

実験的ラット子宮内感染症モデルの作製と CTX による治療効果 (第2報)

笠井 一 弘・宮 本 政 樹

ヘキストジャパン株式会社総合開発研究所

高 瀬 善 次 郎

川崎医科大学産婦人科

(昭和 58 年 5 月 26 日受付)

妊娠 17 日目のラット子宮内へ *E. coli* を接種し、実験的子宮内感染症の作製と CTX, CEZ による治療効果について検討した。

非治療群では、母体の 2/10 例に死亡がみられ、生存例においても 43.9% の胎仔が死亡した。また、子宮内膜面の菌検査の結果、全例より接種した菌が検出された。

一方、治療群においては、母体の死亡例は無く、胎仔の死亡率は CTX 群では 9.7%, CEZ 群では 22.4% であった。生存胎仔体重は CTX 群, CEZ 群 > 非治療群となり、治療群と非治療群に明らかな差が認められた。また子宮内膜面の菌検査成績は、CTX 群の全例 (10/10) および CEZ 群の 6/10 例が菌陰性であり、治療効果が示された。

これらの成績により、妊娠後期のラット子宮内に菌を接種した場合、抗生剤の治療効果を子宮内の菌量の変化からのみでなく、胎仔の成長からも評価できることが示唆された。

前報¹⁾において、著者らは処女ラットと分娩後のラットを用い、*E. coli* による実験的子宮内感染症の作製と菌接種後の抗生物質による治療効果について述べた。

今回は、妊娠後期ラットを用い、*E. coli* による実験的子宮内感染症の作製を試みるとともに、妊娠後期胎仔への影響について検討したので報告する。

I. 実験材料および方法

接種菌と接種菌液：予備試験であらかじめ子宮への菌定着が確認された、臨床分離の *E. coli* (Ec-89) を接種菌とし、ハートインフュージョンブイオン培地 (栄研) で 20 時間培養後 10^6 cells/ml に調整した菌液と、5% ムチ

ン液を等量に混合して接種菌液とした。接種菌に対する CTX, CEZ の MIC は、それぞれ 0.2 μ g/ml, 3.13 μ g/ml であった。

動物：8 週齢 (体重 195~229 g) のラットを妊娠させ、妊娠の 17 日目のものを実験に用いた。動物は 1 群 10 匹とし、注射用生理食塩液を子宮内に注入した対照群と、菌液を子宮内に注入した非治療群および CTX 投与群、CEZ 投与群の 4 群とした。

菌接種および治療：菌接種は Fig. 1 に示したように行なった。すなわちラットにネブタール麻酔を施した後、腹部を小切開し、子宮全体を引き出し、子宮内胎仔

Fig. 1 Experimental intrauterine infection in rats

Preparation of Intrauterine Infection
on Day 17 of Gestation

- 1) Anesthetize with pentobarbital sodium
- 2) Make a small abdominal incision
- 3) Count the number of fetuses
- 4) Inoculate *E. coli* (10^5 cells 0.1ml) into the uterus (↓)
- 5) Suture the skin

Observation of Fetuses on Day 21 of Gestation
(One Day before Expected Delivery)

- 1) Anesthetize with ether
- 2) Bleed
- 3) Remove fetuses by cesarean section
- 4) Count the numbers of dead and living fetuses
- 5) Weigh the living fetuses

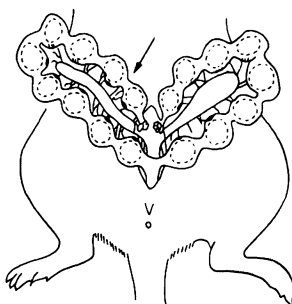
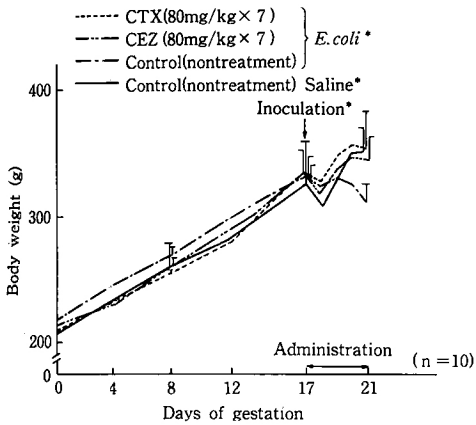


Fig. 2 Body weight changes of pregnant rats inoculated with *E. coli* (10^5 cells/0.1 ml) experimentally and treated with CTX and CEZ intravenously



