

十补丸加味治疗脾肾阳虚型卵巢功能早衰的疗效及作用机制

熊晓莉¹, 王巧英², 曾晓霞¹, 李兆艾^{3*}

(1. 乐山职业技术学院, 四川 乐山 614803; 2. 乐山职业技术学院附属医院, 四川 乐山 614800;
3. 山西省妇幼保健院, 太原 030013)

[摘要] **目的:**探讨十补丸加味治疗脾肾阳虚型卵巢功能早衰(POF)的疗效及对Th17和Treg平衡及其相关细胞因子水平的调整作用。**方法:**将就诊的POF患者122例,采用区组随机按数字表法分为对照组和观察组各61例。对照组采用雌孕激素序贯疗法,口服戊酸雌二醇片,1g/次,qd,连续治疗21d,最后10d加黄体酮胶丸,200mg/次,1次/d。观察组在对照组治疗的基础上内服十补丸加味治疗,1剂/d。两组连续治疗6周。比较两组脾肾阳虚证症状,Kupperman评分、血清中卵泡刺激素(FSH),雌二醇(E₂),黄体生成素(LH)水平及临床疗效。检测两组外周血中Treg和Th17及血清中白细胞介素(IL)-6,IL-21,干扰素(IFN)- γ 和转化生长因子(TGF)- β_1 水平。**结果:**观察组脾肾阳虚证症状各指标评分均明显低于对照组($P < 0.01$)。治疗后3周和6周,观察组Kupperman评分均明显低于对照组($P < 0.01$)。观察组患者血清FSH和LH水平均低于对照组,E₂水平高于对照组($P < 0.01$)。观察组患者临床总有效率为88.33%,高于对照组71.19%($P < 0.05$)。治疗后,观察组外周血Treg水平显著高于对照组,Th17低于对照组($P < 0.01$)。观察组治疗后血清中IL-6,IL-21,IFN- γ 水平均明显低于对照组,TGF- β_1 多于对照组($P < 0.01$)。**结论:**十补丸加味治疗脾肾阳虚型POF可调整患者激素水平,改善临床症状,可能与调整Treg和Th17平衡及其相关细胞因子水平有关。

[关键词] 十补丸; 卵巢早衰; 脾肾阳虚证; Treg细胞; Th17细胞

[中图分类号] R271;R271.1;R271.9;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)07-0223-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20180731

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180111.1042.019.html>

[网络出版时间] 2018-01-12 14:10

Efficacy of Shibuan Jiawei in Treating Premature Ovarian Failure with Syndrome of Yang Deficiency of Spleen and Kidney and Its Mechanism

XIONG Xiao-li¹, WANG Qiao-ying², ZENG Xiao-xia¹, LI Zhao-ai^{3*}

(1. Leshan Vocational and Technical College, Leshan 614803, China;

2. Affiliated Hospital of Leshan Vocational and Technical College, Leshan 614800, China;

3. Shanxi Provincial Maternity and Child Care Hospital, Taiyuan 030013, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the efficacy of Shibuan jiawei in treating premature ovarian failure (POF) with syndrome of yang deficiency of spleen and kidney and regulating the balance of Treg and Th17 and relevant cytokine level. **Method:** Totally 122 POF cases were randomly divided into control group and observation group by random number table, with 61 cases in each group. Control group was given the progesterone sequential therapy, orally administered with estradiol valerate tablets, 1 g/time, qd, for 21 days, and also took progesterone pills, 200 mg/time, qd, from the 12th days to the 21st days. In addition to the therapy of control group, observation group was treated with Shibuan jiawei, 1 dose/day, bid. The courses of treatment were 6 weeks for both groups. Syndromes of Yang deficiency of spleen and kidney, Kupperman scores, serum follicle-stimulating hormone (FSH), estradiol (E₂) and luteinizing hormone (LH) and efficacy were compared between two groups. Treg and

[收稿日期] 20170914(132)

[基金项目] 四川省卫生计生医学科研项目(2013wz01zy118)

