

PNQ₃ 荧光分光光度计测定 HpD 对胚胎组织的亲和作用

Abstract: Throuth the observation of HpD distribution of the early blastocyst and midtrimester embryo tissues of experimental rabbits by PNQ₃ fluorospectrophotometer, the authors suggest that the affinity of HpD the blastocyst tissue is quite similar to that of the cancer tissue. The possibility of using photochemical effect of laser with HpD terminate the early pregnancy in rabbits is suggested.

光敏疗法诊治癌肿已被人们重视和应用, 其作用机理^[1]是由血卟啉(简称 HpD)对癌细胞有较强的亲和力, 经特定波长的光激发后, 在一系列动力学反应过程中产生单态氧。这种单态氧具有强烈的氧化能力, 有杀死癌细胞的作用。Frank 在 1948 年的研究中发现卟啉对胚胎组织和肿瘤组织同样有较强的亲和力。但未见血卟啉衍生物 HpD 是否也有类似作用的报道。为此本文设想通过用 PNQ₃ 荧光分光光度计测定 HpD 在胚胎组织中的荧光光谱峰值, 籍以阐明其亲和作用, 从而为探索光敏疗法终止早期妊娠的可能性提供理论依据。

材料与方 法

血卟啉衍生物(HpD)的注射液由中科院生化所提供。

荧光测试: PNQ₃ 型荧光分光光度计由上海交通大学应用物理系提供, 激发波长 400 nm 扫描荧光谱, 并在荧光波长 640 nm 处扫描激发谱。

实验家兔: 日本大耳种雌性家兔重 3.5~4.0 kg。

实验方法: 选孕 8 天和孕 15 天的家兔 17 只, 11 只从耳静脉注射 HpD 20 mg/kg, 另 6 只不注射 HpD, 分别于 4、8、24、48、72 小时后用 PNQ₃ 荧光分光光度计测定存在于胚胎、胎儿、胎盘、宫壁、羊水、血清、尿、肝组织中的 HpD 荧光光谱峰值, 以及用 Giulio J.^[2]等的组织抽提法, 取 1g 组织或 1c. c. 体液进行半定量测定 HpD 相对荧光强度。

实 验 结 果

一、本文分析以注入 HpD 后 24 小时组的结果为例, 用荧光分光光度计测定存在于家兔胚胎等组织中的 HpD 荧光光谱峰值, 其结果见表 1 和图 1~4。结果表明, HpD 能通过“胎盘屏障”进入胎儿。

表 1 HpD 在胚胎等组织中的荧光谱
(注入 HpD 后 24 小时)

测试样品	实验组(注 HpD) 或对照组(未注 HpD)	荧光谱峰值 (λ, nm)		
血清+HpD	HpD 标准液	640	694	
早期 胚 胞	注 HpD	640	695	
	未注 HpD	(-)	(-)	
中 期 胎 儿	注 HpD	638	695	
	未注 HpD	(-)	(-)	
其 他	血清	注 HpD	638	695
		未注 HpD	(-)	(-)
羊 水	注 HpD	640	695	
	未注 HpD	(-)	(-)	
尿	注 HpD	637	690	
	未注 HpD	(-)	(-)	
宫 壁	注 HpD	637	690	
	未注 HpD	(-)	(-)	
胎 盘	注 HpD	640	695	
	未注 HpD	(-)	(-)	

