

固肾养阴汤对反复自然流产小鼠母胎界面 Th1/Th2 平衡的调节作用

何丹娟¹, 梁少荣¹, 陈碧娟^{2*}

(1. 华中科技大学同济医学院附属湖北妇幼保健院中西医结合科, 湖北 武汉 430000; 2. 华中科技大学同济医学院附属湖北妇幼保健院生殖中心, 湖北 武汉 430000)

摘要: **目的** 研究固肾养阴汤对反复自然流产小鼠母胎界面 Th1/Th2 平衡的调节作用。**方法** 雌性 CBA/J 小鼠分为正常组、模型组、黄体酮组、固肾养阴汤组、中西药合用组, 统计胚胎吸收情况, 观察母胎界面病理形态学改变, 检测母胎界面组织匀浆上清液中 γ 干扰素 (IFN- γ)、白细胞介素 10 (IL-10) 及组织细胞因子信号传递抑制因子 SOCS1、SOCS3 mRNA 和蛋白表达。**结果** 模型组蜕膜细胞变性坏死、血管较少, 绒毛形态紊乱, 多量炎性细胞浸润, 黄体酮组蜕膜组织中血管稍增多; 固肾养阴汤组和中西药合用组蜕膜组织、绒毛形态明显改善, 血管丰富, 中西药合用组改善最为明显。与模型组比较, 黄体酮组、固肾养阴汤组和中西药合用组小鼠胚胎吸收率、母胎界面匀浆上清液 IFN- γ 及组织中 SOCS1 mRNA 和蛋白表达均降低 ($P<0.05$), IL-10、IL-10/IFN- γ 及组织中 SOCS3 mRNA 和蛋白表达均升高 ($P<0.05$), 且各指标活性强度表现为中西药合用组>固肾养阴汤组>黄体酮组 ($P<0.05$)。**结论** 固肾养阴汤联合西药可有效改善反复自然流产模型小鼠母胎界面微环境, 可能与调控母胎界面 Th1/Th2 平衡, 调控 SOCS1、SOCS3 表达有关。

关键词: 固肾养阴汤; 反复自然流产; 母胎界面; 免疫微环境

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2022)03-0923-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2022.03.043

反复自然流产是常见的人类生殖疾病, 发病率呈上升趋势, 给女性身心健康造成严重影响^[1]。反复自然流产发病机制复杂, 母胎免疫耐受与母胎界面免疫微环境稳态关系密切, 母胎免疫耐受机制在发病过程中起关键作用^[2-3], 此外, 辅助性 T 细胞 Th1/Th2 平衡在免疫微环境的调控中发挥重要作用, 可能参与母胎免疫耐受^[4]。因此, 探讨反复自然流产母胎界面免疫微环境的调节机制, 并寻找有确切疗效的药物具有重要临床意义。中医药在反复自然流产的临床治疗中有重要地位。反复自然流产属“滑胎”范畴, 中医认为肾气不固、肾精亏虚、气血两虚、阴血损耗是其主要病机^[5-6]。固肾养阴汤是根据反复自然流产病机、临床辨证论治原则, 总结寿胎丸与安奠二天汤化裁而成, 该方由菟丝子、续断、桑寄生等中药组成, 具有固肾养阴安胎之功效。本研究旨在探讨固肾养阴汤对反复自然流产模型小鼠母胎界面 Th1/Th2 平衡的调节作用, 以期为其临床应用提供理论依据。

1 材料

1.1 动物 SPF 级雌性 CBA/J 小鼠 60 只, 雄性 DBA/2 小鼠 24 只, 雄性 BALB/c 小鼠 6 只, 均为 7 周龄, 体质量 18~22 g, 购自华中科技大学动物实验中心, 实验动物生产许可证号 SCXK (鄂) 2019-0009。

