临床试验杂志

开放获取 在线免费

研究论文

联合应用 DE T-1 和 Sho-ko-sen 对难治性不孕人群辅助生殖治疗结果的影响：一项回顾性研究

Hui Shao [1,2*], Jianli Ren [1], Xi Dong [3], Lin Wang [3], Shuang Jiao [4], Nobuyuki Yanagihara [5,6], Shoji Kokeguchi [2], Masahide Shiotani [2]

[1] 日本兵库县神户 Tokujun Co., Ltd；[2] 日本兵库县神户 Hanabusa Women's Clinic；[3] 中国上海复旦大学附属中山医院生殖医学中心；[4] 中国北京中国中医科学院；[5] 日本福冈北九州职业环境卫生大学医学院校解剖学系；[6] 日本福冈北九州九州营养福利大学药理学实验室，邮编：803-8511

摘要

目的：观察难治性不孕患者辅助生殖治疗结果的影响因素及联合应用 DE T-1（Shawkea T-1）和 Sho-ko-sen（松康泉）对辅助生殖治疗结局的影响。

方法：采用回顾性研究。本研究招募了 31 名被定义为难治性不孕的患者，他们于 2016 年 1 月至 2019 年 10 月在日本 Hanabusa Women's Clinic 进行了至少一次胚胎移植，妊娠试验呈阳性。所有入选的患者都根据 Hanabusa 医院营养支持中心的建议服用了 DE T-1 口服液和 Sho-ko-sen 胶囊。记录了患者的一般信息、*体外*受精（IVF）治疗过程，分析了 DE T-1 和 Sho-ko-sen 的使用情况。

结果：入选患者年龄为 30-48 岁，中位年龄（P25，P75）为 36.0（34.0，39.0）岁。AMH 的范围为 0.4 -17.9 ng/ml，中位数（P25，P75）为 1.74（0.80，3.90）ng/ml。不孕持续时间从 3 年到 12 年不等，中位数（P25，P75）为 6.0（5.0，9.0）年。31 例患者均活产，其中单胎 29 例（93.5%），双胎 2 例（6.5%）。31 例患者共进行了 72 个取卵周期，其中长时间方案 5 例（6.5%），短时间方案 7 例（9.7%），拮抗剂方案 12 例（16.7%），微刺激方案 48 例（66.7%）。在纳入的 31 例患者中，7 例（22.6%）经历了一个取卵周期，16 例（51.6%）经历了两个周期。31 例患者共进行了 38 个胚胎移植周期，其中一次移植 24 例（77.4%），两次移植 7 例（22.6%）。在 38 个移植周期中，36 个周期（94.7%）采用了子宫内膜刺激-胚胎移植法（SEET），2 个周期（5.3%）采用了两阶段法。在入选患者中，10 例（32.3%）服用了 3 袋 DE T-1 和 6 粒 Sho-ko-sen 胶囊；18 例（58.1%）服用了 4 袋 DE T-1 和 6 粒 Sho-ko-sen 胶囊；3 例（9.7%）服用了 5 袋 DE T-1 和 9 粒 Sho-ko-sen 胶囊。使用 DE T-1 和 Sho-ko-sen 的持续时间为 4 至 45 个月，平均持续时间为 10（7，14）个月。

结论：在采用标准化 IVF 治疗的前提下，按照标准化疗程和剂量服用 DE T-1 和 Sho-ko-sen 可能有助于难治性不孕患者获得满意的治疗效果，微刺激是难治性不孕女性最适合的取卵方法。

关键词：难治性不孕；IVF；活产率；AMH；DE T-1；Sho-ko-sen

背景

由于各种因素，如女性平均初婚年龄超过 30 岁，工作压力越来越大，中国已进入高不孕不育率的国家行列。中国不孕症的发病率约为 18%，全国有近 4800 万对夫妇存在生殖健康问题[1]。一些难治性不孕患者尽管经过多年准备和多次辅助生殖治疗尝试，仍未能受孕。这不仅造成了一系列的社会问题，也给这些患者带来了巨大的心理压力[2]。

DE-T1（Shawkea T-1）的主要原料是蒲公英，其主要成分是从蒲公英中提取的一种氨基多糖类化合物。

通信作者：Shao Hui；地址：日本兵库县神户 Tokujun Co., Ltd；电子邮箱：shaohui@bca.bai.ne.jp

接收日期：2024 年 2 月 20 日，手稿编号：JCTR-24-29693；**编辑分派日期：**2024 年 2 月 22 日，PreQC 编号 JCTR-24-29693（PQ）；**审查日期：**2024 年 3 月 7 日，QC 编号：JCTR-24-29693；**修订日期：**2024 年 3 月 14 日，手稿编号：JCTR-24-29693（R）；**发表日期：**2024 年 3 月 21 日，DOI：10.35248/2167-0870.24.14.557。

