

ウサギ子宮内感染モデルにおける Cefotiam の薬効について

鎌田 洋一*・藺守 龍雄**

大阪府立大学農学部獣医学科

* 獣医公衆衛生学教室,

** 家畜外科学教室

(昭和 58 年 3 月 5 日受付)

セファロスポリン系抗生物質 Cefotiam (CTM) の子宮内感染症に対する治療剤としての有効性を、ウサギ子宮内感染モデルを用いて検討した。有効性の検討は、対照薬 Cefazolin (CEZ) と比較することにより行なった。

子宮内感染誘起に用いた *E. coli* PYO-252 株に対する MIC は、CEZ が 3.1 $\mu\text{g/ml}$ 、CTM はその 1/30 以下の 0.1 $\mu\text{g/ml}$ であった。CTM および CEZ を各々静脈内注射し、注射後経時的に血漿中濃度と子宮組織内濃度を測定した結果、両剤とも血中からの速やかな消失がみられたが、僅かながら CEZ の血漿中濃度が CTM のそれを上回った。子宮組織内においても、CEZ は CTM の 3~5 倍高濃度に存在した。しかしながら、両剤を、菌接種後 4 日から 4 日間 1 日 3 回ウサギ耳静脈内に各々注射した治療試験成績においては、CTM では 30 mg/kg/day 投与により全例に治療有効の効果がみられたのに対し、CEZ はその倍量の 60 mg/kg/day が最小治療有効量となった。CTM の投与量を 45 mg/kg/day 以上に増加させた時、子宮内腔に菌の陰性化が認められただけでなく、子宮内膜の化膿性炎症像もほとんど消退した。

以上の成績から、CTM の子宮内感染症に対する治療の有効性が強く示唆された。

最近、われわれは *E. coli* の接種による子宮内感染症モデルをウサギを用いて作成した¹⁾。今回、このモデルを用いて、セファロスポリン系抗生物質 Cefotiam の薬効を検討した。

I. 材料と方法

1. 使用抗生剤

Cefotiam (CTM, 武田薬品・中央研究所で合成されたもの) を使用した。対照薬剤として、セファロスポリン系抗生剤 Cefazolin (CEZ, 藤沢薬品, 市販品) を用いた。

2. 使用菌株

大阪府立大学農学部付属家畜病院において、イヌ子宮蓄膿症の 1 例から分離された溶血性 *E. coli* PYO-252 株を用いた。本菌株の血清型は、[O: 25, H: -] であり、マウスに対する毒力は、 LD_{50} (i. p.) = 2.6×10^7 /マウスであった¹⁾。

3. 使用動物

New Zealand White 種雌ウサギ、体重 3.7~4.5 kg, 平均 4 か月齢のものを実験に供した。本実験中、薬剤の血漿中および子宮組織内濃度測定には各測定点で 2 羽以上、また治療試験では 5 羽以上を 1 群として実験を行なった。

4. 最小発育阻止濃度の測定

E. coli PYO-252 株に対する CTM, および CEZ の最小発育阻止濃度 (以下 MIC) の測定は、*E. coli* NIHJ JC-2 を標準菌株として、日本化学療法学会標準法²⁾に従って行なった。MIC の測定は武田薬品・中央研究所に依頼した。

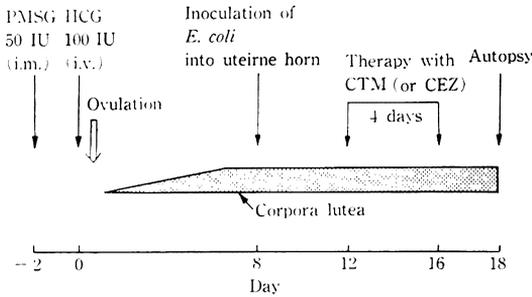
5. CTM および CEZ の、血漿中濃度と子宮組織内濃度の測定

前報¹⁾に従い、子宮内感染を起こさせたウサギを用いて、CTM と CEZ の血漿中濃度、ならびに子宮組織内濃度を各々測定した。すなわち、菌接種後 4 日 (後述する治療試験における薬剤投与開始時に当る) のウサギ耳静脈内に、5 mg/kg および 10 mg/kg の CTM, または、10 mg/kg および 20 mg/kg の CEZ を、それぞれ 10% 溶液として注射した。注射後 5 分から 4 時間まで、経時的に血漿と子宮組織 (子宮壁全層) を採取し、直ちに -20°C で凍結、濃度測定時まで保存した。両剤の濃度の測定は、*B. subtilis* 6633 株を用いたアガーウェル法で、武田薬品・中央研究所において行なわれた。

6. ウサギ子宮内感染症の作成と CTM による治療試験スケジュール

ウサギ子宮内感染症モデルの作成法については既に報

Fig. 1 Schedule of experiment



告りしたが、今回もそれに従った。その概略は次の通りである (Fig. 1)。

PMSG 50 IU 筋肉内注射の 48 時間後に、HCG 100 IU の静脈内注射を実施して、多数の排卵を起こさせ、黄体形成が充分に行なわれた段階、すなわち HCG 投与後 8 日のウサギの 1 側結紮子宮内に *E. coli* を接種し、子宮内感染を惹起せしめた。PMSG としてセロトロピン (帝國臓器) を、HCG にはプベローゲン (三共ゾーキ) を用いた。*E. coli* PYO-252 株をトリプトソーヤ・ブイヨン (日水) で 37°C 18 時間培養し、5% ムチン液 (ガストリック・ムチン, 半井化学) で、 10^9 /ml の生菌数となるよう懸濁した。接種は、1 側の子宮角を内口の直前部分で結紮した後、子宮角腔内に注射器を用いて上記菌液 1 ml を注入した。