[第一作者] 熊晓莉,实验师,从事妇产科实训教学工作,Tel:13618188533,E-mail:52257400@qq.com

[通信作者] *李兆艾,硕士生导师,主任医师,从事妇科疾病的临床、科研、教学工作,Tel:13700500541,E-mail:lizaoui@163.com

Th17 in peripheral blood and serum interleukin (IL)-6, IL-21, interferon (IFN)- γ and transformation growth factor (TGF)- β_1 in both groups were detected. **Result:** After treatment, scores of syndrome of Yang deficiency of spleen and kidney of observation group were obviously lower than those of control group ($P < 0.01$). 3 weeks and 6 weeks after treatment, Kupperman score of observation group was remarkably lower than that of control group ($P < 0.01$). After treatment, serum FSH and LH of observation group were evidently lower, while E_2 was evidently higher than those of control group ($P < 0.01$). Total efficacy rate of observation group was 88.33%, which was higher than 71.19% of control group ($P < 0.05$). After treatment, Treg in peripheral blood of observation group was higher, while Th17 cell was lower than that of control group ($P < 0.01$). Serum IL-6, IL-21, IFN- γ of observation group were evidently lower, while TGF- β_1 was higher than those of control group ($P < 0.01$). **Conclusion:** Shibuwang jiawei in treating syndrome of Yang deficiency of spleen and kidney of POF can alleviate clinical symptoms, adjust hormone level, and increase efficacy, which may be related to the adjustment of the balance of Treg and Th17 and relevant cytokines level.

[**Key words**] Shibuwang; premature ovarian failure; syndrome of Yang deficiency of spleen and kidney; Treg cell; Th17 cell

卵巢早衰 (premature ovary failure, POF) 是指月经初潮年龄和第二性征发育正常的女性在 40 岁之前卵巢功能衰退, 以闭经、性器官萎缩、不孕及高促性腺激素为特征^[1]。调查显示我国正常人群 POF 的发病率为 1% ~ 3%, 且呈年轻化趋势^[2]。西医疗疗 POF 常使用激素替代疗法, 对改善症状和排卵障碍等有积极效果, 但长期单纯使用激素可产生乳房胀痛及提高罹患子宫内膜癌的风险等^[3]。文献报道在激素替代基础上加用中医药可进一步改善 POF 症状, 促进卵巢功能恢复^[4]。POF 多责之于肾精不足, 与心、肝、脾关系密切, 其中脾肾阳虚是其常见证型^[5]。十补丸是《济生方》古方, 具有温肾助阳、养血调经之功效, 本研究针对 POF 脾肾阳虚证的具体病证特点在十补丸原方基础上予加味。

POF 具有低雌激素和高促性腺激素水平的特点, POF 患者存在雌激素低下症候群, 而雌激素可调控人体 Treg 和 Th17 细胞水平^[6]。研究表明, Treg 和 Th17 细胞均由 CD4⁺T 分化产生, 两者在机体内表达的失衡会导致免疫调节紊乱, 破坏卵巢组织及引起其衰竭^[7]。此外, 在不同细胞因子环境下 Treg 和 Th17 细胞经不同信号通路调节初始 T 细胞的分化, 且在分子水平经相关转录因子介导了 Treg 和 Th17 细胞之间的平衡^[8-9]。本研究观察了十补丸加味对脾肾阳虚型 POF 患者外周血中 Treg 和 Th17 细胞水平及其相关调节细胞因子的影响, 以进一步探讨其可能的作用机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择乐山职业技术学院附属医院和山西省妇幼保健院 2015 年 5 月—2017 年 7 月就

