

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2022.13.014

实验研究

减味寿胎丸对流产模型大鼠 Treg/Th17 细胞平衡的影响

张莹轩¹, 赖裕玲¹, 罗颂平², 郜洁²✉

1. 广州中医药大学第一临床医学院, 广东省广州市白云区机场路 12 号, 510405; 2. 广州中医药大学第一附属医院

[摘要] 目的 探讨减味寿胎丸治疗自然流产(SA)的可能作用机制。方法 将健康SD孕鼠随机分为空白组(9只)、模型组(10只)、地屈孕酮组(10只)、减味寿胎丸组(10只)。除空白组外,其余各组孕鼠于妊娠第13天予1.2 mg/ml的米非司酮溶液灌胃(10 ml/kg)1次制备SA模型。于妊娠第0天至第14天,减味寿胎丸组和地屈孕酮组分别予减味寿胎丸溶液1.8 g/(kg·d)、地屈孕酮溶液54 mg/(kg·d)灌胃,空白组和模型组予0.5%羧甲基纤维素钠溶液10 ml/kg灌胃。观察大鼠胚胎情况计算流产率;流式细胞术检测全血调节性T细胞(Treg)、辅助性T细胞17(Th17)占CD4⁺T细胞百分比;ELISA法检测血清转化生长因子β(TGF-β)、白细胞介素10(IL-10)、白细胞介素6(IL-6)、白细胞介素17(IL-17)的含量。结果 与空白组比较,模型组流产率显著升高,全血Treg细胞占CD4⁺T细胞百分比下降,Th17细胞占CD4⁺T细胞百分比升高,血清TGF-β、IL-10含量下降,IL-6、IL-17含量升高($P<0.05$);与模型组比较,地屈孕酮组和减味寿胎丸组流产率均显著下降,减味寿胎丸组全血Treg细胞占CD4⁺T细胞百分比升高、Th17细胞占CD4⁺T细胞百分比降低,地屈孕酮组血清IL-6含量降低,减味寿胎丸组血清TGF-β、IL-10含量增加而IL-17、IL-6含量降低($P<0.05$);地屈孕酮组与减味寿胎丸组各指标比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。结论 减味寿胎丸可降低米非司酮所致SA模型大鼠的流产率,而纠正大鼠Treg/Th17细胞失衡可能是其作用机制之一。

[关键词] 自然流产;细胞平衡;减味寿胎丸;调节性T细胞;辅助性T细胞17

据统计,自然流产(spontaneous abortion, SA)的发生风险为15.5%,有反复发作的倾向,发病机制复杂,50%~70%患者的病因不明^[1-2],故探寻有效防治SA的方法对优生优育具有重要意义。由于胎儿属于母体的半同种异体移植物,免疫耐受对于成功妊娠至关重要^[2]。人蜕膜组织中包含多种T细胞亚型,其中辅助性T细胞17(Th17)转录白细胞介素17(IL-17)并刺激白细胞介素6(IL-6)的产生,调节性T细胞(Treg)转录叉状头转录因子3(Foxp3)同时分泌白细胞介素10(IL-10)和转化生长因子β(TGF-β)等抗炎因子^[3]。Th17与Treg细胞构成促炎及抗炎的稳态平衡,维持母体免疫耐受,以保障胎儿顺利植入及生长发育^[4]。研究^[5]发现,SA患者存在的Treg/Th17细胞平衡向Th17细

胞方向的偏移可能是SA发生的重要原因。

基于中医学“肾主生殖”理论,安胎应首重补肾。减味寿胎丸是本团队前期临床筛选得出的补肾安胎核心组方,其可通过多途径改善SA症状,维持孕卵发育,降低SA的发生率^[6-9]。本研究以减味寿胎丸干预米非司酮SA模型大鼠,观察Treg/Th17细胞平衡的相关指标,以探讨减味寿胎丸改善SA的可能作用机制。本研究经由广东省医学实验动物中心伦理委员会审查和监督(伦理批号:B202007-9)。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF级SD大鼠雌性45只、雄性20只,7~8周龄、体质量250~300 g,购于广东省医学实验动物中心,实验动物使用许可证号:SYXK(粤)2018-0002。常规喂养,喂养条件:湿度40%~70%,温度26℃,昼夜12 h;12 h间断照明。

