

研究简报

hCG 和 LHRH - A 对人早孕和孕终末期胎盘绒毛分泌孕酮作用的体外研究

朱宝亭 褚云鸿

(上海医科大学基础医学部药理教研室, 上海 200032)

在妊娠的不同时期, 胎盘中黄体生成素释放激素 (LHRH) 的含量不同⁽¹⁾。离体培养的绒毛组织实验也发现, 相同剂量的外源性 LHRH 对妊娠中期和终末期胎盘绒毛组织分泌 hCG 和孕酮作用强度也不同⁽²⁾。本实验室曾发现⁽³⁾, LHRH 类似物 (LHRH - A) 对体外培养孕早期 (10 ~ 12 周) 和孕终末期 (38 ~ 40 周) 绒毛组织分泌 hCG 均有兴奋作用, 但对分泌孕酮的作用不同, 即 LHRH - A 对早孕绒毛分泌孕酮有抑制作用, 而对终末期分泌孕酮起兴奋作用。此作用不同的机理目前还不清楚。本文观察了 hCG 对人早孕和孕终末期绒毛组织分泌孕酮作用, 以及 LHRH - A 对有无 hCG 存在时两种绒毛组织分泌孕酮的影响。

材料和方 法

试剂 RPMI 1640 粉剂, 日本东京株式会社产品; 胶原酶 (I 型, 350 IU/mg)、胰蛋白酶、谷氨酰胺、孕酮标准品均为 Sigma 产品; 孕酮抗血清, 本室自制, 最终稀释度为 1:25000; 标记孕酮 (1, 2, 6, 7-³H-孕酮, 比活性 2.33×10^{12} Bq/mmol, 中科院上海生化所提供; 兔抗 hCG IgG 由本校基础化学教研室汪迺径教授赠送; LHRH - A ([D-Ala^b, Des-Gly¹⁰EA]-LHRH) 为宁波激素厂产品。

人胎盘组织细胞悬液的制备⁽⁴⁾ 妊娠 10 ~ 12 周和孕终末期胎盘组织, 分别取自无生殖内分泌异常的人流手术和足月分娩的妇女。酶的消化过程为: 先加 10 倍于被消化组织体积的胶原酶 (2 mg/ml) 消化 0.5h; 再加一半胶原酶体积量的 EDTA-胰蛋白酶消化液消化 0.5h。

孕酮的放射免疫测定⁽⁵⁾ 所用抗体最终稀释度为 1:25000。标准曲线线性范围为 125 ~ 4000 pg。批间变异系数为 8 ~ 10%, 批内变异系数为 1.1 ~ 2.5%。

结 果

一、hCG 对早孕绒毛细胞分泌孕酮的影响及 LHRH - A 对 hCG 诱导和不依赖 hCG 的早孕绒毛细胞分泌孕酮的影响

体外培养的人早孕绒毛细胞在外源性 hCG 作用下可分泌孕酮。当外源 hCG 浓度分别为 10, 100, 1000 mIU/ml 时, 孕酮分泌量均超过无外源性 hCG 时的基础分泌, 且随 hCG

浓度增加而增加。当加入 $5 \mu\text{g/ml}$ LHRH-A 后, 不同浓度的外源性 hCG 所刺激的孕酮分泌及基础分泌(外源性 hCG=0 时) 均受到明显抑制。LHRH-A 抑制孕酮的基础分泌作用可被外源性 hCG 所拮抗。在不加外源性 hCG 的情况下, 加足量的兔抗人 hCGIgG 以中和内源性的 hCG, 则不依赖 hCG 的孕酮分泌较基础分泌明显降低; 若再加入 $5 \mu\text{g/ml}$ LHRH-A, 则孕酮的分泌趋近消失。结果均见表 1。

Tab 1. Effects of hCG on progesterone secretion and LHRH-A on hCG - in dependent and - dependent progesterone secretion by placenta villi cells of early gestation

