

性,提高卵细胞成熟度,改善取卵前卵泡血供,进而提高卵细胞质量、获卵数、优质卵率、优质胚胎率,以提高临床妊娠率。

(四)研究肾虚证候与卵巢储备的相关性,为肾虚的微观辨证提供依据。通过分析肾虚型高龄不孕症患者的血清抑制素B(INHB)及抗苗勒氏管激素(AMH)水平的变化,从临床研究和实验研究两方面,探讨补肾方剂二至天癸颗粒提高高龄妇女卵巢反应性的机理,将中医药在不孕症方面的研究深入到分子水平,揭示其微观机制,丰富中医“七七”理论的科学内涵。

六、首次从蛋白质组学角度,利用双向凝胶电泳分离鉴定技术,通过体外受精-胚胎移植技术平台,研究揭示“肾阴虚”、“肾阳虚”、“肾气虚”不孕的蛋白差异点及补肾中药作用的核心机制。

七、从表观遗传学角度,以DNA甲基化为切入点,以体外受精-胚胎移植为技术平台,从卵母细胞、子宫内膜、精子、颗粒细胞相关DNA甲基化角度,阐释了肾虚致不孕的表观遗传学发病机理;首次探讨补肾中药对卵母细胞、子宫内膜、精子、颗粒细胞等相关DNA甲基化的调控,揭示补肾中药防止异常去甲基化,可能是补肾改善生殖功能的核心机制之一。补肾中药可防止异常去甲基化(印迹丢失),从而提高受精卵卵裂及成胚能力,可能是其改善生殖功能的机制之一。

中医注重整体,讲求辨证论治,其在慢性疾病的治疗、机体内分泌的调节、生育的调节方面具有巨大潜力。以二至天癸颗粒为代表的中医药,包括针灸、短波理疗等中医药治疗项目在辅助生殖技术中,得到了很好的应用。以上研究证明了中医药在提高卵细胞质量和子宫内膜容受性方面发挥了巨大的优势,相信其将是打破辅助生育技术怀孕率瓶颈的重要切入点。

## 卵巢储备不足的中医助孕策略

罗颂平

广州中医药大学第一附属医院

今年,国家计划生育政策作出调整,全面放开二胎,从而使许多处于“生育末班车”的高龄育龄妇女又满怀希望走上求子之路。但是,女性在35岁以上生育,常常面临卵巢储备不足(diminished ovarian reserve, DOR)的问题。

女性的育龄期约为35年。从青春期,即月经初潮后开始具备生育能力,而最佳生育期在21-35岁。在35岁之后,卵巢储备开始下降,受生理性因素和各种病理性因素的影响,不孕和自然流产的发生率增加,辅助生育(IUI、IVF-ET)的成功率下降。

表 1 女性在不同年龄阶段不孕的发生率

年龄(岁)	不孕发生率 (%)
20-24	6
25-29	9
30-34	15
35-39	30
40-44	64

### 一、卵巢储备不足(DOR)的诊断与鉴别

正常女性生殖系统的受孕能力称为生育潜能。卵巢储备降低是指卵巢中的存留卵母细胞的数量和质量降到阈值以致影响了生育潜能,导致生育力低下。DOR 在人群中的发生率约为 10%。卵巢储备功能减退受多种因素影响,如年龄、卵巢手术、盆腔放疗或化疗、吸烟、感染、卵巢血供下降以及基因、免疫系统异常等。

目前在临床上应用的评估卵巢储备的主要指标有年龄、基础卵泡刺激素(FSH)、FSH/LH(黄体生成素)、基础抑制素 B(INHB)、基础抗苗勒管激素(AMH)、基础雌二醇(E<sub>2</sub>)、氯米芬激发试验(CCCT)、FSH 卵巢储备试验(EFORT)、促性腺激素释放激素激动剂(GnRH-a)激发试验(GAST)、基础窦卵泡数、卵巢体积和卵巢间质动脉血流等。

卵巢储备不足可以没有临床症状。通常是在不孕症的诊治过程中发现,尤其是采取辅助生育的过程中,出现取卵数目少、卵子质量欠佳、胚胎数目少等情况。正确评估卵巢储备功能有利于确立个体化的 COH 方案。