1.2 药物

减味寿胎丸组成:菟丝子20 g,续断10 g,桑

基金项目:国家自然科学基金(81774358,82174417);广东省财政厅省重点领域研发计划(2020B1111100003);广州中医药大学第一附属医院临床研究专项(2019 II T33)

✉ 通讯作者:gaojie1769@gzucm.edu.cn, (020)36588736

寄生 10 g, 中药饮片由广东省药材公司提供, 由广州中医药大学第一附属医院进行中药饮片干粉的制备及鉴定。使用 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液将减味寿胎丸干粉溶解成终浓度为 180 mg/ml (相当于含生药量 1.084 g/ml) 的药液。将地屈孕酮片 (Abbott Healthcare Products B. V 公司, 批号: 360397) 充分研磨成粉, 以 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液溶解成浓度为 5.4 mg/ml 的药液备用。将适量米非司酮片 (Sigma 公司, 批号: WXBC8811V) 加入 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液制备成 1.2 mg/ml 的药液。

1.3 主要仪器与试剂

电子分析天平 (美国双杰兄弟集团有限公司, 型号: JJ2000); 旋转蒸发仪 (BUCHI 公司, 型号: R-215); 中药粉碎机 (瑞安市永历制药机械公司, 型号: 103); 酶标仪 (Thermo Fisher 公司, 型号: Multiskan FC); 高速冷冻离心机 (Sigma 公司, 型号: 3-30KS); 流式细胞仪 (Beckman 公司, 型号: FC500)。

0.5% 羧甲基纤维素钠溶液 (Sigma 公司, 批号: SLBW8428); 大鼠外周血淋巴细胞分离液试剂盒 (北京索莱宝科技有限公司, 货号: P8630); CD4 (PE/Cyanine7, 货号: 201515)、CD3 (FITC, 货号: 201403)、CD25 (FITC, 货号: 202103)、Foxp3 (PE, 货号: 320007), Biolegend 公司; IL-17 (PE, Bio-science 公司, 货号: 12-7177-81); IL-10 (货号: CSB-E04595r)、IL-17 (货号: CSB-E07451r)、IL-6 (货号: CSB-E04640r)、TGF- β (货号: CSB-E04727r) ELISA 试剂盒, 武汉华美生物工程有限公司。

1.4 造模及分组

雌鼠每日进行阴道涂片, 于动情期将雌雄鼠按照 2:1 的比例合笼, 并每日早晨检查阴栓, 发现阴栓则记为妊娠第 0 天。根据随机数字表法将确定妊娠的雌鼠分为空白组 (9 只)、模型组 (10 只)、地屈孕酮组 (10 只)、减味寿胎丸组 (10 只)。于妊娠第 13 天上午约 9:00, 空白组予 10 ml/kg 的 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液灌胃 1 次, 其余各组大鼠予 1.2 mg/ml 的米非司酮溶液 (10 ml/kg) 1 次灌胃^[10]。

1.5 干预方法

从妊娠第 0 天至妊娠第 14 天每日约 9:00, 地屈孕酮组给予地屈孕酮溶液 54 mg/ (kg·d) 灌胃, 减味寿胎丸组给予减味寿胎丸药液 1.8 g/ (kg·d) 灌胃, 空白组和模型组予 0.5% 羧甲基纤维素钠溶

