

中药缓解年龄相关卵巢功能减退的研究进展

贾志诚¹, 李永谦², 王培璇¹, 刘洋¹, 鞠文涵¹, 连方³, 孙振高³, 郭颖^{3*}

(1. 山东中医药大学第一临床医学院, 济南 250014;

2. 山东中医药大学中医学院, 济南 250014;

3. 山东中医药大学附属医院, 济南 250011)

[摘要] 年龄相关的卵巢功能减退包括了卵泡数量、质量的下降及卵巢微环境的改变,其机制主要与线粒体功能障碍、自由基与抗氧化系统、端粒及端粒酶改变、细胞凋亡等有关,是造成高龄女性不孕症的主要因素之一。尽管生殖医学领域在近几十年取得巨大进步,但在缓解年龄相关的卵巢功能减退和改善高龄女性生殖结局方面却几乎没有取得任何突破性进展。近年来,中医药通过调整线粒体稳态、缓解氧化应激及抑制细胞凋亡等多层次、多靶点作用机制改善年龄相关的卵巢功能减退的研究越来越多,同时,较多高质量的随机对照试验证明了中医药在辅助生殖领域的临床疗效。鉴于此,该文依据近年来中药活性成分、单味中药和中药复方在延缓年龄相关卵巢功能减退的作用机制研究及随机对照试验取得的进展进行系统综述,明确其研究现状和不足,为有效缓解年龄相关的卵巢功能减退和改善高龄女性生育结局提供中医药临床用药思路。

[关键词] 卵巢功能减退; 不孕症; 高龄产妇; 中药; “三孩”政策

[中图分类号] R242;R856.2;R587.1;R255.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2023)11-0255-11

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20231595

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail//11.3495.R.20230215.1521.009.html>

[网络出版日期] 2023-02-16 11:32:35

Prevention and Treatment of Age-related Ovarian Hypofunction with Traditional Chinese Medicine: A Review

JIA Zhicheng¹, LI Yongqian², WANG Peixuan¹, LIU Yang¹,

JU Wenhan¹, LIAN Fang³, SUN Zhengao³, GUO Ying^{3*}

(1. *The First Clinical College, Shandong University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Jinan 250014, China;* 2. *College of TCM, Shandong University of TCM, Jinan 250014, China;* 3. *Affiliated Hospital of Shandong University of TCM, Jinan 250011, China*)

[Abstract] Age-related ovarian hypofunction includes a decrease in follicle quantity and quality as well as alterations in the ovarian microenvironment, the mechanisms of which are mainly related to mitochondrial dysfunction, free radical and antioxidant systems, telomere and telomerase alterations, and apoptosis, and is one of the major factors contributing to infertility in advanced maternal age (AMA). Despite the tremendous progress in assisted reproductive technology in recent decades, few breakthroughs have been made in alleviating age-related ovarian hypofunction and improving reproductive outcomes for AMA. In recent years, there has been an increasing number of studies on the multi-level and multi-targeted mechanisms of traditional Chinese medicine (TCM) to improve age-related ovarian hypofunction by modulating mitochondrial homeostasis, alleviating oxidative stress, and inhibiting apoptosis, while more high-quality randomized controlled trials have demonstrated the clinical efficacy of TCM in assisted reproductive technology. Given this, this article presented a

[收稿日期] 2022-11-16

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81804130);山东省“泰山青年学者”计划项目(tsqn202211353);济南市科技计划项目(202225005)

[第一作者] 贾志诚,在读硕士,从事中医药在辅助生殖领域的研究,E-mail:doctorjzc@163.com

[通信作者] *郭颖,博士,副主任医师,从事中医药在辅助生殖领域的研究,E-mail:71000916@sducm.edu.cn

systematic review of recent research and randomized controlled trials on the mechanism of Chinese medicine active ingredients, single Chinese medicine, and Chinese medicine compounds in delaying age-related ovarian hypofunction, to clarify the current status and shortcomings of the research. This paper provides medication management of TCM for effectively alleviating age-related ovarian hypofunction and improving reproductive outcomes for AMA.

[Keywords] decreased ovarian reserve; infertility; advanced maternal age; Chinese medicine; the three-child policy

随着全球范围内预期寿命的延长与生育意愿的推迟,卵巢衰老逐渐成为女性面临的主要生育困境^[1]。卵巢衰老的机制涉及多个方面,包括与年龄相关的卵巢功能减退和不同因素引起的卵巢早衰^[2]。在卵巢单细胞转录组景观^[3]和空间转录组景观^[4]中,与育龄期卵巢相比,在年老的卵巢中确定了具有不同基因表达特征的卵巢细胞类型,包括卵母细胞和其他卵巢体细胞,这都证明了年龄相关卵巢功能减退的特殊作用机制^[5]。越来越多的研究证明,年龄会对卵泡的数量和质量造成不可逆转的损害,而卵巢早衰仅体现在卵泡数量的下降,不会经历年龄对卵母细胞质量的影响,如胚胎发育不良、非整倍体风险升高和不良妊娠结局等^[6]。卵巢早衰中控制卵泡闭锁与卵母细胞衰老的机制与年龄相关的卵巢功能减退似乎是不同的,因此针对年龄相关的卵巢功能减退的机制有待深入研究^[7]。从二胎政策的颁布到三胎政策的出台,中国高龄女性的生育意愿日益增强^[8],数量也逐年攀升,高龄女性的卵巢功能减退问题是造成其不孕的主要原因^[9]。尽管生殖医学领域在近几十年取得巨大进步,但在补充年龄相关的卵巢功能减退和改善高龄女性生殖结局方面却几乎没有取得任何突破性进展,而中医药作为补充与替代医学的重要组成部分,受到了越来越多的关注^[10-11]。早在《黄帝内经·上古天真论》中的女子“七七理论”即对女性的生殖周期做出了详尽的描述,奠定了女性生殖衰老的中医理论基础^[12]。中医药在治疗妇科疾病方面有着悠久的历史和丰富的临床经验^[13]。近年来,中药活性成分、单味中药及中药复方在改善年龄相关的卵巢功能减退的研究中均取得了良好的效果^[14]。本研究回顾了年龄相关卵巢功能减退的可能因素,并对中医药改善年龄相关的卵巢功能减退的研究进行系统综述,明确其研究现状和不足,为有效改善高龄女性卵巢功能减退提供中医药临床用药思路,对我国“三孩”政策的实施具有重要意义。

1 年龄相关卵巢功能减退的研究进展

年龄是卵巢自然衰老的主要原因,年龄相关的卵巢功能减退包括了卵泡数量、质量的下降及卵巢微环境的改变,其机制主要与线粒体功能障碍、自由基与抗氧化系统、端粒及端粒酶改变、细胞凋亡等因素有关。

