

- cell transcriptomics on organoids. *Curr Opin Biotechnol*, 2019, 55: 167–171
- [9] Junker J P, Noël E S, Guryev V, et al. Genome-wide RNA tomography in the zebrafish embryo. *Cell*, 2014, 159(3): 662–675
- [10] 苏泽莹, 管柳柳, 陈斯泽. 类器官的培养及应用的研究进展. *广东药科大学学报*, 2020, 36(5): 737–742
- [11] Schlaermann P, Toelle B, Berger H, et al. A novel human gastric primary cell culture system for modelling *Helicobacter pylori* infection in vitro. *Gut*, 2016, 65(2): 202–213
- [12] 罗宝花, 张永斌, 刘晓秋, 等. 肿瘤类器官模型的建立及应用. *实验动物与比较医学*, 2020, 40(6): 540–546
- [13] 王爱萍, 陈曦, 郭文峰, 等. 健脾方药提取物对小鼠小肠类器官的干预. *中国中西医结合杂志*, 2020, 40(1): 91–94
- [14] 王卫明, 刘亮, 徐红, 等. 中药药理学的内涵与本质特征探讨. *中华中医药杂志*, 2020, 35(3): 1072–1075
- [15] 李婷婷, 李瑞红, 刘振兴, 等. 基于类器官3D培养的何首乌易感物质肝毒性评价. *药学报*, 2017, 52(7): 1048–1054
- [16] 谷舒怡, 唐黎明, 张卫东. 基于3D类器官构建中药肾毒性的评价方法. 海口: 中国毒理学会中药与天然药物毒理与安全性评价第四次(2019年)学术年会, 2019
- [17] 刘昕彦, 邵瑞, 贺爽, 等. 类器官和立体细胞模型在中药心脏毒性评价中的应用前景. *药学报*, 2019, 54(11): 1888–1894
- [18] 黄建波, 余洁茹, 杨丹倩, 等. 中医精准医学的理论形成和内涵剖析. *中华中医药杂志*, 2021, 36(1): 37–40
- [19] Vlachogiannis G, Hedayat S, Vatsiou A, et al. Patient-derived organoids model treatment response of metastatic gastrointestinal cancers. *Science*, 2018, 359(6378): 920–926
- [20] 何询, 张鹏, 张俊祥. 类器官的构建与应用进展. *中国生物工程杂志*, 2020, 40(12): 82–87
- [21] 郭正昌, 赵泽玉, 张宗耀, 等. 小肠类器官的构建及传代培养. *中国比较医学杂志*, 2021, 31(1): 1–6
- [22] 周丽桂, 张永斌, 师长宏. 类器官模型在前列腺癌异质性研究中的应用. *中国比较医学杂志*, 2020, 30(11): 102–106
- [23] 吴杭迪, 王钢, 刘志红. 肾脏类器官的建立及其在应用. *肾脏病与透析肾移植杂志*, 2020, 29(6): 550–556
- [24] 董娇, 王帅. 三维条件下类器官培养的研究进展. *广西医学*, 2017, 39(5): 700–702

(收稿日期: 2021年3月1日)

· 仁心雕龙 ·

中医妇科病证结合流产动物模型的研究思路

谢宝珍¹, 郜洁², 曾丽华¹, 罗颂平²(¹广州中医药大学第一临床医学院, 广州 510405; ²广州中医药大学第一附属医院, 广州 510405)

摘要: 文章通过剖析常用的流产动物模型、流产相关的中医证候模型以及病证结合流产动物模型的研究设计, 分析病证结合流产动物模型在中医药研究中的优势, 并以肾虚-黄体抑制病证结合流产动物模型为例, 归纳该模型的构建与评价方法, 总结该模型的应用相关研究。此外, 文章还通过探讨病证结合流产动物模型构建与评价中存在的难点与不足, 拟为模型研究提供新的研究思路和角度, 以资借鉴。

关键词: 病证结合; 动物模型; 肾虚; 黄体抑制; 自然流产

基金资助: 国家自然科学基金项目 (No.81774358), 广州中医药大学“双一流”与高水平大学学科协同创新团队项目 (No.2021XK04), 广东省重点领域研发计划项目 (No.2020B1111100003), 中医药传承与创新“百千万”人才工程(岐黄工程)——国家中医药领军人才支持计划 (No.国中医人教发〔2018〕12号)

