

· 综 述 ·

EGCG 的生物学活性及其调节卵母细胞老化的研究进展

张伟莹¹, 张慧珠^{1,2}, 李钰浚¹, 兰道亮^{1,2}, 熊显荣^{1,2}, 王亚营^{1,2}, 李键^{1,2}, 何翊阔^{1,2*}

1 西南民族大学 畜牧兽医学院, 四川 成都 610041

2 青藏高原动物遗传资源保护与利用教育部重点实验室, 四川 成都 610041

张伟莹, 张慧珠, 李钰浚, 兰道亮, 熊显荣, 王亚营, 李键, 何翊阔. EGCG 的生物学活性及其调节卵母细胞老化的研究进展[J]. 生物工程学报, 2024, 40(12): 4382-4395.

ZHANG Weiyang, ZHANG Huizhu, LI Yujun, LAN Daoliang, XIONG Xianrong, WANG Yaying, LI Jian, HE Honghong. Research progress in biological activities and oocyte aging-regulating effect of EGCG[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(12): 4382-4395.

摘 要: 表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG)是绿茶中一类含量最高的次级代谢产物, 具有抗氧化、抗癌和抗炎等多种生理活性。EGCG 在调节卵母细胞老化的过程中起重要作用, 主要通过增强卵母细胞的抗氧化能力、改善线粒体功能和减少细胞凋亡来延缓卵母细胞的衰老进程。本文对 EGCG 主要分子特性及其调节卵母细胞老化的作用机制进行综述, 为深入理解 EGCG 在减缓卵母细胞老化中的作用提供了参考。

关键词: 表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG); 抗氧化; 卵母细胞老化; 氧化应激

资助项目: 国家重点研发计划(2023YFD1801305); 四川省科技厅重点研发计划(2023YFN0001); 中央高校青年成长项目(2023NYXXS105)

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (2023YFD1801305), the Key Research and Development Program of Sichuan Provincial Department of Science and Technology (2023YFN0001), and the Central Universities and Colleges Youth Growth Program (2023NYXXS105).

*Corresponding author. E-mail: honghong3h@126.com

Received: 2024-03-06; Accepted: 2024-08-28; Published online: 2024-08-30

Research progress in biological activities and oocyte aging-regulating effect of EGCG

ZHANG Weiyang¹, ZHANG Huizhu^{1,2}, LI Yujun¹, LAN Daoliang^{1,2}, XIONG Xianrong^{1,2}, WANG Yaying^{1,2}, LI Jian^{1,2}, HE Honghong^{1,2*}

1 College of Animal & Veterinary Sciences, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, Sichuan, China

2 Key Laboratory of Qinghai-Tibetan Plateau Animal Genetic Resource Reservation and Utilization, Ministry of Education, Chengdu 610041, Sichuan, China

Abstract: Epigallocatechin gallate (EGCG), the predominant polyphenol in green tea, exerts a spectrum of physiological activities, including antioxidant, anticancer, and anti-inflammatory effects. Emerging research underscores the significance of EGCG in modulating oocyte aging. EGCG can enhance antioxidant defenses, improve mitochondrial functions, and inhibit apoptotic pathways, thereby retarding the aging of oocytes. This review delineates the main molecular features of EGCG and expounds its regulatory mechanisms concerning oocyte aging, enriching the knowledge on the role of EGCG in the amelioration of oocyte aging.

Keywords: epigallocatechin gallate (EGCG); antioxidant; oocyte aging; oxidative stress

茶因其独特的清韵滋味和有益成分而受到人们的青睐，是世界上仅次于水的第二大受欢迎的饮料。茶由茶多酚、生物碱和多肽等多种成分组成，其中发挥生物活性的最主要成分是多酚类化合物——茶多酚(tea polyphenols, TPs)^[1]。TPs 是一种稠环芳香烃，约占茶叶干重的30%–40%，组成成分复杂，分子质量及结构差异很大^[2]。TPs 主要包括表儿茶素没食子酸酯(epicatechin gallate, ECG)、表没食子儿茶素(epigallocatechin, EGC)、表儿茶素(epicatechin, EC)和表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG) 4种单体^[3]，其中EGCG是TPs中最常见的成分，具有最高的生物活性^[4]。EGCG的药理学特性和作用机制已被国内外学者广泛研究，其具有抗氧化、抗癌、抗炎、抗菌、抗糖、抗肥胖和心血管保护等多种功效。EGCG通过中和有害自由基并调节关键酶的活性，对预防和治疗癌症、肺气肿、帕金森病、糖

尿病和动脉粥样硬化等疾病具有积极作用^[5]。在生殖方面，哺乳动物卵母细胞成熟后停滞在第二次减数分裂中期等待受精，未能及时受精的卵母细胞将会经历一个复杂、不可逆的老化过程^[6]。卵母细胞老化会导致细胞皱缩、细胞膜受损、细胞骨架异常、卵周隙增大、透明带硬化、线粒体功能障碍等多种退行性变化，进一步降低卵母细胞受精能力、胚胎质量和发育潜力等，严重阻碍卵母细胞体外培养及动物胚胎相关技术的发展。因此，研究卵母细胞老化机制具有重要理论和实际应用价值。近年来研究表明，EGCG在调节卵母细胞老化方面发挥着重要作用，主要通过减少氧化应激、改善线粒体功能和抑制细胞凋亡来延缓卵母细胞的衰老^[7]。本文综述了EGCG的生物学特性及其在哺乳动物卵母细胞老化过程中的作用机制，为深入理解EGCG在生殖领域的研究进展及潜在应用提供相关参考。

1 EGCG 的生物活性

1.1 抗氧化作用

EGCG 主要通过清除自由基和螯合金属离子, 抑制活性氧(reactive oxygen species, ROS)的形成, 调节 Nrf2/ARE、NF- κ B、MAPK 等信号通路和体内抗氧化酶活性以及蛋白激酶相关基因的表达等机制发挥抗氧化作用^[8](图 1)。EGCG 的抗氧化活性很大程度上取决于羟基的数量和特征结构基团^[9]。羟基可与未配对的氧原子相互作用, 发生共轭效应, 迫使未配对的电子回到苯环上, 导致氢氧键减弱, 并与不饱和脂肪酸竞争活性氧, 两者结合形成稳定的二聚体, 从而清除体内有害自由基, 终止氧化反应^[10]。EGCG 所含的 2 个没食子儿茶酚环使其具有强大的金属螯合能力, 每一个没食子儿茶酚环都能与铜、铁等金属离子结合, 阻碍氧化

还原反应^[11]。ROS 能够激活核因子- κ B, 而 EGCG 可以通过降低 ROS 水平抑制 NF- κ B 信号通路, 进而抑制脂氧合酶(lipoxygenases, LOX)和环氧合酶(cyclooxygenase, COX)活性, 增强机体抗氧化能力^[12]。核因子-红细胞 2 相关因子 2 (nuclear factor-erythroid 2 related factor 2, Nrf2)是一种重要的抗氧化转录因子, 通过抗氧化反应元件(antioxidant response element, ARE)调节多种抗氧化和II期解毒酶基因表达^[13]。EGCG 可以通过激活 Nrf2-ARE 信号通路诱导上游激酶的表达, 包括磷脂酰肌醇-3 激酶(phosphatidylin ositol-3 kinase, PI3K)、蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC)和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs), 触发 Nrf2 磷酸化, 刺激细胞生长, 保护细胞免受氧化损伤^[14]。在动物模型中, EGCG 预处理降低了牛肝细胞中 MAPK 信号蛋白 p38、细胞外信号调节激酶

