

乳酸链球菌素及大黄组方对子宫内膜炎大鼠结肠的影响

贾知锋¹ 敖日格乐² 贺美玲² 张欣^{1,3} 徐进¹ 高思明¹ 王纯洁¹

(1. 内蒙古农业大学 兽医学院, 呼和浩特 010018;

2. 内蒙古农业大学 动物科技学院, 呼和浩特 010018;

3. 内蒙古医科大学 基础医学院, 呼和浩特 010110)

摘要 为研究乳酸链球菌素(Nisin)及大黄组方对患子宫内膜炎大鼠生殖系统内分泌调控与结肠炎症因子的影响,进一步揭示子宫内膜炎与结肠之间的关系,构建子宫内膜炎模型,建模前后用 ELISA 试剂盒检测各组大鼠子宫中髓过氧化物酶(MPO)、催产素(OXT)和检测患子宫内膜炎大鼠结肠中白介素 1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)以及结肠菌群的变化情况来确定治疗效果。结果表明:1)建模前后,空白对照组中 MPO 和 OXT 的浓度无显著性差异;建模 24 h,Nisin 组、大黄组方中和高剂量组中 MPO 的浓度显著降低;大黄组方高剂量组和阳性对照组中 OXT 的浓度显著高于阴性对照组和空白对照组,阴性对照组显著降低;建模 48 h,阴性对照组中 OXT 的浓度显著降低,且显著低于其他各组;建模 72 h,阴性对照组中 MPO 显著升高,OXT 的浓度显著降低,大黄组方高剂量组和阳性对照组可显著降低子宫中 MPO 的浓度和显著增加 OXT 的浓度。2)在结肠中,患子宫内膜炎大鼠在 0~72 h 阶段,阴性对照组中 IL-1 β 和 TNF- α 的浓度显著升高,大黄组方高剂量组、Nisin 组及阳性对照组中 IL-1 β 和 TNF- α 的浓度显著降低。3)Nisin 及大黄组方高剂量组显著增加结肠中乳酸杆菌和双歧杆菌的数量,显著减少大肠杆菌和肠球菌的数量。研究发现 Nisin 和大黄组方高剂量组可降低子宫内膜炎大鼠子宫中 MPO 和 OXT 的浓度,患子宫内膜炎大鼠使结肠中 IL-1 β 和 TNF- α 的浓度升高,Nisin、大黄组方高剂量组和阳性对照组可降低 IL-1 β 和 TNF- α 的浓度,还可以调节结肠中菌群结构。

关键词 大鼠; 乳酸链球菌素; 大黄组方; 子宫内膜炎; 结肠; 性激素; 致病性大肠杆菌

中图分类号 S853.75; S865.1

文章编号 1007-4333(2018)10-0080-08

文献标志码 A

Effects of nisin and rhubarb compounds on the colon of rats with endometritis

JIA Zhifeng¹, Aorigele², HE Meiling², ZHANG Xin^{1,3},

XU Jin¹, GAO Siming¹, WANG Chunjie¹

(1. College of Veterinary Medicine, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China;

2. College of Animal Science, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China;

3. College of Basic Medical, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China)

Abstract The aim of this study was to investigate the effects of nisin and rhubarb compounds on the endocrine regulation and colon inflammation of rats with endometritis, and to further reveal the relationship between endometritis and the colon. Excluding the blank control, the models in other groups were established by using *Escherichia coli*. ELISA kit was applied to detect MPO and OXT in rat's uterus. The IL-1 β and TNF- α in the colon of rat with endometritis were detected and the changes of colon flora to determine the therapeutic effect were also investigated. The results showed that: There was no significant difference in concentrations of MPO and OXT between groups at 0 h before modeling. At 24 h after modeling, the concentration of MPO in the middle and high dose of rhubarb compounds groups

收稿日期: 2017-12-28

基金项目: 国家自然科学基金项目(31760720);国家重点研发计划专项(2018YFD0500606)

第一作者: 贾知锋, 博士研究生, E-mail: sicau2016_1@163.com

通讯作者: 王纯洁, 教授, 博士生导师, 主要从事动物生理调控机制研究, E-mail: chunjiewang200@sohu.com

and nisin group were decreased. The concentration of OXT in the high dose of rhubarb compounds and the positive control group was higher than that in the negative control group and the blank control group, while that was decreased in the negative control group. After 48 hours of modeling, the concentration of OXT in the negative control group was significantly reduced. At 72 hours after the establishment of model, MPO in the negative control group was increased, and the concentration of OXT was decreased. In uterus, the concentration of MPO and OXT in high dose of rhubarb compounds and positive control group were significantly increased. 2) In the colon, the levels of IL-1 β and TNF- α in the negative control group were significantly increased during the 0 to 72 h. The concentrations of IL-1 β and TNF- α in high dose of rhubarb compounds groups, the nisin group, and the positive control group were significantly reduced. 3) In colon, the number of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* in high dose of rhubarb compounds groups and the nisin group increased, and the number of *Escherichia coli* and *Enterococcus* were decreased. In conclusion, the concentration of MPO and OXT were decreased in rats by applying the nisin and rhubarb compound. In rats with endometritis, the concentration of IL-1 β and TNF- α in the colon were increased. High doses of rhubarb compounds and the nisin group could regulate the structure of colonic microbiota.