Research ideas of animal models combining spontaneous abortion with traditional Chinese medicine syndrome

XIE Bao-zhen¹, GAO Jie², ZENG Li-hua¹, LUO Song-ping²(¹First School of Clinical Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China; ²First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

通信作者: 罗颂平, 广东省广州市白云区机场路16号广州中医药大学第一附属医院妇科, 邮编: 510405, 电话: 020-36585434
E-mail: songpingluo@hotmail.com

Abstract: This review listed common spontaneous abortion animal models, disease related traditional Chinese medicine (TCM) syndrome models and combination of disease and TCM syndrome models with the purpose to analyze the advantages of animal models combining spontaneous abortion with TCM syndrome in TCM research. Based on combination model of kidney deficiency and corpus luteum inhibition, we summarize the establishing and grading methods of the model and conclude its application value. We further discuss the difficulties and limitations of current research, hoping to shed new insights and provide new perspectives for future research.

Key words: Combination of disease and syndrome; Animal models; Kidney deficiency; Corpus luteum inhibition; Spontaneous abortion

Funding: National Natural Science Foundation of China (No.81774358), ‘Double First-class’ and High-level University Disciplines Collaborative Innovation Project of Guangzhou University of Chinese Medicine (No.2021XK04), Key Field Research and Development Program of Guangdong Province (No.2020B1111100003), Inheritance and Innovation of Traditional Chinese Medicine ‘Ten Million’ Talent Project (Qihuang Project) National Leading Talent Support Plan of Traditional Chinese Medicine (No. [2018] 12)

自然流产 (spontaneous abortion, SA) 是妇产科最常见的妊娠并发症之一^[1], 其发病率约为15%~25%, 并随年龄的增长而逐渐增加^[2]。中医对该病的病因病机有独到的见解, 并在长期实践中积累了丰富的治疗经验, 形成了独特的诊疗体系。通过构建病证结合流产动物模型, 模拟疾病的病理过程及中医的证候特征, 有助于阐明中医学生殖相关理论及中药的作用机制。本文兹分析常用的流产疾病模型、疾病相关的证候模型及病证结合模型, 说明病证结合流产模型的优势; 并以肾虚-黄体抑制流产模型为例, 总结其构建与评价体系, 归纳其应用价值。最后, 通过剖析病证结合模型研究的“症结”, 拟为模型的构建与评价提供新的研究思路与方法。

流产疾病动物模型的研究概况

常见的流产疾病动物模型分为内分泌功能障碍型以及免疫功能异常型。诱导内分泌障碍的药物包括溴隐亭及米非司酮^[3]。其中, 溴隐亭为多巴胺受体激动剂, 与多巴胺受体结合后抑制泌乳素的分泌, 继而导致体内孕酮含量下降, 引起流产。有进一步研究^[4]发现溴隐亭流产模型小鼠存在Th2/Th1平衡向Th1偏移的免疫紊乱状态。米非司酮作为孕激素拮抗剂, 与蜕膜的孕激素受体有很强的亲和力, 引起蜕膜退变, 发挥抗早孕的作用。有研究^[5]表明米非司酮对早、中期妊娠大鼠均有良好抗生育作用, 能抑制黄体功能, 使大鼠的孕激素及蜕膜孕激素受体合成下降, 继而导致流产。

目前, CBA/J (雌性) × DBA/2 (雄性) 杂交致免疫功能障碍小鼠流产模型是较为常用的自然流产疾病模型^[6]。该模型发生流产的机制可能为孕鼠对胚胎的免疫排斥反应^[7-8]。早期研究发现, 自然流产模型小鼠母胎界面存在细胞因子分泌异常^[9]及免疫功能异常^[10]。此外, 有研究发现酵母多糖可用于建

立感染因素所致流产模型^[11], 该模型的建立机制可能为酵母多糖诱导巨噬细胞表型及功能改变, 导致促炎症因子分泌增加, 免疫耐受下降。另有研究^[12]利用细菌脂多糖建立免疫功能异常所致流产模型。