1.1 线粒体功能障碍 线粒体为细胞提供能量,是整个细胞乃至生命体进行各项生命功能活动的枢纽和核心,这一过程依赖于线粒体自身形态及功能、对抗氧化损伤及线粒体自身数量与质量的动态平衡。年龄是影响卵母细胞质量的重要原因之一^[15],而细胞内线粒体的数量会随着年龄的增长而发生变化。女性随着年龄的增长,机体的抗氧化能力逐渐降低,细胞内的氧自由基减少,活性氧(ROS)堆积,卵母细胞线粒体长期暴露在活性氧堆积的环境中^[16],线粒体出现基因突变、功能异常的可能性会增加,进而直接影响到卵母细胞的质量^[17]。线粒体拥有自己独立的遗传物质——线粒体DNA(mtDNA),是独立于核DNA(nDNA)之外、通过母系遗传的一组遗传物质。mtDNA突变与衰老表型之间的关系已经被证实,mtDNA拷贝数减少及mtDNA突变率增加导致线粒体功能异常,进而影响卵母细胞的质量及胚胎发育状况^[18]。在mtDNA聚合酶催化亚基缺陷的小鼠中,mtDNA突变的积累,使这些小鼠在9个月时开始出现过早衰老表型。大于38岁女性的卵巢颗粒细胞中,mtDNA突变率增加,抗氧化酶的活性大大降低,促进卵母细胞凋亡的激活^[19]。线粒体的分裂与融合,是线粒体数量和质量控制的基础,也是线粒体自噬的关键环节^[20],正常情况下,线粒体的融合和分裂这2个反向机制相互协调,共同维系细胞内线粒体数量及功能的动态稳定。随着女性年龄的增长,线粒体动态平衡被打破,影响卵母细胞的正常发育^[21]。

1.2 氧化应激 德纳姆·哈曼(Denham Harman)在20世纪中叶首次提出的“衰老自由基理论”,一直是衰老领域最经典、最具影响力的理论。氧化应激导

致卵巢微环境发生变化,进而导致卵巢衰老和卵泡储备的减少^[22]。在衰老过程中,ROS水平升高,而氧化防御系统相关酶的表达和活性显著降低,这些都会导致广泛的氧化损伤,包括细胞膜脂质过氧化、蛋白质氧化和酶失活和mtDNA损伤^[23-24]。氧化应激是诱导卵母细胞自噬和凋亡的主要因素之一,卵巢内ROS与抗氧化物失衡可启动细胞凋亡路径的关键信号,有研究发现颗粒细胞凋亡与ROS含量呈正相关^[25]。此外,卵巢内ROS水平与女性年龄呈正相关,卵巢基质细胞中nDNA、蛋白质和脂质的氧化损伤产物也随着年龄的增长而显著增加,高龄女性的卵母细胞、黄体细胞和卵泡液中的活性氧显著增加,而抗氧化酶减少,同时颗粒细胞卵泡刺激素(FSH)受体(FSHR)表达减少和FSHR信号通路的紊乱,这导致高龄女性对FSH的反应不佳,辅助生殖技术(ART)的成功率远低于育龄期女性^[26-27]。临床研究还表明,未受精卵或低质量胚胎中存在较高的ROS水平^[28]。中药作为天然抗氧化剂,在发挥抗氧化作用缓解卵巢功能减退方面,有着巨大的潜力。

1.3 端粒与端粒酶 端粒理论是女性年龄相关卵巢衰老的最新机制之一^[29]。端粒是染色体末端重复的DNA序列,其覆盖着染色体,防止了染色体端到端的融合。端粒长度是细胞衰老的标志,随着细胞的连续分裂而逐渐缩短,一旦端粒达到一个阈值长度,细胞周期阻滞、凋亡和基因组不稳定性将接踵而至。端粒缩短的一个重要原因是ROS的积累,ROS可以氧化富含鸟嘌呤的端粒DNA及用于维持端粒所必需的蛋白质。随着年龄增长,端粒酶缺乏和活性降低,加上长期暴露于ROS,导致端粒缩短,成为女性生殖衰老的主要机制之一^[30-31]。颗粒细胞的增殖发育和卵母细胞的质量都与端粒密切相关,颗粒细胞增殖发育减慢,将导致卵泡发育滞后,激素水平下降,卵母细胞端粒长度缩短将导致不孕、流产等不良妊娠结局^[32-33]。卵巢早衰患者颗粒细胞的端粒稳态失衡,可能与颗粒细胞分裂较慢或激素暴露异常有关,并导致端粒酶逆转录酶的表达下降^[34]。此外,端粒长度对于卵母细胞纺锤体对齐与融合和减数分裂至关重要,这两者都可以防止胚胎非整倍体的发生,并与胚胎碎片化与胚胎的发育密切相关,是健康卵母细胞和胚胎的标志^[35]。

1.4 细胞凋亡 细胞凋亡是一种程序性细胞死亡,在哺乳动物生殖细胞耗竭中起重要作用,与卵子发生、卵泡生成、卵母细胞闭锁、黄体生成等一系列

生殖生理过程密切相关。卵巢内细胞凋亡产生的细胞碎片影响卵巢微环境,导致卵泡液中游离DNA的水平增高,刺激了细胞内ROS的大量产生,最终又加剧了细胞凋亡的过程。卵母细胞的凋亡直接导致生殖细胞的丧失,而颗粒细胞凋亡导致卵巢内各种体细胞的营养匮乏,诱导卵巢微环境的代谢紊乱,加速卵泡闭锁,从而加剧卵母细胞丢失和卵巢功能的下降^[36]。在胎儿时期,细胞凋亡主要发生在卵母细胞中,而在成年后,细胞凋亡主要发生在次级卵泡的颗粒细胞。颗粒细胞凋亡可能会剥夺卵泡中卵母细胞的营养、成熟促进因子和存活因子,从而直接导致卵泡闭锁,而促凋亡因子B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)相关X蛋白(Bax)的缺失可以延长原始卵泡的维持,并延长卵巢寿命和生育能力。临床研究表明,高龄女性的颗粒细胞凋亡与卵巢储备减少、获卵数降低、非整倍体胚胎率升高相关^[37]。育龄期女性(≤ 35 岁)的颗粒细胞凋亡显著低于高龄女性,并且细胞凋亡过程似乎会损害卵母细胞和配子的成熟^[38]。年龄相关卵巢功能衰退的机制见图1。

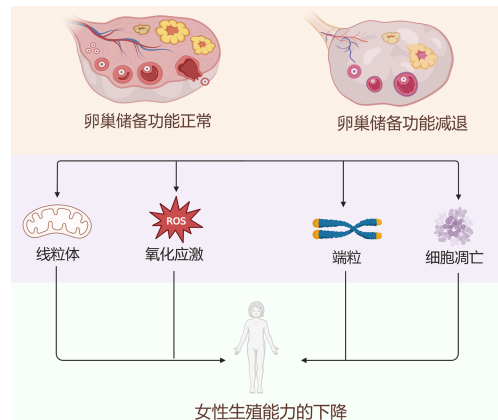


图1 年龄相关卵巢功能减退的调节机制

Fig. 1 Mechanisms of age-related ovarian hypofunction

2 中药对年龄相关卵巢功能减退的干预研究

2.1 中药活性成分及提取物干预的相关机制研究 近年来,随着高龄女性生育问题的日益突出,中药提取物受到了高度重视,其在缓解年龄相关卵巢功能减退方面也展现出相应的调节作用,目前治疗常用的单味中药及提取物主要包括白藜芦醇、槲皮素、丹参酮、黄芩苷等。

白藜芦醇是一种天然抗氧化多酚,具有抗衰老、抗氧化和抗炎活性^[39]。研究表明,白藜芦醇具有植物雌激素类作用,能够通过沉默信息调节因子(sirtuins),特别是sirt1,调节卵巢功能和类固醇发生,提高老化卵母细胞的质量,并作为配子冷冻

保护剂^[40-41]。sirt1也是体内端粒长度的正调节剂,在长期(12个月)喂养白藜芦醇的小鼠中研究发现,白藜芦醇可以防止卵巢中端粒缩短,增加端粒酶活性,并下调细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂家族p21 mRNA的表达水平,增加sirt1表达,并提高小鼠囊胚的发育速率^[42]。