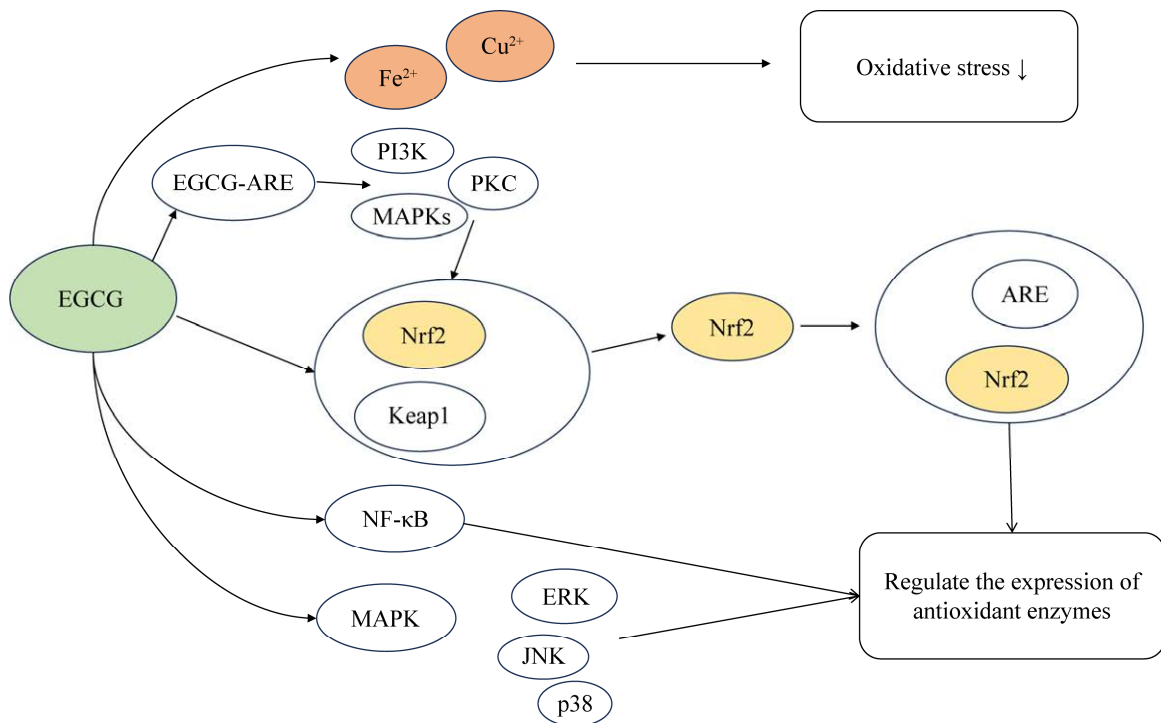


图 1 EGCG 调控多种机制发挥其抗氧化作用

Figure 1 EGCG modulates a variety of mechanisms to exert its antioxidant effects.

(extracellular regulated protein kinases, ERK)和应激活蛋白激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)的磷酸化水平,减弱了 MAPK 信号传导,通过抑制 MAPK/NF- κ B 信号传导通路发挥对肝脏的保护作用^[15]。EGCG 还能通过上调 Nrf2/血红素加氧酶-1 (heme oxygenase, HO-1)通路,下调 NADPH 氧化酶,提高组织抗氧化能力,增加谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPX)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和过氧化氢酶(catalase, CAT)等抗氧化酶的活性,间接清除体内产生的过量氧自由基,减少冠心病小鼠心脏组织的动脉粥样硬化斑块,减轻病理损伤^[16]。

1.2 抗肿瘤作用

近年来恶性肿瘤的发病率和死亡率持续上升,已成为人类生命的重大威胁。而化疗药物在抑制或杀死肿瘤细胞的同时,也会对自身的正常组织造成一定的损害。天然植物活性成分具有化学增敏作用,并可减少化疗药物引起的毒副作用^[17]。研究表明,饮茶可有效降低肝癌、胃癌、乳腺癌、胰腺癌、皮肤癌及肾上腺癌等疾病的发病风险^[18]。EGCG 能清除自由基,减少氧化损伤,对正常细胞和组织无毒,并对肿瘤防治有积极作用^[19]。EGCG 的化学预防和抗癌特性涉及多个分子靶点和肿瘤相关信号通路^[20]。EGCG 可作为 COX、TNF (tumor necrosis factor, TNF)和白细胞介素信号通路的抑制剂,调节癌症发展,它通过激活 p53 和 PTEN/p21、调节细胞死亡、抑制参与癌症进展和发展的转录因子和信号分子显示出预防作用^[21](图 2)。EGCG 通过抑制糖酵解中的关键酶缺氧诱导因子(hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)、葡萄糖转运体 1 及参与糖酵解途径的酶来抑制葡萄糖代谢,从而发挥抗肿瘤作用,达到治疗乳腺癌的效果,同时 EGCG 还能增强抗癌药物的体内外作用^[22]。EGCG 在肝细胞癌中通过下调多种信

号通路抑制肝癌细胞增殖、血管生成、侵袭和迁移,如 RTKs、MAPK/ERK、PI3K/Akt、mTOR、NF- κ B、STAT3、HIF-1 α 和 MMPs 等^[23]。同时 EGCG 还能上调细胞周期蛋白依赖性激酶抑制蛋白表达以诱导细胞周期停滞。另外,研究表明 EGCG 还具有诱导细胞凋亡并干扰细胞周期的能力^[24]。EGCG 通过激活细胞凋亡相关蛋白 Bcl-2 诱导 MCF-7 乳腺癌细胞凋亡^[25]。EGCG 通过抑制 PI3K/Akt 通路调节凋亡相关因子,包括上调 p53、Bax、Caspase-9 和 Caspase-3 的表达,下调 NF- κ B 和凋亡调节因子 Bcl-2 的表达,并促进细胞色素 C 的释放,诱导肝癌细胞的细胞周期停滞和凋亡^[26]。病理性血管生成是肿瘤发生的标志之一^[27]。EGCG 通过结合血管内皮生长因子受体,并抑制 PI3K/Akt、mTOR 和 NF- κ B 信号通路,从而减少 HIF-1 α 的积累。这一过程导致 MMP-2、MMP-3 和 MMP-9 的下调,并抑制血管内皮生长因子的表达^[28]。EGCG 通过 67 kDa 层粘连蛋白受体下调 Toll 样受体 4,上调 Toll 相互作用蛋白,显示出抗癌作用,该受体在细胞黏附和癌细胞转移中起重要作用,并可以充当 EGCG 表面受体^[29]。

1.3 抗炎作用

ROS 是导致氧化应激的主要因素,氧化应激可引发炎症^[30]。炎症是癌症进展的一个重要标志,炎症调节因子的增加与肿瘤预后不良有关^[31]。EGCG 可以通过抑制各种趋化因子和促炎介质的合成来发挥抗炎作用^[32]。

NF- κ B 是真核细胞中重要的转录调节因子之一,介导多种炎症细胞因子的合成,如 TNF- α (tumor necrosis factor, TNF)、IL-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6 (interleukin-6, IL-6)、IL-8 (interleukin-8, IL-8),在细胞的炎症反应和免疫应答等过程中起着重要作用^[33]。研究发现,茶中存在多种活性物质对 NF- κ B 信号通路具有抑制作用^[34]。作

