

二仙汤及其拆方治疗卵巢早衰的实验研究进展

杨蕾 王继峰 牛建昭 陶仕英

【摘要】近年来,卵巢早衰发病率呈逐年上升趋势。现代医学主要是以激素替代疗法加以治疗,临床效果一般且副作用大。传统医学认为此病主要是年未老,冲任已衰,天癸已竭,肾中精气的衰少,从而诱发卵巢早衰。二仙汤主要有温补肾阳、改善体内雌激素水平的作用。在临床治疗卵巢早衰中发挥着重要的作用。本文通过促性腺激素、下丘脑生殖调节激素、下丘脑—垂体—卵巢轴以及卵巢颗粒细胞水平综述了近几年来关于二仙汤及其拆方在治疗卵巢早衰方面的实验研究进展。

【关键词】 卵巢早衰; 二仙汤; 病因病机; 实验研究进展

【中图分类号】 R711.75 【文献标识码】 A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2017.05.036

Experimental research progress of *Erxian* decoction and its disassembled prescriptions in treatment of premature ovarian failure YANG Lei, WANG Jifeng, NIU Jianzhao, et al. Beijing University of Chinese Medicine basic medical college, Beijing 100029, China

Corresponding author: TAO Shiying, Email: taoshiying1970@163.com

【Abstract】 In recent years, the incidence of premature ovarian failure rate has increased. Modern medicine is mainly treated with hormone replacement therapy, the clinical effect is modest and the side

基金项目:教育部国家外专局高等学校创新引智基地项目(B07007);国家自然科学基金(81273887);国家自然科学基金(30772849)

作者单位:100029 北京中医药大学基础医学院[杨蕾(硕士研究生)、王继峰、牛建昭、陶仕英]

作者简介:杨蕾(1990-),女,2014级在读硕士研究生。研究方向:中医药防治女性生殖内分泌疾病基础研究。E-mail:1171935855@qq.com

通信作者:陶仕英(1970-),女,副教授。研究方向:中医药防治女性生殖内分泌疾病基础研究。E-mail:taoshiying1970@163.com

effect is big. The traditional Chinese medicine considers the disease is mainly about age is not old, but the *Chong-Ren* has been weak, *Tianguai* has dried up, *Shen* essence and *qi* is reduced, and premature ovarian failure is induced. *Erxian* decoction is mainly Tonifying Kidney Yang, improve the level of estrogen in vivo. Play an important role in the clinical treatment of premature ovarian failure. In this paper, hypothalamic gonadotropin, reproductive hormones regulation of the hypothalamic pituitary ovarian axis and granulosa cell level in recent years was reviewed on *Erxian* decoction and its disassembled prescriptions in the treatment of premature ovarian failure in experimental study.

【Key words】 Premature ovarian failure; *Erxian* decoction; Pathogenesis; Experimental research

卵巢早衰 (premature ovarian failure, POF) 是较为常见的妇科疾病,是指 40 岁之前的女性出现持续性闭经、性器官萎缩及伴有促性腺激素增高和雌激素水平降低的围绝经期综合征。临床表现为月经失调,自主神经功能紊乱、严重者可出现不孕^[1-3]。现代医学认为卵巢早衰的发病涉及原始卵泡储备过少、卵泡闭锁或耗竭过快等^[4]。而古代医家认为肾虚才是本病的基本病机^[5-8]。二仙汤是张伯讷教授创制,用于治疗围绝经综合征等肾虚所致病症的处方,其主要功效为温补肾阳、改善体内雌激素水平^[9]。而本方配伍呈现滋肾阴降相火、调冲任、平阴阳为所长,达阴阳调和之效,使临床诸证自除^[10]。二仙汤现代运用十分广泛,无论是实验研究还是临床疗效方面都获得了相应的成果。笔者现就有关二仙汤及其拆方治疗卵巢早衰的实验研究综述如下。

1 对促性腺激素的作用

腺垂体分泌与生殖调节密切相关的激素是促性腺激素。促性腺激素包括黄体生成素 (luteinizing hormone, LH) 和卵泡刺激素 (follicle-stimulating hormone, FSH)。FSH 是卵泡发育必备的激素。而 LH 的主要生理作用是合成雌激素,促进卵母细胞成熟及排出。卵巢早衰本身就是卵巢衰退过程中,卵巢的正常应答能力减退,卵巢上 FSH 受体不敏感或者减少,进而造成了卵泡发育不良,雌激素分泌减少,主要表现在性腺处于兴奋活跃状态,FSH 和 LH 分泌过多。

