

· 临床论著 ·

二至天癸方对高龄妇女体外受精技术中
优质胚胎率的影响

连 方 孙金龙 孙振高 吴海萃 张 楠 于 艺

摘要 **目的** 观察补肾益阴中药二至天癸方对高龄肾气阴两虚证妇女体外受精(IVF)结局的影响及卵泡液相关蛋白表达的改变。**方法** 100 例均为肾气阴两虚证的高龄妇女,采用随机数字+信封法双盲分为两组,对照组(50 例)和试验组(50 例),启动日分别给予安慰剂、二至天癸颗粒冲剂联合拮抗剂方案,观察治疗前后证候积分、促性腺激素(Gn)天数、Gn 量、获卵数、2 原核(PN)数、卵裂数、I 级胚胎数、I + II 级胚胎数,采用 LC-MS/MS 技术筛选鉴定差异蛋白并检索其生物信息学功能。**结果** 两组 I 级胚胎数分别为 0.64 ± 1.03 vs. 2.11 ± 2.05 、优质胚胎率分别为 17.1% vs. 51.1%,对照组均低于试验组($P < 0.05$)。LC-MS/MS 质谱分析结果显示,与对照组比较,试验组有 11 个差异蛋白,在对照组中高表达 4 个(RBP4、FCGR3A、IGFBP6、IGFBP3),低表达 7 个(TIMPI、TGFB1、TNFRSF1A、IGFALS、GTF3C1、CCDC112、POLE),总体趋势提示试验组卵泡液中细胞凋亡效应下调。**结论** 高龄肾气阴两虚证妇女经予中药二至天癸方治疗后可提高 IVF 中优质胚胎率,其机制可能与卵泡液中的凋亡效应蛋白表达下调有关。

关键词 二至天癸方; 高龄妇女; 蛋白质组学; 卵泡液; 优质胚胎率

Effect of Erzhi Tiangui Recipe on High Quality Embryo Rate and Follicular Fluid Proteomics of Elderly IVF Women LIAN Fang, SUN Jin-long, SUN Zhen-gao, WU Hai-cui, ZHANG Nan, and YU Yi
Reproductive and Genetic Center of Integrated Traditional and Western Medicine, Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan (250011)

ABSTRACT **Objective** To observe the effect of Erzhi Tiangui Recipe (ETR) on the outcome of elderly *in vitro* fertilization (IVF) women with Shen qi-yin deficiency syndrome (SQYDS), and to study the biological mechanism of follicular fluid proteomics. **Methods** Totally 100 elderly women with SQYDS were equally assigned to the control group and the test group by random digit table plus envelop double-blinded method. Patients in the control group received placebo plus antagonist regimen, while those in the test group received ETR plus antagonist regimen on the day of starting ovarian stimulation (OS) treatment. Syndrome integrals, Gn days, Gn amount, the number of retrieved oocytes, 2PN number, and cleavage number, the number of grade I embryos and grade (I + II) embryos were observed before and after treatment. The differentially expressed proteins were identified by LC-MS/MS technique, and bioinformatics function retrieved. **Results** The number of grade I embryos in both groups were 0.64 ± 1.03 and 2.11 ± 2.05 , and the high-grade embryo rate were 17.1% and 51.1%. They were much lower in the control group than in the test group ($P < 0.05$). LC-MS/MS showed, as compared with the control group, there were 11 differentially expressed proteins in the test group. In the control group, four proteins were up-regulated (RBP4, FCGR3A, IGFBP6, IGFBP3), and seven were down-regulated (TIMPI, TGFB1, TNFRSF1A, IGFALS, GRF3C1, CCDC112, POLE). The overall trend indicated that apoptosis effect was down-regulated in the follicular fluid of the test group. **Conclusion** After treated with ETR, high quality embryo rate could be elevated in elderly IVF women with SQYDS, which might be associated with down-

基金项目: 山东省重点研发计划项目 (No. 2015GSF119018)

作者单位: 山东中医药大学附属医院中西医结合生殖与遗传中心 (济南 250011)

通讯作者: 连 方, Tel: 0531-68617800, E-mail: f_lian@163.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20180829.281

regulated expression of apoptosis protein in the follicular fluid.