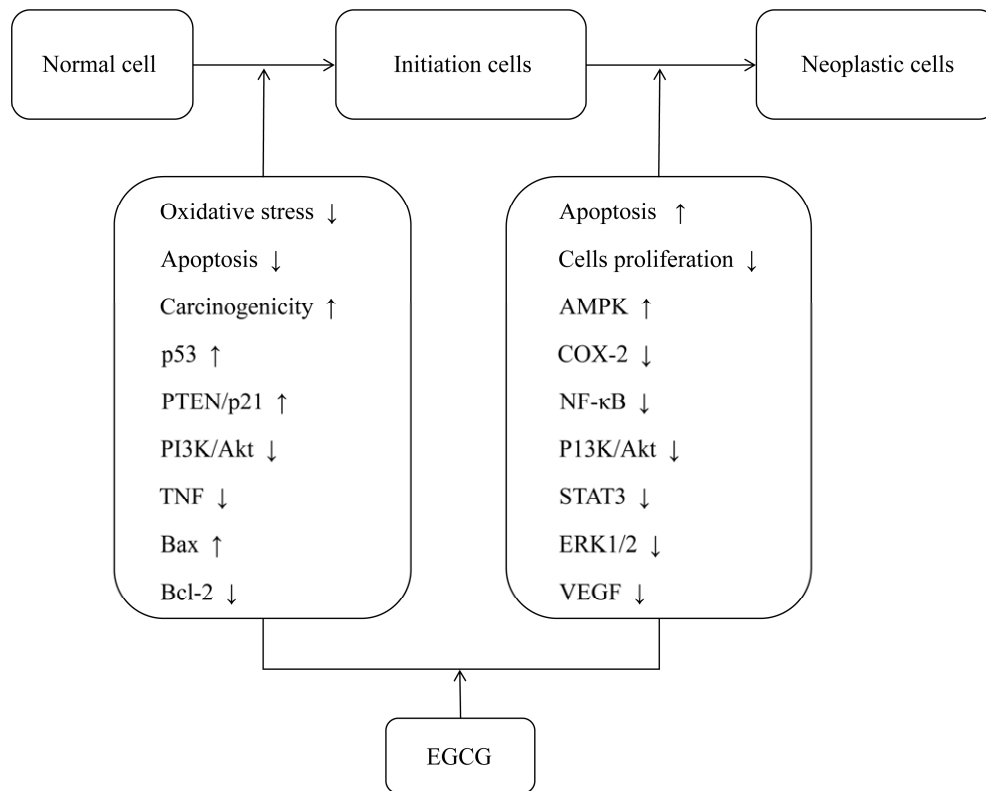


图 2 EGCG 在癌症中发挥的作用机制 PTEN: 肿瘤抑制蛋白; TNF: 肿瘤坏死因子; COX-2: 环氧合酶; STAT3: 信号转导与转录激活因子 3; VEGF: 血管内皮生长因子

Figure 2 The mechanism of action of EGCG in cancer. PTEN: Phosphatase and tensin homolog; TNF: Tumor necrosis actor; COX-2: Cyclooxygenase-2; STAT3: Signal transducer and activator of transcription 3; VEGF: Vascular endothelial growth factor.

为茶叶中的主要活性成分, EGCG 能够抑制细胞产生 TNF- α , 阻止 NF- κ B 通路激活从而抑制细胞黏附因子的生成, 减少白细胞黏附和迁移到血管内皮, 以达到抑制炎症反应的目的^[35]。

在 CoCl₂ 诱导的缺氧模型中, EGCG 处理小胶质细胞能减少 ROS 和 IL-6 的产生, 降低 HIF-1 α 的表达, 并通过抑制 NF- κ B 减少诱导型一氧化氮合酶和 COX-2 的表达, 提高细胞活力, 保护小胶质细胞免受缺氧诱导的炎症和氧化应激^[36]。NLRP3 炎症小体是由 NLRP3、凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein, ASC)以及 Caspase-1 前体共同组成的高分子量蛋白复合物, 具有病原体识别功能, 既能感应

体内稳态的改变, 也能被多种组织损伤信号激活。NLRP3 炎症小体持续活化会使促炎因子过度表达, 导致慢性炎症的发生。EGCG 能够通过抑制 ROS 过量产生和 MAPK 信号通路的激活, 减弱 NLRP3 炎症小体的表达, 起到抗炎作用^[37]。Zhong 等^[38]研究发现 EGCG 通过 TLR4/NF- κ B 途径抑制典型 NLRP3 和非典型 Caspase-11 依赖性炎症体的激活, 减轻小胶质细胞炎症和神经毒性, 从而保护脑部健康。此外, EGCG 作用于患有肠炎的小鼠, 能通过调节肠道微生物群组成及其代谢产物的产生, 改善结肠的黏膜屏障功能, 增加肠道短链脂肪酸含量, 增加肠道有益菌, 减少有害菌, 缓解肠道炎症^[39]。

1.4 延缓细胞衰老

大量研究^[40]表明, EGCG 在延缓细胞衰老方面具有重要作用。EGCG 具有抗氧化、抗炎和抗癌等生物活性, 能有效预防退行性疾病、炎症性疾病、代谢性疾病、心血管疾病和癌症等与年龄相关的疾病。研究表明 EGCG 在视网膜色素上皮和神经视网膜中发挥有益作用, 能保护紫外线诱导的视网膜细胞损伤, 并改善自噬功能失调^[41]。年龄相关性白内障是一种常见的眼病, 主要是由氧化应激介导的晶状体上皮细胞 (lens epithelial cells, LECs) 凋亡导致。EGCG 可通过 RASSF2/Akt 通路减少老年小鼠 LECs 凋亡, 延缓晶状体混浊^[42]。EGCG 可逆转 SH-SY5Y 神经元细胞中因暴露于葡萄糖和氨基葡萄糖而引发的氧化应激和胰岛素信号传导缺陷^[43]。EGCG 抑制 MAPK、NF- κ B 和 PI3K 等通路的激活, 减少 *iNOS*、*TNF- α* 、*IL-6*、*IL-1 β* 和 *COX-2* 等基因表达, 缓解内皮功能障碍和动脉粥样硬化^[44]。EGCG 还可以激活 Akt/eNOS/NO 通路来调节一氧化氮 (nitric oxide, NO) 的产生, 从而预防高血压^[5]。流行病学研究显示, 饮茶与心血管疾病风险呈负相关; EGCG 通过抑制低密度脂蛋白胆固醇、NF- κ B 通路和过氧化物酶活性, 能够降低血浆葡萄糖和糖化血红蛋白水平, 减少血管炎症和血栓形成, 最终起到治疗心血管疾病的作用^[45]。

1.5 在哺乳动物生殖领域中的功能

在生物体内正常的发育过程中, 卵母细胞处于低氧环境中, 卵泡液中富含自由基清除剂和抗氧化酶, 能够保护卵母细胞免受氧化损伤^[46-47]。然而, 卵母细胞在体外培养条件下, 暴露在比体内更多的氧气中, 会产生过多的 ROS 抑制卵母细胞的发育^[48]。EGCG 作为一种新型、无毒的抗氧化剂, 在清除过量 ROS、维持胞内氧化还原平衡和降低氧化损伤等方面发挥重要作用。

热疗诱导的氧化应激会破坏小鼠卵母细胞的发育能力, 使用 EGCG 处理可提高自卵母细胞发育而来的胚胎质量^[49]。在兔卵母细胞中加入 EGCG 能有效减少细胞内的 ROS, 延缓卵母细胞内部的氧化过程^[50]。Wang 等^[51]研究指出, 在体外培养卵母细胞时加入 15 μ mol/L 绿茶提取物多酚, 能显著增强牛卵母细胞的受精潜力及发育效率; 这与牛卵母细胞的细胞内还原型谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 水平的增加相关。Huang 等^[52]用不同浓度 EGCG 处理牛卵母细胞, 结果证明 50 μ mol/L EGCG 可以改善牛卵母细胞成熟, 并推测 EGCG 的保护作用与其抗氧化特性相关。Zhou 等^[7]通过延长猪卵母细胞体外培养时间建立老化模型, 发现 EGCG 能明显抑制衰老引起的氧化应激, 增加活性线粒体的数量和 ATP 水平, 表明 EGCG 具有抑制氧化应激和促进线粒体生物生成的能力, 对猪排卵后卵母细胞的老化有抑制作用。在糖尿病小鼠模型中, EGCG 可显著缓解糖尿病卵母细胞线粒体膜电位异常, 减少卵母细胞的 DNA 损伤, 有效改善卵母细胞的质量^[53]。在体外培养胚胎的过程中, 由于缺乏母体内源性抗氧化活性物质的保护, 其抗氧化活性会显著低于体内, 在这种环境中产生的过量氧自由基可能会对胚胎成熟产生抑制作用^[54]。