液 10 ml/kg 灌胃, 每日 1 次。

1.6 观察指标及方法

1.6.1 流产率 大鼠于妊娠第 15 天处死, 解剖后将大鼠子宫纵向剖管, 仔细小心剖离胚胎, 通过评估子宫外观、表面血运情况、胚胎外观及完整情况等, 判断正常胚胎与流产胚胎并记录数目, 计算流产率。正常胚胎评价标准为: 子宫粗大饱满如串珠, 解剖后见胚胎完好, 无瘀血; 流产胚胎评价标准为: 宫腔内见明显瘀血, 胚胎不完整, 或仅有着床点而无胚胎^[10]。流产率计算公式如下:

$$\text{流产率} = \frac{\text{流产胚胎数}}{\text{流产胚胎数} + \text{正常胚胎数}} \times 100\%。$$

1.6.2 全血 Treg、Th17 细胞占 CD4⁺ T 细胞百分比 按照随机数字表法每组留取 3 只大鼠, 自下腔动脉采集全血, 取 2 ml 保存于抗凝管中, 2 h 内进行流式细胞检测。按照说明书分离淋巴细胞, 取 100 μ l 细胞液加入 0.25 μ l CD4 抗体、1 μ l CD25 抗体进行表面染色, 室温避光孵育 20 min, 加入 1 ml 预冷的 PBS 溶液离心 (常温 400 r/min 离心 10 min, 离心半径 6 cm), 弃上清, 加入固定/破膜工作液, 室温避光孵育 30 min, 充分清洗后加入破膜液, 同时加入 Foxp3 抗体 1 μ l 进行核染。取 300 μ l 细胞液加入佛波酯/离子霉素混合物和布雷非德菌素 A/莫能霉素混合物各 1 μ l, 置于 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂ 培养箱中培养 5 h, 吸取 100 μ l 细胞液加入 0.2 μ l CD3 抗体、0.5 μ l CD4 抗体, 室温避光孵育 30 min 后加入 0.1 μ l IL-17 抗体染色, 使用破膜液充分清洗并离心 (常温 400 r/min 离心 5 min, 离心半径 6 cm), 弃上清, 缓冲液重悬后上机检测, 分别计算 Treg 和 Th17 细胞占 CD4⁺ T 细胞的比例。

1.6.3 血清 IL-10、IL-17、IL-6、TGF- β 含量 采集各组大鼠血液进行梯度离心, 4 $^{\circ}$ C、1000 r/min 离心 10 min, 4 $^{\circ}$ C、3000 r/min 离心 10 min, 离心半径均为 6 cm, 收集血清, 血清样本保存于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱备用。采用 ELISA 方法检测 IL-10、IL-17、IL-6、TGF- β 含量, 按照试剂盒说明书处理样本, 再置于酶标仪 450 nm 波长下检测各细胞因子 OD 值。

1.7 统计学方法

使用 SPSS 26.0 软件进行统计分析。数据均符合正态分布, 采用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 多组比较采用单因素方差分析。方差齐者多重比较采用 Dunnett 检验或 Scheffe 检验, 方差不齐者多重比较采用 Tamhane's T^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠流产率比较

表 1 示,与空白组比较,模型组流产率显著升高 ($P<0.05$);与模型组比较,地屈孕酮组和减味寿胎丸组流产率均显著下降 ($P<0.05$);地屈孕酮组与减味寿胎丸组流产率比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

表 1 各组大鼠流产率比较 (% , $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	流产率
空白组	9	0
模型组	10	50.54 $\pm$ 3.22 ^{a)}
地屈孕酮组	10	30.17 $\pm$ 1.69 ^{b)}
减味寿胎丸组	10	33.09 $\pm$ 3.25 ^{b)}