KEYWORDS Erzhi Tiangui Recipe; elderly woman; proteomics; follicular fluid; high-grade embryo rate

高龄妇女生育力下降是一个不争的事实,保护和提高高龄妇女生育力成为一个日渐被重视的医学和社会问题。目前中医、西医生殖医学对高龄妇女生育问题的研究,集中于抑制细胞凋亡和提高卵泡对促性腺激素的敏感性两个方面。本课题组发现应用补肾中药可以通过多种通路改善卵细胞质量,提高肾虚证患者体外受精-胚胎移植(*in vitro* fertilization and embryo transfer, IVF-ET)的受精率、卵裂率与妊娠率^[1,2]。本课题通过蛋白质组学的方法,观察补肾益阴中药二至天癸方对高龄不孕妇女助孕结局及卵泡液蛋白质组学的影响,探究其作用机制,为保护高龄女性生育力提供科学、有效、系统的中医药理论和方药、方法。

资料与方法

1 诊断标准

1.1 不孕症诊断标准 参照《中医妇科常见病诊疗指南》^[3],夫妇同居,性生活正常,未避孕未(再)孕1年及以上者。

1.2 中医辨证分型标准 参照《中医虚证辨证参考标准》^[4]属肾气阴两虚证。主证:(1)经色淡黯或经质稀;(2)神疲乏力;(3)腰骶酸痛;(4)舌质淡红,或有齿痕,苔薄白或少苔;(5)两尺脉沉细或沉细数。兼证:(1)头晕耳鸣;(2)口燥咽干;(3)阴中干涩;(4)脘酸膝软或足跟痛。以上主证必备,兼证具备1~2项即可诊断。

2 纳入标准 (1)按照生殖遗传学的标准^[5,6],符合西、中医诊断及分型标准;(2)年龄 ≥ 35 岁;(3)因男方因素而致不孕,拟行IVF-ET者;(4)签署知情同意书。

3 排除标准 (1)3个月内有甾体类激素治疗史及宫腔操作史;(2)已明确生殖器官有明显而严重的其他器质性病变者;(3)伴卵巢早衰及仅存单侧卵巢者;(4)伴染色体异常、子宫内膜异位症、多囊卵巢综合征(polycystic ovarian syndrome, PCOS)等可能影响卵泡液蛋白质组学的疾病;(5)合并心脑血管、肝、肾和造血系统等严重的原发性疾病及精神病患者。

4 一般资料 100例均为2015年6月—2016年2月于山东中医药大学附属医院中西医结合生殖与遗传中心行IVF-ET的不孕症患者,均符合纳入标准。采用随机数字+信封法双盲分为对照组和试验组,每

组50例。两组患者年龄(38.36 ± 2.58 vs. 37.72 ± 2.37)、治疗前证候积分(18.92 ± 1.72 vs. 18.96 ± 2.66)、卵巢储备指标(AMH: 2.75 ± 1.34 vs. 2.62 ± 1.39)、经阴道超声下双侧卵巢都卵泡数(7.68 ± 2.61 vs. 8.28 ± 2.89)等比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。本方案经山东中医药大学附属医院医学伦理委员会的批准(No. AF/SC-08/01.0)。

5 治疗方法 自月经第2~3天开始用促性腺激素(Gn)150~300U启动,试验组同时给予二至天癸颗粒冲剂[每包3g,由山东中医药大学附属医院药物制剂室批量制作,院内批号:(01)FZ032-03。服用方法:每次3包,每日2次,每日剂量相当于药物饮片女贞子15g 旱莲草15g 枸杞子15g 菟丝子15g 熟地黄15g 当归12g 白芍12g 川芎12g 制香附12g 炙甘草9g],对照组给予安慰剂冲剂[主要成分为糊精,由山东中医药大学附属医院药物制剂室提供,院内批号:(01)FZ032-03-1。每袋3g,]治疗,用药时间11~14天。当主导卵泡 ≥ 12 mm时予GnRH拮抗剂(注射用醋酸西曲瑞克,商品名:思则凯,0.25mg/支,德国默克雪兰诺公司)0.25mg/d。当患者优势卵泡直径在18~20mm时,肌肉注射人绒毛膜促性腺激素(HCG, 5000IU/支,丽珠集团制药公司产品)1万IU作为“扳机”,扳机后36h前后行超声引导下经阴道穿刺取卵术。