槲皮素是一种具有生物活性的类黄酮,广泛存在于药用植物和食品中。在动物实验中,槲皮素已被证明可以增加卵巢体积和窦卵泡的数量,减少颗粒细胞的凋亡,减轻卵巢间质血管充血和水肿^[43]。绝经期大鼠经槲皮素灌胃90 d,提高了大鼠卵巢中氧化应激相关基因,超氧化物歧化酶-1(SOD-1)、过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽合成酶(GSS)的mRNA和蛋白表达水平,同时提高了老龄大鼠颗粒细胞的抗氧化水平,缓解了过氧化氢(H₂O₂)诱导的氧化应激相关蛋白表达的减少^[44]。

丹参酮II_A是一种从传统中草药丹参中提取的脂溶性菲醌化合物,由于其温和而广泛的治疗效果,其各种生物活性被广泛研究^[45]。老龄小鼠ROS的积累使其长期处于氧化应激状态,而丹参酮II_A上调抗氧化基因的表达,如细胞外调节蛋白激酶1/2(ERK1/2)、间隙连接蛋白37(connexin37)、人细胞信号转导分子5(Smad5)、CAT和核因子E₂相关因子2(Nrf2)的表达水平,减少卵巢氧化损伤,提高卵巢储备,从而促进卵母细胞发育^[46]。

黄芩苷是黄芩的主要成分,作为重要的类黄酮化合物之一,具有广泛的药理作用,临床常用于预防女性流产^[47]。黄芩苷上调人卵泡颗粒细胞中Bcl-2的蛋白表达水平,下调Bax和胱天蛋白酶-3(Caspase-3)的蛋白表达水平,具有抗凋亡和抗氧化应激的作用^[48]。对10月龄小鼠进行黄芩苷灌胃8周后,发现黄芩苷可以上调细胞色素P450和类固醇生成急性调节蛋白(STAR)来增加雌二醇(E₂)和孕酮的分泌,并显著抑制哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)的mRNA表达水平,这说明黄芩苷可能作为mTOR抑制剂,来改善颗粒细胞的功能和卵泡的发育^[49]。

茶黄素是从红茶中提取的天然生物活性多酚化合物,其抗氧化特性在维持人体健康和延缓衰老方面起着重要作用^[50-51]。茶黄素-3,3'-双没食子酸可以通过选择性抑制卵巢癌细胞增殖来保护女性的生育能力^[52-53]。将9月龄的老龄雌性小鼠补充茶黄素3个月后,降低了小鼠卵巢脂肪组织中的脂滴大小,并下调了小鼠卵巢组织中mTOR、p16、白细胞

介素-2(IL-2)、白细胞介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的mRNA的表达水平,减少腺嘌呤核苷三磷酸(ATP)过度生成引起的ROS积累,恢复线粒体功能。此外,与对照组老龄小鼠相比,茶黄素-3,3'-双没食子酸补充的老龄小鼠卵母细胞纺锤体排列正常,纺锤体纤维排列紧密且连续,在获卵数、受精率、囊胚形成率和囊胚数方面均有提高。在人卵泡颗粒细胞中,茶黄素-3,3'-双没食子酸降低了 α -半乳糖苷酶(α -Gal)的表达水平,延缓颗粒细胞的衰老,并上调Bcl-2/Bax,下调Bax, Caspase-3和磷酸化组蛋白H2AX(γ H2AX)等蛋白的表达水平,降低H₂O₂诱导的颗粒细胞ROS的表达水平^[54]。

亚麻木酚素是亚麻籽中的成分,是天然的抗氧化剂。亚麻木酚素可以穿透血脑屏障并积聚在生殖组织中,例如卵巢,子宫和乳房^[55]。FSHR仅存在于人卵巢颗粒细胞中,改善激素水平,并抵消血液中游离的FSH水平升高引起的更年期不适。老龄小鼠补充亚麻木酚素8周后可诱导FSHR表达,防止端粒缩短和mtDNA拷贝数减少,并且减少了ROS的产生,缓解了卵巢内的氧化应激水平^[56]。

人参是著名的抗衰老药物,具有改善女性排卵并防止卵巢早衰的作用^[57]。与6月龄小鼠相比,氧化应激关键指标如醌氧化还原酶1(Nqo1)、钙调素基因(Calm)、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)氧化酶2(Nox2)、谷胱甘肽过氧化物酶1(GSH-Px1)、SOD-2、Nrf2和CAT在12月龄小鼠的卵巢中高表达,而含有人参皂苷的培养基体外培养老龄小鼠卵巢降低了这些基因的表达,同时增加了异柠檬酸脱氢酶基因1(Idh1)的表达,改善了ROS的年龄依赖性积累,并改善了NOD样受体蛋白3(NLRP3)炎性小体的年龄相关性上调^[58]。

罗汉果苷是从罗汉果中分离出的三萜化合物^[59]。小鼠在10~44周龄时通过饮用水补充罗汉果苷,取其卵巢组织进行转录组测序RNA-seq数据显示,罗汉果苷显著增加了老龄小鼠的卵巢储备,上调了小鼠卵巢组织中与性腺发育、卵泡发育和激素分泌相关的基因表达,并通过下调TNF- α 水平减轻炎症应激,改善小鼠年龄相关的动情周期紊乱和卵巢储备下降^[60]。

石斛多糖是活性多糖的一种,具有抗炎、抗病毒和提高免疫力的功效。《本草纲目》记载“强阴益精”之石斛能“轻身延年……补肾益力,壮筋骨”。15月龄小鼠经石斛多糖灌胃10周后,其体质量、卵巢和子宫/体质量参数恢复至正常水平,并减轻了卵

巢的病理损伤。石斛多糖可以降低促炎症细胞因子 TNF- α 、IL-6 和丙二醛(MDA)水平,并改善血清中的 E₂、SOD、GSH-Px,总抗氧化能力(T-AOC)和 IL-10 水平。此外,石斛多糖提高了卵巢的线粒体膜电位(MMP),增加线粒体和内质网的数量,这些结果表明,石斛多糖可以通过保护卵巢中的线粒体来缓解卵巢损伤^[61]。

芍药是治疗痛经和不孕症等妇科疾病的常用草药^[62]。芍药在调节雌性小鼠血清激素水平、改善子宫内膜容受性和治疗排卵障碍方面均有良好的效果^[63]。芍药水提取物可增加初老小鼠卵巢血管

内皮生长因子(VEGF)、内脂素(visfatin)、卵泡发育调节因子(c-Kit)、人骨成型蛋白 15(BMP-15)、sirt1 和 sirt2 的表达,促进卵巢血管生成和卵泡发育的激活,从而达到抗卵巢衰老的效果^[64]。

天门冬具有抗氧化、抗衰老和抗凋亡的作用。sirt1 去乙酰化抑癌基因 p53 可抑制其转录活性,抑制细胞凋亡和衰老^[65]。SD 雌性大鼠补充天门冬水提取物 72 周后,可减少卵泡闭锁,缓解黄体退化,卵巢中的 sirt1 的 mRNA 水平明显高于对照组,p53 蛋白含量也明显降低^[66]。中药活性成分及提取物延缓年龄相关卵巢功能减退的作用机制见表 1。

表 1 中药活性成分及提取物延缓年龄相关卵巢功能减退的作用机制

Table 1 Mechanism of active ingredients and extracts of Chinese medicine in delaying age-related ovarian hypofunction

