

天花粉对妊娠大鼠子宫中孕酮、孕酮受体和前列腺素含量的影响

褚云鸿 赵志芳

(上海第一医学院 药理教研室)

提要 天花粉对大鼠有抗早孕作用, 使妊娠大鼠血浆孕酮浓度, 子宫中孕酮和孕酮受体的含量下降, 子宫中的 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 含量增高, 同时增敏子宫对 $15\text{-Me-PGF}_{2\alpha}$ 和催产素的反应性, 消炎痛能抑制离体妊娠子宫自发收缩活动, 但并不抑制天花粉增敏子宫对 $15\text{-Me-PGF}_{2\alpha}$ 和催产素反应性的作用, 实验结果提示天花粉促进子宫 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 的含量增加和增敏子宫对催产物质的反应性是它增加妊娠子宫自发收缩活动的重要机制, 而天花粉的上述作用又可能与它使子宫中孕酮和孕酮受体下降有关

关键词 天花粉; 孕酮; 孕酮受体; 前列腺素 $\text{F}_{2\alpha}$; 15-甲基前列腺素 $\text{F}_{2\alpha}$

天花粉用于中期妊娠, 可使胎儿死亡并发动宫缩促使胎儿排出, 与 15-甲基前列腺素 $\text{F}_{2\alpha}$ ($15\text{-Me-PGF}_{2\alpha}$) 合用也能终止早孕。动物实验观察到天花粉能增强假孕和妊娠兔子宫的自发收缩活动^(1,2)。已知血浆孕酮浓度、子宫中孕酮和孕酮受体、前列腺素 $\text{F}_{2\alpha}$ ($\text{PGF}_{2\alpha}$) 都是调节子宫活动的重要因素, 天花粉对假孕兔血浆孕酮浓度无明显影响, 使子宫胞质液孕酮受体 (RcP) 和核孕酮受体 (RnP) 降低。本工作观察天花粉对妊娠大鼠血浆孕酮浓度、子宫中孕酮和 RcP 和 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 含量的影响, 并分析这些影响与天花粉增强子宫活动的关系。

材 料 和 方 法

实验用成熟大鼠, 雌雄为 2:1 合笼, 每晨作阴道涂片检查, 以发现精子为妊娠第 1 天, 于妊娠 7~9 天, 对照组用生理盐水 im, 1 ml/kg, qd, 给药组以天花粉(上海生化药厂出品, 生理盐水溶解) im, 3 mg/kg, qd, 于妊娠第 10 天将大鼠断头放血处死, 立即打开腹腔, 观察子宫内胎鼠情况, 取血液和子宫进行下列测定。

(一) 子宫组织和血浆中孕酮含量测定

剪取一段子宫角, 剔除胎鼠胎盘, 称重, 用 1 N NaOH 生理盐水 (1:4 w/v) 制成匀浆, 匀浆用乙醚提取。血液用肝素抗凝, 离心得血浆, 血浆用重蒸石油醚提取, 提取液均在 45°C 减压抽干, 孕酮以放射免疫法测定⁽³⁾, 以 11α -羟孕酮琥珀酸酐牛血清蛋白为抗原对兔进行免疫, 抗血清最终稀释度为 1:7500。

(二) 子宫胞质液孕酮受体测定

全部操作在 0~4°C 下进行, 剪取一段子宫角, 剔除胎鼠胎盘, 称重, 按 1:4 w/v 加入缓冲液 A (Tris-HCl 20 mM, MgCl_2 1 mM, 二巯基乙醇 1 mM 蔗糖 250 mM, NaN_3 0.01%, pH 7.8) 制成匀浆, 离心 $800 \times g$ 10 min, 倒出上清液, 用缓冲液 B (Tris-HCl 20 mM, EDTA-Na 3 mM, 二巯基乙醇 1 mM, NaN_3 0.01% pH 7.8 1:1 稀释后超速离心 $105000 \times g$, 60 min 所

得上清液即胞质液,按 Bayaed 等方法测定 RcP⁽⁴⁾。

(三)PGF_{2α} 测定

剪取一段子宫角置于 CO₂ 干冰中冷冻,剔去胎鼠胎盘,浸入盛有无水乙醇的匀浆管中制成匀浆,在 4 °C 下离心 800 g × 10 min 分离出乙醇,再用无水乙醇提取 1 次,2 次的乙醇合并,取适量乙醇提取液于试管中减压抽干,以下测定步骤包括层析、分样、放射免疫测定和所用各种试剂的处理,均按中国科学院动物所报道 PGF_{2α} 放射免疫测定方法⁽⁵⁾,PGF_{2α} 放射免疫药盒也由该所提供。[³H]PGF_{2α} 回收率为 87% ± 2 (n = 12)。