综上, 流产疾病模型的建立主要通过抑制孕酮激素功能及诱发免疫排斥反应, 打破免疫平衡来实现。

流产疾病相关证候动物模型的研究概况

临床证候分布调查^[13-15]显示自然流产患者以肾虚证及脾虚证为主, 而肾虚证及脾虚证的动物模型的构建方法已较为成熟。证候的造模方法主要分为中医病因造模及病理造模。中医病因造模即在中医理论指导下, 引入相应证候的病因病机构建模型; 病理造模即通过药物、手术等干预, 使动物体内产生与证候相关的病理过程及表现。

肾虚证候模型可细分为肾阳虚模型、肾阴虚模型、肾气虚模型及肾精不足模型, 但4种证候模型的造模方式多有重合, 缺乏精准的模型诊断与评价体系。常见的病因造模可分为“劳倦过度、房劳不节”模型^[16]、“恐伤肾”模型^[17]及老年肾虚模型^[18]。病理造模往往通过影响动物的肾上腺皮质轴、甲状腺轴、性腺轴功能, 抑制代谢、内分泌及生殖功能, 模拟肾虚证相关的病理损伤。常用的药物有氢化可的松^[19]、甲状腺素^[20]、丙酸睾酮^[21]、腺嘌呤^[22]及羟基脲^[23]等。此外, 亦有通过切除肾脏、性腺或甲状腺等手术方法, 建立肾虚模型^[24]。脾虚证候模型常用的病因造模法为苦寒泻下法^[25]、劳倦过度^[25]、饮食不节^[26]等。病理造模常用药物为利血平^[27]及秋水仙碱^[28]。

中医病因造模方式缺乏相对可控的标准化操作, 且不同动物个体应对刺激可能存在差异。因此, 中医病因造模的结果往往存在不确定性及不稳定性, 可重复性较弱。另外, 采用惊吓的造模方法不符

合动物伦理原则,其公认度易受质疑。手术切除的方法可能导致不可逆的脏器功能损害,不利于药效研究。

病证结合流产动物模型的研究概况

流产疾病动物模型缺乏中医证候的特征,不能充分体现中医辨证论治的特点。同时,证候是疾病发生发展过程中某一阶段的病理本质,证候的研究不应脱离疾病^[29]。病证结合模型既能模拟疾病病理基础,又能反映证候特征。因此,构建该模型更符合中医临床特点,有利于阐明中药作用机制,丰富中医药助孕安胎理论的科学内涵。

近年来,中医学者不断尝试建立病证结合流产模型。张铭等^[30]根据临床经验,分析自然流产患者多见脾虚证,而黄体功能不足为该病的主要病因,遂结合前人研究^[31-32],以利血平联合米非司酮建立脾虚-黄体抑制流产疾病模型。利血平通过耗竭动物体内去甲肾上腺素,降低脑内及外周单胺类介质含量,使交感肾上腺素能神经功能减弱,副交感神经功能偏亢,导致胃肠功能紊乱,模拟中医脾虚证的相关症状。马丽亚等^[33]等通过文献研究自然流产的证候分布,发现阴虚血热证在自然流产患者中较为常见,故以CBA/J(雌性)×DBA/2(雄性)小鼠杂交建立自然流产疾病模型,并在此基础上,根据中药药性理论,给予模型动物辛温燥热药液灌服,制备阴虚流产模型。宁艳等^[34]则根据中医理论及临床观察,建立肾虚-黄体抑制流产病证结合模型,该模型为目前较为公认的病证结合流产模型。

肾虚-黄体抑制病证结合流产动物模型的建立与应用

1. 模型的构建与评价 肾虚-黄体抑制流产模型由罗颂平教授团队于20世纪90年代初建立。基于“肾主生殖”的理论,罗教授认为自然流产的根本病机为肾气不充,冲任虚惫,胎元不固。此外,罗教授通过临床观察发现自然流产患者以肾虚证多见。因此,罗教授团队联合运用羟基脲及米非司酮,首创肾虚-黄体抑制病证结合流产模型。

