DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.10.019

toxic T lymphocytes by vaccination with recombinant protein antigens[J]. Vaccine, 1995, 13(9): 857-865.
[3] Wentworth P A, Celis E, Crimi C, *et al*. *In vitro* induction of primary, antigen-specific CTL from human peripheral blood mononuclear cells stimulated with synthetic peptides[J]. Mol Immunol, 1995, 32(9): 603-612.
[4] Lohr H F, Gerken G, Schlicht H J, *et al*. Low frequency of cytotoxic liver-infiltrating T lymphocytes specific for endogenous processed surface and core proteins in chronic hepatitis B[J]. J Infect Dis, 1993, 168(5): 1 133-1 139.
[5] Ishikawa T, Kakumu S, Yoshioka K, *et al*. Relative immunogenicity of hepatitis B virus-encoded antigens as targets for cytotoxic T-cell response[J]. Immunology, 1993, 80(2): 313-318.
[6] Rotzschke O, Falk K, Deres K, *et al*. Isolation and analysis of naturally processed viral peptides as recognized by cytotoxic T cells[J]. Nature, 1990, 348(6298): 252-254.
[7] Deres K, Schild H, Wiesmuller K H, *et al*. *In vivo* priming of virus-specific cytotoxic T lymphocytes with synthetic lipopeptide vaccine[J]. Nature, 1989, 342(6 249): 561-564.
[8] Kurts C, Miller J F, Subramaniam R M. Major histocompatibility complex class I-restricted cross-presentation is biased towards high dose antigens and those released during cellular destruction[J]. J Exp Med, 1998, 188(2): 409-414.
[9] Kurts C, Heath W R, Carbone F R. Constitutive class I-restricted exogenous presentation of self antigens *in vivo*[J]. J Exp Med, 1996, 184(3): 923-930.
[10] Chaiken I M, Williams W V. Identifying structure-function relationships in four-helix bundle cytokines: towards de novo mimetics design[J]. Trends Biotechnol, 1996, 14(10): 369-375.
[11] Sercarz E E, Lehmann P V, Ametani A, *et al*. Dominance and crypticity of T cell antigenic determinants[J]. Annu Rev Immunol, 1993, 11: 729-766.
[12] Bristol J A, Schlom J, Abrams S I. Development of a murine mutant ras CD8+ CTL peptide epitope variant that possesses enhanced MHC class I binding and immunogenic properties[J]. J Immunol, 1998, 160(5): 2 433-2 441.
[13] Scheibenbogen C, Lee K H, Stevanovic S, *et al*. Analysis of the T cell response to tumor and viral peptide antigens by an IFNγ-ELISPOT assay[J]. Int J Cancer, 1997, 71(6): 932-936.
[14] Manici S, Sturniolo T, Imro M A, *et al*. Melanoma cells presents a MAGE-3 epitope to CD4+ cytotoxic T cells in association with histocompatibility leukocyte antigen DR11[J]. J Exp Med, 1999, 189(5): 871-876.

（编辑 王 红）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2002)10-1172-01

早期妊娠流产妇女血清一氧化氮变化

Variation and significance of serum nitric oxide in patients with abortion during first trimester pregnancies

刘云东[1]，胡大春[2]，景云梅[1]，王中弥[1]，钱 净[2]（昆明市第一人民医院：[1]妇产科；[2]检验科；昆明 650011）

早期流产在临床上极为常见。近来研究发现，一氧化氮（Nitric oxide，NO）对调节胚胎的发育，控制胎盘胎儿血流变化有作用，并保持子宫处于静息状态[1]。早孕流产时NO的变化如何，目前少见报道。我们测定了早孕流产和正常早孕妇女血清NO浓度，通过其变化探讨NO与早孕流产的关系，报告如下。

1 材料和方法

1.1 研究对象

研究组：选择1999年9月至2000年9月在我院门诊自然流产妇女44例，年龄19～37岁，平均（27.60±5.63）岁；妊周范围6～12周，平均（9.3±2.3）周；血HCG增高或尿HCG阳性，B超证实为宫内孕，阴道流血时间3 d以上，刮宫后肉眼可见绒毛或经病理证实者。对照组：随机选择来我院要求终止妊娠的早孕妇女40例，年龄20～39岁，平均（28.21±5.22）岁，人流后肉眼可见刮出物中有团块状绒毛或胎体者。两组年龄经统计学处理 $P>0.05$ 差异无显著性。自然流产组平均孕龄（65.20±16.5）d，正常早孕组的平均孕龄（55.72±12.31）d。自然流产组孕龄大于正常早孕组。