の生死状態を観察した。その後、右子宮の卵巣側より1仔目と2仔目の間に菌液を0.1 ml接種し、針穴を焼烙した後、子宮を腹腔内にもどし腹壁の縫合を行なった。

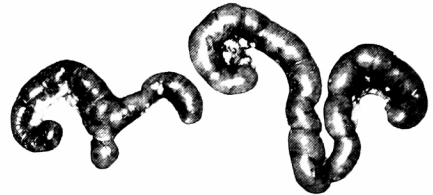
治療群に対しては、CTXあるいはCEZの80 mg/kgを初日は菌接種3時間後に1回、以後妊娠20日目まで1日2回(a.m. 10:00, p.m. 4:00)すなわち計7回、ラット尾静脈内に投与した。

感染動物は、分娩前日である妊娠21日目にエーテル麻酔下にて帝王切開し、着床数および胎仔の生死を記録した後、生存仔の体重を計測した。また子宮内膜面をBTB培地にスタンプし、37°C 24時間培養することによ

Fig. 3 Macroscopic changes in the rat uterus infected with *E. coli* (10^5 cells/0.1 ml) on day 17 of gestation and examined on day 21.

Right: Uterus from a rat treated with CTX intravenously for 4 days (days 17-20).

Left: Uterus from a control rat (given no drug treatment).



Nontreated control CTX 560mg/kg/4 days

り子宮内の菌有無の検索を行なった。また子宮はホルマリン固定し、HE染色標本を作製鏡検した。

II. 実験成績

1. 母体体重の変化

各群とも妊娠0日より17日目の菌接種日までの体重は、Fig. 2のように通常観察されるようなラット妊娠時の増加を示した。しかし、手術の影響により、18日目には全群に顕著な体重減少を認めた。この変化は一過性であり、生理食塩液を子宮内に注入した非感染の対照群および、菌液を接種した後CTX、CEZによる治療を行なった群では19日目より再び体重が増加し、死亡例は認められなかった。これに対し、非治療群では、日をおって体重が減少し、10例中2例が死亡した。

Table 1 Therapeutic effects of CTX and CEZ on the uterus of pregnant rats infected with *E. coli* experimentally

Group	No. of animals	No. of animals with bacterial growth* in					
		Uterus				Blood	
		+++	++	+	-	+	-
Control (Nontreatment)	10	10[2]	0	0	0	10	0
CTX (80mg/kg×7, i.v.)	10	0	0	0	10	0	10
CEZ (80mg/kg×7, i.v.)	10	3	0	1	6	0	10

E. coli (10^5 cells/0.1ml) was inoculated into the right uterine horn on day 17 of gestation. The antibiotics were administered to inoculated rats at 7 divided doses for 4 days (days 17-20). The tissue and blood smears were examined on day 21.

* The ratings were: +++, colonies grown all over the smeared area on agar medium; ++, 51 or more colonies; +, 1-50 colonies; -, no growth.

[]: No. of dams which died

2. 子宮の肉眼所見

菌接種後5日目の帝王切開時の子宮内の状態を Fig. 3 に示した。非治療群では、治療群に比べ胎仔死亡数が増加し、また胎仔が小さかった。さらに、このような変化は菌を接種しなかった左側子宮にも及んでいるのが認められた。

3. 子宮内膜面の菌検査成績および子宮の組織学的変化

帝王切開後子宮内膜面を BTB 培地にスタンプし、子宮内の菌の有無を検索したところ、Table 1 に示したように、非治療群では、死亡例も含め全例(10例)から接種菌が濃厚に検出され、これらについては、いずれも同様の菌が血液からも検出された。

これに対し、CTX, CEZ 治療群においては、両群とも全例血中よりの菌は検出されず、また子宮内膜面のスタンプによる検査結果は、CTX の場合全例(10例)が菌陰性であり、CEZ の場合においても10例中6例で菌が陰性化し、両薬剤とも明らかに治療効果がみられた。

一方、菌を接種した子宮の組織学的所見は非治療群、治療群ともに、粘膜下織の細胞浸潤および子宮腔内の好中球が少数例にみられたのみであった。

4. 胎仔の死亡率と生存胎仔体重

帝王切開により取り出した胎仔の死亡率と生存胎仔の体重は Table 2 に示したように、非治療群の生存母体においては、菌を接種した右側子宮の 43.9% の胎仔が死亡し、菌を接種しなかった左側でも 26.3% が死亡し