药物成分	动物	月龄	给药剂量、时间	调控过程	参考文献
白藜芦醇	C57/BL6 小鼠	12 月龄	7 mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹ , 饮用水补充, 12 个月	端粒 ↑, 端粒酶 ↑, p21 ↓, sirt1 ↑	[42]
槲皮素	SD 大鼠	12 月龄	12.5、25、50 mg·kg ⁻¹ , 灌胃(ig), 90 d	SOD-1 ↑, CAT ↑, GSS ↑	[44]
丹参酮 II _A	昆明小鼠	10 月龄	10、20、40 μg·g ⁻¹ ·d ⁻¹ , 腹腔注射, 2 周	ERK1/2 ↑, connexin37 ↑, CAT ↑, Smad5 ↑, Nrf2 ↑	[46]
黄芩苷	CD-1 小鼠	10 月龄	100 mg·kg ⁻¹ , ig, 60 d	Bcl-2 ↑, Bax ↓, Caspase-3 ↓, P450 ↑, STAR ↑, mTOR ↓	[49]
茶黄素	CD-1 小鼠	12 月龄	30 mg·kg ⁻¹ , ig, 90 d	mTOR ↓, p16 ↓, IL-2 ↓, IL-6 ↓, TNF- α ↓, ROS ↓, Bcl-2/Bax ↑, Bax ↓, Caspase-3 ↓, γ H2AX ↓, α -Gal ↓, 纺锤体形态 ↑	[54]
亚麻木酚素	C57/BL6 小鼠	11 月龄	7、70 mg·kg ⁻¹ , ig, 8 周	FSHR ↑, 端粒 ↑, mtDNA ↑, ROS ↓	[56]
人参皂苷	C57/BL6 小鼠	12 月龄	10 g·L ⁻¹ , 培养基体外培养	Nqo1 ↓, calm ↓, Nrf2 ↓, Nox2 ↓, SOD-2 ↓, CAT ↓, GSH-Px1 ↓, Idh1 ↑, NLRP3 ↓	[58]
罗汉果苷	ICR 小鼠	11 月龄	600 mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹ , 饮用水补充 10 月	TNF- α ↓, RNA-seq 测序显示上调了小鼠卵巢组织中与性腺发育、卵泡发育和激素分泌相关的基因	[60]
石斛多糖	C57/BL6 小鼠	15 月龄	70 mg·kg ⁻¹ , ig, 10 周	TNF- α ↓, IL-6 ↓, MDA ↓, E ₂ ↑, SOD ↑, GSH-Px ↑, T-AOC ↑, IL-10 ↑, MMP ↑, 内质网数量 ↑	[61]
芍药水提取物	C57/BL6 小鼠	9 月龄	26.5/53 mg·kg ⁻¹ , ig, 4 周	VEGF ↑, visfatin ↑, C-Kit ↑, BMP-15 ↑, GDF-9 ↑, sirt1 ↑, sirt2 ↑	[64]
天门冬水提取物	SD 大鼠	18 月龄	12 g·L ⁻¹ , 饮用水补充, 72 周	sirt1 ↑, p53 ↓	[66]

注: ↑, 升高; ↓, 降低(表 2 同)

2.2 中药复方干预的机制研究 中医在治疗不育症与延缓衰老方面有诸多经典名方,如左归丸、毓麟珠等,其药简效专,临床上经常用于治疗绝经期综合征、卵巢早衰、骨质疏松等衰老性疾病,其在缓解年龄相关卵巢功能减退方面也取得一定进展。

左归丸具有滋阴补肾、填精益髓之功,是经典的补肾名方^[67]。将 11 月龄小鼠灌胃给药左归丸 60 d,与对照组相比,实验组小鼠卵母细胞线粒体结构改善且数目显著增多,MMP 明显升高,ATP 含量明显提高,过氧化物酶体增殖激活受体辅助活化因子-1 α (PCG-1 α)、视神经萎缩蛋白 1(OPA1)和 PTEN 诱导假定激酶 1(PINK1)表达明显上调,这表明左归丸可通过线粒体动力学途径改善自然衰老小鼠

的卵母细胞质量下降^[68]。

毓麟珠出自《景岳全书》,主治妇人气血俱虚、经脉不调,是治疗不孕症的常用方。毓麟珠能改善老龄小鼠的血清激素水平,通过减少老龄小鼠卵巢内 ROS、MDA,增加 GSH-Px 表达水平,缓解氧化应激,并提高 MMP,改善卵母细胞线粒体功能,进而改善自然衰老小鼠的卵巢功能^[69]。

二仙汤能补肾精、调冲任,是张伯讷教授针对围绝经期综合征研制的名方^[70]。二仙汤可以显著提高老龄小鼠卵巢颗粒细胞的 ATP 含量,改善线粒体的数目和结构,提高 MMP,促进线粒体增生有关的 PGC-1 α 和融合有关的 OPA1 及和自噬有关的 PINK1 的表达水平,通过调节线粒体功能缓解小鼠

的卵巢衰老^[71]。

国医大师夏桂成教授组方“补肾健脾方”用于防治卵巢早衰,具有良好的临床疗效,能明显改善卵巢早衰患者围绝经期症状^[72]。对12月龄初老小鼠进行补肾健脾方灌胃干预4周,能提高老龄小鼠的雌激素水平,促进卵泡的发育,抑制卵巢颗粒细胞的凋亡,并增加卵巢端粒酶的活性和端粒长度^[73]。

二至天葵方是全国名中医连方教授的经验方,用于改善高龄不孕女性的妊娠结局,在临床应用十余载,取得了良好的临床效果^[74]。在动物实验中,二至天葵方能够提高老龄小鼠的受精率,在二细胞、四细胞、八细胞、桑椹胚及囊胚期的MMP均高于相同细胞时期的对照组小鼠,表明二至天葵方能够通过改善老龄小鼠胚胎MMP,进而改善卵母细胞

质量及早期胚胎的发育潜能^[75]。

在其他经验方中,如乌萸汤可通过腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)/PGC-1 α 通路改善初老小鼠线粒体能量代谢及氧化应激状态,促进卵母细胞成熟,从而改善卵母细胞功能^[76-77]。温肾养血方改善老龄小鼠卵母细胞和受精卵中的线粒体DNA拷贝数,提高卵母细胞质量和胚胎发育潜能^[78]。韩国传统草药复方 Samul-tang,临床常用于治疗与年龄相关的疾病,研究表明 Samul-tang 能上调神经纤维瘤1(Nf1),成纤维细胞生长因子13(Fgf13),鸟嘌呤核苷酸结合蛋白[G蛋白 γ 亚基8(Gng8)]和RAS蛋白特异性鸟嘌呤核苷酸释放因子1(Rasgrf1)的表达,改善年龄引起的小鼠囊胚发育能力的下降,并提高小鼠胚胎植入率^[79-80]。中药复方延缓年龄相关卵巢功能减退的作用机制见表2。

表2 中药复方延缓年龄相关卵巢功能减退的作用机制

Table 2 Mechanism of Chinese herbal compounds in delaying age-related ovarian hypofunction