Keywords rats; nisin; rhubarb compound; endometritis; colon; sex hormone; *Escherichia coli*

抗生素被广泛应用于母牛子宫内膜炎的预防和治疗,然而抗生素的滥用导致牛乳中残留和母牛耐药性增加^[1-2]。Yassour 等^[3]认为,抗生素可显著影响人类及动物肠道微生物的多样性,但其机制还尚不清楚。乳酸杆菌代谢产物(Nisin)可提高机体免疫力^[4-6],抗肿瘤^[7],降低胆固醇和调节肠胃^[8-9],抗癌等诸多功能^[10]。这类肽类物质在进入肠道后,在肠道定植形成一道天然屏障来抵御外来病原菌的入侵^[11]。Nisin 及大黄组方可影响子宫内结构 and 生理机能,对子宫内膜炎的治疗起促进作用,有望成为替代抗生素来治疗子宫内膜炎的绿色药物^[12]。在子宫内膜炎中髓过氧化物酶(Myeloperoxidase, MPO)的活性变化显著,是衡量机体免疫的一个重要指标,在中度结肠炎模型大鼠子宫中 MPO 的浓度显著增加^[13]。结肠炎可导致子宫发情周期紊乱,使催产素(OXT)产生受损^[14]。卵巢的生理周期循环和发情周期紊乱与大鼠结肠炎症存在一定的相关^[15],同时,结肠长期受周围组织炎症的影响可能会影响结肠的功能^[16]。然而,大黄组方和 Nisin 能否降低由 *E. coli* 所诱导的子宫内膜炎以及子宫内膜炎引发的结肠炎并发症的机制还尚不清楚,蒙药大黄的根和茎,具有泻下功效;长期或大量使用时泻下作用显著,导致对由病原菌所引起的疾病治疗效果不佳。因此,组方可缓解大黄单独使用时的不足。因此,本研究拟通过检测子宫内膜炎模型大鼠子宫中髓过氧化物酶(MPO)、催产素(OXT)、结肠中白介素 1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)浓度的变化以及定量分析结肠中大肠杆菌、肠球菌、双歧杆菌及乳酸杆菌的水平,评估 Nisin 和大

黄组方在 *E. coli* 所诱导的大鼠子宫内膜炎模型中起到的抗炎作用,并阐明 Nisin 及大黄组方潜在的抗炎机制。

1 材料与方法

1.1 试验动物

选 5~6 周龄分娩 5~6 d 的雌性 SD 大鼠 280 只(200 \pm 20 g),购自内蒙古大学动物中心。

1.2 试验材料

荷斯坦奶牛子宫内膜炎致病菌 *Escherichia coli* 及 Nisin 均由内蒙古农业大学牛生产学实验室分离、提取、保存;盐酸环丙沙星购自广州白云山制药股份有限公司;大黄组方(大黄、诃子、当归和连翘等本实验室配制的抑菌复方)购自内蒙古呼和浩特市京远大药房;MPO、OXT、TNF- α 和 IL-1 β 等 ELISA 试剂盒购自北京诚林生物科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 大黄组方药液的制备

大黄组方的制备见参考文献[12]。

1.3.2 试验动物模型的制作及给药方案

选择 5~6 周龄 280 只大鼠(雌)随机分成 7 个组,空白对照组、阴性对照组、阳性对照组、乳酸链球菌素组、大黄组方低、中、高剂量组灌胃(表 1)。各试验组连续灌胃 4 d,2 次/d(8:00, 16:00),每次 0.5 mL,第 4 天末次给药 2 h 后,通过子宫注菌 0.1 mL,再继续给药 3 d 分别为 24、48 和 72 h,并采集子宫和结肠组织各 0.1 g,用 PBS 洗净,与 0.9 mL 的 PBS 缓冲液在液氮中碾磨,3 000 g 超低温离心 20 min。收集上清液,-20 $^{\circ}$ C 保存,并按