诊的 POF 患者共 122 例, 经中医辨证均为脾肾虚证, 采用区组随机按数字表法分为对照组和观察组各 61 例。对照组年龄 24 ~ 36 岁, 平均 (29.41 ± 3.55) 岁; 初潮年龄 12 ~ 16 岁, 平均 (13.82 ± 1.97) 岁; 闭经时间 0.8 ~ 2.1 年, 平均 (1.76 ± 0.19) 年; 促卵泡生成激素 (FSH) (78.61 ± 8.95) U·L⁻¹; 有分娩史 44 例, 原发不孕 17 例。观察组年龄 23 ~ 36 岁, 平均 (29.33 ± 3.59) 岁; 初潮年龄 12.5 ~ 16 岁, 平均 (13.96 ± 1.91) 岁; 闭经时间 0.6 ~ 2.3 年, 平均 (1.68 ± 0.21) 年; FSH (78.41 ± 8.90) U·L⁻¹; 有分娩史 43 例, 原发不孕 18 例。两组患者上述基本资料比较差异无统计学意义, 具有可比性。

1.2 诊断标准

1.2.1 POF 诊断标准 参见《中华妇产科学》^[10] 标准拟定。①年龄 < 40 岁。②月经稀发或闭经 ≥ 6 个月。③临床症状为盗汗、潮热、烦躁易怒以及睡眠质量差等围绝经期综合征。④激素水平检查为连续 2 个月经周期第 3 天雌二醇 (E_2) < 73.2 pmol·L⁻¹ 或 FSH > 40 U·L⁻¹。

1.2.2 脾肾阳虚证诊断标准 参见《中医妇科常见病诊治指南》^[11] 制定。①主证为月经稀少渐至闭经, 腰膝酸软, 畏寒肢冷。②次证为精神倦怠, 性欲淡漠, 面色萎黄或黧黑, 夜尿多, 小便清长, 食欲不振, 便溏。③舌脉为舌淡, 苔白, 脉细滑或沉细。以主证及次证 3 项以上, 结合舌、脉可以确诊。

1.3 纳入标准 ①具备 POF 及中医脾肾阳虚证诊断标准。②年龄 20 ~ 40 岁。③3 个月内未服中药及激素类药物。④患者自愿加入本治疗方案。⑤研究经两医院各自医学伦理委员会审查批准, 并取

得患者签署的知情同意书。

1.4 排除标准 ①患心、肝、肾等系统严重障碍者。②后天生殖器官器质性损伤或先天生殖器官发育异常者。③资料不全者。④不配合治疗者。⑤对多种药物过敏者。

1.5 治疗方法 对照组采用雌孕激素序贯疗法,口服戊酸雌二醇片(DELPHARM Lille SAS,批准文号 H20120369),1 g/次,qd,连续治疗 21 d,最后 10 d 加服黄体酮胶丸(浙江医药股份有限公司新昌制药厂,国药准字 H20040982),200 mg/次,1 次/d。观察组在对照组治疗的基础上内服十补丸加味。药物组成为熟地黄 25 g,山药 15 g,山茱萸 15 g,泽泻 12 g,茯苓 12 g,牡丹皮 12 g,肉桂 9 g,五味子 9 g,白附片 6 g^(先煎),鹿茸 3 g,人参 12 g,干姜 9 g,白术 12 g,甘草 9 g;常规水煎煮,早晚各取药液 200 mL 温服,1 剂/d。两组患者均连续治疗 6 周。

1.6 观察指标 ①两组脾肾阳虚证症状评分,参见《中药新药临床研究指导原则》拟定。评价症状有腰膝酸软、畏寒肢冷、性欲淡漠、夜尿多、面色萎黄、精神倦怠、食欲不振,按症状分级记分为无(0 分)、轻度(1 分)、中度(2 分)以及重度(3 分)。②两组临床症状改善状况评分,参见 Kupperman 评分标准^[12],进行评分,总计分 0~51 分,>35 分为重度,20~35 分为中度,15~20 分为轻度,于治疗前及治疗后 3 周、6 周进行评分。③两组血清中卵泡刺激素(FSH),雌二醇(E₂),黄体生成素(LH)水平检测,血清采集为晨起空腹状况下抽取患者的外周血 4 mL,4 ℃ 常规离心,提取血清存于 -20 ℃ 冰箱中,待检测,采用酶联免疫吸附(ELISA)法于治疗前后,有月经者于月经周期第 2~4 天,闭经者于治疗前 1~2 d 检测。④两组外周血中 Treg 和 Th17 水平检测,采集患者晨起空腹下的外周血,肝