该模型的建立参考了刘福春^[35]及陈红等^[5]的造模方法。其中,羟基脲作为肾虚造模的常用药物,该药通过抑制核苷酸还原酶,抑制DNA的合成,进而使模型动物出现一系列虚损的表现^[35],如萎靡、蜷缩、活动迟缓,并出现耐冻时间及冰水游泳时间缩短等虚寒表现。同时,模型动物的尿17羟、17酮及DNA合成率降低,反映体内代谢水平降低,为佐证“肾阳虚损”的客观指标。周英^[31]在模型构建前期对比羟

基脲及氢化可的松的造模效果,研究发现氢化可的松制作的模型动物属于肾虚重证。模型动物出现排卵抑制,性周期消失,甚至死亡。肾虚流产模型要求模型动物尚有性周期,并能妊娠,属于肾虚轻证,因而选用羟基脲作为肾虚证的造模药物。李小球等^[36]对米非司酮构建的流产大鼠模型进行血清孕激素及蜕膜孕激素受体检测,研究表明该模型能较好模拟黄体功能不全所致自然流产的病理过程。

基于对肾虚证候及流产疾病相关模型的研究及探索,罗颂平教授团队初步建立了病证结合流产模型^[37]:运用8~10周龄SPF级SD大鼠,体质量200~250 g,按雌:雄为2:1比例合笼,每日晨查阴道涂片,以发现大量精子日作为妊娠第1天,在妊娠第1天至第10天每日灌服羟基脲450 mg/kg,在妊娠第10天给予灌服米非司酮3.75 mg/kg。

该模型的评价体系采用宏观与微观相结合的模式^[37]。见图1。宏观指标包括大鼠的一般状况、流产情况及主要生殖内分泌器官的形态学观察。微观指标主要从生殖、内分泌及代谢方面对模型进行评价,如大鼠卵巢次级卵泡、成熟卵泡与黄体数目;血清孕激素水平及蜕膜孕激素受体表达水平;超氧化物歧化酶水平。

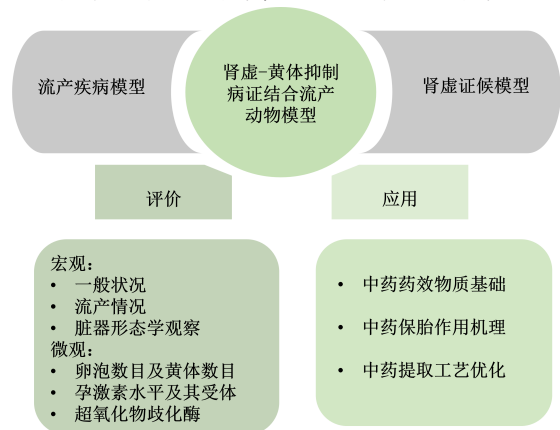


图1 肾虚-黄体抑制病证结合流产动物模型的评价与应用

2. 模型的优化 宁艳等^[34]将肾虚模型、黄体抑制疾病模型以及病证结合模型进行比较,通过检测模型大鼠血清孕激素及蜕膜孕激素受体的水平,研究发现肾虚证候模型大鼠血清孕激素及其受体水平亦存在下降趋势,考虑羟基脲致肾虚证候模型可能存在黄体功能抑制的状态。罗颂平等^[37]通过观察蜕膜孕激素受体的表达情况,分析证候造模因素与黄体抑制的相关性,提示妊娠期肾虚造模与黄体抑制有相关性,而脾虚造模与黄体抑制则未见明显的相关性,进一步说明“肾主生殖”的重要作用,并强调肾虚证候在病证结合模型中的重要地位。郜洁等^[38]

创造性地引入正交设计法优化模型设计,并对羟基脲及米非司酮对该模型的贡献度进行分析,分析二者之间的交互作用。该研究以流产率和胚胎直径为评价指标,初步筛选了米非司酮与羟基脲的优选配比,建立了肾虚-黄体抑制流产模型的标准操作流程。同时,该研究进一步证明两种造模药物间无交互作用,为两种药物分别建立“病”“证”的模型要素提供了科学证据。

3. 模型的应用 罗颂平教授团队运用病证结合流产模型,对补肾健脾方药及补肾类中药开展药效学研究,研究方向主要为中药及其有效部位对母胎界面生殖内分泌及免疫功能的作用机制。

