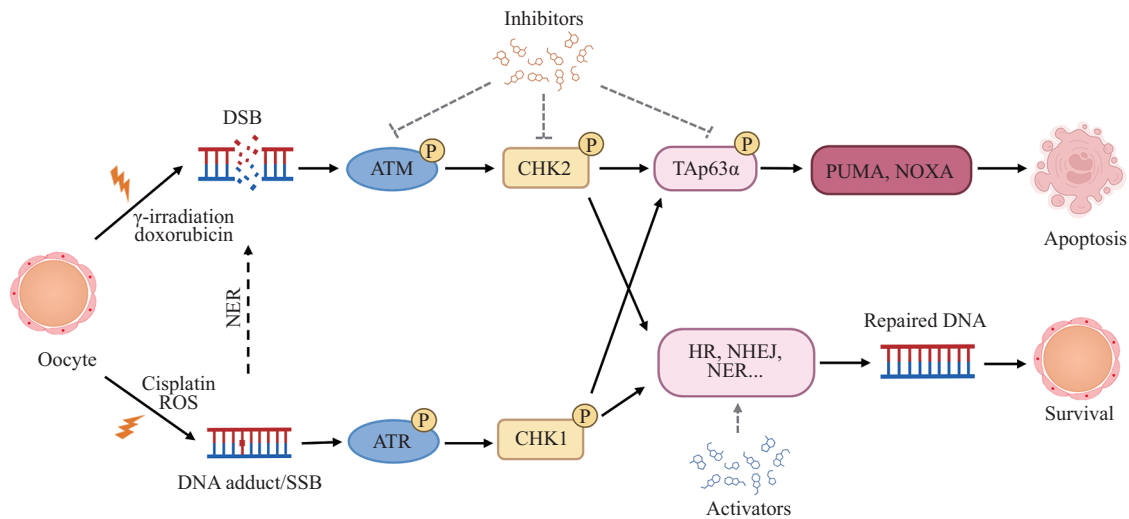
泡可以发育成熟并排卵。随着卵泡闭锁及排卵, 卵巢储备逐渐耗竭, 发生绝经。通常认为女性卵母细胞不可再生, 长期休眠的原始卵泡及生长卵泡在内源性代谢物及外界环境的影响下面临高度DNA损伤风险, 原始卵泡及生长卵泡所具备的DNA损伤修复能力及损伤监测机制对于维持卵母细胞数量及质量至关重要^[83]。

3.3.1 卵母细胞DNA损伤修复 休眠的原始卵泡卵母细胞长期处于第一次减数分裂前期的双线期, 细胞中存在姐妹染色单体, 损伤引起的卵母细胞内DSB主要以姐妹染色单体为模板, 通过HR途径进行修复, 从而维持卵母细胞基因组稳定性^[23-24]。研究表明, 随着年龄增长, 原始卵泡卵母细胞内多种HR修复因子如RAD51、BRCA1和MRE11等表达水平下降^[84], 同时DNA损伤逐渐累积^[85], 提示HR修复能力下降是年龄相关原始卵泡耗竭加速的一个重要原因。另外, 有报道HR修复关键基因乳腺癌基因1(breast cancer 1, *Brca1*)杂合突变小鼠原始卵泡内DNA损伤累积, 原始卵泡数量减少, 并且在卵泡发育过程中DSB修复异常, 卵泡耗竭加速^[85]。在小鼠原始卵泡卵母细胞中条件性敲除*Brca2*基因, 导致卵母细胞DNA损伤累积和大量退化, 纺锤体组装异常及第一极体排出率下降^[86]。与此相一致, *BRCA1/2*基因突变携带者绝经年龄提前, 卵泡耗竭加速^[6,87]。以上研究提示, HR基因除了参与减数分裂调控卵巢储备建立之外, 在原始卵泡维持和耗竭中也发挥重要作用。此外, NER基因也参与维持卵母细胞基因组稳定性。融合基因ERCC切除修复基因6(ERCC excision repair 6, *ERCC6/CSB-PGBD3*)编码一种NER蛋白, 参与转录偶联的DNA损伤修复, 在发育各阶段的卵母细胞中高表达。我们在一个非近亲婚配POI家系及散发POI患者中发现3个CSB-PGBD3融合基因杂合突变; 3个突变都影响该蛋白在DNA损伤区域的聚集, 引起DNA损伤修复能力下降, 提示该基因突变引起卵母细胞DNA损伤修复缺陷导致卵泡耗竭加速和POI的发生^[77]。

3.3.2 卵母细胞DNA损伤监测 除了高度的DNA损伤修复能力外, 负责清除DNA损伤卵母细胞的监测机制对于产生遗传物质稳定的卵子和健康的后代也至关重要。在多种内源性及外源性刺激下, 卵母细胞产生的DNA损伤可以激活共济失调毛细血管

扩张突变蛋白(ataxia telangiectasia mutated, ATM)或ATM与Rad3相关蛋白(ATM and Rad3 related, ATR), 分别磷酸化下游的检查点激酶1(checkpoint kinase 1, CHK1)和检查点激酶2(checkpoint kinase 2, CHK2), 进一步磷酸化转录激活p63蛋白 α (trans-activating p63 α , TAp63 α), 使其从失活的二聚体转变成激活的四聚体, 后者通过转录激活促凋亡蛋白p53上调凋亡调节蛋白(p53-upregulated modulator of apoptosis, PUMA)和佛波醇-12-豆蔻酸-13-乙酸诱导蛋白1(phorbol-12-myristate-13-acetate-induced protein 1, PMAIP1/NOXA)等, 诱导卵母细胞凋亡, 从而清除DNA损伤的卵母细胞^[88-89](图2)。TAp63 α 是*TP63*基因编码的一个亚型, 在原始卵泡卵母细胞中特异性高表达, 是DNA损伤后卵母细胞的关键质量控制因子^[90]。然而, 在没有DNA损伤的情况下, TAp63 α 介导的损伤监测机制过度激活也会导致卵母细胞凋亡增加, 卵巢储备快速耗竭。尽管在POI患者中已报道多个*TP63*杂合突变, 但致病性有待证实^[91-92]。进一步的, 我们在1 030例POI患者中发现9个*TP63*杂合突变, 并通过细胞和动物实验证实其中6个突变引起蛋白C-端转录抑制域功能受损, 导致TAp63 α 蛋白从封闭的失活型二聚体转变为开放的激活型四聚体, 自发激活下游凋亡相关基因的表达, 进而诱导卵母细胞凋亡, 最终导致POI^[82]。以上研究不仅揭示了功能获得性基因突变导致POI的新机制, 更为女性生育力保护提供了理论依据和干预靶点。

