

胎盤中之生長促進物質

Human Placental Lactogen

— HPL

徐千田

~~~~~ 創造人類

的胎盤可說是一個極為神秘的臟器。胎盤應屬於胎兒成分，其中含有的血液，大部份是母體的，胎兒的血管由於滋養細胞（Syncytial 和 Langhans 細胞）的介在，間接和母體的血液相接觸，而吸收氧氣及其他營養物質、免疫體等。假如胎盤只是物質交易處，其所吸收的營養，而新陳代謝的排泄物，經由母體排洩的話，實在是沒有什麼稀奇的。很久以前，生理學家和婦產科醫生就已經知道：如在三個月以前把卵巢剔除，流產就易發生，但在四個月以後，卵巢雖然剔除，就不會發生流產。所以他們就知道，四個月胎盤完成後，卵巢的保胎作用完全是由胎盤來接辦。此種事實可在 1950 年代，Pearlman 等，由胎盤抽出的純黃體素結晶已可證實了。再進一步，我們現在已經知道 Zondek-Aschheim 之妊娠反應的原動力和血或尿中的向性腺刺激物質（gonadotropin），實際上不是 Zondek-Aschheim 所推想的是由孕婦的腦下垂體所產生（余等推想最初期在 6—8 週時有一段由腦下垂體與胎盤有合作到極點），而是由於胎盤產生的 Chorionic Gonadotropin 所發動的。腦下垂體的 gonadotropin 特別是 LH 與胎盤 Chorionic gonadotropin 雖然不是完全同一物質，但其生物學作用却完全一致，並亦非常類似難分，且有交叉免疫現象，可能他們的化學構造也差不了多少。

胎盤除另可產生腦下垂體的荷爾蒙 ACTH、TSH 類似物質（有無 LATS 尚未證實）以及腎上腺荷爾蒙、男女性荷爾蒙（estrogen, Androgen）之外，也可能產生 IgG、3S 1-globulin。此外胎盤在發育之間，尚能發展酵素系統。可說是一個完成小人體的地方。

最近吾國在美最負盛名的生化學者李卓皓博士，決定了腦下垂體的生長促進荷爾蒙（Growth Hormone）的化學構造之後，繼以有機化學合成法，人工創造自然人類 Growth Hormone 而轟動世界。一般認為這不但可能解決侏儒症的治療，也許由此可能獲得癌症發生的機序，將來能夠控制癌症細胞的繁殖。

1961 年，在日本的伊藤及東，黑崎等主張胎盤中有催乳物質，1957 年間，京都大學三林隆吉教授領導的研究也說胎盤中有一種未知的 anabolic 物質，可惜他們都沒有提及化學構造或其本體。迨 1962 年 Josimovich 和 McLaren 發現胎盤中有一種物質，與 HGH 的抗血清有交叉反應，這不完全純化的物質有 Prolactin 作用（催乳作用），仍可明顯地促進腦下垂體剔除的老鼠的發育（但 tibial growth 為陰性之故），於是他們命名為 Human Placental Lactogen（HPL）。在此我們要注意的一點就是：HPL 的發現工作，實際是日本人在先；而 Chorionic gonadotropin 的發現也是日本人白井氏為早，但因發表方式與其他種種因素的關係，結果 chorionic gonadotropin 和 HPL 的發現權（priority）落在歐美人士的手中。可見在科學上的發表形式是要值得研究的。據 Kaplan 和 Grumbach（1964）所強調，此種物質在生物學、免疫學上的性質與 HGH 極為類似，因之他就主張命名為 Human chorionic growth hormone prolactin（CGP），其他許多研究者另外叫之為 placental protein（Friesen 1965），purified placental protein 即 PPP（H）（Florini 1966），但 HPL 可說是學術界一般最普遍採用的名稱。