引用：Shao H，Ren J，Dong X，Wang L，Jiao S，Yanagihara N 等人（2024）联合应用 DE T-1 和 Sho-ko-sen 对难治性不孕人群辅助生殖治疗结果的影响：一项回顾性研究。《临床试验杂志》14:557。

版权所有：© 2024 Liang W, et al.。本文为根据知识共享署名许可条款发布的开放获取的文章，允许在任何媒体上无限制地使用、发布和复制本文，前提是原始作者和来源信息可信。

经鉴定，蒲公英多糖（或多糖提取物）具有多种功能，包括抗氧化、保肝、抗自由基、生长因子分泌、降血糖和抗肿瘤活性[3-5]。前期研究证实，DE-T1 可以调节垂体-卵巢生殖轴和雌性激素分泌，促进卵巢颗粒细胞的生长并抑制其凋亡[6、7]。经鉴定，使用 DE-T1 可以改善接受 IVF-ET 治疗的女性的囊胚形成率和活产率，让不同年龄和 AMH 水平的女性受益[8、9]。

Sho-ko-sen[松康泉]的主要成分是从松瘤中提取的松多酚，松瘤是松树（包括*油松*、*马尾松*、*赤松*和*云南松*）树枝上的结节。松节是木脂素、类黄酮和芪的丰富来源。众所周知，这些生物活性化合物不仅能治疗人类疾病，还能保护植物免受病原体侵害[10、11]。

本研究采用回顾性研究设计，旨在观察联合应用 DE T-1 和 Sho-ko-sen 对难治性不孕人群辅助生殖治疗结果的影响。将记录患者的一般信息，并对治疗过程进行总结，为今后的前瞻性随机对照试验提供参考。

本研究由 Hanabusa Women's Clinic 的机构审查委员会（IRB）批准（批准号：2021-09）。

方法

纳入标准

难治性不孕的定义：1）不孕持续时间≥3 年；2）年龄≥40 岁；3）AMH≤1.1 或> 6.8；4）有 IVF 治疗失败史。任何符合上述四项中三项的患者均被定义为难治性不孕。

纳入了符合以下所有要求的患者：1）符合上述难治性不孕的定义；2）定期按要求的剂量和疗程服用 DE T-1 口服液和 Sho-ko-sen 胶囊，并有相应产品的购买记录；3）患者自愿参与研究并签署知情同意书；4）患者在观察期内至少进行过一次胚胎移植，妊娠试验呈阳性，同时需要随访直至分娩。

排除标准

- 代孕母亲。
- 观察期内服用其他植物提取物的患者。

处理方法

所有患者均接受日本辅助生殖技术标准化机构（JISART）干预。在此基础上，根据 Hanabusa 医院营养支持中心的建议服用了 DE T-1 和 Sho-ko-sen。

观察指标和方法

一般信息：记录了入选患者的年龄、AMH 值、不孕时间和不孕原因，以及其丈夫的精液情况。

分娩结果：随访了所有纳入的患者，并记录了其妊娠和分娩结果。

IVF 治疗信息：采用统计方法分析了纳入的患者的 IVF 治疗情况，包括取卵周期数、取卵计划、胚胎培养和 PGT-A（植入前遗传学筛查）情况、移植情况等。

用药分析：统计和分析纳入的患者的 DE T-1 和 Sho-ko-sen 剂量和疗程。

统计方法

使用 SPSS 23.0 进行数据分析。符合正态分布且具有齐性方差的测量数据表示为均值±标准差[($\bar{x}$±s)]不符合正态分布或具有非齐性方差的测量数据表示为中位数[P25、P75]。计数数据以病例数和百分比（%）表示。

结果

病例的来源和一般情况

根据纳入标准，收集了 2016 年 1 月至 2019 年 10 月在 Hanabusa 医院治疗的 31 例患者。

不孕原因：卵巢功能不良（包括卵巢早衰、高龄卵巢衰竭、卵子质量差）27 例（87.1%），重度多囊卵巢综合征 4 例（12.9%）。

丈夫精液情况：活率< 20% 5 例（16.1%），浓度< 2000 万/ml 2 例（6.2%），无精症 1 例（3.2%）。

一般情况如表 1 所示。

表 1：纳入的 31 例难治性不孕患者的一般情况。

项目	范围	M（Q25，Q75）
年龄（岁）	30~48	36.0（34.0/39.0）
AMH（ng/ml）	0.4~17.9	1.74（0.80/3.90）
不孕时间（年）	3~12	6.0（5.0/9.0）