1.2 方法和试剂

两组妇女分别在刮宫前静脉采血3 ml，室温下1 h内分离血清并－20℃保存备用。NO测定用单一试剂法，试剂由第三军医大学临床微生物研究室提供，按试剂说明书编程，在OlympusAu-600自动生化分析仪上测定[正常参考值（6.9±4.9）μmol/L]。

1.3 统计学方法

实验数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示，用SPSS医学统计学软件处理，采用 t 检验。

2 结果

2.1 孕龄与血清NO浓度的关系

不同孕龄者血清NO平均浓度和孕龄与NO浓度的相关性见表1。正常妊娠组血清NO浓度随孕龄而增加，相关系数0.76，$P<0.001$，一氧化氮NO水平与孕龄呈正相关。自然流产组血清NO浓度与孕龄无相关性（相关系数0.197，$P=0.069$），见表1。

2.2 自然流产者血清NO浓度变化

44例自然流产者平均血清NO浓度为（11.71±7.99）μmol/L，

（下转1175页）

作者简介：刘云东（1958－），女，云南省昆明市人，副主任医师，主要从事妇科病理妊娠方面研究。电话：（0871）3188200-2316

收稿日期：2002-01-11；修回日期：2002-03-26

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

基因转录起重要作用, 缺失该片段则几乎丧失转录功能。而 Wang 等[11,12] 发现 NHE-1 基因 5′端调控序列的 Poly (dA·dT)区对 NHE-1 的转录也起重要作用, 与该序列结合的转录因子为高泳动组(High mobility group, HMG)样蛋白。我们依据对人肺癌 NHE-1 基因部分正调控序列的测序结果, 人工合成了其同源双链 DNA, 以验证人肺癌细胞 NHE-1 基因的 Poly (dA·dT)和 C/EBP 元件是否仍然与转录因子有特异性结合作用。我们采用 EMSA 的方法, 发现在 A549 细胞和转染细胞的核蛋白中确实存在能与 C/EBP 序列及 Poly (dA·dT)序列特异性结合的转录因子, 而采用 50 倍剂量的相同序列即能够抑制 C/EBP 及 HMG 样蛋白与调控序列中相应片段的特异性结合, 表明在转录水平竞争性抑制 NHE-1 基因的表达是一种可尝试的新策略。此外, 实验表明 A549 细胞和转染细胞中, Poly(dA·dT)结合序列的表达水平要高于 C/EBP 结合序列, 因而推测在 A549 细胞中 HMG 样蛋白对 NHE-1 基因的转录调控作用要强于 C/EBP 结合序列。

参考文献:

[1] Carter G, Lemoine N R. Antisense technology for cancer therapy: does it make sense[J]? Br J Cancer, 1993, 67(5): 869—876.

[2] Kolyada A Y, Johns C A, Madias N E. Role of C/EBP proteins in hepatic and vascular smooth muscle transcription of human NHE1 gene[J]. Am J Physiol, 1995, 269(6 Pt 1): C1 408—1 416.

[3] 吴国明, 黄桂君, 钱桂生, 等. 人肺癌细胞 NHE-1 基因部分正调控序列的克隆[J]. 第三军医大学学报, 2001, 23(2): 125—127.

[4] 金冬雁, 黎孟枫 译. 分子克隆实验指南[M]. 第 2 版. 北京: 科学出版社, 1992. 556—558.

[5] Kamogawa Y, Minasi L A, Carding S R, *et al*. The relationship of IL-4 and IFN gamma-producing T cells studied by lineage ablation of IL-4-producing cells[J]. Cell, 1993, 75(5): 985—995.

[6] 颜子颖, 王海林 译著. 精编分子生物学实验指南[M]. 北京: 北京科学出版社, 1998. 332.

[7] 卢圣栋. 现代分子生物学实验技术[M]. 第 2 版. 北京: 中国协和医科大学出版社, 1999. 538—545.

[8] Harel-Bellan A, Brini A, Ferris D F, *et al*. *In situ* detection of a heat-shock regulatory element binding protein using a soluble short synthetic enhancer sequence[J]. Nucleic Acid Res, 1989, 17: 4 077—4 087.