药物	动物	月龄	给药剂量、时间	调控过程	参考文献
左归丸	昆明小鼠	11	1.2、12、30 g·kg ⁻¹ , ig, 60 d	MMP \uparrow , ATP \uparrow , PCG-1 α \uparrow , OPA1 \uparrow , PINK1 \uparrow	[68]
毓麟珠	BALB/c小鼠	9	0.468 g·mL ⁻¹ , 0.3 mL·d ⁻¹ , ig, 6周	ROS \downarrow , MDA \downarrow , GSH-Px \uparrow , MMP \uparrow	[69]
二仙汤	昆明小鼠	11	30 g·kg ⁻¹ , ig, 8周	ATP \uparrow , MMP \uparrow , PCG-1 α \uparrow , OPA1 \uparrow , PINK1 \uparrow	[71]
补肾健脾方	BALB/c小鼠	12	1.7 g·mL ⁻¹ , ig, 4周	E ₂ \uparrow , 端粒 \uparrow , 端粒酶 \uparrow	[73]
二至天葵方	昆明小鼠	12	0.1 g·d ⁻¹ , ig, 10 d	MMP \uparrow	[75]
乌萸汤	C57BL/6J小鼠	6	4.8 g·mL ⁻¹ , ig, 7 d	AMPK- α \uparrow , PGC-1 α \uparrow , Nrf1 \uparrow , Nrf2 \uparrow , ATP \uparrow , MMP \uparrow , SOD \uparrow , ROS \downarrow	[77]
温肾养血方	ICR小鼠	8	浓缩药液, ig, 10 d	mtDNA \uparrow	[78]
Samul-tang	BALB/c小鼠	10	2.5 g·kg ⁻¹ , ig, 4周	Nf1 \uparrow , Fgf13 \uparrow , Gng8 \uparrow , Rasgrf1 \uparrow	[79]

2.3 中药改善高龄女性体外受精-胚胎移植技术(IVF-ET)结局的临床观察研究 年龄是影响生育的独立危险因素之一,女性生殖能力下降始于35岁左右,至51岁左右卵泡衰竭而生殖能力告终,故中国将35岁以上的女性定义为高龄孕妇^[81]。高龄女性的生育力下降反映在多个方面,主要体现在年龄相关的卵巢储备功能下降。虽然IVF-ET给高龄不孕妇女带来了新的希望,但高龄女性的IVF-ET管理仍是生殖医学界的难题^[82]。在控制性促排卵期间,相比育龄期女性,高龄不孕女性面临促性腺激素类药物(Gn)使用量大,获卵数低,可用胚胎少,非整倍体率高等问题,且临床缺乏相关治疗药物。近几年随着中医药与辅助生殖技术的不断结合与发展,已有较多高质量的随机对照试验证明了中草药可改善高龄不孕女性IVF结局的临床疗效。

野菱角 *Trapa bispinosa*, 又叫菱角,是一年生浮

叶水生草本植物,在江、浙一带已有3 000年的栽培历史。在日本进行的前瞻性随机对照研究中,对接受IVF-ET的高龄女性补充菱角皮提取物,结果显示其通过降低血清中晚期糖基化终末产物(AGEs)的相对表达水平来改善高龄女性的IVF结局^[83]。

二至天葵方是全国名中医连方教授的经验方,用于改善高龄不孕女性的妊娠结局,临床研究表明,二至天葵方可通过调控卵泡液和颗粒细胞来改善高龄女性的IVF结局^[84]。二至天葵方通过上调卵泡液中视黄醇结合蛋白-4(RBP-4)的含量,抑制卵巢颗粒细胞中膜联蛋白A5(Annexin A5)的表达^[85],且通过凋亡抑制蛋白(c-FLIP)抑制Fas介导的凋亡通路,进而抑制颗粒细胞凋亡^[86];通过激活转化生长因子- β (TGF- β)/Smads信号通路,上调GATA-4关键转录因子的表达^[87],提高卵泡液颗粒细胞TGF- β 的mRNA表达水平^[88],进而促进颗粒细胞增殖分化^[89];降低卵泡液AGEs及颗粒细胞中AGEs的

mRNA 表达水平,改善卵泡微环境^[90];抑制核转录因子- κ B(NF- κ B)信号转导通路,下调单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)表达,降低母胎界面免疫排斥作用,提高高龄不孕女性的子宫内膜容受性等。

此外,还有定坤丹、右归丸、六味地黄丸等经典

名方,在临床中广泛应用于改善高龄女性的 IVF 结局,在其活产率、临床妊娠率、优胚率、可用胚胎率、双原核受精率、获卵数、周期取消率和 Gn 用量等不同阶段均有改善。中药改善 IVF-ET 结局的临床疗效见表 3。

表 3 中药改善高龄女性 IVF-ET 结局的随机对照实验

Table 3 Randomized controlled trials of herbal medicines to improve IVF-ET outcomes for advanced maternal age

中药	中医证型	年龄/岁	用药剂量、时间	结局改善	参考文献
菱角皮提取物	不详	38~42	100 mg, 1 次/d, 整个孕产期	①②④⑤⑥	[83]
温肾养血汤预培方	肾虚血瘀	35~49	150 mL, 2 次/d, 3 个月经周期	①②③⑤⑥⑦⑧	[91]
益经汤	肾阴虚	≥35	1 次/d, 3 个月经周期	③④⑤⑥⑦⑧	[92]
滋水涵木方	肝肾两虚	35~45	150 mL, 2 次/d, 2 个月经周期	①②③⑤⑥	[93]
补益肝肾、活血养血中药	肾阳虚	36~42	1 次/d, 2 个月经周期	①②③⑤⑥⑦⑧	[94]
七子育嗣汤	肾气虚	35~49	1 次/d, 月经期至取卵日	②③④⑤⑥	[95]
定坤丹	不详	35~45	7 g, 2 次/d, 1 个月经周期	②③④⑤⑥⑦⑧	[96]
滋肾养肝活血汤	肝肾两虚	35~45	150 mL, 2 次/d, 2 个月经周期	③④⑤⑥⑦⑧	[97]
二至天葵方	肾气阴虚	35~44	3 g, 2 次/d, 月经初期至取卵日	②③⑤⑥⑧	[98]
右归胶囊	肾阳虚	35~42	4 粒, 3 次/d, 月经期至取卵日	②④⑤⑥	[99]
六味地黄颗粒	肾阴虚	35~42	6 g, 3 次/d, 3 个月经周期	②④⑤⑥	[100]

注:①活产率;②临床妊娠率;③优胚率;④可用胚胎率;⑤双原核受精率;⑥获卵数;⑦收起取消率;⑧Gn用量

3 总结与讨论

年龄引起的卵巢衰老先于身体其他组织或器官的衰老,这使得卵巢衰老与女性围绝经期之间存在巨大的时间差,高龄女性往往忽视了卵巢衰老所带来的生殖功能的减退^[101]。除了卵母细胞数量的减少外,卵母细胞质量的平行下降对高龄女性生育能力的影响同样重要,但具体分子生物学机制仍然知之甚少。目前研究年龄相关的卵巢功能减退,其机制主要与线粒体功能障碍、自由基与抗氧化系统、端粒及端粒酶改变、细胞凋亡等因素有关,临床表现为非整倍体胚胎增多和不良妊娠结局。

中医认为高龄女性不孕以肾虚为本,临床用药之经验方或经典方,其组方以补肾中药为主,其作用机制主要涉及维持线粒体稳态和抗氧化机制等^[102]。对于衰老相关疾病,以“治未病”为核心的中医养生理论,为延缓衰老相关疾病提供理论借鉴^[103]。同时,在中药有效成分缓解年龄相关的卵巢功能减退的相关研究中,大多出自“药食同源”的中药,如石斛多糖,人参多糖,茶黄素等,临床中药组方中也有较多的“药食同源”中药,这是中医“养生”思想的又一重要体现^[104]。