分娩结果

经随访，31 例患者均存活分娩，活产率为 100%。其中单胎 29 例（93.5%），双胎 2 例（6.5%）。在纳入观察的患者中没有发生流产或胎儿停育。所有患者在确定妊娠后均活产。

IVF 治疗信息

取卵方案：31 例患者共进行了 72 个取卵周期，其中长时间方案 5 例（6.5%），短时间方案 7 例（9.7%），拮抗剂方案 12 例（16.7%），微刺激 48 例（66.7%）（图 1）。

取卵周期：在纳入的 31 例患者中，7 例（22.6%）1 个取卵周期，16 例（51.6%）2 个周期，2 例（6.5%）3 个周期，3 例（9.7%）4 个周期。此外，1 例（3.2%）5 个周期，1 例（3.2%）6 个周期，1 例（3.2%）8 个周期（图 2）。

受精：在取出合格卵子的 68 个周期中，1 例患者（年龄 35 岁，AMH 值 0.5 ng/ml）的 2 个微刺激周期各取出 1、2 个卵子，但均未形成受精卵。其余 66 个周期（97.1%）形成受精卵。

囊胚培养：在形成受精卵的 66 个周期中，62 个周期（93.9%）的受精卵全部培养成囊胚，另外 4 个周期保存了早期胚胎。在培养成囊胚的 62 个周期中，有 10 个周期（16.1%）没有成功培养出囊胚；52 个周期（83.9%）成功培养出囊胚。

植入前非整倍体遗传学检测（PGT-A）：在获得囊胚的 52 个周期中，43 个周期（82.69%）进行了 PGT-A。共有 118 个囊胚进行了 PGT-A，其中包括 56 个（47.5%）整倍体囊胚，19 个（16.1%）嵌合体囊胚和 43 个（36.4%）非整倍体囊胚。IVF 治疗详情如图 3 所示。

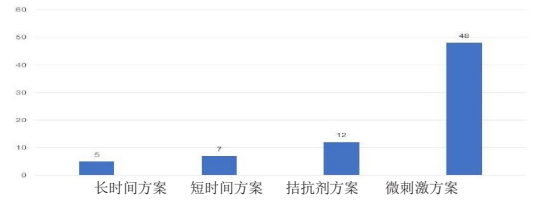


图 1：31 例难治性不孕患者的 72 个取卵周期的方案分析。注：（ ）个周期数。

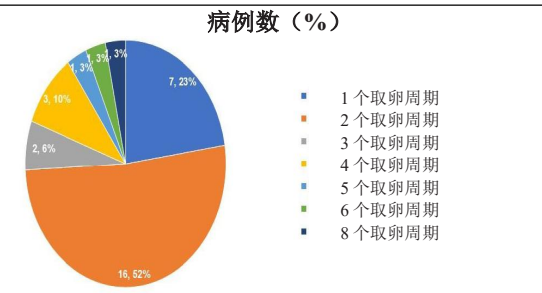


图 2：31 例难治性不孕患者的取卵周期分析。

31 例患者 72 个取卵周期		
	3 个周期没有取到卵，1 个周期取到 1 颗变异卵	
68 个周期取了合格卵子		
	两个周期总共取了三个卵，但没有形成受精卵	
66 个取卵周期（97.1%）产生了受精卵		
	4 个周期取出的卵子未用于囊胚培养	
62 个取卵周期（93.9%）的所有受精卵进行了囊胚培养		
10 个周期（16.1%）未能获得囊胚（每个周期有 1-2 个受精卵）	52 个周期（83.9%）获得了囊胚	
	9 个周期未进行 PGT-A（17.3%）	43 个周期进行了 PGT-A（82.69%）
	共有 118 个囊胚接受了 PGT-A	
56 个囊胚（47.5%）为整倍体	19 个囊胚（16 1%）为嵌合体	43 个囊胚（36.4%）为非整倍体

