

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

贾知锋¹ 王纯洁^{1*} 敖日格乐² 贺美玲² 徐进¹ 高瑞娟¹ 阿琪玛²

(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 动物科学学院, 呼和浩特 010018)

摘要 为研究乳酸链球菌素(nisin)及大黄复方对患大鼠子宫内膜炎血清中基质金属蛋白酶-2、基质金属蛋白酶-9(MMP-2、MMP-9)的作用,构建大鼠子宫内膜炎模型,将280只SD大鼠随机分为nisin组、低、中、高剂量大黄复方组、阳性对照组、生理盐水组以及模型组,建子宫内膜炎模型前0h和建模后24、48、72h,用ELISA试剂盒检测各试验组中基质金属蛋白酶(MMPs)和基质金属蛋白抑制物(TIMPs)的变化情况来确定治疗效果。结果表明:1)在0~72h之间,模型组中,MMP-9和TIMP-1的质量浓度显著低于生理盐水组($P < 0.05$),且MMP-2和TIMP-2的质量浓度逐渐降低;2)nisin和高剂量大黄复方组中MMP-9、TIMP-1、MMP-2和TIMP-2的质量浓度均显著高于生理盐水组($P < 0.05$),其中以nisin组和高剂量大黄复方组效果最佳。由此可见,nisin和高剂量大黄复方能显著提高子宫内膜炎大鼠血清中TIMP-1和TIMP-2的表达,抑制MMP-9和MMP-2的活性而发挥调控子宫内生理机能的作用,表明nisin、中、高剂量大黄复方对MMP-9、TIMP-1和MMP-2的质量浓度具有正调控作用。

关键词 nisin;大黄复方;子宫内膜炎;基质金属蛋白酶;基质金属蛋白抑制物

中图分类号 S853.75; S865.1

文章编号 1007-4333(2017)06-0109-07

文献标志码 A

Effects of nisin and rhubarb compound on the activity of serum MMP-2 and MMP-9 in the endometritis of rats

JIA Zhifeng¹, WANG Chunjie^{1*}, Aorigele², HE Meiling², XU Jin¹, GAO Ruijuan¹, Aqima²

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

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

Abstract Aim of this study was to investigate the influence of *Streptococcus thermophilus* (nisin) and rhubarb compound on the activity of serum matrix metalloproteinases (MMP)-2 and MMP-9 in the endometritis of rats. The endometritis model of rat was constructed, and a total of 280 SD rats were randomly divided into nisin group, low, medium and high doses of rhubarb compound groups, antibiotic group, saline group and model group. Models of endometritis were constructed at 0 h and modeling after 24, 48, 72 h, and the changes of the experimental group of matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitor metalloproteinases (TIMPs) were detected by ELISA to determine the therapeutic effects. The results showed that: 1) From 0 to 72 h, the concentration of MMP-9 and TIMP-1 in the model group was significantly lower than those in the normal saline group ($P < 0.05$) and the concentration of MMP-2 and TIMP-2 decreases gradually; 2) In the nisin and high dose of rhubarb compound group, the concentration of MMP-9, TIMP-1, MMP-2 and TIMP-2 were significantly higher than those in the normal saline group ($P < 0.05$), in which the nisin group and high dose of rhubarb compound group showed the best effects. In conclusion, nisin and high dose of rhubarb compound significantly improved the expression in serum of TIMP-1 and TIMP-2 in endometritis of rats, inhibited the activity of MMP-9 and MMP-2 and played the role of regulation for the womb physiological function, showing that the

收稿日期: 2016-05-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(31260590); 国家科技支撑项目(2015BAD29B06)

第一作者: 贾知锋, 硕士研究生, 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

concentration of nisin, medium and high dose of rhubarb compound had a positive effect on the concentration of MMP-9, TIMP-1 and MMP-2.