Group (n=5)	Progesterone secretion (folds of basal secretion)					
	Anti-hCG IgG added	Exogenous hCG added (mIU/ml)				
		0	10	100	1000	
Control	Mean	0.47 ^a	1.00	2.31	2.61	5.88
	±SD	0.06	0.09	0.68	0.37	1.41
LHRH-A $5 \mu\text{g/ml}$	Mean	0.05 ^b	0.13 ^b	0.74 ^b	1.12 ^b	2.07 ^{b, c}
	±SD		0.02	0.13	0.07	0.29

a: $P < 0.01$, in comparison with the basal progesterone secretion (without exogenous hCG and LHRH-A);
b: $P < 0.01$, in comparison with the control (with the same concentration of exogenous hCG, without LHRH-A); c: $P < 0.01$, in comparison with the basal progesterone secretion.

二. hCG 对孕终末期绒毛细胞分泌孕酮的影响及 LHRH-A 对 hCG 诱导和不依赖 hCG 的终末期绒毛细胞分泌孕酮的影响

体外培养的终末期绒毛细胞在外源性 hCG 作用下可分泌孕酮。当外源性 hCG 浓度分别为 10, 100, 1000 mIU/ml 时, 孕酮的分泌量均超过无外源性 hCG 时的基础分泌, 但只有当外源性 hCG 的浓度为 1000 mIU/ml 时, 对孕酮的分泌才有明显的兴奋作用 ($P < 0.05$)。当加入 $10 \mu\text{g/ml}$ 的 LHRH-A 后, 对不同浓度的外源性 hCG 所刺激的孕酮分泌及基础分泌均有一定的兴奋作用, 但无统计学意义。在未加外源性 hCG 的情况下, 加足量的兔抗人 hCGIgG 以中和内源性 hCG, 可使孕酮的分泌较基础分泌有所降低, 但无统计学意义; 若再加入 $10 \mu\text{g/ml}$ 的 LHRH-A 后, 对孕酮的分泌无明显影响。结果均见表 2。

Tab 2. Effects of hCG on progesterone secretion and LHRH-A on hCG - independent and - dependent progesterone secretion by placenta villi cells of term gestation

Group (n=5)	Progesterone secretion (folds of basal secretion)					
	Anti-hCG IgG added	Exogenous hCG added (mIU/ml)				
		0	10	100	1000	
Control	Mean	0.39	1.00	1.74	2.26	3.13
	±SD	0.31	0.74	0.87	0.57	0.61
LHRH-A $10 \mu\text{g/ml}$	Mean	0.52	1.52	2.31	3.35	4.25
	±SD	0.30	0.43	0.85	0.65	0.78

讨 论

本实验结果提示, 对早孕绒毛细胞, 当在培养基中加不同剂量外源性 hCG 后, 孕酮的分泌均较未加 hCG 时为高, 且随着外源性 hCG 量的增加而增加。这说明外源性 hCG 对早孕绒毛组织分泌孕酮起兴奋作用。若用兔抗 hCGIgG 以中和内源性 hCG, 则孕酮的分泌较

对照明显降低。提示胎盘内源性 hCG 对孕酮的分泌也起兴奋作用, 而对终末期绒毛细胞, 低浓度的外源性 hCG 对绒毛细胞兴奋孕酮分泌的作用不明显, 只有当高浓度时, 才较为明显。同样, 胎盘内源性 hCG 对孕酮分泌的兴奋作用也是很不明朗的 ($p > 0.05$)。这部分结果初步提示, 不同孕期的绒毛细胞对 hCG 兴奋孕酮分泌的敏感性可能不同; 早孕绒毛反应较敏感, 终末期绒毛较差。文献也有报道, 认为不同孕期的胎盘中 hCG 的含量不同, 早孕时含量高, 孕终末期含量很低⁽⁶⁾。这与本文的结果互为旁证。

