开放存取

研究论文

DE-T1 对女性 IVF-ET 治疗中囊胚获得与活产率的影响

邵辉 [1,2*]，山口庸仁 [1]，野崎利晃 [1]，白莉 [1]，董曦 [3]，杨冬梓 [4]，焦爽 [5]，大月纯子 [2,6]，苔口昭次 [2]，塩谷雅英 [2]

[1] 日本兵库县株式会社德润研发部
[2] 日本神户英医院生殖中心
[3] 中国上海复旦大学附属中山医院
[4] 中国广州中山大学孙逸仙纪念医院
[5] 中国北京中国中医科学院
[6] 日本冈山县冈山大学辅助生殖技术中心

*通讯作者：邵辉，日本兵库县神户株式会社德润英医院生殖中心研发部

收稿日期：2022 年 2 月 2 日；**接受日期：**2022 年 2 月 9 日；**发表日期：**2022 年 2 月 14 日

引用：邵辉，山口庸仁，野崎利晃，白莉，董曦，杨冬梓，焦爽，大月纯子，苔口昭次，塩谷雅英. DE-T1 对女性 IVF-ET 治疗中囊胚获得与活产率的影响. 妇女健康与发展杂志，5 (2022): 057-068.

摘要

背景：本文旨在回顾性分析从蒲公英中提取的一种氨基多糖 DE-T1 对女性 IVF-ET 治疗中的囊胚获得与活产率的影响。

方法：本研究为回顾性队列研究，共纳入 2012 年 8 月 1 日至 2020 年 2 月 29 日期间在英医院生殖中心接受 IVF 治疗的 30 岁以上患者 1014 例。根据患者对 DE-T1 补充的选择情况将患者分为两组，其中 DE-T1 可作为本院的非处方物。采用意向性分析 (intention-to-treat，ITT) 比较两组患者的总囊胚获得率，并比较不同年龄和抗苗勒管激素 (anti-Mullerian hormone，AMH) 水平患者的囊胚获得率。在完成胚胎移植 (embryo transfer，ET) 的患者中，使用卡方检验比较补充组和非补充组的活产率。

结果：补充组的囊胚获得率为 75.98 %，显著高于非补充组的 57.28 % ($P = 2.4\times10^{-9}$)。补充组各年龄段囊胚获得率均显著高于非补充组（30 岁≤年龄<35 岁：90.97 % vs 74.32 %，P = 0.001；30 岁≤年龄<35 岁：74.32 % vs 74.32 %，P = 0.001；30 岁≤年龄<35 岁：90.97 % vs 74.32 %，P = 0.001。35 岁≤年龄<40 岁：82.40 % vs 69.79 %，P = 0.010； 40 岁≤年龄<43 岁： 72.90 % vs 52.11 %，P = 0.002；≥43 岁：53.29 % vs 22.95 %，$P = 5.7\times10^{-5}$）。补充组两个 AMH 水平的囊胚获得率均显著高于非补充组（AMH≤1.1：56.47% vs 40.44%，P = 0.002；AMH>1.1：88.48 % vs 71.08 %，$P = 2.52\times10^{-7}$)。补充组的活产率显著高于非补充组（57.53 % vs 40.0 %，P = 0.045)。

结论：补充 DE-T1 可能对提高女性 IVF-ET 治疗的囊胚获得和活产率有影响。补充 DE-T1 可能对不同年龄和 AMH 水平的女性有益。

关键词：DE-T1；生育力；囊胚获得率；活产率；AMH

1. 引言

由于社会的发展，女性晚婚晚育的现象日益增多。众所周知，女性的生育能力随着年龄的增长而下降[1]。随着女性不孕不育的增加，辅助生殖技术（assisted reproductive technology，ART）的应用比以往越来越广泛。辅助生殖医疗需要采集大量的成熟卵母细胞，促性腺激素（gonadotropin，Gn）是其常规用药。许多高龄妇女和卵巢功能低下的女性呈卵巢低反应，因此对 Gn 的反应低下。她们无法通过超促排卵产生高质量的卵子，获得优质囊胚、成功受精和分娩则更加遥不可及。因此，取到成熟卵母细胞并成功培育胚胎，尤其是囊胚，对体外受精与胚胎移植（*in vitro* fertilization and embryo transfer，IVF-ET）至关重要。