Keywords nisin; rhubarb compound; endometritis; matrix metalloproteinases; tissue inhibitor metalloproteinases

在实际生产中, 抗生素被广泛用于奶牛子宫内膜炎的预防和治疗, 然而抗生素的滥用常会导致其在乳中残留及耐药性的产生^[1], 于是人们开始寻求一种天然药物来代替抗生素。乳酸链球菌素(nisin)为乳酸乳球菌乳酸亚种, 是乳发酵过程中, 通过核糖体合成机制产生的一种多肽抗菌类物质^[2]。作为绿色环保型新产品, nisin 具有杀菌、无毒、耐高温、无残留、不产生耐药性等优点, 有望替代抗生素^[3]。乳酸链球菌素的肽聚糖前体分子在结合脂质 II 时, 乳酸链球菌素嵌入到细胞膜中, 导致膜快速去极化和细菌细胞死亡^[4]。研究表明, 单剂量的乳酸链球菌素可抑制小鼠腹腔内金黄色葡萄球菌(1×10^8 cfu/mL)的代谢活动^[5]。大黄是具有杀菌、抑菌、并含有多种抗炎免疫等有效成分的天然药物^[6], 这类天然药物可用来抗炎、治疗传染性疾病, 而作为抗菌的蒙药复方的组分疗效显著^[7]。其中含有药物成分大黄素对大肠杆菌抑菌能力较强, 其抑菌机制是破坏大肠杆菌的细胞壁以及细胞膜, 从而使细胞壁丧失防御能力, 细胞膜内的内容物外流, 使其自身的运输功能发生改变, 对跨膜信号传递产生阻碍, 并抑制大肠杆菌增殖及其内毒素的释放^[8]。目前, 由致病性大肠杆菌和金黄色葡萄球菌所引发的各类疾病普遍采用抗生素治疗, 但是抗生素的滥用会引起多种问题(如: 家畜免疫力降低等)^[9]。因此, 人们开始寻求替代抗生素的绿色环保型新产品。蒙药大黄的根和茎, 具有泻下功效^[10]; 但长期或大量使用时泻下作用明显, 从而, 对由病原菌所引起的疾病治疗效果不明显。因此, 本课题组一直从事研究大黄复方来治疗大鼠子宫内膜炎病, 从而, 弥补大黄单独使用时的不足和拓宽大黄的抑菌谱; 并且寻找出新型产品 nisin 对拓宽抑菌谱具有重要的现实意义和经济意义。但目前在中和大黄导致家畜腹泻及 nisin 对病原菌所引起的大鼠子宫内膜炎体内抗菌方面的研究较少。从而, 为寻找防治奶牛子宫内膜炎绿色环保途径, 采用 nisin 和大黄复方对病原微生物进行体内抗菌研究, 通过 ELISA 检测基质金属蛋白酶(Matrix metalloproteinases, MMPs)和基质金属蛋白抑制剂(Tissue inhibitor metalloproteinases, TIMPs)来监测子宫内膜炎的病程及疗效, 同时, 对

nisin 和大黄复方体内抗菌机理做初步探究, 旨在为临床治疗及联合用药提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物

选 6~8 周龄分娩过的雌性 SD 大鼠(200±20) g 280 只, 购自内蒙古大学动物中心。

1.1.2 受试菌及药物

荷斯坦奶牛子宫内膜炎致病菌 *Escherichia coli* 和 *Staphylococcus aureus* 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; 大黄复方(大黄、诃子和连翘本实验室配制抑菌复方)购自内蒙古呼和浩特市京远大药房; 基质金属蛋白酶-2(MMP-2)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、基质金属蛋白抑制剂-1(TIM-1)和基质金属蛋白抑制剂-2(TIM-2)ELISA 试剂盒, 均购自北京诚林生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 试验分组及给药方案

将试验分为 7 个组别, 每组 10 只大鼠, 其分别是模型组、生理盐水组、阳性对照组、乳酸链球菌素组、大黄复方低、中、高剂量组。同时, 除生理盐水组外, 其余各组通过子宫灌注致病混合菌建模并且灌服相应的试验药品(表 1)。

1.2.2 子宫内膜炎致病菌的培养和乳酸链球菌素的制备

荷斯坦奶牛子宫内膜炎致病菌 *Escherichia coli* 和 *Staphylococcus aureus* 分别接种于肉汤中, 37 °C 培养至对数期 18~24 h, 调整混合指示菌为 1×10^9 cfu/mL; nisin 溶液: 将保存于实验室的 nisin 在使用前用生理盐水溶解, 配成 0.1 mg/mL(现配现用, 时间过长或隔夜会影响试验效果)。

1.2.3 大黄复方的制备

称取大黄、诃子和连翘放入过滤袋, 置于 500 mL 蒸馏水, 室温浸泡 24 h, 煮沸 1.5 h, 药液过滤, 滤渣加入 250 mL 水, 煮沸 1 h 过滤, 2 次药液小火浓缩至 50 mL(即药液中所含生药量为 1 g/mL)