ELISA 试剂盒说明书测定其 MPO、OXT、TNF- α 和 IL-1 β 的浓度变化情况。

表 1 体内抗菌试验分组情况及给药方案

Table 1 Grouping and dosage regimen of the antibacterial test *in vivo*

组别 Group	大鼠数量 No. of rats	给药方案 Administration program
空白对照组	40	不建模,灌服生理盐水。正常饲养。
阴性对照组	40	建模,注菌,灌服生理盐水。同上。
阳性对照组	40	建模,灌服环丙沙星 0.13 g/kg, 同上
乳酸链球菌素组	40	建模,灌服乳酸链球菌素组 0.1 mg/kg, 同上。
大黄复方低剂量组	40	建模,灌服大黄组方 0.25 g/kg, 同上。
大黄复方中剂量组	40	建模,灌服大黄组方 0.5 g/kg, 同上。
大黄复方高剂量组	40	建模,灌服大黄组方 1 g/kg, 同上。

注:单只动物单次所用剂量需用 0.5 mL 蒸馏水配合灌服。空白对照组、阴性对照组、阳性对照组、乳酸链球菌素和大黄复方高、中、低剂量组。组别翻译下同。

Note: Perdosage requires 0.5mL of distilled water in each animal. Blank control group, negative control group, positive control group, nisin, high, medium and low dose of rhubarb compound. The same below.

1.4 Nisin 对大鼠结肠微生物的影响

1.4.1 引物设计

引物设计参见文献[17],另根据双歧杆菌、大肠

杆菌、乳酸杆菌、肠球菌 V3 区设计特异性引物详情见表 2。以上引物均由大连宝生物科技有限公司合成。

表 2 大鼠结肠粪便中微生物引物

Table 2 List of primers for the detection of microbial in rat colonic feces

菌名 Bacteria	引物 Primer	序列 Sequence	退火温度/ $^{\circ}\text{C}$ Annealing temperature	片段长/bp Fragment length
双歧杆菌 <i>Bifidobacte</i>	上游引物 下游引物	5'-CTCCTGGAAACGGGTGG-3' 5'-GGTGTCTCTCCCGATATCAC-3'	59	550
乳酸杆菌 <i>Lactobacillus</i>	上游引物 下游引物	5'-AGCAGTAGGGAATCTTCCA-3' 5'-CACCGCTACACATGGAG-3'	65	241
肠球菌 <i>Enterococcus</i>	上游引物 下游引物	5'-CCCTTATTGTTAGTTGCCATCATT-3' 5'-ACTCCTTCTACTTCCCATTGT-3'	60	144
大肠杆菌 <i>E. coli</i>	上游引物 下游引物	5'-GTTAATACCTTTGCTCATTGA-3' 5'-ACCAGGGTATCTAATCCTGTT-3'	65	340

1.4.2 肠道目的菌群荧光 PCR 定量检测

DNA 的提取: Premix TaqTM、细菌基因组 DNA 提取试剂盒、琼脂糖凝胶等试剂盒, 购于天根公司(中国)。采用 TaKaRa 荧光定量 PCR 试剂盒, 25 μL 反应体系, 其中: SYBR Green Master Mix 12.5 μL ; 上下游引物各 0.5 μL ; DNA 模板 1 μL ; 加 ddH₂O 补齐。预变性 95 $^{\circ}\text{C}$ 7 min; 变性 95 $^{\circ}\text{C}$

7 s; 退火温度 15 s; 延伸 72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 80 $^{\circ}\text{C}$ 10 s 读取荧光信号, 共 45 个循环, 最后延伸 72 $^{\circ}\text{C}$ 5 min^[18]。通过对 PCR 产物进行溶解温度曲线分析来决定产物的特异性以此来获取不同基因的大肠杆菌、乳酸杆菌、双歧杆菌、肠球菌数量^[19]。

1.5 试验仪器

酶标仪(Synergy HT, 上海迭戈生物科技有限

公司);PCR 仪(Biosafar 公司,德国))。

1.6 数据统计

数据用平均数±标准差表示。采用 SAS9.0 进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 Nisin 和大黄组方对患子宫内膜炎大鼠组织匀浆中 MPO 和 OXT 的影响

以生理盐水为阴性对照组,盐酸环丙沙星为阳

性对照组见表 3。建模 0 h 时,各用药组中 MPO 的浓度均无显著性差异;建模给药 24 h 后,大黄组方低剂量组中 MPO 的浓度均显著高于其他各药物组 ($P<0.05$);建模给药 48 h 时,阴性对照组中 MPO 的浓度显著高于 Nisin 组、大黄组方中剂量组及大黄组方高剂量组,且大黄组方高剂量组与空白对照组无显著差异;建模 72 h 后,阴性对照组中 MPO 的浓度显著高于大黄组方中、高剂量组、Nisin 组和阳性对照组和空白对照组。

表 3 Nisin 和大黄组方对大鼠子宫中 MPO 的影响

Table 3 Effect of nisin and rhubarb compounds on myeloperoxidase in uterus of rats