蒲公英（*Taraxacum mongolicum* Hand.-Mazz.）作为一种传统草药被中国和其他古老的文化使用了几个世纪之久。蒲公英的化学成分已成为近年来研究的热点。据报道，蒲公英多糖具有抗氧化、抗自由基、保护肝脏、降血糖、促进生长因子分泌、抗肿瘤形成等功效[2-6]。DE-T1 是从蒲公英中提取的一种氨基多糖类化合物。我们前期的体外研究证实其具有促进颗粒细胞生长、抑制颗粒细胞凋亡、调节雌性激素平衡等作用 [7-8]。Shawkea T-1（株式会社德润），其主要成分为 DE-T1，是一种辅助生殖补充剂，在日本已使用 23 年，在中国已使用 9 年以上。

本研究旨在回顾性分析 DE-T1 联合促排卵药物对囊胚获得率与活产率的影响，探讨补充 DE-T1 是否会对女性 IVF-ET 治疗中的囊胚获得与活产率产生影响。本研究经神户英医院生殖中心（批准号：2021 – 09）机构审查委员会 (Institutional Review Board，IRB) 批准。

2. 材料与方法

2.1 研究设计

本研究是一项回顾性队列研究，旨在探讨补充 DE-T1 的临床效果。患者可自由选择是否服用 DE-T1 口服液。选择购买并服用含有 DE-T1 的 Shawkea T-1 的患者归为补充组。选择不服用 DE-T1 的患者归为非补充组。分析两组的囊胚获得与活产率。效应因子包括年龄和抗苗勒管激素 (anti-Mullerian hormone，AMH) 值。

2.2 设定与病例募集

选择 2012 年 8 月 1 日至 2020 年 2 月 29 日在英医院生殖中心（日本神户）接受 IVF 治疗的中国不孕症患者为分析研究对象。年龄均在 30 岁或以上。对其不孕原因没有限制，包括主诉卵巢机能障碍、多囊卵巢综合征、子宫肌瘤、子宫腺肌病、输卵管堵塞、基础疾病等。所有患者均签署知情同意书，并告知其临床资料可能用于今后的医学研究。所有患者均同意收集和分析他们的数据 [9]。仅排除一般资料不完整的患者及治疗期间自然受孕的患者。将胚胎转运至其他机构或省份的患者排除在活产率分析之外。

2.3 干预方法

补充组服用含有主要成分为 DE-T1 (从蒲公英中提取的一种氨基糖)的 Shawkea T-1（一种具有烟熏味的棕色液体，批号：6120801011-6200929064，由株式会社德润生产，地址：日本兵库县中央区御幸通 4 丁目 2-15)。年龄在 30-34 岁之间的患者每日服用 300 mL（100 mL/袋）。年龄在 35-40 岁之间的患者每日服用 400 mL。40 岁以上患者每日服用 500 mL。DE-T1 给药相关数据，包括给药组每例患者的给药周期和给药剂量，通过与医疗助理电话随访和购买株式会社德润提供的记录获得。给药组 712 例患者的中位（Q25、Q75）给药时间为 5（3、7）个月。所有治疗和胚胎培养均由英医院生殖中心的胚胎学家和 IVF 医师组成的团队完成。本研究的参与者没有设定固定的补充或治疗疗程。所有患者在观察期内均能够根据其取卵、胚胎培养和移植的个体结局选择是否进行多次取卵和 ET 周期。本研究中所有进行胚胎移植的患者均进行了冻胚移植。这既减少了潜在的研究偏倚，也减少了通过人工子宫内膜周期准备对卵巢刺激、血清激素水平或参与鲜胚周期的子宫内膜因素的任何干扰。