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	大鼠个数/只 No. of rat	给药方案 Administration program
模型组	10	建模, 注菌, 但不灌服任何试验药品
阳性对照组	10	建模, 灌服环丙沙星 0.13 g/kg, 后续方法 同上
乳酸链球菌素组	10	建模, 灌服乳酸链球菌素组 0.1 mg/mL ^[11] , 后续方法同上
大黄复方低剂量组	10	建模, 灌服传统蒙药复方 0.5 g/kg (b·w), 后续方法同上
大黄复方中剂量组	10	建模, 灌服传统蒙药复方 0.025 g/kg (b·w), 后续方法同上
大黄复方高剂量组	10	建模, 灌服传统蒙药复方 1 g/kg (b·w), 后续方法同上

注: 以上复方粉剂及环丙沙星每次配合蒸馏水灌服, 单只动物单次所用剂量需用 0.3 mL 蒸馏水配合灌服, b·w 表示大鼠体重。

Note: Above compound powder and ciprofloxacin were applied with distilled water. In each dosage required 0.3 mL of distilled water in each animal. b·w is the body weight of rat.

分别用生理盐水二倍稀释成 0.500 和 0.025 g/mL, 即为大黄复方中剂量和低剂量), 121 °C 高压灭菌, 4 °C 保存^[12]。

1.2.4 试验动物模型的制作

将分娩后 1 周的大鼠, 用碘酊棉擦拭阴道周围, 用自制阴门开口器打开阴门, 用针尖磨秃的 7 号灌胃针灌注试验菌液 (1×10^9 cfu/mL), 即刻将大鼠倒立 15 s, 并在注菌前 0 h 和注菌后 24、48 及 72 h 各试验组大鼠眼球采血、离心分离血清 (-20 °C 保存), 并按 ELISA 试剂盒说明书测定其 MMP-2/TIMP-2, MMP-9/TIMP-1 的变化情况。

1.3 数据统计

采用 SAS 9.0 统计软件 ANOVA 对数据进行方差分析, $P < 0.05$ 为有显著性差异。所有数据用

$\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果与分析

2.1 混合菌对大鼠子宫的影响

以生理盐水为对照组, 混合菌液 (1.0×10^9 cfu/mL) 为试验组, 随着时间的增加试验组子宫长和子宫重逐渐增加。在 0~72 h 时, 试验组的大鼠子宫长和子宫重与对照组相比差异显著 ($P < 0.05$) (表 2)。灌注混合菌后, 大鼠出现厌食, 被毛蓬松, 精神不振, 少数可见阴门处有红棕色黏液流出。剖检子宫充血、肿大、增厚、子宫内部有蓄脓现象。将黏液接种于 EMB 和甘露醇平板上培养后革兰氏染色、镜检、染色、形态都符合接种菌的特征。

表2 不同时间控制点混合菌对大鼠子宫的影响

Table 2 Effects of mixed bacteria on rats uterus at different times

项目 Item	建模时间/h Modeling time				
	0	24	48	72	
子宫长/cm	空白对照组	3.17 ± 0.29 A	3.06 ± 0.17 A	3.63 ± 0.23 A	3.37 ± 0.32 A
	菌液 (1.0×10^9 cfu/mL)	3.27 ± 0.15 A	4.30 ± 0.26 B	4.50 ± 0.50 B	5.30 ± 0.96 B
子宫重/g	空白对照组	0.36 ± 0.03 B	0.34 ± 0.02 B	0.35 ± 0.03 B	0.36 ± 0.02 B
	菌液 (1.0×10^9 cfu/mL)	0.36 ± 0.03 B	0.65 ± 0.05 C	0.68 ± 0.01 CD	0.94 ± 0.11 E

注: 同列大写字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: The different capital on the same column in the table means significant difference ($P < 0.05$).

