

动作电位各电参数增高($P < 0.05-0.001$), $BaCl_2$ 的阈浓度增高($P < 0.05$)。提示 V_E 对黄嘌呤和黄嘌呤氧化酶引起的培养心肌细胞氧自由基损伤具有保护作用。

参 考 文 献

- [1] 曹锡清, 1986, 生物化学与生物物理进展, 2: 17-23。
[2] 陈远等, 1987, 生物化学杂志, 3(2): 113-118。

- [3] Pascoe, Gary A, et al. 1987, *Eur. J. Biochem*, 166(1): 241-247。
[4] 苗智慧等, 1988, 生理科学, 8(3): 158-161。
[5] 时安云等, 1988, 中国病理生理杂志, 4(4): 250-254。
[6] 赵保路等, 1989, 生理科学, 9(4): 1-4。
[7] 江岩, 1989, 河北省医学院学报, 13: 31-37。
[8] 靳永刚等, 1989, 中国药理学与毒理学杂志, 3(2): 138-141。
[9] 方允中, 1989, 生理科学, 9(4): 5-9。

人胚心肌细胞心房利钠多肽的免疫电镜观察*

王 治 荣

(哈尔滨医科大学病理生理教研室)

M. Ghazizadeh、佐佐木喜廣、相原薰

(日本医科大学中央电子显微镜研究施設)

心肌细胞尤其心房肌细胞内含有特殊颗粒(Specific granules, SG)^[1-4]。由于此种SG的超微结构不同而分之A、B和D颗粒^[2-4, 11], 至于C型颗粒在早期文献中虽有描述, 但后来发现属溶酶体或残渣小体, 故已废弃不用。

1979年DeBold等^[5]提出SG的内含物起调节动物机体水容量和钠含量的作用。1984年美国的Currie^[6]和日本的Kanagawa^[7]实验室分别从大鼠和人心房组织中提取、分离、纯化出一类活性肽, 称为心房肽(atripeptins)。此类肽具有强烈的利尿、利钠和降血压作用, 也称为心钠素(cardionatrin)或心房利钠多肽(atrial natriuretic polypeptide, ANP)。

近年以放免法^[8]和免疫细胞化学方法^[4]证实一些动物和人心房肌细胞中确存在ANP。肾、唾液腺、脑和造血组织中也存在ANP^[9]。

贮存在心房肌细胞SG中的ANP为高分子量的前驱物(pro-ANP, 134个氨基酸组成的多肽), 在分泌或分泌后快速转变为由28个氨基酸组成的活性肽——ANP^[10]。

本文采用因妇产科指征而小剖腹取得的14

例人胚(3—4个月, 少数为2个月或6个月)心房和心室的超薄切片, 以免抗人ANP(α -hANP)血清和金标记的山羊抗兔IgG进行了免疫电镜观察。

材 料 和 方 法

用美国Peninsula实验室的人心房肽(α -hANP)经载体连接免疫家兔制得抗ANP血清(购自河北省医学科学院), 金标记的山羊抗兔IgG血清系东京市场上的销售品。

由小剖腹取得的14例3—4个月(少数为2或6个月)胎儿(取材时胎心仍在搏动)心房和心室, 经常规的2.5%戊二醛和1%锇酸双重固定, 系列丙酮脱水和Epon 812包埋。Reichert超切机超薄切片, 镍网捞取切片, 经过夜干燥切片后, 按下述步骤, 室温下在潮湿小室内进行免疫反应:

1. 10% H_2O_2 液滴内蚀刻10分钟, 使组织表面暴露出来, 以利于随后的结合反应。然后以PBS彻底清洗。
2. 正常山羊血清(1:20)15分钟, 以封闭非特异

