达量较低，大量表达葛佬素蛋白成为亟待解决的问题。

本实验中采用的表达载体 pIVEX2.3 属于 pET 载体系列，该载体带有 T_7 噬菌体启动子、信号序列、Amp 抗性及六聚组氨酸(His.tag)[7,8]。同时本实验采用的 pIVEX2.3 载体带有 ompT 信号序列，该序列可将表达的目的蛋白引导入细胞周质空间，有利于目的蛋白正确的折叠，从而保证该蛋白是以可溶性的活性形式存在。

本实验原核表达并纯化的产物经 SDS-PAGE，考马斯亮蓝染色，以及免疫印迹鉴定，得到较纯的分子量约 14×10^3 的蛋白条带，该条带能够被抗 His-Tag 抗体识别，表明该蛋白是 IPTG 诱导的葛佬素融合蛋白。HPLC 结果显示，纯化后目的蛋白占总蛋白量的 90% 以上，说明层析纯化的效率较高。蛮试剂结果显示，原核表达的葛佬素蛋白能够中和内毒素，并有一定的剂量效应关系。

综上所述，抗菌肽葛佬素成功地在大肠杆菌 BL21(DE3)中表达，并具有中和 LPS 活性，为进一步生物活性研究奠定了基础。

参考文献：

[1] Axen A, Carlsson A, Engstrom A, *et al*. Gloverin, an antibacterial protein from the immune hemolymph of Hyalophora pupae[J]. Eur J Biochem, 1997, 247(2): 614-619.
[2] Mackintosh J A, Gooley A A, Kamso P H, *et al*. A gloverin-like antibacterial protein is synthesized in Helicoverpa armigera following bacterial challenge[J]. Dev Comp Immunol, 1998, 22(4): 387-399.
[3] 姜　泊，张亚历，周殿元. 分子生物学常用实验方法[M]. 北京：人民军医出版社，1998. 56-64.
[4] 金冬雁，黎孟枫 译. 分子克隆实验指南[M]. 第 3 版. 北京：科学出版社，2000. 821-830.
[5] 黄文德，叶锦林，唐良华. 一种简单实用的蛮试剂检测细菌内毒素法[J]. 福建师范大学学报(自然科学版)，2000，16(3)：118-120.
[6] 周　红，郑　江，鲁永玲，等. 抗菌肽葛佬素在非洲绿猴肾细胞株 COS27 中的表达及其活性的初步分析[J]. 中华烧伤杂志，2003，19(2)：86-88.
[7] Mootz H D, Blum E S, Tyszkiewicz A B, *et al*. Conditional protein splicing: a new tool to control protein structure and function *in vitro* and *in vivo* [J]. J Am Chem Soc, 2003, 125(35): 10561-10569.
[8] Monteiro R A, Souza E M, Geoffrey Y M, *et al*. Expression, purification, and functional analysis of the C-terminal domain of Herbaspirillum seropedicae NifA protein[J]. Protein Expr Purif, 2003, 27(2): 313-318.

（编辑　汪勤俭）

文章编号：1000-5404(2005)06-0531-01

个案与短篇

米非司酮和甲氨喋呤联合治疗异位妊娠 30 例疗效分析

Combination of mifepristone and MTX in treating the ectopic pregnancy

马艳秋，杨少琴，田清玉　　（河南大学淮河医院妇产科，开封 475000）

异位妊娠的发生率呈逐年上升趋势，随着诊断和治疗技术的进步，异位妊娠保守治疗正在国内外普遍开展。本研究应用米非司酮和甲氨喋呤(methotrexate, MTX)联合治疗异位妊娠 30 例，取得了较好的疗效，现报告如下。

