

复发性流产动物模型特点评价与应用分析

丁天送¹, 谢京红¹, 杨斌¹, 李河桥¹, 乔一倬¹, 陈心如², 田纹凡², 李佳佩², 张婉怡³, 李帆旋¹

(1. 中国中医科学院西苑医院, 北京 100091; 2. 北京中医药大学研究生院, 北京 100029; 3. 北京市海淀区苏家坨镇社区卫生服务中心, 北京 100194)

[摘要] **目的** 总结目前国内外复发性流产 (recurrent spontaneous abortion, RSA) 动物模型的特点并进行评价, 为 RSA 模型的标准化制备提供参考和指导。**方法** 在中国知网、万方、维普、PubMed、Web of Science 数据库中以“复发性流产”等和“动物模型”为并列主题词, 检索建库至 2024 年 1 月 20 日的 RSA 动物实验性文献, 共收集相关文献 1 411 篇。从 RSA 动物模型构建方法及要素、RSA 动物模型的造模过程及结果评定、RSA 动物模型用于药理药效学研究等方面进行总结, 并建立 Excel 表进行系统分析和讨论。**结果** 筛选后共获得符合标准的实验性研究文献 138 篇。构建 RSA 动物模型时, 西医动物模型中, 免疫型模型最为广泛 (96.92%), 且以 Clark 模型为主 (92.31%); 中医模型中, 肾虚-黄体抑制-病证结合型占 70.00%, 肾虚血瘀型占 20.00%, 虚热证型占 10.00%。大部分动物周龄选择在 6~8 周龄 (33.86%) 和 8 周龄 (32.28%)。动物合笼时间多选在合笼日 18:00。81.03% 的文献仅合笼后次日对动物有无形成阴栓进行 1 次检查, 几乎均在次日上午检查, 具体时间 8:00 排名靠前 (17.02%)。最常用的受试药物给药周期是妊娠后连续灌胃 14 d。受试药种类中, 西药受试药以蛋白类药物为主 (29.17%), 中药受试药以中药汤剂为主 (81.11%)。指标检测方法多为肉眼胚胎观察 (22.54%)、蛋白质印迹 (15.96%)、PCR (13.58%)、ELISA (12.91%)、苏木精-伊红 (hematoxylin and eosin, HE) 染色 (10.80%) 和免疫组织化学 (9.39%) 等。**结论** 由于 RSA 病因繁杂, 针对不同病因应构建相应的动物模型。西医模型构建时多选用 Clark 模型, 中医模型构建时以肾虚-黄体抑制-病症结合模型为主。RSA 动物模型在相关研究中应用广泛, 但需要加强系统性评价。

[关键词] 复发性流产; 动物模型; 模型特点; 模型评价

[中图分类号] R714.21; Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2024)04-0393-12



Characteristics Evaluation and Application Analysis on Animal Models of Recurrent Spontaneous Abortion

DING Tiansong¹, XIE Jinghong¹, YANG Bin¹, LI Heqiao¹, QIAO Yizhuo¹, CHEN Xinru², TIAN Wenfan², LI Jiawei², ZHANG Wanyu³, LI Fanxuan¹

(1. Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China; 2. Graduate School of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China; 3. Sujiatuo Town Community Health Service Center, Haidian District, Beijing 100194, China)

Correspondence to: XIE Jinghong (ORCID: 0009-0005-4584-1609), E-mail: jinghongxie2012@163.com

[ABSTRACT] **Objective** To summarize and evaluate the characteristics of current recurrent spontaneous abortion (RSA) animal models at home and abroad, and to provide reference and guidance for the standardized preparation of RSA models. **Methods** "Recurrent spontaneous abortion" and "animal model" were used as co-keywords in CNKI, Wanfang, VIP, PubMed and Web of Science databases to search the RSA animal experimental literature, covering the period up to January 20, 2024, and a total of 1 411 articles were collected. The analysis focused on construction methods and essential elements of RSA animal models, the modeling process and result evaluation, as well as the application of these models in pharmacological and pharmacodynamic research. An Excel table was established for systematic analysis and discussion. **Results** A total of 138 experimental studies were obtained after screening. In constructing

[基金项目] 中国中医科学院科技创新工程课题“补肾助孕方改善薄型子宫内膜治疗复发性流产的疗效特色研究”(CI2021A02408)

[第一作者] 丁天送 (1996—), 女, 博士研究生在读, 研究方向: 中医药防治女性生殖内分泌疾病。E-mail: dts961025@163.com

[通信作者] 谢京红 (1967—), 博士, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 研究方向: 中医药防治女性生殖内分泌疾病。E-mail: jinghongxie2012@163.com。ORCID: 0009-0005-4584-1609

RSA animal models, immunological models were the most widely used in Western medicine (96.92%), with the Clark model being the main one (92.31%). In traditional Chinese medicine (TCM) models, 70.00% were kidney deficiency-luteal inhibition-syndrome combination models, 20.00% were kidney deficiency and blood stasis models, and 10.00% were deficiency-heat syndrome models. Most animals were selected at 6-8 weeks (33.86%) and 8 weeks (32.28%) of age. The majority of animals were paired for mating at 18:00 on the day of cage pairing. In 81.03% of literatures, vaginal plugs were checked once the following morning, with 8:00 being the most common time (17.02%). The most commonly used drug administration cycle was 14 days of continuous gavage after pregnancy. Among the tested drugs, Western drugs were mainly protein-based (29.17%), while TCM drugs were mainly TCM decoction (81.11%). The most frequently used methods for detecting indicators included visual observation of embryos (22.54%), western blot (15.96%), PCR (13.58%), ELISA (12.91%), HE staining (10.80%) and immunohistochemistry (9.39%). **Conclusion** The etiology of RSA is complex, and corresponding animal models should be established based on different etiologies. Clark model is commonly used in the construction of Western medicine model, while the kidney deficiency-luteal inhibition-syndrome combination model is predominant in TCM. RSA animal model is widely used in related research, but systematic evaluation needs to be strengthened.

[Key words] Recurrent spontaneous abortion; Animal model; Model characteristics; Model evaluation

复发性流产 (recurrent spontaneous abortion, RSA) 是严重影响女性生育能力的重要因素之一, 近年来其发生率急剧上升, 约占育龄期妇女的 1%~5%^[1]。RSA 的致病因素复杂多样, 包括解剖、遗传、感染、内分泌、血栓前状态及生殖免疫等, 但仍有 50% 左右的病例病因未知, 称为不明原因复发性流产 (unexplained recurrent spontaneous abortion, URSA)^[2], 这是生殖医学领域的热点和难点之一。本病在中医学中属于“滑胎”“数堕胎”范畴, 具有“应期而下”的发病特点^[3]。中医治疗多从补肾健脾、活血化瘀入手^[4]。现代医学治疗则多采用对应病因的调节内分泌、抗凝、调控免疫及辅助生殖技术手段^[5], 但效果有限。

构建 RSA 动物模型可用于评价干预措施对 RSA 的治疗有效性, 并探讨该病的发生、发展及治疗机制。本研究通过收集并分析国内外已发表的 RSA 动物模型研究文献, 对 RSA 动物模型的应用现状进行归纳总结, 以期构建标准化的 RSA 动物模型提供思路和线索。

1 材料与方法

1.1 文献检索

在中国知网、万方、维普数据库中, 以“复发性流产”、“习惯性流产”、“反复自然流产”、“反复妊娠丢失”、“滑胎”、“数堕胎”和“动物模型”为主题词, 进行两个主题词呈并列关系的高级检索。在 PubMed、Web of Science 数据库中, 以“recurrent spontaneous

abortion” “recurrent miscarriage” “habitual abortion” “recurrent pregnancy loss” “repeated pregnancy loss” AND “animal model” 为检索语法进行检索。检索时间范围均设置为自建库以来至 2024 年 1 月 20 日, 共得到文献 1 411 篇。

1.2 纳排标准

筛选出使用了 RSA 动物模型的相关性文献, 然后选用对 RSA 造模方法叙述清晰且完整的文献。符合纳入条件的文献应当包含 RSA 动物模型的动物种类、造模方法及检测指标等造模基本要素, 且可获得全文。排除非动物模型实验性文献、数据不全面或不对应、全文与主题不符、综述、会议、报纸、硕士和博士论文以及基于细胞实验的文献。最终得到符合以上标准的文献 138 篇 (图 1)。