1.2 药物 固肾养阴汤组方为菟丝子 (批号 2011002S) 15 g, 续断 (批号 2009001S)、补骨脂 (批号 2005001S)、山茱萸 (批号 2009001C)、阿胶 (批号 1903005C) 各 10 g, 桑寄生 (批号 1910001S)、黄芪 (批号 2006008C) 各 20 g, 杜仲 (批号 1912002C)、生地黄 (批号 2007012C) 各 12 g, 枸杞子 (批号 2006004S)、黄芩 (批号 2008004C) 各 9 g, 上述药物均购自合肥华润三九医药有限公司, 经湖北省妇幼保健院梅凌峰主管药师鉴定为正品。所有中药混合, 水煎 2 次, 合并药液煎煮制成生药量为 1 g/mL 的浓煎液, 4℃ 保存备用。黄体酮胶囊 (益玛欣, 国药准字 H20041902, 规格 50 mg, 批号 20200106) 购自浙江仙琚制药股份有限公司。

1.3 试剂 小鼠 IFN- γ 、IL-10 ELISA 试剂盒 (滁州仕诺达生物科技有限公司, 货号 SND-M010、SND-M195); 实时荧光定量聚合酶链反应试剂盒、逆转录试剂盒 (日本 TaKaRa 公司, 货号 RR820A、RR037Q); BCA 蛋白定量分析试剂盒 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司, 货号 23225); 兔抗小鼠细胞因子信号传递抑制因子 SOCS1、SOCS3 一抗 (英国 Abcam 公司, 货号 ab280886、ab280884); 辣根过氧化物酶 (HRP) 标记 IgG 二抗 (北京百奥莱博科技有限公司, 货号 WK355-FOV)。引物序列由生工生物工程 (上

收稿日期: 2021-06-04

基金项目: 中国妇幼保健协会中西医结合妇幼保健专项研究基金重点项目 (ZXY2020A02); 湖北省卫生和计划生育委员会青年人才项目 (WJ2018H0169)

作者简介: 何丹娟 (1982—), 女, 硕士, 主治医师, 从事中西医结合妇科疾病研究。Tel: 18062414840, E-mail: danjuanhe@163.com

* **通信作者:** 陈碧娟 (1979—), 女, 硕士, 主治医师, 从事妇产科学与生殖医学研究。E-mail: Chenbijuan26@163.com

海) 股份有限公司设计和合成。

2 方法

2.1 分组与建模 参考文献 [7] 方法, 60 只雌性 CBA/J 小鼠按照体重排序法随机分为正常组、模型组、黄体酮组、固肾养阴汤组、中西药合用组, 每组 12 只。正常组雌鼠与 BALB/c 雄鼠 2:1 合笼, 其余各组雌鼠与 DBA/2 雄鼠 2:1 合笼, 次日清晨检出阴栓或阴道分泌物涂片见精子则建模成功, 为孕 0 d。正常组 12 只、模型组 10 只、黄体酮组 10 只、固肾养阴汤组 11 只、中西药合用组 11 只建模成功入组。

2.2 给药方法 根据临床等效剂量换算^[8]黄体酮给药剂量为 0.4 mg/kg, 固肾养阴汤给药剂量为 28 g/kg。黄体酮组小鼠灌胃给予 0.4 mg/kg 黄体酮 (蒸馏水稀释), 固肾养阴汤组小鼠灌胃给予 28 g/kg 固肾养阴汤, 中西药合用组小鼠同时灌胃给予 0.4 mg/kg 黄体酮和 28 g/kg 固肾养阴汤, 正常组、模型组灌胃给予等量蒸馏水, 每天 1 次, 孕 0~15 d 连续给药。

2.3 流产情况及组织取材 孕 15 d 处死各组小鼠, 剖腹取完整子宫组织, 记录吸收胚胎数和正常胚胎数, 正常胚胎大小均一, 肉眼可见红色条索状胎盘; 吸收胚胎大小不均一, 子宫呈黑色或紫褐色。计算胚胎吸收率, 公式为胚胎吸收率=吸收胚胎数/总胚胎数×100%。取胎盘组织 (含蜕膜组织), 部分置于 40% 中性甲醛中固定 48 h 备用; 部分置于 -80 ℃ 保存备用。

