

· 综 述 ·

中医药在辅助生殖技术中应用的实验研究

王春玲¹ 段 恒²

20 世纪 70 年代试管婴儿的问世开创了辅助生殖技术 (assisted reproductive technology, ART) 的新纪元。然而, 这项给诸多不孕不育夫妇带来福音的技术并不是完美的, 它还存在不少弊端, 如容易造成卵巢过度刺激综合征、多胎妊娠, 增加宫外孕、流产等妊娠不良结局的风险, 费用高昂而成功率非常有限^[1] 等。中医药的介入, 将弥补上述不足, 为试管婴儿领域开拓新的思路和途径。大量实验研究发现, 中医药介入 ART, 具有促进卵泡发育及排卵、提高卵细胞及精子质量、提高卵子受精率、改善血供、增加孕卵着床机会以及促进早期胚胎发育等作用。笔者就中医药在 ART 中应用的实验研究综述如下。

1 中医药在超促排卵中的实验研究

在体外受精-胚胎移植 (*in vitro fertilization and embryo transfer*, IVF-ET) 过程中, 需要获得多个卵细胞, 但临床中常会遇到部分患者卵巢反应不良, 或即使获得了较多数量的卵细胞, 但其质量及随后受精和胚胎发育的效果仍然不理想。中药可调节机体的内分泌环境, 改善机体的内分泌功能, 从而改善卵巢功能, 达到成功超促排卵, 获得理想的卵细胞。有研究表明, 巴戟天、菟丝子、肉苁蓉等补肾中药能够改善卵巢功能, 促进卵泡发育和排卵; 改善子宫血流量和子宫内膜状况, 有利于胚泡着床发育^[2,3]。Huang BM 等^[4] 实验研究发现, 冬虫夏草能诱导人黄体细胞雌二醇 (E_2) 生成增加, 并呈剂量和时间依赖性, 增加类固醇激素合成急性调节蛋白 (steroidogenic acute regulatory protein, StAR) 和芳香化酶的表达, 从而改善卵细胞质量, 有助于提高体外受精 (*in vitro fertilization*, IVF) 的成功率。连方等^[5,6] 实验研究发现, 二至天葵方 (由女贞子、旱莲草、枸杞子、菟丝子、当归、白芍、川芎、熟地黄、制香附、炙甘草等组成) 可与人绝经期促性腺激素 (human menopausal gonadotropin, HMG) 发挥协同作用,

显著提高小鼠卵细胞形态学评分及受精率、卵裂率 (均 $P < 0.05$), 改善卵细胞质量, 其机理可能与提高颗粒细胞胰岛素样生长因子-1 受体 (insulin-like growth factor-1 receptor, IGF-1R) mRNA 表达量有关。葛明晓等^[7] 对输卵管因素和男性因素不孕患者于 IVF-ET 周期加用益气血补肝肾中药 (由熟地、山药、枸杞子、山萸肉、菟丝子、鹿角胶、龟版、党参、白术、扁豆、薏苡仁、茯苓等组成), 采用随机分组对照法观察卵泡液转化生长因子- β_1 (transforming growth factor β_1 , TGF- β_1) 和性激素水平。结果表明益气血补肝肾中药能显著提高卵泡液 TGF- β_1 [pg/L , 3.25 ± 1.11 vs 2.21 ± 1.08 , $P < 0.05$] 和黄体生成素 (luteinizing hormone, LH) 水平 [IU/L , 0.89 ± 0.45 vs 0.57 ± 0.42 , $P < 0.05$]。提示益气血补肝肾中药通过提高卵泡液 TGF- β_1 水平改善胚胎质量和发育潜能, 从而提高胚胎种植率; 同时提高取卵日卵泡液 LH 水平, 促进卵母细胞胞质成熟和避免促性腺激素释放激素激动剂 (gonadotropin releasing hormone agonist, GnRHa) 对垂体过度抑制, 从而避免对胚胎质量产生不良影响。