2.3.1 主要观察指标：

1）两组的囊胚获得率比较

计算各组在观察期结束时获得至少一个囊胚的患者比例。囊胚获得率=观察期结束时至少获得 1 颗囊胚的患者数/该组所有患者数×100 %。

2）两组的活产率比较

在治疗结束后，计算每组患者在孕≧28 周分娩活产婴儿的比例。活产率=观察期结束时至少分娩 1 个活产的胎儿的患者数/该组胚胎移植患者总数×100 %。

2.3.2 次要观察指标：

1）不同年龄组的囊胚获得率比较

将所有患者分为以下年龄组：30 岁≤年龄<35 岁、35 岁≤年龄<40 岁、40 岁≤年龄<43 岁、≥43 岁。比较给药组和对照组各年龄段的囊胚获得率。

2）囊胚获得率与不同 AMH 值有关

所有患者根据其 AMH 水平(AMH≤1.1 和 AMH > 1.1)进行分组。比较这两组不同 AMH 值患者的囊胚获得率。

2.4 统计方法

在观察期间停止治疗或失访的患者，在结局统计和数据分析的计算中也被纳入结局分析。结果分析采用意向处理（intention-to-treat，ITT）分析。使用 IBM SPSS Statistics for Windows 23.0 版（IBM 公司，美国纽约州阿蒙克）进行数据分析。若数据呈正态分布，连续变量以平均值±标准差表示。非正态分布的数据采用中位数（Q25、Q75）表示。分类变量以计数和百分比表示。患者年龄数据以“平均值±标准差”表示，采用独立样本 t 检验确定统计学意义。患者 AMH 水平的数据以[中位数（Q25、Q75）]表示，采用非参数检验确定统计学意义。采用频数和百分比计算囊胚获得与活产率，采用卡方检验确定统计学意义。双侧 $P < 0.05$ 被认为具有统计学意义。

3. 结果

本研究分析了在英医院生殖中心接受IVF-ET治疗的1014例中国女性患者的数据。712例患者归为补充组，302例患者归为非补充组。231例患者完成胚胎移植。其中，186例来自补充组，45例来自非补充组。除了那些将胚胎移植到其他机构或省份的患者外，部分患者未进行胚胎移植的原因主要有以下几个方面：1）部分患者在开始胚胎移植前倾向于在更年轻时收集更多的胚胎，从而提高后续胚胎移植的成功率，而不是在一个促排卵周期结束后立即进行胚胎移植。2）部分患者在开始胚胎移植前选择花几个月达到最佳身体状况。3）部分患者未能产生优质胚胎进行移植。观察期为2012年8月1日至2020年2月29日，期间由1名医疗助理每月对治疗过程进行电话随访。给药组和对照组参与者的基线特征无显著差异（表1）。图1展示了本研究的主要流程和结果。补充组的囊胚获得率显著高于对照组（P < 0.05）。此外，不同年龄和AMH水平的补充组的囊胚获得率均显著高于非补充组（P < 0.05）（表2）。补充组的活产率显著高于非补充组（P < 0.05）（表3）。原始数据可作为附表1、附表2和附表3。

参数	补充组		非补充组		P值
	例数		例数		
年龄（岁）（平均值±标准差）	712	38.5 ± 4.6	302	38.2 ± 4.8	0.41
30岁≤年龄<35岁	155	32.2 ± 1.4	74	32.0 ± 1.5	0.10
35岁≤年龄<40岁	250	37.0 ± 1.4	96	36.5 ± 1.4	0.16
40岁≤年龄<43岁	155	41.0 ± 0.8	71	41.0 ± 0.6	0.82
≥43岁	152	44.5 ± 1.7	61	45.0 ± 1.8	0.16
胚胎移植患者	186	36.1 ± 4.0	45	36.2 ± 3.9	0.84
AMH (ng/ml) [中位数（Q25，Q75）]	712	1.60 (0.68, 2.92)	302	1.26 (0.50, 2.89)	0.11
≤1.1	278	0.47 (0.20, 0.80)	136	0.41 (0.12, 0.78)	0.20
>1.1	434	2.56 (1.74, 3.90)	166	2.64 (1.70, 4.42)	0.58
胚胎移植患者	186	2.46 (1.46, 4.18)	45	2.50 (1.19, 4.87)	0.91
配偶年龄（平均值±标准差）*	711	41.0 ± 6.9	295	40.8 ± 7.3	0.72
促排卵周期	1523		690		
常规卵巢刺激		39.86%		38.99%	0.70
轻度卵巢刺激		60.14%		61.01%	