6 观察项目及检测方法

6.1 卵泡液的收集和处理 取卵时收集第一管卵泡液,卵泡液经倒置显微镜下确认有卵冠丘复合物存在,3000r/min,离心10min,离心后取上清液装于Eppendorf(EP)管,标记编号后放置于-80℃冰箱内冻存,待检。取对照组和试验组标本分别混合定为对照组卵泡液池、试验组卵泡液池。

6.2 蛋白质组学检测

6.2.1 LC-MS/MS 质谱分析 经过卵泡液内蛋白提取并测定浓度后,进行溶液内酶解、除盐,所得样品在冷冻干燥仪中冻干,冻干后重溶于0.1%FA用于质谱检测。进样时每个样品进样一次。液相采用90min梯度,流速为220mL/min,预柱用AcclaimR PepMap100 column (100μm ID, 2cm length, C18, 5μm, 100Å),分析柱用AcclaimR PepMap RSLC column (50μm ID, 15cm length, C18, 2μm, 100Å)。流动相A为0.1%FA水溶液,流动

相 B 为 0.1% FA 乙腈溶液。质谱数据采集通过 Xcalibur 2.2 SP1 软件操作,一级母离子扫描范围为 300 ~2 000 m/z,分辨率为 70 000;选择信号排名前 20 的多肽进行碎裂,碎裂模式为 HCD,能量为 27%。

6.2.2 数据库检索和 Maxquant 软件分析 数据库检索采用 Proteome Discoverer software (Version PD1.4, Thermo Scientific, USA)。蛋白质数据库来自 UniProt 数据库。使用 Maxquant 软件 (Version 1.4.0.8)对原始 raw 文件进行搜库,数据库使用 uniprot_proteomes-human.fasta 数据库,检索结果通过严格标准进行筛选 (Peptide FDR < = 1%,Protein FDR < =1%)。用于定量的蛋白必须鉴定到大于等于 2 个特征性多肽。

6.3 证候积分 参照《中医虚证辨证参考标准》^[4]中相关内容拟定(表 1)。

6.4 正常受精、卵裂及优质胚胎(率)判断标准 在倒置显微镜下观察受精情况,以见到原核(PN)或卵裂为受精成功的标志。IVF 正常受精率(%) = 2PN 受精卵/卵母细胞总数 × 100%。卵裂率(%) = 卵裂数/卵母细胞总数 × 100%。胚胎评级主要根据 Peter 评分系统简化分级^[7],I 级胚胎称为优质胚胎,I、II 级胚胎称为可移植/可冷冻胚胎。优质胚胎率(%) = I 级胚胎数/(I 级胚胎数 + II 级胚胎数) × 100%。

7 统计学方法 采用数据库检索和 Maxquant 软件分析,所有数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间样本均数差异比较,方差齐时采用 *t* 检验;方差不齐时采用校正 *t* 检验。两组间率比较采用 χ^2 检验四格表资料的 Fisher 确切概率法。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 脱落情况 试验组、对照组分别有 4 例、3 例因未取到卵取消周期。按照方法学与临床评价的原理,该病例脱落属完全随机缺失,且缺失率较小(一般

定义为 10% ~ 15% 以下,本试验病例脱落率为 < 10%),未严重影响试验的内部真实性,可忽视缺失值^[8]。

2 两组治疗前后证候积分比较(表 2) 两组肾虚证候积分治疗后较治疗前下降,但差异无统计学意义(*t*_{治疗前} = 0.09,*t*_{治疗后} = 1.69,*P* > 0.05),两组差值比较,差异亦无统计学意义(*P* > 0.05)。

表 2 两组治疗前后证候积分及积分差值比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	证候积分
试验	50	治疗前	18.96 ± 2.66
	46	治疗后	15.24 ± 2.17
		差值	3.72 ± 2.21
对照	50	治疗前	18.92 ± 1.72
	47	治疗后	14.60 ± 1.58
		差值	4.32 ± 1.78

3 两组扳机日双侧卵巢 ≥ 14 mm 卵泡数、Gn 天数、Gn 量比较(表 3) 两组扳机日 ≥ 14 mm 卵泡数、Gn 天数、Gn 总量比较,差异均无统计学意义(*P* > 0.05)。