1.3 数据处理分析

实验所用实验动物的种类名称按照国家标准《实验动物术语》(GB/T 39759-2021) 进行规范。将动物模型构建方法、年龄分布、造模过程评定、给药周期和实验结果检测指标等数据录入 Excel 中, 并对每项数据进行频数、百分比统计。

2 结果

2.1 RSA 动物模型构建方法及要素

2.1.1 使用动物种类及品系

对纳入的 138 篇文献, 根据西医模型和中医病证结合模型的分类标准, 对 RSA 动物模型信息进行统计。

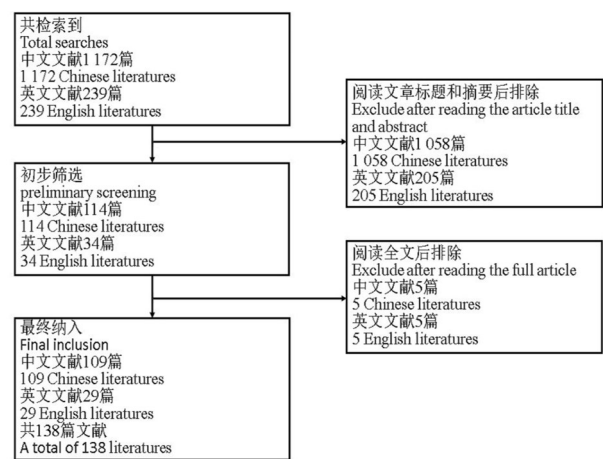


图1 文献检索筛选流程

Figure 1 Literature retrieval and screening process

结果显示，RSA 模型所用动物均为鼠类。在西医动物模型中，CBA/J（♀）×DBA/2（♂）模型占比最高，达92.31%；在中医病证结合动物模型中，SD大鼠（♀）×SD大鼠（♂）+羟基脲灌胃+米非司酮灌胃模型（肾虚-黄体抑制病证结合模型）使用最广泛，占比70.00%（表1）。

2.1.2 诱导药物及造模方法

RSA 的机制复杂，动物模型的构建有助于方便、有效地认识疾病发生、发展规律并研究防治措施。各种类型的RSA 动物模型使用不同的药物诱导来建立（表1）。例如：西医模型中，β2糖蛋白1（beta2-glycoprotein 1，β2-GP1）用于构建抗β2-GP1抗体阳性

RSA 模型；脂多糖（lipopolysaccharide，LPS）可用于构建感染型RSA 模型；溴隐亭可用于构建低催乳素血症及免疫识别功能低下RSA 模型；C1q用于构建C1q抗体过度激活RSA 模型；抗心磷脂（anti-cardiolipid，aCL）抗体用于构建aCL抗体阳性RSA 模型。中医病证结合模型中，羟基脲和米非司酮联合可构建肾虚-黄体抑制RSA 模型；肾上腺素和羟基脲联合可构建肾虚血瘀RSA 模型；附子、干姜、肉桂联合可构建虚热型RSA 模型。

2.1.3 动物年龄分布

127 篇文献对实验动物的年龄选择进行了描述，统计结果显示：选用6~8周龄动物进行实验的文献数量最多，共43篇（33.86%）；选用8周龄动物进行实验的文献数量有41篇（32.28%）；选用8~10周龄动物进行实验的文献数量为28篇（22.05%）；选用其他周龄动物进行实验的文献数量占比均不足10%（表2）。

2.1.4 合笼时雌雄比例选择

从收集的文献中排除未提及动物雌雄比例的文献27篇，对剩余的111篇文献进行统计分析。结果显示：动物雌雄比例为2：1的文献共98篇（88.29%），其中小鼠90篇（81.08%）、大鼠8篇（7.21%）；动物雌雄比例为1：1的文献共10篇（9.01%），其中小鼠9篇（8.11%）、大鼠1篇（0.90%）；其余动物雌雄比例的文献仅为3篇（2.70%），全部使用小鼠。

表1 复发性流产动物模型建立方法

Table 1 Establishment methods of animal models for recurrent spontaneous abortion

模型分类 Model classifications	动物品种品系 animal strains	文献频数(百分比/%) Frequency (Percentage /%)	造模方法 Modeling methods
西医模型 Western medicine model	CBA/J小鼠(♀)×DBA/2小鼠(♂)	120 (92.31)	无需药物干预,成功妊娠即成模
	BALB/c小鼠(♀)×BALB/c小鼠(♂)	4 (3.08)	子宫或腹腔注射β2-GP1
	Swiss白化小鼠(♀)×Swiss白化小鼠(♂)	2 (1.54)	腹腔注射LPS
	SD大鼠(♀)×SD大鼠(♂)	1 (0.77)	皮下注射溴隐亭
	C57BL/6小鼠(♀)×C57BL/6小鼠(♂)	1 (0.77)	腹腔注射LPS
	CBA/J小鼠(♀)×CBA/J小鼠(♂)	1 (0.77)	尾静脉注射JL-1
	SD大鼠(♀)×SD大鼠(♂)	1 (0.77)	皮下注射aCL-IgG
中医病证结合模型 TCM disease and syndrome combination model	SD大鼠(♀)×SD大鼠(♂)	7 (70.00)	羟基脲灌胃+米非司酮灌胃(肾虚-黄体抑制)
	CBA/J小鼠(♀)×BALB/c小鼠(♂)	2 (20.00)	羟基脲灌胃+肾上腺素皮下注射(肾虚血瘀)
	CBA/J小鼠(♀)×DBA/2小鼠(♂)	1 (10.00)	附子、干姜、肉桂溶液灌胃(虚热)

注：β2-GP1为β2糖蛋白1；LPS为脂多糖；JL-1为C1q单克隆抗体；aCL-IgG为抗心磷脂抗体IgG。
Note：β2-GP1, beta2-glycoprotein 1; LPS, lipopolysaccharide; JL-1, C1q monoclonal antibody; aCL-IgG, anticardiolipin antibody IgG.

表2 复发性流产动物模型使用实验动物的年龄分布
Table 2 Age distribution of experimental animals used in recurrent spontaneous abortion models

年龄 Age	文献频数/次(小鼠/大鼠) Frequency/times (mouse/rat)	百分比/(小鼠/大鼠) Percentage /% (mouse/rat)
6~8周龄 6~8 weeks old	43 (40/3)	33.86 (31.50/2.26)
8周龄 8 weeks old	41 (40/1)	32.28 (31.50/0.79)
8~10周龄 8~10 weeks old	28 (27/1)	22.05 (21.26/0.79)
≥10周龄 ≥10 weeks old	8 (7/1)	6.30 (5.51/0.79)
10~12周龄 10~12 weeks old	3 (2/1)	2.26 (1.57/0.79)
8~12周龄 8~12 weeks old	3 (3/0)	2.26 (2.26/0)
9~11周龄 9~11 weeks old	1 (1/0)	0.79 (0.79/0)

表3 复发性流产动物模型造模过程评定
Table 3 Evaluation of the modeling process of recurrent spontaneous abortion animal models

造模过程评定项目 Molding process assessment item	时间或次数 Time or frequency	文献频数(小鼠/大鼠) Frequency (mouse/rat)	百分比/(小鼠/大鼠) Percentage /% (mouse/rat)
合笼交配时间 Cage mating	交配日 18:00	6 (6/0)	60.00 (60.00/0)
	交配日 20:00	2 (2/0)	20.00 (20.00/0)
	交配日 17:00	1 (1/0)	10.00 (10.00/0)
	交配日晚上	1 (1/0)	20.00 (20.00/0)
阴栓检查频次 Frequency vaginal plug examination	合笼后每日1次	47 (42/5)	81.03 (72.41/8.62)
	合笼后每日2次	11 (8/3)	18.97 (13.79/5.17)
阴栓检查时间 Vaginal plug examination time	次日清晨	13 (11/2)	27.66 (23.40/4.26)
	次晨	8 (8/0)	17.02 (17.02/0)
	次日 8:00	8 (8/0)	17.02 (17.02/0)
	次日早晨	7 (5/2)	14.89 (10.64/4.26)
	仅提及每日1次	2 (2/0)	4.26 (4.26/0)
	次日 5:00~6:00	1 (1/0)	2.13 (2.13/0)
	次日 6:00	1 (1/0)	2.13 (2.13/0)
	次日 6:00~7:00	1 (1/0)	2.13 (2.13/0)
	次日 7:00	1 (1/0)	2.13 (2.13/0)
	次日 8:30	1 (1/0)	2.13 (2.13/0)
	次日 10:00	1 (1/0)	2.13 (2.13/0)
	次日 9:00~11:00	1 (1/0)	2.13 (2.13/0)
	次日早晨	1 (1/0)	2.13 (2.13/0)
	次日上午	1 (0/1)	2.13 (2.13/0)
	次日 8:00 和 14:00	5 (1/0)	45.45 (45.45/0)
	次日 8:00 和 15:00	1 (1/0)	9.09 (9.09/0)
	次日早晚 7:00	1 (1/0)	9.09 (9.09/0)
	次日早晚 8:00	1 (1/0)	9.09 (9.09/0)
	次日早晚 9:00	1 (1/0)	9.09 (9.09/0)
	次日早、晚	1 (1/0)	9.09 (9.09/0)
	仅提及每日2次	1 (1/0)	9.09 (9.09/0)