* 本文受中国国家自然科学基金和WHO基金资助。

性免疫反应。

3. 抗 α -hANP血清(1:100) 2小时。
 4. PBS彻底冲洗。
 5. 金(10 nm直径)标记的山羊抗兔IgG(1:100) 1小时。
 6. PBS冲洗, 然后双蒸水冲洗至少1分钟。
 7. 双重电子染色, 分别为20和5分钟。
- 免疫反应对照组省略第3步骤第1抗体的处理。
用H-800透射电镜观察和拍照。

结 果

人胚心房肌细胞内含众多SG, 主要分布在核的两端(图版图2), 聚集成堆, 和高尔基器关系密切(图版图2和6)。也可散在于胞浆(图版图1), 有的SG分布在细胞膜附近或已外溢到细胞外(图版图7), 说明3个月人胚心房肌细胞已有分泌ANP的机能。

根据文献报道^[4,11,12], SG为高电子密度、大小不一的圆形或椭圆形结构。明显可见单位膜包裹、直径80—450 nm, 较大者为A型颗粒; 电子密度稍低而且核心和膜之间界限不清, 大小与A型颗粒近似者为B型颗粒; D型颗粒较小(直径40—60 nm)、数量较少(图版图4和5)。我们的所见和上述报道一致。

由免疫化学反应后未经电子染色的切片(图版图3)可见金颗粒密集于SG, 说明本文所用方法特异有效。对照组则未见金颗粒的特异密集现象。

文献报道^[11]A型颗粒的ANP免疫反应性最强即金颗粒最多。本文所见并不尽然, 有的A型颗粒免疫反应性强金颗粒较多(图版图4), 有的却很少(图版图5), 而且有的A型颗粒的电子密度不一定较其他型颗粒高(图版图5), 这可能和该SG的机能状态有关, 如已分泌排空或尚未合成储备的SG, 缺乏ANP免疫反应性是理所当然。有些B和D型颗粒的金颗粒也并不比A型颗粒少(图版图4和5)。

一般认为SG和高尔基器关系密切, 提示前者可能由后者芽生(budded)或装配而成^[11]。

从图版图6可见二者的关系密切, 而且A、B、D三型SG均可见于高尔基器附近, 高尔基器膜上也存在ANP免疫反应性。

6个月人胚心室肌细胞内仍可见SG, 不过数量较少(图版图8), ANP免疫反应性弱, 说明在个体发生过程中, 心室肌细胞逐渐丧失合成和分泌ANP的性质。

讨 论

免疫电镜细胞化学是一种在超微结构水平上对细胞内大分子物质进行定位和半定量的研究方法。包埋后技术(post-embedding technique)是在超薄切片上进行细胞化学或免疫反应, 不存在抗体等能否透入细胞内的问题, 而且还可同一切片上进行几种大分子物质的多重定位, 是一种比包埋前技术先进和优越的研究方法。本文采用包埋后技术即在超薄切片上进行ANP的免疫化学反应, 对人胚心室肌细胞内ANP的分布进行了观察。

迄今的有关ANP的免疫电镜研究多为对动物的比较研究, 或对临床心外科获得的个别患者心耳的观察, 尚未见对人胚心室肌细胞的系统研究。

本文对2—6个月胎儿心房和心室肌细胞的SG进行了较系统的ANP免疫电镜观察。它们主要分布在细胞核的两端, 和高尔基器关系密切, 也可散在于胞浆中。3个月胎儿心房肌细胞已有SG靠近细胞膜及溢出到细胞外的ANP分泌现象。

A、B、D三型SG内ANP的分布, 不一定如文献报道^[11]以A型SG内ANP最多, 各型SG内ANP分布的多与少, 可能和其机能状态有关。三型SG的关系如何, 尚待进一步研究。

众所周知, 成人心室肌细胞内不存在SG, 关于胎儿如何, 尚未见报道。本文观察到胎儿心室肌细胞内确含SG, 尽管数量较少。到了6个月胎龄时仍可见SG, 不过ANP免疫反应性很弱。说明在个体发生过程中, 胎儿心室肌