表 3 两组扳机日双侧卵巢 ≥ 14 mm 卵泡数、Gn 天数、Gn 量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	≥ 14 mm 卵泡数 (个)	Gn 天数 (天)	Gn 量 (U)
试验	50	11.62 ± 8.24	11.46 ± 2.02	2 955.00 ± 1 124.20
对照	50	9.78 ± 5.51	10.78 ± 3.18	2 804.50 ± 1 088.33
<i>t</i>		1.31	1.28	0.68
<i>P</i>		0.19	0.21	0.50

4 两组取卵后第 3 日获卵数、2PN 数、卵裂数、I 级胚胎数、I + II 级胚胎数、正常受精率、卵裂率、优胚率比较(表 4) 与对照组比较,试验组 I 级胚胎数、优胚率增高,差异有统计学意义(*P* < 0.01);获卵数、2PN 数、卵裂数、I + II 级胚胎数、正常受精率、卵裂率,两组比较,差异无统计学意义(*P* > 0.05)。

表 1 肾气阴两虚证中医证候评分表

项目	6 分	4 分	2 分	0 分
经色淡黯或经质稀	经色淡黯和经质稀	经色淡黯或经质稀		无症状
神疲乏力	平时即可感受到	平时即可轻微感受到	劳动后方可感受到	无症状
腰膝酸痛或足跟痛	痠痛难忍	痠痛明显但能忍受	轻微痠痛	无症状
阴中干涩	平时即可感受到	性交时感受到	轻微	无症状
口燥咽干		平时即见且影响日常生活	平时即见但不影响日常生活	无症状
头晕		平时即见且影响日常生活	平时即见但不影响日常生活	无症状
耳鸣			有症状	无症状
舌象			舌质淡红,或有齿痕,苔薄白或少苔	正常
脉象			两尺脉沉细或沉细数	正常

5 两组卵泡液差异表达蛋白鉴定结果分析比较(表 5) 以 Maxquant 结果中的 LFQ 值作为蛋白质丰度表征,以每个样本全蛋白 LFQ 总和进行矫正。各组间差异蛋白首先以蛋白质丰度比 >1.67 以及 <0.6 为标准筛选,然后将相对特异在卵泡液表达并发挥局部作用的小微量的蛋白差异缩小至 >1.1 以及 <0.9。经比较,对照组与试验组有 11 个差异蛋白,在对照组中高表达 4 个,低表达 7 个。

讨 论

凋亡效应的加速是导致高龄妇女卵细胞、胚胎质量下降的重要原因。卵泡的生长发育异常、颗粒细胞的凋亡加速导致卵泡闭锁是高龄妇女卵巢储备功能下降、生育能力下降的根本原因^[9]。

本课题研究中发现的差异蛋白中有多种涉及细胞凋亡与增殖效应,如基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)在细胞凋亡的过程中扮演着重要的角色,金属蛋白酶抑制剂 1(tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP1)能够结合 MMPs,降低 MMPs 生物活性。另外,TIMP1 还可以直接结合细胞表面受体促进成纤维细胞、上皮细胞、平滑肌细胞及淋巴细胞增殖^[10]。也有研究指出 TIMP1 抗凋亡的作用与其直接抑制 caspase-3 活性有关^[11]。胰岛素样生长因子结合蛋白 3(insulin like growth factor binding protein3, IGFBP3)及 IGFBP6 能与 IGF 受体竞争结合 IGF,从而阻断 IGF 受体的形成,进而抑制 IGF