2.2 RSA 动物模型的造模过程及结果评定

2.2.1 合笼时间及阴栓检查

明确的合笼时间有利于提高交配成功率。根据所查阅的文献，10 篇文献指出合笼时间在交配日晚上，其中6 篇文献明确为 18：00（60.00%），2 篇文献明确为 20：00（20.00%），1 篇文献明确为 17：00（10.00%）（表3）。鼠类合笼交配后会形成阴栓，阴栓是判断其有无妊娠的一种简单易行且较为常用的方法。共有 128 篇文献明确指出妊娠成功的标志性特征。阴栓会在一定时间内自动脱落，应及时检出以降低漏检率。有 58 篇文献明确合笼后动物检查频次，其中 47 篇文献选择动物合笼后每日检查 1 次（81.03%）。阴栓检查的时间一般选在合笼后次日清晨（27.66%），尽管具体检查时间不详，但次日 8：00 是较为推荐的时段（17.02%）。另外，有 11 篇文献选择动物合笼后每日检查 2 次（18.97%），阴栓检查时间多选在次日 8：00 和 14：00（45.45%）（表3）。

2.2.2 检测指标及检测方法

统计结果显示, 模型建立后表型评价共涉及 22 种检测方法, 累计 426 个检测频数。其中, 频数占比最高的检测方法是动物胚胎肉眼观察 (22.54%), 该方法以胚胎吸收率、流产率等检测指标为主, 因其能最直观地反映 RSA 模型建立后的临床效果。其他主要检测方法分别为蛋白质印迹法 (western blot, WB) (15.96%), 常用于检测磷酸肌醇 3- 激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)、蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB)、转化生长因子-β1 (transforming growth factor-β1, TGF-β1) 等指标; 聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) (13.85%), 用于检测己糖激酶 2 (Hexokinase 2, HK2)、丙酮酸激酶 M2 (Pyruvate kinase M2, PKM2)、乳酸脱氢酶 A (lactate dehydrogenase A, LDHA) 等指标; 酶联免疫吸附试验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) (12.91%), 用于检测γ干扰素 (interferon-γ, IFN-γ)、白细胞介素 (interleukin, IL) -10、IL-1β、

肿瘤坏死因子-α (tumor necrosis factor-α, TNF-α) 等指标; 苏木精-伊红 (hematoxylin and eosin, HE) 染色 (10.80%), 用于检测母胎界面滋养细胞形态; 免疫组织化学 (immunohistochemistry, IHC) (9.39%), 用于检测 PI3K、PKB、TGF-β1 等指标 (表 4)。

2.3 RSA 动物模型用于药理药效学研究

2.3.1 受试药种类

排除非药物实验性文章, 含受试药的文献共有 114 篇, 这些文献涉及的受试药共有 11 种。根据这 114 篇文献中的西药受试药和中药受试药进行分类统计, 结果显示: 受试西药中, 蛋白类和细胞类药物占比最高, 分别为 29.17% 和 25.00% (表 5); 受试中药中, 以中药汤剂 (多为补肾加减方) 占比最高, 为 81.11% (表 5)。

2.3.2 受试药物给药周期

排除非药物实验性文章及未说明给药周期的文献后, 含受试药的文献共有 114 篇。根据给药频率的不同, 将给药方式分为单次给药、连续多次给药、间隔给药 3 种。给药周期统计结果如下: 单次给药共计 7

表 4 复发性流产动物模型的表型评价检测指标及其检测方法

Table 4 Phenotypic evaluation indicators and detection methods of recurrent spontaneous abortion animal models

序号 No.	检测方法 (指标) Type of detection method (detection index)	频数 (百分比/%) Frequency (Percentage/%)
1	胚胎肉眼观察 (胚胎吸收率、流产率等)	96 (22.54)
2	蛋白质印迹 (TGF-β1、PI3K、PKB 等)	68 (15.96)
3	PCR (HK2、PKM2、LDHA mRNA 等)	59 (13.85)
4	ELISA (IFN-γ、IL-10、IL-1β、TNF-α 等)	55 (12.91)
5	HE 染色 (母胎界面滋养细胞形态等)	46 (10.80)
6	免疫组织化学 (TGF-β1、PI3K、PKB)	40 (9.39)
7	流式细胞术 (CD4 ⁺ 、CD25 ⁺ 、Treg 细胞计数等)	31 (7.28)
8	免疫荧光 (iNOS、IL-6、TNF-α、Arg-1 等)	11 (2.58)
9	脏器指数 (脾脏、胸腺、子宫等)	3 (0.70)
10	双荧光素酶实验 (miR-187 和 VEGF 靶向关系等); 质谱检测 (蜕膜蛋白质组); 生殖力指标 (每窝产仔数, 鼠仔出生体重等); 磷酸化检测 (STAT1、STAT3、STAT6)	2 (0.47)
11	硝酸还原酶法检测 (NO); TUNEL 荧光检测 (蜕膜组织细胞凋亡); 双向电泳 (蜕膜蛋白质组); 乳酸脱氢酶比色法 (HK、PK、LDH 酶活性检测); Label-free 蛋白质组学 (胎盘组织); 免疫金-电镜分析 (TTP); 功能活性测定; 血细胞计数 (PLT); 凝血检查 (APTT、PT、FIB)	1 (0.23)

注: TGF-β1 为转化生长因子-β1; PI3K 为磷酸肌醇 3-激酶; PKB 为蛋白激酶 B; IFN-γ 为 γ 干扰素; TNF-α 为肿瘤坏死因子-α; iNOS 为诱导型一氧化氮合酶; IL 为白细胞介素; Arg-1 为精氨酸酶 1; miR-187 为微 RNA-187; VEGF 为血管内皮生长因子; STAT 为信号转导和转录激活因子; NO 为一氧化氮; HK 为己糖激酶; PK 为丙酮酸激酶; LDH 为乳酸脱氢酶; TTP 为锌指蛋白 36; PLT 为血小板; APTT 为活化部分凝血活酶时间; PT 为凝血酶原时间; FIB 为血浆纤维蛋白原。

Note: TGF-β1, transforming growth factor-β1; PI3K, phosphatidylinositol 3-kinase; PKB, protein kinase B; IFN-γ, interferon-γ; TNF-α, tumor necrosis factor-α; iNOS, inducible nitric oxide synthase; IL, interleukin; Arg-1, arginase-1; miR-187, microRNA-187; VEGF, vascular endothelial growth factor; STAT, signal transducer and activator of transcription; NO, nitric oxide; HK, hexokinase; PK, pyruvate kinase; LDH, lactate dehydrogenase; TTP, tristetraprolin; PLT, platelet; APTT, activated partial thromboplastin time; PT, prothrombin time; FIB, fibrinogen.