注：*，给药组1例和对照组7例缺乏配偶信息

表1：补充组和对照组的基线特征。

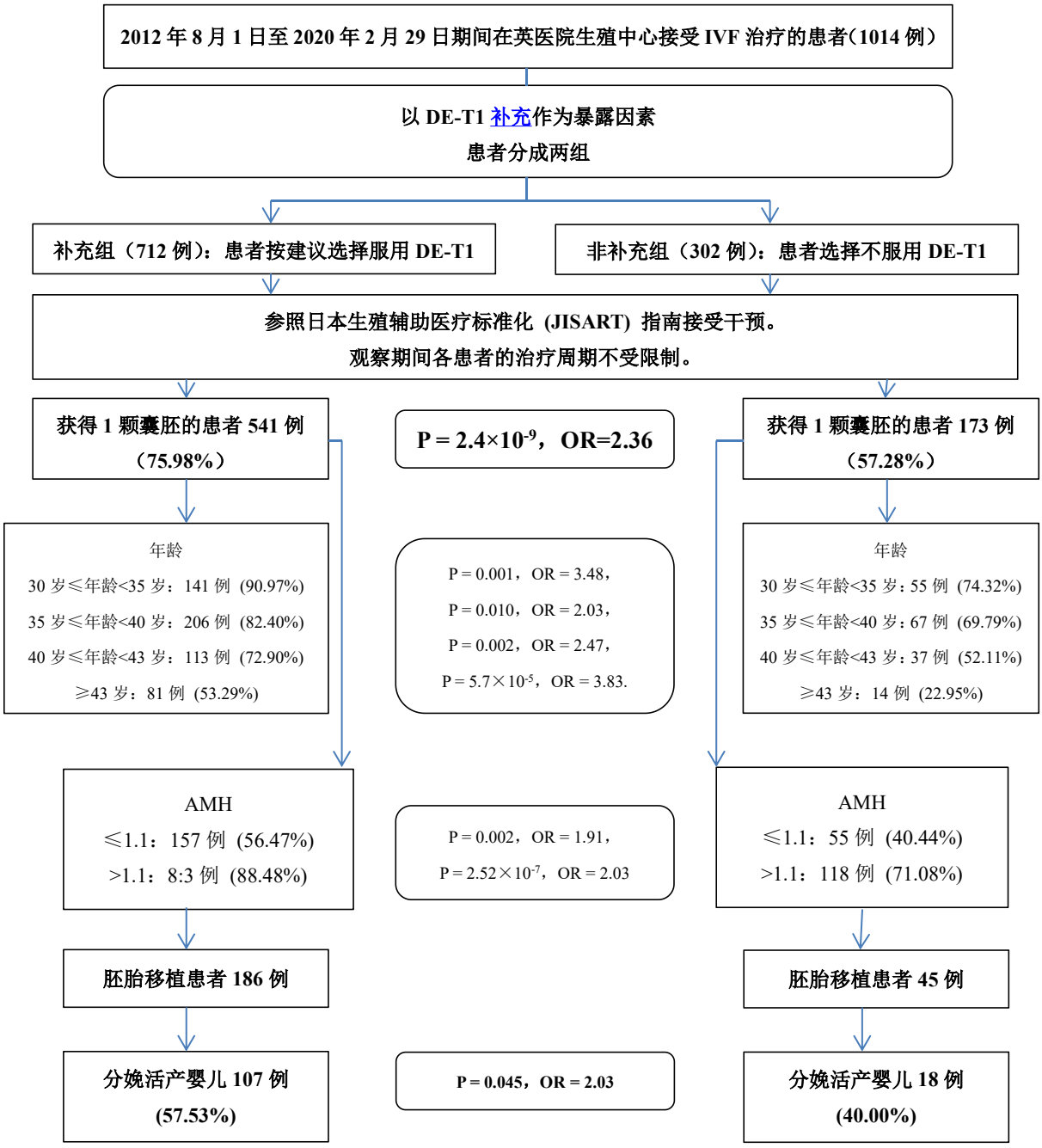


图 1：本研究的流程图和主要结果。

	补充组		非补充组		P 值	OR
	例数	获得囊胚的例数(%)	例数	获得囊胚的例数(%)		
合计	712	541 (75.98)	302	173 (57.28)	2.4×10^{-9}	2.36
年龄（岁）						
30 岁≤年龄<35 岁	155	141 (90.97)	74	55 (74.32)	0.001	3.48
35 岁≤年龄<40 岁	250	206 (82.40)	96	67 (69.79)	0.010	2.03
40 岁≤年龄<43	155	113 (72.90)	71	37 (52.11)	0.002	2.47
≥43 岁	152	81 (53.29)	61	14 (22.95)	5.7×10^{-5}	3.83
AMHa (ng/ml)						
≤1.1	278	157 (56.47)	136	55 (40.44)	0.002	1.91
>1.1	434	384 (88.48)	166	118 (71.08)	2.52×10^{-7}	3.12

表 2：两组间囊胚获得率的比较。

组别	例数	分娩活产婴儿例数（%）	P 值	OR
补充组	186	107 (57.53)	0.045	2.03
非补充组	45	18 (40.00)		