(四)蛋白测定

子宫匀浆或胞质液蛋白含量按 Lowry 法测定。

(五)离体子宫肌条对 15-Me-PCF_{2α} 和催产素的剂量反应曲线

取子宫角 1 cm,纵向剖开,剔除胚胎,悬吊于含 10 ml 克氏营养液浴槽中,水浴 32 °C,持续通入 CO₂ 5%,O₂ 95% 负荷 2 g,子宫肌条等张收缩通过张力换能器描记于自动平衡记录仪上,先记录子宫自发收缩,换用含消炎痛 50 μg/ml 的克氏液,每 10 min 换营养液 1 次共 3 次,待子宫自发活动消失,基线平稳后,加入 15-Me-PGF_{2α} 或催产素,浓度按等比级数递增,以子宫平滑肌张力增加量为纵座标,对数剂量为横座标作剂量反应曲线。

结 果

终止妊娠 对照组 7 只大鼠全部妊娠,子宫中有活胎数为 10 ± 2 只($\bar{X} \pm SD$),天花粉组 9 只大鼠中有 3 只已流产,其余 6 只动物子宫中有胎鼠 11 ± 1 只(1 只大鼠子宫中胎盘呈紫色、胎鼠已死),说明天花粉具有抗早孕作用,部分动物妊娠终止。

对血浆孕酮、子宫组织孕酮、孕酮受体和 PGF_{2α} 等含量的影响 在天花粉组中 3 只完全流产鼠子宫及血浆测得上述各项指标的数值均甚低,可能与流产后子宫中胚胎已不存在有关,故未统计入结果中,其余实验动物的结果见表 1,从表中可见(表中各项数值均为 $\bar{X} \pm SD$),

Tab 1. Effect of Radix Trichosanthis on cytosol progesterone receptor, PGF_{2α}, plasma and uterine progesterone concentration of pregnant rats($\bar{X} \pm SD$)

Treatment	Plasma progesterone ng/ml	Uterine		
		Progesterone ng/mg protein	RcP fmol/mg protein	PGF _{2α} pg/mg protein
Control(n=7)	68 ± 10	2.1 ± 0.7	1732 ± 1164	354 ± 98
Radix Trichosanthis(n=6)	41 ± 19*	1.1 ± 0.4*	584 ± 279*	555 ± 111*

* P < 0.05

1. 血浆和子宫孕酮浓度 大鼠妊娠第 10 天血浆孕酮浓度,对照组和天花粉组分别为 68 ± 10 和 41 ± 19 ng/ml,两组间有显著差别(P < 0.05),子宫组织中孕酮含量对照组和天花粉组分别为 2.1 ± 0.7 和 1.1 ± 0.4 ng/mg 蛋白,天花粉组比对照组明显为低(P < 0.05),以上结果表明天花粉能使妊娠大鼠血浆和子宫组织中孕酮含量降低。

2. 子宫 RcP 大鼠妊娠第 10 天子宫中 RcP 含量,对照组为 1732 ± 1164 fmol/mg 蛋白,天花粉组为 584 ± 279 fmol/mg 蛋白,后者比前者明显为低(P < 0.05),说明经天花粉处理

后使大鼠妊娠子宫 RcP 下降。

3. 子宫 PGF_{2α} 含量 妊娠第 10 天对照组大鼠子宫组织中 PGF_{2α} 含量为 354 ± 98 pg/mg 蛋白, 天花粉组为 555 ± 111 pg/mg 蛋白, 二组间有显著差别, 表明天花粉能使妊娠大鼠子宫中的 PGF_{2α} 含量增高。

子宫平滑肌对 15-Me-PGF_{2α} 的剂量反应曲线 在含消炎痛的营养液中, 不论是否经天花粉处理, 子宫的自发收缩均受到抑制, 15-Me-PGF_{2α} 使子宫张力增加, 而张力增加的程度, 随 15-Me-PGF_{2α} 浓度增加而递增。经天花粉处理后的子宫对 15-Me-PGF_{2α} 增高张力的阈剂量与对照组相比没有明显差别, 但浓度增加到 10⁻⁷ 和 3 × 10⁻⁷ M 时天花粉组的反应明显比对照组高, 当浓度增加到 10⁻⁶ 和 3 × 10⁻⁶ M 时, 二组间差别非常显著, 以上结果说明经天花粉处理后, 子宫对 15-Me-PGF_{2α} 的反应更为敏感(见图 1 A)。