2 中医药对体外受精及胚胎发育的影响

体外受精和胚胎培养的培养液对受精和胚胎发育具有重要作用。在培养液中加入有效的中药成分, 可对受精和胚胎发育产生正面影响。曾金雄等^[8] 将灌服中药还精方 (由黄芪、山茱萸、女贞子等组成) 的大鼠血清加入培养液中培养人精子, 发现含药血清可显著提高卵子受精率、受精指数 (均 $P < 0.01$), 表明补肾中药具有提高人精子受精能力的作用。陈怡等^[9] 分别将灌服寿胎丸 (由桑寄生、川断、杜仲、菟丝子组成) 及其 4 个单味药的大鼠血清分别加入培养液中, 发现在 8 细胞后的发育率寿胎丸复方血清组高于 4 个单味药组, 而 4 个单味药组明显高于空白血清组 ($P < 0.01$, $P < 0.05$), 提示复方药疗效优于单味药; 各组在 2 细胞至 4 细胞的发育比较, 差异无统计学意义。

3 中医药对子宫内膜容受性的影响

胚泡着床障碍是以 IVF-ET 为代表的 ART 妊娠成功率不高的一个重要原因。因此, 改善子宫内膜容受性、提高胚泡着床率, 在治疗中十分重要。张树成

作者单位: 1. 第三军医大学新桥医院健康体检中心 (重庆 400037); 2. 重庆医科大学中医药学院 (重庆 400016)

通讯作者: 段 恒, Tel: 13452905193, E-mail: duanduan2006@126.com

DOI: 10.7661/CJIM.2013.08.1140

等^[10]对服用补肾生血方(由山茱萸、熟地黄、龟甲胶、阿胶、当归等组成)、补肾调经方(由当归、熟地黄、菟丝子、枸杞子、五灵脂等组成)及女贞孕育汤(由菟丝子、女贞子、枸杞子、当归、丹参等组成)]3种补肾助孕方药的临床排卵障碍性不孕者,分别于用药前后的排卵前2天及排卵后7、10天进行子宫内膜组织活检取材,采用自身对照方法观察内膜组织形态学表现,血管表皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、转化生长因子(transforming growth factor, TGF)、白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor, LIF)、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)/成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)共4种血管生成因子,以及血管表皮生长因子受体(VEGFR)、表皮生长因子受体(endothelial growth factor receptor, EGFR)、转化生长因子受体(TGFR)、内皮糖蛋白CD105、血小板源性生长因子受体 α (platelet-derived growth factor receptor α , PDGFR- α)共5种血管生成因子受体的变化。结果表明,补肾助孕中药对子宫内膜组织的血管生成活性和作用均具有强烈的正向促进作用,组织中具有旺盛的血管生成表现;除TGF和TGFR外,其他7种因子的表达强度均明显增强。提示补肾助孕中药具有明确的促血管生成作用,从而可以改善子宫内膜容受性,提高胚泡着床率。黄冬梅等^[11]通过扫描电镜观察发现,补肾益气活血方(由桑寄生、丹参、黄芪、当归、川芎等组成)可以促进米非司酮所致胚泡着床障碍小鼠子宫内膜表面胞饮突的表达,显著提高妊娠率(55% vs 25%, $P < 0.05$)及平均着床胚泡数(12.3 vs 7.7, $P < 0.01$)。表明补肾益气活血方促进子宫内膜容受性和改善胚泡着床,可能与促进子宫内膜表面胞饮突的表达有关。吴云霞等^[12-14]通过实验研究发现,补肾益气活血汤(由桑寄生、黄芪、当归、丹参等组成)能明显提高吲哚美辛致着床障碍小鼠的着床率(50% vs 20%),增加子宫重量(均 $P < 0.05$);改善子宫内膜组织形态学,使内膜成熟蜕膜化细胞和血管数量增多,炎性细胞减少;轻度促进雌激素受体 α (estrogen receptor α , Er α)的表达。提示补肾益气活血方可能是通过雌激素样活性加强E₂及其受体作用而有利于发动蜕膜化从而促进着床。王素霞等^[15]实验研究发现,安胎合剂(由菟丝子、苎麻根、续断、黄芩等药物组成)可以改善GnRHa长周期辅助超排卵小鼠子宫内膜组织形态,使子宫内膜间质疏松,血管丰富,腺体数目增多,腺腔增大,有利于胚泡种植;使子宫内膜胞饮突数量、发育同