3.3.3 颗粒细胞DNA损伤修复 除了卵母细胞外, 其周围的颗粒细胞对于维持卵泡发育也非常重要。随着年龄增长, 颗粒细胞DNA损伤修复能力降低, DSB累积, 表现为老龄颗粒细胞中BRCA1聚集点数量减少, 磷酸化的H2AX(phosphorylated H2AX, γ H2AX)聚集点增加^[93]。我们的研究发现生化异常期POI(biochemical POI, bPOI)患者颗粒细胞中长链非编码RNA(LncRNA) HCP5和DDGC表达下调, 进而分别降低MutS同系物5(MutS homolog 5, MSH5)和RAD51的表达水平, 引起颗粒细胞DNA损伤修复能力下降并促进颗粒细胞凋亡, 导致卵泡发育异常, 促进POI的发生^[94-95]。其他非编码RNA如miRNA-127-5p、miRNA-379-5p等, 也可以通过影响颗粒细胞DNA损伤修复能力参与POI的发生^[96-97]。以上研究提示颗粒细胞DNA损伤修复缺陷也参与了卵巢衰老的发生。



原始卵泡的卵母细胞在内源性及外源性DNA损伤压力下产生DSB、SSB或DNA加合物。NER途径可将DNA加合物加工形成DSB。DSB诱导ATM、CHK2磷酸化，DNA加合物/SSB诱导ATR、CHK1磷酸化，磷酸化的CHK1、CHK2进一步促进TAp63 α 磷酸化激活，后者转录激活下游凋亡因子PUMA、NOXA等，最终促进卵母细胞凋亡。同时，磷酸化的CHK1、CHK2也可以激活多种DNA损伤修复通路，促进损伤修复和卵母细胞存活。一方面，应用小分子抑制剂阻断ATM-CHK2-TAp63 α 通路激活可以抑制卵母细胞凋亡；另一方面，应用小分子激活剂增强卵母细胞DNA损伤修复能力，有望促进损伤修复和卵母细胞存活。

Oocytes in primordial follicles generate DSB, SSB or DNA adduct under endogenous and exogenous DNA damage stress. DNA adduct can be processed into DSB through the NER pathway. DSB induces the phosphorylation of ATM and CHK2, DNA adduct and SSB induce phosphorylation of ATR and CHK1. Phosphorylated CHK1 and CHK2 promote the phosphorylation of TAp63 α , which activates the transcription of downstream apoptosis factors PUMA and NOXA, and finally promotes the apoptosis of oocytes. Simultaneously, phosphorylated CHK1 and CHK2 can activate multiple DNA damage repair pathways to promote damage repair and oocyte survival. On the one hand, blocking the activation of ATM-CHK2-TAp63 α pathway with inhibitors can inhibit oocyte apoptosis. On the other hand, the application of activators to enhance the DNA damage repair capacity of oocytes is expected to promote damage repair and oocyte survival.

图2 DNA损伤下的卵母细胞命运调节(根据参考文献[89]修改)

Fig.2 Regulation of oocyte fate under DNA damage (modified from references [89])

4 DNA损伤修复与卵母细胞质量维持

除了数量减少外，卵巢衰老伴随着卵母细胞质量下降，两者共同导致女性生育力降低。DNA损伤增加及损伤修复能力下降是导致高龄卵母细胞质量下降的重要原因。研究表明，高龄人类及小鼠GV期卵母细胞内DNA损伤较年轻GV期卵母细胞明显增加，同时多种DNA损伤修复因子如RAD51、BRCA1、MRE11等表达水平下降^[85]。更有直接证据表明，高龄卵母细胞修复DNA损伤的能力降低^[98]。随着DNA损伤增加及修复能力下降，高龄卵母细胞在内源性及外源性DNA损伤刺激下更容易发生凋亡。此外，内源性代谢产物ROS的累积可以导致细胞端粒缩短，从而促进细胞衰老及凋亡^[99]。高龄卵母细胞由于其端粒在胚胎期减数分裂时就开始缩短，并且其长期休眠过程中ROS不断累积，其端粒长度较体细胞及年轻卵母细胞更短，引起高龄卵母细胞基因组不稳定及质量下降^[99]。

此外，随着年龄增长，胚胎非整倍体率逐渐升

高，引起流产、死胎或子代出生缺陷率增加，这与高龄卵母细胞减数分裂过程中染色体错误分离产生非整倍体密切相关。女性在约26岁以后，卵母细胞染色体分离异常的发生率随年龄逐渐增加^[100]。有研究表明，DNA损伤修复基因参与调控了卵母细胞成熟过程中的染色体准确分离。小鼠卵母细胞中敲降*Brcal*基因引起纺锤体形成异常，染色体错误分离，非整倍体卵母细胞数量明显增加^[101]；*Rad51*同系物C(*RAD51* paralog C, *Rad51c*)基因缺陷小鼠卵母细胞在第二次减数分裂中期姐妹染色单体提前分离，非整倍体率增加，染色体断裂增多^[102]。因此，高龄卵母细胞DNA损伤修复能力的下降会引起基因组不稳定性增加及非整倍体率升高，影响卵子质量及子代发育。