2.4 母胎界面组织病理形态观察 取固定于 40% 中性甲醛中的胎盘组织, 常规石蜡包埋, 制作 4 μm 的连续切片, 然后行常规苏木精-伊红 (HE) 染色, 中性树胶封片, 于光学显微镜下观察母胎界面组织病理形态改变情况。

2.5 ELISA 法检测白细胞介素 10 (IL-10)、 γ 干扰素 (IFN- γ) 水平 取 -80 ℃ 保存子宫组织, 称定质量后剪碎, 按照子宫组织与磷酸盐缓冲液质量比 1:9 加入磷酸盐缓冲液, 于冰上匀浆, 预冷离心机 12 000 r/min 离心 10 min, 离心半径 8 cm, 取匀浆上清液, 采用 ELISA 法并根据试剂盒说明书操作, 检测 IL-10、IFN- γ 水平, 于 490 nm 处检测光密度值, 计算待测样本浓度。

2.6 母胎界面组织中 SOCS1、SOCS3 mRNA 表达检测 取 -80 ℃ 保存子宫组织, 称定质量后采用 Trizol 法^[9]提取总 RNA, 酶标仪检测总 RNA 纯度, 并经琼脂糖凝胶电泳鉴定; 反转录获得互补链 cDNA, 以之为模板链进行实时荧光定量 PCR 反应, 按照 SYBR Premix Ex Taq II 试剂盒说明书设定反应体系, 反应条件为 95 ℃ 预变性 90 s; 95 ℃ 30 s, 58 ℃ 30 s, 72 ℃ 45 s, 45 个循环, 72 ℃ 再延伸 5 min; 以 GAPDH 为内参对照, 按照 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法^[10] 计算 SOCS1、SOCS3 表达。引物序列为 SOCS1 正向 5'-ACACGTAGGTGCTAGTG-3', 反向 5'-CCTAGCTGCTATGCTGA-3'; SOCS3 正向 5'-GCTGCTGATATGCTGAT-3', 反向 5'-ATGCTGATGTCGTGATC-3'; GAPDH 正向 5'-GGATGCTGATGCTAGCA-3', 反向 5'-TAGCTGTAGCTGTAGTCGT-3'。

2.7 母胎界面组织中 SOCS1、SOCS3 蛋白表达检测 取 -80 ℃ 保存子宫组织, 称定质量后置于液氮中研磨, 加入 RIPA 裂解液冰上孵育 25 min, 12 000 r/min 离心 10 min, 离心半径 8 cm, 取上清液测定蛋白总量。取 50 μg 待测蛋白与等量上样缓冲液混匀, 沸水水浴 10 min 变性, 于 80 V/120 V 进行 SDS-PAGE 电泳分离, 经湿转法将蛋白转移至聚偏氟乙烯膜 (PVDF) 膜上, 加入脱脂奶粉封闭 2 h, 充分洗膜, 加入 1:200 SOCS1, 1:400 SOCS3 一抗, 4 ℃ 摇床过夜; 充分洗膜, 加入 1:1 000 稀释二抗, 37 ℃ 孵育 1 h; 充分洗膜, 加入电化学发光液显影, 扫描拍照后, 图像分析软件分析条带灰度值, 以目的蛋白与内参 GAPDH 灰度值比值代表蛋白表达。