1　资料与方法

1.1　研究对象

1995 年 1 月至 2002 年 1 月 在我科住院经保守治疗的异位妊娠患者 60 例，分成试验组 30 例，对照组 30 例。每例均经血 HCG 检查，结合 B 超检查或后穹隆穿刺确诊。所有病人生命体征稳定，无明显腹腔内出血，无下腹痛或短暂下腹痛。B 超测定一侧附件包块 $\leq$6 cm，少量或无盆腔积液征；肝、肾功能正常，无米非司酮及 MTX 用药禁忌证。两组平均年龄、孕产次，平均停经天数，治疗前盆腔包块直径及血 HCG 水平均无显著差异($P>0.05$)。

1.2　治疗方法

试验组：米非司酮 50 mg/d，连服 3 d，同时 MTX 20 mg/d 肌肉注射，1 次/d，5 d 为 1 疗程。对照组单用 MTX，治疗方法同上，治疗期间观察腹痛，阴道流血和生命体征的改变，隔日查血常规，每周检查盆腔 B 超及血 HCG，治疗前后常规查肝、肾功能。

1.3　疗效评价

治疗成功：症状消失，盆腔包块缩小或消失，血 HCG 恢复正常。治疗失败：血 HCG 不降或上升，盆腔包快不缩小或增大，出现内出血征象。

1.4　统计学处理

计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 示，采用 t 检验，计数资料采用 χ^2 检验。

2　结果

治疗效果：试验组 30 例中 27 治愈，治愈率 90%，对照组 30

（下转 534 页）

作者简介：马艳秋(1964-)，女，河南省开封市人，副主任医师，副教授，主要从事妇产科临床与教育方面的研究。电话：13949438903

收稿日期：2004-05-02；修回日期：2004-10-21

3 讨论

在细胞移植治疗缺血性心脏病的研究中，Li 等[1]较早报道应用平滑肌细胞移植于液氮直接冻蚀左心室游离壁造成的大鼠心肌缺血模型中，结果显示：植入的平滑肌细胞存活于心肌梗死区，与对照组比较，移植组大鼠受损心功能明显改善。由于直接冻蚀心肌的方法造成的心肌缺血梗死和临床心肌梗塞的病理过程明显不同，因此，其结论的临床意义不明确。比较而言，结扎冠状动脉制造的心肌梗死模型更符合临床病理过程，而将平滑肌细胞移植应用于此模型的研究少见报道。

本研究取胎鼠平滑肌细胞进行体外培养、扩增，并将其移植到冠脉结扎后 2 周形成的大鼠心肌梗死区，通过双标记免疫组化染色，发现植入的平滑肌细胞在心肌梗死区能存活，并形成肌样组织，且存活的细胞多位于梗死区的边缘，这是因为梗死边缘区的血运条件较好的缘故[2]。移植前、后的心脏超声检查结果显示：移植组左心室壁明显增厚，心腔缩小，射血分数提高，心功能改善。由于植入的平滑肌细胞排列不规则，细胞间又无连接结构，不能参与宿主心肌细胞的协同收缩，因此，平滑肌细胞移植心功能提高的机制在于增厚、加固了薄弱的心室壁，抑制心腔的进行性扩张和心室重构[1,3]。由于本研究是同种异体细胞移植，因此不可避免会发生排斥反应，尽管应用了免疫抑制剂环孢霉素 A，但植入的平滑肌细胞周围仍可见淋巴细胞浸润，提示免疫排斥反应的存在。

除平滑肌细胞外，目前可用于心肌移植的“种子”细胞包括心肌细胞[3]、骨骼肌成肌细胞[4]、骨髓基质干细胞[5]等，其共同不足是细胞来源有限，细胞的提取、培养、纯化过程复杂繁琐，制作成本高；而平滑肌细胞在体内分布广泛，来源充足，取材和培养容易，操作方便，并可作自体移植，因此，有一定临床应用价值[3,6]。

参考文献：

[1] Li R K, Jia Z Q, Weisel R D, *et al*. Smooth muscle cell transplantation into myocardial scar tissue improves heart function[J]. J Mol Cell Cardiol, 1999, 31(3): 513－522.