虽然中药在缓解年龄相关的卵巢功能减退方面取得了一定的进展,但目前该领域的研究仍存在

较多的问题:①对于年龄相关的卵巢功能减退的研究,自然衰老动物模型的月龄不尽相同,不同研究之间的中药给药周期及剂量差别也较大;②中药缓解年龄相关的卵巢功能减退机制研究与研究卵巢早衰的机制大多趋同,并未对年龄相关的卵巢功能减退的机制进行创新性探索;③目前大部分的研究只是验证了中医药在缓解年龄相关卵巢功能减退的标志靶点,未深入研究中医药对其调控机制的上下游靶点。

年龄相关的卵巢功能减退是一个漫长且复杂的过程,其发病机制现在还未研究透彻,临床治疗的药物尚未被开发,药物研发仍是防治年龄相关的卵巢功能减退的重要一步。“治未病”与“药食同源”的中医养生理论,在延缓年龄相关卵巢功能减退的研究及药物开发方面具有重要的指导意义。

[参考文献]

[1] SUN H, GONG T T, JIANG Y T, et al. Global, regional, and national prevalence and disability-adjusted life-years for infertility in 195 countries and territories, 1990-2017: Results from a global burden of disease study, 2017[J]. Aging (Albany NY), 2019, 11 (23): 10952-10991.

[2] PINHEIRO R L, AREIA A L, MOTA PINTO A, et al.

- Advanced maternal age: Adverse outcomes of pregnancy, a Meta-analysis[J]. *Acta Med Port*, 2019, 32(3):219-226.
- [3] WANG S, ZHENG Y, LI J, et al. Single-cell transcriptomic atlas of primate ovarian aging[J]. *Cell*, 2020, 180(3):585-600.
- [4] RUSS J E, HAYWOOD M E, LANE S L, et al. Spatially resolved transcriptomic profiling of ovarian aging in mice[J]. *iScience*, 2022, 25(8):104819.
- [5] RUTH K S, DAY F R, HUSSAIN J, et al. Genetic insights into biological mechanisms governing human ovarian ageing[J]. *Nature*, 2021, 596(7872):393-397.
- [6] FOUKS Y, PENZIAS A, NEUHAUSSER W, et al. A diagnosis of diminished ovarian reserve does not impact embryo aneuploidy or live birth rates compared to patients with normal ovarian reserve [J]. *Fertil Steril*, 2022, 118(3):504-512.
- [7] CHRISTENSEN M W, KESMODEL U S, CHRISTENSEN K, et al. Early ovarian ageing: Is a low number of oocytes harvested in young women associated with an earlier and increased risk of age-related diseases? [J]. *Hum Reprod*, 2020, 35(10):2375-2390.
- [8] JING W, LIU J, MA Q, et al. Fertility intentions to have a second or third child under China's three-child policy: A national cross-sectional study [J]. *Hum Reprod*, 2022, 37(8):1907-1918.
- [9] LI H, NAWSHERWAN, FAN C, et al. The trend in delayed childbearing and its potential consequences on pregnancy outcomes: A single center 9-years retrospective cohort study in Hubei, China [J]. *BMC Pregnancy Childbirth*, 2022, 22(1):514.
- [10] 蒋励, 陈耀龙, 罗旭飞等. 中国高龄不孕女性辅助生殖临床实践指南[J]. *中国循证医学杂志*, 2019, 19(3):253-270.
- [11] UBALDI F M, CIMADOMO D, VAIARELLI A, et al. Advanced maternal age in IVF: Still a challenge? The present and the future of its treatment [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2019, 10:94.
- [12] 李今庸. 《素问》“女子七七”、“男子八八”解[J]. *湖北中医杂志*, 1982(1):31.
- [13] 孙爱军, 唐旭东, 张巧利, 等. 卵巢储备功能降低不孕症中西医结合治疗的理论与临床研究探讨[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(8):148-157.
- [14] FENG J, WANG J, ZHANG Y, et al. The efficacy of complementary and alternative medicine in the treatment of female infertility [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 2021:6634309.
- [15] CHIANG J L, SHUKLA P, PAGIDAS K, et al. Mitochondria in ovarian aging and reproductive longevity[J]. *Ageing Res Rev*, 2020, 63:101168.
- [16] LIM J, LUDERER U. Oxidative damage increases and antioxidant gene expression decreases with aging in the mouse ovary[J]. *Biol Reprod*, 2011, 84(4):775-782.
- [17] SHOUBRIDGE E A, WAI T. Mitochondrial DNA and the mammalian oocyte[J]. *Curr Top Dev Biol*, 2007, 77:87-111.
- [18] BONOMI M, SOMIGLIANA E, CACCIATORE C, et al. Blood cell mitochondrial DNA content and premature ovarian aging [J]. *PLoS One*, 2012, 7(8):e42423.
- [19] CECCHINO G N, GARCIA-VELASCO J A. Mitochondrial DNA copy number as a predictor of embryo viability [J]. *Fertil Steril*, 2019, 111(2):205-211.
- [20] SEBASTIÁN D, PALACÍN M, ZORZANO A. Mitochondrial dynamics: Coupling mitochondrial fitness with healthy aging[J]. *Trends Mol Med*, 2017, 23(3):201-215.
- [21] ISHIHARA T, KOHNO H, ISHIHARA N. Physiological roles of mitochondrial fission in cultured cells and mouse development[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2015, 1350:77-81.
- [22] UDAGAWA O, ISHIHARA T, MAEDA M, et al. Mitochondrial fission factor Drp1 maintains oocyte quality via dynamic rearrangement of multiple organelles[J]. *Curr Biol*, 2014, 24(20):2451-2458.
- [23] DIZDAROGLU M, JARUGA P. Mechanisms of free radical-induced damage to DNA [J]. *Free Radic Res*, 2012, 46(4):382-419.
- [24] SUGINO N. Reactive oxygen species in ovarian physiology[J]. *Reprod Med Biol*, 2005, 4(1):31-44.
- [25] BISWAS S K. Does the interdependence between oxidative stress and inflammation explain the antioxidant paradox? [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016:5698931.
- [26] WANG S, HE G, CHEN M, et al. The role of antioxidant enzymes in the ovaries [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017:4371714.
- [27] SHI L, ZHANG J, LAI Z, et al. Long-term moderate oxidative stress decreased ovarian reproductive function by reducing follicle quality and progesterone production [J]. *PLoS One*, 2016, 11(9):e0162194.
- [28] ZHANG X, WU X Q, LU S, et al. Deficit of mitochondria-derived ATP during oxidative stress impairs mouse MII oocyte spindles [J]. *Cell Res*, 2006,