注: a) 与空白组比较, $P<0.05$; b) 与模型组比较, $P<0.05$ 。

2.2 各组大鼠全血 Treg、Th17 细胞占 CD4⁺ T 细胞百分比比较

表 2 示,与空白组比较,模型组全血 Treg 细胞占 CD4⁺ T 细胞百分比下降, Th17 细胞占 CD4⁺ T 细胞百分比升高 ($P<0.05$);与模型组比较,减味寿胎丸组 Treg 细胞占 CD4⁺ T 细胞百分比升高, Th17 细胞占 CD4⁺ T 细胞百分比降低 ($P<0.05$),地屈孕酮组两指标差异均无统计学意义 ($P>0.05$);与地屈孕酮组比较,减味寿胎丸组 Treg 细胞占 CD4⁺ T 细胞百分比升高, Th17 细胞占 CD4⁺ T 细胞百分比下降,但差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

表 2 各组大鼠全血 Treg、Th17 细胞占 CD4⁺ T 细胞百分比比较 (% , $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	Treg/CD4 ⁺ T	Th17/CD4 ⁺ T
空白组	3	2.30 $\pm$ 0.10	2.05 $\pm$ 0.06
模型组	3	1.23 $\pm$ 0.06 ^{a)}	2.90 $\pm$ 0.07 ^{a)}
地屈孕酮组	3	1.14 $\pm$ 0.10 ^{a)}	2.66 $\pm$ 0.09 ^{a)}
减味寿胎丸组	3	1.77 $\pm$ 0.07 ^{b)}	2.12 $\pm$ 0.07 ^{b)}

注: Treg, 调节性 T 细胞; Th17, 辅助性 T 细胞 17。
a) 与空白组比较, $P<0.05$; b) 与模型组比较, $P<0.05$ 。

2.3 各组大鼠血清 TGF- β 、IL-6、IL-10、IL-17 含量比较

表 3 示,与空白组比较,模型组大鼠血清 TGF- β 、

IL-10 含量显著下降, IL-17、IL-6 显著升高 ($P<0.05$);与模型组比较,地屈孕酮组血清 IL-6 降低,减味寿胎丸组 TGF- β 、IL-10 显著升高, IL-17、IL-6 显著降低 ($P<0.05$);与地屈孕酮组比较,减味寿胎丸组血清 TGF- β 、IL-10、IL-6、IL-17 含量差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。

3 讨论

根据 SA 的症状,将其归为中医学“胎漏”“胎动不安”等范畴。临床以罗元恺教授提出的“肾-天癸-冲任-胞宫”轴的中医生殖轴理论为指导,主要以补肾作为安胎的治疗大法,肾主生殖理论贯彻安胎治疗的始末^[11-12]。减味寿胎丸为补肾安胎核心组方,方中菟丝子为君,补肾益精;桑寄生为臣,补肝肾、安胎元;续断为佐,补肝肾、固冲任,三药合用,共奏补肾安胎之功。

Treg 和 Th17 细胞之间构成的精细免疫平衡介导了母体对胎儿免疫耐受的建立^[4]。妊娠早期, Treg 细胞增加^[13-14],目的是针对“外来”的胎儿建立母体的免疫耐受,避免母体免疫系统对胎儿的损伤^[13,15-16]; Th17 细胞则通过促炎效应保护母体免受微生物等的损害^[17]。健康的妊娠出现 Treg/Th17 平衡偏向 Treg 细胞方向^[18]。在某些妊娠并发症中,可出现 Treg 细胞减少而 Th17 细胞增加,如复发性流产、先兆子痫及早产^[3,19]。本研究结果与这些研究结果趋势一致,均表明 Treg/Th17 细胞的细胞平衡对妊娠维持的重要性。

本研究探讨了减味寿胎丸对 SA 模型大鼠 Treg/Th17 细胞平衡的作用,结果显示,地屈孕酮组和减味寿胎丸组大鼠流产率均较模型组明显下降,提示地屈孕酮、减味寿胎丸均能在一定程度上防止 SA 的发生。模型大鼠存在 Treg/Th17 细胞平衡偏向于 Th17 细胞方向的平衡偏移,减味寿胎丸可增加外周血 Treg 细胞占 CD4⁺ T 细胞的百分比且降低 Th17 细胞占 CD4⁺ T 细胞的百分比;增加 Treg 细胞相关的血清 TGF- β 、IL-10 细胞因子含量,降低 Th17 细胞相关的血清 IL-6、IL-17 细胞因子含量,