[2] Yoo K J, Li R K, Weisel R D, *et al*. Autologous smooth muscle cell transplantation improved heart function in dilated cardiomyopathy[J]. Ann Thorac Surg, 2000, 70(3): 859－865.

[3] Scorsin M, Marotte F, Sabri A, *et al*. Can grafted cardiomyocytes colonize peri-infarct myocardial areas[J]? Circulation, 1996, 94(9 Suppl): II 337－II 340.

[4] Taylor D A. Cellular cardiomyoplasty with autologous skeletal myoblasts for ischemic heart disease and heart failure[J]. Curr Control Trials Cardiovasc Med, 2001, 2(5): 208－210.

[5] Hughes S. Cardiac stem cells[J]. J Pathol, 2002, 197(4): 468－478.

[6] Penn M S, Francis G S, Ellis S G, *et al*. Autologous cell transplantation for the treatment of damaged myocardium[J]. Prog Cardiovasc Dis, 2002, 45(1): 21－32.

（编辑 汪勃俭）

（上接 531 页）

例中 18 例治愈，治愈率 60%，两组有显著性差异（$P < 0.05$），见表 1。

表 1 观察组与对照组治疗效果比较（$\bar{x} \pm s$）

组别	例数	年龄(岁)	停经时间(d)	治疗前 HCG 值(IU/L)	治愈率(%)
试验组	30	27.2±10.3	44.5±19.4	33.55±11.25	90.0
对照组	30	25.6±11.4	45.3±20.3	33.47±12.13	60.0
P 值		>0.05	>0.05	>0.05	<0.05

药物副反应：试验组 6 例轻度恶心，但无呕吐，无口腔溃疡及骨髓抑制。对照组出现恶心、呕吐 5 例，所有病人均无肝肾功能损害。

3 讨论

MTX 为代谢类药物，是叶酸的拮抗剂，干扰 DNA 的合成，滋养细胞对其敏感，使用于异位妊娠后胚胎可停止发育[1]。抑制滋养细胞增殖并导致其凋亡，目前 MTX 已广泛用于治疗未破裂性输卵管妊娠，并取得了一定的效果，但全身用药的治疗效果并非令人满意，李志凌等[2]在 MTX 单次肌肉注射治疗异位妊娠的预试验中，未排除异位包块直径 > 5.0 cm 病例，其治疗失败率高达 50%～70%，考虑与包块直径大，滋养细胞存活有关。米非司酮为孕酮拮抗剂，因与孕激素有相似的结构，从而竞争孕激素受体，使患者体内孕激素水平下降，异位妊娠的胚胎组织得不到孕激素的有效支持故而“枯萎”[1]。近年来应用米非司酮治疗输卵管妊娠的报道逐渐增多，刘凤英等[3]报道的 47 例治疗成功率为 61.7%。两者配伍治疗异位妊娠起协同作用，米非司酮和 MTX 联合治疗输卵管妊娠显著提高了成功率，能更快、更有效地抑制滋养细胞增长，从而减少了输卵管妊娠发生破裂的危险。本研究结果显示，联合用药具有安全可靠，疗效肯定的优点，值得推广应用。

关键词：输卵管妊娠；米非司酮；甲氨喋呤

中图法分类号：R714.22 **文献标识码**：B

参考文献：

[1] 任玉环. 保守治疗异位妊娠 3 种方法探讨[J]. 实用妇产科杂志，2002，18 (6)：372－373.

[2] 李志凌，左绪磊，陈涤瑕，等. 氨甲喋呤单次肌肉注射治疗异位妊娠适应症和监测指标的研究[J]. 实用妇产科杂志，1999，15(6)：305－306.

[3] 刘凤英，张洪文，刘宜智，等. 米非司酮治疗异位妊娠 47 例[J]. 湖南医科大学学报，1998，23(3)：265－268.

（编辑 陈聪连）