为了提升体外胚胎培养的品质, 引入抗氧化剂显得尤为必要。EGCG 作为抗氧化剂已显示出提升哺乳动物配子品质和体外受精成功率的能力。Ahmed 等^[55]研究指出, 在胚胎冻存液中添加 EGCG 能够增强水牛精子的抗氧化能力, 进而提升其生育潜能。具体而言, 在牛精液冷冻-解冻过程中添加 10 μ mol/L 的 EGCG, 不仅显著提高了精子活力, 还提升了精子质膜、顶体和线粒体膜的完整性, 增强了 SOD 和 CAT 的活性, 同时降低了乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase,

LDH)和谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)活力及丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量,最终提高了受精后早期胚胎的发育潜能^[56]。Huang^[57]的研究证明,在猪卵母细胞的体外成熟和体外受精过程中添加 10 $\mu\text{mol/L}$ 的 EGCG,可以有效提升卵母细胞成熟的质量,并显著增加卵丘细胞的扩展和卵母细胞的成熟率、卵裂率、囊胚率。EGCG 作为抗氧化剂能够降低哺乳动物卵母细胞及胚胎在发育过程中的氧化应激,从而促进卵母细胞的成熟,并进一步提高受精率与胚胎的发育能力。然而值得注意的是,较高浓度的 EGCG 可能对胚胎发育产生不利影响。

2 EGCG 对卵母细胞老化的影响

2.1 卵母细胞老化

哺乳动物卵母细胞成熟后停滞在第二次减数分裂中期阶段等待受精,未能及时受精的卵母细胞将会经历一个时间依赖的老化过程,称为排卵后卵母细胞老化(postovulatory aging, POA)^[58]。细胞老化是一个极为复杂且不可逆的生物学进程,相较于新鲜卵母细胞,卵母细胞 POA 会展现出形态、分子结构、基因组以及表观遗传修饰等多方面的异常与缺陷。在卵母细胞排卵后,未能及时受精的卵母细胞将会发生老化。形态改变包括透明带硬化、线粒体缺陷、纺锤体异常和皮质颗粒异常及空泡化。在分子水平上,POA 诱导细胞内 ROS 增加和氧化应激,导致脂质过氧化、线粒体和 DNA 氧化损伤,促进内质网中钙离子(Ca^{2+})释放。同时氧化应激和线粒体释放色素 C 激活细胞凋亡。这些机制连同细胞内更高水平的 Ca^{2+} 使细胞周期调节因子(MAPK、MPK)失活,并破坏表观遗传修饰(如组蛋白乙酰化)的稳定性(图 3)。

2.1.1 卵母细胞老化的形态学和生物学变化

细胞老化会导致细胞皱缩、细胞膜受损、细胞骨架异常、卵周隙增大、透明带硬化等细胞形态结构和细胞器的变化^[59]。新鲜卵母细胞中,微丝结构域沿着卵母细胞皮层排列,而老化卵母细胞质膜下的微丝结构域被破坏或丢失^[60]。纺锤体是保证染色体正确分离以及后续细胞和胚胎正常分裂及发育的重要细胞结构。多项研究显示,哺乳动物卵母细胞 POA 会导致纺锤体异常或丧失。在动物模型中,老化卵母细胞的纺锤体位置和数量会发生显著变化,并随着时间增加长度逐步延长^[61]。染色体分离错误会引发非整倍体胚胎。研究表明^[62],卵母细胞 POA 是引发染色体非整倍体的因素之一;在小鼠模型中,老化卵母细胞导致染色体提前分离,出现异常染色体数量的比率增加。

2.1.2 卵母细胞老化的分子变化

分子水平上,卵母细胞 POA 会随着时间的延长而表现出许多衰老症状。老化卵母细胞经历 DNA 损伤和凋亡、ROS 和 GSH 水平异常后,细胞内的氧化应激逐渐加重,线粒体功能出现障碍,胞内自发的反应使不同分子修饰发生改变,影响卵母细胞发育。 Ca^{2+} 振荡在胚胎发育中起到重要作用,此过程能触发减数分裂、影响基因表达、激活母体所需 mRNA 和调节线粒体功能等^[63]。而卵母细胞 POA 会扰乱卵母细胞中的 Ca^{2+} 信号传导并引起 Ca^{2+} 异常振荡^[64]。此外,卵母细胞 POA 与受精率降低、胚胎质量差和后代异常增加有关。然而,调控卵母细胞 POA 的潜在机制尚未被明确揭示。

衰老会导致卵母细胞质量下降,这种卵母细胞质量的恶化与氧化应激息息相关^[65]。氧化应激会破坏线粒体、脂质、蛋白质、酶和 DNA 等细胞成分,还会导致 ATP 短缺、卵泡异常生

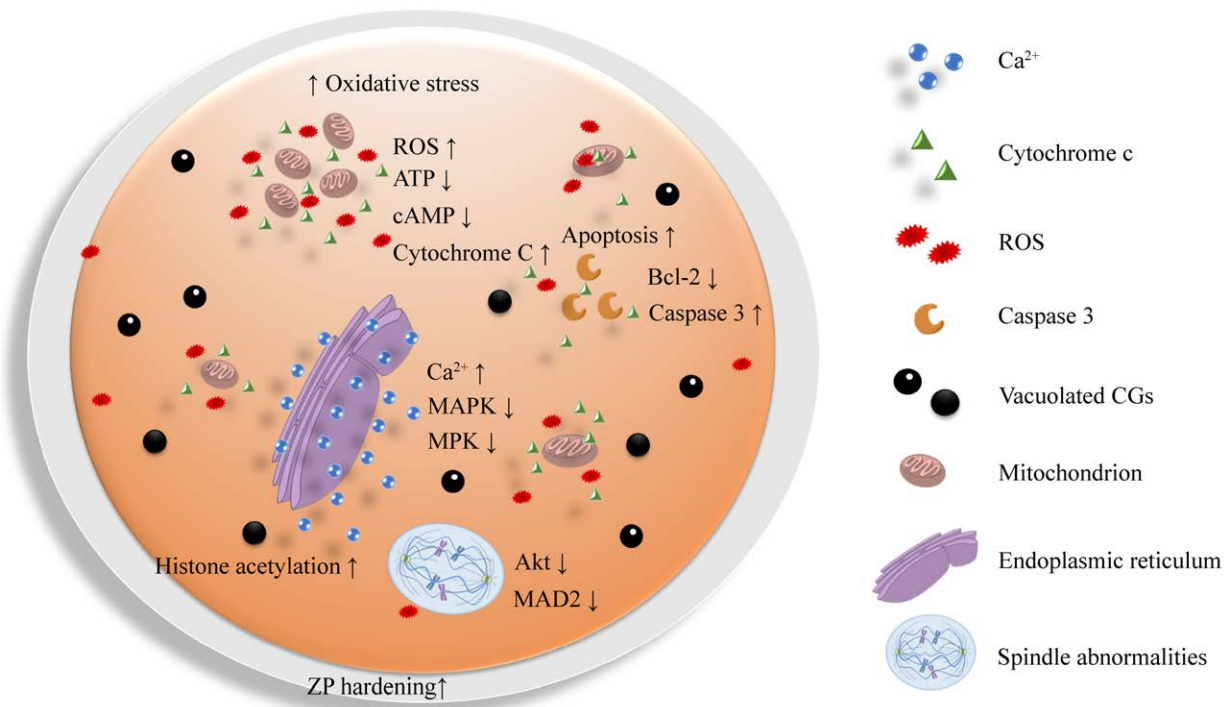


图3 哺乳动物卵母细胞 POA 的形态学和生物学变化 cAMP: 环腺苷酸; Akt: 蛋白激酶 B; MAD2: 有丝分裂阻滞缺陷蛋白 2

Figure 3 Main POA-related morphological and molecular alterations in mammalian oocytes. cAMP: Cyclic adenosine monophosphate; Akt: Protein kinase B; MAD2: Mitotic arrest deficient 2.

