

- munol.*, 51:303—306.
- [4] Weltman, J. K., et al., 1976, *J. Allergy*, 58:426—431.
- [5] Eriksson, N. E. & Ahlstedt, S., 1977, *Int. Archs. Allergy Appl. Immunol* 54:88—95.
- [6] Guesdon, J., 1978, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 61:23.
- [7] 周彤等。1981。中华微生物学和免疫学杂志, 1(1):48—53。
- [8] 宋济范等。1982。中华微生物学和免疫学杂志, 2:74—79。
- [9] Kelly, K. A., et al., 1980, *J. Immunol. Methods*, 39:317—333.
- [10] Liu, F. T., et al., 1980, *J. Immunol.*, 124:2728—2737.
- [11] 叶敏和季永镛。1981。上海免疫学杂志, 1(3):1—5。
- [12] Klein, J., 1982, in "Immunology, The Science of Self-Nonself Discrimination", P. 162.
- [13] Hill, P. N. & Lin F. T., 1981, *J. Immunological Methods*, 45:51—63.
- [14] 郑珊珊等。1984。中华微生物学和免疫学杂志, 4(1):50—54。

人体蜕膜分泌催乳素的研究*

吕淑霞 盛洁漪 周美云

(中国科学院上海细胞生物学研究所)

马魁榕

(中国科学院动物研究所)

胚泡种植于子宫内膜基质的一些哺乳动物, 子宫内膜的基质细胞都发生蜕膜化, 这些由基质细胞转化而来的蜕膜细胞能不断增生, 并一直维持至妊娠終了。对于它们在整个妊娠过程中的功能意义, 曾有一些评论^[1-3], 但是作为包被胚胎的一种组织, 蜕膜是否如滋养层组织那样分泌激素类物质, 直至1977年 Riddick 和 Kusmik^[4]在探讨妊娠妇女羊水中高浓度催乳素(PRL)的来源时, 才首先提出人体蜕膜细胞有合成 PRL 的功能。他们采用放射免疫技术比较了羊膜、绒毛膜和蜕膜孵育液中 PRL 的含量, 结果发现离体孵育 18 小时的过程中, 只有蜕膜组织仍能继续合成 PRL。随后, 他们以及另外一些学者用离体短期孵育的方法, 相继在妊娠晚期或分娩时^[5-8]以及妊娠 6 周以前^[9]的蜕膜组织孵育液中直接测到 PRL。最近, Hochner-Celnikier, D. 等(1984)^[10]还观察了早孕蜕膜在体外培养条件下 PRL 分泌量的变化。有关妊娠中期蜕膜分泌 PRL 的工作, 尚未见报道。

本文旨在检测经体外培养近一周的人体蜕膜细胞合成和分泌 PRL 的功能; 比较早孕和中孕蜕膜 PRL 的分泌量。为了了解早孕和中孕阶段蜕膜细胞发育程度与 PRL 分泌的关系, 我们还在亚显微结构水平观察了蜕膜细胞的变化。

材料和方法

材料取自临床上流产的新鲜蜕膜, 共 10 例, 孕龄 6—20 周, 其中早孕 5 例(6—12 周), 中孕 5 例(14—20 周)。采用旋转管培养方法。199 培养液含适量青、链霉素, 不加或加小牛血清。取到无菌新鲜蜕膜后, 经选择, 洗净凝血, 剪细(约 1 mm³ 大小), 定量接种于旋转管壁, 培养液(3 ml)直接加于管底, 旋转管先竖放于培养箱中约 3 小时, 待组织块完全贴壁后, 再插入旋转鼓中, 让组织块与培养液充分接触。培养 3—4 天更换培养液一次。一般在接种后约 5 天蜕膜细胞生长旺盛时分组实验, 24 小时后从每个旋转管收集培养液, 低温保存, 备放射免疫测定用。

* 本实验得到 WHO 的小额资助, 特此致谢。
刘爱华同志参加部分工作。

放射免疫测定方法,按世界卫生组织生殖生理放射免疫测定方法手册规定的步序进行^[11],¹²⁵碘标记的PRL用FT-603井型γ闪烁探头计数器读数,标准曲线和培养液中的浓度以Logit作图法计算。

实验分为四组:

I. 培养液组,仅含199培养液和适量青、链霉素;

II. 蜕膜培养组,培养液中加蜕膜组织,接种蜕膜的量为每管20±2mg;

III. 小牛血清组,蜕膜培养液中加小牛血清(20%);

IV. 放线菌酮组,含小牛血清的蜕膜培养液中加放线菌酮(50μg/ml培养液)。

以上设计主要为了有利于相邻两组间单一因素的比较。

亚显微结构取材,考虑到新鲜蜕膜更能反映整体状态相应孕龄蜕膜的功能,因此我们直接取用妊娠一个半月、两个月和三个半月的新鲜蜕膜进行比较,每组各2—3例,每例尽可能多部位取材。材料按超薄切片常规制片,戊二醛和锇酸双固定,Epon 812混合液包埋,LKB超薄切片机制片,醋酸铀和柠檬酸铅双重染色。JEM 100 B透射电镜观察。

实验结果

一、蜕膜培养液中PRL的测定

放射免疫测定了10例人体蜕膜培养液中PRL的含量,每组各例的平均数经统计学方差分析(对数转换)F检验,结果详表1。

表1 各组PRL平均数的比较(mIU/L)

组别	组 I (n=10)	组 II (n=10)	组 III (n=10)	组 IV (n=10)
平均数	380	15731	39675	3904.5
标准误	157.2	4356.8	10832.4	1020.9
P	<0.01	>0.05	<0.01	

培养液组与蜕膜培养组比较,PRL量的比值增加41.40倍(P<0.01)。蜕膜培养中加入小牛血清后,又增加2.52倍(P>0.05),虽然两组差别无统计学意义,但是如以培养液组直接与加小牛血清组比较,比值增加104倍(P<0.01),有非常显著的差别。小牛血清组培养液

中加入放线菌酮后,蜕膜细胞PRL的分泌量则明显下降,比值降低10.16倍(P<0.01)。

二、早孕蜕膜和中孕蜕膜PRL量的比较

将以上10例中的5例早孕蜕膜和5例中孕蜕膜分别进行比较(图1)。各组PRL平均数变化的趋势也与上述结果一致,即培养液中加入蜕膜组织培养后PRL分泌明显增加,加入小牛血清后进一步升高,而且在添加放线菌酮后,PRL的分泌受到显著抑制,相邻两组之间的差异,除组II和组III以外,均有统计学意义(P<0.01);然而,中孕蜕膜PRL的平均数却明显地高于早孕蜕膜的平均数。

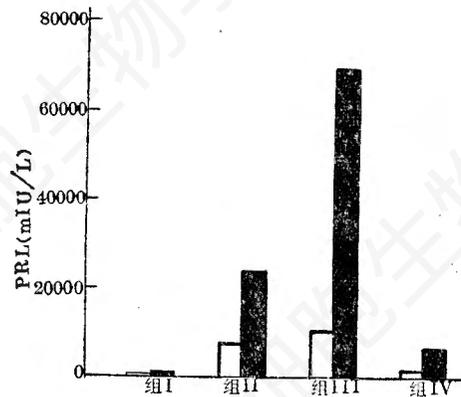


图1 早孕与中孕各组PRL平均数比较

□早孕 n=5 ■中孕 n=5

我们再取用组II为材料,进行早孕蜕膜和中孕蜕膜PRL量的比较,结果见表2和图1。统计学处理采用对数转换和t检验。

表2 早孕和中孕PRL平均数的比较(mIU/L)

孕 期	早孕(妊娠天数)	中孕(妊娠天数)
测定值	960 (37)	49000 (100)
	4700 (53)	28000 (102)
	13000 (60)	14650 (103)
	14000 (64)	12250 (120)
	6500 (82)	14250 (135)
平均数±标准误 (n=5)	7832±2485.6	23630±6931.3
P	<0.05	

从5例早孕蜕膜的测定值看均较低,以平均数计为 7832 ± 2485.6 (mIU/L);中孕5例除1例稍低于早孕的最高值以外,普遍高于早孕,平均数达 23630 ± 6931.3 (mIU/L)。两者的比值相差3.02倍($P < 0.05$),有显著的差别。