表5 使用复发性流产动物模型的受试药种类

Table 5 Types of drugs tested in recurrent spontaneous abortion animal models

受试药种类 Tested drugs	频数/次(小鼠/大鼠) Frequency (mouse/rat)	百分比/(% (小鼠/大鼠)) Percentage /% (mouse/rat)
受试西药 Western drugs tested		
蛋白(环孢素A、IVIG等)	7 (7/0)	29.17 (29.17/0)
细胞(Treg、间充质干细胞等)	6 (6/0)	25.00 (25.00/0)
西药(二甲双胍、普伐他汀等)	4 (2/2)	16.67 (8.33/8.33)
转染 miRNA(miR-24、146、203)	3 (3/0)	12.50 (12.50/0)
因子(IL-7、CXCL12/CCL2/RANTES)	2 (2/0)	8.33 (8.33/0)
化工试剂(二氧化硅颗粒)	1 (1/0)	4.17 (4.17/0)
西药化合物(SR9009)	1 (1/0)	4.17 (4.17/0)
受试中药 Chinese medicine tested		
中药汤剂(寿胎丸、泰山磐石散等)	73 (67/6)	81.11 (74.44/6.67)
中药化合物(黄芩苷、丹参酮II A等)	12 (10/2)	13.33 (11.11/2.22)
中药水煎液(味数≤2)(黄芩、白术等)	4 (4/0)	4.44 (4.44/0)
中成药(孕康口服液)	1 (1/0)	1.11 (1.11/0)

注: Treg 为调节性T细胞; IVIG 为人免疫球蛋白; IL-7 为白细胞介素-7; CXCL12 为趋化因子 CXC 配体 12; CCL2 为趋化因子配体 2; RANTES 为重组人趋化因子 CCL5; SR9009 为西地那非; miRNA 为微 RNA; miR-24/146/203 为微 RNA-24/146/203。

Note: Treg, regulatory T cells; IVIG, Intravenous immunoglobulin; IL-7, Interleukin-7; CXCL12, C-X-C motif chemokine ligand 12; CCL2, C-C motif chemokine ligand 2; RANTES, Recombinant human C-C Motif Chemokine 5; SR9009, Stenabolic; miRNA, MicroRNAs; miR-24, 146, 203, microRNA-24, 146, 203.

次, 其中妊娠后第4天的给药周期较为常用, 占有单次给药周期的28.57%; 连续多次给药共计101次, 一般采取灌胃方式, 而妊娠后连续14 d的给药周期最常见, 为43次, 占比42.57%; 间隔给药共计6次, 均采取腹腔注射或尾静脉注射方式, 涉及的受试药物为抗体、因子、免疫抑制分子等, 每种给药周期占比相同(16.67%)。在动物实验中需根据受试药物与实验目的灵活调整给药周期(表6)。

3 讨论

3.1 RSA模型特点与应用

3.1.1 西医模型

Clark 模型: 小鼠模型以 Clark 经典模型^[6]为主。其中, CBA/J (♀) × DBA/2 (♂) 是常用的交配体系, 其基因已高度纯合化, 具有隐性、反复性、围着床期流产的特点, 流产率高达20% ~ 30%, 是研究URSA的重要模型, 对于逐步阐明妊娠免疫耐受机理具有重要意义^[6-7]。此外, CBA/J (♀) × DBA/2 (♂) 也是统计结果中唯一无需药物诱导的RSA模型, 但流产机制尚不完全清楚。

APA 抗体阳性流产模型: 抗磷脂抗体综合征 (antiphospholipid antibody syndrome, APS) 已被确定为自身免疫性复发性自然流产的最常见原因之一^[8]。

APS 的发生和发展与抗磷脂抗体 (antiphospholipid antibody, APA) 有关。APA 主要有抗 aCL 抗体、抗 β2-GP1 抗体和狼疮抗凝剂 (lupus anti-coagulant, LA) 3 种成分^[9]。aCL 抗体是一种带负电荷磷脂或带负电荷磷脂与蛋白复合物的自身抗体, 可引起子宫胎盘功能不全、蜕膜血管病变和胎盘血栓形成, 与复发妊娠丢失密切相关; 而 β2-GP1 是一种磷脂结合蛋白, 注射入体会引发免疫应答产生抗 β2-GP1 抗体, 这些抗原-抗体复合物 (antigen-antibody complex) 能够使血液凝固形成血栓, 破坏血管内皮, 并暴露磷脂结合位点, 同时也会诱导产生 aCL 抗体^[10-11]。通过对鼠类皮下注射 aCL-IgG, 可以构建 aCL 抗体阳性的流产模型; 在子宫或腹腔注射 β2-GP1, 可以构建抗 β2-GP1 抗体阳性流产模型。近年来的研究发现, 抗 β2-GP1 抗体比 aCL 抗体更具特异性^[10]。采用 β2-GP1 主动免疫法可构建稳定可靠的自身免疫性 aCL 抗体阳性流产小鼠模型, 此法优点包括: 接近 aCL 抗体形成的生理过程; 成功率高、胚胎丢失率稳定; 具有操作简单、耗时短、独立因素强的特点^[10-11]。该模型适用于抗磷脂综合征所致 RSA 的研究。

抗 C1q 抗体阳性流产模型: 鼠类妊娠后通过尾静脉注射抗 C1q 抗体 (C1q monoclonal antibody, JL-1) 可诱导自身免疫性疾病流产模型。C1q 是 C1 蛋白的子

表 6 复发性流产动物模型用于药理药效学研究的受试药物给药方式

Table 6 Mode of administration of tested drugs in pharmacological and pharmacodynamic studies using recurrent spontaneous abortion animal models

给药方式 Mode of administration	给药时间 Time of administration	频数 (小鼠/大鼠) Frequency (mouse/rat)	百分比/% (小鼠/大鼠) Percentage /% (mouse/rat)
单次给药 Single-dose	妊娠后第 4 天	2 (2/0)	28.57 (28.57/0)
	妊娠后第 1 天	1 (1/0)	14.29 (14.29/0)
	合笼前第 21 天	1 (1/0)	14.29 (14.29/0)
	妊娠第 4.5 天	1 (1/0)	14.29 (14.29/0)
	妊娠后第 7.5 天	1 (1/0)	14.29 (14.29/0)
	妊娠后第 15.5 天	1 (1/0)	14.29 (14.29/0)
连续多次给药 Continuous multiple dose	妊娠后连续 14 d	43 (41/2)	42.57 (40.59/1.98)
	妊娠后连续 15 d	12 (11/1)	11.88 (10.89/0.99)
	合笼前至妊娠后持续给药	11 (11/0)	10.89 (10.89/0)
	妊娠后连续 12 d	7 (7/0)	6.93 (6.93/0)
	妊娠后连续 9 d	4 (4/0)	3.96 (3.96/0)
	妊娠后连续 16 d	4 (4/0)	3.96 (3.96/0)
	合笼前给药	4 (4/0)	3.96 (3.96/0)
	妊娠后连续 8 d	3 (3/0)	2.97 (2.97/0)
	妊娠后连续 7 d	2 (2/0)	1.98 (1.98/0)
	妊娠后连续 5 d	2 (2/0)	1.98 (1.98/0)
	妊娠后连续 10 d	1 (1/0)	0.99 (0.99/0)
	妊娠后连续 11 d	1 (0/1)	0.99 (0.99/0)
	妊娠后第 4 ~ 6 天	1 (1/0)	0.99 (0.99/0)
	妊娠后第 4 ~ 8 天	1 (1/0)	0.99 (0.99/0)
	妊娠后第 4 ~ 9 天	1 (1/0)	0.99 (0.99/0)
	妊娠后第 5 ~ 14 天	1 (1/0)	0.99 (0.99/0)
	妊娠后第 7 ~ 15 天	1 (0/1)	0.99 (0.99/0)
	交配前及妊娠第 6 ~ 9 天	1 (1/0)	0.99 (0.99/0)
	妊娠后第 2 ~ 6 周	1 (1/0)	0.99 (0.99/0)
间隔给药 Intermittent administration	合笼前腹腔注射给药, biw, 共 4 周	1 (1/0)	16.67 (16.67/0)
	妊娠后尾静脉注射, q2d, 共 3 次	1 (1/0)	16.67 (16.67/0)
	妊娠第 0 天腹腔注射, q3d, 共 5 次	1 (1/0)	16.67 (16.67/0)
	妊娠第 8 天和第 12 天尾静脉注射	1 (1/0)	16.67 (16.67/0)
	妊娠第 4.5、6.5、8.5 天腹腔注射	1 (1/0)	16.67 (16.67/0)
	合笼时尾静脉注射 1 次, q3d, 共 5 次	1 (1/0)	16.67 (16.67/0)

注: biw, 每周 2 次; q2d, 每 2 d 1 次; q3d, 每 3 d 1 次。
Note: biw, twice a week; q2d, once every 2 days; q3d, once every 3 days.

