

# 马流产杆菌脂多糖终止小白鼠妊娠的初步研究

陈菊香\* 王豫生 叶美丽 刘桂兰

(广东省计划生育科学技术研究所)

**摘要** 参照酚-水法从马流产杆菌中提取出脂多糖,其纯度达到参考标准品的要求。用它对早、中和晚期妊娠小鼠进行腹腔或尾静脉注射,每只小鼠(体重 25—30 克)注射剂量在 5—30 $\mu$ g 均能产生终止妊娠的效果,有效率达 93—100%。每只注射剂量 25 和 25 $\mu$ g 以下的妊娠小鼠全部存活,无明显毒性反应,而 30 $\mu$ g 剂量的 8 只小鼠中有 2 只死亡。

**关键词** 马流产杆菌;脂多糖;终止妊娠;小鼠 (NIH)

十九世纪人们就已发现革兰氏阴性细菌感染可引起人和动物的流产。据试验证明,这一流产作用是由于革兰氏阴性细菌的细胞壁成分——脂多糖(LPS)引起的。脂多糖的流产作用不是由于母体中毒或衰竭等病理状态所致,它也不影响母体的内分泌调节<sup>[1]</sup>。脂多糖的流产作用起效快,作用时间短暂<sup>[2]</sup>。最近还发现脂多糖对家兔有抑制排卵和抗着床的作用<sup>[3]</sup>。由此看来,把脂多糖作为抗生育药物是有一定的可能性。国内尚未见有这方面的报道。本文对从马流产杆菌中提取脂多糖,并用于终止小白鼠妊娠作了初步探讨,其结果报告如下。

## 材料与方 法

### (一) 菌种来源及菌液的制备

马流产杆菌(*Bacillus abortus-equus*)来自武汉生物制品研究所的冻干菌种。将菌种接种在普通斜面和普通半固体培养基,37℃培养 18 小时,取其菌落再接种于普通肉汤培养基中,37℃培养 18 小时,用上述生长良好的液体培养物接种于三角瓶普通肉汤培养基中,37℃培养 24 小时,此时培养物经 60℃ 灭活 1 小时后即为马流产杆菌菌悬液。