2.2 nisin 及大黄复方对大鼠血清中基质金属蛋白酶的影响

由表 3 可见,以不建模生理盐水为阴性对照组,模型组作为建模不给药的对照,盐酸环丙沙星为阳性对照组。建模前 0 h 时,除模型组外,所有用药组中 MMP-9 的质量浓度显著低于生理盐水组($P < 0.05$),其中蒙药复方低、中剂量最低。建模 24 h 后,模型组中 MMP-9 的质量浓度显著降低($P < 0.05$),nisin 组、大黄复方中、高剂量组及阳性对照组之间 MMP-9 的质量浓度相当,且与生理盐水组相比差异不显著($P > 0.05$)。48 h 后,模型组中 MMP-9 的质量浓度显著降低($P < 0.05$),大黄复方低剂量组显著低于其他各用药组,但显著高于模型组($P < 0.05$),nisin 组、大黄复方中、高剂量组、阳性对照组与生理盐水组持平。72 h 时,模型组中 MMP-9 的质量浓度显著降低($P < 0.05$),nisin 组、大黄复方中、高剂量组及阳性对照组之间 MMP-9 的质量浓度差异不显著($P > 0.05$),均高于生理盐水组,尤其 nisin 组、大黄复方中、高剂量组对 MMP-9 的作用效果显著。

由表 3 可见,在建模 0 h 前,nisin、大黄复方组及阳性对照组中 TIMP-1 的质量浓度显著高于模型组及生理盐水组($P < 0.05$),尤其以大黄复方高剂量组中 TIMP-1 的质量浓度最高。在建模 24 h 后,模型组持续降低,显著低于其他各组($P < 0.05$),大黄复方低、中、高剂量组均显著高于其他各组,尤其以高剂量组效果最高。建模 72 h 后,模型组中 TIMP-1 的质量浓度显著低于其他各组($P < 0.05$),nisin 组、大黄复方各剂量组及阳性对照组均显著高于生理盐水组,而模型组 0~72 h 持续降低($P < 0.05$),除生理盐水组和模型组外,其他各组均显著升高($P < 0.05$)。总之,在 nisin 和低、中、高剂量大黄复方以及盐酸环丙沙星的作用下,MMP-9 质量浓度的升高常伴随着 TIMP-1 的质量浓度的升高。

由表 4 可见,建模 0 h 前,大黄复方低剂量中 MMP-2 的质量浓度显著低于其他各组($P < 0.05$),nisin 组、大黄复方中、高剂量及模型组接近于生理盐水组,而阳性对照组显著高于生理盐水组($P < 0.05$)。建模 24 h 后,模型组显著降低($P < 0.05$),而 nisin 组、大黄复方中、高剂量组及阳性对照组显著高于生理盐水组和模型组,且相比于 0 h MMP-2 的质量浓度显著升高,其中以阳性对照组效果最佳。48 h 后,模型组中 MMP-2 的质量浓度显著降低,且

显著低于其他各组($P < 0.05$),各用药组显著高于生理盐水组($P < 0.05$)。建模 72 h 后,模型组中 MMP-2 的质量浓度显著降低($P < 0.05$),且低于其他各组;nisin 组、大黄复方中、高剂量组显著升高,均高于生理盐水组($P < 0.05$),尤其 nisin 对 MMP-2 的质量浓度具有良好的调控作用。

由表 4 可见,在建模前 0 h 时,相比于生理盐水组,nisin 组、大黄复方低、中、高剂量对 TIMP-2 的质量浓度均显著提高($P < 0.05$),其中以大黄复方低剂量组最高。建模 24 h 后,模型组、nisin 组、大黄复方低、中、高剂量组及阳性对照组均显著低于 0 h($P < 0.05$),但是 24 h 时间点,nisin 组、大黄复方各剂量组显著高于生理盐水组和模型组($P < 0.05$)。48 h 后,模型组显著降低($P < 0.05$),而 nisin 组、大黄复方中、高剂量组以及阳性对照组对 TIMP-2 的质量浓度均显著提高($P < 0.05$),尤其以大黄复方高剂量组突出。72 h 后,模型组和大黄复方低、中剂量组显著低于阳性对照组($P < 0.05$),且模型组显著低于生理盐水组,而 nisin 组与大黄复方高剂量组显著高于生理盐水组($P < 0.05$),但二者之间无显著性差异。