从测定值的比较中,值得提出的是早孕的前二例明显地低于两个月以上孕龄的各例。

三、亚显微结构的变化

从比较一个半月、两个月和三个半月的蜕膜材料中可见,妊娠一个半月的蜕膜细胞,主要为中等大小的细胞,近于圆形。属于发育中的蜕膜细胞;细胞间隙中充满无定形基质;细胞核比例较大,线粒体和粗面内质网较少,高尔基体主含扁平囊泡和小囊泡,质膜局部增厚,有外倾和内吞的囊泡分布(图版,图1);大的蜕膜细胞少见。两个月的材料中,则出现较多发育得很好的大蜕膜细胞,它们具备了典型的蜕膜细胞的亚显微结构,由于细胞质增多,核比例较小;显示了活跃的分泌活动:高尔基体发育良好,含有较大囊泡;粗面内质网,核糖体和棒状线粒体明显增加(图版,图2);质膜处有很多外倾和内吞的囊泡,有的囊泡内含包涵体,不少囊泡已与细胞分离,落入细胞间质中。细胞间质中除无定形基质外,还有纤维状物质沉积(图版,图3)。三个半月的蜕膜细胞的亚显微结构基本上与两个月的材料相同(图版,图4)。

以上活跃分泌的蜕膜细胞与 Tekelioglu-Ugsal 等^[12]所描述的妊娠蜕膜中的大细胞的形态特点大体相同。早孕期两个月以上孕龄的三例蜕膜 PRL 分泌量明显地高于不到两个月的两例,似乎与大蜕膜细胞的增多有直接关系。三个半月的蜕膜组织中 PRL 的分泌量继续升高,虽然本实验未能作出准确的量的比较,但是仍可能与这类蜕膜细胞数量的进一步增加有关。

讨 论

10例妊娠蜕膜体外培养的结果说明,蜕膜

细胞是培养液中 PRL 的来源,因为培养液中存在蜕膜细胞时, PRL 的含量比单纯培养液中增加 41.40 倍,而培养液中加入蛋白合成抑制剂放线菌酮后 PRL 的分泌量明显下降,升高和下降的比值均具有非常显著的统计学意义。此外,体外培养近一周的人体蜕膜细胞,在没有外源卵巢甾体激素的条件下,仍能保持着合成和分泌 PRL 的能力,提示人体蜕膜细胞所具有的这一功能是相当稳定的。至于蜕膜来源的 PRL 与垂体来源的 PRL 有无区别的问题, Frame 等^[13]和 Tomita^[14]采用凝胶层析、免疫吸附以及生物鉴定等技术证明蜕膜分泌的 PRL 与垂体分泌的 PRL 一些化学特性和生物学特性无区别。然而 Golander 等^[6]指出两者的调控机制却不同,因为抑制或促进垂体分泌 PRL 的物质,如溴隐亭、多巴胺和 TRH 等对于离体孵育蜕膜 PRL 的分泌并无影响。结合这些实验结果,可以认为蜕膜确是存在于垂体以外合成和分泌 PRL 的一个独立系统。

对于妊娠过程蜕膜分泌 PRL 量的变化, Maslar 等指出,妊娠不到6周的蜕膜组织 PRL 的分泌量比较低。同一实验室的 Rosenberg 等^[6]则测定了妊娠晚期(23—42周)蜕膜和羊水中 PRL 的含量,结果提示妊娠23周,蜕膜分泌 PRL 的量为最高,以后逐渐下降,至分娩时达最低值。我们所用的材料为妊娠6—20周的蜕膜组织,正处于妊娠早期和妊娠中期,虽然我们与以上学者所使用的体外孵育方法和放射免疫测定的定量单位不尽相同,数据难于直接比较,但是从我们的实验结果可见自妊娠早期到妊娠中期,蜕膜细胞 PRL 的分泌量明显增加。联系 Maslar 等^[9]和 Rosenberg 等^[6]的结果,可以认为人体蜕膜分泌 PRL 的量在妊娠初期较低,此后逐渐升高,至妊娠晚期再趋下降。这与母体和胚胎血循环中 PRL 水平在整个妊娠过程中持续上升的变化规律不相一致,而与妊娠期间羊水中 PRL 量的变化大致相符^[15]。