表 3：两组间活产率的比较。

4. 讨论

4.1 本研究的主要结局指标

随着辅助生殖技术的不断发展，囊胚培养的应用越来越广泛。Meta 分析显示，在新鲜 IVF 周期中移植相同数量的胚胎时，如果胚胎移植在囊胚期而不是卵裂期进行，则活产和临床妊娠的概率均显著升高，尤其是活产率[10]。另一项未经选择的患者队列研究也得出结论，与卵裂期移植相比，囊胚期移植的每个取卵周期的累积活产率更高[11]。研究发现，与卵裂期移植相比，进行囊胚期移植可能会改善 IVF 结局。胚胎的选择和着床过程随着囊胚期移植而改善，而在多胎妊娠中则明显下降 [12-16]。人们对于囊胚期移植在提高着床率方面的优越性已经提出了几种解释 [13]，囊胚移植已经成为越来越多患者和生殖医学中心的首选。

在本研究中，补充组囊胚获得率为 75.98 %，显著高于非补充组的 57.28%（OR = 2.36，P < 0.001）。鉴于活产是辅助生殖技术的最终目标，也是每个患者的明确目标，本研究将活产率作为主要结局指标之一。补充组的活产率显著高于非补充组（P < 0. 05）。这表明 DE-T1 不仅可以改善囊胚培养的结局，而且可以改善妊娠本身的结局。

4.2 DE-T1 对不同年龄、不同 AMH 水平患者的影响

研究表明，减数分裂染色体的不分离随年龄增长而增加。这反过来又导致早期胚胎非整倍体率和自然流产率的增加 [17-18]。所致的最常见异常是常染色体三体，这是由于年长女性卵母细胞减数分裂过程中染色体的排列和纺锤体基质的组成异常造成的 [18]。2013 年的一项研究得出结论，随着年龄的增长，异倍体率和非整倍体胚胎率均以数学上可预测的方式增长 [1]。

在本研究中，我们入组了 30 至 46 岁的患者。考虑到年龄和 AMH 对 IVF 治疗中囊胚形成的影响，我们进一步观察了 DE-T1 对不同年龄组（30 岁≤年龄<35 岁；35 岁≤年龄<40 岁；40 岁≤年龄<43 岁；≥43 岁)、不同 AMH 水平（AMH≤1.1 ng/ml 和 AMH > 1.1 ng/ml）患者的影响。结果显示，不同年龄和 AMH 水平的补充组的囊胚获得率均显著高于非补充组（$P < 0.05$）。这些结果表明，在 IVF 治疗过程中，不同年龄和 AMH 值的女性均可从补充 DE-T1 中获益。

4.3 DE-T1 对生殖健康的影响机制

卵泡发育不良长期以来被认为是导致不孕不育的主要原因之一。卵泡发育不良性不孕的原因是多方面的。先天性卵巢发育不良、卵巢早衰或卵巢病变、过度肥胖或消瘦、月经不调和遗传是其常见的危险因素 [19]。近年来，多种药物解决了排卵障碍的问题，但这类治疗具有抗激素影响，并可导致雌激素水平枯竭 [20]。上述抗激素作用可抑制子宫内膜 DNA 合成，造成子宫内膜容受性下降，而雌激素水平枯竭可导致宫颈黏稠度增加，不利于精子通过。因此，任何长期使用促排卵药物往往会降低妊娠率，增加早期流产率 [21-22]。卵泡刺激素（follicle-stimulating hormone，FSH）受体是颗粒细胞上唯一存在的受体。我们的前期研究已经证实 DE-T1 可以增加卵巢颗粒细胞表面 FSH 受体的活性 [7]。

在本研究中，补充 DE-T1 显著提高了女性 IVF-ET 治疗中的囊胚获得率。我们推测其机制可能与增加卵泡颗粒细胞数量，延缓颗粒细胞死亡，并减少窦状腺细胞闭锁，从而增加成熟卵细胞数量有关。生长激素（growth hormone，GH）也参与人类生殖的许多过程

[23]。在卵母细胞发育过程中，GH 可以促进卵母细胞的成熟，提高颗粒细胞的受体活性。进一步研究发现 [24]，GH 对生殖的影响主要是通过促进胰岛素样生长因子（insulin-like growth factor，IGF）的分泌，有效增强颗粒细胞的活性。有研究报道，蒲公英多糖可提高 IGF 相关受体的活性 [5]。这也可能是 DE-T1 对生殖健康有益影响的一个促进因素。