3 讨论

基质金属蛋白酶(Matrix metalloproteinases, MMPs)家族是一组结构相关的锌依赖性内肽酶,由成纤维细胞、血管壁内皮细胞、巨噬细胞和中性粒细胞产生^[13],通常破坏基底膜和其他细胞外基质,在子宫内膜细胞中均有表达。在子宫管腔上皮细胞的变性、增生、子宫积液和重塑过程中,基质金属蛋白酶和基质金属蛋白抑制物(Tissue inhibitor metalloproteinases, TIMPs)起到重要效应因子的作用^[14-15]。TIMPs 与 MMPs 结合(1:1)形成复合物,从而抑制酶的活性可终止 MMPs 的水解活性^[16-17]。研究发现,子宫内膜炎并发不孕症时血清中 MMP-2 和 MMP-9 的活性降低^[18]。Soboleva 等^[19]发现慢性子宫内膜炎与自然流产患者血清中 MMP-2 和 MMP-9 的质量浓度均显著降低,认为胚胎着床失败也许与 MMP-2 和 MMP-9 的活性降低有关。慢性子宫内膜炎患者中 MMP-2 和 MMP-9 的变化可以反映出子宫内该类蛋白表达量失衡,并认为在子宫中 MMP-9 的质量浓度下降常增加自然流产的风险。本试验表明,在 0~72 h 之间,模型组中细菌使 MMP-2 和 TIMP-2 的质量浓度持续降

表 3 nisin 及大黄复方对子宫内膜炎血清中 MMP-9/TIMP-1 表达量的影响

Table 3 Effect of nisin and rhubarb compound on expression of MMP-9/TIMP-1 in serum of endometritis

指标 Index	建模 时间/h Modeling time	试验组 Experimental groups						模型组 Model group
		生理盐水 Control group	乳酸链球菌素 Nisin group	大黄复方低剂量 Low dose group	大黄复方中剂量 Medium dose group	大黄复方高剂量 High dose group	阳性对照组 Antibiotic group	
MMP-9/ ($\mu\text{g/L}$)	0	8.68±1.95 Ad	5.89±0.16 Abc	4.74±1.32 Aa	4.06±0.17 Aa	6.94±2.37 Ac	6.05±1.21 Ac	8.78±0.38 Ad
	24	7.98±0.48 Ac	6.98±3.54 Abc	5.20±0.37 Aab	6.81±0.06 Bbc	6.11±0.65 Abc	7.88±0.75 ABc	4.13±1.82 Ba
	48	8.06±1.15 Ac	8.18±3.88 Bc	5.23±0.04 Bb	8.63±2.60 Cc	8.69±2.96 BCc	8.43±0.99 BCc	3.10±0.53 Ca
	72	7.91±1.45 Abc	8.45±0.03 Bcd	6.21±0.37 Bb	9.20±0.62 Cd	9.75±2.31 Cd	9.70±3.35 Cd	1.93±9.51 Da
TIMP-1/ (pg/mL)	0	1 084.17±8.01 Aa	1 332.50±4.07 Ac	1 255.00±1.83 Ab	1 324.17±3.96 Ac	2 230.00±1.06 Ad	2 179.17±8.97 Cd	1 074.17±9.64 Aa
	24	1029.17±4.90 Ab	1297.50±4.48 Bc	1691.67±2.10 Bd	1700.83±2.77 Bd	2373.33±2.43 ABc	1355.36±8.81 Ac	727.50±9.48 Ba
	48	1015.8±12.63 Aa	1310.01±1.47 Ab	1910.00±1.47 Cd	1704.17±2.67 Bc	2430.00±1.76 Be	1924.17±4.50 Be	475.00±1.04 Ccd
	72	1 096.67±1.74 Ab	2 035.00±8.63 Bd	1 690.00±4.36 Cc	1 850.83±3.92 Cc	2 437.50±6.84 Be	2 018.33±7.45 BCd	327.50±12.10 Da

注: 同列大写字母不同时间点间差异显著 ($P < 0.05$), 同行小写字母为不同组间差异显著 ($P < 0.05$)。下同。

Note: Different capital letters within same column mean significant ($P < 0.05$), while different small letter indicate comparison at the same time ($P < 0.05$). The same below.