## 【HPL之產生】

Friesen 答以  $^3\text{H}$ -1,4,5-Leucine (New England Nuclear Corp 5  $\text{Ci}/\text{mmole}$ ) 與胎盤 incubate 後, 加以 0.1 N  $\text{NH}_4\text{OH}$  使它均質。其蛋白含有量係以 Lowry 氏法定量, HPL 以 Schallach 和 Parker 氏的 double antibody radioimmunoassay, 以高度純化的 HPL 作為標準量來證實 I-Leucine  $^3\text{H}$  確實攝取於蛋白內而來合成 HPL 的, 因之他們乃決定 HPL 出現之比率為  $40 \mu\text{g}/\text{gm}/\text{hour}$ , 比之生體內 Kaplan 等的推定量  $66 \mu\text{g}/\text{gm}/\text{hour}$  為低 (或  $1 \text{Gm}/\text{per day}$ )。

## 【HPL之生理作用】

HPL 以鳩喙囊 (pigeon crop sac) 的檢定法確證有催乳作用。根據 Bates 之推定為  $2.0 \text{iu}/\text{mg}$ 。但 Forsyth 以 rabbit intraductal mammary gland 方法, 則為  $20 \text{iu}/\text{mg}$ , 所以 HPL 也像 HGH 一樣, 其催乳作用在 rabbit 時比 pigeon 還為強力。

關於促進生長作用, 各研究者之間的意見有一點出入: 例如 Friesen 等認為 HPL 對腦下垂體剔除的老鼠有體重增加作用, 但不能增加脛骨骨端軟骨之寬度。所以他們以為 HPL 似有促進成長作用可能是因 HPL 混有少量 HGH 而增強它的生物作用之故。但 Burr 等又謂大量使用 HPL 可對腦下垂體性侏儒症有效。Kaplan 及 Grumbach 等以 tibial growth test 及肋軟骨  $^{35}\text{S}$  uptake 檢查其有無促進生長作用時, 他們以為其力價比牛的 GH 為低, 但明顯地有促進生長作用。

Josimovich 等將偽妊娠老鼠之子宮兩角中之一角, 以針頭將它刺傷, 剔出腦下垂體之後, 過二日作 HPL  $350-500 \mu\text{g}$  的皮內注射, 觀察其有否 decidualoma 的形成, 也就是否無 LTH 的作用, 結論是 HPL 與羊 prolactin (LTH) 或 HGH 同樣有 Luteotropic 的作用, 但如將卵巢剔出, 那麼 decidualoma 就不形成, 所以 HPL 的 Luteotropic 作用是須要卵巢的存在。同時 HPL 和 HGH 同樣對脂質、糖質、蛋白質的代謝有關。HPL 的投與, 可以增加游離脂肪酸的增加, 和 glucose 向脂肪之轉化, 及胺基酸進入蛋白質等等。可是關於使用老鼠的 in vitro 觀察所得到的 lipid mobilizing 作用, 則諸家意見不同。Riggi 對 Rabbit 所作的 HPL 筋肉注射和豚的 GH 相比, 則 HPL  $10 \text{mg}/\text{kg}$  和豚的 GH  $0.5 \text{mg}/\text{kg}$ , 可呈同等效果。然在猿猴若作筋肉注射  $50 \text{mg}/\text{kg}$  有 12 小時;  $100 \text{mg}/\text{kg}$  有 24 小時增加血中游離脂肪酸之報告。Burt 等以狗雖獲得大略相同的效果, 但 Friesen 等以老鼠和家兔作實驗反而不能證明增加血中游離脂肪酸的現象。而 Turtle 等則以為 HPL 自己沒有 lipolysis 的作用, 但與 HGH 併用時方有顯明的 lipolysis 的作用。