步性均优于模型组。张明敏等^[16-21]实验研究发现,补肾安胎方(由菟丝子、桑寄生、川续断、黄芪、当归、丹参等组成)可以显著提高吲哚美辛所致胚泡着床障碍小鼠妊娠率和着床点数(分别为72.7% vs 27.3%、10.7 vs 5.3, $P < 0.05$),具有改善胚胎着床障碍的作用,其机制可能与该方能改善甾体激素水平,促进子宫内膜雌、孕激素受体和VEGF及其受体的表达,促进着床位点的类肝素结合样表皮生长因子(heparin-binding EGF-like growth factor, HB-EGF)及其受体EGFR、前列环素I₂(prostacyclin I₂, PGI₂)及其核受体过氧化物酶体增殖激活因子受体 δ (PPAR δ)的表达,调节着床位点的环氧化酶(cyclooxygenase-2, COX-2)的表达,促进子宫LIF及其受体的同步表达有关。曹蕾等^[22]实验研究发现,补肾健脾中药复方(由菟丝子、桑寄生、党参、白术等组成)可以明显提高羟基脲致肾虚模型大鼠动情期血清孕酮(progesterone, P)含量和内膜LIF表达(均 $P < 0.05$),改善肾虚模型大鼠子宫内膜腺上皮细胞功能,调节子宫内膜自然杀伤(NK)细胞亚群含量,从而改善其子宫内膜容受性。刘丽等^[23]实验研究发现,保胎液(由续断、桑寄生、菟丝子、阿胶、杜仲、白芍组成)能显著提高米非司酮致胚泡着床障碍模型小鼠血清雌孕激素水平($P < 0.05$),从而改善着床障碍小鼠子宫内膜容受性,促进胚泡着床。杨桢等^[24]采用曲普瑞林注射制备小鼠模型,预防性给予当归散(由当归、芍药、川芎、白术、黄芩组成)及其拆方,于排卵后24、48h测定子宫内膜中孕酮受体(progesterone receptor, PR)、整合素 β_3 水平。实验结果发现,48h时当归散组和归-芩组的PR表达明显上调,达到正常组水平;当归散组和当归黄芩组整合素 β_3 在2个时间点表达比较,差异无统计学意义,与正常组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。说明当归散和当归-黄芩能抑制曲普瑞林引起的PR过早下调,抑制整合素 β_3 的提前表达,从而改善子宫内膜容受性。

4 针刺在ART中的实验研究

电针可以影响中枢神经肽,特别是 β -内啡肽(β -endorphin, β -EP)水平^[25],从而对下丘脑促性腺激素释放激素(gonadotropin releasing hormone, GnRH)的分泌产生调节作用,由此再对整个下丘脑-垂体-卵巢产生影响。电针可以影响病理状态下卵巢神经生长因子(nerve growth factor, NGF)的表达^[26],以及卵巢、肾上腺受体 α_1 、 β_2 和神经营养因子p75受体的表达^[27],通过调节卵巢交感神经活动来调节其神经内分泌状态,增加卵巢血流量^[28]。刘新玉

等^[29]采用针刺疗法,取穴足三里、三阴交及太冲,干预米非司酮致胚泡着床障碍大鼠。结果显示,与模型组比较,针刺疗法可显著提高胚泡着床障碍大鼠妊娠率(75% vs 45%, $P < 0.05$),增加平均着床胚泡数(7.3 vs 3.5, $P < 0.01$)以及子宫、卵巢、单个胚泡重量($P < 0.01$, $P < 0.05$),改善子宫内膜状况。

5 评价与展望

目前在 ART 中与中医药联系较紧密的环节主要是超促排卵和胚胎移植。中医药合理应用于 ART,可以充分发挥整体协调机体生殖环境的作用,与西医学 ART 微观治疗相辅相成。通过上述实验研究结果推测,中医药应用于 ART 增加妊娠成功率,可能与促进卵泡发育及排卵、改善精子和卵细胞质量、促进受精和胚胎发育、改善子宫内膜的容受性等有关。

目前中医药在 ART 中的实验研究仍然存在不足之处,如实验对象较为局限,实验研究设计欠规范,研究不够深入,对作用的微观机制研究甚少,主要从对卵细胞质量、体外受精、胚胎发育及子宫内膜容受性的影响着手,以动物实验居多,间接探讨中医药在体内对卵泡发育和卵子质量,以及胚胎发育与种植的作用机制。直接探讨中医药在 ART 中作用机制的体外研究报道较少。今后应从深入实验研究,规范实验随机对照设计,以及加强机理探讨等方面着手,将中医药介入 ART 方面的研究深入到分子、基因水平,揭示其微观机制,促进中医药在 ART 中的研究和应用。