5 靶向DNA损伤修复延缓卵巢衰老

随着女性生育年龄的推迟，延缓卵巢衰老对于提高女性生育力和改善远期健康具有重要意义。鉴

于DNA损伤修复在卵巢衰老发生中的重要作用,可以采取相应的措施保护卵巢功能或保存生育力。首先,改善生活方式,尽量减轻内源性氧化应激造成的DNA损伤。尽管褪黑素、辅酶Q10、白藜芦醇等多种抗氧化剂在动物实验中能够延缓卵巢衰老并改善卵母细胞质量,但其临床疗效仍有待证实^[103]。其次,注意加强防护,减少暴露于外源性DNA损伤因素(如射线和环境毒物等),可以降低卵母细胞DNA损伤风险。此外,对需要进行放疗或手术治疗(如卵巢切除术)的患者,在治疗前冷冻卵母细胞、卵巢组织或胚胎,是目前女性生育力保存的主要方法。然而,由于病人年龄、侵入性操作和再次引入肿瘤细胞等限制,卵母细胞、卵巢组织或胚胎冷冻技术并未在临床上广泛应用。考虑到DNA损伤修复在调控卵巢衰老中的重要作用,通过靶向DNA损伤修复通路延缓卵巢衰老的研究为未来女性生育力保护提供了更多的选择。

5.1 增强损伤修复能力或抑制卵母细胞凋亡

目前,人们在通过基因编辑靶向DNA损伤修复通路延缓卵巢衰老方面进行了广泛的研究。一方面,增强DNA损伤修复功能可以保护卵母细胞或增加卵巢储备,延长生殖寿命。在老龄小鼠卵母细胞中通过显微注射补充DNA损伤修复蛋白RAD51可以减少卵母细胞内DSB产生,抑制卵母细胞凋亡,恢复早期胚胎发育能力^[104];而且卵母细胞中补充RAD51蛋白也能够抑制阿霉素(doxorubicin, DOX)诱导的DNA损伤和卵母细胞凋亡^[104]。过表达*Chk1*增强DNA损伤修复能力导致新生小鼠卵巢储备增加,高龄小鼠排卵增加,并且可以产生健康后代,生殖寿命明显延长^[6]。另一方面,抑制DNA损伤诱导的凋亡通路激活可以延缓卵巢储备耗竭。*Chk2*敲除年轻小鼠生殖储备无明显变化,但卵泡耗竭速度减慢,并且卵泡对促性腺激素敏感性增加,生殖寿命延长^[6]。在小鼠中敲除*Chk2*、*TAp63*、*Noxa*或*Puma*等可以减少放疗引起的卵母细胞DNA损伤及凋亡^[23,105-107],并且存活下来的卵母细胞中的DSB可以被修复,卵母细胞能够正常受精,而且后续胚胎和子代发育及遗传物质无明显异常^[23],提示存活卵母细胞具有很强的DNA损伤修复能力,从而保证遗传物质的稳定性。这些研究表明增强DNA损伤修复能力或抑制卵母细胞凋亡可以保护卵巢功能,为延缓卵巢衰老提供了新策略。

5.2 靶向DNA损伤修复的药理学尝试

除了基因编辑手段之外,人们针对抑制卵母细胞凋亡通路激活也进行了广泛的药理学尝试^[89](图2)。应用ATM、CHK2等多种激酶抑制剂,可以抑制DNA损伤引起的TAp63 α 激活及下游凋亡因子增加,减少卵母细胞凋亡^[24,89,108-109],并且存活卵母细胞能够正常受精并产生子代小鼠^[89,109]。同时,有报道CHK2抑制剂可以增加肿瘤治疗的药物敏感性,因此CHK2抑制剂可能适用于接受肿瘤治疗患者的生育力保护^[110]。尽管如此,目前CHK2抑制剂仍缺乏特异性,在抑制CHK2的同时也能抑制CHK1,引起卵巢中能够增殖的体细胞特别是颗粒细胞DNA损伤累积和凋亡增加,影响卵泡发育,因此未来能够用于卵巢功能保护的靶向CHK2抑制剂仍有待开发^[108]。一种人工设计的短肽抑制剂DARPs(designed ankyrin repeat proteins)在体外能特异性结合TAp63 α 蛋白并抑制其活性^[111],但其是否能在体内抑制卵母细胞凋亡通路的激活还有待进一步研究。此外,除了抑制卵母细胞凋亡外,应用能够增强DNA损伤修复能力的药物如雷帕霉素、RS-1、杜鹃素等^[112-114],也有望能够延缓卵泡耗竭速度并提高卵母细胞质量,延缓卵巢衰老。总之,未来有待发现更多靶向干预DNA损伤修复通路提高女性生育力的药物,并对其安全性及有效性进行临床验证,为延缓卵巢衰老提供可行的方法。

6 卵巢衰老与肿瘤发生风险

鉴于DNA损伤修复基因在维持基因组稳定性中的重要作用,部分早绝经和POI患者存在DNA损伤修复缺陷,肿瘤发生风险增加。比如,*BRCA1*、*BRCA2*突变与卵巢衰老密切相关,而两者为肿瘤易感基因,其突变携带者的乳腺癌和卵巢癌风险明显增加^[115]。另外,*MCM8*与*MCM9*基因除参与减数分裂HR之外,在体细胞DNA复制、DNA损伤应答及细胞周期调节中也发挥重要作用^[59,116]。*MCM8*和*MCM9*突变患者的体细胞DNA损伤修复能力及基因组稳定性下降,易发生多种体细胞肿瘤^[117-118]。因此,对早绝经和POI患者应长期随访并关注其肿瘤发生风险。