た。また生存胎仔の体重も非感染の対照群に比べ左右とも有意に小さくなっており、菌を接種しなかった左側にも強い感染の影響が認められた。

一方、治療群においては、菌を接種した右側子宮の胎仔死亡率は CTX 群では 9.7%、また CEZ 群では 22.4% と非治療群に比べ減少を示していた。また CTX, CEZ の両治療群における生存胎仔体重は、非治療群に比べ明らかに重く、薬物の治療効果が示された。

III. 考 察

子宮内感染を起す目的で、妊娠後期のラット子宮内に *E. coli* を接種した場合、組織学的変化は軽度であるが、全例の子宮内より菌が検出された。またこのような子宮内には、死亡あるいは小体重の胎仔がみられた。この成績より、ラットにおける妊娠後期の子宮内感染は、子宮の組織学的変化は軽度であるが、子宮内に菌が存在する場合には、胎仔の成長への影響が大きいたことが示唆された。一方、治療群においては、薬剤投与により子宮内の感染菌の陰性化、死亡あるいは小体重の胎仔数の減少がみられた。これらの結果は、妊娠後期ラットを使用した場合には、実験的子宮内感染症に対する抗生物質の治療効果を、子宮内の細菌の検査成績あるいは、肉眼で観察できる胎仔の大きさ、生死を示標とすることにより、容易に評価できることを示唆しており、抗生剤の治療効果の検討に有用なモデルになりうると考えられた。

文 献

1) 笠井一弘, 宮本政樹, 高瀬善次郎: 実験的ラット

Table 2 Death rate and body weight at cesarean section of fetuses from rats infected with *E. coli* experimentally and treated with CTX and CEZ intravenously

Group	Inoculation Treatment	— (Saline) —	<i>E. coli</i> —	<i>E. coli</i> CTX	<i>E. coli</i> CEZ
No. of dams		10	8	10	10
Right horn	No. of fetuses	65	57	62	58
	dead (%)	2(3.1)*	25(43.9)	6(9.7)*	13(22.4)**
	living	63	32	56	45
	body weight(g) (Mean±S.D.)	4.40±0.45*	3.59±0.49	4.90±0.69*	4.58±0.47*
Left horn	No. of fetuses	73	57	81	55
	dead (%)	2(2.7)*	15(26.3)	3(3.7)*	1(1.8)*
	living	71	42	78	54
	body weight(g) (Mean±S.D.)	4.74±0.31*	3.88±0.45	4.90±0.77*	4.71±0.56*

E. coli (10⁵ cells/0.1ml) was inoculated into the right uterine horn on day 17 of gestation. The antibiotics were administered to inoculated rats at 7 divided doses (560mg/kg in total, i.v.) for 4 days (days 17-20). Cesarean section was done on day 21.

* ** Significantly different from infected control (* P<0.01, ** P<0.05)

子宮内感染症モデルの作製と CTX による治療効果 (第1報)。Chemotherapy 30 : 1278~1285

1982

EXPERIMENTAL INTRAUTERINE INFECTION IN PREGNANT RATS AND THERAPEUTIC EFFECTS OF CEFOTAXIME (CTX) ON THE INFECTION

KAZUHIRO KASAI and MASAKI MIYAMOTO

Research and Development Laboratories, Hoechst Japan Limited

ZENJIRO TAKASE

Department of Obstetrics and Gynecology, Kawasaki Medical School

Intrauterine infection was experimentally induced with *E. coli* (10^5 cells/0.1 ml) in rats (10/group) on day 17 of gestation. CTX and cefazolin (CEZ) were intravenously administered to them at 7 divided doses (560 mg/kg in total) for 4 days (days 17-20), and their effects on maternal animals and fetuses were examined.

Out of the 10 rats infected similarly and given no drug treatment (controls), 2 animals died, and 43.9% of the fetuses from the remaining 8 survivors were found dead at cesarean section on day 21 of gestation. The endometrium of all the controls was positive for the organisms.

In the antibiotic-treated groups, no maternal death occurred. The fetal death rates in the CTX and CEZ groups accounted for 9.7 and 22.4%, respectively, both of which were significantly lower than the above control value. The body weights of the living fetuses in these groups were higher, with a marked difference, than that in the control group. The endometrium was negative for *E. coli* in all the CTX animals and in 6 of the CEZ animals.

From these results, it is considered that therapeutic effects of antibiotics could be evaluated by fetal parameters such as body weight and death rate, as well as by bacteriologic observations in the uterus.