表 3 各组大鼠血清 TGF- β 、IL-6、IL-10、IL-17 含量比较 (pg/ml, $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	TGF- β	IL-6	IL-10	IL-17
空白组	9	17733.12 $\pm$ 1213.38	25.09 $\pm$ 2.18	8.08 $\pm$ 0.39	5121.89 $\pm$ 342.81
模型组	10	11680.51 $\pm$ 669.21 ^{a)}	37.31 $\pm$ 3.31 ^{a)}	4.31 $\pm$ 0.35 ^{a)}	7033.43 $\pm$ 325.91 ^{a)}
地屈孕酮组	10	14730.80 $\pm$ 613.75	26.86 $\pm$ 3.21 ^{b)}	5.03 $\pm$ 0.39	6155.59 $\pm$ 111.78
减味寿胎丸组	10	16253.90 $\pm$ 892.69 ^{b)}	24.83 $\pm$ 2.15 ^{b)}	6.66 $\pm$ 0.46 ^{b)}	4857.37 $\pm$ 312.48 ^{b)}

注: TGF- β , 转化生长因子 β ; IL-6, 白细胞介素 6; IL-10, 白细胞介素 10; IL-17, 白细胞介素 17。
a) 与空白组比较, $P<0.05$; b) 与模型组比较, $P<0.05$ 。

提示减味寿胎丸可纠正模型大鼠 Treg/Th17 细胞的平衡偏移。本研究亦发现,地屈孕酮具有降低大鼠血清 IL-6 的作用。研究发现,天然孕激素可刺激胸腺 Treg 细胞的成熟,当胸腺中的 Treg 细胞减少时,胎盘中的 Treg 细胞同样减少,并导致 SA 的发生^[20]。因此,地屈孕酮同样具有调节 Treg/Th17 细胞平衡的作用。本研究流式细胞和血清 ELISA 结果均显示减味寿胎丸可增加 Treg 细胞及相关因子表达,降低 Th17 细胞及相关因子表达,而地屈孕酮仅能降低模型大鼠血清 IL-6 的含量,提示减味寿胎丸较地屈孕酮而言,对 Treg/Th17 平衡的靶向性可能更强。现代医学研究表明,补肾安胎类中药具有免疫调节的功能^[21-23],这一结果在本研究中虽得到印证,但减味寿胎丸具体通过何种途径增加 Treg 细胞且降低 Th17 细胞仍未明确。

综上所述,减味寿胎丸可显著降低米非司酮 SA 模型大鼠的流产率,增加 SA 模型大鼠外周血 Treg 细胞占 CD4⁺ T 细胞百分比及相关细胞因子的含量,并降低 Th17 细胞占 CD4⁺ T 细胞百分比及相关细胞因子的含量。因此,减味寿胎丸可能通过纠正 Treg/Th17 细胞失衡发挥补肾安胎的作用。另外,我们发现补充孕激素同样具有调节 Treg/Th17 细胞平衡的作用。但本研究未探讨减味寿胎丸对孕激素的影响,无法明确其是否通过调节妊娠激素相关途径调节免疫,同时未探讨减味寿胎丸发挥作用的有效物质,这些问题均有待在后续研究中完善。