长、颗粒细胞凋亡、扰乱卵母细胞减数分裂、缩短端粒、DNA 断裂、染色体分离错误、自噬和蛋白酶系统失调等。体内 ROS 和抗氧化剂的平衡是卵泡生成、卵母细胞减数分裂、排卵和胚胎发育的关键要求^[66]。自 2013 年 Lord 和 Aitken 提出氧化应激是哺乳动物卵母细胞 POA 的关键引发因素之一以来^[67]，后续研究将过量 ROS 的产生与排卵后卵母细胞的衰老联系在一起。排卵后随着时间的不断延长，ROS (如 H_2O_2 、 O_2^- 和 $ONOO^-$) 可在卵母细胞内逐渐积累，从而引发氧化应激。氧化应激能够通过多种机制对卵母细胞造成损害：(1) 通过抑制酪氨酸磷酸酶和刺激酪氨酸激酶的活性，导致卵细胞促进成熟因子(maturation-promoting factor, MPF)水平降低，最终干扰减数分裂的正常运行^[68]。(2) 通

过诱导细胞质膜中脂质过氧化，降低膜流动性，影响卵母细胞与精子的融合^[69]。(3) 通过氧化作用破坏细胞内蛋白质、DNA 和线粒体等关键成分，引发细胞功能障碍。卵母细胞 POA 中发生的氧化损伤最终导致卵母细胞质量下降、抑制卵母细胞受精和胚胎存活。

持续而严重的氧化应激会导致线粒体损伤，线粒体缺陷是体内 ROS 增加的主要原因。整个植入前胚胎发育所需的大部分 ATP 都来源于 MII 期卵母细胞的线粒体^[70]，同时线粒体还能调节 Ca^{2+} 异常振荡并介导细胞凋亡^[71]。由此可见，线粒体功能是反映卵母细胞质量的重要标志，也是影响哺乳动物受精结果的关键因素^[72]。已有许多研究证明了卵母细胞 POA 会导致线粒体缺陷，如 Wilding 等^[73]发现，老化卵母细

胞线粒体形态异常和线粒体膜电位降低与胚胎发育速率呈负相关。在牛、小鼠和人等动物模型的衰老卵母细胞中观察到线粒体结构异常,并伴随 mtDNA 分子拷贝数和 ATP 减少^[74]。此外,老年小鼠的卵母细胞线粒体表现出空泡化、嵴改变和细胞质薄片等形态变化^[75]。Udagawa 等^[76]发现来自老年小鼠的卵母细胞表现出减少的 Drp1 依赖性线粒体裂变会导致卵泡发育异常和排卵失调。除了影响细胞内新陈代谢外,线粒体缺陷还会导致纺锤体异常和非整倍体生成^[62]。

2.2 EGCG 与卵母细胞老化

在哺乳动物生殖系统中,EGCG 已被证明可以作为抗氧化剂可减少哺乳动物卵母细胞及胚胎发育过程中的氧化应激,从而促进卵母细胞的成熟,进一步提高受精率与胚胎发育能力^[77]。

最近有研究发现 EGCG 可以缓解卵母细胞 POA 带来的不利影响。Zhou 等^[7]将 MII 阶段的猪卵母细胞体外培养 48 h 建立衰老模型;结果表明加入 EGCG 可减少卵母细胞 ROS 和 GSH 的产生,缓解氧化应激;衰老卵母细胞的线粒体活性和 ATP 含量降低;通过免疫荧光染色法检测线粒体活性并通过蛋白质印迹法检测 PINK1 水平,发现 EGCG 能缓解衰老引起的线粒体功能障碍;补充 EGCG 可导致线粒体和细胞色素 C 的明显共定位,从而抑制衰老诱导的细胞色素 C 的释放;EGCG 可抑制 BECLIN1 和 LC3 的水平来抑制细胞自噬,通过减少 p53 和 Caspase-3 的激活来防止细胞凋亡。这些结果表明 EGCG 可以提高衰老卵母细胞的发育能力,是一种能够延缓排卵后衰老的有效分子。在最新的研究中,Zhang 等^[78]进一步探讨了 EGCG 对衰老卵母细胞的确切影响和潜在机制,结果表明 EGCG 能够提高体内衰老卵母细胞成熟的质量。此外,衰老卵母细胞表现出纺锤体 F-肌动蛋白紊乱,EGCG 可通过增强 Arf6 表达,对衰

老卵母细胞的肌动蛋白细胞骨架进行调节,这可能有助于改善老化卵母细胞的质量。目前对于 EGCG 在卵母细胞老化中的作用报道甚少,对 EGCG 介导老化卵母细胞的分子机制的了解相对有限,有待进一步研究。

3 总结与展望

综上所述,EGCG 作为茶叶中活性最高的一种功能性成分,包含多种单体化合物且具有多羟基结构,能作用于多种信号通路并参与多种蛋白的调控,具有抗氧化、抗癌抗肿瘤和抗炎等生物活性。首先,EGCG 能通过清除自由基和螯合金属离子,抑制 ROS 的形成,调节信号通路和体内抗氧化酶活性以及蛋白激酶相关基因的表达等机制发挥抗氧化作用。其次,EGCG 能够通过调节细胞增殖与分化、诱导细胞凋亡、影响细胞周期、抑制血管生成和抑制参与癌症进展和发展的信号分子等多种途径抑制癌细胞的侵袭并促其凋亡,发挥抗肿瘤作用。另外,EGCG 还能通过调控 NF- κ B 和 MAPK 等信号通路,抑制各种趋化因子和促炎介质的合成来发挥抗炎作用。

卵母细胞的老化会引发一系列生物学变化,这些变化包括细胞皱缩、细胞膜损伤、细胞骨架异常、卵周间隙扩大、透明带硬化以及线粒体功能减退等。这些老化特征不仅削弱了卵母细胞的受精能力,还影响了胚胎的质量和发育潜能。因此,减弱卵母细胞 POA 的影响,延长最佳受精的窗口期,提高再授精技术的可行性,在医学和畜牧领域都至关重要。现如今,抗氧化剂已被用作延缓卵母细胞衰老的安全有效措施,研究者用白藜芦醇^[79]、褪黑激素^[70]、辅酶 Q10^[80]和 SIRT1^[81]等抗氧化剂能有效改善卵母细胞排卵后衰老引起的功能障碍。近年来,EGCG 作为天然、无毒的新型抗氧化剂,也正逐

渐地被应用于生殖领域并改善卵母细胞老化。EGCG 已经被证明能通过减少卵母细胞氧化应激、改善线粒体功能和减少细胞凋亡来延缓卵母细胞衰老进程, 这为哺乳动物卵母细胞体外成熟和减缓卵母细胞衰老提供了新的思路与可行的方案。尽管已有少量研究表明 EGCG 可以作为抗氧化剂减少哺乳动物卵母细胞及胚胎发育过程中的氧化应激, 但 EGCG 在卵母细胞老化过程中的作用仍未得到充分揭示, 对 EGCG 介导老化卵母细胞的作用机理的了解较为有限, 其潜在分子机制及具体影响仍需进一步的科学验证和阐明。为了全面理解 EGCG 在卵母细胞老化中发挥的作用, 未来的研究需聚焦于以下几个关键方面。首先, 探究 EGCG 如何影响卵母细胞的氧化状态和抗氧化能力; 其次, 分析 EGCG 对卵母细胞周期调控和凋亡途径的潜在影响; 再次, 研究 EGCG 对卵母细胞与精子融合能力及后续胚胎发育的影响; 此外, 还需评估不同浓度 EGCG 对卵母细胞的效应, 以确定其在延缓卵母细胞衰老中的最佳应用策略。通过这些研究, 有望揭示 EGCG 在卵母细胞老化中的具体作用机制, 为改善卵母细胞的体外成熟技术及提高辅助生殖技术中的卵母细胞和胚胎质量提供新的视角和科学依据。这不仅有助于提高哺乳动物生殖健康领域的临床治疗效率, 还可能为延缓衰老及相关疾病的发生提供新的治疗靶点。