观察二仙汤加减中药保留灌肠来治疗卵巢早衰,探讨治疗前后雌激素及卵泡刺激素、黄体生成素表达影响,在实验过程中主要是选取 70 例卵巢早衰患者,治疗中进行二仙汤加减中药保留灌肠。二仙汤加减中药保留灌肠治疗卵巢早衰,可降低 FSH 且优于单纯中药汤剂口服,同时降低 LH 值^[11]。对

二仙汤进行拆方,研究二仙汤及其拆方对去卵巢大鼠的 LH 和 FSH 影响,比较各个拆方作用的不同。实验应用 Access 全自动微粒子免疫化学发光仪免疫分析系统上测定 LH 和 FSH 表达水平。君药在降低 LH 和 FSH 水平方面药力最明显,由君药与佐药组成的方子作用略缓和,表明佐药可减缓君药的烈性^[12]。以往实验研究用加味二仙汤治疗 POF 患者 32 例,共治疗 2 个疗程。采用电化学发光法检测 LH 和 FSH 水平,结果显示:患者经治疗,症状明显缓解,同时血清 LH 和 FSH 水平较治疗前后均有显著差异,FSH、LH 均较治疗前明显下降, E_2 、AMH 水平明显升高,说明加味二仙汤能够改善卵巢的储备功能,整体调节内分泌,起到治疗卵巢早衰的作用^[13]。

用中药直接加入的方法,观察了各实验组对原代培养的垂体前叶细胞 LH 和 FSH 分泌的影响。原代培养的大鼠垂体前叶细胞中直接加入二仙汤全方或其拆方及部分提取物,用放射免疫法测定培养液中黄体生成素和卵泡刺激素的含量。各实验组均能很好的促进大鼠垂体前叶细胞中 LH 和 FSH 的分泌。其中淫羊藿甙能够促进垂体 LH 的分泌,滋阴泻火方具有促进 LH 和 FSH 分泌的作用。而二仙汤全方对所检测的指标的促进作用是最强的,这也从侧面体现了中药配伍后的协同作用^[14]。相关实验采用化疗损伤性小鼠卵巢功能早衰模型,给予二仙汤周期灌胃,发现二仙汤可明显改善小鼠的卵巢功能,降低 FSH 和 LH 水平,提高了雌二醇 ($estradiol, E_2$) 和 P 水平,卵泡的闭锁明显减少,使卵巢功能得到改善。二仙汤可通过抑制氧化损伤,降低细胞外基质形成,加速细胞外基质降解,改善卵泡和颗粒细胞功能,提升卵巢功能。同时还能够改善化疗损伤性卵巢早衰中卵巢颗粒细胞和卵泡膜细胞的损伤作用,提高卵巢性激素的分泌,有利于颗粒细胞、卵泡膜内层细胞功能的改善,进而维

持了卵巢组织内环境的稳态^[15]。

从二仙汤及其拆方对促性腺激素的影响可以看出作用主要集中在调节对 LH 和 FSH 的分泌。而二仙汤及其拆方通过有效的降低 FSH 和 LH 水平,提高了 E₂ 及 P 水平,进而保护了卵泡,完善卵巢功能,有效的治疗了卵巢早衰。

2 对下丘脑生殖调节激素的作用

下丘脑生殖调节激素为促性腺激素释放激素(gonadotropin-releasing hormone, GnRH)。GnRH 是一种神经激素,为十肽结构,主要产生于下丘脑弓状核神经细胞,通过垂体门脉系统输送到腺垂体,其分泌特点呈脉冲式。此外,它以脉冲式分泌的方式选择性刺激 FSH 和 LH,对生殖功能的调控有重要意义,主要的生物学效应是:调节垂体促性腺激素的合成与分泌。研究表明,GnRH 及其类似物能直接作用于卵巢,对卵巢的各个成分均能产生作用。GnRH 可能通过刺激颗粒细胞产生孕酮、PG 及纤维蛋白溶解酶原激活物,诱导大鼠排卵前卵泡排卵和卵子分裂成熟,最终达到促排卵的作用^[16]。