参考文献

- [1] QUENBY S, GALLOS ID, DHILLON-SMITH RK, et al. Miscarriage matters: the epidemiological, physical, psychological, and economic costs of early pregnancy loss [J]. *Lancet*, 2021, 397(10285): 1658-1667.
- [2] DIMITRIADIS E, MENKHORST E, SAITO S, et al. Recurrent pregnancy loss [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2020, 6(1):98. doi: 10.1038/s41572-020-00228-z.
- [3] FIGUEIREDO AS, SCHUMACHER A. The T helper type 17/Regulatory T cell paradigm in pregnancy [J]. *Immunology*, 2016, 148(1): 13-21.
- [4] WANG W, SUNG N, GILMAN-SACHS A, et al. T helper (Th) cell profiles in pregnancy and recurrent pregnancy losses: Th1/Th2/Th9/Th17/Th22/Tfh cells [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 2025. doi: 10.3389/fimmu.2020.02025.
- [5] JI JL, ZHAI H, ZHOU H, et al. The role and mechanism of vitamin d-mediated regulation of Treg/Th17 balance in recurrent pregnancy loss [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2019, 81(6): e13112.
- [6] 赖裕玲,张莹轩,曾丽华,等. 减味寿胎丸对流产模型大鼠子宫蜕膜脂质过氧化及铁死亡蛋白表达的影响 [J]. *中医杂志*, 2021, 62(21): 1917-1922, 1929.
- [7] 周月希,余庆英,罗颂平,等. 减味寿胎丸对自然流产模型小鼠子宫蜕膜组织中 FOXO3 及 PR 蛋白表达的影响 [J]. *中医杂志*, 2021, 62(4): 335-340.
- [8] 余庆英,黄嫻,钟艳兰,等. 减味寿胎丸抑制 miR-126-3p 上调滋养细胞中 FOXO3 表达的药效机制 [J]. *中华中医药杂志*, 2021, 36(12): 7066-7069.
- [9] 郝晓丽,王冬盈,郜洁,等. 寿胎丸减味方对肾虚自然流产模型小鼠 IL-17 的影响 [J]. *世界中西医结合杂志*, 2020, 15(2): 292-295.
- [10] TELLERIA CM, DEIS RP. Reproductive function in rats after mifepristone-induced termination of pregnancy [J]. *Contraception*, 1996, 53(3): 185-190.
- [11] 罗颂平. 封藏之本,静以制动:论罗元恺教授安胎的思路与方法 [J]. *广州中医药大学学报*, 2006, 23(5): 363-365.
- [12] 罗颂平,张玉珍. 罗元恺妇科经验集 [M]. 上海:上海科学技术出版社, 2005: 92.
- [13] SASAKI Y, SAKAI M, MIYAZAKI S, et al. Decidual and peripheral blood CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells in early pregnancy subjects and spontaneous abortion cases [J]. *Mol Hum Reprod*, 2004, 10(5): 347-353.
- [14] SOMERSET DA, ZHENG Y, KILBY MD, et al. Normal human pregnancy is associated with an elevation in the immune suppressive CD25⁺ CD4⁺ regulatory T-cell subset [J]. *Immunology*, 2004, 112(1): 38-43.
- [15] ROBERTSON SA, GUERIN LR, BROMFIELD JJ, et al. Seminal fluid drives expansion of the CD4⁺ CD25⁺ T regulatory cell pool and induces tolerance to paternal alloantigens in mice [J]. *Biol Reprod*, 2009, 80(5): 1036-1045.
- [16] SHARKEY DJ, MACPHERSON AM, TREMELLEN KP, et al. Seminal plasma differentially regulates inflammatory cytokine gene expression in human cervical and vaginal epithelial cells [J]. *Mol Hum Reprod*, 2007, 13(7): 491-501.
- [17] BALANDYA E, WIELAND AW, SANDERS K, et al. Human seminal plasma fosters CD 4⁺ regulatory T-cell phenotype and transforming growth factor- β 1 expression [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2012, 68(4): 322-330.
- [18] ZHAO X, JIANG Y, WANG L, et al. Advances in understanding the immune imbalance between T-lymphocyte subsets and NK cells in recurrent spontaneous abortion