2.8 统计学分析 通过 SPSS20.0 软件进行处理, 计量资料均以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 SNK-q 检验。P<0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 胚胎吸收率 正常组、模型组、黄体酮组、固肾养阴汤组、中西药合用组胚胎吸收率分别为 (5.50±1.24)%、(28.54±3.29)%、(21.26±3.57)%、(17.41±3.20)%、(12.85±2.72)%, 与正常组比较, 模型组小鼠胚胎吸收率升高 (P<0.05); 与模型组比较, 黄体酮组、固肾养阴汤组和中西药合用组小鼠胚胎吸收率均降低, 并且中西药合用组<固肾养阴汤组<黄体酮组 (P<0.05)。

3.2 各组小鼠母胎界面组织病理形态改变 正常组蜕膜细胞形态正常, 排列整齐, 血管丰富, 绒毛形态正常; 模型组小鼠蜕膜细胞变性, 部分坏死, 蜕膜细胞连接丧失, 血管较少, 绒毛形态不一, 排列紊乱, 多量炎性细胞浸润; 黄体酮组小鼠蜕膜组织中血管稍增多; 固肾养阴汤组和中西药合用组小鼠蜕膜组织、绒毛形态明显改善, 血管更为丰富, 中西药合用组改善最为明显, 见图 1。

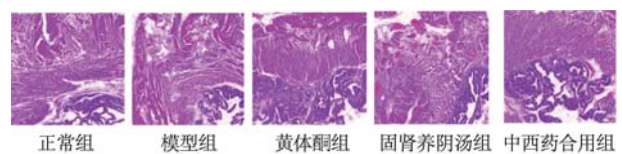


图 1 各组小鼠母胎界面组织病理形态 (HE, ×100)

3.3 各组小鼠母胎界面匀浆上清液中 IL-10、IFN- γ 水平 与正常组比较, 模型组小鼠母胎界面匀浆上清液中 IFN- γ 水平升高, IL-10 水平降低 (P<0.05); 与模型组比较, 黄体酮组、固肾养阴汤组和中西药合用组小鼠母胎界面匀浆上清液 IFN- γ 水平均降低, IL-10、IL-10/IFN- γ 水平升高, 且各指标活性强度表现为中西药合用组>固肾养阴汤组>黄体酮组 (P<0.05), 见表 1。

3.4 各组小鼠母胎界面组织中 SOCS1、SOCS3 mRNA 表达 与正常组比较, 模型组小鼠母胎界面组织中 SOCS1 mRNA 表达升高, SOCS3 mRNA 表达降低 (P<0.05); 与模型组比较, 黄体酮组、固肾养阴汤组和中西药合用组小

表 1 各组小鼠母胎界面匀浆上清液中 IL-10、IFN- γ 水平 ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数/只	IFN- γ /(pg·mL ⁻¹ ·prot ⁻¹)	IL-10/(pg·mL ⁻¹ ·prot ⁻¹)	IL-10/IFN- γ
正常组	12	8.10 $\pm$ 1.16	176.24 $\pm$ 10.38	21.76 $\pm$ 1.25
模型组	10	42.11 $\pm$ 3.42 [*]	65.44 $\pm$ 9.21 [*]	1.55 $\pm$ 0.30 [*]
黄体酮组	10	19.24 $\pm$ 2.30 [#]	81.32 $\pm$ 8.70 [#]	4.23 $\pm$ 0.68 [#]
固肾养阴汤组	11	15.35 $\pm$ 2.51 ^{#Δ}	95.41 $\pm$ 8.54 ^{#Δ}	6.22 $\pm$ 1.02 ^{#Δ}
中西药合用组	11	12.10 $\pm$ 2.48 ^{#$\Delta$$\blacktriangle$}	138.60 $\pm$ 11.35 ^{#$\Delta$$\blacktriangle$}	11.45 $\pm$ 1.10 ^{#$\Delta$$\blacktriangle$}

注:与正常组比较,^{*} $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$;与黄体酮组比较, ^{Δ} $P<0.05$;与固肾养阴汤组比较, ^{$\blacktriangle$} $P<0.05$ 。