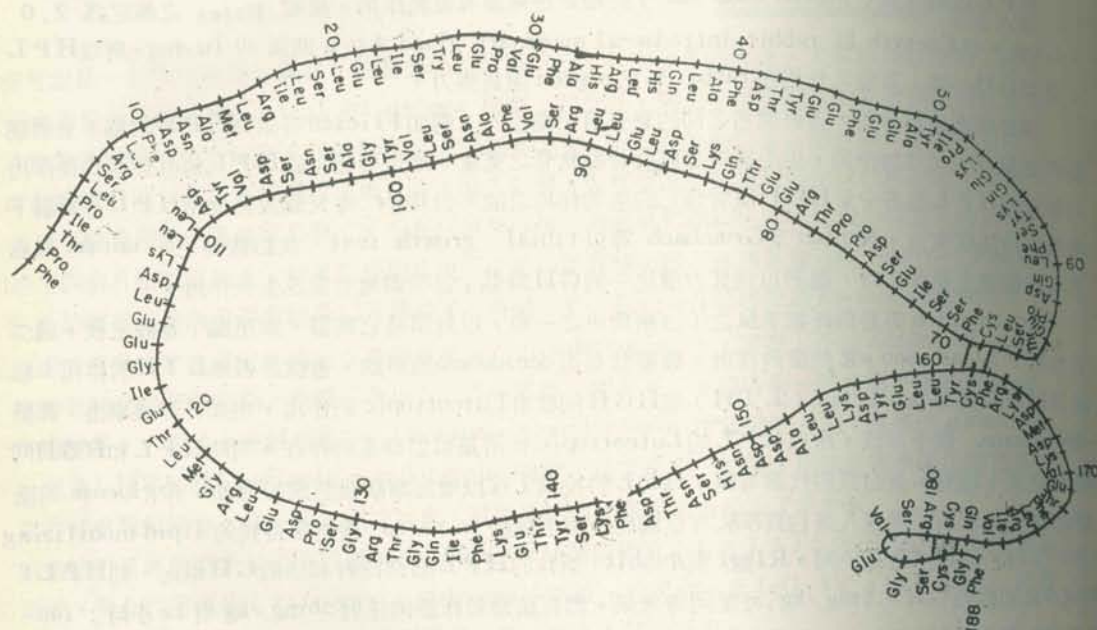
關於血中的 ketone 體的問題, Friesen 等發表謂 HPL 可以增加老鼠血中的 ketone 體, 同時也可以降低血中的 glucose。Riggi 等說 glucose level 並無變化。Friesen 以為 ketone 體有增加, glucose 可有氧化, 而能增強轉化為脂肪。可是此等生物化學的作用, HPL 比起 HGH 則非常薄弱。Leake 和 Burt 以妊娠老鼠的脂肪組織之 glucose uptake, 與非妊娠老鼠作比較, 非妊娠老鼠如以 HPL 處理, 則 glucose uptake 就要提高, 加 insulin 時其增加量更明顯。但有的研究家則以為 HPL 是妊娠時的 Diabetogenic actor。關於蛋白的代謝, Burt 等認為妊娠的老鼠, 和以 HPL 處理的非妊娠老鼠, 其胺基酸進入肝蛋白的分量, 比非妊娠的老鼠有明白的增加。以此結論, 可知 HPL 和 HGH 可以增加妊娠中蛋白同化作用。以上所述簡單的結論: HPL 和 HGH 有類似的物質代謝作用。

## 【化學構造】

伊藤東等報告: 有兩種離分物, fraction UA 的分子量為 48,000 fraction UB 的分子量為 80,000 fraction UA 中含有糖質, fructose glucose, Fraction UB 中含有 mannose 和 galactose,

但據 Friesen, Sherwood 等的試驗, HPL 的分子內並無糧質。然依 Friesen 的報告: 妊娠初期的 HPL 分子量為 100,000, 到了妊娠末期則有 20,000 和 100,000 二種, 他們所提二種較為妥的解釋: 一為大分子 prohormone, 而妊娠初期的胎盤, 無力將大分子的 prohormone 改為 20,000 的 HPL, 妊娠後期却有此種能力。另一為 HPL -  $^3\text{H}$  在某種條件下容易相聯, 因初期的胎盤含有促進發生此種相連物質的因子, 而後期的胎盤却缺乏此種因子。

當 Friesen 等研究猿的 HPL 時, 發現 MPL (猴的 placental Lactogen) 作 radio immuno assay 時,  $\text{cross-reaction}$  對 HPL 却低, 而對 HGH 却高。又 Tashjian 用 complement-fixation Technique 所得到的結果也是同樣的。因之他想如果研究 MPL、HPL、HGH 的胺基酸的排列差異, 與它們的生理作用的關係, 可能闡明化學構造和生理作用的關係; 因 Sherwood 所研究的 MPL, 其化學構造比 HPL 較為接近 HGH, 且與 Friesen 由動物實驗得來的結果有點相符。



Amino acid sequence of human growth hormone. This has been diagramed to show the two intramolecular disulfide bridges and does not indicate the true tertiary structure. (After Li, C. H., Liu, W. K., and Dixon, J. S.: J. Amer. Chem. Soc. 88:2050, 1966.)