子宫平滑肌对催产素的剂量反应曲线 换入含消炎痛的克氏液后, 子宫自发收缩消失, 基线平稳, 然后加入催产素可使子宫平滑肌张力增高, 平滑肌张力增高的程度与催产素的剂量相关, 经天花粉处理过的子宫对催产素引起兴奋的阈剂量与对照组无明显差异, 当催产素浓度为 3 × 10⁻⁵ ~ 3 × 10⁻³ U 时天花粉组子宫张力增高的程度明显大于对照组, 这说明天花粉能增强妊娠大鼠子宫对催产素的反应性(图 1 B)。

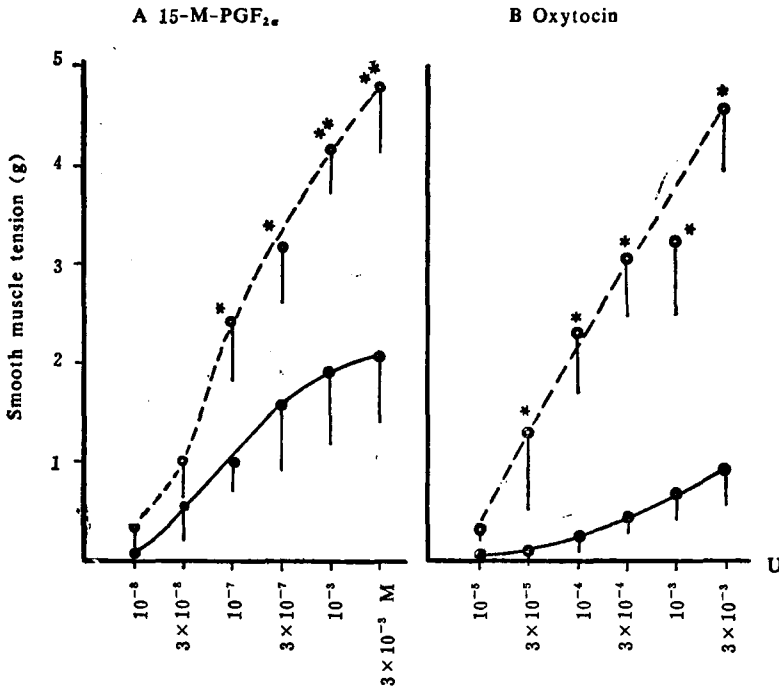


Fig 1. Dose-response curve to 15-Methyl-prostaglandin F_{2α} and oxytocin in smooth muscle of pregnant rat uteri in Kreb's slution containing Indomethacin 50 μg/ml. —●— Group of control; - - -○- - Group of Radix trichosanthis; * P < 0.05; ** P < 0.01

讨 论

临床上用天花粉引产, 孕酮在血中浓度于用药后 24 h 始见下降, 妊娠大鼠注射天花粉后血浆孕酮浓度也见降低, 天花粉对假孕兔没有使血浆孕酮浓度下降的作用, 说明天花粉使妊娠动物血浆孕酮下降可能是继发于胎鼠胎盘损伤所致。血液中孕酮可以分布到子宫, 本实

验所见天花粉使子宫组织中孕酮含量减少可能与血浆孕酮下降有关。Csapo 认为胎盘合成的孕酮可以直接弥散到子宫, 发挥局部效应⁽⁶⁾, 天花粉使胎盘受损, 这一作用可能也影响孕酮在子宫中的含量。

子宫中 RcP 的含量受血浆孕酮和子宫中孕酮水平的调节, 二者与子宫中 RcP 含量呈负相关⁽⁷⁾。天花粉使妊娠大鼠血浆和子宫中孕酮量均降低, 而子宫中 RcP 含量不仅不增高反见明显下降, 表明这可能是天花粉的直接作用而不是通过影响血中孕酮水平而达到的。

临床应用天花粉引产期间测到羊水中 PGF_{2α} 含量显著增高⁽⁸⁾, 本实验结果也显示经天花粉处理后大鼠妊娠子宫中 PGF_{2α} 含量明显增加, 支持天花粉能增加妊娠子宫 PGF_{2α} 合成的观点。子宫内膜和胎盘是合成前列腺素的主要部位, 子宫中孕酮和胚胎对前列腺素合成起抑制作用⁽⁹⁾, 天花粉损伤胎儿胎盘降低子宫组织中孕酮含量, 可能在它促进 PGF_{2α} 合成中起重要作用。内源性前列腺素是引起子宫收缩的重要因素, 天花粉使大鼠妊娠子宫 PGF_{2α} 含量增加, 支持内源性前列腺素增加是天花粉发动宫缩的机制的假说。