组别 Group	U/L			
	0 h	24 h	48 h	72 h
空白对照组	2.88±0.06 Aa	2.97±0.31Ab	2.99±0.14 Abc	2.92±0.35 Abc
阴性对照组	2.19±0.22 Ca	3.59±0.04 Bb	3.98±0.21 Ba	4.68±0.33 Aa
阳性对照组	2.11±0.53 Ca	3.00±0.19 ABb	3.58±0.07 Aab	2.97±0.31 Bbc
Nisin 组	2.18±0.21 Ca	3.30±0.13 Ab	2.99±0.13 ABb	2.46±0.15 BCc
大黄组方低剂量组	2.31±0.17 Ca	4.66±0.08 Aa	3.75±0.34 Bab	4.04±0.13 ABab
大黄组方中剂量组	2.06±0.19 Ca	3.36±0.14 Bb	3.00±0.19 Bb	3.40±0.08 Bb
大黄组方高剂量组	2.26±0.02 Ba	2.86±0.06 Ab	2.45±0.15 ABc	1.23±0.19 Cd

注:大写字母不同表示同行 0~72 h 间差异显著($P<0.05$),小写字母不同表示同列差异显著($P<0.05$)。下同。

Note: Different capital letters within same raw mean significant differences at $P<0.05$, and different lower case letters within the same column indicate significant differences, The same below.

各药物对患鼠子宫中催产素(OXT)的调控见表 4。建模前 0 h 时,各用药组之间 OXT 的浓度均无显著性差异。建模 24 h 时,阴性对照组和空白对照组中 OXT 的浓度显著低于大黄组方高剂量组和

阳性对照组($P<0.05$)。建模 48、72 h 时,阴性对照组中 OXT 的浓度显著低于 Nisin 组、大黄组方高、中、低剂量组、阳性对照组及空白对照组($P<0.05$)。

表 4 Nisin 和大黄组方对大鼠子宫中催产素的影响

Table 4 Effect of nisin and rhubarb compounds on oxytocin in uterus of rats at different time points

组别 Group	ng/L			
	0 h	24 h	48 h	72 h
空白对照组	2.01±0.67 Aa	2.04±1.03 Ab	2.02±0.25 Ab	2.04±1.06 Ab
阴性对照组	2.03±1.03 Aa	1.94±1.08 Ab	1.14±0.03 Bc	0.50±0.14 Cc
阳性对照组	2.47±0.05 Ba	2.54±0.09 Ba	2.63±0.03 Bab	3.62±1.05 Aa
Nisin 组	2.44±0.10 ABa	2.26±1.04 Bab	2.91±0.06 Aa	2.92±0.04 Aa
大黄组方低剂量组	2.46±0.10 ABa	2.23±1.04 Bab	2.85±0.06 Aa	2.97±0.04 Aa
大黄组方中剂量组	2.82±0.04 Aa	2.18±0.04 Bab	2.81±0.09 Aa	2.97±0.08 Aa
大黄组方高剂量组	2.72±0.07 Ba	2.74±0.16 Ba	2.84±1.43 Ba	3.65±0.06 Aa

2.2 Nisin 和大黄组方对子宫内皮炎大鼠诱导的结肠中细胞因子的影响

建模前 0 h 时,各试验组中 IL-1 β 的浓度无显著变化见表 5。建模 24 h,阴性对照组和阳性对照组中 IL-1 β 的浓度显著高于空白对照组、Nisin 组、大黄组方低、中、高剂量组 ($P < 0.05$)。建模 48 h,

阴性对照组中 IL-1 β 的浓度显著高于其他各组;大黄组方高剂量组中 IL-1 β 的浓度显著低于其他各组 ($P < 0.05$)。建模 72 h,阴性对照组中 IL-1 β 的浓度显著高于其他各组;空白对照组、阳性对照组和大黄组方高剂量组中 IL-1 β 的浓度显著低于阴性对照组和大黄组方低剂量组 ($P < 0.05$)。

表 5 Nisin 和大黄组方对患子宫内皮炎大鼠结肠中 IL-1 β 活性的影响

Table 5 Effect of nisin and rhubarb compounds on the activity of IL-1 β in colon of rats with endometritis

组别 Group	ng/L			
	0 h	24 h	48 h	72 h
空白对照组	2.65 \pm 0.03Aa	2.84 \pm 0.04Ab	2.76 \pm 0.14 Ac	2.80 \pm 0.03 Ac
阴性对照组	2.54 \pm 0.02 Ca	4.08 \pm 0.04 Ba	4.55 \pm 0.04 ABA	5.11 \pm 0.07 Aa
阳性对照组	2.53 \pm 0.22 Ba	3.93 \pm 0.02 Aa	3.68 \pm 0.01 Ab	2.53 \pm 0.02 Bc
Nisin 组	2.46 \pm 0.05 Ba	2.77 \pm 0.03 ABb	3.01 \pm 0.15 Abc	2.92 \pm 0.35 Abc
大黄组方低剂量组	2.72 \pm 0.24 Ba	3.07 \pm 0.09 ABb	3.14 \pm 0.14 ABb	3.68 \pm 0.13 Ab
大黄组方中剂量组	2.44 \pm 0.31 Ba	3.33 \pm 0.23 Ab	3.41 \pm 0.42 Ab	2.91 \pm 0.35 ABbc
大黄组方高剂量组	2.35 \pm 0.21 Aa	2.77 \pm 0.28 Ab	2.19 \pm 0.35 Ad	2.33 \pm 0.32 Ac