的活性发挥。IGFBP3 还具有独立的促进细胞凋亡的作用^[12]。而胰岛素样生长因子结合蛋白复合酸不稳定亚基(IGFALS)^[13]与游离的 IGFs 结合形成异源三聚体后,可以使得 IGFs 半衰期会显著延长,增强 IGFs 的促进细胞增殖、抑制细胞凋亡效应^[14]。转化生长因子 β 诱导蛋白的 ig-h3(TGFβp)在细胞黏附、迁移、增殖、分化中起十分重要作用^[15]。视黄醇结合蛋白 4(retinol-binding protein-4, RBP4)^[16]是一个近年来被发现的新脂肪细胞因子,参与人体胰岛素抵抗的病理过程,与脂质代谢有关。在生殖领域,动物实验显示 RBP4 能够抑制猪卵母细胞第一极体排出,加用 RBP4 干预处理的猪卵母细胞,其 GDF-9 及 BMP-15 的表达量均显著降低^[17],这提示该蛋白可能也参与了细胞凋亡过程。卷曲螺旋结构域蛋白(coiled-coil domain protein, CCDC)是细胞分裂周期的重要调节蛋白,CCDC 下调可以导致 cyclin A 表达减少,这意味着细胞周期的停滞。进一步的流式细胞仪观察可见下调 CCDC 表达后 G1 期细胞比例增高,S 期及 G2/M 期细胞比例减少^[18]。试验组与对照组间卵泡液的变化,结果发现补肾益阴中药能够在一定程度上抑制卵泡内细胞的凋亡,促进向细胞增殖与分化修复调节的方向倾斜。

IVF-ET 周期妊娠率主要受到移植的胚胎质量和子宫内膜对胚胎的容受性决定^[19],尤其以前者的影响作用更大。张军^[20]、朱依敏^[21]等研究认为移植优质胚胎是 IVF-ET 周期妊娠成功的最重要因素。本课题

表 4 两组取卵后第 3 日获卵数、2PN 数、卵裂数(率)、胚胎数、正常受精率及优胚率比较

组别	例数	获卵数	2PN 数	卵裂数	I 级胚胎数	I + II 级胚胎数	正常受精率	卵裂率	优胚率
		(个, $\bar{x} \pm s$)					(%)		
试验	46	10.96 ± 6.53	6.87 ± 4.87	8.39 ± 5.74	2.11 ± 2.05 *	4.13 ± 2.83	62.7(316/504)	76.6(386/504)	51.1(97/190) *
对照	47	10.36 ± 6.33	6.91 ± 4.66	8.11 ± 5.11	0.64 ± 1.03	3.28 ± 2.59	64.1(152/237)	75.5(179/237)	17.1(12/70)
t		0.45	-0.05	0.25	4.36	1.52	0.14	0.10	24.16
P		0.66	0.96	0.80	0.00	0.13	0.74	0.78	0.00 *

注:与对照组比较, *P<0.01

表 5 两组卵泡液差异表达蛋白的鉴定结果分析

蛋白鉴定	蛋白名称	缩写	对照/试验	上调/下调
P02753	重组人视黄醇结合蛋白 4(Retinol-binding protein 4)	RBP4	1.86	↑
P08637	Fcγ 受体 IIIa(Low affinity immunoglobulin gamma Fc region receptor III-A)	FCGR3A	1.69	↑
P24592	胰岛素样生长因子结合蛋白 6(Insulin-like growth factor-binding protein 6)	IGFBP6	1.17	↑
P17936	胰岛素样生长因子结合蛋白 3(Insulin-like growth factor-binding protein 3)	IGFBP3	1.13	↑
P01033	基质金属蛋白酶抑制剂 1(Metalloproteinase inhibitor 1)	TIMP1	0.87	↓
Q15582	转化生长因子诱导蛋白(Transforming growth factor-beta-induced protein ig-h3)	TGFB1	0.82	↓
P19438-5	肿瘤坏死因子受体超家族成员 1A(Isoform 5 of Tumor necrosis factor receptor superfamily member 1A)	TNFRSF1A	0.71	↓
P35858	胰岛素样生长因子酸不稳定亚基(Insulin-like growth factor-binding protein complex acid labile subunit)	IGFALS	0.70	↓
Q12789-3	通用转录因子 3C 多肽 1(Isoform 2 of General transcription factor 3C polypeptide 1)	GTF3C1	0.63	↓
Q8NEF3	卷曲螺旋结构域蛋白 112(Coiled-coil domain-containing protein 112)	CCDC112	0.60	↓
Q07864	DNA 聚合酶 epsilon 催化亚单位(DNA polymerase epsilon catalytic subunit A)	POLE	0.56	↓

研究发现,试验组周期获得的优质胚胎数目和优质胚胎率较对照组高,单从数目上看并不大,但对于一个患者的临床结局来言,这个微小的变化,能带来更好地临床妊娠机会,这样的结果对其家庭而言,其重要意义是巨大的。