成分, 是先天免疫中触发补体系统经典途径激活的关键分子, 在滋养细胞迁移、螺旋动脉重塑、胎盘正常发育等妊娠维持过程中发挥着调节作用, 而过度的补体激活会导致胎儿丢失^[12]。JL-1 是与狼疮相关的自身抗体之一, 可导致孕妇流产^[13]。该模型适用于 JL-1 过度激活所致的 RSA 研究。

妊娠相关激素功能低下流产模型: 溴隐亭可抑制垂体分泌催乳素 (prolactin, PRL), 随着 PRL 水平降低, 孕激素呈同向变化, 内分泌的变化导致母胎界面免疫系统紊乱。有研究显示溴隐亭可使孕早期大鼠流

产率达 100%, 而给予催乳素可逆转此作用^[14]。皮下注射溴隐亭可使动物早孕期间体内激素水平降低, 进而导致妊娠丢失。该模型适用于研究低催乳素血症及免疫识别功能低下引起的流产型 RSA^[14]。

炎症致母胎免疫失衡流产模型: 细菌侵入受孕机体后, 其表面的 LPS 可促进炎症因子如 TNF- α 分泌并迁移至内膜, 形成不利于胚胎发育的环境。鼠类在妊娠后通过腹腔注射 LPS 可诱导炎症性流产模型。LPS 是革兰阴性细菌细胞壁的重要组成部分, 并且是免疫系统中最有效的刺激物之一^[15]。在妊娠早期接触 LPS 可

引起小鼠胚胎吸收、死胎和自发性流产等不良后果^[16]。吴玉泓等^[17]通过尾静脉注射LPS成功建立的流产大鼠模型,表现出与对照组、干预组极显著的流产率与妊娠结局差异,这是由于LPS激活体内和子宫局部Th1型细胞因子的过度表达引起的。该模型用于模拟生殖道感染、子宫内膜炎、肠道炎症性疾病、应激反应等引起的血液内毒素水平升高,从而导致母胎免疫失衡引起的自然流产^[18]。

3.1.2 中医病证结合模型

肾虚/脾虚-黄体抑制病证结合流产模型:羟基脲通过抑制RNR来阻断DNA合成,使机体能量代谢下降,产生具有细胞毒性的自由基^[19],造模动物出现毛发枯槁、精神萎靡、活动缓慢等症状,这符合中医肾阳虚模型^[20]。肾脾为先后天之本,精气血化生之源。基于“肾藏精,主生殖”及“血足则子宫易于容物”等中医理论,RSA的常见中医证型有肾虚证和脾虚证。米非司酮是一种有机化合物,可通过竞争性结合孕酮受体,阻断孕酮作用,导致蜕膜和绒毛出现变形坏死^[21]。动物研究结果显示,米非司酮可引发大鼠子宫组织和血清中的炎症反应,抑制胚胎发育,最终导致流产^[22]。羟基脲联合米非司酮可构建临床肾虚-黄体抑制病证结合流产模型^[23],该模型由罗颂平教授团队首创。张铭等^[24]构建了利血平联合米非司酮诱导的脾虚-黄体抑制流产模型。

肾虚血瘀流产模型:肾上腺素模型属于急性血瘀模型,模拟人体暴怒时分泌大量肾上腺素的特点^[25]。暴怒时气逆,血随气上,气血运行失常,气滞血瘀。肾上腺素可诱导血小板聚集,并导致血管收缩、外周阻力增加^[26]。羟基脲灌胃可构建肾虚模型,动物出现自身肾气亏虚、气虚推动无力、血液运行缓慢等症状,可致血瘀。再通过注射大剂量肾上腺素,更易诱导血瘀证,适用于肾虚血瘀型RSA造模。

虚热证流产模型:若孕激素体阳亢盛或虚热内扰,或嗜食辛辣等,邪扰胎元致不固。附子、干姜、肉桂均性热,灌胃后燥热耗阴。马丽亚等^[27]给Clark RSA模型动物灌服附子、干姜、肉桂,建立虚热型RSA动物模型,弥补了虚热证RSA动物模型的不足。

3.2 RSA动物模型相关问题分析

3.2.1 动物雌雄比例、周龄

研究结果显示,雌雄比例大多为2:1(占88.29%),仅11.71%的研究选择了其他比例。当雌雄比例为2:1时,雌鼠的平均受孕率更高^[28]。维持这

一比例不仅能增加产出仔鼠数量,还能节约时间并降低实验成本。小鼠在成长到6~8周龄时可达性成熟,这是进行生殖研究的良好周龄。此时,小鼠的免疫系统完善,也适用于构建自身免疫型的RSA模型^[29]。SD大鼠生长发育快,产仔多,6周龄时逐渐性成熟,到了8~12周龄完全性成熟^[30]。因此,6~12周龄大鼠皆有选择,统计结果与鼠类生长特点相符。

3.2.2 阴栓检查

雌鼠交配后形成阴栓,阴栓一定时间内自动脱落^[31]。合笼次日应及时检查阴栓形成情况,以提高阴栓检出率。本研究结果显示,81.03%的研究选择在合笼后每日检查一次,时间多为次日清晨(27.66%),具体时间为次日8:00(17.02%);18.97%的研究在合笼后每日检查两次,时间为次日8:00和14:00(45.45%)。根据笔者的经验,由于鼠类夜行的特性,雌雄鼠交配多发生在夜间,合笼后次日清晨及时检栓一次即可满足多数需求。

3.2.3 给药周期

给药周期通常设定为2周,在妊娠后14 d内连续灌胃给药,可根据实验所需调整给药周期。“培养养胎之源,孕前干预”是临床治疗RSA的关键^[32]。动物实验干预措施中也可体现“预培其损”^[32]的治疗思想。部分研究对动物采取合笼前持续至妊娠后的给药方式,探讨受试药物的孕前干预疗效^[33-34]。妊娠第4~9天(见栓当日计为第0天)为小鼠受精卵着床期及孕早期^[35-36],第6天为围着床期,第9天为RSA小鼠流产前期,第14天认定为正常妊娠小鼠胚胎发育期和RSA小鼠流产后期^[7]。统计结果显示,部分研究仅在受精卵着床期及孕早期进行动物灌胃给药,也可取得满意的实验结果^[2,7,35-36]。

3.2.4 受试药种类

在所有受试药种类中占比最多的是中药汤剂类,为64.04%,以寿胎丸、泰山磐石散、补肾活血方、补肾安胎冲剂等经典补肾方或自拟补肾方为主。中药化合物使用率位列第二,占比10.53%。黄芩苷是从黄芩干燥根中提取分离出来的一种黄酮类化合物,具有显著的安胎作用。白术味甘、苦,性温,主要功效偏于燥湿利水,兼有安胎之效。《丹溪心法·金匱当归散论》中说:“古人用白术黄芩为安胎之圣药,盖白术补脾燥湿,黄芩清热故也”^[37]。综合统计结果可知,中药汤剂、中药提取物、中药水煎液和中成药占RSA动物实验中受试药总量的78.95%。中医药在治疗RSA方

面具有鲜明特色与临床疗效。

3.2.5 检测方法与指标

动物子宫是生殖实验研究中的靶器官之一。研究表明, 寿胎丸可以增强小鼠滋养层细胞的增殖能力, 增加小鼠子宫重量^[38]。此外, 有临床研究证明, 自拟补肾加减方可以改善薄型子宫内膜不孕症患者的子宫内膜形态与厚度^[39-41]。但本研究结果显示, 脏器指数检测方法的使用频次仅为3次(0.70%), 仅有2篇文献进行产仔数、鼠仔体重与体重增长的统计(0.47%)。日后研究可适当加强脏器指数和更多生殖力相关指标的应用。

胚胎吸收率、流产率等检测指标能最直观地评估RSA模型干预后的效果, 应用最为广泛。其余检测指标多聚焦在PI3K、PKB、TGF- β 1、HK2、PKM2、LDHA、IFN- γ 、IL-10、IL-1 β 、TNF- α 等蛋白或mRNA的表达上。HE染色是最常用的病理学染色技术, 多用于母胎界面滋养细胞形态的检测。流式细胞术常用于免疫型RSA动物模型中免疫细胞的计数。