建模前 0 h,各试验组中 TNF- α 的浓度均无显著差异见表 6。建模 24 h,阴性对照组中 TNF- α 的浓度显著高于空白对照组和阳性对照组 ($P < 0.05$)。建模 48 h,阴性对照组中 TNF- α 的浓度显

著高于其他各组;尤其大黄组方高剂量组中 TNF- α 的浓度最低。建模 72 h,大黄组方高剂量组和阳性对照组中 TNF- α 的浓度显著低于其他各组,尤其阴性对照组中 TNF- α 的浓度最高 ($P < 0.05$)。

表 6 Nisin 和大黄组方对患子宫内皮炎大鼠结肠中 TNF- α 的影响

Table 6 Effect of nisin and rhubarb compounds on tumor necrosis factor in colon of rats with endometritis

组别 Group	ng/L			
	0 h	24 h	48 h	72 h
空白对照组	27.94 \pm 0.32 Aa	27.03 \pm 0.31 Ab	27.25 \pm 0.32 Ac	27.30 \pm 0.32 Ac
阴性对照组	27.95 \pm 0.85 Da	30.15 \pm 0.36 Ca	37.07 \pm 0.43 Ba	40.80 \pm 0.46 Aa
阳性对照组	27.88 \pm 0.36 Aa	27.80 \pm 0.34 Ab	25.56 \pm 0.45 Ac	22.38 \pm 0.40 Be
Nisin 组	27.59 \pm 0.34 Aa	28.04 \pm 0.36 Aab	27.98 \pm 0.65 Ac	24.83 \pm 0.32 Bd
大黄组方低剂量组	27.82 \pm 0.32 Ba	29.35 \pm 0.36 Bab	32.32 \pm 0.38 Ab	34.19 \pm 0.39 Ab
大黄组方中剂量组	27.53 \pm 0.85 Ba	30.68 \pm 0.37 Aa	31.32 \pm 0.37 Ab	32.54 \pm 0.38 Ab
大黄组方高剂量组	27.18 \pm 0.34 Aa	28.18 \pm 0.42 Aab	25.75 \pm 0.25 Bc	22.64 \pm 0.29 Ce

2.3 Nisin 和大黄组方对大鼠结肠微生物的影响

Nisin 及大黄组方对子宫内皮炎大鼠结肠中菌群的影响见表 7。Nisin 组、大黄组方高剂量组、盐酸环丙沙星组及空白对照组中 *E. coli* 的水平显著低于其他各组。阴性对照组中肠球菌的数量显著高

于其他各组, Nisin 组、大黄组方高剂量组中肠球菌的数量显著低于其他各组 ($P < 0.05$),阴性和盐酸环丙沙星组显著下降 ($P < 0.05$)。Nisin 组、大黄组方中、高剂量组及阳性对照组中双歧杆菌和乳酸杆菌的数量显著高于其他各组 ($P < 0.05$)。

表 7 Nisin 和大黄组方对大鼠结肠微生物的影响

Table 7 Effect of nisin and rhubarb compounds on microorganism in colon of rats

组别 Group	CFU/g						
	空白对照组 Blank control	阴性对照组 Negative control	阳性对照组 Positive control	Nisin 组 Nisin	组方低剂量 Low dose	组方中剂量 Medium dose	组方高剂量 High dose
大肠杆菌	4.91±0.87 Cb	6.49±0.08 Bb	4.93±0.95 Bb	4.14±0.25 Cb	6.18±0.15 Ba	6.32±0.24 Ba	4.23±0.31 Cb
肠球菌	6.12±0.94 Bb	8.49±0.16 Aa	6.21±0.35 Ab	2.21±0.05 Dd	6.09±0.21 Bb	5.21±0.07 Cbc	4.11±0.10 Cc
乳酸杆菌	6.21±0.05 Bb	4.21±0.22 Cc	4.96±0.18 Bc	8.92±0.22 Ba	6.47±0.20 ABb	6.78±0.19 Bb	8.23±0.54 Ba
双歧杆菌	7.24±0.76 Ac	6.44±0.77 Bcd	6.10±0.28 Ad	11.34±0.96 Aa	7.21±0.08 Ac	10.03±0.79 Ab	11.21±0.85 Aa