消炎痛是前列腺素合成抑制剂, 能明显抑制离体大鼠子宫内前列腺素的合成⁽¹⁰⁾, 妊娠大鼠子宫在含消炎痛的营养液中, 因前列腺素合成受到抑制故自发收缩消失, 在该条件下经天花粉处理后仍能增强子宫对 15-Me-PGF_{2α} 和催产素的反应性, 说明天花粉的这一作用不是依赖于它增加子宫内前列腺素的含量而达到的。天花粉增敏妊娠子宫对催产物质的反应性可能是天花粉发动宫缩的另一机制。本实验也观察到催产素在应用消炎痛的条件下仍能使妊娠大鼠子宫张力增加, 与 Roberts⁽¹¹⁾的结果相符, 支持催产素兴奋子宫平滑肌的作用未必是通过前列腺素为媒介的观点。

众所周知甾体激素的作用与靶组织中受体含量有关。束怀德等报道天花粉增加妊娠兔在位子宫对催产物质的敏感性, 该作用可被甲地孕酮拮抗⁽¹⁾。本实验观察到天花粉使妊娠大鼠血浆孕酮浓度和子宫 RcP 含量下降, 此时子宫对催产物质的敏感性增高, 二者之间似乎有一定关系。我们曾观察到天花粉使假孕兔子宫中 R-P 下降而血浆孕酮浓度不下降, 子宫自发收缩和对催产物质的反应性也增加, 提示在几种因素中子宫中孕酮受体水平在子宫活动的调节中似乎占重要位置。

参 考 文 献

1. 束怀德等. 注射用天花粉对早孕兔子宫收缩作用. 生理学报 1979;31:21.
2. 褚云鸿等. 注射用天花粉对假孕兔子宫的作用. 上海第一医学院学报 1982;9:291.
3. Thornycroft LH, et al. Radioimmunoassay of serum progesterone in women receiving oral contraceptive steroid. *Contraception* 1972;5:129.
4. Rayard F, et al. Cytoplasmic and nuclear estradiol and progesterone receptor in human endometrium. *J Clin Endocrinol Metab* 1978;46:635.
5. 北京前列腺素放射免疫协作组. 前列腺素放射免疫测定. 动物学报 1979;25:114.
6. Csapo AI. Function and regulation of the myometrium. *Ann NY Acad Sci* 1959;75:790.
7. Kontula K. Progesterone-binding protein in human myometrium. Binding site concentration in regulation to endogenous progesterone and estradiol-17 β levels. *J Steroid Biochem* 1975;6:1555.
8. 王益夫等. 天花粉及利凡诺中期引产时血浆和羊水中前列腺素 E 和 F_{2α} 的变化. 生殖与避孕 1981;1:29.
9. Williams KI. Inhibition of uterine motility: the possible role of the prostaglandins and aspirin like drugs. *Pharmacol Therap* 1975;1:89.
10. Flower RJ. Drugs which inhibit prostaglandin biosynthesis. *Pharmacol Rev* 1974;26:33.
11. Roberts JS and McCracken JA. Does prostaglandin F_{2α} released from the uterus by oxytocin mediate the oxytocic action of oxytocin. *Biol Reprod* 1976;15:457.

EFFECT OF TRICHOSANTHIN ON PROGESTERONE, PROGESTERONE RECEPTOR AND PROSTAGLANDIN $F_{2\alpha}$ LEVEL OF PREGNANT RAT UTERI

CHU Yun-Hong and ZHAO Zhi-Fang

(Department of Pharmacology, Shanghai First Medical College)

ABSTRACT Trichosanthin given im to pregnant rats decreased the plasma progesterone concentration and the level of progesterone and cytosol progesterone receptor in uteri and increased the content of uterine $PGF_{2\alpha}$. When the dose response in smooth muscle of pregnant rat uteri was studied after im injection of trichosanthin, the response to 15-Me- $PGF_{2\alpha}$ and oxytocin was enhanced significantly.

Based upon the above experiments it is suggested that: (1) As a result of the deleterious action of trichosanthin on placenta, the $PGF_{2\alpha}$ content of the uterine tissue was increased. (2) The increase of uterine content of $PGF_{2\alpha}$ and response to 15-Me- $PGF_{2\alpha}$ and oxytocin are related to the decrease of plasma progesterone concentration and the level of uterine progesterone and cytosol progesterone receptor.

Key words Trichosanthin; Progesterone; Progesterone receptor; Prostaglandin $F_{2\alpha}$; 15-Me- $PGF_{2\alpha}$