此外,卵巢衰老的干预措施也可能会增加DNA损伤发生的风险。绝经伴随多种代谢及神经内分泌功能紊乱,部分女性采用激素替代治疗(hormone re-

placement therapy, HRT)以缓解相关症状,改善生活质量。有研究报道,雌激素会增加R-loop形成,引起DSB和染色体易位与扩增,加剧基因组不稳定性,从而增加肿瘤发生风险^[19]。因此,对于携带DNA损伤修复基因突变的早绝经和POI患者,HRT可能会在一定程度上增加其肿瘤发生风险。建议早绝经和POI患者在实施HRT之前,进行DNA损伤修复基因突变筛查或功能评估。

7 结语与展望

卵母细胞在发生发育过程中面临多种内源性及外源性DNA损伤风险,相应地,卵母细胞高表达多种DNA损伤修复基因,赋予其高度的DNA损伤修复能力。多种DNA损伤修复通路如FA通路和HR通路等,参与维持生殖细胞基因组稳定性,进而调控卵巢储备建立和耗竭的全过程,包括PGC发育、减数分裂和生后卵母细胞维持与发育。尽管如此,DNA损伤修复通路调控生殖细胞发育的具体阶段和分子机制仍有待深入研究。此外,严密的损伤监测机制通过激活凋亡通路清除受损的卵母细胞,从而保证高质量卵子的产生,维持遗传物质的稳定性。DNA损伤修复缺陷及损伤监测机制过度激活是卵巢衰老发生的重要机制。

通过基因编辑技术增强卵母细胞DNA损伤修复能力或阻断卵母细胞凋亡通路可有效延缓卵巢衰老,为未来女性生育力保护研究提供理论基础。目前已发现多种能够抑制受损卵母细胞凋亡的小分子药物,但其安全性及有效性仍需进一步的临床研究证实。靶向干预DNA损伤修复通路,是潜在的延缓人类卵巢衰老的有效策略。未来有待发现能够应用于临床的安全有效的药物延缓卵巢衰老,提高女性生育力和远期健康水平。

鉴于DNA损伤修复缺陷与卵巢衰老密切相关,建议对早绝经及POI患者进行DNA损伤修复基因突变筛查或功能评估,并长期随访突变携带者的肿瘤发生风险。另外,雌激素应用在一定程度上会增加基因组不稳定性及肿瘤发生风险,对于存在DNA损伤修复缺陷的绝经人群应避免长期应用激素替代治疗。

综上所述,多种DNA损伤修复通路通过复杂的机制参与调节卵巢衰老的发生。未来将发现更多DNA损伤修复相关基因在卵巢衰老中的作用及机

制,对卵巢早衰风险人群的早期筛选及干预具有重要指导意义。同时,随着对DNA损伤修复与卵巢衰老关系研究的不断深入,研发安全有效的能够靶向DNA损伤修复延缓卵巢衰老的药物将会是本领域的新方向,为女性生育力保护提供切实有效的方案。

参考文献 (References)

- [1] PERRY J R, MURRAY A, DAY F R, et al. Molecular insights into the aetiology of female reproductive ageing [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2015, 11(12): 725-34.
- [2] GOLEZAR S, RAMEZANI TEHRANI F, KHAZAEI S, et al. The global prevalence of primary ovarian insufficiency and early menopause: a meta-analysis [J]. *Climacteric*, 2019, 22(4): 403-11.
- [3] DAVIS S R, LAMBRINOUDAKI I, LUMSDEN M, et al. Menopause [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2015, 1: 15004.
- [4] QIN Y, JIAO X, SIMPSON J L, et al. Genetics of primary ovarian insufficiency: new developments and opportunities [J]. *Hum Reprod Update*, 2015, 21(6): 787-808.
- [5] MURABITO J M, YANG Q, FOX C, et al. Heritability of age at natural menopause in the framingham heart study [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005, 90(6): 3427-30.
- [6] RUTH K S, DAY F R, HUSSAIN J, et al. Genetic insights into biological mechanisms governing human ovarian ageing [J]. *Nature*, 2021, 596(7872): 393-7.
- [7] KE H, TANG S, GUO T, et al. Landscape of pathogenic mutations in premature ovarian insufficiency [J]. *Nat Med*, 2023, 29(2): 483-92.
- [8] TANG W W, KOBAYASHI T, IRIE N, et al. Specification and epigenetic programming of the human germ line [J]. *Nat Rev Genet*, 2016, 17(10): 585-600.
- [9] STRINGER J M, WINSHIP A, LIEW S H, et al. The capacity of oocytes for DNA repair [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2018, 75(15): 2777-92.
- [10] SAITOU M, KAGIWADA S, KURIMOTO K. Epigenetic reprogramming in mouse pre-implantation development and primordial germ cells [J]. *Development*, 2012, 139(1): 15-31.
- [11] GÓMEZ-GONZÁLEZ B, AGUILERA A. Transcription-mediated replication hindrance: a major driver of genome instability [J]. *Genes Dev*, 2019, 33(15/16): 1008-26.
- [12] BOLCUN-FILAS E, HANDEL M A. Meiosis: the chromosomal foundation of reproduction [J]. *Biol Reprod*, 2018, 99(1): 112-26.
- [13] STRINGER J M, WINSHIP A, LIEW S H, et al. The capacity of oocytes for DNA repair [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2018, 75(15): 2777-92.
- [14] MCGEE E A, HSUEH A J. Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles [J]. *Endocr Rev*, 2000, 21(2):200-14.
- [15] MURPHEY P, MCLEAN D J, MCMAHAN C A, et al. Enhanced genetic integrity in mouse germ cells [J]. *Biol Reprod*, 2013, 88(1): 6.
- [16] MILHOLLAND B, DONG X, ZHANG L, et al. Differences between germline and somatic mutation rates in humans and mice [J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 15183.
- [17] KOTTEMANN M C, SMOGORZEWSKA A. Fanconi anaemia and the repair of watson and crick DNA crosslinks [J]. *Nature*, 2013, 493(7432): 356-63.