图 3：31 例难治性不孕患者的 IVF 治疗信息。

移植情况

共有 31 例患者接受了 38 个周期的移植，其中 24 例（77.4%）接受了一次移植，7 例（22.6%）接受了两次移植。在 38 个移植周期中，36 个周期（94.7%）使用了子宫内膜刺激-胚胎移植法（SEET），2 个周期（5.3%）使用了两阶段方法（图 4 和 5）。

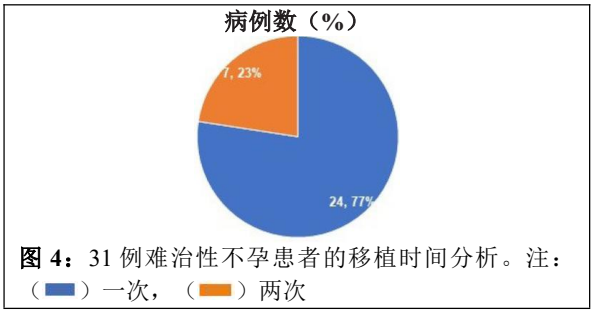


图 4：31 例难治性不孕患者的移植时间分析。注：（ ）一次，（ ）两次

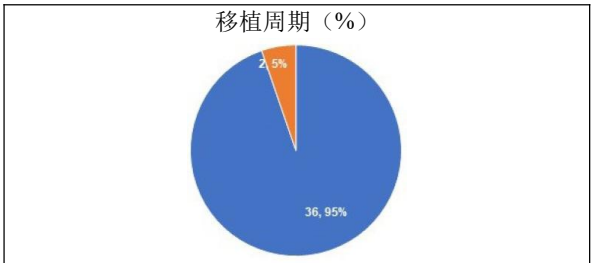


图 5：31 例难治性不孕患者的 38 个移植周期中使用的移植周期。注：（ ）SEET，（ ）两个周期。

DE T-1 和 Sho-ko-sen 使用

治疗持续时间[到妊娠诊断结束]为 4-45 个月，平均持续时间为 10 个月（7 到 14 个月）。这些患者使用的 DE T-1 和 Sho-ko-sen 的每日剂量如下：10 例（32.3%）使用了 3 袋 DE T-1 和 6 粒 Sho-ko-sen 胶囊，18 例（58.1%）使用了 4 袋 DE T-1 和 6 粒 Sho-ko-sen 胶囊，3 例（9.7%）使用了 5 袋 DE T-1 和 9 粒 Sho-ko-sen 胶囊（图 6）。

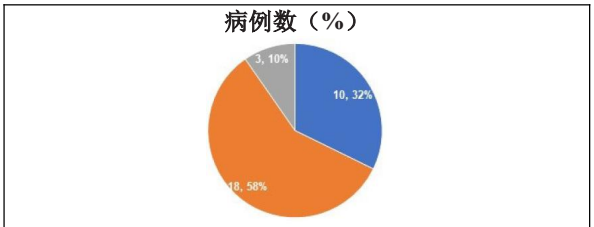


图 6：31 例难治性不孕患者的 DE T-1 和 Sho-ko-sen 剂量。注：（ ）3 包 CE-T1 和 6 粒 Sho-kosen 胶囊，（ ）4 包 CE-T1 和 6 粒 Sho-ko-sen 胶囊，（ ）5 包 CE-T1 和 6 粒 Sho-ko-sen 胶囊

讨论

研究中包括的患者的特征和治疗结果

纳入本研究的 31 例患者具有以下特征：高龄（最高达 48 岁）、不孕持续时间长（最高达 12 年）、卵巢功能差（AMH 值范围为 0.4 ~ 17.9）、治疗难度高（大多数 IVF 治疗失败）。然而，所有 31 名患者在治疗后均成功妊娠，这表明通过适当的治疗和坚持，难治性不孕患者仍然可以获得满意的治疗结果。

IVF 治疗分析

在纳入本研究的 31 例患者中，只有 7 例（22.6%）进行了一次取卵，而超过一半（16 例，51.6%）进行了两次取卵。经历最多取卵周期的三名患者分别经历了 8、6 和 5 个周期（每个周期一名患者）。这说明，虽然一次取卵成功妊娠的难治性不孕患者数量较少，但超过 70%的患者经过两次取卵后可以获得满意的受精结果。

纳入本研究的 31 例患者中，超过一半（66.7%）使用了微刺激进行取卵，这表明微刺激可能更适合大多数难治性不孕患者。

关于囊胚培养，使用初始胚胎的 62 个周期中有 83.9%获得了囊胚，表明囊胚培养成功率高。当考虑取卵周期的数量时，除了有四个周期的初始胚胎没有完全培养成囊胚，在其余 68 个周期中的 52 个周期（76.5%）成功培养了囊胚，这表明大约四分之一的取卵周期未能培养出囊胚。