3.3 目前RSA动物模型的不足

除Clark模型外, 其余RSA模型均需药物诱导, 且药物诱导后动物仅发生一次流产, 这与RSA人群 ≥ 2 次自然流产的患病特点不尽相同; 具有中医证型的RSA模型构建方法具有分歧, 如羟基脲灌胃诱导的模型是肾虚型还是肾阳虚型说法较为模糊; 部分检测指标术语使用不规范, 容易产生歧义; 大多数实验动物只观测到给药周期结束, 未进行动物产后情况、仔鼠生长等远期探索; RSA动物模型使用实验动物的种类均为啮齿类动物, 暂未发现其他种类的实验动物, 如与人类更为接近的非人灵长类动物; RSA的病因包括遗传、解剖、内分泌、感染、免疫功能异常、易栓症等因素。本文通过数据挖掘分析发现, 动物模型的构建主要围绕免疫性、内分泌性、感染性、血栓性因素展开, 尚无有关解剖等因素型RSA动物模型的构建; 病证结合的RSA模型较少, 不能充分体现疾病的临床特点; 据笔者观察, 临床上存在因薄型子宫导致的RSA患者, 但目前尚未检索到薄型子宫的RSA动物模型。本课题组前期研究曾证实: 补肾助孕方可改善肾虚薄型大鼠的子宫内膜及卵巢组织形态, 并优化大鼠子宫内膜的容受性^[42-43]。因此, RSA动物模型的构建有待进一步完善。

3.4 本研究局限性

本研究进行文献检索时, 中文、英文主题词均聚焦在“复发性流产”“recurrent spontaneous abortion”等

反复性自然流产的文献, 未强调流产反复性的文献不在本次研究的纳入范围中, 故研究结果存在一定的选择性偏倚。例如, 有个别文献使用了ICR小鼠、昆明鼠等品系品种构建流产模型; 受限于本研究的文献筛选标准, 基因修饰后的自然流产小鼠模型也未能被纳入本研究。今后本课题组将进一步扩大筛选范围, 以期完善模型评价结果。

[作者贡献 Author Contribution]

丁天送负责研究方案策划、文献检索、文献数据提取、撰写论文;

谢京红提出研究思路、修订稿件;

杨斌协助方案实施和修订稿件;

李河桥协助文献检索和修订稿件;

乔一倬、田纹凡、李佳佩、李帆协助文献检索;

陈心如、张婉怡协助文献数据提取。

[利益声明 Declaration of Interest]

所有作者均声明本文不存在利益冲突。

[参考文献 References]

- [1] HACHEM H E, CREPAUX V, MAY-PANLOUP P, et al. Recurrent pregnancy loss: current perspectives[J]. *Int J Womens Health*, 2017, 9:331-345. DOI: 10.2147/IJWH.S100817.
- [2] 常卓, 朱慧, 周雪明, 等. 补肾活血方对不明原因复发性流产小鼠蜕膜化过程中p53、p21的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2022, 37(1): 473-477.
CHANG Z, ZHU H, ZHOU X M, et al. Effects of Bushen Huoxue Decoction on p53 and p21 in decidualization of mice with unexplained recurrent abortion[J]. *China J Tradit Chin Med Pharm*, 2022, 37(1):473-477.
- [3] 吴立群, 杨培丹, 易玮. 复发性流产中西医结合病因病机及针灸治疗思路[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2020, 22(1):208-212. DOI: 10.13194/j.issn.1673-842x.2020.01.056.
WU L Q, YANG P D, YI W. Etiology and pathogenesis of recurrent abortion in Chinese and western medicine and treatment ideas of acupuncture[J]. *J Liaoning Univ Tradit Chin Med*, 2020, 22(1):208-212. DOI: 10.13194/j.issn.1673-842x.2020.01.056.
- [4] 陈莎, 谢京红, 周文清, 等. 补肾助孕法孕前调理治疗复发性流产的临床观察[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2019, 25(10):1397-1400. DOI: 10.19945/j.cnki.issn.1006-3250.2019.10.025.
CHEN S, XIE J H, ZHOU W Q, et al. Clinical observation on the treatment of recurrent spontaneous abortion by tonifying kidney and promoting pregnancy before pregnancy[J]. *Chin J Basic Med Tradit Chin Med*, 2019, 25(10):1397-1400. DOI: 10.19945/j.cnki.issn.1006-3250.2019.10.025.
- [5] 李洁. 2016年中国“复发性流产诊治的专家共识”与2017年欧洲“复发性流产诊治指南”的解读[J]. *实用妇产科杂志*, 2018, 34(11): 822-825. DOI: CNKI:SUN:SFCZ.0.2018-11-011.
LI J. Interpretation of "expert consensus on diagnosis and treatment of recurrent abortion" in China in 2016 and