3 讨论

已有研究表明从动物子宫分离出的致病菌主要为大肠杆菌^[20-21]。子宫内膜炎与炎症介质的改变密切相关^[22]。大肠杆菌可诱导炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 等的分泌, Nisin 可调节宿主免疫反应, 提高宿主免疫能力及显著降低炎症因子 TNF- α 水平^[23]。Nisin 对耐甲氧西林肠球菌感染的大鼠模型治疗效果显著优于抗生素, 并且 Nisin 对肠球菌引起的呼吸道疾病具有显著的治疗效果^[24], 其机理是由于 Nisin 的肽聚糖前体分子在结合脂质时, Nisin 嵌入到细菌细胞膜中, 因膜快速去极化导致细菌细胞死亡^[25-26]。动物在适量摄入 Nisin 后, 在其消化道内很快被蛋白水解酶消化成氨基酸^[27]。Nisin 对革兰氏阳性菌具有抗菌活性, 特别是对肠球菌和李斯特菌, Nisin 的抗菌活性通过不同结构域活性的双重作用来抑制和干扰细胞壁的生物合成以及细菌溶质的损伤^[28]。大黄是具有杀菌、抑菌活性, 是含有多种抗炎免疫成分的天然药物^[29]。已有报道这类天然药物在抗炎、治疗传染性疾病方面具有显著性效果^[30-31]。大黄素通过抑制大肠杆菌内毒素的释放抑制大肠杆菌。本研究中, 建模 0~72 h, 阴性对照组中 MPO 的浓度显著升高, OXT 的浓度显著降低, 而大黄组方高剂量组、Nisin 组及阳性对照组中 MPO 显著降低, OXT 显著升高。可见, 大黄组方高剂量组、Nisin 组及阳性对照组通过调节该类激素平衡, 达到了治疗子宫内膜炎的效果。

结肠的炎症发生以细胞因子 IL-1 β 等增加为主, 大鼠结肠炎模型中 TNF- α 和 IL-1 β 的浓度显著升高, 表明 TNF- α 和 IL-1 β 在大鼠和人类急性结肠炎中大量产生^[32]。体外子宫收缩试验表明, MPO 的浓度与炎症因子(IL-1 β 和 TNF- α) 在子宫和结肠

两者之间起重要作用^[13]。

动物结肠中定植了大量的细菌, 肠道内的有益菌和宿主共同构成了肠粘膜微生物屏障, 若这道屏障被破坏, 将导致致病菌如大肠杆菌等的入侵和定植。肠道内致病菌和益生菌如: 双歧杆菌、乳酸杆菌等数量的变化是肠道健康的重要指标^[33]。本研究表明, 阴性对照组中大鼠子宫内膜炎 0~72 h, 结肠中阴性对照组中 IL-1 β 和 TNF- α 的浓度和大肠杆菌、肠球菌的数量显著升高, 而 Nisin 组、大黄组方高剂量组及阳性对照组一方面显著降低 IL-1 β 和 TNF- α 的浓度, 并且益菌乳酸杆菌和双歧杆菌的水平显著升高。

4 结论

综上所述, 致病性大肠杆菌使 MPO 的浓度显著升高, OXT 的浓度显著降低, 而 Nisin 和大黄组方可显著降低 MPO 和提高 OXT 的浓度, 很可能有利于改善子宫内环境平衡。患子宫内膜炎大鼠在 0~72 h 阶段, 结肠中 IL-1 β 和 TNF- α 的浓度显著增加, 说明子宫内膜炎会增加患结肠炎的风险。Nisin 和大黄组方高剂量组一方面降低了 IL-1 β 和 TNF- α 的浓度, 另一方面增加了结肠中益生菌的水平。表明 Nisin、大黄组方具有抗炎潜力和抗炎效果, 其生物学功能和机理有待进一步研究。

参考文献 References

- [1] Eslami M, Bolourchi M, Seifi H A, Asadi F, Akbari R. Treatment of clinical endometritis in dairy cows by previously used controlled internal drug release devices[J]. *Theriogenology*, 2015, 84(3): 437-445
- [2] Mari G, Iacono E, Toni F, Predieri P G, Merlo B. Evaluation of the effectiveness of intrauterine treatment with formosulphathiazole of clinical endometritis in postpartum dairy cows [J].