素钠抗凝 6 h 内采用流式细胞仪各检测 3 次,取均值为本观察结果。⑤两组血清中白细胞介素(IL)-6,IL-21,干扰素(IFN)- γ 和转化生长因子(TGF)- β_1 水平检测,血清采集方法同上。采取 ELISA 法在治疗前后测定;IL-6 试剂盒(北京百奥莱博科技有限公司,货号 ARB13358),IL-21 试剂盒(上海信裕生物科技有限公司,货号 bsk00262),IFN- γ 试剂盒(上海远慕生物科技有限公司,货号 YM-QA7082),TGF- β_1 试剂盒(上海远慕生物科技有限公司,货号 YM-Y10197)。

1.7 疗效标准 参见《中医病证诊断疗效标准》^[13] 拟定。临床痊愈为治疗后月经恢复正常,且维持 3 个周期以上,临床症状完全消失,血清性激素水平恢复正常。显效为停药后 3 个月内月经来潮 1 次,临床症状明显好转,血清性激素水平有所改善。好转为停药后 3 个月内未见月经来潮,临床症状有所好转。无效为停药后 3 个月内未见月经来潮,临床症状未见好转。

1.8 统计学处理 数据采用 SPSS 19.0 统计学软件分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验处理,以 χ^2 检验处理计数资料,以 $P < 0.05$ 比较差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者试验完成情况比较 初始纳入病例 122 例,治疗期间对照组 1 例不配合用药和 1 例突发其他疾病,脱落 2 例,实际完成 59 例;观察组中途转院 1 例,实际完成 60 例。

2.2 两组患者脾肾阳虚证症状积分比较 治疗后,两组患者脾肾阳虚证症状各指标积分明显减少($P < 0.01$)。观察组治疗后脾肾阳虚证症状各指标评分均明显低于对照组,比较差异有统计学意义($P < 0.01$),见表 1。

表 1 两组患者脾肾阳虚证症状积分比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of symptoms scores of syndrome of Yang deficiency of spleen and kidney between two groups($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	腰膝酸软	畏寒肢冷	性欲淡漠	夜尿多	面色萎黄	精神倦怠	食欲不振
对照	59	治疗前	2.96 ± 0.33	2.91 ± 0.32	2.86 ± 0.32	2.97 ± 0.34	2.79 ± 0.32	2.82 ± 0.32	2.80 ± 0.31
		治疗后	1.94 ± 0.25 ¹⁾	1.89 ± 0.23 ¹⁾	1.90 ± 0.22 ¹⁾	1.99 ± 0.23 ¹⁾	1.82 ± 0.22 ¹⁾	1.87 ± 0.21 ¹⁾	1.81 ± 0.0 ¹⁾
观察	60	治疗前	2.99 ± 0.34	2.88 ± 0.31	2.82 ± 0.32	2.93 ± 0.33	2.75 ± 0.33	2.86 ± 0.33	2.77 ± 0.31
		治疗后	1.05 ± 0.12 ^{1,2)}	1.01 ± 0.11 ^{1,2)}	1.03 ± 0.12 ^{1,2)}	1.03 ± 0.13 ^{1,2)}	1.05 ± 0.12 ^{1,2)}	1.05 ± 0.12 ^{1,2)}	1.02 ± 0.11 ^{1,2)}