REFERENCES

- [1] CABRERA C, ARTACHO R, GIMÉNEZ R. Beneficial effects of green tea: a review[J]. *Journal of the American College of Nutrition*, 2006, 25(2): 79-99.
- [2] 郑琰珠. 茶叶的主要化学成分及其营养价值[J]. *福建茶叶*, 2020, 42(11): 21-22.
ZHENG YZ. Main chemical components of tea and their nutritional value[J]. *Tea in Fujian*, 2020, 42(11): 21-22 (in Chinese).
- [3] ALMATROODI SA, ALMATROUDI A, KHAN AA, ALHUMAYDHI FA, ALSAHLI MA, RAHMANI AH. Potential therapeutic targets of epigallocatechin gallate (EGCG), the most abundant catechin in green tea, and its role in the therapy of various types of cancer[J]. *Molecules*, 2020, 25(14): 3146.
- [4] LIU ZB, de BRUIJN WJC, BRUINS ME, VINCKEN JP. Reciprocal interactions between epigallocatechin-3-gallate (EGCG) and human gut microbiota *in vitro*[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(36): 9804-9815.
- [5] LUO QX, LUO LB, ZHAO JM, WANG YT, LUO H. Biological potential and mechanisms of tea's bioactive compounds: an updated review[J]. *Journal of Advanced Research*, 2023, 65(32): 345-363.
- [6] 徐德军. SIRT2 对牛卵母细胞成熟与老化的作用及其机制[D]. 杨凌: 西北农林科技大学博士学位论文, 2020.
XU DJ. Effect of SIRT2 on maturation and aging of bovine oocytes and its mechanism[D]. Yangling: Doctoral Dissertation of Northwest A&F University, 2020 (in Chinese).
- [7] ZHOU DJ, SUN MH, JIANG WJ, LI XH, LEE SH, HEO G, NIU YJ, OCK SA, CUI XS. Epigallocatechin-3-gallate protects porcine oocytes against post-ovulatory aging through inhibition of oxidative stress[J]. *Aging*, 2022, 14(21): 8633-8644.
- [8] WŁODARCZYK M, CIEBIERA M, NOWICKA G, ŁOZIŃSKI T, ALI M, AL-HENDY A. Epigallocatechin gallate for the treatment of benign and malignant gynecological diseases-focus on epigenetic mechanisms[J]. *Nutrients*, 2024, 16(4): 559.
- [9] MUSIAL C, KUBAN-JANKOWSKA A, GORSKA-PONIKOWSKA M. Beneficial properties of green tea catechins[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(5): 1744.
- [10] LIN XD, LI YS, ZHANG YH. Research progress of epigallocatechin gallate (EGCG) on mammalian reproduction[J]. *Heilongjiang Journal of Animal Reproduction*, 2011, 19(5): 1-5.
- [11] OUYANG J, ZHU K, LIU ZH, HUANG JN. Prooxidant effects of epigallocatechin-3-gallate in health benefits and potential adverse effect[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 2020: 9723686.
- [12] ZHU M, FEI XY, GONG DM, ZHANG GW. Effects of processing conditions and simulated digestion *in vitro* on the antioxidant activity, inhibition of xanthine

- oxidase and bioaccessibility of epicatechin gallate[J]. *Foods*, 2023, 12(14): 2807.
- [13] ZHANG SS, CAO MK, FANG F. The role of epigallocatechin-3-gallate in autophagy and endoplasmic reticulum stress (ERS)-induced apoptosis of human diseases[J]. *Medical Science Monitor*, 2020, 26: e924558.
- [14] ZHANG YB, LIN HY, LIU CW, HUANG JN, LIU ZH. A review for physiological activities of EGCG and the role in improving fertility in humans/mammals[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2020, 127: 110186.
- [15] XU TL, LIU R, ZHU H, ZHOU Y, PEI TX, YANG ZP. The inhibition of LPS-induced oxidative stress and inflammatory responses is associated with the protective effect of (-)-epigallocatechin-3-gallate on bovine hepatocytes and murine liver[J]. *Antioxidants*, 2022, 11(5): 914.
- [16] HUANG XY, CHU Y, REN H, PANG XF. Antioxidation function of EGCG by activating Nrf2/HO-1 pathway in mice with coronary heart disease[J]. *Contrast Media & Molecular Imaging*, 2022, 2022: 8639139.
- [17] MALEKI DANA P, SADOUGHI F, ASEMI Z, YOUSEFI B. The role of polyphenols in overcoming cancer drug resistance: a comprehensive review[J]. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 2022, 27(1): 1.
- [18] BAKUN P, MLYNARCZYK DT, KOCZOROWSKI T, CERBIN-KOCZOROWSKA M, PIWOWARCZYK L, KOLASIŃSKI E, STAWNY M, KUŹMIŃSKA J, JELIŃSKA A, GOSLINSKI T. Tea-break with epigallocatechin gallate derivatives-powerful polyphenols of great potential for medicine[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2023, 261: 115820.
- [19] LI F, QASIM S, LI D, DOU QP. Updated review on green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate as a cancer epigenetic regulator[J]. *Seminars in Cancer Biology*, 2022, 83: 335-352.
- [20] WANG L, LI PH, FENG K. EGCG adjuvant chemotherapy: current status and future perspectives[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2023, 250: 115197.
- [21] ALAM M, ALI S, ASHRAF GM, BILGRAMI AL, YADAV DK, HASSAN MI. Epigallocatechin 3-gallate: from green tea to cancer therapeutics[J]. *Food Chemistry*, 2022, 379: 132135.
- [22] MARÍN V, BURGOS V, PÉREZ R, MARIA DA, PARDI P, PAZ C. The potential role of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) in breast cancer treatment[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(13): 10737.
- [23] LI DM, CAO DH, CUI YN, SUN YL, JIANG J, CAO XY. The potential of epigallocatechin gallate in the chemoprevention and therapy of hepatocellular carcinoma[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2023, 14: 1201085.
- [24] HAZIMEH D, MASSOUD G, PARISH M, SINGH B, SEGARS J, ISLAM MS. Green tea and benign gynecologic disorders: a new trick for an old beverage?[J]. *Nutrients*, 2023, 15(6): 1439.
- [25] ZAN LL, CHEN QF, ZHANG L, LI XN. Epigallocatechin gallate (EGCG) suppresses growth and tumorigenicity in breast cancer cells by downregulation of miR-25[J]. *Bioengineered*, 2019, 10(1): 374-382.
- [26] SATONAKA H, ISHIDA K, TAKAI M, KOIDE R, SHIGEMASA R, UEYAMA J, ISHIKAWA T, HAYASHI K, GOTO H, WAKUSAWA S. (-)-epigallocatechin-3-gallate down-regulates doxorubicin-induced overexpression of P-glycoprotein through the coordinate inhibition of PI3K/Akt and MEK/ERK signaling pathways[J]. *Anticancer Research*, 2017, 37(11): 6071-6077.
- [27] MITRA T, BHATTACHARYA R. Phytochemicals modulate cancer aggressiveness: a review depicting the anticancer efficacy of dietary polyphenols and their combinations[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2020, 235(11): 7696-7708.
- [28] AGGARWAL V, TULI HS, TANIA M, SRIVASTAVA S, RITZER EE, PANDEY A, AGGARWAL D, BARWAL TS, JAIN A, KAUR G, SAK K, VAROL M, BISHAYEE A. Molecular mechanisms of action of epigallocatechin gallate in cancer: recent trends and advancement[J]. *Seminars in Cancer Biology*, 2022, 80: 256-275.
- [29] BYUN EB, MI-SOYANG, KIM JH, SONG DS, LEE BS, PARK JN, PARK SH, PARK C, JUNG PM, SUNG NY, BYUN EH. Epigallocatechin-3-gallate-mediated Tollip induction through the 67-kDa laminin receptor negatively regulating TLR4 signaling in endothelial cells[J]. *Immunobiology*, 2014, 219(11): 866-872.
- [30] SHI WM, LI LF, DING YC, YANG K, CHEN ZX, FAN XN, JIANG S, GUAN YJ, LIU ZP, XU DH, WU LH. The critical role of epigallocatechin gallate in regulating mitochondrial metabolism[J]. *Future Medicinal Chemistry*, 2018, 10(7): 795-809.