- Theriogenology*, 2012, 78(1): 189-200
- [3] Yassour M, Vatanen T, Siljander H, Hämäläinen A M, Härkönen T, Ryhänen S J, Franzosa E A, Vlamakis H, Huttenhower C, Gevers D, Lander E S, Knip M, Xavier R J. Natural history of the infant gut microbiome and impact of antibiotic treatments on strain-level diversity and stability[J]. *Science Translational Medicine*, 2016, 8(343): 343ra81
- [4] Shu Q, Bird S H, Gill H S, Rowe J B. Immunological cross-reactivity between the vaccine and other isolates of *Streptococcus bovis* and *Lactobacillus*[J]. *Fems Immunology and Medical Microbiology*, 1999, 26(2): 153-158
- [5] Vollaard E J, Clasener H A. Colonization resistance [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1994, 38(7): 409-414
- [6] Eslami M, Bolourchi M, Seifi H A, Asadi F, Akbari R. Treatment of clinical endometritis in dairy cows by previously used controlled internal drug release devices [J]. *Theriogenology*, 2015, 84(3): 437-445
- [7] Fasquale P, Ivana C, Nadia T, Olimpia V, Maria D A, Marco G, Raffaella D C. Lactic acid fermentation of cactus cladodes (*Opuntia ficus-indica* L) generates flavonoid derivatives with antioxidant and anti-inflammatory properties[J]. *Plos One*, 2016, 11(3): e0152575
- [8] Rao D R, Chawan C B, Pulusani S R. Influence of milk and *Thermophilus* milk on plasma cholesterol and hepatic cholesterogenesis in rats[J]. *Journal of Food Science*, 2010, 46(5): 1339-1341
- [9] Pearce J. Effects of milk and fermented dairy products on the blood cholesterol content and profile of mammals in relation to coronary heart disease [J]. *International Dairy Journal*, 1996, 6(7): 661-672
- [10] 高学云, 芒来. 发酵乳中功能性乳酸菌的研究进展[J]. 内蒙古科技与经济, 2007, (17): 16
Gao X Y, Mang L. Research progress of functional Lactic acid bacteria in fermented milk[J]. *Inner Mongolia Science*, 2007, (17): 16(in Chinese)
- [11] 王运东, 张俊秀, 韩真. 微生态制剂干预肠易激综合征患者疗效 meta 分析[J]. 中国微生态学杂志, 2011, 23(6): 543-545
Wang Y D, Zhang J X, Han Z. A meta-analysis of efficacy of probiotics on patients with irritable bowel syndrome [J]. *Chinese Journal of Microecology*, 2011, 23(6): 543-545 (in Chinese)
- [12] 贾知锋, 王纯洁, 敖日格乐, 贺美玲, 徐进, 高瑞娟, 阿琪玛. Nisin 及大黄复方对子宫内膜炎大鼠血清中 MMP-2 和 MMP-9 活性的影响[J]. 中国农业大学学报, 2017, 22(6): 109-115
Jia Z F, Wang C J, Ao-ri-ge-le, He M L, Xu J, Gao R J, A Q M. Effect of nisin and Rhubarb compound on the activity of serum MMP-2 and MMP-9 in the endometritis of rats[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2017, 22(6): 109-115(in Chinese)
- [13] Houdeau E, Larauche M, Monnerie R, Bueno L, Fioramonti J. Uterine motor alterations and estrous cycle disturbances associated with colonic inflammation in the rat[J]. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 2005, 288: 630-637
- [14] Heitkemper M M, Cain K C, Jarrett M E, Burr R L, Hertig V, Bond E F. Symptoms across the menstrual cycle in women with irritable bowel syndrome[J]. *American Journal of Gastroenterology*, 2003, 98: 420-430
- [15] Tabb T N, Garfield R E. Molecular biology of uterine contractility[J]. *Clinical Obstetrics & Gynecology*, 1992, 35(3): 494-504
- [16] Kelly R W. Inflammatory mediators and parturition [J]. *Reviews of Reproduction*, 1996, 1(2): 89-96
- [17] Rinttilä T, Kassinen A, Malinen E, Krogus L, Palva A. Development of an extensive set of 16S rDNA-targeted primers for quantification of pathogenic and indigenous bacteria in faecal samples by real-time PCR [J]. *Applied Microbiology*, 2009, 297(1): 31-37
- [18] 胡锦涛. 实时定量 PCR 分析肠道正常菌群及其在实验性肝损伤研究中的初步应用[D]. 重庆: 第三军医大学, 2008
Hu J H. Quantitative analysis of intestinal flora status in different large intestinal segments of SD rats with hepatic injury by Real-Time PCR [D]. Chongqing: Third Military Medical University of Chinese, 2008(in Chinese)
- [19] 王斌, 李京京, 李秋荣, 李幼生, 李宁, 黎介寿. 乳杆菌对致病性大肠杆菌感染大鼠肠黏膜屏障功能的影响[J]. 肠外与肠内营养, 2007, 14(6): 321-325.
Wang B, Li J J, Li Q R, Li Y S, Li N, Li J S. Effect of *Lactobacillus* in the intestinal barrier function on enteropathogenic *Escherichia coli* infected mice [J]. *Parenteral and Enteral Nutrition*, 2007, 14(6): 321-325(in Chinese)
- [20] Amos M R, Healey G D, Goldstone R J, Mahan S M, Düvel A, Schuberth H J, Sandra O Z, Zieger P, Diezy-Labaye I, Smith D G, Sheldon I M. Differential endometrial cell sensitivity to a cholesterol-dependent cytolysin links *Trueperella pyogenes* to uterine disease in cattle[J]. *Biology of Reproduction*, 2014, 90(3): 182-190
- [21] Xu D J, Xiong H L, Xiao Z L, He J, L, Liao Q, Xue L Q, Wang N D, Yang Q. Uterine cytokine profile in a rat model of endometritis [J]. *American Journal of Reproductive Immunology*, 2015, 73(3): 214-220
- [22] Gutowska I, Baranowska-Bosiacka I, Goschorska M, Kolasa A, Lukomska A, Jakubczyk K, Dec K, Chlubek D. Fluoride as a factor initiating and potentiating inflammation in THP1 differentiated monocytes/macrophages [J]. *Toxicology in Vitro*, 2015, 29(7): 1661-1668
- [23] Kindrachuk J, Jenssen H, Elliott M, Nijnik A, Magrangeas-Janot L, Pasupuleti M, Thorson L, Ma S, Easton D M, Bains M, Finlay B, Breukink E J, Sahl H G, Hancock R E.

