DOI:10.16016/j.1000-5404.1991.02.025

阴性细胞均保持良好的形态结构。对一些甲醛固定石蜡包埋组织中的微量抗原也能得到很好的效果。若用恒冷切片效果更佳。因用坚固红作用底物液，使其反应的最终产物颜色为玫瑰红色，容易与组织或组织中的色素颗粒鉴别，避免了DAB产物（棕褐色)难与色素区别的缺点。当前国内多数单位用DAB作底物显色剂,但DAB是1种致癌性较强的晒试剂，常致操作者恐惧，且不易处理，尤其对显微摄影及幻灯片的制作，效果往往不好，反之，APAAP法则无此隐患，其优越性就显得更为突出。另外该法还可用于双标和多标。目前应用较多的是PAP-APAAP和ABC-APAAP双标记，也有已应用到免疫金银染色上。

4.3 注意事项

4.3.1 底物液临用前30min配制。染色时间在显微镜下控制,显色时间一般在15min～30min都能获得较满意的效果。

4.3.2 第一抗体可根据自己的需要进行搭配。最好是分装保存，以免冻融次数多减少试剂的效价。

4.3.3 在PBS中尽量充分洗涤，有微量振荡器效果更好。

4.3.4 对抗原较弱的组织可将二抗和APAAP复合物重复1次，可增强染色深度。

4.3.5 显色后不脱水，用甘油明胶封片。切片放在4℃下保存半年效果仍然很好。在复染中可根据自己的习惯进行对比染色，如：Mayer氏苏木素、甲基绿或伊文斯蓝均可。

4.3.6 灭活内源性过氧化物酶可省略，因APAAP染色除小肠组织内都不受内源性过氧化酶的干扰。

（本文承蒙高奉浔教授修改，特此致谢）

参 考 文 献

1. 王 棣。抗碱性磷酸酶MCAB的制备和应用。中华微生物学和免疫学杂志。1986；6（3）:152

（收稿：1989：11.06，修回：1990.12.25）

临床常用孕激素制剂生物活性比较

陶晓靖 何世荣（西南医院 妇产科）

在妇产科疾病的临床诊治中，孕激素制剂的应用非常广泛，尤为孕酮（黄体酮）、甲孕酮（安宫黄体酮）、甲地孕酮（妇宁片）、氯地孕酮、炔诺酮（妇康片）及18-甲基炔诺酮等。孕激素必须与特异性受体结合后才能发挥其生物活性。我们测定并比较了临床常用几种孕激素制剂与人子宫内膜及大鼠子宫雌激素胞浆受体（ERc）和孕激素胞浆受体（PRc）的结合能力，为指导恰当的临床用药提供了理论依据。

1 材 料 和 方 法

1.1 研究对象 （1）人子宫内膜：20例正常妇女增生期子宫内膜，用小号刮匙刮取50mg～300mg。（2）

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

成年大鼠子宫：45只成年雌鼠，体重250g～300g，脱颈椎活杀后剖腹取子宫。

1.2 药物 ^{3}H-E_2(放射比度40mCi/nmol，上海原子能研究所提供)、^{3}H-R5020(放射比度87mCi/nmol，New England Nuclear Company产品)、乙烯雌酚、孕酮、甲孕酮、甲地孕酮、氯地孕酮、炔诺酮及18-甲基炔诺酮（由中国科学院上海药物研究所提供）。

1.3 实验方法 （1）雌、孕激素胞浆受体测定：采用DCC法[1]。测绘出饱和曲线并根据Scatchard plot计算出平衡解离常数（kd值）。（2）孕激素与ERc、PRc结合能力测定：同时测定在一定浓度药物存在情况下标记激素与胞浆蛋白质的特异性结合量(SB)，及无药物存在情况下标记激素的特异性结合量（SB′），计算出每一药物与标记激素竞争ERc、PRc的结合率，即SB′/SB×100%及药物对标记激素与ERc、PRc结合的抑制率，进一步作出每一药物的竞争抑制曲线，采用线性回归法计算出药物抑制标记激素与胞浆受体结合达50%时的浓度（IC_{50}），根据IC_{50}及标记激素的kd值换算得到药物的抑制常数（KI）。以孕酮的IC_{50}为标准计算每一药物与胞浆受体的相对结合率(RBA)。根据IC_{50}、KI及RBA的大小则可对药物与受体结合能力的大小作出比较，即IC_{50}和KI值愈小，RBA愈大，则该药物与受体的结合能力愈高。

2 结 果

2.1 ERc、PRc测定的饱和曲线及kd值

^{3}H-E_2和^{3}H-R5020与人子宫内膜ERc、PRc结合的饱和曲线见图1、2。根据Scatchard plot分别计算出^{3}H-E_2与ERc、^{3}H-R5020与PRc结合的kd值分别为$8.96\pm1.80\times10^{-10}$mol和$5.58\pm1.86\times10^{-10}$mol。饱和曲线及kd值证实所测定的标记激素特异性结合蛋白质为具有高亲和力、低容量、可饱和性的特异性受体蛋白质。

2.2 6种药物与ERc、PRc的结合能力

随着药物浓度增加，6种药物与PRc的结合率相应增加，直至达到受体饱和，即结合率为100%。但除o炔诺酮在浓度为10^{-6}、10^{-5}、10^{-4}mol时与大鼠子宫ERc的结合率分别为24.4%、34.3%和73%外，其余5种孕激素制剂在上述浓度范围内均不与ERc结合。