研究初期探索了团队的补肾健脾经验方——助孕3号方以及补肾助孕名方——寿胎丸防治自然流产的作用机制。研究^[34,37]表明助孕3号方及寿胎丸均能有效改善病证结合流产模型大鼠的黄体功能,维持孕激素水平,促进孕激素受体表达,提高流产大鼠的妊娠率。岳明明等^[39]利用该模型比较补肾健脾方及其拆方防治自然流产的作用,结果表明补肾组方能改善模型大鼠的肾虚证候及黄体功能,降低模型大鼠的流产率,其作用优于健脾组方,阐明了补肾安胎的重要作用。

此外,罗教授团队运用病证结合流产模型,围绕自然流产中母胎界面免疫失衡的病理状态,深入研究补肾安胎药物的作用机制。有研究^[40]证实肾虚黄体抑制病证结合流产大鼠外周血清转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)含量降低。TGF- β 对细胞增殖和分化过程起着重要作用。已有研究发现^[41]TGF- β 在正常妊娠妇女中表达升高,在流产患者中表达下降,其在妊娠过程中主要起免疫抑制作用,抑制母体对胚胎免疫排斥。研究^[40]表明助孕3号方能上调大鼠血清TGF- β 的含量,初步说明助孕3号方参与了免疫调节作用。另外,周英等^[42]研究发现该模型外周血中CD₃⁺T细胞水平显著升高,而TCR γ δ T细胞水平降低。国外研究已证实健康妊娠妇女外周血中TCR γ δ T细胞较自然流产患者显著升高,该细胞通过促进孕激素受体表达,参与母胎界面免疫调节^[43]。周英等^[42]进一步研究表明助孕3号方能提高流产模型大鼠TCR γ δ T细胞水平与TCR γ δ T淋巴细胞/CD₃⁺淋巴细胞比值,降低流产率,提示助孕3号方能通过纠正免疫失衡状态发挥保胎作用。同时,多项研究^[44-47]共同围绕自然流产中母胎界面Th1/Th2免疫失衡的状态对模型及中药药效展开研究。已有临床研究^[48]表明自然流产患者中存在Th1/Th2免疫失

衡的状态。结果证实病证结合动物模型母胎界面中Th2表达降低,而Th1表达升高,这与临床研究结果相符。说明该模型既存在内分泌障碍的因素,亦存在免疫失衡的状态,故该模型能较好地模拟自然流产复杂的病理状态。研究进一步表明助孕3号方能纠正Th1/Th2免疫失衡的状态,降低母体免疫排斥,进而改善模型大鼠妊娠结局^[44-47]。

同时,郜洁等^[49]运用病证结合流产模型进一步优化寿胎丸的提取工艺,分析寿胎丸不同提取部位对肾虚流产大鼠模型的影响,筛选复方中的有效部位及成分。结果表明寿胎丸乙醇提取液及醇提后药渣水提液联合使用,能较好地改善肾虚流产大鼠模型的妊娠率,为寿胎丸的药效物质研究奠定了基础。

病证结合流产动物模型研究的“症结”与展望

肾为先天之本,肾藏元阴元阳,人之生长、发育及生殖均有赖于肾气的推动。肾气不充,冲任虚损,胎元不固,则胎易堕,此为自然流产的主要病机。肾虚-黄体抑制病证结合流产模型的构建为“肾主生殖”理论提供了科学依据,促进了补肾安胎中药的药效机制研究,为中医药助孕安胎的临床应用与推广奠定了基础。另外,该模型为中药提取工艺的优化提供了研究载体,推动了中药有效部位及有效成分的研究与探索。

然而,病证结合流产模型的构建仍存在以下难点:①病证结合模型的建立不应只是疾病造模因素与证候造模因素的简单叠加^[50]。证候具有阶段性及时限性的特点,随疾病的发展而变化。证候模型与流产疾病的内在关联仍有待探究,如何将证候与疾病相结合成为模型构建的关键。因此,在建立证候模型前,研究者应动态观察流产疾病模型,追踪不同发展阶段的证候分布特征,并记录相应证候出现的造模时间,掌握流产疾病模型的证候演变规律。其次,在建立证候模型过程中,应动态检测模型动物的理化指标,判断证候模型的建立是否继发产生某种潜在的疾病。通过单独分析证候模型与疾病模型,排除造模因素的交互作用,避免非必要的多种造模因素叠加。②研究者应分析并判断证候与疾病造模因素的逻辑关系及先后时序关系,寻找疾病模型与证候模型的构建结合时点。③不同品种品系的实验动物对同一造模因素的反应存在差异^[51]。因此,研究者应选择与人类生理与发病特点相近的实验动物,并考虑动物的遗传背景,注重体质差异,减少动物对造模因素反应的不一致性。模型构建思路与方法可参考图2。