據 Sherwood 他們由於李卓皓教授研究 HGH 的刺激, 而研究 HPL 的化學構造, 發現 HPL 與 HGH 有許多相似的地方, 那就是有 19 個 lysine 和 arginine residue, 所以理論上有 20 個 tryptic peptide, 其中 8 個 (40%) 與 HGH 的 tryptic peptide 相同 (Fig A), 雖然排列的研究還未完成, 但他們的組成是同樣的。雖然 HPL 的 peptide  $T_{14}A$  有一個 arginine, 和一個 lysine residue, 代表 trypsin-susceptible 部份不完全分解, 其組成則相等於 HGH 的二個鄰近的 tryptic peptide (Nos. 17 和 18)。另外 20 個中 8 個相似的 peptide, 6 個只差一個胺基酸, 另外二個 peptide 只差 3~4 個胺基酸 (fig B)。這樣幾個 peptides 只差一個胺基酸, 以胺基酸 codon 的單一的變化來說明。如 fig C 表示, 在 C 端的 14 個胺基酸 HPL 和 HGH 是相同的, 除了 HPL 的 176 的 methionine 在 HGH 為 isoleucine, 此種置換在豬與牛的 GH 間也會發生。C 端胺基酸排列的決定是根據 tryptic peptides  $T_{14}A$  13 C 和 5 A 及 cyanogen bromide peptide C9A4 和 C9B2 的重複情報得來的。圖 D 表示暫定性的 HPL 分子中, disulfide bond 的所在, 是由 cyanogen bromide 的

分解得來的結論。雖HGH只有三個methionine residue, 4個peptide, 可能是由這些部位的完全分解得來的。但HPL則有5個methionine residue, 所以理論上可能得到6個peptide的。當初得來的5個peptide中, 一個複數的peptide (C<sub>9</sub>) 是由二個peptide (C<sub>5</sub>A、C<sub>5</sub>B) 以disulfide bond 所連結, 也可以由performic acid oxidation而分解的。在cysteine-containing peptide (C<sub>9</sub>B<sub>2</sub>) 的disulfide bond的氧化, 只得到單一的peptide 以證明 intrapeptide disulfide bond 的存在。

|                                                                                                       |                                                                                                    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| HGH 8: Asp, Ser, Glu, <u>Leu<sub>3</sub></u> , <u>Arg</u>                                             | T17A: Asp, Ser, Glu, <u>Leu<sub>3</sub></u> , <u>Arg</u>                                           |
| HGH 10: Asp, Thr, Glu <sub>3</sub> , Gly <sub>2</sub> , Met, Ile, <u>Leu<sub>2</sub></u> , <u>Arg</u> | T8A: Asp, Thr, Glu <sub>3</sub> , Gly <sub>2</sub> , Met, Ile, <u>Leu<sub>2</sub></u> , <u>Arg</u> |
| HGH 13: Thr, Ser, Glu, Tyr, <u>Lys</u>                                                                | T7A: Thr, Ser, Glu, Tyr, <u>Lys</u>                                                                |
| HGH 15: Asp, Gly, <u>Cys</u> , <u>Leu<sub>2</sub></u> , Tyr <sub>2</sub> , Phe, <u>Arg</u>            | T16A: Asp, Gly, <u>Cys</u> , <u>Leu<sub>2</sub></u> , Tyr <sub>2</sub> , Phe, <u>Arg</u>           |
| HGH 16: <u>Lys</u>                                                                                    | T12D: <u>Lys</u>                                                                                   |
| HGH 17: Asp <sub>2</sub> , Met, <u>Lys</u>                                                            | T14A: Asp <sub>2</sub> , Thr, Glu, Val, Met, Leu, Phe, <u>Lys</u> , <u>Arg</u>                     |
| HGH 18: Thr, Glu, Val, Leu, Phe, <u>Arg</u>                                                           | T5A: Ser <sub>2</sub> , Glu, Gly <sub>2</sub> , <u>Cys</u> , Val, Phe                              |
| HGH 20: Ser <sub>2</sub> , Glu, Gly <sub>2</sub> , <u>Cys</u> , Val, Phe                              |                                                                                                    |

FIG. A. Identical peptides of HPL and HGH.