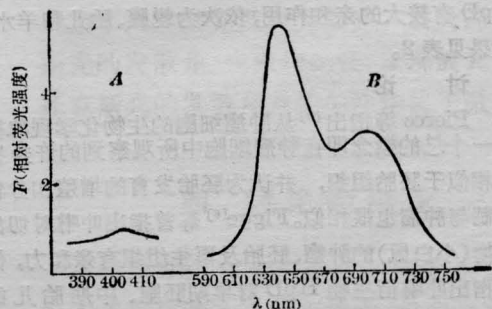


图 1 HpD 在孕兔血清中的荧光谱
A—激发谱; B—发射谱

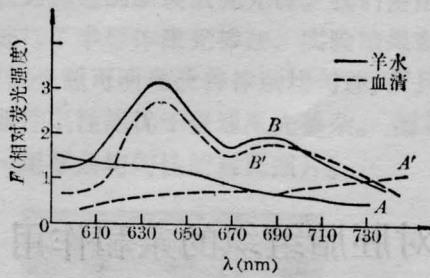


图2 注入 HpD 24 小时后,观察羊水和血清的荧光谱
曲线 A、A':未注入 HpD; 曲线 B、B':注入 HpD

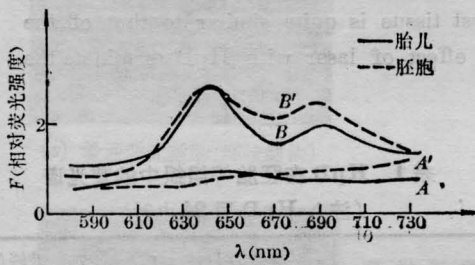


图3 注入 HpD 24 小时后,观察胎儿和胚胎的荧光谱
曲线 A、A':未注入 HpD; 曲线 B、B':注入 HpD

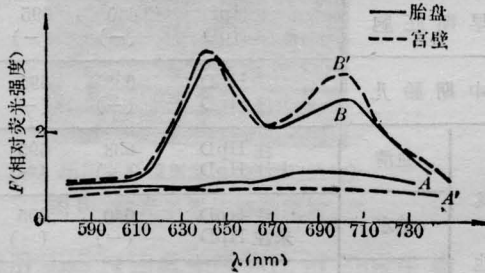


图4 注入 HpD 24 小时后,观察胎盘和宫壁的荧光谱
曲线 A、A':未注入 HpD; 曲线 B、B':注入 HpD

二、测定 HpD 存在于孕兔胚胎等组织中的相对荧光强度,结果表明 HpD 存在于胎盘组织内的强度比存在于宫壁内的强度大4倍,提示滋养叶细胞与 HpD 有较大的亲和作用,依次为蜕膜、胎儿和羊水。结果见表 2。

讨论

Pierce 等指出^[3]从肿瘤细胞的生物化学现象得出一个总的概念即在肿瘤细胞中所观察到的许多特点相似于胚胎组织,并认为胚胎发育的增殖和分化机制与肿瘤也很相似。Figue^[4]等曾指出卟啉对切齿动物(小白鼠)的肿瘤、胚胎及再生组织有亲和力,但未指出卟啉衍生物 HpD 对早期胚胎、中期胎儿的情况如何,也未指出 HpD 是否能通过胎盘屏障。本文通过 PNQ₃ 荧光分光光度计测定静脉注射 HpD

表 2 HpD 在孕兔胚胎中的浓度分布

测试液	时间(h)	浓度分布 ($\lambda=402\text{nm}$)	F(相对荧光强度)
血清	2	1.35	25
	4	1.45	20
羊水	2	0.085	1.5
	4	0.145	2.5
蜕膜	2	0.05	8.0
	4	0.10	8.5
胎盘	2	0.125	10.0
	4	0.125	10.0
胎儿	2	0.056	3.0
	4	0.060	3.0
宫壁	2	0.050	2.5
	4	0.050	2.5

后 24 小时家兔的早期胚胎、中期胎儿以及胎盘、羊水组织中的荧光光谱峰值,阐明 HpD 对上述各组织有亲和力,也说明 HpD 能通过家兔的胎盘屏障,进入胎儿,由此我们认为 HpD 对胚胎和胚胎组织的亲和力可能与对肿瘤细胞的亲和力极为相似。

通过测定 HpD 在孕兔胎盘组织和子宫组织中的相对荧光强度进行比较,结果表明 HpD 存在于胎盘组织内的荧光强度与存在于宫壁内的荧光强度不同,前者大于后者 4 倍,即滋养叶细胞与 HpD 有较大的亲和力,从而提示 HpD 和激光的光敏效应应有终止早期妊娠的可能,值得进一步探索和研究。

参考文献

- [1] 徐石麟等;“激光-血卟啉诊治癌症”,《激光医学》,1982, No. 2, 1.
- [2] Giulio J. *et al*; Time Dependence of Hematoporphyrin Distribution in Selected Tissues of Normal Rats and in Ascites Hepatoma. *Tumori*, 1979, **65**, 425.
- [3] Pierce G. B. *et al*; Cancer a Problem of Developmental Biology. Prentice-Hall 1978, 1.
- [4] Figue F. H. J.; The Affinity of Neoplastic Embryonic and Traumatized Tissue for Porphyrins and Metalloporphyrins. *Anat. Rec* 1948, **100**, 659.

(上海医科大学妇产科医院 丁爱华 孙时芬

丁爱基

中国科学院上海生化所 连少辉 江寿平

上海交通大学应用物理系 方佩莹

1985 年 6 月 18 日收稿)