- [18] LIEBER M R. The mechanism of double-strand DNA break repair by the nonhomologous DNA end-joining pathway [J]. *Annu Rev Biochem*, 2010, 79: 181-211.
- [19] SAN FILIPPO J, SUNG P, KLEIN H. Mechanism of eukaryotic homologous recombination [J]. *Annu Rev Biochem*, 2008, 77: 229-57.
- [20] LANS H, MARTEIJN J A, SCHUMACHER B, et al. Involvement of global genome repair, transcription coupled repair, and chromatin remodeling in UV DNA damage response changes during development [J]. *PLoS Genet*, 2010, 6(5): e1000941.
- [21] FRIEDBERG E C. A history of the DNA repair and mutagenesis field: the discovery of base excision repair [J]. *DNA Repair*, 2016, 37: A35-9.
- [22] STOJIC L, BRUN R, JIRICNY J. Mismatch repair and DNA damage signalling [J]. *DNA Repair*, 2004, 3(8/9): 1091-101.
- [23] STRINGER J M, WINSHIP A, ZERFAFA N, et al. Oocytes can efficiently repair DNA double-strand breaks to restore genetic integrity and protect offspring health [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117(21): 11513-22.
- [24] EMORI C, BOUCHER Z, BOLCUN-FILAS E. CHEK2 signaling is the key regulator of oocyte survival after chemotherapy [J]. *Sci Adv*, 2023, 9(42): eadg0898.
- [25] HAJKOVA P, JEFFRIES S J, LEE C, et al. Genome-wide reprogramming in the mouse germ line entails the base excision repair pathway [J]. *Science*, 2010, 329(5987): 78-82.
- [26] GUO F, YAN L, GUO H, et al. The transcriptome and DNA methylome landscapes of human primordial germ cells [J]. *Cell*, 2015, 161(6): 1437-52.
- [27] KAGIWADA S, KURIMOTO K, HIROTA T, et al. Replication-coupled passive DNA demethylation for the erasure of genome imprints in mice [J]. *EMBO J*, 2013, 32(3): 340-53.
- [28] PERCHARDE M, WONG P, RAMALHO-SANTOS M. Global hypertranscription in the mouse embryonic germline [J]. *Cell Rep*, 2017, 19(10): 1987-96.
- [29] YANG Y, XU W, GAO F, et al. Transcription-replication conflicts in primordial germ cells necessitate the Fanconi anemia pathway to safeguard genome stability [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2022, 119(34): e2203208119.
- [30] XU W, YANG Y, YU Y, et al. FAAP100 is required for the resolution of transcription-replication conflicts in primordial germ cells [J]. *BMC Biol*, 2023, 21(1): 174.
- [31] YU Y, XU W, WEN C, et al. UBE2T resolves transcription-replication conflicts and protects common fragile sites in primordial germ cells [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2023, 80(4): 92.
- [32] NIE Y, WILSON A F, DEFALCO T, et al. FANCD2 is required for the repression of germline transposable elements [J]. *Reproduction*, 2020, 159(6): 659-68.
- [33] TSUI V, CRISMANI W. The fanconi anemia pathway and fertility [J]. *Trends Genet*, 2019, 35(3): 199-214.
- [34] YANG X, ZHANG X, JIAO J, et al. Rare variants in FANCA induce premature ovarian insufficiency [J]. *Hum Genet*, 2019, 138(11/12): 1227-36.
- [35] YANG Y, GUO T, LIU R, et al. FANCL gene mutations in premature ovarian insufficiency [J]. *Hum Mutat*, 2020, 41(5): 1033-41.
- [36] FOUQUET B, PAWLIKOWSKA P, CABURET S, et al. A homozygous FANCM mutation underlies a familial case of non-syndromic primary ovarian insufficiency [J]. *eLife*, 2017, 6: e30490.
- [37] LUO Y, SCHIMENTI J C. MCM9 deficiency delays primordial germ cell proliferation independent of the ATM pathway [J]. *Genesis*, 2015, 53(11): 678-84.
- [38] WOOD-TRAGESER M A, GURBUZ F, YATSENKO S A, et al. MCM9 mutations are associated with ovarian failure, short stature, and chromosomal instability [J]. *Am J Hum Genet*, 2014, 95(6): 754-62.
- [39] GUO T, ZHENG Y, LI G, et al. Novel pathogenic mutations in minichromosome maintenance complex component 9 (MCM9) responsible for premature ovarian insufficiency [J]. *Fertil Steril*, 2020, 113(4): 845-52.
- [40] DESAI S, WOOD-TRAGESER M, MATIC J, et al. MCM8 and MCM9 nucleotide variants in women with primary ovarian insufficiency [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2017, 102(2): 576-82.
- [41] KIIANITSA K, SOLINGER J A, HEYER W D. Terminal association of Rad54 protein with the Rad51-dsDNA filament [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(26): 9767-72.
- [42] MESSIAEN S, LE BRAS A, DUQUENNE C, et al. Rad54 is required for the normal development of male and female germ cells and contributes to the maintenance of their genome integrity after genotoxic stress [J]. *Cell Death Dis*, 2013, 4(8): e774.
- [43] XIE C, WANG W, TU C, et al. Meiotic recombination: insights into its mechanisms and its role in human reproduction with a special focus on non-obstructive azoospermia [J]. *Hum Reprod Update*, 2022, 28(6): 763-97.
- [44] WEI K, CLARK A B, WONG E, et al. Inactivation of Exonuclease 1 in mice results in DNA mismatch repair defects, increased cancer susceptibility, and male and female sterility [J]. *Genes Dev*, 2003, 17(5): 603-14.
- [45] LUO W, GUO T, LI G, et al. Variants in homologous recombination genes EXO1 and RAD51 related with premature ovarian insufficiency [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2020, 105(10): dgaa505.
- [46] PITTMAN D L, COBB J, SCHIMENTI K J, et al. Meiotic prophase arrest with failure of chromosome synapsis in mice deficient for Dmc1, a germline-specific RecA homolog [J]. *Mol Cell*, 1998, 1(5): 697-705.
- [47] HE W B, TU C F, LIU Q, et al. DMC1 mutation that causes human non-obstructive azoospermia and premature ovarian insufficiency identified by whole-exome sequencing [J]. *J Med Genet*, 2018, 55(3): 198-204.
- [48] DAI J, VOLOSHIN O, POTAPOVA S, et al. Meiotic knockdown and complementation reveals essential role of RAD51 in mouse spermatogenesis [J]. *Cell Rep*, 2017, 18(6): 1383-94.
- [49] ZHAO W, WIESE C, KWON Y, et al. The BRCA tumor suppressor network in chromosome damage repair by homologous recombination [J]. *Am J Hum Genet*, 2019, 88: 221-45.
- [50] SHARAN S K, PYLE A, COPPOLA V, et al. BRCA2 deficiency in mice leads to meiotic impairment and infertility [J]. *Development*, 2004, 131(1): 131-42.
- [51] HEDDAR A, OGUR C, DA COSTA S, et al. Genetic landscape of a large cohort of primary ovarian insufficiency: new genes and pathways and implications for personalized medicine [J]. *EBio-Medicine*, 2022, 84: 104246.
- [52] WEINBERG-SHUKRON A, RACHMIEL M, RENBAUM P, et al. Essential role of BRCA2 in ovarian development and function [J]. *N Engl J Med*, 2018, 379(11): 1042-9.