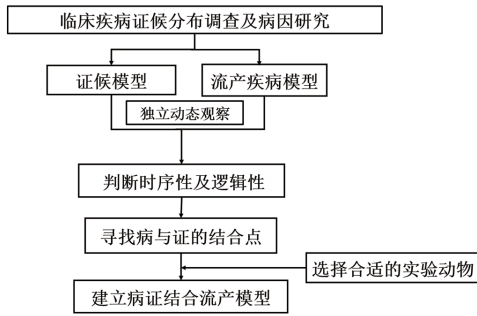


图2 病证结合流产模型的构建模式

此外,病证结合流产模型的评价体系有待完善。首先,证候模型的评价体系基于证候的本质研究。目前,关于肾虚证的本质研究仍有争议,尚未筛选出特异表征该证候的客观指标^[52]。证候的概念具有抽象性及宏观性的特点,且证候多兼夹存在,筛选证候特异性的客观指标较为棘手。其次,证候的诊断与评价须通过四诊合参,但以动物为载体构建的模型较难实现四诊信息的采集与定位。因此,如何通过等效对应法^[53]建立宏观与微观相结合的评价体系是未来研究的关键。理想的病证结合模型应能较好地反映疾病的病理过程,同时应充分体现证候特征。早在20世纪末,陈小野^[54]提出证候动物模型的诊断依据必须与临床证候诊断依据相一致,但考虑到动物与人存在差异,模型的诊断依据可在不违背上述原则下进行等效对应。该学者进一步设想,评价体系^[54]应以证候的主要症状作为本证;以产生证候的主要中医病因作为正证;以相应方药治疗证候作为反证;以动物的年龄、种属、培育的环境等个体因素作为佐证;以客观指标作为佐证。综上,研究者应首先完善中医证候的临床诊断标准,将收集的临床信息与模型动物进行等效对应。此外,研究者应寻找证候要素与疾病相应理化指标之间的关联模式,并与模型动物进行有效对应与转化,进一步优化模型动物的诊断与评价体系。

病证结合模型为中西医结合研究的重要工具及载体,有利于阐明中医理论的科学内涵及中药的作用机制,有助于推动中药新药的开发与转化,促进中医药理论现代化发展,而模型相关研究有待进一步完善和发展。

参 考 文 献

[1] 自然流产诊治中国专家共识编写组.自然流产诊治中国专家共识.中国实用妇科与产科杂志,2020,36(11):1082-1090
 [2] El Hachem Hady, Crepau Vincent, May-Panloup Pascale, et al. Recurrent pregnancy loss: Current perspectives. International