|                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| HGH 1: Thr, Ser, Pro, Ile, Leu, Phe, <u>Arg</u>                                                                                           | T18C: Thr, Ser, Glu <sup>*</sup> , Pro <sup>*</sup> , Val <sup>*</sup> , Leu, <u>Arg</u> (3)                                                                                              |
| HGH 3: Ser <sub>2</sub> , Glu <sub>2</sub> , Pro, Ala, Val, Ile <sub>2</sub> , Leu <sub>4</sub> , Phe, His, Trp, <u>Arg</u>               | T24: Ser <sub>2</sub> , Glu <sub>2-3</sub> , Pro, Ala <sup>?</sup> , Val, Ile <sub>2</sub> , Leu <sub>4</sub> , Phe <sup>?</sup> , Trp, <u>Arg</u> (1)                                    |
| HGH 4: Asp, Thr, Glu <sub>3</sub> , Pro, Ala <sub>2</sub> , Ile, Leu <sub>2</sub> , Tyr <sub>2</sub> , Phe <sub>2</sub> , His, <u>Lys</u> | T18: Asp <sub>1-2</sub> , Thr <sub>2</sub> , Glu <sub>4-5</sub> , Pro, Ala <sub>2</sub> , Ile <sub>2</sub> , Leu <sup>*</sup> , Tyr <sub>2</sub> , Phe <sup>*</sup> , His, <u>Lys</u> (4) |
| HGH 5: Glu <sub>2</sub> , <u>Lys</u>                                                                                                      | T7B: Asp <sup>*</sup> , Glu, <u>Lys</u> (1)                                                                                                                                               |
| HGH 11: Asp, Ser, Glu, Pro, Gly, Leu, <u>Arg</u>                                                                                          | T9B: Asp, Ser, Glu, Gly, Leu, <u>Arg</u> (1)                                                                                                                                              |
| HGH 12: Thr, Glu, Gly, Ile, Phe, <u>Lys</u>                                                                                               | T16C: Thr, Glu, Gly, Ile, Leu <sup>*</sup> , <u>Lys</u> (1)                                                                                                                               |