PGT-A 结果显示 43 个囊胚（36.4%）为非整倍体，56 个囊胚（47.5%）为整倍体，19 个囊胚（16.1%）为嵌合体。

仅 7 例（22.6%）患者在第二次移植后成功妊娠，而其余 24 例（77.4%）患者在第一次移植后成功妊娠。这项研究中纳入的所有患者均健康分娩，没有任何流产。此外，接受二阶段移植的两位患者都产下了双胞胎。

综合 PGT-A 结果和活产率来看，尽管通过 PGT-A 获得囊胚可能导致一些胚胎损失，但一旦获得合格囊胚，移植成功率和活产率相对乐观。

对研究中纳入的患者的 DE T-1 和 Sho-ko-sen 使用的分析

在纳入研究的患者中，10 例（32.3%）使用了 3 包 DE T-1 和 6 粒 Sho-ko-sen 胶囊，18 例（58.1%）使用了 4 包 DE T-1 和 6 粒 Sho-ko-sen 胶囊，3 例（9.7%）使用了 5 包 DE T-1 和 9 粒 Sho-ko-sen 胶囊。在考虑到超过 50%的患者服用了 4 包 DE T-1 和 6 粒 Sho-ko-sen 胶囊后，估计患者的基线状况较差，且服用了更高的剂量。在这项研究中，只分析了治疗持续时间[到妊娠诊断结束]，从 4 个月到 45 个月不等，其中一半的患者至少服用了 10 个月。此外，大多数患者在获得阳性妊娠试验结果后，继续根据指导服用 DE T-1 和 Sho-ko-sen，相关结果未包括在本研究的分析中。

DE T-1 和 Sho-ko-sen 的作用机制分析

DE T-1 的作用机制：蒲公英是一种中药，在日本和中国有着悠久的使用历史。近年来蒲公英多糖受到广泛研究，多项研究发现其具有抗氧化、抗自由基、保肝、降血糖、促进生长因子分泌、抗肿瘤等多种功能。

DE T-1 的主要成分是蒲公英氨基多糖类化合物，后者是一种氨基糖化合物。前期研究[8、9]表明，服用 DE T-1 可以提高 IVF-ET 治疗的成功率，增加活产率，让不同年龄和 AMH 值的女性受益。

其作用机制可能是 DE T-1 可显著提高患者的囊胚获得率，使患者有更多的囊胚可供胚胎移植。FSH 受体是颗粒细胞中唯一的受体。研究[3，12]表明，蒲公英提取物可增加颗粒细胞表面受体和 FSH、LH 等生殖激素的受体活性，从而促进生长激素分泌来增加颗粒细胞数量，延缓颗粒细胞凋亡，促进卵泡发育和排卵。其作用机制涉及多器官、多途径、多靶点。由于相关研究已经相对广泛，本研究未对患者的卵子、胚胎和囊胚培养进行进一步分析。

此外，前期研究表明，卵巢和子宫内膜上有多种受体，可使用 DE T-1 上调这些受体，以平衡女性生殖激素分泌[3]。蒲公英多糖还具有促进生长激素分泌和相关受体活性的能力[4、5]，在卵子生长、胚胎植入和胎儿发育中发挥作用。因此，DE T-1 有利于优质受精卵产生和囊胚植入，从而提高活产率。

Sho-ko-sen 的作用机制：Sho-ko-sen 的主要成分是从松瘤中提取的松多酚，具有抗氧化、抗炎、扩张四肢末端血管、抗血小板聚集、促进外周循环、强结缔组织、提高维生素 C 的*体外体内*活性及其生物学效应[10、13-15]。研究表明，在安慰剂组中，通过自主神经平衡试验检测到应激诱导的交感神经和副交感神经活性出现急性算术增加。然而，在摄入 Sho-ko-sen 的人群中没有观察到交感神经活动的这种增加[16]。我们以前的临床观察发现，Sho-ko-sen 能有效改善接受辅助生殖治疗的患者的子宫内膜炎症和子宫内膜血流，增强子宫内膜容受性，调节睡眠障碍和焦虑，提高治疗效果。