以往实验采用血清药理学方法,研究了不同时间、不同浓度的二仙汤及其寒、温两个拆方药物血清对 GT1 细胞 GnRH 分泌的影响。结果表明:给药 1、2 小时后取血的全方药物血清均能促进 GnRH 释放而且 1 小时给药血清作用最强。侧面说明该方血药浓度的高峰期可能出现在 1 小时左右。二仙汤全方及两个拆方均能促进 GnRH 释放,其中以全方作用最为突出^[17]。相关实验分为各个拆方组,各组给药 6 天后取血清,检测 FSH、E₂ 的含量,通过 HE 染色发现各实验组卵泡数量明显增多,免疫组织化学显示,雌激素受体 β 主要表达于卵巢颗粒细胞的细胞核中。二仙汤及其拆方可促进卵泡发育成熟和排卵的机制主要是通过上调卵泡颗粒细胞 ER β 的表达^[18]。相关研究用激光扫描光密度仪定量分析,实验中全方和温肾组 GnRH mRNA 水平有降低趋势,但明显促进该激素分泌,而滋阴组同时促进 GnRH mRNA 表达和激素分泌,说明温肾组和滋阴组可能是通过不同的途径调控 GnRH mRNA 的转录和表达,结果表明二仙汤及其拆方能有效提高雌、雄老年大鼠下丘脑 GnRH 基因的转录水平,提高腺垂体 GnRH 的单位含量,延缓下丘脑衰老。雌、雄老年大鼠下丘脑 GnRH 含量及基因表达水平均下降,腺垂体 GnRH 单位含量下降,而二仙汤及其两个拆

方均能提高下丘脑及腺垂体 GnRH 的含量及下丘脑 GnRHmRNA 的水平^[19-20]。

由此可以看出,二仙汤及其拆方对下丘脑生殖调节激素的作用,主要集中在上调 GnRH 含量,GnRH 的分泌受来自血流的刺激信号尤其是垂体促性腺激素和卵巢激素的反馈调节。主要的调节方式为正反馈和负反馈调节。正反馈调节起的是积极地促进作用,相反,负反馈则主要是抑制作用。当卵巢或者垂体受到某些因素影响 GnRH 的含量降低时,直接影响了垂体促性腺激素的合成与分泌。FSH 和 LH 水平受到影响进而刺激卵巢影响优势卵泡的形成及非优势卵泡的闭锁。二仙汤及其两个拆方均能提高下丘脑及腺垂体 GnRH 的含量及下丘脑 GnRH mRNA 的水平。在卵巢早衰的治疗中可以通过调节下丘脑及腺垂体 GnRH 的含量及下丘脑 GnRH mRNA 的水平,来影响 FSH 和 LH 的分泌,进而起到保护卵泡,改善卵巢的功能。

3 对下丘脑—垂体—卵巢轴的作用

下丘脑—垂体—卵巢轴(hypothalamic-pituitary-ovarianaxis, HPOA)是一个协调的神经内分泌系统,组成这一系统的每个环节都具有自己独特的内分泌功能。各个环节相互联结、相互作用,最终构成了一个完整的神经内分泌生殖调节体系,并在生殖活动中发挥着极其重要的调节作用。研究表明,GnRH 及其类似物能直接作用于卵巢,对卵巢的各个成分均能产生作用。GnRH 能够调节性腺发育和性激素的分泌,主要是通过调节垂体 LH 和 FSH 的释放得以实现。垂体功能异常主要表现在 LH 分泌过多,而 FSH 的分泌正常或稍低,从而 LH/FSH 比值增加。而增加的 LH 可以直接作用在卵泡膜细胞,引发卵巢早衰。中医认为卵巢早衰是七七未至,冲任已衰,天癸已竭,而肾为冲任之本,天癸的产生必赖肾精充足和肾阳温化。这也与二仙汤最开始的治疗原则相一致。而通过现在医学检测手段观察到,二仙汤及其拆方对 HPOA 的作用主要通过卵巢性激素对下丘脑 GnRH 和 FSH/LH 的合成和分泌进行反馈调节,参与整个女性生殖周期。

二仙汤中的淫羊藿可作用于下丘脑—垂体—性腺轴/肾上腺轴上游,并可能是其影响性激素及促性腺激素分泌的重要途径。淫羊藿甙能延缓卵巢卵母细胞巢破裂,抑制原始卵泡的发育启动,减少卵泡的消耗,使处于静止期的原始卵泡数增多。