- [53] QIN Y, ZHANG F, CHEN Z J. BRCA2 in ovarian development and function [J]. *N Engl J Med*, 2019, 380(11): 1086.
- [54] CABURET S, HEDDAR A, DARDILLAC E, et al. Homozygous hypomorphic BRCA2 variant in primary ovarian insufficiency without cancer or Fanconi anaemia trait [J]. *J Med Genet*, 2020, doi: 10.1136/jmedgenet-2019-106672.
- [55] LUO M, YANG F, LEU N A, et al. MEIOB exhibits single-stranded DNA-binding and exonuclease activities and is essential for meiotic recombination [J]. *Nat Commun*, 2013, 4: 2788.
- [56] HAYS E, MAJCHRZAK N, DANIEL V, et al. Spermatogenesis associated 22 is required for DNA repair and synapsis of homologous chromosomes in mouse germ cells [J]. *Andrology*, 2017, 5(2): 299-312.
- [57] CABURET S, TODESCHINI A L, PETRILLO C, et al. A truncating MEIOB mutation responsible for familial primary ovarian insufficiency abolishes its interaction with its partner SPATA22 and their recruitment to DNA double-strand breaks [J]. *EBio-Medicine*, 2019, 42: 524-31.
- [58] WU Y, LI Y, MURTAZA G, et al. Whole-exome sequencing of consanguineous families with infertile men and women identifies homologous mutations in SPATA22 and MEIOB [J]. *Hum Reprod*, 2021, 36(10): 2793-804.
- [59] YAO C, HOU D, JI Z, et al. Bi-allelic SPATA22 variants cause premature ovarian insufficiency and nonobstructive azoospermia due to meiotic arrest [J]. *Clin Genet*, 2022, 101(5/6): 507-16.
- [60] LUTZMANN M, GREY C, TRAVER S, et al. MCM8- and MCM9-deficient mice reveal gametogenesis defects and genome instability due to impaired homologous recombination [J]. *Mol Cell*, 2012, 47(4): 523-34.
- [61] ALASIRI S, BASIT S, WOOD-TRAGESER M A, et al. Exome sequencing reveals MCM8 mutation underlies ovarian failure and chromosomal instability [J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(1): 258-62.
- [62] DOU X, GUO T, LI G, et al. Minichromosome maintenance complex component 8 mutations cause primary ovarian insufficiency [J]. *Fertil Steril*, 2016, 106(6): 1485-9, e2.
- [63] BOUALI N, FRANCOU B, BOULIGAND J, et al. New MCM8 mutation associated with premature ovarian insufficiency and chromosomal instability in a highly consanguineous Tunisian family [J]. *Fertil Steril*, 2017, 108(4): 694-702.
- [64] HUANG C, GUO T, QIN Y. Meiotic recombination defects and premature ovarian insufficiency [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 652407.
- [65] FAN S, JIAO Y, KHAN R, et al. Homozygous mutations in C14orf39/SIX6OS1 cause non-obstructive azoospermia and premature ovarian insufficiency in humans [J]. *Am J Hum Genet*, 2021, 108(2): 324-36.
- [66] HOU D, YAO C, XU B, et al. Variations of C14ORF39 and SYCE1 identified in idiopathic premature ovarian insufficiency and nonobstructive azoospermia [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2022, 107(3): 724-34.
- [67] WANG Y, GUO T, KE H, et al. Pathogenic variants of meiotic double strand break (DSB) formation genes PRDM9 and ANKRD31 in premature ovarian insufficiency [J]. *Genet Med*, 2021, 23(12): 2309-15.
- [68] FELIPE-MEDINA N, CABURET S, SÁNCHEZ-SÁEZ F, et al. A missense in HSF2BP causing primary ovarian insufficiency affects meiotic recombination by its novel interactor C19ORF57/BRME1 [J]. *eLife*, 2020, 9: e56996.