鼠母胎界面组织中 SOCS1 mRNA 表达均降低,SOCS3 mRNA 表达均升高,且各指标活性强度表现为中西药合用组>固肾养阴汤组>黄体酮组 ($P<0.05$),见表 2。

表 2 各组小鼠母胎界面组织中 SOCS1、SOCS3 mRNA 表达 ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数/只	SOCS1	SOCS3
正常组	12	0.95 $\pm$ 0.12	2.03 $\pm$ 0.14
模型组	10	2.34 $\pm$ 0.15 [*]	0.59 $\pm$ 0.08 [*]
黄体酮组	10	2.01 $\pm$ 0.13 [#]	0.94 $\pm$ 0.12 [#]
固肾养阴汤组	11	1.58 $\pm$ 0.11 ^{#Δ}	1.10 $\pm$ 0.10 ^{#Δ}
中西药合用组	11	1.20 $\pm$ 0.10 ^{#$\Delta$$\blacktriangle$}	1.53 $\pm$ 0.12 ^{#$\Delta$$\blacktriangle$}

注:与正常组比较,^{*} $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$;与黄体酮组比较, ^{Δ} $P<0.05$;与固肾养阴汤组比较, ^{$\blacktriangle$} $P<0.05$ 。

3.5 各组小鼠母胎界面 SOCS1、SOCS3 蛋白表达 与正常组比较,模型组小鼠母胎界面组织中 SOCS1 蛋白表达升高,SOCS3 蛋白表达降低 ($P<0.05$);与模型组比较,黄体酮组、固肾养阴汤组和中西药合用组小鼠母胎界面组织中 SOCS1 蛋白表达均降低,SOCS3 蛋白表达均升高,且各指标活性强度表现为中西药合用组>固肾养阴汤组>黄体酮组 ($P<0.05$),见表 3、图 2。

表 3 各组小鼠母胎界面组织中 SOCS1、SOCS3 蛋白表达 ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数/只	SOCS1	SOCS3
正常组	12	0.36 $\pm$ 0.06	1.20 $\pm$ 0.11
模型组	10	1.87 $\pm$ 0.11 [*]	0.23 $\pm$ 0.05 [*]
黄体酮组	10	1.30 $\pm$ 0.10 [#]	0.56 $\pm$ 0.08 [#]
固肾养阴汤组	11	1.02 $\pm$ 0.09 ^{#Δ}	0.78 $\pm$ 0.08 ^{#Δ}
中西药合用组	11	0.56 $\pm$ 0.08 ^{#$\Delta$$\blacktriangle$}	1.10 $\pm$ 0.09 ^{#$\Delta$$\blacktriangle$}

注:与正常组比较,^{*} $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$;与黄体酮组比较, ^{Δ} $P<0.05$;与固肾养阴汤组比较, ^{$\blacktriangle$} $P<0.05$ 。

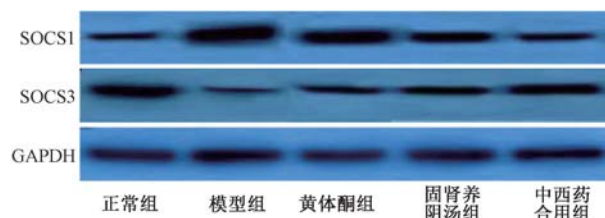


图 2 小鼠母胎界面组织中 SOCS1、SOCS3 蛋白 Western blot 条带图

4 讨论

反复自然流产由遗传因素、环境因素等多种因素交互作用而致,但仍有 50% 左右原因不明^[11-12]。临床常用激素

类药物治疗,但效果尚不理想^[13]。母胎界面免疫微环境失调与反复自然流产关系密切,改善母胎界面免疫微环境诱导母胎免疫耐受,对提高妊娠成功率有重要意义^[14]。

中医药历史悠久,古今中医药典籍中有许多诊治滑胎的方略,安胎疗效确切^[15-16]。固肾养阴汤由《医学衷中参西录》中的寿胎丸和《傅青主女科》中的安奠二天汤结合而来,方中含菟丝子、续断等 11 味中药,多味药相互配合,达到固肾养阴、健母益胎的功效。