淫羊藿作为二仙汤的君药,无论是在治疗还是对 HPOA 中都发挥着重要的作用。淫羊藿干预的 2 天龄新生大鼠卵巢中,细胞凋亡的阳性率降低,阳性细胞主要为裸露的卵母细胞和原始卵泡的卵母细胞,提示淫羊藿能减少卵母细胞凋亡,增加原始卵泡池的储备量^[21-22]。以往研究采用定量的逆转录—聚合酶链式反应法观察青春期中大白鼠喂饲滋阴泻火或益肾填精中药后,下丘脑 GnRH、腺垂体 FSH、LH 及成骨细胞 BGP 的信使核糖核酸表达水平的变化。补肾中药可以在转录水平调节下丘脑 GnRH、腺垂体 FSH、LH 基因的表达^[23]。

用 ELISA 法检测发现,二仙汤具有改善自身免疫性 POI 免疫功能的作用,其主要机制是可以有效抑制 AzpAb,减少卵泡闭锁,减缓卵泡耗竭速度^[24]。相关实验应用分子生物学和神经肽放免测定技术,观察二仙汤可能增加 EOP 合成,促进下丘脑 EOP 基因表达且抑制下丘脑 GnRH 合成,故延缓老年前期大鼠性腺轴衰老。这很有可能是二仙汤及其拆方临床治疗妇女更年期综合征和抗衰老主要作用机制之一^[25]。

4 对卵巢颗粒细胞的影响

颗粒细胞 (granulosa cells, GC) 是卵巢中十分重要的细胞,从原始卵泡生长启动增殖、分化、闭锁/排卵到黄体形成,整个过程中 GC 在形态功能等方面都发生各种变化。它是卵泡不断发育成熟的基本条件。GC 合成许多活性肽,如抑制素 (inhibin)、激活素 (activin) 和卵泡抑素 (follistatin), inhibin 和 activin 属于 TGF β s 家族,是二聚化的蛋白。inhibin 是一个 α , β -异源二聚子,而 activin 是 β , β -同源二聚子。这些蛋白除了参与调节垂体释放 FSH 外,也可作为卵泡发育的局部调节因子发挥作用^[26]。

用放射免疫分析法检测大鼠卵巢颗粒细胞中 E_2 含量,观察二仙汤各拆方直接加药法时颗粒细胞分泌 E_2 的影响。结果表明,二仙汤中单味药黄柏、仙茅刺激细胞分泌 E_2 的作用大于其他各单味药。全方去知母组 E_2 的分泌作用强于全方组。淫羊藿与巴戟天的合煎液比其两者分煎液再共同作用于颗粒细胞更能提高 E_2 水平。证明二仙汤中黄柏和仙茅对颗粒细胞分泌 E_2 有直接的促进作用。淫羊藿协同作用明显,淫羊藿与巴戟天合煎促进颗粒细胞分泌 E_2 的作用大于分煎。知母对颗粒细胞分泌 E_2 有一定的抑制作用。当归对性腺作用不明显,而

在垂体水平可以明显促进 LH 和 FSH 的释放,故二仙汤及其拆方对大鼠卵泡颗粒细胞分泌 E_2 有促进作用^[27]。以往实验表明,直接加药法观察二仙汤及其温肾、滋阴、调理冲任各拆方组、各单味药以及温肾药淫羊藿、仙茅的主要成分淫羊藿苷和仙茅苷对原代培养卵泡颗粒细胞分泌 E_2 的有促进作用。结果发现,二仙汤调节下丘脑—垂体—性腺轴的作用可能与其促进卵泡颗粒细胞分泌有关,温肾组拆方对促进卵泡颗粒细胞分泌的作用较好^[28]。相关研究观察,二仙汤对大鼠卵泡颗粒细胞的影响,结果发现,二仙汤可能通过促进卵泡颗粒细胞分泌,从而调节下丘脑—垂体—性腺轴,而其君药,淫羊藿中的淫羊藿苷可能通过延缓卵母细胞巢破裂,抑制原始卵泡的发育启动,减少卵母细胞凋亡从而增加新生大鼠卵巢中卵母细胞的储备量^[29]。实验通过提取小鼠组织器官细胞,给予药物刺激,观察二仙汤卵巢颗粒细胞的影响。结果显示,二仙汤的水提液和醇提液均可直接提高卵巢颗粒细胞上清液中 E_2 的水平,对小鼠卵巢颗粒细胞有较好的调节作用,实验推断二仙汤可能是通过促进卵巢颗粒细胞合成 E_2 从而调节机体的免疫功能,发挥生殖内分泌系统对免疫系统的调控作用^[30]。利用 10% 围绝经期综合征大鼠血清培养正常大鼠的卵巢颗粒细胞,复制围绝经期综合征的细胞模型,观察二仙汤对该模型中卵巢颗粒细胞生长的影响。结果显示,二仙汤能增加性激素的分泌,促进颗粒细胞的生长,表明二仙汤在治疗围绝经期综合征时能发挥作用应该与其对颗粒细胞生长的促进作用有关^[31]。