- 16(10):841-850.
- [29] KALMBACH K H, ANTUNES D M, KOHLRAUSCH F, et al. Telomeres and female reproductive aging [J]. *Semin Reprod Med*, 2015, 33(6):389-395.
- [30] COLUZZI E, LEONE S, SGURA A. Oxidative stress induces telomere dysfunction and senescence by replication fork arrest [J]. *Cells*, 2019, 8(1):19.
- [31] TARDAT M, DÉJARDIN J. Telomere chromatin establishment and its maintenance during mammalian development [J]. *Chromosoma*, 2018, 127(1):3-18.
- [32] CHENG E H, CHEN S U, LEE T H, et al. Evaluation of telomere length in cumulus cells as a potential biomarker of oocyte and embryo quality [J]. *Hum Reprod*, 2013, 28(4):929-936.
- [33] KEEFE D L, LIU L, MARQUARD K. Telomeres and aging-related meiotic dysfunction in women [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2007, 64(2):139-143.
- [34] YAMADA-FUKUNAGA T, YAMADA M, HAMATANI T, et al. Age-associated telomere shortening in mouse oocytes [J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2013, 11:108.
- [35] KEEFE D L. Telomeres and genomic instability during early development [J]. *Eur J Med Genet*, 2020, 63(2):103638.
- [36] SADRAIE S H, SAITO H, KANEKO T, et al. Effects of aging on ovarian fecundity in terms of the incidence of apoptotic granulosa cells [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2000, 17(3):168-173.
- [37] YANG H, XIE Y, YANG D, et al. Oxidative stress-induced apoptosis in granulosa cells involves JNK, p53 and Puma [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(15):25310-25322.
- [38] TESARIK J, GALÁN-LÁZARO M, MENDOZA- TESARIK R. Ovarian aging: Molecular mechanisms and medical management [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(3):1371.
- [39] PASQUARIELLO R, VERDILE N, BREVINI T, et al. The role of resveratrol in mammalian reproduction [J]. *Molecules*, 2020, 25(19):4554.
- [40] CHEN M, HE C, ZHU K, et al. Resveratrol ameliorates polycystic ovary syndrome via transzonal projections within oocyte-granulosa cell communication [J]. *Theranostics*, 2022, 12(2):782-795.
- [41] WU M, MA L, XUE L, et al. Resveratrol alleviates chemotherapy-induced oogonial stem cell apoptosis and ovarian aging in mice [J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11(3):1030-1044.
- [42] LIU M, YIN Y, YE X, et al. Resveratrol protects against age-associated infertility in mice [J]. *Hum Reprod*, 2013, 28(3):707-717.
- [43] BEAZLEY K E, NURMINSKAYA M. Effects of dietary quercetin on female fertility in mice: Implication of transglutaminase 2 [J]. *Reprod Fertil Dev*, 2016, 28(7):974-981.
- [44] WANG J, QIAN X, GAO Q, et al. Quercetin increases the antioxidant capacity of the ovary in menopausal rats and in ovarian granulosa cell culture *in vitro* [J]. *J Ovarian Res*, 2018, 11(1):51.
- [45] CHEN Z Z, GONG X. Tanshinone II_A contributes to the pathogenesis of endometriosis via renin angiotensin system by regulating the dorsal root ganglion axon sprouting [J]. *Life Sci*, 2020, 240:117085.
- [46] BAI L, HE G, GAO C, et al. Tanshinone II_A enhances the ovarian reserve and attenuates ovarian oxidative stress in aged mice [J]. *Vet Med Sci*, 2022, 8(4):1617-1625.
- [47] QI X, LI H, CONG X, et al. Baicalin increases developmental competence of mouse embryos *in vitro* by inhibiting cellular apoptosis and modulating HSP70 and DNMT expression [J]. *J Reprod Dev*, 2016, 62(6):561-569.
- [48] ZHONG X H, ZHOU Z X, LI T S, et al. Anti-abortive effect of Radix scutellariae and Rhizoma atracylodes in mice [J]. *Am J Chin Med*, 2002, 30(1):109-117.
- [49] FAN H, HE J, BAI Y, et al. Baicalin improves the functions of granulosa cells and the ovary in aged mice through the mTOR signaling pathway [J]. *J Ovarian Res*, 2022, 15(1):34.
- [50] HE J, YAO G, HE Q, et al. Theaflavin 3, 3'-digallate delays ovarian aging by improving oocyte quality and regulating granulosa cell function [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021:7064179.
- [51] LEUNG L K, SU Y, CHEN R, et al. Theaflavins in black tea and catechins in green tea are equally effective antioxidants [J]. *J Nutr*, 2001, 131(9):2248-2251.
- [52] LUO L L, HUANG J, FU Y C, et al. Effects of tea polyphenols on ovarian development in rats [J]. *J Endocrinol Invest*, 2008, 31(12):1110-1118.
- [53] GAO Y, RANKIN G O, TU Y, et al. Theaflavin-3, 3'-digallate decreases human ovarian carcinoma OVCAR-3 cell-induced angiogenesis via Akt and Notch-1 pathways, not via MAPK pathways [J]. *Int J Oncol*, 2016, 48(1):281-292.
- [54] TU Y, KIM E, GAO Y, et al. Theaflavin-3, 3'-digallate

- induces apoptosis and G₂ cell cycle arrest through the Akt/MDM2/p53 pathway in cisplatin-resistant ovarian cancer A2780/CP70 cells[J]. *Int J Oncol*, 2016, 48(6): 2657-2665.
- [55] HE X, WANG Y, WU M, et al. Secoisolariciresinol diglucoside improves ovarian reserve in aging mouse by inhibiting oxidative stress [J]. *Front Mol Biosci*, 2021, 8: 806412.
- [56] SETCHELL K D, BROWN N M, ZIMMERNECHEMIAS L, et al. Metabolism of secoisolariciresinol-diglycoside the dietary precursor to the intestinally derived lignan enterolactone in humans [J]. *Food Funct*, 2014, 5(3): 491-501.
- [57] ZHU L, LI J, XING N, et al. American ginseng regulates gene expression to protect against premature ovarian failure in rats[J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 767124.
- [58] CHEI S, OH H J, JANG H, et al. Korean red Ginseng suppresses the expression of oxidative stress response and NLRP3 inflammasome genes in aged C57BL/6 mouse ovaries[J]. *Foods*, 2020, 9(4): 526.
- [59] LI C, LIN L M, SUI F, et al. Chemistry and pharmacology of *Siraitia grosvenorii*: A review [J]. *Chin J Nat Med*, 2014, 12(2): 89-102.
- [60] DU Y, LIU J, LIU S, et al. Mogroside-rich extract from *Siraitia grosvenorii* fruits protects against the depletion of ovarian reserves in aging mice by ameliorating inflammatory stress [J]. *Food Funct*, 2022, 13(1): 121-130.
- [61] WU Y Y, LIANG C Y, LIU T T, et al. Protective roles and mechanisms of polysaccharides from *Dendrobium officinale* on natural aging-induced premature ovarian failure[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 101: 953-960.
- [62] JIA W, WANG X, XU D, et al. Common traditional Chinese medicinal herbs for dysmenorrhea [J]. *Phytother Res*, 2006, 20(10): 819-824.
- [63] ONG M, CHENG J, JIN X, et al. Paeoniflorin extract reverses dexamethasone-induced testosterone over-secretion through downregulation of cytochrome P450 17A1 expression in primary murine theca cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 229: 97-103.
- [64] PARK M J, HAN S E, KIM H J, et al. Paeonia lactiflora improves ovarian function and oocyte quality in aged female mice [J]. *Anim Reprod*, 2020, 17(2): e20200013.
- [65] CHEN C, ZHOU M, GE Y, et al. SIRT1 and aging related signaling pathways [J]. *Mech Ageing Dev*, 2020, 187: 111215.
- [66] 刘洋,何川,江威,等. 苗药天门冬对衰老大鼠卵巢保护作用[J]. *辽宁中医杂志*, 2019, 46(2): 366-369.
- [67] 杨振博,姚建平,封银曼,等. 左归丸治疗老年疾病的研究进展[J]. *中国中医药现代远程教育*, 2018, 16(4): 146-149.
- [68] 赵新永,孙岩,赵鸿森,等. 左归丸对自然衰老小鼠卵母细胞线粒体功能的改善作用[J]. *中药新药与临床药理*, 2020, 31(8): 924-929.
- [69] YANG Z, WEI M L, DONG X Y. Effects of Yu Linzhu on ovarian function and oocyte mitochondria in natural aging mice [J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(19): 23328-23337.
- [70] WANG Y, LOU X T, SHI Y H, et al. Erxian decoction, a Chinese herbal formula, for menopausal syndrome: An updated systematic review [J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 234: 8-20.
- [71] 赵新永,王丽君,周飞. 二仙汤对自然衰老小鼠卵巢颗粒细胞线粒体的改善作用[J]. *中药药理与临床*, 2019, 35(4): 10-14.
- [72] 王海丹,朱萱萱. 不同浓度补肾健脾方对卵巢颗粒细胞增殖作用的影响[J]. *河南中医*, 2017, 37(6): 1005-1007.
- [73] 王海丹,陆葳,郭红玉,等. 补肾健脾对自然衰老小鼠卵巢端粒的调控作用[J]. *中华中医药杂志*, 2021, 36(9): 5191-5194.
- [74] 李然,郭颖. 基于网络药理学及分子对接探讨二至天葵方治疗女性不孕症的作用机制[J]. *中国药理学通报*, 2022, 38(1): 126-133.
- [75] 郭颖,连方. 二至天葵颗粒对初老小鼠胚胎线粒体膜电位及发育潜能的影响[J]. *山东医药*, 2016, 56(42): 43-45.
- [76] 付寒雪,赵嘉静,黄文玲. 基于 AMPK/PGC-1 α 信号通路探讨乌黄汤对初老小鼠卵母细胞的作用机制 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2022, 31(12): 1624-1629.
- [77] 郑凌琦,黄文玲,刘艳霞,等. 乌黄汤对高龄小鼠卵母细胞的能量代谢相关影响[J]. *环球中医药*, 2021, 14(6): 1020-1027.
- [78] 辛明蔚,何军琴,贾朝霞,等. 温肾养血方提高高龄雌鼠卵母细胞质量和胚胎发育潜能的研究[J]. *首都医科大学学报*, 2018, 39(6): 815-820.
- [79] KIM J, YOU S. Samul-tang ameliorates oocyte damage due to cyclophosphamide-induced chronic ovarian dysfunction in mice [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 21925.
- [80] KIM J, YOU S. Effect of samul-tang on female fertility via RAS signaling pathway in ovaries of aged mice [J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(11): 14829-14842.
- [81] No authors listed. Infertility workup for the women's