- [31] RAKOCZY K, KACZOR J, SOŁTYK A, SZYMAŃSKA N, STECKO J, SLEZIAK J, KULBACKA J, BACZYŃSKA D. Application of luteolin in neoplasms and nonneoplastic diseases[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(21): 15995.
- [32] ZHANG SS, LIU XD, MEI LH, WANG HF, FANG F. Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) inhibits imiquimod-induced psoriasis-like inflammation of BALB/c mice[J]. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2016, 16(1): 334.
- [33] LIU CW, LI PH, QU ZH, XIONG W, LIU AL, ZHANG S. Advances in the antagonism of epigallocatechin-3-gallate in the treatment of digestive tract tumors[J]. *Molecules*, 2019, 24(9): 1726.
- [34] WANG ZM, GAO W, WANG H, ZHAO D, NIE ZL, SHI JQ, ZHAO S, LU X, WANG LS, YANG ZJ. Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate inhibits TNF- α -induced production of monocyte chemoattractant protein-1 in human umbilical vein endothelial cells[J]. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2014, 33(5): 1349-1358.
- [35] KIM JM, HEO HJ. The roles of catechins in regulation of systemic inflammation[J]. *Food Science and Biotechnology*, 2022, 31(8): 957-970.
- [36] KIM SR, SEONG KJ, KIM WJ, JUNG JY. Epigallocatechin gallate protects against hypoxia-induced inflammation in microglia *via* NF- κ B suppression and nrf-2/HO-1 activation[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(7): 4004.
- [37] LIU CM, HAO K, LIU ZJ, LIU ZH, GUO N. Epigallocatechin gallate (EGCG) attenuates staphylococcal alpha-hemolysin (Hla)-induced NLRP3 inflammasome activation *via* ROS-MAPK pathways and EGCG-Hla interactions[J]. *International Immunopharmacology*, 2021, 100: 108170.
- [38] ZHONG X, LIU MY, YAO WF, DU K, HE M, JIN X, JIAO LC, MA GW, WEI BB, WEI MJ. Epigallocatechin-3-gallate attenuates microglial inflammation and neurotoxicity by suppressing the activation of canonical and noncanonical inflammasome *via* TLR4/NF- κ B pathway[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2019, 63(21): e1801230.
- [39] WU ZH, HUANG SM, LI TT, LI N, HAN DD, ZHANG B, XU ZZ, ZHANG SY, PANG JM, WANG SL, ZHANG GL, ZHAO JC, WANG JJ. Gut microbiota from green tea polyphenol-dosed mice improves intestinal epithelial homeostasis and ameliorates experimental colitis[J]. *Microbiome*, 2021, 9(1): 184.
- [40] SHIN JH, JEON HJ, PARK J, CHANG MS. Epigallocatechin-3-gallate prevents oxidative stress-induced cellular senescence in human mesenchymal stem cells *via* Nrf2[J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2016, 38(4): 1075-1082.
- [41] BLASIAK J, CHOJNACKI J, SZCZEPANSKA J, FILA M, CHOJNACKI C, KAARNIRANTA K, PAWLOWSKA E. Epigallocatechin-3-gallate, an active green tea component to support anti-VEGFA therapy in wet age-related macular degeneration[J]. *Nutrients*, 2023, 15(15): 3358.
- [42] LIU SH, SU DM, SUN ZY, PIAO TH, LI SJ, GUAN LN, FU YJ, ZHANG GB, CUI TS, ZHU WN, MA X, HU SS. Epigallocatechin gallate delays age-related cataract development *via* the RASSF2/AKT pathway[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2023, 961: 176204.
- [43] JAMES A, WANG K, WANG YS. Therapeutic activity of green tea epigallocatechin-3-gallate on metabolic diseases and non-alcoholic fatty liver diseases: the current updates[J]. *Nutrients*, 2023, 15(13): 3022.
- [44] AYAZ EY, DINCER B, MESCI B. Effect of green tea on blood pressure in healthy individuals: a meta-analysis[J]. *Alternative Therapies in Health and Medicine*, 2023, 29(5): 66-73.
- [45] BRIMSON JM, PRASANTH MI, KUMAREE KK, THITILERTDECHA P, MALAR DS, TENCOMNAO T, PRASANSUKLAB A. Tea plant (*Camellia sinensis*): a current update on use in diabetes, obesity, and cardiovascular disease[J]. *Nutrients*, 2022, 15(1): 37.
- [46] GUÉRIN P, EL MOUATASSIM S, MÉNÉZO Y. Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embryo and its surroundings[J]. *Human Reproduction Update*, 2001, 7(2): 175-189.
- [47] KONJE JC, AHMED B. Best practice and research clinical obstetrics and gynaecology volume 92[J]. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 2024, 92: 102431.
- [48] KITAGAWA Y, SUZUKI K, YONEDA A, WATANABE T. Effects of oxygen concentration and antioxidants on the *in vitro* developmental ability, production of reactive oxygen species (ROS), and DNA fragmentation in porcine embryos[J]. *Theriogenology*, 2004, 62(7): 1186-1197.