- "guidelines on diagnosis and treatment of recurrent abortion" in Europe in 2017[J]. *J Pract Obstet Gynecol*, 2018, 34(11):822-825. DOI:CNKI:SUN:SFCZ.0.2018-11-011.
- [6] CLARK D A, MCDERMOTT M R, SZEWCZUK M R. Impairment of host-versus-graft reaction in pregnant mice: II. Selective suppression of cytotoxic T-cell generation correlates with soluble suppressor activity and with successful allogeneic pregnancy[J]. *Cell Immunol*, 1980, 52(1):106-118. DOI:10.1016/0008-8749(80)90404-9.
- [7] 张钰, 王建梅, 顾艳, 等. 调节趋化因子 CXCL12、CCL2、RANTES 及其受体表达对自然流产模型小鼠妊娠结局的影响[J]. *中国妇幼保健*, 2015, 30(15):2407-2411. DOI: 10.7620/zgfybj.j.issn.1001-4411.2015.15.42.
- ZHANG Y, WANG J M, GU Y, et al. Effects of regulation of expressions of chemokines-CXCL12, CCL2, RANTES and their receptors on pregnancy outcome of mouse model of spontaneous abortion[J]. *Matern Child Health Care China*, 2015, 30(15): 2407-2411. DOI: 10.7620/zgfybj. j. issn. 1001-4411. 2015.15.42.
- [8] RODRIGUES V O, SOLIGO A G E S, PANNAIN G D. Antiphospholipid antibody syndrome and infertility[J]. *Rev Bras Ginecol Obstet*, 2019, 41(10):621-627. DOI: 10.1055/s-0039-1697982.
- [9] RADU A, DUDU S C, CIOBANU A, et al. Pregnancy management in women with antiphospholipidic syndrome[J]. *Maedica*, 2019, 14(2): 148-160. DOI: 10.26574/maedica.2019.14.2.148.
- [10] 丁超, 陆启滨. β 2-糖蛋白 I 与抗心磷脂抗体阳性先兆流产的关系以及安子合剂干预作用的实验研究[J]. *南京中医药大学学报*, 2014, 30(4):344-346. DOI: 10.14148/j.issn.1672-0482.2014.04.013.
- DING C, LU Q B. Research on relationship between β 2-GP I and ACA-positive threatened abortion and intervention effects of anzi mixture[J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med*, 2014, 30(4):344-346. DOI: 10.14148/j.issn.1672-0482.2014.04.013.
- [11] 谢雅贞, 陆启滨. 抗心磷脂抗体阳性复发性流产小鼠胎盘的差异蛋白组学研究[J]. *生殖医学杂志*, 2021, 30(2):209-216. DOI: 10.3969/j.issn.1004-3845.2021.02.014.
- XIE Y Z, LU Q B. Differential proteomics study on placenta of mice with anticardiolipin antibody positive recurrent abortion [J]. *J Reprod Med*, 2021, 30(2): 209-216. DOI: 10.3969/j. issn. 1004-3845.2021.02.014.
- [12] OHMURA K, OKU K, KITAORI T, et al. Pathogenic roles of anti-C1q antibodies in recurrent pregnancy loss[J]. *Clin Immunol*, 2019, 203:37-44. DOI: 10.1016/j.clim.2019.04.005.
- [13] 岳超, 李捷. 抗心磷脂抗体、抗 β 2 糖蛋白 I 抗体、抗 dsDNA 抗体、抗 C1q 抗体在复发性流产诊断中的价值分析[J]. *中国实验诊断学*, 2021, 25(11):1631-1635. DOI: 10.3969/j.issn.1007-4287. 2021.11.013.
- YUE C, LI J. Value analysis of anticardiolipin antibody, anti β 2 glycoprotein I antibody, anti dsDNA antibody and anti C1q antibody in the diagnosis of recurrent miscarriage[J]. *Chin J Lab Diagn*, 2021, 25(11): 1631-1635. DOI: 10.3969/j. issn. 1007-4287.2021.11.013.
- [14] 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[J]. *动物学报*, 2006, 52(3):536-541.
- MA A T, ZHONG X H, MENG L G, et al. Effect of Bromocriptine and its mechanism on the fertility in the mouse[J]. *Acta Zool Sin*, 2006, 52(3):536-541.
- [15] 周子清. 革兰氏阴性细菌脂多糖的流产作用[J]. *生殖与避孕*, 1981, 1(2):13-15.
- ZHOU Z Q. Abortion effect of lipopolysaccharide from gram-negative bacteria[J]. *Reprod Contracept*, 1981, 1(2):13-15.
- [16] CUI L Y, XU F, WANG S C, et al. Pharmacological activation of rev-erb α suppresses LPS-induced macrophage M1 polarization and prevents pregnancy loss[J]. *BMC Immunol*, 2021, 22(1):57. DOI: 10.1186/s12865-021-00438-4.
- [17] 吴玉泓, 魏彦明, 郭延生. 大鼠实验性流产模型的建立及黄芪多糖对其的影响[J]. *中国实验动物学报*, 2010, 18(4):341-344. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4847.2010.04.016.
- WU Y H, WEI Y M, GUO Y S. Establishment of a LPS-induced rat model of abortion and the effect of Astragalus polysacharin on it[J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2010, 18(4):341-344. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4847.2010.04.016.
- [18] 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[J]. *中国中药杂志*, 2019, 44(6): 1227-1232. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcmm.20181218.002.
- SHI Q Q, YAN M Q, YU H H, et al. Effect of Yunkang Oral Liquid on preventing LPS-induced abortion and regulating immune tolerance in mice[J]. *China J Chin Mater Med*, 2019, 44(6):1227-1232. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcmm.20181218.002.
- [19] SABAN N, BUJAK M. Hydroxyurea and hydroxamic acid derivatives as antitumor drugs[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2009, 64(2): 213-221. DOI: 10.1007/s00280-009-0991-z.
- [20] 马小娟, 马文礼, 王丽新. 不同造模周期对羟基脲致肾虚动物模型的影响[J]. *中国实验动物学报*, 2023, 31(1):64-74. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4847.2023.01.008.
- MA X J, MA W L, WANG L X. Effect of different modeling periods on hydroxyurea-induced kidney-yang deficiency animal model[J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2023, 31(1): 64-74. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4847.2023.01.008.
- [21] 魏静, 刘海青, 刘冬梅. 米非司酮联合米索前列醇用于不同孕周药物流产效果[J]. *中国计划生育学杂志*, 2024, 32(3):533-536.
- WEI J, LIU H Q, LIU D M. Effect of mifepristone combined with misoprostol for abortion of women with different gestational weeks[J]. *Chin J Fam Plan*, 2024, 32(3):533-536.
- [22] 王祈帆, 买占海, 张晓松, 等. 3 种流产剂对大鼠妊娠干预作用的比较研究[J]. *动物医学进展*, 2024, 45(2):64-69. DOI: 10.16437/j.cnki.1007-5038.2024.02.006.
- WANG Q F, MAI Z H, ZHANG X S, et al. A comparative study of the effects of three abortifacient on pregnancy intervention in rats[J]. *Prog Vet Med*, 2024, 45(2):64-69. DOI: 10.16437/j.cnki.1007-5038.2024.02.006.
- [23] 谢宝珍, 郜洁, 曾丽华, 等. 中医妇科病证结合流产动物模型的研究思路[J]. *中华中医药杂志*, 2022, 37(2):589-594.
- XIE B Z, GAO J, ZENG L H, et al. Research ideas of animal models combining spontaneous abortion with traditional Chinese medicine syndrome[J]. *China J Tradit Chin Med*

- Pharm, 2022, 37(2):589-594.
- [24] 张铭. 助孕3号方对脾虚黄体抑制动物流产模型的作用[J]. 广州中医药大学学报, 2000, 17(1):64-68. DOI: 10.3969/j.issn.1007-3213.2000.01.017.
- ZHANG M. Effect of Zhuyun III on animal models with abortion induced by inhibition of corpus luteum[J]. J Guangzhou Univ Tradit Chin Med, 2000, 17(1):64-68. DOI: 10.3969/j.issn.1007-3213.2000.01.017.
- [25] 宋程程, 王志斌, 苏斌, 等. 常用大鼠血瘀证模型的比较研究[J]. 北京中医药大学学报, 2014, 37(2):94-98. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2157.2014.02.006.
- SONG C C, WANG Z B, SU B, et al. Study on commonly used rat model of blood stasis syndrome[J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med, 2014, 37(2):94-98. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2157.2014.02.006.
- [26] 宋晓丹, 成秀梅, 周湘, 等. 寒凝血瘀证动物模型研究现状[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(15):267-274. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20221593.
- SONG X D, CHENG X M, ZHOU X, et al. Animal model of cold congeal and blood stasis syndrome: a review[J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2022, 28(15):267-274. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20221593.
- [27] 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. DOI: 10.16368/j.issn.1674-8999.2020.02.081.
- MA L Y, ZHAO J M, WANG L, et al. Establishment of recurrent spontaneous abortion with deficiency heat syndrome in CBA/J model mice[J]. Acta Chin Med, 2020, 35(2):358-361. DOI: 10.16368/j.issn.1674-8999.2020.02.081.
- [28] 闫晗, 何桂林, 张晓芳, 等. 如何提高实验动物的交配成功率[J]. 毒理学杂志, 2007, 21(4):318. DOI: 10.16421/j.cnki.1002-3127.2007.04.058.
- YAN H, HE G L, ZHANG X F, et al. How to improve the mating success rate of experimental animals[J]. J Toxicol, 2007, 21(4):318. DOI: 10.16421/j.cnki.1002-3127.2007.04.058.
- [29] 易楚, 詹莎, 马昕怡, 等. 卵巢癌动物模型的特点及应用分析[J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(10):1324-1333. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4847.2023.10.010.
- YI C, ZHAN S, MA X Y, et al. Characteristics and application analysis of animal models of ovarian cancer[J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(10):1324-1333. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4847.2023.10.010.
- [30] 娄艺楠, 李秀敏, 樊帅珂, 等. 基于中西医临床病证特点的慢性支气管炎动物模型分析[J]. 中药药理与临床, 2021, 7(4):200-204.
- LOU Y N, LI X M, FAN S K, et al. Analysis of chronic bronchitis animal model based on the characteristics of clinical symptoms in Chinese and western medicine[J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2021, 7(4):200-204.
- [31] 陈滢如, 朱江, 苑鸿雯, 等. 性周期筛选合笼与非筛选合笼制备大鼠妊娠模型的比较[J]. 中国比较医学杂志, 2010, 20(9):41-43, 84. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7856.2010.09.012.
- CHEN Y R, ZHU J, YUAN H W, et al. Comparative research of preparing rat pregnancy model via mating after screening sexual cycle by vaginal smear or free mating without screening[J]. Chin J Comp Med, 2010, 20(9):41-43, 84. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7856.2010.09.012.
- [32] 李河桥, 谢京红, 杨斌, 等. 蔡连香运用"精血"理论辨治复发性流产经验探析[J]. 江苏中医药, 2023, 55(10):21-24. DOI: 10.19844/j.cnki.1672-397X.2023.10.007.
- LI H Q, XIE J H, YANG B, et al. CAI Lianxiang's experience in treating recurrent abortion by the theory of "essence and blood"[J]. Jiangsu J Tradit Chin Med, 2023, 55(10):21-24. DOI: 10.19844/j.cnki.1672-397X.2023.10.007.
- [33] 梁潇, 唐思玲, 宋亚静, 等. 寿胎丸对复发性流产模型小鼠胚胎有氧糖酵解关键酶及相关蛋白表达的影响[J]. 中医杂志, 2023, 64(10):1044-1050. DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2023.10.013.
- LIANG X, TANG S L, SONG Y J, et al. Effects of Shoutai pills on the expression of key enzymes and related proteins of aerobic glycolysis in embryos of recurrent spontaneous abortion model mice[J]. J Tradit Chin Med, 2023, 64(10):1044-1050. DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2023.10.013.
- [34] 唐思玲, 梁潇, 李荣霞, 等. 寿胎丸对复发性流产小鼠胚胎滋养细胞上皮间质转化的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2023, 46(8):1139-1149. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2157.2023.08.012.
- TANG S L, LIANG X, LI R X, et al. Effects of Shoutai Pills on EMT of embryonic trophoblasts in recurrent spontaneous abortion mice[J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med, 2023, 46(8):1139-1149. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2157.2023.08.012.
- [35] 许春月, 郭洁, 宋殿荣, 等. 寿胎丸对复发性流产小鼠蜕膜组织中螺旋动脉改变及怀孕结局的影响[J]. 国际妇产科学杂志, 2017, 44(4):443-447, 封2. DOI: 10.3969/j.issn.1674-1870.2017.04.018.
- XU C Y, GUO J, SONG D R, et al. Study on spiral artery transformation and pregnancy outcome of recurrent spontaneous abortion mice treated with shoutaiwan[J]. J Int Obstet Gynecol, 2017, 44(4):443-447, inside front cover. DOI: 10.3969/j.issn.1674-1870.2017.04.018.
- [36] 石琳. IL-7对不明原因复发性流产小鼠模型外周Th17/Treg、CD4⁺CD8⁺T淋巴细胞以及妊娠结局的影响[J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(2):390-392. DOI: 10.7620/zgfybj.j.issn.1001-4411.2016.02.60.
- SHI L. Effects of IL-7 on peripheral Th17/Treg, CD4⁺CD8⁺T lymphocytes and pregnancy outcome in mice with unexplained recurrent abortion[J]. Matern Child Health Care China, 2016, 31(2):390-392. DOI: 10.7620/zgfybj.j.issn.1001-4411.2016.02.60.
- [37] 于玲玉, 王振国. 重析"黄芩白术乃安胎圣药"[J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(9):4052-4055.
- YU L Y, WANG Z G. Re-analysis of the saying of 'Scutellariae Radix and Atractylodis Macrocephalae Rhizoma are the holy medicines for calming the fetus'[J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2023, 38(9):4052-4055.
- [38] 牟珍妮, 申思楠, 唐丽, 等. 基于JAK1/STAT3通路的寿胎丸对复发性流产小鼠细胞自噬的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2023, 30(6):87-93. DOI: 10.19879/j.cnki.1005-5304.202207237.
- MU Z N, SHEN S N, TANG L, et al. Effects of Shoutai pills on autophagy in mice with recurrent spontaneous abortion based on JAK1/STAT3 pathway[J]. Chin J Inf Tradit Chin Med, 2023, 30(6):87-93. DOI: 10.19879/j.cnki.1005-5304.202207237.