二仙汤及其拆方对卵巢颗粒细胞的影响,主要是在卵泡发生的起始阶段,卵泡细胞没有形成功能型 FSH /LH 受体,因此卵泡生长启动是促性腺激素非依赖性的 GC 和 OC 之间的对话和相互作用。FSH 可有效地诱导 GC 增殖和分化^[32]。所以当卵巢早衰发生时,FSH /LH 水平升高,雌激素水平降低。而二仙汤及其拆方主要是通过下调 FSH /LH 水平,上调雌激素水平来改善卵巢颗粒细胞的功能,促进颗粒细胞的生长。

5 结语

二仙汤虽不是传统经方,但是却有着经方的风范。二仙汤及其拆方无论从促性腺激素、下丘脑生殖调节激素、HPOA 以及卵巢颗粒细胞水平都能对生殖内分泌进行调节,使生殖激素的水平发生变

化,进而促进机体的内环境达到相对稳定的状态,同时可以使女性植物神经功能得到调节,增加免疫功能,改善女性由于促性腺激素水平升高,雌激素水平降低而引起的一系列围绝经期综合征。二仙汤及其拆方的主要治疗原则是补肾疏肝、调冲任。通过观察不同的拆方,发现二仙汤各个拆方药物组成不同、配伍不同,作用的靶点也不同,这对于提高药物在临床上的针对性治疗起着至关重要的作用,可以为临床上二仙汤用于卵巢早衰的治疗提供指导意义。而如今,虽然在实验研究和临床应用中二仙汤都取得了很大的进展。但目前对于其治疗中的治疗机制还是缺乏系统性、标准化的研究。笔者认为今后可以从以下几个方面进行进一步研究:(1)实验研究可以开展二仙汤在治疗卵巢早衰中对卵巢颗粒细胞凋亡调控蛋白的作用机制研究,明确其作用靶点;(2)实验研究可以开展二仙汤在治疗卵巢早衰,通过哪条信号通路发挥作用,具体的作用机制是什么?(3)实验研究应结合中医特色中的“辨证分型”理论,根据症状、症型的不同,分不同的实验组,进行指标测定。逐步实现科学化、客观化的辨证分型思想。