Journal of Women's Health, 2017, 9:331-345
 [3] 林益,李咏倩,齐聪,等.米非司酮致胚胎着床障碍动物模型的再评价.生殖医学杂志,2020,29(5):650-656
 [4] 马爱团,钟秀会,孟立根,等.溴隐亭对小鼠生育的影响及其作用机理.动物学报,2006,52(3):536-541
 [5] 陈红,童凤明,陈萍,等.RU486对大鼠早、中期妊娠影响的研究.生殖与避孕,1994,14(5):332-335,443-444
 [6] 赵爱民,林其德,鲍世民,等.自然流产小鼠模型的胚胎丢失率.上海实验动物科学,1999,19(4):26-27
 [7] Tangri S, Wegmann T G, Lin H, et al. Maternal anti-placental reactivity in natural, immunologically-mediated fetal resorptions. Journal of Immunology, 1994, 152(10):4903-4911
 [8] 朱晓勇,李大金,孙晓溪.正常妊娠与自然流产小鼠模型母胎界面细胞因子表达特征的比较.生殖医学杂志,2003,12(5):283-287
 [9] Clark David A., Chaouat Gerard, Banwatt Daljeet, et al. Ecology of danger-dependent cytokine-boosted spontaneous abortion in the CBA x DBA/2 mouse model: II fecal LPS levels in colonies with different basal abortion rates. American Journal of Reproductive Immunology, 2008, 60(6):529-533
 [10] deFougerolles A R, Baines M G. Modulation of the natural killer cell activity in pregnant mice alters the spontaneous abortion rate. Journal of Reproductive Immunology, 1987, 11(2):147-153
 [11] 李晴,陈志琴,陈宇清.酵母多糖诱导小鼠流产模型的建立及巨噬细胞表型和功能改变的实验研究.福建医药杂志, 2017, 39(6):143-146
 [12] 施秋秋,颜美秋,余欢欢,等.孕康口服液对LPS诱导小鼠流产的保胎及免疫耐受调节作用研究.中国中药杂志, 2019, 44(6):1227-1232
 [13] 韩宇霞,罗颂平,黄铎香.自然流产患者的心理状态、个性特征与中医证候相关性的研究.广州中医药大学学报, 2001, 18(4):311-314
 [14] 傅萍,周菲菲,盛晓园.221例复发性流产患者中医证候分布规律研究.中华中医药学刊, 2012, 30(4):803-805
 [15] 李肖凤,李伟莉,张涛.300例先兆流产中医证候调查分析.安徽中医药大学学报, 2014, 33(1):28-30
 [16] 曹继刚,周安方,黄琼霞,等.中医疲劳综合征大鼠模型的建立与评价.湖北中医杂志, 2008, 30(1):7-8
 [17] 冯新玲,周安方,周慧芳,等.恐伤孕鼠对其仔鼠脑发育的影响及其机制研究.中华中医药学刊, 2008, 26(9):2063-2065
 [18] 吴君,韩芸,梁伟玲,等.老龄大鼠尿量、离子浓度及皮质醇的变化.中国中医基础医学杂志, 2015, 21(5):515-516
 [19] 张子怡,陈宝军,张英杰,等.肾阳虚、肾阴虚证大鼠模型的建立与稳定性观察.福建中医药, 2015, 46(1):51-54
 [20] 夏炳江,童培建,孙燕,等.骨质疏松肾阴虚型小鼠病证结合模型建立的实验研究.中国中医急症, 2013, 22(7):1083-1086