| HGH 14: Asp <sub>2</sub> , Thr, Ser, Ala, Leu <sub>2</sub> , Phe, His, <u>Lys</u>                                                         | T20D: Asp <sup>*</sup> , Thr, Ser, Ala, Leu <sub>2</sub> , Phe, His <sub>1-2</sub> , <u>Lys</u> (1)                                                                                       |
| HGH 19: Glu, Cys, Val, Ile, <u>Arg</u>                                                                                                    | T13C: Glu, Cys, Val, Met <sup>*</sup> , <u>Arg</u> (1)                                                                                                                                    |

FIG. B. Similar peptides of HPL and HGH.

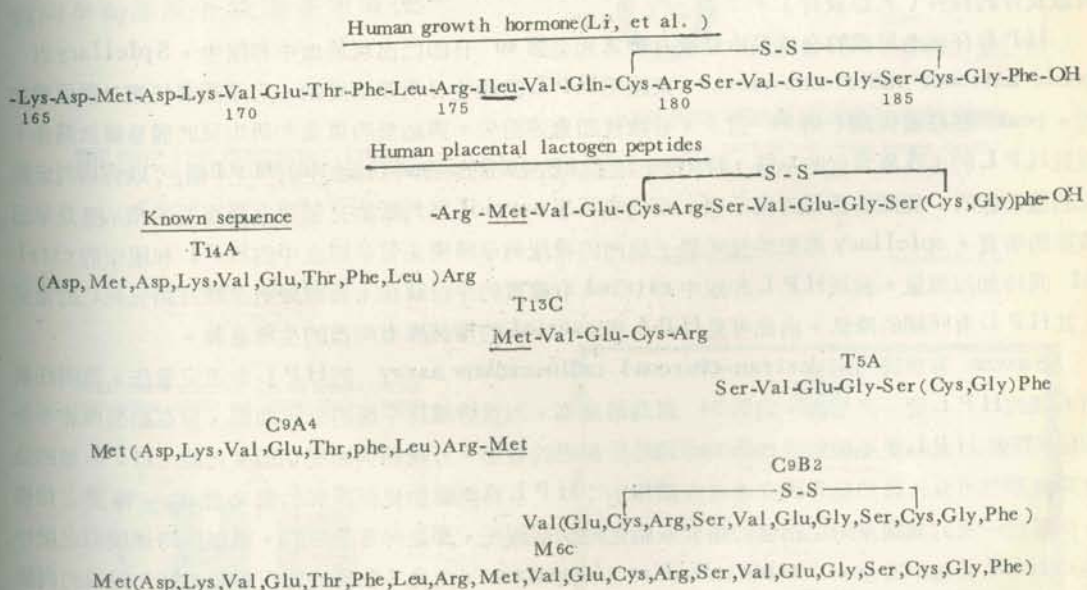
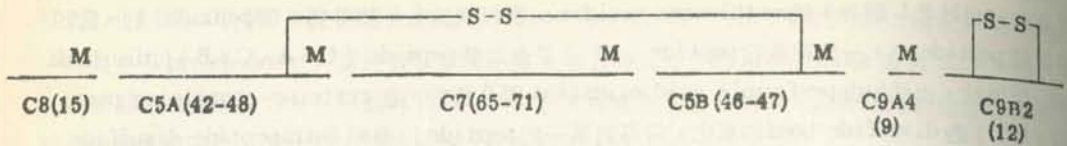


FIG. C Sequence of amino acids at the carboxyl terminus of HPL compared with that of HGH. [Li, C. H., A. K. Liu, and J. S. Dixon, J. Am. Chem. Soc. 88, 2050 (1966)]

Cyanogen bromide fragments of human placental lactogen



Cyanogen bromide fragments of human growth hormone

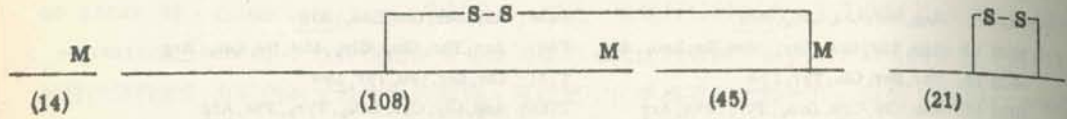


FIG. D. Tentative location of the disulfide bonds of HPL and HGH based on data obtained from cleavage with cyanogen bromide.

綜觀此等研究，證明HGH、HPL的胺基酸組成、排位相似，而二個disulfide bond的所在也相等。無疑的，它們是1個共通的原始polypeptide所傳下來的，因為它們不但生物學的效力和作用有異，它們的化學構造亦應有不同的地方。

### 【HPL之臨床意義】

HPL雖然有催乳作用，但乳汁的分泌是在胎盤娩出後經過相當長的時間方能發現，而HPL雖妊娠早期屬出現，但在胎盤娩出後反而迅速地消失，所以乳汁分泌與HPL分泌之間的直接因果關係顯然有矛盾的地方。然Turkington和Topper等以HPL、insulin及Hydrocortisone加於mouse的乳腺培養液中，證明有alveolars的發育及casein的合成，而Friesen以妊娠家兔作實驗，同時投與HPL和cortisone acetate時，可以看出乳腺之發達增強。由於此等實驗可以推論HPL對乳汁分泌雖無直接關係，但與其他荷爾蒙insulin、hydrocortisone等之協力，對乳汁分泌之準備則可貢獻良好的條件（乳腺發育）。

HPL在絨毛組織的合成是由最後月經算起至第40日即已出現於血中和尿中，Spiliacy以double antibody radioimmunoassay來證明HPL的產生日夜並無變動，它是隨著妊娠日數而增加的。peak在妊娠後期（第34週），分娩後即急速消失。與胎盤的重量和新生兒的體重雖無關係，但對HPL的生成異常低的孕婦，時常會發生胎盤和胎兒異常的現象，所以血中的HPL值，可以視為判定胎兒胎盤功能的一個頗為重要的指示標。現代產科學estriol為判斷胎兒健康之最重要的指示標是早已確定的事實。Spiliacy等把胎兒死於子宮內的糖尿病孕婦與正常孕婦血中的HPL和尿中的estriol同時加以測量，發現HPL和尿中estriol有確實的平行關係，而糖尿病孕婦在胎兒死亡的當兒，其HPL有明顯的降低。由此可見HPL與estriol的增減擁有同樣的生理意義。