- Manipulation of innate immunity by a bacterial secreted peptide; Lantibiotic nisin Z is selectively immunomodulatory [J]. *Innate Immunity*, 2012, 19(3): 315-327
- [24] Kwaadsteniet M D, Doeschate K T, Dicks L M T. Nisin F in the treatment of respiratory tract infections caused by *Staphylococcus aureus* [J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2009, 48(1): 65-70
- [25] Hsu S T, Breukink E, Tischenko E, Lutters M A, Kruijff D B, Kaptein R, Bonvin A M, Van Nuland N A. The Nisin-lipid II complex reveals a pyrophosphate cage that provides a blueprint for novel antibiotics [J]. *Nature Structural and Molecular Biology*, 2004, 11(10): 963-967
- [26] 赵茹茜. 译. Dukes 家畜生理学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2014
- Zhao R Q. *Dukes Livestock Physiology* [M]. Beijing: China Agricultural Publishing House, 2014 (in Chinese)
- [27] Giaouris E, Briandet R, Meyrand M, Courtin P, Pierre M, Chartier C. Variations in the degree of dalanylation of teichoic antimicrobials but have no effect on bacterial surface hydrophobicity and charge [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(15): 4764-4767
- [28] Champion A, Casey P G, Field D, Cotter P D, Hill C, Ross R P. *In vivo* activity of nisin A and nisin V against listeria monocytogenes in mice [J]. *Bmc Microbiology*, 2013, 13(1): 81-102
- [29] 张燕, 敖日格乐, 王纯洁, 姜晶, 赵称赫, 曹晓波. 乳酸链球菌素与大黄联合作用对牛源致病性 *Escherichia coli* O78 的抑菌作用 [J]. 中国农业大学学报, 2016, 21(7): 92-97
- Zhang Y, AO-ri-ge-le, Wang C J, Jiang J, Zhao C H, Cao X B. Study on the antibacterial mechanism of nisin combined with rhubarb on bovine pathogenic *Escherichia coli* O78 [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2016, 21(7): 92-97 (in Chinese)
- [30] Pitschmann A, Pureuren S, Obmann A, Natsagdorj D, Gunbilig D, Narantuya S, Kletter C H, Glast S. Traditional Mongolian medicine: history and status quo [J]. *Phytochemistry Reviews*, 2013, 12(4): 943-959
- [31] 常明向, 章晶, 陈科力. 黄连、赤芍及大黄对大肠杆菌内毒素释放的影响 [J]. 中成药, 2007, 29(5): 752-753
- Chang M X, Zhang J, Chen K L. Effects of Rhizoma Coptidis, radix paeoniae rubra and rhubarb on the release of *Escherichia coli* endotoxin [J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2007, 29(5): 752-753 (in Chinese)
- [32] Rivest S, Rivier C. Interleukin-1 β inhibits the endogenous expression of the early gene c-fos located within the nucleus of LH-RH neurons and interferes with hypothalamic LH-RH release during proestrus in the rat [J]. *Brain Research*, 1993, 613(1): 132-142
- [33] 陈玉洁. 酸马奶源酵母菌代谢物对致病性大肠杆菌的抑菌作用机理研究 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2015
- Chen Y J. Study of antibacterial mechanism of yeasts metabolites from koumiss on pathogenic *Escherichia coli* [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2015 (in Chinese)

责任编辑: 杨爱东