中医学认为,肾主导人体的生长、发育与生殖。肾气由盛转衰是贯穿于妇女由青年至老年的基本规律。现代辅助生殖技术实施过程中,通过促性腺激素诱发卵巢多个卵泡同时发育。因此,人体在短时间内大批卵泡同时发育并成熟,必然需要肾大量的分泌天癸与肾精,促发肾气一时性的旺盛。这可能是两组治疗后证候积分较治疗前均出现降低,但组间对比无明显差异的原因。这表象的背后必然是人体肾气、肾阴(肾精)的耗损,在高龄人群则会加重她们肾虚的本质。经曰:阳化气,阴成形。阴成形是指阴气主静,阴气在“静化”的运动中,将无形之质形成有形之质的过程。卵泡的自身发育、成熟和排卵,伴随着卵泡体积的增大、卵泡液的增加,颗粒细胞的增殖,这些都属于“成形”的过程,是肾阴的功能方面,卵泡发育成形的过程离不开细胞增殖,故在整个卵泡发育的过程中,肾阴“成形”的功能始终处于主导地位。肝肾子母相及,接受辅助生殖技术的女性往往伴有紧张的情绪,此为肝气失于疏泄,肝肾的失调,更加重了肾气肾阴的不足。

连方教授依据补肾益阴之旨自拟经验方二至天癸方。方中君药之一菟丝子味辛、甘,性平。辛性润燥,甘以补虚,为平补阴阳之妙品。第二味君药女贞子味甘苦性平,入肝,肾经,能滋养肝肾。前人曾称女贞子为补阴之最。此药亦如菟丝子,自古以来即是助孕良药,《本草述》称其“固入血海益血,而和气以上荣……不独髭须为然也,即广嗣方中,多用之矣。”臣药熟地,其性微温,甘而不苦,为滋阴补肾主药。臣药之二枸杞子味甘性平质润,归肾肝经,能滋肝肾之阴,为平补肾精肝血之品。尤善治早衰之疾,用在此方中治疗高龄女性的生殖功能衰退尤为合适。臣药之三早莲草,又叫墨旱莲,味甘酸,性寒,入肝肾经,善养益肝肾之阴,与熟地相合直入肾经以滋阴血。妇人之生,不足于血。方中以四物汤补益阴血。另一味佐药香附味辛微苦,性平,归肝脾三焦。功能疏肝解郁,理气调中,利三焦,解六郁。《本草纲目》谓香附:“得参术则补气,得归地则补血,乃气病之总司,女科之主帅也。”甘草调和诸药,以为使药。十味之方联合构成补肾益阴,养血调冲的功效,在卵泡发育,尤其是多个卵泡发育时,需要人体提供的充沛的肾阴、癸水,肾阴癸水不能无端自生,二至天癸方通过有针对性的补肾益阴,调动人体肾脏

功能,增加肾阴癸水的储备,提供给多卵泡发育所需要的物质基础。使卵巢这个“生殖之肾”藏之足,乃能泄,促进多卵泡的成熟、排卵。排卵功能正常,才能大大提高受孕几率,即所谓“经调子嗣”。

本研究提示二至天癸方干预可使颗粒细胞卵泡液中部分与凋亡相关的蛋白质差异表达,后期试验可进一步对差异蛋白进行定量分析,以期明确补肾益阴中药在卵巢颗粒细胞凋亡中的具体作用机制及其在辅助生殖技术中可发挥的作用。