本研究中黄体酮、固肾养阴汤单独及联合给药后,反复自然流产小鼠胚胎吸收率降低,母胎界面蜕膜组织病理改变有所改善,IFN- γ 水平降低,IL-10 水平、IL-10/IFN- γ 比值升高,组织中 SOCS1 mRNA 和蛋白表达降低,SOCS3 mRNA 和蛋白表达升高,且各指标活性强度表现为中西药合用组>固肾养阴汤组>黄体酮组,说明黄体酮和固肾养阴汤均能改善母胎界面免疫微环境,抑制 SOCS1,促进 SOCS3 转录和表达,且联合用药效果最好。研究发现,胎儿对于母体属于非己抗原,母体识别抗原则产生免疫应答,母体通过调控免疫平衡产生免疫耐受则胎儿顺利植入胎盘,否则易排斥胎儿造成流产^[17]。Th1/Th2 免疫平衡在母胎界面胚胎植入过程中发挥重要调控作用。Th1 细胞及其细胞因子可从多方面影响胚胎植入,如 IFN- γ 可下调主要组织相容性复合体 (MHC) 表达而使胎盘受到机体免疫攻击;IFN- γ 的细胞毒作用可破坏胎盘结构,同时可促进黄体细胞凋亡导致孕酮水平降低^[18-19]。Th2 细胞及其细胞因子 IL-10、IL-4 可抑制机体免疫炎症反应,具有 Th1 负性调节作用^[20]。药理学研究表明,滋阴药对过亢免疫反应具有抑制作用,可调节机体免疫力^[21]。菟丝子等药物中含有类雌激素,利于促黄体生成素释放激素的释放及卵巢对其反应性^[22]。Mesaki 等^[23]发现,SOCS 家族分子具有负反馈调节作用,与机体免疫,尤其是与 Th1/Th2 免疫平衡关系密切。SOCS1 具有抑制 Th1 细胞及其细胞因子的作用,但过度表达可抑制 Th2 细胞分化使 Th1/Th2 平衡向 Th1 偏移^[24]。

综上所述,固肾养阴汤有利于改善反复自然流产小鼠母胎界面免疫微环境,联合西药改善效果更佳,维持母胎界面 Th1/Th2 平衡的 Th2 型优势,调控 SOCS1、SOCS3 表达,利于胎儿免疫耐受,改善妊娠结局,为临床反复自然流产的防治提供理论基础。

参考文献:

- [1] 叶晓洁,蔡安利.原发性与继发性反复自然流产妇女的流行病学特点比较[J].中国妇幼保健,2017,32(13):