- [49] ROTH Z, AROYO A, YAVIN S, ARAV A. The antioxidant epigallocatechin gallate (EGCG) moderates the deleterious effects of maternal hyperthermia on follicle-enclosed oocytes in mice[J]. *Theriogenology*, 2008, 70(6): 887-897.
- [50] BALÁŽI A, SIROTKIN AV, FÖLDEŠIOVÁ M, MAKOVICKÝ P, CHRASTINOVÁ L, MAKOVICKÝ P, CHRENEK P. Green tea can suppress rabbit ovarian functions *in vitro* and *in vivo*[J]. *Theriogenology*, 2019, 127: 72-79.
- [51] WANG ZG, YU SD, XU ZR. Improvement in bovine embryo production *in vitro* by treatment with green tea polyphenols during *in vitro* maturation of oocytes[J]. *Animal Reproduction Science*, 2007, 100(1/2): 22-31.
- [52] HUANG ZQ, PANG YW, HAO HS, DU WH, ZHAO XM, ZHU HB. Effects of epigallocatechin-3-gallate on bovine oocytes matured *in vitro*[J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2018, 31(9): 1420-1430.
- [53] CHAO S, LI LJ, LU J, ZHAO SX, ZHAO MH, HUANG GA, YIN S, SHEN W, SUN QY, ZHAO Y, GE ZJ, ZHAO L. Epigallocatechin gallate improves the quality of diabetic oocytes[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2023, 159: 114267.
- [54] SIMOPOULOU M, ASIMAKOPOULOS B, BAKAS P, BOYADJIEV N, TZANAKAKI D, CREATSAS G. Oocyte and embryo vitrification in the IVF laboratory: a comprehensive review[J]. *Folia Medica*, 2014, 56(3): 161-169.
- [55] AHMED H, JAHAN S, RIAZ M, KHAN BT, IJAZ MU. Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) addition as an antioxidant in a cryo-diluent media improves microscopic parameters, and fertility potential, and alleviates oxidative stress parameters of buffalo spermatozoa[J]. *Cryobiology*, 2020, 97: 101-109.
- [56] 黄自强. 表没食子儿茶素没食子酸酯对牛卵母细胞体外成熟和冷冻精液品质的影响[D]. 北京: 中国农业科学院, 2018.
HUANG ZQ. Effects of epigallocatechin gallate on *in vitro* maturation of bovine oocytes and frozen semen quality[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2018 (in Chinese).
- [57] 黄康法. EGCG对猪卵母细胞体外成熟和体外受精的影响[D]. 广州: 华南农业大学, 2020.
HUANG KF. Effect of EGCG on *in vitro* maturation and fertilization of porcine oocytes[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2020 (in Chinese).
- [58] YANG JH, WANG H. Study progress of postovulatory oocyte aging[J]. *Journal of International Reproductive Health/Family Planning*, 2018, 37(1): 66-70.
- [59] WEN X, YANG Q, SUN D, JIANG ZY, WANG T, LIU HR, HAN Z, WANG L, LIANG CG. Cumulus cells accelerate postovulatory oocyte aging through IL1-IL1R1 interaction in mice[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(4): 3530.
- [60] MIAO YL, KIKUCHI K, SUN QY, SCHATTEN H. Oocyte aging: cellular and molecular changes, developmental potential and reversal possibility[J]. *Human Reproduction Update*, 2009, 15(5): 573-585.
- [61] MCGINNIS LK, PELECH S, KINSEY WH. Post-ovulatory aging of oocytes disrupts kinase signaling pathways and lysosome biogenesis[J]. *Molecular Reproduction and Development*, 2014, 81(10): 928-945.
- [62] SHIMOI G, TOMITA M, KATAOKA M, KAMEYAMA Y. Destabilization of spindle assembly checkpoint causes aneuploidy during meiosis II in murine post-ovulatory aged oocytes[J]. *The Journal of Reproduction and Development*, 2019, 65(1): 57-66.
- [63] SANDERS JR, SWANN K. Molecular triggers of egg activation at fertilization in mammals[J]. *Reproduction*, 2016, 152(2): R41-R50.
- [64] SZPILA M, WALEWSKA A, SABAT-POŚPIECH D, STRĄCZYŃSKA P, ISHIKAWA T, MILEWSKI R, SZCZEPAŃSKA K, AJDUK A. Postovulatory ageing modifies sperm-induced Ca²⁺ oscillations in mouse oocytes through a conditions-dependent, multi-pathway mechanism[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 11859.
- [65] SASAKI H, HAMATANI T, KAMIJO S, IWAI M, KOBANAWA M, OGAWA S, MIYADO K, TANAKA M. Impact of oxidative stress on age-associated decline in oocyte developmental competence[J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2019, 10: 811.
- [66] WANG L, TANG JH, WANG L, TAN F, SONG HB, ZHOU JW, LI FG. Oxidative stress in oocyte aging and female reproduction[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2021, 236(12): 7966-7983.
- [67] LORD T, AITKEN RJ. Oxidative stress and ageing of the post-ovulatory oocyte[J]. *Reproduction*, 2013, 146(6): R217-R227.
- [68] JIA ZZ, ZHANG JW, ZHOU D, XU DQ, FENG XZ. Deltamethrin exposure induces oxidative stress and affects meiotic maturation in mouse oocyte[J]. *Chemosphere*, 2019, 223: 704-713.
- [69] MENG L, WU ZF, ZHAO K, TAO J, CHIT T, ZHANG

- SQ, WANG CC, TEERDS K. Transcriptome analysis of porcine granulosa cells in healthy and atretic follicles: role of steroidogenesis and oxidative stress[J]. *Antioxidants*, 2020, 10(1): 22.
- [70] DAI XX, LU YJ, ZHANG MQ, MIAO YL, ZHOU CY, CUI ZK, XIONG B. Melatonin improves the fertilization ability of post-ovulatory aged mouse oocytes by stabilizing ovastacin and Juno to promote sperm binding and fusion[J]. *Human Reproduction*, 2017, 32(3): 598-606.
- [71] WAKAI T, ZHANG N, VANGHELUWE P, FISSORE RA. Regulation of endoplasmic reticulum Ca²⁺ oscillations in mammalian eggs[J]. *Journal of Cell Science*, 2013, 126(Pt 24): 5714-5724.
- [72] ALMEIDA SANTOS T, EL SHOURBAGY S, ST JOHN JC. Mitochondrial content reflects oocyte variability and fertilization outcome[J]. *Fertility and Sterility*, 2006, 85(3): 584-591.
- [73] WILDING M, DALE B, MARINO M, Di MATTEO L, ALVIGGI C, PISATURO ML, LOMBARDI L, de PLACIDO G. Mitochondrial aggregation patterns and activity in human oocytes and preimplantation embryos[J]. *Human Reproduction*, 2001, 16(5): 909-917.
- [74] BABAYEV E, WANG TR, SZIGETI-BUCK K, LOWTHER K, TAYLOR HS, HORVATH T, SELI E. Reproductive aging is associated with changes in oocyte mitochondrial dynamics, function, and mtDNA quantity[J]. *Maturitas*, 2016, 93: 121-130.
- [75] SIMSEK-DURAN F, LI F, FORD W, SWANSON RJ, JONES HW Jr, CASTORA FJ. Age-associated metabolic and morphologic changes in mitochondria of individual mouse and hamster oocytes[J]. *PLoS One*, 2013, 8(5): e64955.
- [76] UDAGAWA O, ISHIHARA T, MAEDA M, MATSUNAGA Y, TSUKAMOTO S, KAWANO N, MIYADO K, SHITARA H, YOKOTA S, NOMURA M, MIHARA K, MIZUSHIMA N, ISHIHARA N. Mitochondrial fission factor Drp1 maintains oocyte quality *via* dynamic rearrangement of multiple organelles[J]. *Current Biology*, 2014, 24(20): 2451-2458.
- [77] HUANG KF, LI CD, GAO FL, FAN YS, ZENG FW, MENG L, LI L, ZHANG SQ, WEI HX. Epigallocatechin-3-gallate promotes the *in vitro* maturation and embryo development following IVF of porcine oocytes[J]. *Drug Design, Development and Therapy*, 2021, 15: 1013-1020.
- [78] ZHANG HH, SU W, ZHAO RS, LI M, ZHAO SG, CHEN ZJ, ZHAO H. Epigallocatechin-3-gallate improves the quality of maternally aged oocytes[J]. *Cell Proliferation*, 2024, 57(4): e13575.
- [79] ABBASI B, DONG Y, RUI R. Resveratrol hinders postovulatory aging by modulating oxidative stress in porcine oocytes[J]. *Molecules*, 2021, 26(21): 6346.
- [80] NIU YJ, ZHOU WJ, NIE ZW, ZHOU DJ, XU YN, OCK SA, YAN CG, CUI XS. Ubiquinol-10 delays postovulatory oocyte aging by improving mitochondrial renewal in pigs[J]. *Aging*, 2020, 12(2): 1256-1271.
- [81] XING XP, ZHANG JJ, WU T, ZHANG JC, WANG YS, SU JM, ZHANG Y. SIRT1 reduces epigenetic and non-epigenetic changes to maintain the quality of postovulatory aged oocytes in mice[J]. *Experimental Cell Research*, 2021, 399(2): 112421.

(本文责编 郝丽芳)