注:与本组治疗前比较¹⁾ $P < 0.01$;与对照组治疗后比较²⁾ $P < 0.01$ (表 3,5,6 同)。

2.3 两组患者 Kupperman 评分比较 治疗后,两组患者 Kupperman 评分均明显减少($P < 0.01$)。治疗

后 3 周和 6 周,观察组患者 Kupperman 评分均明显低于同期对照组($P < 0.01$),见表 2。

表 2 两组患者 Kupperman 评分比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of Kupperman score between two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	治疗前	治疗后	
			3 周	6 周
对照	59	21.44 ± 2.62	18.75 ± 1.92 ¹⁾	15.13 ± 1.79 ¹⁾
观察	60	21.30 ± 2.78	16.92 ± 1.90 ^{1,2)}	13.06 ± 1.55 ^{1,2)}

注:与本组治疗前比较¹⁾ $P < 0.01$;与对照组同期比较²⁾ $P < 0.01$ 。

2.4 两组患者血清 FSH, E₂ 和 LH 水平检测比较
与治疗前相比较,治疗后两组患者血清 FSH 和 LH 水平均有减少, E₂ 水平增加 ($P < 0.01$)。观察组患者血清 FSH 和 LH 水平明显少于对照组, E₂ 水平多于对照组 ($P < 0.01$), 见表 3。

表 3 两组患者血清 FSH, E₂ 和 LH 水平检测比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of serum levels of FSH, E₂ and LH between two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	FSH/U·L ⁻¹	E ₂ /ng·L ⁻¹	LH/U·L ⁻¹
对照	59	治疗前	72.45 ± 7.81	14.95 ± 1.84	43.75 ± 4.98
		治疗后	55.63 ± 6.26 ¹⁾	35.82 ± 3.93 ¹⁾	38.62 ± 4.35 ¹⁾
观察	60	治疗前	72.81 ± 7.93	14.88 ± 1.86	43.46 ± 5.12
		治疗后	39.71 ± 4.70 ^{1,2)}	60.53 ± 6.85 ^{1,2)}	31.46 ± 3.82 ^{1,2)}

2.5 两组患者临床疗效比较 治疗后观察组临床疗效总有效率为 88.33%, 明显高于对照组总有效率 71.19% ($P < 0.05$), 见表 4。

表 6 两组患者血清中 IL-6, IL-21, IFN- γ 和 TGF- β_1 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 6 Comparison of serum levels of IL-6, IL-21, IFN- γ and TGF- β_1 between two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	IL-6/ng·L ⁻¹	IL-21/ng·L ⁻¹	IFN- γ /ng·L ⁻¹	TGF- β_1 /μg·L ⁻¹
对照	59	治疗前	15.41 ± 1.88	167.43 ± 18.52	0.71 ± 0.09	2.15 ± 0.25
		治疗后	9.05 ± 1.13 ¹⁾	140.35 ± 16.77 ¹⁾	0.55 ± 0.07 ¹⁾	3.09 ± 0.34 ¹⁾
观察	60	治疗前	15.49 ± 1.92	168.01 ± 18.95	0.69 ± 0.08	2.09 ± 0.22
		治疗后	7.15 ± 0.82 ^{1,2)}	131.26 ± 15.03 ^{1,2)}	0.36 ± 0.05 ^{1,2)}	4.04 ± 0.45 ^{1,2)}

3 讨论

在中医学范畴 POF 被归为“闭经”、“不孕”等病, 肾为先天之本, 主藏精和生殖, 肾虚是其主要病机。刘宇新认为肾中精气有赖于脾胃运化, 先后天之精相互促进, 水谷精微不断补充, 故治宜脾肾同补^[14]。

十补丸方中白附片、鹿茸、肉桂温肾壮阳, 填精养血; 熟地黄、山茱萸、山药滋阴益肾, 养肝补脾, 填精补髓; 五味子助肉桂引火归原, 纳气归肾; 茯苓、泽泻健脾渗湿利水; 牡丹皮清泄虚火, 与温肾药配伍,

表 4 两组患者临床疗效比较

Table 4 Comparison of clinical efficacy between two groups

组别	例数	临床痊愈 /例(%)	显效 /例(%)	好转 /例(%)	无效 /例(%)	总有效率 /%
对照	59	8(13.56)	15(25.42)	19(32.20)	17(28.33)	71.19
观察	60	13(21.67)	21(35.00)	19(31.67)	7(11.67)	88.33 ¹⁾