#### (一) 卵巢储备功能评估

(详见表 2)

#### (二) DOR 的诊断

目前比较认同的诊断标准是:①基础 FSH↑(月经期 2-5 天, >10iu/L,但未达到 25 iu/L);②AMH↓(<1ng/ml);③E<sub>2</sub>↓;④窦卵泡数(AFC)减少;⑤CC 激发试验或 GnRH-a 激发试验提示卵巢低反应。通常有月经稀发、量少等临床表现,也可以是正常月经周期。

但 DOR 还不是卵巢早衰。虽然在辅助生育表现为卵巢低反应,通过药物治疗以及调整促排卵方案,仍有机会获得卵子。

如果是 40 岁以下的妇女停经 4 个月以上,需要人工周期才有月经来潮,而且连续两次血清 FSH >25iu/L(根据 2015 欧洲 ESHRE 指南),AMH <1ng/ml,应考虑为特发性卵巢功能不全(Primary ovarian insufficiency, POI),即卵巢早衰。其生育的可能性较低,仅约 5%-10%有可能发生排卵。IVF 获卵的机会亦非常低。

表 2 卵巢储备功能评估方法

评估项目	临床特点
年龄	预测卵巢储备和卵巢反应性。应结合其他预测指标综合评估。
基础 E2	单用意义不大，结合 FSH 值有一定意义。
基础 FSH	早卵泡期 FSH>10 提示卵巢功能下降，与 E2 结合提供更多的临床参考。
基础 INHB	预测卵巢储备功能的敏感性指标，比基础 FSH 值和 E2 水平更能灵敏地反应卵巢的储备力。
基础 AMH	AMH 是卵巢储备标志物。在月经周期中保持较恒定的水平，既能在卵泡期又能在黄体期测定。与基础 FSH、INHB 和 E2 相比，可更早期、更准确地预测妇女卵巢储备的变化。
基础 AFC	作为单个预测卵巢储备和卵巢反应性的指标，比较敏感而且特异性高。与年龄并列是卵巢储备和卵巢反应性预测的首选指标。
CCCT	比 FSH 敏感性高，可应用于 ART 或单纯促排卵助孕的不孕患者。
GAST	既可以评价垂体 Gn 的产量，又可了解卵巢的反应能力。用于接受 ART 的不孕患者。

## 二、中医生殖理论

中医经典文献《黄帝内经》对女性生长、发育、生殖、衰老的论述是中医生殖理论的渊源。《素问·上古天真论》指出：“女子七岁，肾气盛，齿更发长；二七而天癸至，任脉通，太冲脉盛，月事以时下，故有子；三七肾气平均，故真牙生而长极；四七筋骨坚，发长极，身体盛壮；五七阳明脉衰，面始焦，发始堕；六七三阳脉衰于上，面皆焦，发始白；七七任脉虚，太冲脉衰少，天癸竭，地道不通，故形坏而无子也。”岭南中医名家罗元恺教授提出“肾-天癸-冲任-子宫轴为女性生殖调节核心”的观点。认为肾为月经与孕育的主导，天癸是促进生长、发育和生殖的动力，冲任二脉属于奇经，均起自胞中，冲为血海，任主胞胎，天癸至，则冲任下注气血到子宫，子宫为奇恒之府，定期藏泻，受肾之封藏和肝之疏泄的调节。