细胞合成和分泌 ANP 的机能已经退化。

摘 要

用包埋后免疫电镜方法对 14 例人胚心肌细胞内的 ANP 分布进行了观察。2 个月人胚心肌细胞内开始出现 SG, 3 个月人胚心房肌细胞的 SG 已可见 ANP 免疫反应性和分泌现象。6 个月人胚心室肌细胞内仍含少数 SG, 但 ANP 免疫反应性弱。A、B、D 三型 SG 内 ANP 的分布与其机能状态有关。

图 版 说 明

1. 3 个月人胚心房肌细胞的 SG 分布, $\times 7,000$ 。箭头示 SG, 散在于胞浆。
2. 3 月人胚心房肌细胞核一端的成堆 SG 和高尔基器关系密切, $\times 7,000$ 。箭头示成堆的 SG, G 为高尔基器。
3. 未经电子染色的 3 个月人胚心房肌细胞内 SG 对 ANP 免疫反应的特异性, $\times 50,000$ 。
4. 3 月人胚心房肌细胞内 A、B、D 型 SG 的 ANP 免疫反应性, $\times 50,000$ 。
5. 3 月人胚心房肌细胞 A、B 型 SG 的 ANP 免疫反应性, A 型 SG 的 ANP 免疫反应性不一定都比 B 型强, $\times 50,000$ 。
6. 3 月人胚心房肌细胞内 SG 与高尔基器(G)关系密切, $\times 30,000$ 。

7. 3 月人胚心室肌细胞内 SG 靠近细胞膜(箭头)或出到细胞外, 示分泌现象, $\times 20,000$ 。

8. 6 月人胚心室肌细胞内含少数 SG(箭头), $\times 5,000$ 。

参 考 文 献

- [1] Jamison J. D. and Palade G. E., 1964, *J. Cell Biology*, 23: 151—172.
- [2] Berger J. M. and Rona G., 1971, *Methods Achiev Exp. Pathol.*, 5: 540—590.
- [3] Cantin M. et al., 1979, *Anat. Rec.*, 193: 55—69.
- [4] Cantin M. et al., 1984, *Histochemistry*, 80: 113—127.
- [5] De Bold A. J. 1979, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 161: 508.
- [6] Currie M. G. et al., 1984, *Science*, 223: 67.
- [7] Kanagawa K. and Matsuo H., 1984, *Biochem. Biophysical Res. Communications*, 118: 131.
- [8] Gutkowska J. et al., 1986, *Fed. Proc.*, 45: 2101.
- [9] Jo Anne V Simson et al., 1989, *J. Histochem. Cytochem.*, 37(12): 1913—1917.
- [10] Kramer H. J. and Lichardus B., 1986, *Klin. Wochenschr.*, 64: 719—731.
- [11] Skepper J. N. et al., 1988, *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 20: 343—351.
- [12] 志村保雄等, 1989, *J. Clin. Electron Microscopy*, 22(1): 111—126.

异视黄酸对人肝癌细胞的诱导分化作用

夏明明* 陈惠黎* 蒋秉坤**

(上海医科大学生化教研室*

蚌埠医学院生化教研室**)

我们曾证明全反式视黄酸(又称维甲酸, RA)对人肝癌细胞株 SMMC-7721 诱导分化^[1-4]。目前 RA 的同分异构体 13-顺视黄酸(又称异视黄酸或异维甲酸 IRA)已由国内生产, 但 IRA 是否具有 RA 相似的促分化作用, 即 RA 的作用是否与 13 位双链的顺反异构有关则未见报道。本文以 γ -谷氨酰转肽酶(γ -

GT)和甲胎蛋白(AFP)以及酪氨酸 α -酮戊二酸

致谢: 上海第六制药厂赠送 IRA, 上海医科大学化学教研室汪迺经教授赠送生物素标记的羊抗兔 IgG 抗体和辣根过氧化物标记的亲合素, 上海医科大学生化教研室查锡良副教授赠送兔抗人 Fn 抗体, 特表谢意。

陈惠黎: 通讯作者。