参 考 文 献

- [1] 王续武. 二仙汤加减治疗女性更年期综合征 40 例小结[J]. 甘肃中医, 2000, 13(6): 41.
- [2] 李花, 赵新广, 刘丹卓. 卵巢早衰病理因素研究现状及展望[J]. 中医药导报, 2012, 18(8): 4-6.
- [3] 弓翠屏, 郝天羽. 卵巢早衰的病因学研究进展[J]. 辽宁医学院学报, 2010, 31(3): 284-287.
- [4] 高慧, 夏天, 韩冰. 卵巢早衰的中西医研究概述[J]. 中华实用中西医杂志, 2005, 18(6): 861-863.
- [5] 李黎. 二仙汤的现代临床运用[J]. 四川中医, 2014, 32(12): 182-184.
- [6] 董冰峰, 方肇勤. 二仙汤实验研究进展[J]. 中国中医基础医学志, 2003, 9(10): 78-81.
- [7] 李淑丽, 薛辉. 卵巢早衰的中医研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2010, 12(1): 69-71.
- [8] 吕秀花, 基香莲. 以肾为本心肝脾同调治疗卵巢早衰[J]. 新中医, 2015, 47(2): 3-4.
- [9] 孙秀兰, 刘冬岩. 养肝和血方对卵巢早衰大鼠性激素的影响[J]. 中国医药指南, 2013, 11(16): 410-412.
- [10] 李茜西, 吕德欣. 卵巢早衰的病因及治疗研究进展[J]. 中国医药导报, 2014, 11(30): 165-168.
- [11] 王艳萍, 齐力, 田娜娜. 中药保留灌肠治疗卵巢早衰的临床研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2014, 9(7): 729-731.
- [12] 谢珍, 刘波, 徐彭, 等. 二仙汤及其拆方对去卵巢大鼠更年期综合征的影响[J]. 中国老年学杂志, 2015, 20(35): 5691-5693.
- [13] 刘丽敏, 薛霁. 加味二仙汤治疗卵巢早衰临床疗效及对抗苗勒管激素的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2011, 18(4): 78-79.
- [14] 董冰峰, 施建蓉, 方肇勤, 等. 二仙汤及其拆方对雌性大鼠垂体前叶细胞黄体生成素和卵泡刺激素的影响[J]. 中西医结合学报, 2007, 5(6): 665-669.
- [15] 艾浩, 张海英, 张玉立, 等. 二仙汤对顺铂损伤后小鼠卵巢功能调节作用研究[J]. 天津中医药, 2013, 30(5): 298-300.
- [16] 郑月慧, 吴忠华. 下丘脑促性腺激素释放激素及其类似物对卵巢的作用[J]. 生理科学进展, 1988, 19(1): 22-25.
- [17] 杨颖, 陈名道, 李凤英, 等. 二仙汤及其拆方对 GT_{L7} 细胞株 GnRH 分泌的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2001, 8(3): 143-145.
- [18] 陶仕英, 牛建昭, 杨美娟. 二仙汤及其组方中药对幼年大鼠卵巢形态学影响[J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(12): 1995-1998.
- [19] 方肇勤, 司富春, 张伯讷. 二仙汤及其拆方对老龄大鼠下丘 GnRH 基因转录与表达的调节作用[J]. 中国中医基础医学杂志, 1998, 4(1): 23-25.
- [20] 陈名道, 杨颖, 李凤英, 等. 二仙汤及其拆方对 GT_{L7} 细胞株 GnRH 基因转录和表达的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2002, (S1): 220-222.
- [21] 吴瑕, 李东晓, 邓文龙. 淫羊藿对生殖及内分泌系统的药理学研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(8): 223-227.
- [22] 黄菊, 罗丽莉, 傅玉才, 等. 淫羊藿对大鼠早期卵巢卵泡发育和卵母细胞凋亡影响的初步研究[J]. 中国现代医学杂志, 2007, 17(5): 523-527.
- [23] 蔡德培, 张伟. 补肾中药对下丘脑 GnRH、垂体 FSH、LH 及成骨细胞 BGP 基因表达的调节作用[J]. 中医杂志, 2002, 43(3): 221-223.
- [24] 伍娟娟, 林忠, 尤昭玲. 二仙汤对免疫性卵巢早衰模型小鼠免疫相关指标影响[J]. 山西中医, 2013, 29(7): 47-49.
- [25] 廖柏松, 胡燕, 鞠躬. 二仙汤对 18 月龄雌性大鼠下丘脑 EOP 含量及其 mRNA 水平作用的实验研究[J]. 山东中医学院学报, 1996, 20(6): 399-401.
- [26] 卢翠玲, 杨为巍, 胡召元, 等. 颗粒细胞的增殖分化及其在卵泡发育中的作用[J]. 科学通报, 2005, 50(21): 2341-2347.
- [27] 刘晴, 施建蓉, 杨颖, 等. 从二仙汤拆方对大鼠卵泡颗粒细胞分泌功能的影响探讨方剂组成原理[J]. 中国药理学杂志, 2005, 40(21): 1622-1625.
- [28] 董冰峰, 方肇勤, 施建蓉, 等. 二仙汤及其拆方对大鼠卵泡颗粒细胞分泌功能的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2006, (S1): 122-125.
- [29] 黄菊, 傅玉才, 许锦阶. 淫羊藿腹腔注射对新生大鼠卵巢发育的影响[J]. 热带医学杂志, 2010, 10(3): 269.
- [30] 袁婷, 高雅楠, 王任, 等. 二仙汤、二至丸和地黄煎对小鼠脾细胞和卵巢颗粒细胞的调节作用[J]. 上海中医药杂志, 2014, 48(10): 89-92.
- [31] 杜萍, 卢金福, 洪敏. 二仙汤对围绝经期综合征细胞模型的影响[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(9): 2083-2084.
- [32] 卢翠玲, 杨巍, 胡召元, 等. 颗粒细胞的增殖分化及其在卵泡发育中的作用[J]. 科学通报, 2005, 50(21): 2341-2347.

(收稿日期: 2016-05-24)

(本文编辑: 韩虹娟)