### (二) 脂多糖的提取

用马流产杆菌菌悬液提取脂多糖,主要参照热酚-水法<sup>[4]</sup>,提取过程详见图 1。

### (三) 脂多糖的测定

采用鲎试验法,用福建省卫生防疫站的鲎

\* 现在工作单位是广州中山医科大学附属一院。

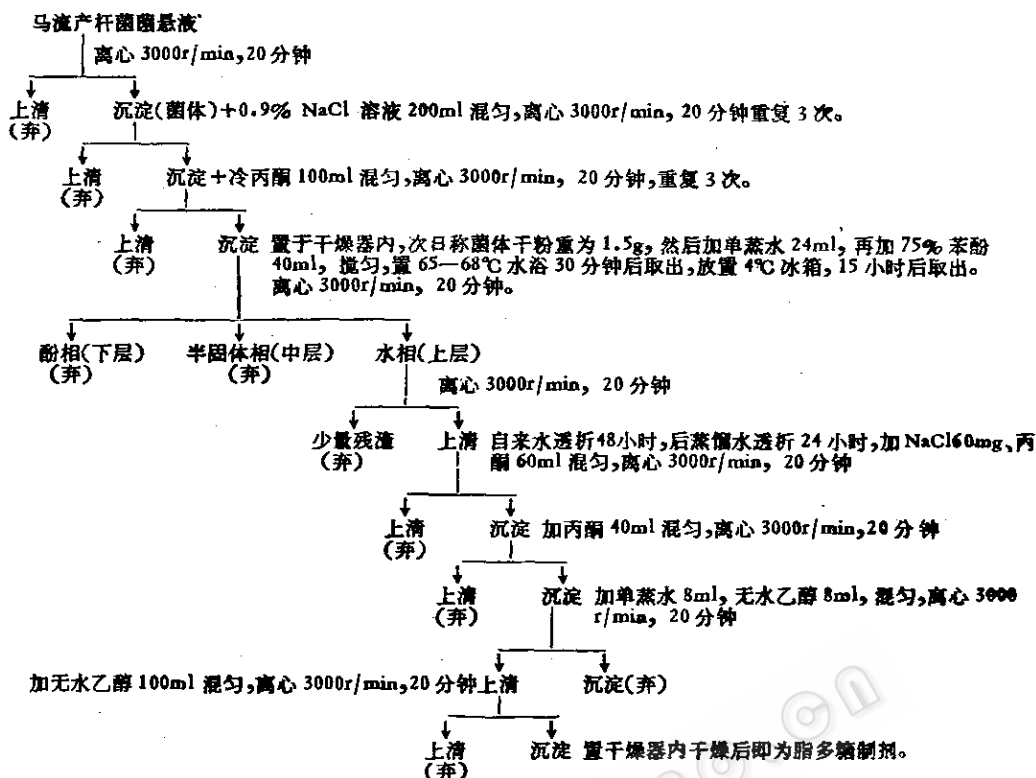


图 1 脂多糖提取过程

试剂标准和内毒素标准, 以生理盐水为空白对照, 按美国 Sigma 公司的标准判断结果: “+++”表示形成坚实凝胶状, 安瓶倾斜不变形; “++”表示形成软凝胶状, 安瓶倾斜会变形; “—”表示无变化如对照管, 液体流动。本试验测定结果是: 提取的马流产杆菌脂多糖的纯度达到参考标准品的要求如表 1。

表 1 马流产杆菌脂多糖的测定结果

组别	浓度 (μg/管)	量试剂 (ml)	第 1 管	第 2 管
对照管	0	0.1	—	—
参考标准管 (内毒素)	10	0.1	++	++
	20	0.1	+++	+++
	100	0.1	+++	+++
测定管 (马流产杆菌脂多糖)	10	0.1	++	++
	20	0.1	+++	+++
	100	0.1	+++	+++

#### (四) 脂多糖终止小鼠早、中和晚期妊娠实验

用成年健康的小白鼠 (品系为 NIH), 体重

为 25—30g, 按 2:1 雌雄合笼, 每天上、下午检查两次阴栓, 以出现阴栓日为妊娠第一天, 将妊娠小鼠随机分组。终止早期妊娠实验于妊娠第 7 天。实验组用生理盐水溶解的脂多糖进行腹腔注射和尾静脉注射, 以同法注射生理盐水为对照。给药后观察小鼠阴道出血和胚胎流出情况, 第 9 天解剖小鼠, 检查子宫内胚胎情况, 及其心、肺、肝、脾、肾和卵巢有无充血、出血和坏死现象。终止中期妊娠实验, 于第 12 天给药或生理盐水, 第 14 天解剖, 其他方法同前。终止晚期妊娠实验, 于第 16 天给药或生理盐水, 第 18 天解剖, 其他方法同前。对照组均注射生理盐水 0.15ml。以宫腔内有游离萎缩的胚胎或胎盘排出后留有痕迹为终止妊娠。

## 实验结果

### (一) 脂多糖终止小鼠早期妊娠结果 (表 2)

从表 2 结果说明, 小鼠经腹腔或尾静脉注射 15μg/只脂多糖后, 止孕率分别为 93.8% 和

100%。两种给药途径的效果无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。

表 2 马流产杆菌脂多糖终止小鼠妊娠结果

组别	给药途径	动物数量 (只)	终止妊娠 小鼠数(只)	止孕率 (%)	P 值
脂多糖 (15 $\mu$ g/只)	腹腔	16	15	93.8	$P > 0.05$
	尾静脉	11	11	100	
对照 (0.15ml)	腹腔	9	1	11.1	
	尾静脉	5	0	0	