- health specialist: ACOG committee opinion, number 781[J]. *Obstet Gynecol*, 2019, 133(6): e377-e384.
- [82] DONG M, SUN L, HUANG L, et al. Gonadotropin-releasing hormone agonist combined with hormone replacement therapy does not improve the reproductive outcomes of frozen-thawed embryo transfer cycle in elderly patients: A retrospective study[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2020, 18(1): 73.
- [83] JINNO M, NAGAI R, TAKEUCHI M, et al. *Trapa bispinosa* Roxb. extract lowers advanced glycation end-products and increases live births in older patients with assisted reproductive technology: A randomized controlled trial[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2021, 19(1): 149.
- [84] 连方, 相珊. 二至天葵方对IVF-ET患者颗粒细胞凋亡的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2017, 37(11): 1315-1319.
- [85] 李明. 二至天葵颗粒对肾气阴两虚型高龄IVF-ET患者卵泡液RBP-4及颗粒细胞AnnexinA5的影响[D]. 济南: 山东中医药大学, 2016.
- [86] 宫政. 从c-FLIP因子观察二至天葵颗粒对卵巢颗粒细胞凋亡的影响[D]. 济南: 山东中医药大学, 2016.
- [87] 李婷婷. 二至天葵颗粒对卵泡颗粒细胞Fas通路的影响[D]. 济南: 山东中医药大学, 2016.
- [88] 杨欢. 二至天葵颗粒对IVF-ET患者卵泡液颗粒细胞TGF β_1 mRNA表达的影响[D]. 济南: 山东中医药大学, 2013.
- [89] 李冉. 基于TGF- β /Smads通路探讨补肾中药对高龄肾阴虚型IVF患者卵细胞质量的影响[D]. 济南: 山东中医药大学, 2017.
- [90] 宁桂君. 补肾中药对高龄肾阴虚型IVF患者AGEs、RAGE mRNA及治疗结局的影响[D]. 济南: 山东中医药大学, 2017.
- [91] 何军琴, 朱萍, 李梦元, 等. 中药序贯周期疗法对高龄卵巢低反应患者在IVF-ET技术中的疗效观察[J]. *中国中西医结合杂志*, 2020, 40(9): 1032-1037.
- [92] 洪艳丽, 谈勇, 殷燕云, 等. 益经汤联合高孕激素状态下促排卵方案在高龄女性体外受精-胚胎移植中的应用[J]. *中华中医药杂志*, 2019, 34(7): 3315-3319.
- [93] 康敏霞, 崔蕾蕾, 黄银娟, 等. 滋水涵木方对高龄卵巢储备功能下降患者子宫血流参数、内分泌功能及体外受精周期结局的影响[J]. *中医学报*, 2022, 37(5): 1092-1097.
- [94] 李静, 滕涛, 梁琦, 等. 中药联合脱氢表雄酮预处理对高龄卵巢储备正常患者体外受精-胚胎移植结局的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2016, 36(9): 1046-1050.
- [95] MA Y J, YUAN L H, XIAO J M, et al. The mechanism of traditional Chinese medicine based on semi-targeted metabolomics to improve IVF outcomes in senile patients [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 2021: 6696305
- [96] SONG J Y, GAO D D, CAO X L, et al. The role of traditional Chinese formula Ding-Kun pill (DKP) in expected poor ovarian response women (POSEIDON Group 4) undergoing *in vitro* fertilization-embryo transfer: A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2021, 12: 675997.
- [97] 苏嘉文. 滋肾养肝活血法对高龄卵巢储备功能下降患者IVF周期结局的影响[D]. 广州: 广州中医药大学, 2018.
- [98] SUN J, SONG J Y, DONG Y, et al. Erzhi Tiangu granules improve *in vitro* fertilization outcomes in infertile women with advanced age [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 2021: 9951491.
- [99] 连方, 宋诗艳. 右归胶囊通过JAK2/STAT3通路改善高龄体外受精-胚胎移植女性卵细胞质量[J]. *中国中西医结合杂志*, 2018, 38(9): 1068-1072.
- [100] 吴海萃, 张建伟, 冯帅, 等. 六味地黄颗粒对肾阴虚高龄不孕患者IVF结局及卵巢颗粒细胞的影响[J]. *山东中医杂志*, 2019, 38(6): 523-529.
- [101] WU J, LIU Y, SONG Y, et al. Aging conundrum: A perspective for ovarian aging [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, 13: 952471.
- [102] 史薇, 刘敏, 王智超, 等. 补肾养血活血类中药复方调控线粒体稳态治疗卵巢功能减退类疾病的研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2023, 29(1): 240-249.
- [103] 王华伟, 唐莉, 杨泽星, 等. “治未病”思想在辅助生殖中的应用[J]. *医学争鸣*, 2021, 12(1): 13-17.
- [104] 薛立英, 高丽, 秦雪梅, 等. 药食同源中药抗衰老研究进展[J]. *食品科学*, 2017, 38(15): 302-309.

[责任编辑 王鑫]