表 4 nisin 及大黄复方对大鼠子宫内膜炎血清中 MMP-2/TIMP-2 表达量的影响

Table 4 Effect of nisin and rhubarb compound on expression of MMP-2/TIMP-2 in serum of endometritis

指标 Index	建模 时间/h Modeling time	试验组 Experimental groups						模型组 Model
		生理盐水 Control	乳酸链球菌素 Nisin	大黄复方低剂量 Low dose	大黄复方中剂量 Medium dose	大黄复方高剂量 High dose	阳性对照组 Antibiotic	
MMP-2/ ($\mu\text{g/L}$)	0	55.23±3.61 Abc	54.18±6.78 Ab	41.33±1.32 Aa	55.50±5.38 Abc	56.70±0.69 Acd	57.43±1.64 Ad	54.40±2.89 Ab
	24	56.59±5.01 Ab	85.70±6.63 Bc	58.57±0.44 Bb	84.72±7.07 Bc	87.53±0.57 Bd	101.23±2.84 Be	43.28±2.19 Be
	48	56.99±7.22 Ab	87.11±2.95 Bd	63.05±1.92 Cc	86.13±17.31 Bd	87.96±1.04 Bd	103.42±7.73 Be	39.09±2.95 Ca
	72	55.29±1.41 Ab	99.46±12.15 Ce	84.51±5.72 Dc	91.70±3.12 Cd	97.93±1.77 Ce	127.90±2.85 Cf	38.16±1.72 Ca
TIMP-2/ (pg/mL)	0	337.18±0.71 Ca	834.00±2.36 Bc	840.82±11.14 Dd	833.09±2.49 Cc	839.45±8.94 Bd	802.17±15.21 Ab	332.36±3.86 Da
	24	328.55±11.35 Bb	802.18±12.21 Ac	795.82±7.35 Cf	806.73±6.72 Ac	815.86±3.76 Ae	755.36±8.71 Bd	313.55±6.11 Ca
	48	324.18±3.64 Ab	876.73±16.78 Cb	764.91±6.35 Bb	826.27±11.57 Bc	943.73±7.46 Ca	843.09±2.35 Cd	253.55±8.99 Ba
	72	336.27±2.85 Cb	930.36±18.64 Df	750.82±4.43 Ac	831.73±7.14 Cd	934.01±3.86 Cf	904.91±11.06 De	183.09±3.21 Aa

低,而 nisin 及大黄复方中、高剂量却使之显著增加,同时 TIMP-2 的质量浓度会伴随着 MMP-2 的增加而增加,说明 nisin、大黄复方中、高剂量对 MMP-2 和 TIMP-2 的质量浓度具有正调控作用。模型组中细菌使 MMP-9 和 TIMP-1 的质量浓度持续降低,而 nisin 及中、高剂量大黄复方却使之显著增加,同时 TIMP-1 的质量浓度会伴随着 MMP-9 的增加而增加,说明 nisin、大黄复方中、高剂量对 MMP-9 和 TIMP-1 的质量浓度具有正调控作用。并且对 MMP-9、TIMP-1 和 MMP-2 的正调控作用显著高于阳性对照组。

总之,nisin 及中、高剂量大黄复方对大鼠血清中 MMP-9/TIMP-1, MMP-2/TIMP-2 的表达量均具有正调控作用,更进一步说明,nisin 及中、高剂量大黄复方影响着子宫内膜结构和生理机能,对子宫内膜炎的治疗起促进作用,效果优于盐酸环丙沙星。故依据此作用效果,说明 nisin 和中、高剂量大黄复方可通过正调控子宫内部相关基质金属蛋白酶和基质金属蛋白抑制物的质量浓度、并维持其在子宫内的动态平衡,从而达到治疗子宫内膜炎的效果。因此,nisin 和大黄复方有望成为替代抗生素来治疗子宫内膜炎的绿色药物。