- [21] 弓丽华,周昕,温莹莹,等.通脉大生片对肾虚排卵障碍型不孕大鼠卵巢颗粒细胞超微结构的影响.时珍国医国药,2015,26(1):4-6
- [22] 童骏峰,徐志伟,杨元宵,等.腺嘌呤与氢化可的松所致大鼠肾阳虚证模型比较研究.中华中医药杂志,2015,30(11):3901-3904
- [23] 周鸣,谢湘林,邓毅峰,等.健骨宝胶囊对羟基脲肾虚小鼠动物模型的影响.中国实验方剂学杂志,2004,10(6):43-45
- [24] 董兴刚,徐建国,安增梅,等.肾切除加阿霉素诱导“肾阳虚”动物模型的研制.中国医药学报,2002,17(2):84-85
- [25] 陈小野,周永生,樊雅莉,等.脾气虚证动物模型规范化的初步研究.中国医药学报,2001,16(4):52-58
- [26] 黄柄山,毛翼楷,范隆昌,等.饮食失节所致的脾虚动物模型及中药治疗观察.中西医结合杂志,1983,3(5):295-296
- [27] 董一昕,李腾辉,刘燕,等.两种脾气虚证模型大鼠临床证候特征的比较.湖南中医药大学学报,2020,40(2):150-154
- [28] 刘士敬,朱倩.大鼠胃饲秋水仙碱脾气虚模型研究.中医杂志,1997,38(5):300-302
- [29] 梁茂新,范颖.中医证和病证结合动物模型研制的利弊与症结.世界科学技术-中医药现代化,2013,15(7):1656-1664
- [30] 张铭,梁国珍,罗颂平.助孕3号方对脾虚黄体抑制动物流产模型的作用.广州中医药大学学报,2000,17(1):64-68
- [31] 周英.脾虚和肾虚雌性大鼠生育能力的实验观察.广州中医药大学学报,1998,15(3):36-40
- [32] 李小球.补肾健脾中药对妊娠大鼠孕激素及其受体的影响.广州中医药大学学报,1998,15(3):49-51
- [33] 马丽亚,赵君玫,王磊,等.CBA/J小鼠虚热型反复自然流产模型的建立.中医学报,2020,35(2):358-361
- [34] 宁艳,罗颂平,梁国珍.补肾健脾中药复方对肾虚黄体抑制妊娠大鼠流产模型的实验研究.中国医药学报,2000,15(6):28-30,82
- [35] 刘福春,张家庆,李菊仙,等.羟基脲制造“阳虚”动物模型的研究.吉林中医药,1984(5):31-33
- [36] 李小球,罗颂平.“助孕3号丸”对妊娠大鼠孕激素及受体的影响.暨南大学学报(自然科学与医学版),1999,3(6):111-114
- [37] 罗颂平,梁国珍,张玉珍,等.助孕3号方防治大鼠自然流产的机理研究.中国中西医结合杂志,2003,23(7):522-525
- [38] 郜洁,巫海旺,杜鑫,等.正交设计法研究羟基脲和米非司酮的优选配比制作大鼠流产模型.中国实验方剂学杂志,2016,22(16):114-118
- [39] 岳明明,罗颂平,谭宇蕙.补肾中药对肾虚黄体抑制流产大鼠的实验研究.中医学报,2005,33(1):47-49
- [40] 赵红艳,罗颂平,倪育淳,等.助孕3号方对肾虚黄体抑制流产大鼠TGF- β 1影响的研究.上海中医药杂志,2008,42(12):71-73
- [41] 赵淑华,韩丽英,李荷莲.反复自然流产患者妊娠组织中肿瘤坏死因子 α 及其受体、转化生长因子 β 的表达.中华妇产科杂志,2002,37(7):37-38
- [42] 周英,罗颂平,许丽绵,等.助孕3号方对肾虚黄体不健流产大鼠TCR γ δ T细胞的影响.广州中医药大学学报,2007,24(5):404-407
- [43] Polgar B,Barakonyi A,Xynos I,et al.The role of gamma/delta T cell receptor positive cells in pregnancy.American Journal of Reproductive Immunology,1999,41(4):239-244
- [44] 周英,罗颂平,许丽绵,等.助孕3号方对肾虚黄体抑制流产大鼠母胎界面Th1/Th2细胞因子的影响研究.现代中西医结合杂志,2008(01):12-14
- [45] 李莉,宁艳,吴轩,等.寿胎丸对肾虚流产动物模型母胎界面Th1/Th2细胞因子的影响.新中医,2010,42(3):95-96
- [46] 曾诚,罗颂平,李坤寅,等.肾虚流产模型大鼠母胎界面CD80/CD86表达及中药调控研究.新中医,2009,41(6):105-108
- [47] 曹蕾,许丽绵,罗颂平.助孕3号方对肾虚黄体抑制流产大鼠细胞因子的干预作用.新中医,2008,40(12):88-90
- [48] 赵静,巩晓芸,胡泊,等.复发性流产患者Th1/Th2细胞因子失衡及淋巴细胞主动免疫治疗的疗效.中国妇幼保健,2013,28(5):804-806
- [49] 郜洁,罗颂平.不同提取方法提取寿胎丸对流产孕鼠模型妊娠结局的影响.北方药学,2011,8(4):37-39
- [50] 郭淑贞,王伟.中医证候形成的“三因”理论.中医杂志,2020,61(17):1493-1497
- [51] 赵慧辉,王伟.病证结合证候模型研究基本思路.中华中医药杂志,2006,21(12):762-764
- [52] 张云飞,文秀华,罗茂林.肾虚本质的现代研究进展.现代中西医结合杂志,2004,13(8):1101-1103
- [53] 赵慧辉,郭书文,王伟.病证结合动物模型判定标准的建立.北京中医药大学学报,2009,32(6):365-367,373
- [54] 陈小野.证候动物模型诊断依据的设想与评价.中国医药学报,1987,2(1):50-53,56

(收稿日期:2021年3月1日)