(二) 脂多糖终止小鼠中期妊娠结果(表3)

从表 3 结果说明,小鼠分别注射 5、15 和 30  $\mu$ g/ 只药量后,止孕率均为 100%。两种给药途径的止孕率亦均相同。注射 30  $\mu$ g/ 只脂多糖的 8 只终止妊娠小鼠中有 2 只死亡。

表 3 马流产杆菌脂多糖终止小鼠中期妊娠实验结果

组别	给药剂量 ( $\mu$ g/只)	给药途径	供试鼠数 (只)	终止妊娠鼠 数(只)	止孕率 (%)
脂多糖	5	腹腔	5	5	100
	15	尾静脉	15	15	100
	15	腹腔	9	9	100
	30	尾静脉	8	8	100
对照		尾静脉	11	0	0
		腹腔	6	0	0

(三) 脂多糖终止小鼠晚期妊娠结果

马流产杆菌脂多糖终止妊娠的 11 只小鼠中有 10 只小鼠子宫内的胚胎(活的)和胎盘全部排出体外,另外 1 只小鼠子宫内的 8 个胚胎(活的)和 6 个胎盘流出体外,宫内还残留 2 个胎盘。两种给药途径止孕率均达 100%。

在上述试验中同时还解剖了被脂多糖终止早、中、晚期妊娠的小鼠和对照组小鼠,肉眼观察均未发现小鼠的心、肺、肝、脾、肾和卵巢充血、出血和坏死现象。

讨 论

1. 由于从不同菌种提取的脂多糖,各种生

物学活性有所不同<sup>[1]</sup>,其流产作用也有很大的差异。本文选择马流产杆菌提取脂多糖,主要根据马感染该菌后症状以流产为主,其他症状轻微或无。说明此菌的脂多糖具有较高的流产作用活性。本试验我们又参照热酚-水法提取脂多糖,此法可基本去除蛋白质,排除了异种蛋白引起的副作用。

2. 本实验观察到马流产杆菌脂多糖终止小鼠早、中、晚期妊娠的过程,与其他药物止孕过程演变规律相似<sup>[6]</sup>。

3. 关于脂多糖终止妊娠的机制尚未完全明瞭。有人指出,脂多糖选择性地作用于胎盘的蜕膜,使之发生出血,坏死造成蜕膜病变而导致妊娠终止<sup>[7]</sup>。还有人认为其流产作用与血管活性物质——5-羟色胺的释放有关<sup>[7]</sup>。Harper 等人的实验证明,脂多糖的流产作用是通过内源性前列腺素反应的结果<sup>[3]</sup>。

总之,为深入研究脂多糖终止妊娠的机制,还需对脂多糖作进一步分离、纯化。有人曾用层析法把脂多糖分成 3 个组分,其中一个组分具有致热活性<sup>[8]</sup>。Chedid 曾用物理学、化学和生物学方法消除或降低脂多糖的副作用<sup>[7]</sup>。用毒理实验测定其安全有效的剂量。脂多糖经过各方面的研究,使其成为既有良好的抗生育效果,又是安全的计划生育药物之一这是完全可能的。

参 考 文 献

[1] 周子清: 生殖与避孕, 1(3): 13—15, 1981。  
[2] Valenzuela, G.: *J. Reprod. Fert.* 54: 205, 1978。  
[3] Harper, M. J. K.: *Fertility and Sterility*, 31: 441, 1979。  
[4] 余庆等: 微生物学报, 11(3): 359, 1965。  
[5] 罗海波等: 细菌毒素研究进展, 第一版, 人民卫生出版社, 北京, 1983年。  
[6] 朱岩平等: 医学研究通讯, 2: 11, 1980。  
[7] Harper, M. J. K.: *Adv. Biosciences.*, 9: 789, 1973。  
[8] 方少波等: 药检工作通讯, 10(5): 249—255, 1980。  
[9] Chedid, L.: *Infect. Immun.* 12(4): 714—721, 1975。