[9] 潘德顺, 于江州, 郝天玲, 等. Epo 3′-端增强子对内皮细胞缺氧时血管内皮生长因子基因转录的影响[J]. 同济医科大学学报, 1998, 27 (5): 333—335, 344.

[10] 夏若寒, 郝天玲, 于江州, 等. 缺氧诱导因子-1 和红细胞生成素 3′-增强子调节内皮细胞环氧合酶和血栓素合酶基因转录[J]. 中国应用生理学杂志, 2000, 16(1): 48—51.

[11] Yang W, Wang H, Fliegel L. Regulation of Na^+/H^+ exchanger gene expression. Role of a novel poly(dA. dT) element in regulation of the NHE1 promoter[J]. J Biol Chem, 1996, 271(34): 20 444—20 449.

[12] Wang H, Yang W, Fliegel L. Identification of an HMG-like protein involved in regulation of Na^+/H^+ exchanger expression[J]. Mol Cell Biochem, 1997, 176(1—2): 99—106.

(编辑　王　红)

(上接 1172 页)

40 例正常早孕者血清平均浓度为(18.26±7.70)μmol/L, 经统计学处理 $t=3.89$, $P=0.002$, 正常早孕者显著高于自然流产者。

表 1　不同孕龄血清 NO 平均浓度及其与孕龄的相关性(μmol/L, $\bar{x}\pm s$)

孕龄	<56 d	56~69 d	>70 d	r
正常早孕组				
例数	26	9	5	0.760
NO 浓度	4.08±4.85	24.46±6.08	28.80±6.08	$P=0.000$
自然流产组				
例数	16	10	18	0.197
NO 浓度	8.90±4.15	10.67±7.89	14.74±9.57	$P=0.069$

2.3　流产类型与血清 NO 水平

自然流产组 44 例中, 先兆流产 20 人, 平均血清 NO 浓度(14.63±9.23)μmol/L, 难免流产、不全流产、稽留流产共 24 人, 平均血清 NO 浓度(8.70±4.77)μmol/L。前者血清 NO 水平显著高于后者, $t=2.98$, $P=0.01$, 且与正常早孕妇女较接近。

3　讨论

NO 是一种重要的调节生命活动的小分子, 广泛存在于人体组织细胞和血管内皮细胞中。妊娠期胎盘和脐带是 NO 的主要来源。有研究表明, NO 是维持妊娠的重要调节因子, 其水平降低时, 可引起一系列的病理生理过程[2]。NO 水平降低后胎盘绒毛血管阻力增加, 致使胎儿——胎盘之间的氧和营养物质交换障碍, 影响胚胎的生长发育, 严重时造成胚胎死亡; 梗塞部份的绒毛坏死, 血管破裂, 形成胎盘后血肿; 改变了子宫的静息状态, 敏感性增加, 遇到刺激时子宫即发生收缩等。上述病理变化使 NO 合成再度减少以致形成恶性循环, 最终导致流产发生。本研究结果显示: ① 正常妊娠组中孕龄与 NO 浓度呈正相关, ② 虽然自然流产组的平均孕龄大于对照组, 但血清 NO 水平却明显低于对照组, ③ 研究组中先兆流产者血清 NO 水平显著高于难免流产、稽留流产和不全流产者。这些结果进一步说明 NO 对维持正常妊娠和胚胎存活生长具有重要的作用, 自然流产的发生与血清 NO 降低可能有关, NO 的合成减少可能是自然流产的原因之一。

NO 的降低是流产的直接原因还是其他病因通过 NO 降低而导致流产, 还需进一步研究。

关键词: 一氧化氮; 流产; 早期妊娠
中图法分类号: R714.210.2　　文献标识码: B

参考文献:

[1] Learmont J G, Poston L. Nitric oxide is involved in flow-induced dilation of isolated human small fetoplacental arteries[J]. Am J Obstet Gynecol, 1996, 174(2): 583—588.

[2] Yallampalli C, Izumi H, Byam-Smith M, *et al*. An L-arginine-nitric oxide-cyclic guansine monophosphate system exists in the uterus and inhibit contractility during pregnancy[J]. Am J Obstet Gynecol, 1994, 170(1): 175—185.

(编辑　陈聪连)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net