Saxena等曾經利用dextran-charcoal radioimmuno assay的HPL急速定量法，證明妊娠第6週的HPL便一直增加，到第34週為最高峯，以後皆維持平衡的分泌曲線，但在胎盤機能不全的症候群裏，HPL便不能到達如第28週時所起過的數值。分娩前與胎兒切迫假死時，HPL值的急速降低顯然可見。雖然此等研究者之成績指示：HPL為判斷胎兒健康和胎盤功能的一種重要指標，但單以一次的測定來判定胎盤的功能或胎兒的切迫假死，那是非常危險的。應該同時連續測定尿中的estriol和血中的heat stable alkaline phosphatase，由此等物質的平行變動方能作可靠的判斷。

從來，治療滋養細胞腫瘍治療效果判斷的標準為chorionic gonadotropin，最近Saxena等發現：滋養細胞腫瘍病人的HPL要比妊娠十週的正常孕婦為低，在胞狀奇胎的病人，HCG值雖然非常的高相反地HPL却降低到正常1/10-1/100，由此觀之，奇胎的診斷可由HCG、HPL之間的相反變化而

定。但以治療成績判定，或再發現，惟HPL似乎比HCG的價值為低，因為治療中的HPL比HCG消失得快，而再發時雖有HCG的增加，而HPL常無再出現之故。

牛的腦下垂體對於人類的生長一點都沒有作用。想起光復後流行的，移植牛腦下垂體於人類的皮下，企圖促進人類的內分泌，而發生許多死亡例，實為太大的犧牲。對人類的身體，只人類的HGH才有作用。僅李卓皓博士由人類屍體的腦下垂體鍊成HGH明確有促進人類生長作用。但人類腦下垂體的來源有限，所以他以牛的GH以carboxy peptidase將邊緣的胺基酸消化剔除，保留果心(core)與HGH的分子量略相等，可見有此HGH作用的發現。1958年Torsham以牛的腦下垂體成長荷爾蒙BGH以chymotrypsin消化獲得同樣的效果。1965年Sonenberg將BGH以trypsin消化得到tryptic digests of bovine growth hormone (TBGH)證明對人類代謝有作用且可大量生產。數年前，李卓皓博士曾發表，腦下垂體成長荷爾蒙HGH有成長促進作用外，還有點催乳作用，他說LTH與HGH的化學成份中有共通部份之故(像MSH與ACTH之關係)。誠如Kaplan所說很可能HPL也有成長促進作用，HPL與HGH必有化學構造上共通的部份是容易推想到的了。所以胎盤的HPL也可能作為HGH的代用品，對於腦下垂體侏儒症的臨床治療有利用的價值，雖然生物學效力較低，但胎盤來源豐富特別有利用之可能。但李卓皓博士以有機化學方法對於天然HGH人工合成成功的今天，恐怕其利用價值大為減少了。

徐院長於三月下旬應菲律賓醫學界之邀，先後在 University of Sto. Tomas Chinese General Hospital, Uo-PGH Medical Center, Metroplitar Hospital, Makati Medical Center及Philippine Federation of Private Medical Practitioners的年會上發表一系列的學術演講，極受菲律賓醫學界重視。回國後，在百忙中為我們撰寫此文，本社謹代表全體同學向徐院長致謝並申賀忱。

### THE 130<sup>th</sup> LUIS GUERRERO LECTURE

A CENTENNIAL YEAR PRESENTATION  
10:00 A. M., Thursday, April 1, 1971  
UST Medicine Auditorium

Chien - Tien Hsu, M. D.

Professor of Gynecology and Obstetrics  
Tainan Medical College, Tainan, Taiwan  
Republic of China

#### TOPIC

PRESERVATION OF VESICAL ARTERIES FOR BLADDER FUNCTION  
AFTER RADICAL SURGERY FOR UTERINE CERVICAL CANCER

ALL INTERESTED PHYSICIANS AND MEDICAL STUDENTS  
ARE CORDIALLY WELCOME



*Mrs.*  
**Award of Merit**  
*is given to*  
**Chien-Tien Hsu, M.D.**  
*for having delivered*

THE TENTH UMBERTO S. AFABLE MEDICAL LECTURE

"SURGICAL TREATMENT OF UTERINE CERVICAL CANCER"

*Manila, March 27, 1971*

MRS. MATILDE S. AFABLE

PROF. CRYSTO S. M. L.