- 2977-2980.
- [2] Ticconi C, Pietropolli A, Di Simone N, *et al.* Endometrial immune dysfunction in recurrent pregnancy loss[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(21): 5332.
 - [3] Eskandarian M, Moazzeni S M. Uterine dendritic cells modulation by mesenchymal stem cells provides a protective microenvironment at the feto-maternal interface: improved pregnancy outcome in abortion-prone mice[J]. *Cell J*, 2019, 21(3): 274-280.
 - [4] Verma P, Verma R, Nair R R, *et al.* Altered crosstalk of estradiol and progesterone with myeloid-derived suppressor cells and Th1/Th2 cytokines in early miscarriage is associated with early breakdown of maternal-fetal tolerance[J]. *Am J Reprod Immunol*, 2019, 81(2): e13081.
 - [5] 杨冬梅, 雷 磊. 中药治疗在反复自然流产中的应用与思考[J]. *中华中医药杂志*, 2020, 35(1): 273-276.
 - [6] 孙佳琦, 朱馥丽, 蔡连香, 等. 蔡连香教授从“恐则气下”论治反复自然流产之先兆流产举隅[J]. *时珍国医国药*, 2019, 30(8): 1995-1996.
 - [7] 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[J]. *中医学报*, 2020, 35(2): 358-361.
 - [8] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2004, 9(9): 1069-1072.
 - [9] Trakunram K, Champoochana N, Chaniad P, *et al.* MicroRNA isolation by trizol-based method and its stability in stored serum and cDNA derivatives[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2019, 20(6): 1641-1647.
 - [10] 宋国华, 高继萍, 王春芳, 等. 相对定量 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法分析Caspase-3和Caspase-9在氟诱导大鼠肾脏中的表达[J]. *毒理学杂志*, 2014, 28(4): 274-278.
 - [11] 张清华, 潘 静, 姚丽艳. 复发性流产患者病因构成分析[J]. *中国全科医学*, 2020, 23(14): 1760-1764.
 - [12] du Fossé N A, van der Hoorn M P, van Lith J M M, *et al.* Advanced paternal age is associated with an increased risk of spontaneous miscarriage: a systematic review and meta-analysis[J]. *Hum Reprod Update*, 2020, 26(5): 650-669.
 - [13] Haas D M, Hathaway T J, Ramsey P S. Progestogen for preventing miscarriage in women with recurrent miscarriage of unclear etiology[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2019, 2019(11): CD003511.
 - [14] Chen J, Liu B W, Zhang Y, *et al.* Effect of immunotherapy on patients with unexplained recurrent spontaneous abortion[J]. *Ann Palliat Med*, 2020, 9(5): 2545-2550.
 - [15] 冯晓玲, 张俐佳, 张 杨, 等. 补肾活血方对不明原因复发性流产患者外周血中IL-1 β 、IL23表达的影响[J]. *时珍国医国药*, 2019, 30(8): 1808-1810.
 - [16] 韩春艳, 孙自学, 宋艳丽. 补肾安胎饮对肾虚型不明原因复发性流产患者的临床疗效[J]. *中成药*, 2019, 41(12): 3067-3071.
 - [17] Yang F L, Zheng Q L, Jin L P. Dynamic function and composition changes of immune cells during normal and pathological pregnancy at the maternal-fetal interface[J]. *Front Immunol*, 2019, 10(1): 2317.
 - [18] Rezaei Kahmini F, Shahgaldi S, Moazzeni S M. Mesenchymal stem cells alter the frequency and cytokine profile of natural killer cells in abortion-prone mice[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(10): 7214-7223.
 - [19] Logiodice F, Lombardelli L, Kullolli O, *et al.* Decidual interleukin-22-producing CD4+ T cells (Th17/Th0/IL-22+ and Th17/Th2/IL-22+, Th2/IL-22+, Th0/IL-22+), which also produce IL-4, are involved in the success of pregnancy[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(2): 428.
 - [20] 李文艳, 张 娜, 李晓宁, 等. 单增李斯特菌致流产小鼠子宫中Th1和Th2细胞因子的变化[J]. *河北大学学报(自然科学版)*, 2020, 40(1): 57-62.
 - [21] 曾 利, 高 琼. 滋阴补气祛瘀饮联合西药对ACA阳性反复自然流产患者的影响[J]. *西部中医药*, 2020, 33(9): 104-107.
 - [22] 孙向明, 宋 辉, 阎新佳, 等. 菟丝子雌激素样作用质量标志物的筛选及含量测定[J]. *中草药*, 2020, 51(10): 2671-2679.
 - [23] Mesaki K, Yamane M, Sugimoto S, *et al.* SOCS3 overexpression in T cells ameliorates chronic airway obstruction in a murine heterotopic tracheal transplantation model[J]. *Surg Today*, 2019, 49(5): 443-450.
 - [24] 张云霞. 妊娠期高血压疾病与血清SOCS-3、IL-18水平及Th1/Th2相关性分析[J]. *中国计划生育学杂志*, 2019, 27(1): 69-72.