- [39] 赵欣, 刘淑君, 吴聪哲, 等. 补肾活血法与葛根黑苏汤对薄型子宫内膜不孕症治疗作用的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2024, 10(2): 126-130.
ZHAO X, LIU S J, WU C Z, et al. Effect of kidney-invigorating and blood-activating method and Gegen heisu decoction on TCM syndrome score and inflammation in patients with thin endometrial infertility[J]. Liaoning J Tradit Chin Med, 2024, 10(2):126-130.
- [40] 孟丹, 许琳, 赵红. 补肾调冲方治疗薄型子宫内膜不孕症患者的临床观察[J]. 世界中西医结合杂志, 2023, 18(8):1616-1619. DOI: 10.13935/j.cnki.sjzx.230820.
MENG D, XU L, ZHAO H. Clinical efficacy of Bushen Tiaochong prescription for improving thin endometrium-induced infertility[J]. World J Integr Tradit West Med, 2023, 18(8):1616-1619. DOI: 10.13935/j.cnki.sjzx.230820.
- [41] 朱娇芳, 阚惠, 王素改, 等. 补肾增膜方对薄型子宫不孕症患者子宫内膜血流变学、容受性、性激素水平及自然妊娠结局影响[J]. 辽宁中医药大学学报, 2021, 23(11):188-192. DOI: 10.13194/j.issn.1673-842x.2021.11.040.
ZHU J F, KAN H, WANG S G, et al. Effect of Bushen zengmo decoction on endometrial hemorheology, receptivity, sex hormone level and natural pregnancy outcome in patients with thin uterine infertility[J]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med, 2021, 23(11):188-192. DOI: 10.13194/j.issn.1673-842x.2021.11.040.
- [42] 杨斌, 孙洮玉, 周文清, 等. 补肾助孕方对肾虚薄型子宫内膜大鼠组织形态 ERa、PR 表达影响及容受性的调控作用[J]. 世界中西医结合杂志, 2021, 16(1):73-77. DOI: 10.13935/j.cnki.sjzx.210116.
YANG B, SUN T Y, ZHOU W Q, et al. Effect of Bushen Zhuyun recipe on ERa and PR expression and receptivity of rats with kidney deficiency and thin endometrium[J]. World J Integr Tradit West Med, 2021, 16(1): 73-77. DOI: 10.13935/j.cnki.sjzx.210116.
- [43] 杨斌, 周文清, 陈莎, 等. 补肾助孕方对肾虚薄型子宫内膜大鼠内膜容受性的影响及机制研究[J]. 世界中医药, 2020, 15(17):2565-2569. DOI: 10.3969/j.issn.1673-7202.2020.17.009.
YANG B, ZHOU W Q, CHEN S, et al. Effects and mechanism study on Bushen Zhuyun formula on endometrial receptivity of rats with kidney deficiency and thinner endometrial[J]. World Chin Med, 2020, 15(17): 2565-2569. DOI: 10.3969/j.issn.1673-7202.2020.17.009.
- (收稿日期:2024-01-22 修回日期:2024-06-05)
(本文编辑:张俊彦,富群华,丁宇菁,姜怡欣)

[引用本文]

- 丁天送, 谢京红, 杨斌, 等. 复发性流产动物模型特点评价与应用分析[J]. 实验动物与比较医学, 2024, 44(4): 393-404. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2024.013.
- DING T S, XIE J H, YANG B, et al. Characteristics evaluation and application analysis on animal models of recurrent spontaneous abortion[J]. Lab Anim Comp Med, 2024, 44(4): 393-404. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2024.013.

《实验动物与比较医学》有关实验动物福利伦理内容的说明

本刊是我国实验动物科学与比较医学领域的一本专业学术期刊, 严格遵守国家实验动物相关法律、法规和标准, 包括但不限于《实验动物管理条例》(2017年3月1日修订版)和《实验动物福利伦理审查指南》(GB/T 35892—2018)等, 同时参考借鉴国际生物医学期刊关于动物实验研究报告的相关指南共识(如ARRIVE 2.0、IGP 2012、IAVE Guidelines 2010等)。因此, 本刊对所有涉及动物实验的来稿均需审查实验动物福利与伦理相关内容。现将一些具体要求说明如下:

1. 涉及动物实验的来稿, 需提供实验动物生产许可证和质量合格证, 以及动物实验场所的实验动物使用许可证。以上证明须与使用动物种类及动物实验单位名称相匹配, 并在正文中列出其对应的许可证编号。

2. 涉及动物实验的来稿, 需在考虑3R(替代、减少和优化)原则的基础上设计动物实验, 并提供作者单位实验动物福利伦理委员会(或相关机构)出具的实验动物福利伦理审查批件。批件中所列内容须与投稿文章相吻合, 并在正文中列出对应的批准编号。

3. 实验动物的用药, 尤其是麻醉镇痛用药必须优先使用药用级麻醉剂, 特别是当涉及存活手术的动物实验时。鉴于无法确定非药用级麻醉剂(如三溴乙醇、水合氯醛等)的相关性状及对实验动物的影响, 从而不能保障实验动物福利及研究结果的可靠性, 而且目前已有更优的市售麻醉药剂可供选择, 因此本刊不建议使用上述试剂。如确需使用, 请提供充足理由说明及相应的批准文件。

4. 涉及肿瘤动物模型的研究, 本刊参考国内及国际通用准则, 建议单个肿瘤体直径不超过20 mm(小鼠)或40 mm(大鼠)且不出现在明显的肿瘤溃疡。如投稿文章中有超出上述标准的研究内容, 需提交作者单位相关肿瘤动物模型研究的指导原则文件, 以及从科学角度判断肿瘤体积合理性的依据性材料。

《实验动物与比较医学》编辑部