总之,中医药在 ART 中的实验研究已经取得了一定的成绩。尽管研究还很有限,只要在研究中找准切入点,将中医学理论和现代科学技术有机结合起来,进行系统而深入的研究,有助于为临床安全应用中医药介入 ART 提供依据,其前景值得期待。

参 考 文 献

- [1] 王维华,孙青原主编. 生育革命:迎接试管婴儿新时代[M]. 北京:科学出版社, 2007:188.
- [2] 张晓红,杨正望,尤昭玲. 补肾中药对卵巢功能及子宫内膜的影响[J]. 中医药学刊, 2005, 23(11): 2054-2055.
- [3] Huang ST, Chen AP. Traditional Chinese medicine and infertility [J]. Curr Opin Obstet Gynecol, 2008, 20(3): 211-215.
- [4] Huang BM, Hsiao KY, Chuang PC, et al. Up-regulation of steroidogenic enzymes and ovarian 17beta-estradiol in human granulosa-lutein cells by *Cordyceps sinensis* mycelium [J]. Biol Reprod, 2004, 70(5): 1358-1364.
- [5] 连方,孙振高,张建伟,等. 二至天癸方对小鼠卵细胞质量影响的实验研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2004, 24(7): 625-627.
- [6] 连方,孙振高,穆琳,等. 二至天癸颗粒提高卵细胞质量与小鼠卵巢内 IGF-1R mRNA 表达量关系的研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2006, 26(5): 431-434.
- [7] 葛明晓,张金玉,赵彦鹏,等. 益气血补肝肾中药对体外受精-胚胎移植周期中卵泡液转化生长因子 β_1 和性激素水平的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2011, 31(3): 327-330.
- [8] 曾金雄,戴西湖,刘建华,等. 首乌还精胶囊含药血清对人类精子运动能力和受精能力的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2004, 13(1): 21-22.
- [9] 陈怡,孙慧兰. 固肾安胎中药对小鼠早期胚胎体外发育的影响[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(14): 1767-1768.
- [10] 张树成,陈秋梅,夏誉薇,等. 补肾助孕方药促进人子宫内膜血管生成的实验研究[J]. 中医药学刊, 2004, 22(5): 820-822.
- [11] 黄冬梅,黄光英,陆付耳. 补肾益气活血方中药对胚泡着床障碍小鼠子宫内膜表面胞饮突表达的影响[J]. 中华妇产科杂志, 2004, 39(4): 230-233.
- [12] 吴云霞,黄光英. 补肾益气活血汤对小鼠血清雌、孕激素浓度及其受体表达的影响[J]. 现代生物医学进展, 2006, 6(2): 19-21.
- [13] 吴云霞,李靖,刘艳娟,等. 补肾益气活血方对吲哚美辛致着床障碍小鼠着床的影响[J]. 中国医学研究与临床, 2005, 3(2): 1-4.
- [14] 吴云霞,黄光英,龚萍,等. 吲哚美辛致小鼠胚泡着床障碍模型的建立[J]. 中国药理学通报, 2005, 21(3): 373-375.
- [15] 王素霞,孙玉英. 安胎合剂对 GnRHa 超排卵小鼠子宫内膜形态学的影响[J]. 中医药学报, 2006, 34(5): 45-47.
- [16] 张明敏,黄玉琴,曾克勤. 补肾安胎方调节胚泡着床障碍小鼠雌、孕激素的实验研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2006, 26(7): 625-628.
- [17] 张明敏,黄玉琴. 补肾安胎方改善胚泡着床障碍小鼠局部血管形成及其机制[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2006, 35(6): 781-783.
- [18] 张明敏,黄玉琴,程亮亮,等. 补肾安胎方对胚泡着床障碍小鼠子宫内膜 HB-EGF 及其受体 EGFR 表达的影响[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2008, 37(1): 85-88.
- [19] 张明敏,程亮亮,董莉萍. 补肾安胎方对胚泡着床障碍模型小鼠着床局部 PGI_2 及其核受体的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2008, 28(3): 229-233.
- [20] 张明敏,董莉萍,程亮亮. 补肾安胎方对胚泡着床障碍小鼠胚胎着床局部 COX-2 蛋白和 mRNA 表达的影响[J]. 山东中医药大学学报, 2008, 32(1): 58-61.