根据中医理论，肾气充盛，天癸按期而至，冲任通盛，胞宫定期藏泻，则可正常孕育。而女性的最佳生育年龄是 21-35 岁。五七之后，阳明脉衰乃至三阳脉衰，则生育力下降。既是生理上的自然衰退，也会因阴阳气血的失衡而出现病证。因此，在生育问题上，首先要顺应自然规律。南齐《褚氏遗书·问子》曰：“合男女必当其年，男虽十六而精通，必三十而娶，女虽十四而天癸至，必二十而嫁，皆欲阴阳完实而交合，则交而孕，孕而育，育而为子，坚壮强寿。”在生殖功能发生衰退之前注重养生保健，避免早衰之变。《素问·上古天真论》指出：“志闲而少欲，心安而不惧，形劳而不倦，气从以顺，各得其欲，皆得所愿。故美其食，任其服，乐其俗，高下不相慕。……嗜欲不能劳其目，淫邪不能惑其心，……不惧于物，故合乎道。”其次，要避免人为的损伤，延缓脏腑气血的衰减。对于已经发生 DOR 甚至 POI 的患者，更应该积极治疗，配合药膳、膏方等进行整体调理，平衡阴阳，调养气血，创造条件实现乐孕优生。

### 三、DOR 的中医助孕思路与方法

高龄不孕或 DOR 的中医病机主要是脾肾虚弱，冲任不盛。常见证候为脾肾气虚、肝肾阴虚、肝郁肾虚和肾虚血瘀等。治疗原则是调补肾脾，疏肝养血，平衡阴阳。治法包括中药汤剂、中成药、膏方、药膳、针灸等。

1.脾肾气虚：多表现为月经失调，色淡，质稀，神疲乏力，口淡纳差，腰膝酸软，性欲淡漠，舌淡黯或淡胖有齿印，脉沉细。治宜补肾健脾，养血调经。用归肾丸（熟地、山茱萸、山药、菟丝子、炒杜仲、当归、枸杞、茯苓）加减。子宫内膜菲薄者，重用黄精以养血填精；经量偏多或经期延长者，加党参、阿胶；胃脘胀满者，加陈皮、佛手；手足不温，小腹冷者，加仙灵脾、香附；大便溏薄者，加炒白术、苍术。中成药用滋肾育胎丸。

膏方：鹿胎膏、调经养血膏。

药膳：肾虚者，雪蛤 5-10 克，菟丝子 30 克，芡实 30 克，炖服。脾虚者，鲜山药 90 克，枸杞 15 克，陈皮 5 克，煮汤。气血不足者，人参 10 克，阿胶 10 克，陈皮 5 克，炖服。

2.肝肾阴虚：月经量少，色鲜红，烦躁失眠，口干不欲饮，潮热汗出，腰膝酸软，舌红少苔，脉细数。治宜滋养肝肾，养血调经。用左归丸合二至丸（熟地、山茱萸、山药、菟丝子、枸杞、牛膝、鹿角胶、龟甲胶、女贞子、旱莲草）。膏方用养血育麟膏。药膳用雪蛤、菟丝子、石斛、陈皮炖服，或鱼胶、干贝、鲍鱼炖汤。中成药用坤泰胶囊。

3.肝郁肾虚：月经先后不定期，经行不畅，量少，情志抑郁，胸胁胀痛，睡眠不宁，腰膝酸软，脉弦。治宜疏肝补肾，养血调经。卵泡期用定经汤加减（柴胡、当归、白芍、菟丝子、熟地、山药、茯苓、石菖蒲、远志、素馨花）。中成药用定坤丹。排卵后用寿胎丸加味（菟丝子、桑寄生、续断、阿胶、女贞子、素馨花、白芍、甘草）。中成药用滋肾育胎丸。

4.肾虚血瘀：素有癥瘕，如子宫肌瘤、子宫腺肌症、子宫内膜异位症等，月经色黯，有血块，或有痛经，足跟痛，脱发，或腰膝酸软，舌黯，脉细弦。治宜补肾活血。月经期用桂枝茯苓丸加味（桂枝、茯苓、桃仁、丹皮、赤芍、橘核、荔枝核、鳖甲）。中成药用散结镇痛胶囊。经后用定坤丹。排卵后用寿胎丸加减（菟丝子、桑寄生、续断、黄精、丹参、鸡血藤、橘核、荔枝核）。

各种证型在治疗过程中应监测卵泡与内膜情况。确定有成熟卵泡排卵后，应注意助孕，孕后应进行动态观察，每周检测血 HCG，停经 6-7 周行 B 超检查以了解胚胎情况，确定宫内妊娠者，宜安胎治疗至妊娠 12 周。