本文结果证明, 对早孕绒毛组织, LHRH-A 对内源性和外源性 hCG 所诱导的孕酮及不依赖于 hCG 的孕酮分泌均表现出抑制作用, 且此抑制作用随外源性 hCG 浓度的增加而减弱或完全消失。但 LHRH-A 对孕终末期绒毛分泌孕酮却无此作用。根据文献报道^(1, 7), 不同孕期的胎盘组织中 LHRH 的含量和 LHRH 受体对 LHRH 的亲合力是不同的, 这可能与不同孕期的绒毛组织对 LHRH-A 的敏感性不同有关。

本文所报道的 LHRH-A 对早孕绒毛依赖和不依赖 hCG 的孕酮分泌的抑制作用, 可能与 LHRH-A 抑制大鼠黄体细胞分泌孕酮的作用相似。在大鼠, LHRH-A 通过直接兴奋黄体细胞上的 LHRH 受体, 抑制孕酮的基础分泌及 hCG 诱导的孕酮分泌⁽⁸⁾。至于 LHRH-A 对早孕绒毛分泌孕酮的抑制作用机理, 有待进一步的阐明。

关键词 黄体生成素释放激素类似物; 人绒毛膜促性腺激素; 孕酮; 胎盘绒毛组织

参 考 文 献

1. Siler-Khodr TM, et al. Production and activity of placental releasing hormone. In: Novy MJ and Resko JA, eds. *Fetal Endocrinol*. New York; Academic Press, 1981: 183.
2. Siler-Khodr TM, et al. Gonadotropin releasing hormone (GnRH) in the placenta. In: McCann SM ed. *Role of Peptides and Proteins in Control of Reproduction*. New York: Elsevier, 1982: 347.
3. 朱宝亭, 等. LHRH-A 对外培养的人早孕和终孕胎盘组织分泌 hCG 和孕酮的影响. 中国医药工业杂志 待发表.
4. Siler-Khodr TM, et al. Dose response analysis of GnRH stimulation of hCG release from human term placenta. *Biol Reprod* 1981; 25: 353.
5. Abraham GE, et al. Radioimmunoassay of plasma progesterone. *J Clin Endocrinol Metab* 1971; 32: 619.
6. Vaitukaitis JL. Changing placental concentration of human chorionic gonadotropin and subunits during gestation. *Ibid* 1974; 38: 755.
7. 刘以训. 促黄体素释放激素(LHRH)及其类似物(LHRH-A)对子宫和胎盘直接作用的研究. 生殖与避孕. 1984; 4:3.
8. Clayton RN, et al. GnRH analogue binds to luteal cells and inhibits progesterone production. *Nature* 1979; 282:90.

THE EFFECTS OF HCG AND LHRH-A ON PROGESTERONE SECRETION BY HUMAN PLACENTA VILLI CELLS OF EARLY AND TERM GESTATION *IN VITRO*

BT Zhu and YH Chu

(Department of Pharmacology, Faculty of Basic Medical Science, Shanghai Medical University, Shanghai 200032)

ABSTRACT In the present study, the method of collagenase-pepsin prepared cell suspension of human placental villi from early (10 ~ 12 weeks) and term (38 ~ 40 weeks) gestation cultured *in vitro* combined with progesterone radioimmunoassay was employed. The results indicated that: 1. In the placenta villi cells from early and term gestation *in vitro*, both exogenous and endogenous hCG showed a stimulatory effect on progesterone secretion, and the effect was approximately proportional to the concentration of the exogenous hCG added. 2. In the placenta villi cells from term gestation *in vitro*, after addition of sufficient rabbit anti-hCG IgG to the culture medium, LHRH-A exhibited no obvious influence on this hCG-independent progesterone secretion. However, in the absence of rabbit anti-hCG IgG in the culture medium, LHRH-A showed a stimulatory action on progesterone secretion probably via its stimulatory effect on hCG secretion which could subsequently increase the progesterone secretion. 3. In the placenta villi cells from early gestation, LHRH-A exhibited an inhibitory effect on both hCG-independent and hCG-dependent progesterone secretion.

Key words LHRH-A; hCG; Progesterone; Placental villi cells