2.3 6种药物与^{3}H-R_{5020}竞争结合PRc的能力比较

六种药物和人子宫内膜PRc结合的RBA与和大鼠子宫PRc结合的RBA略有不同，见表1、表2。各种药物竞争结合PRc的能力大小与药物浓度有关，但并不呈直线关系，见图3。

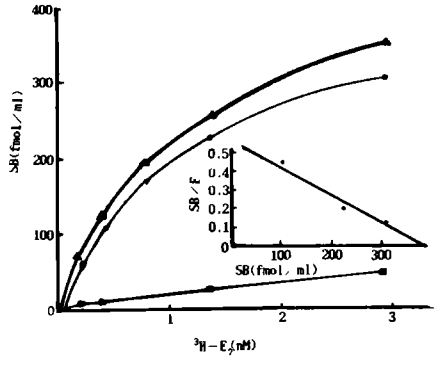


图1 人子宫内膜ERc测定饱和曲线

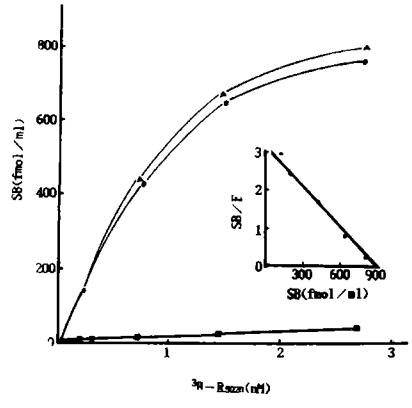


图2 人子宫内膜PRc测定饱和曲线

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

表1　6种孕激素药物与大鼠子宫PRc作用的 KI、IC_{50}、RBA

药　物	KI	IC_{50}	RBA
	$\bar{x}\pm s\bar{x}$($\times10^{-7}$mol/L)	$\bar{x}\pm s\bar{x}$($\times10^{-7}$mol/L)	$\bar{x}\pm s\bar{x}$(%)
甲孕酮	15.52±6.80	35.11±5.70	13.26±2.40
甲地孕酮	20.44±9.43	51.63±15.62	7.20±2.64
氯地孕酮	17.74±2.61	46.40±9.81	10.39±2.25
孕　酮	2.33±0.12	3.34±1.21	100.
炔诺酮	0.42±0.01	0.77±0.17	567.05±37.56
18-甲基炔诺酮	0.04±0.02	0.06±0.01	2709.76±76.21

表2　6种孕激素类药物与人子宫内膜PRc作用的KI、IC_{50}、RBA

药　物	KI	IC_{50}	RBA
	$\bar{x}\pm s\bar{x}$($\times10^{-10}$mol/L)	$\bar{x}\pm s\bar{x}$($\times10^{-10}$mol/L)	$\bar{x}\pm s\bar{x}$(%)
甲孕酮	2.92±0.43	12.70±0.17	12.72±0.34
甲地孕酮	922.00±73.00	357.00±257.00	0.82±0.40
氯地孕酮	14.60±7.10	74.50±40.80	3.19±1.18
孕　酮	1.55±0.71	4.88±2.34	100
炔诺酮	0.45±0.22	2.14±1.57	370.14±155.02
18-甲基炔诺酮	0.40±0.12	0.41±0.12	1562.16±640.27

3　讨　论

目前临床广泛应用的孕激素制剂是人工合成的孕酮及孕激素衍生物。甲孕酮、甲地孕酮、氯地孕酮是孕酮衍生物，炔诺酮、18-甲基炔诺酮是雌烷衍生物[2]。人工合成物与孕激素受体的结合能力已做为评价其生物活性的基本标准[3,4]。线性回归分析表明RBA与生物活性间并非直线正比关系[4]。6种孕激素药物与PRc结合能力大小依次为18-甲基炔诺酮＞炔诺酮＞孕酮＞甲孕酮＞氯地孕酮＞甲地孕酮。但应注意的是孕激素制剂生物活性的挥发还与临床给药途径、方式有关[2]，吸收率还受制剂的理化性质及剂型影响。因此，妇产科医生除了解孕激素制剂的生物活性、药理作用、毒副反应外，还应了解不同制剂的最佳给药途径和方式，以发挥药物的最大效能。

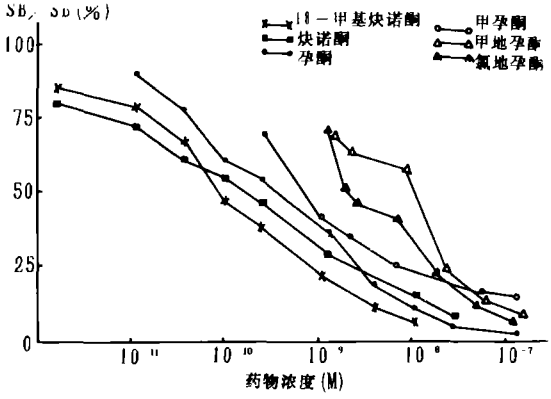


图3　6种孕激素药物与子宫内膜PRC竞争抑制曲线

参考文献

1. 陶晓靖，何世荣。雌孕激素胞浆受体测定技术介绍。第三军医大学学报　1988；10(5):398

2. 束怀德。甾体激素药理学。北京：人民卫生出版社，203～237

3. Wilks JW, Spilman CH, Campbell JA. Steroid binding specificity of the hamster uterine progesterone receptor. Steroids 1980; 35(6):697～706

4. Spilman CH, Wilks JW, Campbell JA. Relationship between progesterone receptor binding and progestin biological activity. J Steroid Biochem 1985; 22(3):289～292

（收稿：1989.11.22；修回：1990.12.21）

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