结论

综上所述，对于难治性不孕患者，在采用标准化 IVF 治疗的前提下，按照标准化疗程和剂量使用 DE T-1 和 Sho-ko-sen 可能有助于达到满意的治疗效果。生殖是一个复杂的生理过程，需要进一步的研究来探索 DE-T1 和 Sho- ko-sen 对不同器官（如下丘脑、垂体、卵巢和子宫内膜）的多个靶点的作用机制。本研究可为今后的前瞻性临床研究提供参考。

参考文献

1. Qiao J, Wang Y, Li X, Jiang F, Zhang Y, Ma J, et al. A Lancet Commission on 70 years of women's reproductive, maternal, newborn, child, and adolescent health in China. Lancet. 2021;397(10293):2497-2536.
2. Kim JH, Shin HS, Yun EK. A dyadic approach to infertility stress, marital adjustment, and depression on quality of life in infertile couples. J Holist Nurs. 2018;36(1):6-14.

3. Yong-Shen RE, Zheng Y, Huan DU, Lei LE, Xin DE, Xin-Qiao LI, et al. Dandelion polyphenols protect against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice via activation of the Nrf-2/HO-1 pathway and inhibition of the JNK signaling pathway. Chin J Nat Med. 2020;18(2):103-113.
4. Guo H, Zhang W, Jiang Y, Wang H, Chen G, Guo M. Physicochemical, structural, and biological properties of polysaccharides from dandelion. Molecules. 2019;24(8):1485.
5. Ren F, Wu K, Yang Y, Yang Y, Wang Y, Li J. Dandelion polysaccharide exerts anti-angiogenesis effect on hepatocellular carcinoma by regulating VEGF/HIF-1α expression. Front Pharmacol. 2020;11:460.
6. Zhi X, Honda KI, Ozaki K, Misugi T, Sumi T, Ishiko O. Dandelion T-1 extract up-regulates reproductive hormone receptor expression in mice. Int J Mol Med. 2007;20(3):287-292.
7. Wang T, Xue B, Shao H, Wang SY, Bai L, Yin CH, et al. Effect of Dandelion extracts on the proliferation of ovarian granulosa cells and expression of hormone receptors. Chin Med J. 2018;131(14):1694-1701.
8. Shao H, Ymamaguchi Y, NozakiI T, Bai L, Dong X, Yang D, et al. DE-T1 on the blastocyst obtained rate and live births rates in women receiving IVF-ET treatment. J Womens Health Dev, 2022;5(1):69-80.
9. Hui SH, Nakamoto M, Yamaguchi Y, Nozaki T, Xi D, Dongzi YA, et al. Effect of different durations of Shawkea DE-T1 administration on blastocyst obtained rate in women receiving IVF-ET treatment: A secondary analysis of a cohort study. Clinics Mother Child Health. 2022;19(7):1-7.
10. Li H, Wang Z, Xu Y, Sun G. Pine polyphenols from *Pinus koraiensis* prevent injuries induced by gamma radiation in mice. PeerJ. 2016;4:1870.
11. Gabaston J, Leborgne C, Waffo-Téguo P, Pedrot E, Richard T, Mérillon JM, et al. Separation and isolation of major polyphenols from maritime pine (*Pinus pinaster*) knots by two-step centrifugal partition chromatography monitored by LC-MS and NMR spectroscopy. J Sep Sci. 2020;43(6):1080-1088.
12. Li CL, Zhao L. Protective effect of dandelion polysaccharide on liver injury of mice with carbon tetrachloride. Chin J Appl Neurol Dis. 2010;13(17):33-35.
13. Li H, Wang Z. Comparison in antioxidant and antitumor activities of pine polyphenols and its seven biotransformation extracts by fungi. PeerJ. 2017;5:3264.
14. Shao S, Yi J, Regenstein JM, Cheng C, Zhang H, Zhao H, et al. Protective effects on 60Co-γ radiation damage of pine cone polyphenols from *Pinus koraiensis*-loaded chitosan microspheres in vivo. Molecules. 2018;23(6):1392.
15. Pazos M, Torres JL, Andersen ML, Skibsted LH, Medina I. Galloylated polyphenols efficiently reduce α-tocopherol radicals in a phospholipid model system composed of Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) micelles. J Agric Food Chem. 2009;57(11):5042-5048.
16. Li X, Horishita T, Toyohira Y, Shao H, Bai J, Bo H, et al. Inhibitory effects of pine nodule extract and its component, SJ-2, on acetylcholine-induced catecholamine secretion and synthesis in bovine adrenal medullary cells. J Pharmacol Sci. 2017;133(4):268-275.