- [J]. Geburtshilfe Frauenheilkd, 2018, 78 (7) : 677-683.
- [19] WANG WJ, HAO CF, YIN GJ, et al. Increased prevalence of T helper 17 (Th17) cells in peripheral blood and decidua in unexplained recurrent spontaneous abortion patients [J]. J Reprod Immunol, 2010, 84 (2) : 164-170.
- [20] ANAHTAR MN, BYRNE EH, DOHERTY KE, et al. Cervicovaginal bacteria are a major modulator of host inflammatory responses in the female genital tract [J]. Immunity, 2015, 42(5): 965-976.
- [21] 何冬梅, 李江滨. 寿胎丸治疗反复自然流产患者 T 淋巴细胞亚群 Th17/Treg 失衡 60 例 [J]. 中医研究, 2014, 27(2): 14-16.
- [22] 冯晓玲, 李强, 李嘉玮, 等. 补肾活血方对不明原因复发性流产患者血清中 IL-13、IL-33 的影响 [J]. 广州中医药大学学报, 2019, 36(5): 625-630.
- [23] 冯晓玲, 贾丹, 张杨, 等. 补肾活血方对不明原因复发性流产外周血中 IL-2、IL-6 的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(8): 1799-1802.

Effects of *Jianwei Shoutai Pills* (减味寿胎丸) on Treg/Th17 Cells Balancing in Abortion Model Rats

ZHANG Yingxuan¹, LAI Yuling¹, LUO Songping², GAO Jie²

1. The First Clinical Medical College of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, 510405; 2. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine

ABSTRACT Objective To explore the possible mechanism of *Jianwei Shoutai Pills* (减味寿胎丸, JSP) in the treatment of spontaneous abortion (SA). **Methods** Healthy SD pregnant rats were randomly divided into blank group (n=9), model group (n=10), dydrogesterone group (n=10), and JSP group (n=10). Except for the blank group, pregnant rats in other groups were given 1.2 mg/ml mifepristone solution (10 ml/kg) by gavage on the 13th day of pregnancy to establish the SA model. During the 1st day to 14th day of pregnancy, 1.8 g/(kg·d) of JSP solution and 54 mg/(kg·d) of dydrogesterone solution were given by gavage to the corresponding groups, respectively, while 10 ml/kg of 0.5% sodium carboxymethyl cellulose solution were given by gavage to the blank group and model group. The abortion rate was calculated by observing the rats embryos. Flow cytometry was used to detect the percentage of whole blood regulatory T cells (Treg) and T helper 17 (Th17) cells in the CD4⁺ T cells. ELISA method was used to detect the contents of serum transforming growth factor β (TGF- β), interleukin 10 (IL-10), interleukin 6 (IL-6) and interleukin 17 (IL-17). **Results** Compared to the blank group, the model group had higher abortion rate, decreased percentage of whole blood Treg cells in the CD4⁺ T cells, increased percentage of Th17 cells in CD4⁺ T cells, lower levels of serum TGF- β and IL-10, and higher levels of IL-6 and IL-17 ($P < 0.05$). Compared to those in the model group, the abortion rates in the dydrogesterone group and the JSP group were significantly reduced; the percentage of whole blood Treg cells in the CD4⁺ T cells in the JSP group increased, while the percentage of Th17 cells in the CD4⁺ T cells decreased; the serum IL-6 content in dydrogesterone group decreased, while the serum TGF- β and IL-10 content in JSP group increased, and the IL-17 and IL-6 content decreased ($P < 0.05$). There were no significant differences between the dydrogesterone group and JSP group in all outcomes ($P > 0.05$). **Conclusion** JSP can reduce the abortion rate of mifepristone-induced SA rats, possibly through correcting the imbalance of Treg/Th17 cells.

Keywords spontaneous abortion; cell balancing; *Jianwei Shoutai Pills* (减味寿胎丸); regulatory T cells; T helper 17 (Th17) cells

(收稿日期: 2021-11-18; 修回日期: 2022-03-23)

[编辑: 王利芬]