利益冲突:无。

参 考 文 献

- [1] 连方,王岩,孙振高,等.基于蛋白质组学对肾气虚证患者卵泡液的研究及中药的干预作用[J].中华中医药杂志,2014,29(7):2161-2164.
- [2] Lian F, Wu HC, Sun ZG, et al. Effects of Liuwei Dihuang Granule on the outcomes of *in vitro* fertilization pre-embryo transfer in infertility women with Kidney-yin deficiency syndrome and the proteome expressions in the follicular fluid[J]. Chin J Integr Med, 2014, 20(7): 503-509.
- [3] 中华中医药学会.中医妇科常见病诊疗指南[M].北京:中国中医药出版社,2012:83.
- [4] 沈自尹,王文健.中医虚证辨证参考标准[J].中国中西医结合杂志,1986(10):598-598.
- [5] Jackson S, Hong C, Wang ET, et al. Pregnancy outcomes in very advanced maternal age pregnancies: the impact of assisted reproductive technology[J]. Fertil Steril, 2015, 103(1): 76-80.
- [6] 靳松,杨业洲.高龄妇女生育力及其评价[J].中国计划生育和妇产科,2016,8(11):1-3.
- [7] 中华医学会.临床诊疗指南:辅助生殖技术与精子库分册[M].北京:人民卫生出版社,2009:158-159.
- [8] 张抗,李文元,冯硕,等.临床试验中脱落、退出和失访病例的统计学处理和报告规范[J].中医杂志,2016,57(14):1204-1207.
- [9] Jessberger R. Age-related aneuploidy through cohesion exhaustion[J]. EMBO Rep, 2012, 13(6): 539-546.
- [10] 闫训友,薛冲,刘志敏,等.基质金属蛋白酶及其组织抑制剂研究进展[J].生物技术通讯,2004,15(3):302-305.
- [11] 周立娜,刘倩琦,寇敏,等.基质金属蛋白酶组织抑制剂1对细胞因子诱导的胰岛β细胞凋亡的保护作用[J].中华实用儿科临床杂志,2008,23(20):1579-1581.
- [12] 吕芳,张保合,陈智英.IVF-ET患者IGFBP-3和IGF-1水平与卵泡发育、卵巢内分泌、胚胎质量及妊娠之间的关系[J].广东医学,2016,37(12):1836-1839.
- [13] 李贵林,牛丽莉,刘海峰,等.哺乳动物胰岛素样生长

- 因子酸不稳定亚基的结构与功能[J]. 遗传, 2015, 37(12): 1185-1193.
- [14] Zapf J. Insulin like growth factor binding proteins and tumor hypoglycemia[J]. Trends Endocrinol Metab, 1995, 6(2): 37-42.
- [15] 王玉亮, 李光. 转化生长因子 β 诱导蛋白研究进展[J]. 天津医药, 2012, 40(1): 89-91.
- [16] 苏玉霞, 洪洁. 视黄醇结合蛋白 4: 一种新的脂肪细胞因子[J]. 国际内科学杂志, 2009, 36(5): 276-277.
- [17] 刘乙, 马力鹏, 李涛, 等. ESR、OPN 和 RBP4 基因多态性对大白猪繁殖性状的影响[J]. 中国畜牧兽医, 2017, 44(1): 123-130.
- [18] 李萍, 方霞, 曹雨娜, 等. 卷曲螺旋结构域蛋白 74B 对纤毛生成和细胞周期调控作用研究[J]. 中国全科医学, 2016, 19(3): 292-295.
- [19] Hsu MI, Mayer J, Aronshon M, et al. Embryo implantation in *in vitro* fertilization and intracytoplasmic sperm injection: impact of cleavage status, morphology grade, and number of embryos transferred[J]. Fertil Steril, 1999, 72(4): 679-685.
- [20] 张军, 王树玉, 贾婵维, 等. 移植优质胚胎数量对临床妊娠率和多胎率的影响[J]. 生殖医学杂志, 2008, 17(3): 183-186.
- [21] 朱依敏, 叶英辉, 黄荷凤. 移植优质胚胎及减少移植胚胎数量对体外受精-胚胎移植结局的影响[J]. 中华妇产科杂志, 2004, 39(8): 559-560.
- (收稿: 2017-06-15 在线: 2018-10-25)
- 责任编辑: 段碧芳
英文责编: 张晶晶

南北交融 传承创新

第二届心血管病·南北交融——陈可冀院士学术思想传承大会纪要

2018 年 10 月 20 日, 第二届心血管病·南北交融——陈可冀院士学术思想传承大会在广东省中医院隆重召开, 大会由中国医师协会中西医结合医师分会、中国中医科学院广东分院、中国中医科学院西苑医院、广东省中西医结合学会、广东省中医院陈可冀院士学术经验传承工作室联合主办。广东省中医院胸痛中心医疗总监、陈可冀院士学术经验传承工作室负责人张敏州担任大会主席, 国医大师、中国科学院资深院士陈可冀、广东省中医药局副局长李梓康、广东省中医院名誉院长吕玉波和中国中医科学院西苑医院副院长徐凤芹在大会开幕式上致辞, 来自全国各地的中西医结合专家, 陈可冀院士在全国各地的弟子、学生代表出席了本次大会。