关于中医药治疗 DOR 的药效学研究尚未有报道。而在中医药防治 POF 方面，已经有动物模型和中药药效学的研究。如以小鼠 ZP3 为抗原建立免疫性 POF 模型，模型小鼠脾淋巴细胞 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>明显减少、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值增高，并产生 AOAb、AZpAb 等抗体。左归丸的干预可以抑制 AOAb、AZpAb 等抗体的产生，调节 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>的平衡，调控 POF 小鼠卵巢卵泡凋亡相关蛋白的表达，从而抑制模型小鼠卵泡的过度凋亡。

在临床研究方面，近年以滋肾育胎丸、坤泰胶囊辅助 IVF-ET 的研究已有报道。在

改善卵巢反应性,提高卵子质量和临床妊娠率等方面都取得较好的效果。通过生殖毒性试验,滋肾育胎丸的生殖安全性也得到证实。

综上所述,中医药在DOR的治疗方面具有良好的前景。应进行多中心、双模拟的临床试验,并进行药效学研究,以深入探讨其机理。

## 绝经后骨质疏松症的中西医结合研究进展

王凌

复旦大学附属妇产科医院

绝经后骨质疏松症(Postmenopausal osteoporosis, PMO)是绝经后女性的常见病,是导致绝经后女性骨折的主要原因,骨质疏松性骨折的发病率很高,仅在美国每年就有150万例发生,同时骨折使各种并发症发生风险增加。雌激素衰减是绝经后女性发生PMO的最主要原因,所以PMO是雌激素衰减引起的骨丢失疾病。雌激素补充疗法一直是本病的主要治疗方法,它可以缩短破骨细胞(Osteoclast, OC)寿命、减少绝经后妇女体内OC分化生成、增加OC凋亡,而抑制OC骨吸收功能。PMO的发生已知是雌激素降低的结果,但雌激素是如何造成PMO的,其关键机制尚不清楚。中医理论认为,绝经前后妇女年近五旬,肾精气渐衰。肾精不足则骨无以充,故骨骼酸楚疼痛;甚者,骨枯而髓减,发为骨痿,并可见骨折。精血不足,肾水不能上济心火,则心火上炎。肾虚则气化不及,气血失调而产生痰瘀,痰瘀又可进一步加重肾虚,从而促进骨质疏松的产生。

### 1) 免疫细胞CD4<sup>+</sup>T在PMO发生中的功能作用

国内外学者一直从不同角度探讨了PMO的病理机制,最近人们认识到,T细胞是OB和OC的调节者,在PMO发生中起至关重要的作用。骨免疫学是研究骨和免疫系统间相互作用的交叉学科。骨髓中免疫细胞的发育依赖于骨细胞营造的微环境;另一方面,免疫系统通过T、B淋巴细胞、树突状细胞、细胞因子等调控骨代谢;它们之间的相互作用又进一步受到内分泌激素的调控。因此,骨免疫学研究,对于了解PMO等骨代谢疾病的发病机理与临床治疗等将产生重大影响。

由于OC是驻留骨组织的特化型巨噬细胞;并且,已有研究强烈提示活化的CD4<sup>+</sup>T细胞在维持成骨细胞(Osteoblast, OB)骨形成-OC骨吸收平衡中发挥重要作用。研究表明,CD4<sup>+</sup>T是在不同疾病(如:类风湿性关节炎、牙周炎、PMO等)中诱导增强OB、OC分化生成与活性功能的关键细胞;炎症时,活化的CD4<sup>+</sup>T可直接分泌可溶性RANKL和TNF- $\alpha$ ,也可通过分泌IL-1、IL-6、IL-17等促OC骨吸收因子刺激OB和成纤维细胞,在细胞膜表面表达或分泌可溶性RANKL,促进OC分化生成。活化的CD4<sup>+</sup>T分泌的OC生成因子(Secreted osteoclastogenic factor of activated T cells, SOFAT)通过刺激OB分泌IL-6、IL-10和GM-CSF,激活JAK/STAT3信号通路,上调Bcl-2、IL-1 $\beta$ 、IL-10、IL-22、