- [69] LI S, XU W, XU B, et al. Pathogenic variations of homologous recombination gene HSF2BP identified in sporadic patients with premature ovarian insufficiency [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 768123.
- [70] FRANCA M M, CONDEZO Y B, ELZAIAT M, et al. A truncating variant of RAD51B associated with primary ovarian insufficiency provides insights into its meiotic and somatic functions [J]. *Cell Death Differ*, 2022, 29(12): 2347-61.
- [71] HEDDAR A, GUICHOUX N, AUGER N, et al. A SPIDR homozygous nonsense pathogenic variant in isolated primary ovarian insufficiency with chromosomal instability [J]. *Clin Genet*, 2022, 101(2): 242-6.
- [72] SMIRIN-YOSEF P, ZUCKERMAN-LEVIN N, TZUR S, et al. A biallelic mutation in the homologous recombination repair gene SPIDR is associated with human gonadal dysgenesis [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2017, 102(2): 681-8.
- [73] REN Y, DIAO F, KATARI S, et al. Functional study of a novel missense single-nucleotide variant of NUP107 in two daughters of Mexican origin with premature ovarian insufficiency [J]. *Mol Genet Genomic Med*, 2018, 6(2): 276-81.
- [74] WANG J, ZHANG W, JIANG H, et al. Mutations in HFM1 in recessive primary ovarian insufficiency [J]. *N Engl J Med*, 2014, 370(10): 972-4.
- [75] QI Y, WANG Y, LI W, et al. Pathogenic bi-allelic variants of meiotic ZMM complex gene SPO16 in premature ovarian insufficiency [J]. *Clin Genet*, 2023, 104(4): 486-90.
- [76] LI G, YANG X, WANG L, et al. Haploinsufficiency in non-homologous end joining factor 1 induces ovarian dysfunction in humans and mice [J]. *J Med Genet*, 2022, 59(6): 579-88.
- [77] QIN Y, GUO T, LI G, et al. CSB-PGBD3 mutations cause premature ovarian failure [J]. *PLoS Genet*, 2015, 11(7): e1005419.
- [78] ELLIS N A, GERMAN J. Molecular genetics of Bloom's syndrome [J]. *Hum Mol Genet*, 1996, doi: 10.1093/hmg/5.supplement_1.1457.
- [79] WANG L L, LEVY M L, LEWIS R A, et al. Clinical manifestations in a cohort of 41 rothmund-thomson syndrome patients [J]. *Am J Hum Genet*, 2001, 102(1): 11-7.
- [80] SU Y, SWIFT M. Mortality rates among carriers of ataxia-telangiectasia mutant alleles [J]. *Ann Intern Med*, 2000, 133(10): 770-8.
- [81] GATTI R A, BODER E, VINTERS H V, et al. Ataxia-telangiectasia: an interdisciplinary approach to pathogenesis [J]. *Medicine*, 1991, 70(2): 99-117.
- [82] HUANG C, ZHAO S, YANG Y, et al. TP63 gain-of-function mutations cause premature ovarian insufficiency by inducing oocyte apoptosis [J]. *J Clin Invest*, 2023, 133(5): e162315.
- [83] 张楠, 张珏, 林戈. 哺乳动物卵母细胞的DNA损伤与修复研究进展 [J]. *遗传* (ZHANG N, ZHANG J, LIN G. Advances in the study of DNA damage and repair in mammalian oocytes [J]. *Hereditas*), 2023, 45(5): 379-94.
- [84] GOVINDARAJ V, KERALAPURA BASAVARAJU R, RAO A J. Changes in the expression of DNA double strand break repair genes in primordial follicles from immature and aged rats [J]. *Reprod Biomed Online*, 2015, 30(3): 303-10.
- [85] TITUS S, LI F, STOBEZKI R, et al. Impairment of BRCA1-related DNA double-strand break repair leads to ovarian aging in