陈可冀院士为我国第一代中西医结合医学家和我国中西医结合事业的主要开拓者、奠基人, 是我国血瘀证及活血化瘀研究现代学派的创始人。陈可冀院士致辞表示, 我们的任务就是“开风气”, 正如蔡自珍诗句“但开风气不为师”。习近平总书记十九大报告中指出, 要坚持中西医并重、传承发展中医药事业, 建设健康中国。中西医结合同仁要共同为中医药事业而努力, 对中医药事业, 我们应该要学习好, 继承好, 利用好。

李梓康副局长说, 广东省卫生与健康大会对建设“健康广东”做出了一系列战略部署, 提出了“立足岭南传统, 推进中医药事业振兴发展”的新要求, 广东省中医界的同道们在传承国医大师学术思想的基础上, 不断开拓创新, 充分发挥中医药自身具有的特色优势, 共同推进中医药事业的发展, 为民众健康事业做出新的更大的贡献。

吕玉波名誉院长讲到, 陈可冀院士是我国中西医结合学科的领军人, 为中西医结合事业做出了杰出贡献。近二十年, 广东省中医院快速发展, 这得益于祖国改革开放的政策, 对中医药事业的重视, 这离不开陈可冀院士等全国著名的中西医结合专家的指导和帮助。陈可冀院士出生成长于福建, 辉煌在北京, 也必将在广东再创辉煌, 实现南北交融。

陈可冀院士学生代表徐凤芹副院长说, 陈可冀老师是我国著名的中西医结合领军人物, 研究血瘀证与活血化瘀 60 余年, 基础研究与临床应用方面都取得了重大进展。广东省中医院成立“陈可冀院士学术思想传承工作室”, 是中西医结合新时代的必然产物, 是中医药防治心血管疾病走向国际的重要事件, 是医学界一大幸事, 这必将为繁荣发展中的中医药事业锦上添花。

张敏州教授汇报了“心肌梗死”救心、治心、养心“三位一体新模式”, 广东省中医院作为全国最早冠心病介入诊疗技术、最先开展胸痛中心建设的中医医院, 始终致力把急性心肌梗死的现代介入技术与中医药相结合, 坚持中西医结合的方向, 发挥中医药优势, 大力推进全国中西医结合防治心肌梗死的标准化建设。为进一步规范急性心肌梗死的临床救治方案, 张敏州教授创新救治模式, 率先提出“救心”“治心”“养心”三位一体的急性心肌梗死救治模式。

会议期间举办了动脉粥样硬化防治、心肌梗死中医药和血瘀证基础研究专场的高层论坛, 以及全国中医院胸痛中心论坛和高血压中医药防治论坛。高层论坛中, 吴宗贵教授、史大卓教授、雷燕教授分别作了“瘀痰同治与动脉硬化相关心脑血管疾病”、“陈可冀院士治疗 AMI 的经验探微”和“益气活血药延缓血管衰老的机制研究”等报告, 张文高教授等专家就三个专场展开热烈的讨论。

全国中医院胸痛中心论坛中, 郭力恒教授、凌凌军教授、关怀敏教授和樊民教授分别报告了“广东省中医院胸痛中心建设经验”、“静脉溶栓在胸痛中心建设中的实践经验”、“急性高危胸痛的识别与处理”、“不同来院方式 STEMI 患者处理策略”。

高血压中医药防治论坛中, 冯颖青教授、安冬青教授、陶军教授及戴小华分别作了“最新高血压指南解读”、“借鉴美国指南: 中医药早期干预高血压”、“微循环: 高血压治疗新靶点”、“探索中医药防治高血压新策略”等报告。

此次陈可冀院士学术思想传承大会是站在中西医结合治疗心血管疾病的高度, 对陈可冀院士学术思想进行挖掘、整理、总结及传承, 围绕陈可冀院士“血瘀证”核心理论, 以南北交融为传承平台, 开展心血管疾病学术交流。

(曾锐祥 张敏州整理)