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

2.6 两组患者外周血中 Treg 和 Th17 水平比较
与治疗前相比较, 治疗后两组患者外周血 Treg 水平均升高, Th17 均降低 ($P < 0.01$)。观察组治疗后外周血 Treg 水平显著高于对照组, Th17 低于对照组, 比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 见表 5。

表 5 两组患者外周血中 Treg 和 Th17 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Comparison of peripheral blood levels of Treg and Th17 between two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	Treg	Th17
对照	59	治疗前	3.05 ± 0.36	2.57 ± 0.29
		治疗后	3.99 ± 0.44 ¹⁾	1.92 ± 0.23 ¹⁾
观察	60	治疗前	2.99 ± 0.34	2.51 ± 0.28
		治疗后	5.03 ± 0.62 ^{1,2)}	1.41 ± 0.17 ^{1,2)}

2.7 两组患者血清中 IL-6, IL-21, IFN- γ , TGF- β_1 水平比较
与治疗前相比较, 治疗后两组患者血清中 IL-6, IL-21, IFN- γ 水平均降低, TGF- β_1 升高 ($P < 0.01$)。观察组治疗后 IL-6, IL-21, IFN- γ 水平少于对照组, TGF- β_1 多于对照组 ($P < 0.01$), 见表 6。

使补而不滞, 温而不燥; 干姜可温脾阳、温运中焦; 人参补气健脾, 与干姜合用温中健脾; 白术甘温苦燥, 可健脾燥湿, 以促进脾阳健运; 甘草可助益气健脾, 调和药性; 纵观全方, 温肾助阳, 兼补脾阳, 使气血生化有源, 肾中气血旺盛, 冲任充盈, 月事以时下。

本组观察显示, 治疗后观察组患者的脾肾阳虚证症状各指标(腰膝酸软、畏寒肢冷、性欲淡漠、夜尿多、面色萎黄、精神倦怠、食欲不振)评分均明显低于同期对照组; 治疗后 3 周和 6 周, 观察组 Kupperman 评分均明显低于对照组; 观察组患者血

清FSH和LH水平均少于对照组, E_2 水平多于对照组;疗效分析结果显示, 观察组总有效率为88.33%, 高于对照组71.9%。说明了在常规西药治疗的基础上服用十补丸加味可促进脾肾虚型POF患者康复。

文献报道POF发病与自身免疫异常有关, 该病患者多伴有多种自身免疫性疾病^[15]。Th17细胞以分泌IL-17为主, 广泛参与了人体炎性反应、自身免疫性疾病机移植排斥等病理过程, 研究报道POF患者中IL-17水平及外周血中Th17细胞的比例明显增高^[16]。降低机体的Treg细胞数量可减弱其对 $CD4^+T$, $CD8^+T$ 细胞调控, 引起卵巢组织过度发生免疫反应而产生自身免疫性卵巢炎, 可能是导致POF的重要途径之一^[7]。Treg和Th17细胞在多种自身免疫病中出现失调, Th17/Treg细胞比值失衡可引起人体免疫功能调控失衡, 可能是POF发生发展的重要机制^[7]。本组观察结果显示, 治疗后观察组患者外周血Treg水平明显高于对照组及Th17明显低于对照组。说明了十补丸加味可能通过改善Th17/Treg细胞之间的失衡对POF发挥治疗作用。

研究表明, 细胞因子在Th17/Treg细胞平衡, 人体的免疫调节中起着重要作用, 影响着Treg细胞数量降低, 其分泌的抑制性细胞因子 $TGF-\beta_1$ 也相应减少, 而 $IFN-\gamma$ 释放增多, 可致卵泡发育障碍或甚至卵泡过度闭锁, 促进POF的形成、发展^[17]。人体内的 $IFN-\gamma$ 水平伴卵巢储备功能降低而增加, 与FSH/LH比值呈明显正相关, 是预测卵巢早衰的有效指标^[18]。本组结果显示, 治疗后观察组外周血Treg水平高于对照组, Th17低于对照组;血清中IL-6, IL-21, $IFN-\gamma$ 水平均少于对照组, $TGF-\beta_1$ 多于对照组。说明了在常规西药治疗的基础上服用十补丸加味也能通过调节上述细胞因子对POF起到治疗效果。