- mice and humans [J]. *Sci Transl Med*, 2013, 5(172): 172ra21.
- [86] MIAO Y, WANG P, XIE B, et al. BRCA2 deficiency is a potential driver for human primary ovarian insufficiency [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(7): 474.
- [87] LIN W, TITUS S, MOY F, et al. Ovarian aging in women with brca germline mutations [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2017, 102(10): 3839-47.
- [88] DEUTSCH G B, ZIELONKA E M, COUTANDIN D, et al. DNA damage in oocytes induces a switch of the quality control factor TAp63 α from dimer to tetramer [J]. *Cell*, 2011, 144(4): 566-76.
- [89] KIM S Y, NAIR D M, ROMERO M, et al. Transient inhibition of p53 homologs protects ovarian function from two distinct apoptotic pathways triggered by anticancer therapies [J]. *Cell Death Differ*, 2019, 26(3): 502-15.
- [90] SUH E K, YANG A, KETTENBACH A, et al. p63 protects the female germ line during meiotic arrest [J]. *Nature*, 2006, 444(7119): 624-8.
- [91] TUCKER E J, JAILLARD S, GROVER S R, et al. TP63-truncating variants cause isolated premature ovarian insufficiency [J]. *Hum Mutat*, 2019, 40(7): 886-92.
- [92] MATHORNE S W, RAVN P, HANSEN D, et al. Novel phenotype of syndromic premature ovarian insufficiency associated with TP63 molecular defect [J]. *Clin Genet*, 2020, 97(5): 779-84.
- [93] ZHANG D, ZHANG X, ZENG M, et al. Increased DNA damage and repair deficiency in granulosa cells are associated with ovarian aging in rhesus monkey [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2015, 32(7): 1069-78.
- [94] WANG X, ZHANG X, DANG Y, et al. Long noncoding RNA HCP5 participates in premature ovarian insufficiency by transcriptionally regulating MSH5 and DNA damage repair via YB1 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(8): 4480-91.
- [95] LI D, XU W, WANG X, et al. lncRNA DDGC participates in premature ovarian insufficiency through regulating RAD51 and WT1 [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2021, 26: 1092-106.
- [96] ZHANG X, DANG Y, LIU R, et al. MicroRNA-127-5p impairs function of granulosa cells via HMGB2 gene in premature ovarian insufficiency [J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(11): 8826-38.
- [97] DANG Y, WANG X, HAO Y, et al. MicroRNA-379-5p is associated with biochemical premature ovarian insufficiency through PARP1 and XRCC6 [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(2): 106.
- [98] HORTA F, CATT S, RAMACHANDRAN P, et al. Female ageing affects the DNA repair capacity of oocytes in IVF using a controlled model of sperm DNA damage in mice [J]. *Hum Reprod*, 2020, 35(3): 529-44.
- [99] LIU L, TRIMARCHI J R, SMITH P J, et al. Mitochondrial dysfunction leads to telomere attrition and genomic instability [J]. *Aging Cell*, 2002, 1(1): 40-6.
- [100] GRUHN J R, ZIELINSKA A P, SHUKLA V, et al. Chromosome errors in human eggs shape natural fertility over reproductive life span [J]. *Science*, 2019, 365(6460): 1466-9.
- [101] PAN H, MA P, ZHU W, et al. Age-associated increase in aneuploidy and changes in gene expression in mouse eggs [J]. *Deve Biol*, 2008, 316(2): 397-407.
- [102] KUZNETSOV S, PELLEGRINI M, SHUDA K, et al. RAD51C deficiency in mice results in early prophase I arrest in males and sister chromatid separation at metaphase II in females [J]. *J Cell Biol*, 2007, 176(5): 581-92.
- [103] TIMÓTEO-FERREIRA F, ABREU D, MENDES S, et al. Redox imbalance in age-related ovarian dysfunction and perspectives for its prevention [J]. *Ageing Res Rev*, 2021, 68: 101345.
- [104] KUJJO L L, LAINE T, PEREIRA R J, et al. Enhancing survival of mouse oocytes following chemotherapy or aging by targeting Bax and Rad51 [J]. *PLoS One*, 2010, 5(2): e9204.
- [105] BOLCUN-FILAS E, RINALDI V D, WHITE M E, et al. Reversal of female infertility by Chk2 ablation reveals the oocyte DNA damage checkpoint pathway [J]. *Science*, 2014, 343(6170): 533-6.
- [106] LUAN Y, YU S Y, ABAZARIKIA A, et al. TAp63 determines the fate of oocytes against DNA damage [J]. *Sci Adv*, 2022, 8(51): eade1846.
- [107] KERR J B, HUTT K J, MICHALAK E M, et al. DNA damage-induced primordial follicle oocyte apoptosis and loss of fertility require TAp63-mediated induction of Puma and Noxa [J]. *Mol Cell*, 2012, 48(3): 343-52.
- [108] TUPPI M, KEHRLOESSER S, COUTANDIN D W, et al. Oocyte DNA damage quality control requires consecutive interplay of CHK2 and CK1 to activate p63 [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2018, 25(3): 261-9.
- [109] RINALDI V D, HSIEH K, MUNROE R, et al. Pharmacological inhibition of the DNA damage checkpoint prevents radiation-induced oocyte death [J]. *Genetics*, 2017, 206(4): 1823-8.
- [110] DUONG H Q, HONG Y B, KIM J S, et al. Inhibition of checkpoint kinase 2 (CHK2) enhances sensitivity of pancreatic adenocarcinoma cells to gemcitabine [J]. *J Cell Mol Med*, 2013, 17(10): 1261-70.
- [111] STRUBEL A, MÜNICK P, CHAIKUAD A, et al. Designed ankyrin repeat proteins as a tool box for analyzing p63 [J]. *Cell Death Differ*, 2022, 29(12): 2445-58.
- [112] YANG Q, XI Q, WANG M, et al. Rapamycin improves the quality and developmental competence of mice oocytes by promoting DNA damage repair during *in vitro* maturation [J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2022, 20(1): 67.
- [113] LEE A R, PARK J H, SHIM S H, et al. Genome stabilization by RAD51-stimulatory compound 1 enhances efficiency of somatic cell nuclear transfer-mediated reprogramming and full-term development of cloned mouse embryos [J]. *Cell Prolif*, 2021, 54(7): e13059.
- [114] ZHANG W, WANG M, SONG Z, et al. Farrerol directly activates the deubiquitinase UCHL3 to promote DNA repair and reprogramming when mediated by somatic cell nuclear transfer [J]. *Nature Commun*, 2023, 14(1): 1838.
- [115] MOMOZAWA Y, SASAI R, USUI Y, et al. Expansion of cancer risk profile for BRCA1 and BRCA2 pathogenic variants [J]. *JAMA Oncol*, 2022, 8(6): 871-8.
- [116] MAIORANO D, LUTZMANN M, MÉCHALI M. MCM proteins and DNA replication [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2006, 18(2): 130-6.
- [117] GOLDBERG Y, ALEME O, PELED-PERETS L, et al. MCM9 is associated with germline predisposition to early-onset cancer-clinical evidence [J]. *NPJ Genom Med*, 2021, 6(1): 78.
- [118] HELDERMAN N C, TERLOUW D, BONJOCH L, et al. Molecular functions of MCM8 and MCM9 and their associated pathologies [J]. *iScience*, 2023, 26(6): 106737.
- [119] STORK C T, BOCEK M, CROSSLEY M P, et al. Co-transcriptional R-loops are the main cause of estrogen-induced DNA damage [J]. *eLife*, 2016, 5: e17548.