至于蜕膜分泌 PRL 在妊娠中的意义,至今仍不很清楚。曾认为它有调节羊水渗透压的作

用^[7]；还可能有助黄体的功能，因为蜕膜化与大鼠孕酮水平的升高和免黄体寿命的延长相伴随^[16]。此问题的阐明尚有待于进一步的工作。

参 考 文 献

- [1] Finn, C. A., 1971. in "Advances in reproductive physiology". Marcus, W. H. ed., vol. 5, pp. 1—26, Logos, London.
- [2] Finn, C. A., 1977. in "Biology of the uterus". Wynn, R. M. ed., pp. 246—294, Plenum, N. Y.
- [3] O'Grady, J. E. & Bell, S. C., 1977. in "Development in mammalian". Johnson, M. H. ed., vol. 1, pp. 165—228, Amsterdam, North-Holland.
- [4] Riddick, D. H. & Kusmik, W. F., 1977. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 127, 167—190.
- [5] Rosenberg, S. M., Maslar, I. A. & Riddick, D. H., 1980. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 138, 681—685.
- [6] Golander, A., Barrett, J., Hurby, T., Barry, S. & Handeverger, S. H., 1979. *J. Clin. Endocr. Metab.* 49, 787—789.
- [7] Healy, D. L., Burger, H. G. & Müller, H. K., 1978. *Molecul. Cellu. Endocr.* 11, 1—6.
- [8] Bigazzi, M., Pollicino, G. & Nardi, E., 1979. *J. Clin. Endocr. Metab.* 49, 847—850.
- [9] Maslar, I. A., Kaplan, B. M., Luciano, A. A. & Riddick, D. H., 1980. *J. Clin. Endocr. Metab.* 51, 78—83.
- [10] Hochner-Celnikier, D., Ron, M., Eldor, A., Segal, S., Palti, Z., Fuks, Z. & Vlodavsky, I., 1984. *Biol. Reprod.* 31, 827—836.
- [11] WHO, 1980. Method manual 4th ed., WHO, Geneva.
- [12] Tekelioglu-Ugsal, M., Edwards, R. G. & Kisnisci, H. A., 1975. *J. Reprod. Fert.* 42, 431—438.
- [13] Frame, L., Royol, A., Riddick, D. H. & Baczynski, E., 1979. *Fertil. Steril.* 3, 647—650.
- [14] Tomita, K., McCoshen, J. A., Fernandez, C. S. & Tyson, J. B. 1982. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 142, 420—426.
- [15] Belisle, S. & Tulchinsky, D., 1980. in "Maternal-fetal endocrinology". Tulchinsky, D. & Ryan, K. J. eds., pp. 181—182, Saunders, Philadelphia.
- [16] Edwards, R. G., 1981. in "Research in reproduction" pp. 1—2, IPPF, London.

ATP-MgCl₂ 对体外培养心肌细胞的影响及组织化学观察

姜玉顺* 金基煥** 李松竹*** 崔苍海** 金青松*

(延边医学院组织胚胎教研室)

近二十多年来，国外对肝、肾、胆囊、巨噬细胞系统等组织和细胞处于缺血或缺氧时供能问题进行了广泛的研究，并取得了很多成果^[1,2]。但能源复合物 ATP-MgCl₂ 对心肌细胞有何影响，尚未见报道。

我们用大白鼠乳鼠心肌细胞，原代单层培养进行了实验，探讨 ATP-MgCl₂ 对心肌细胞的影响。

材 料 与 方 法

大白鼠乳鼠心肌细胞按五岛喜与太^[3]的方法培养。

1. 给 ATP-MgCl₂ 的方法 取搏动频率不同的心肌细胞簇，在 37℃ 恒温条件下倒置显微镜下用内径 0.8 mm 硅橡胶管连接 7 号注射针，以不同速度(1 滴/分)将 1.15% ATP-MgCl₂ 溶液滴入 4 ml 的心肌细胞培养液中，每滴 ATP-MgCl₂ 含 ATP 2 Na·3 H₂O 82.14 μg, MgCl₂·6 H₂O 27.5 μg。录象及光电描记记录心肌细胞的反应。

2. ATP-MgCl₂ 对心肌细胞组织化学的影响 培养 5~14 天的心肌细胞每隔 3 天更换培养液者为正常

* 延边医学院组织胚胎教研室。

** 延边医学院附属医院胸外科。

*** 延边医学院制药厂。

注：本文由赵秉勋副教授审阅，谨致谢意。