综上所述, 十补丸加味治疗脾肾虚型POF, 可改善患者的临床症状和血清激素水平, 提高临床疗效, 可能与调整Treg和Th17平衡及其相关细胞因子水平有关。由于本研究所选取的样本量有限及单中心等因素制约, 其确切效果和可能作用机制有待于更大规模临床随机对照研究验证。

[参考文献]

[1] 任锦锦, 朱玲, 王松露, 等. 抗苗勒氏管激素在免疫性卵巢早衰中的发病意义及左归丸的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(18): 94-99.
[2] 陈家旭, 刘群, 寇美静, 等. 中医药从肝论治卵巢早衰

的理法方药观[J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(6): 1916-1919.

[3] 张丽梅, 雷泉. 归肾丸加减治疗卵巢早衰肾阴虚证的临床分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(11): 170-173.
[4] 滕秀香, 李培培. 健脾补肾活血方治疗卵巢早衰脾肾阳虚证疗效观察[J]. 中国中西医结合杂志, 2016, 36(1): 119-122.
[5] 李晓喆, 张素娟. 赖新生教授“通元针法”结合中药治疗卵巢早衰临床经验[J]. 中国针灸, 2017, 37(3): 303-306.
[6] Haghmorad D, Salehipour Z, Nosratabadi R, et al. Medium-dose estrogen ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis in ovariectomized mice [J]. J Immunotoxicol, 2016, 13(6): 885-896.
[7] 何玲, 刘慧萍, 张国民, 等. Th17/Treg细胞与卵巢早衰的关系[J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(4): 897-899.
[8] 王维维, 沈茜. Th17细胞和Treg细胞的细胞因子调节网络[J]. 生命的化学, 2010, 30(2): 269-273.
[9] 丁青, 欧阳进, 伍参荣, 等. 右归丸对卵巢早衰模型小鼠Th17/Treg表达的影响[J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(4): 1091-1093.
[10] 曹泽毅. 中华妇产科学[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2014: 842.
[11] 中华中医药学会. 中医妇科常见病诊治指南[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2012: 448-453.
[12] 中华医学会妇产科学分会内分泌学组. 闭经诊断与治疗指南(试行)[J]. 中华妇产科杂志, 2011, 46(9): 712-716.
[13] 国家中医药管理局. 中医病证诊断疗效标准[S]. 南京: 南京大学出版社, 1994: 233-234.
[14] 李姗姗, 刘宇新. 刘宇新教授治疗卵巢早衰经验总结[J]. 辽宁中医药大学学报, 2012, 14(5): 163-164.
[15] Ayesha, Jha V, Goswami D. Premature ovarian failure: an association with autoimmune diseases [J]. J Clin Diagn Res, 2016, 10(10): QC10-QC12.
[16] 郭葳, 李鹏飞, 胡娅莉, 等. 卵巢早衰患者外周血中Th17和Treg细胞的变化[J]. 临床检验杂志, 2011, 29(6): 470-472.
[17] LU P, CAO Y, WANG M, et al. Mature dendritic cells cause Th17/Treg imbalance by secreting $TGF-\beta_1$ and IL-6 in the pathogenesis of experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. Cent Eur J Immunol, 2016, 41(2): 143-152.
[18] Berna Seekin, Figen Turkcapar, Gulnur Ozaksit. Elevated day 3 FSH/LH ratio: a marker to predict IVF outcome in young and older women [J]. J Assist Reprod Genet, 2012, 29(3): 231-236.

[责任编辑 何希荣]