分析 DE-T1 提高活产率的原因：首先，DE-T1 显著提高了补充组患者的囊胚获得率。因此，患者有更多的囊胚可供 ET 之用，故而有更多的机会分娩婴儿。其次，我们的前期研究已经证实 DE-T1 可以调节卵巢和子宫中多种受体的活性，并且平衡雌性生殖激素的分泌，在卵子生长、胚胎着床和胎儿发育中发挥关键作用 [7-8]。DE-T1 通过这种方式提高了 IVF 治疗过程中卵子的质量，促进了优质受精胚胎的产生。我们推测，补充 DE-T1 提高活产率是通过增加获得囊胚的数量和提高囊胚的质量这两个作用实现的。

4.4 研究设计与未来展望

随着循证方法在医学研究领域的应用日益广泛，随机对照试验（randomized controlled trial，RCT）和队列研究已在临床研究中得到了广泛的应用。干预队列研究是因果关联的主要证据来源，尤其是当随机对照试验因伦理限制难以开展时 [25-26]。鉴于患者对治疗的主观愿望和患者的依从性，以及需要长期随访和复杂的干预措施，我们采用回顾性队列研究的方法，观察了 DE-T1 对女性 IVF 治疗中的囊胚获得与活产率的影响。

我们没有将卵母细胞数量作为本研究的观察指标。如前所述，囊胚比卵母细胞或早期胚胎更有价值。囊胚在预测研究中的任何治疗方案或方案的治疗效果以及妊娠结局方面也被认为是优越的。此外，由于本研究为回顾性队列研究，两组患者的取卵周期、取卵方案等相关影响因素均未完全控制或各组保持一致。因此，以卵母细胞数量作为指标会在研究结果的评估和解释中引入偏见和其他难题。在本研究中，我们在 1523 个促排卵周期中，从补充组的 712 例患者中取卵 4155 枚，平均每个周期取卵 2.72 枚。非补充组 302 例患者在 690 个周期共取卵 1746 枚，平均每个周期取卵 2.53 枚。这一结果与我们更长期的临床观察结果一致，表明 DE-T1 可以同时提高卵母细胞的质量和数量。想要获得取卵和囊胚培养成功的患者通常需要进行数个取卵周期，因此疗程相对较长。我们旨在今后探索不同年龄和不同 AMH 值患者的最佳补充疗程，使我们能够为每个患者制定个性化的补充方案。

在本研究中，我们观察了 1014 例病例，观察期约为 8 年。补充组共进行 1523 个促排卵周期。使用现实世界的研究方法，我们没有为参与者设定任何严格的入选标准。因此，我们认为本研究的结果可能更真实地反映 DE-T1 对接受体 IVF-ET 治疗的不同年龄与 AMH 值的女性的影响。生殖是一个复杂的生理过程。DE-T1 对下丘脑、垂体、卵巢、子宫等器官的多靶点协同作用机制还有待进一步研究。

5. 结论

本文进行回顾性队列研究，探讨 DE-T1 对女性 IVF-ET 治疗中的囊胚获得与活产率的影响。本研究结果表明，DE-T1 可显著提高囊胚获得与活产率，而且，不同年龄和 AMH 值的女性均可从补充 DE-T1 中获益。

声明

伦理批准与参与同意

本研究经英医院生殖中心机构审查委员会（Institutional Review Board，IRB）批准（批准号: 2021-09）。所有患者均签署知情同意书，并告知其临床资料可用于今后的医学研究。所有患者均同意对其资料进行收集和分析。所有方法均按照相关指南和规定执行。

声明

所有作者均证实，所有方法均符合本研究的相关指南和规定。

发表同意

不适用

数据和材料的可用性

本研究过程中产生或分析的所有数据均包含在这篇公开发表的文章及其补充信息文件中。

利益冲突

作者声明他们没有利益冲突。

资助

本研究未获得任何资助。

作者贡献

邵辉是通讯作者，主要负责撰写和编辑手稿。邵辉和焦爽撰写了主要手稿文本，焦爽进行了统计分析。山口庸仁、野崎利晃和白莉在数据采集和手稿文本审阅方面做出了贡献。董曦、杨冬梓、大月纯子、苔口昭次、塩谷雅英对手稿文本的审读和修改均有贡献。所有作者均阅读并核准了该手稿的最终版本。

致谢

我们感谢所有参与本研究的女性。

补充

此处为补充文件的列表。点击下载。

参考文献