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] Herath S, LiLLy S T, Fischer D P, Williams E J, Dobson H, Bryant C E, Sheldon I M. Bacterial Lipopolysaccharide induces an endocrine switch from prostaglandin F_{2a} to prostaglandin E₂ in bovine endometrium [J]. *Endocrinology*, 2009, 150(4): 1912-1920
- [3] 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. Effect of Rhizoma coptidis, Radix paeoniae rubra and rhubarb on *Escherichia coli* endotoxin release [J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2007, 29(5): 752-753 (in Chinese)
- [4] Hsu S T, Breukink E, Tischenko E, Lutters M A G, Kruijff B D, Kaptein R, Bonvin A M J J, Nuland N A J V. 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
- [5] Brand A M, Kwaadsteniet D M, Dicks L M T. The ability of nisin F to control *Staphylococcus aureus* in the peritoneal cavity, as studied in mice [J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2010, 51(6): 645-649
- [6] 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(7): 92-97
Zhang Y, Wang C J, Aorigele, 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, 07: 92-97 (in Chinese)
- [7] Pitschmann A, Purevsuren S, Obmann A, Natsagdorj D, Gunbilig D, Narantuya S, Kletter C H, Glasl S. Traditional Mongolian medicine: History and status quo [J]. *Phytochemistry Reviews*, 2013, 12(4): 943-959
- [8] 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. Effect of Rhizoma coptidis, Radix paeoniae rubra and rhubarb on *Escherichia coli* endotoxin release [J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2007, 29(5): 752-753 (in Chinese)
- [9] 王俊丽,张要齐,孙雪峰,张新蕾,陈静,张妍,张玲. 18 种中药对猪大肠杆菌的体外抑菌活性的测定方法比较 [J]. *安徽农业科学*, 2012, 40(26): 12947-12948
Wang J L, Zhang Y Q, Sun X F, Zhang X L, Chen J, Zhang Y, Zhang L. Study on the *in vitro* bacteriostatic test of 18 traditional Chinese herbs against swine *E coli* [J]. *Anhui Agricultural Sciences*, 2012, 40(26): 12947-12948 (in Chinese)
- [10] 聂小春. 《中华人民共和国药典》2010 年版增修订情况介绍 [J]. *医药导报*, 2010, 29(8): 975-979
Nie X C. Introduction of the 2010 edition of pharmacopoeia of the People's Republic of China [J]. *Herald of Medicine*, 2010, 29(8): 975-979 (in Chinese)
- [11] Singh A P, Prabha V, Rishi P. Value addition in the efficacy of conventional antibiotics by nisin against *Salmonella* [J]. *PLoS One*, 2013, 8(10): e76844
- [12] 贾知锋,王纯洁,敖日格乐,高瑞娟,巴森胡. 乳酸链球菌素对大肠杆菌所致腹泻小鼠的脑-肠轴中单胺类神经递质的影响 [J]. *畜牧兽医学报*, 2016, 47(9): 1931-1939
Jia Z F, Wang C J, Aorigele, Gao R J, Ba S H. Effect of nisin on monoamine neurotransmitters of mice with diarrhea induced by *Escherichia coli* [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2016, 47(9): 1931-1939 (in Chinese)
- [13] Zhang X, Healy C, Nothnick W B. Estrogen suppresses expression of the matrix metalloproteinase inhibitor reversion-inducing cysteine-rich protein with Kazal motifs (RECK) within the mouse uterus [J]. *Endocrine*, 2012, 42(1): 97-106
- [14] Chu P P, Salamonsen L A, Lee C S, Wright P J. Matrix metalloproteinases (MMPs) in the endometrium of bitches [J]. *Reproduction*, 2002, 123(3): 467-77

- [15] Bicalho M L S, Machado V S, Oikonomou G, Gilbert R O, Bicalho R C. Association between virulence factors of *Escherichia coli*, *Fusobacterium necrophorum*, and *Arcanobacterium pyogenes* and uterine diseases of dairy cows [J]. *Veterinary Microbiology*, 2012, 157(1/2): 125-131
- [16] Warner R L, Bhagavathula N, Nerusu K C, Lateef H, Younkin E, Johnson K J, Varani J. Matrix metalloproteinases in acute inflammation: Induction of MMP-3 and MMP-9 in fibroblasts and epithelial cells following exposure to pro-inflammatory mediators *in vitro* [J]. *Experimental and Molecular Pathology*, 2004, 76(3): 189-195
- [17] Pal S, Schmidt A P, Peterson E M, Wilson C L, Maza L M D L. Role of matrix metalloproteinase-7 in the modulation of a *Chlamydia trachomatis* infection [J]. *Immunology*, 2006, 117(2): 213-219
- [18] Porto C D, Nunes L C, Masseno A P B, Sequeira J L, Oliveira D E, Alvarenga M A. Expressão de MMP-2 e MMP-9 no endométrio de éguas saudáveis e portadoras de endometrite crônica [J]. *Arquivo Brasileiro De Medicina Veterinaria Zootecnia*, 2011, 63(1): 12-19
- [19] Soboleva G M, Shurshalina A V, Sukhikh G T. Serum activity of matrix metalloproteinases-2 and -9 [J]. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2006, 141(2): 247-249

责任编辑: 苏燕