以上の方法により作成した子宮内感染症のモデルでは、菌接種後 4 日に子宮腔内に膿が多量に認められ (約 10 ml 以上)、充分な感染の成立が確認できたので、この時点より CTM または CEZ の投与を開始した。

両剤の 10% 溶液を、1 日 3 回 (9:30, 15:30, 21:30) 4 日間連日ウサギ耳静脈内に注射した。菌接種後 10 日にウサギを殺処分し、子宮腔内の細菌検査と、子宮の肉眼的、組織学的な検索を行ない、投与した薬剤の治療効果を判定した。薬剤の治療効果の判定基準は、子宮腔内に菌が陰性を示したものを治療“有効”、菌検査の結果が陰性のみならず、菌接種によって生じた膿汁が子宮腔内から消失し、かつ、子宮組織内の炎症像もほとんど消退した状態のものを“著効”とした。

II. 結果

1. *E. coli* PYO-252 株に対する MIC

CTM および CEZ の、*E. coli* PYO-252 株に対する MIC を Table 1 に示した。ウサギ子宮内への接種に用いた PYO-252 株は、CTM および CEZ に対してそれぞれ良好な感受性を示した。とくに CTM は対照薬 CEZ の約 1/30 の濃度である 0.1 μ g/ml で PYO-252 株の発育を阻止した。

Table 1 MIC of CTM and CEZ

Strain of <i>E. coli</i>	MIC (μ g/ml)	
	CTM	CEZ
PYO-252	0.1	3.12
NIHJ JC-2	0.2	1.56

Fig. 2 Plasma level of CTM after a single intravenous injection into rabbit

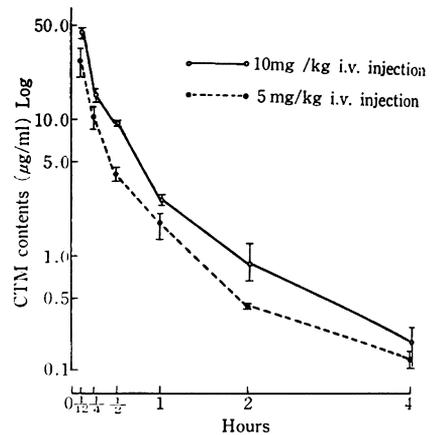
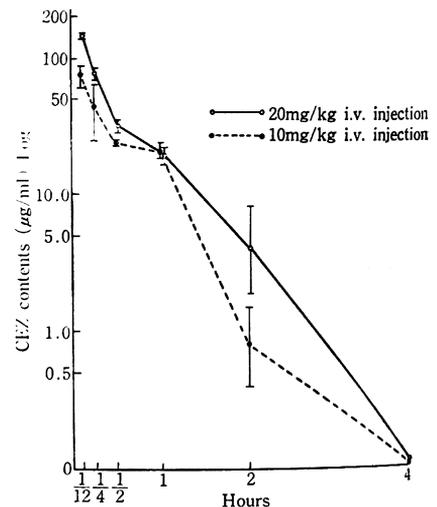


Fig. 3 Plasma level of CEZ after a single intravenous injection into rabbits



2. 静脈内注射時の血漿および子宮組織内濃度

CTM, CEZ をそれぞれ、ウサギ耳静脈内に 1 回注射した時の血漿中濃度と子宮組織内濃度の経時的な変化を調べた。CTM の血漿中濃度の推移を Fig. 2 に、CEZ の

Table 2 Uterine tissue level of CTM after a single intravenous injection into rabbit

Dose (mg/kg)	Number of rabbit	Tissue CTM concentration ($\mu\text{g/g}$)			
		Time after injection (hr)			
		1/2	1	2	4
5	8	1.5	0.2	ND	ND
		1.3	0.2	ND	ND
10	8	0.9	1.2	ND	ND
		2.2	2.0	ND	ND

ND: $<0.1 \mu\text{g/g}$

Table 3 Uterine tissue level of CEZ after a single intravenous injection into rabbit

Dose (mg/kg)	Number of rabbit	Tissue CEZ concentration ($\mu\text{g/g}$)			
		Time after injection (hr)			
		1/2	1	2	4
10	8	6.8	7.4	ND	ND
		5.8	7.0	ND	ND
20	8	18.7	11.4	ND	ND
		18.6	14.1	ND	ND

ND: $<0.1 \mu\text{g/g}$

それを Fig. 3 に示した。血漿中濃度は、両剤ともに注射直後にピークを示した。注射後1時間ではピーク時の1/10以下の濃度、すなわち、10 mg/kg 投与の場合、CTM では $3.0 \mu\text{g/ml}$ 、CEZ では $12 \mu\text{g/ml}$ となり、4時間後では CTM のみ僅かに検出された。CTM と CEZ の比較では、血漿中濃度が高く保たれた注射後1時間以内においては CEZ の血漿中濃度は CTM のそれよりも高い傾向を示した。しかし、MIC レベルへの減少をみると、10 mg/kg 投与の場合、CTM が注射後4時間を経ても MIC レベルを維持したのに対し、CEZ は注射後2時間以内に MIC レベル以下となった。

両剤の子宮組織内濃度の推移を Table 2 と 3 に示した。両剤とも子宮組織内濃度を把握できたのは注射後1時間までで、それ以後は検出限界 ($0.1 \mu\text{g/g}$) 以下となった。CTM と CEZ を比較すると、それぞれ 10 mg/kg を投与した場合、CEZ の子宮組織内濃度は CTM の3~5倍高い濃度、すなわち約 $5\sim7 \mu\text{g/g}$ を示した。

3. CTM および CEZ によるウサギ子宮内感染症の治療試験

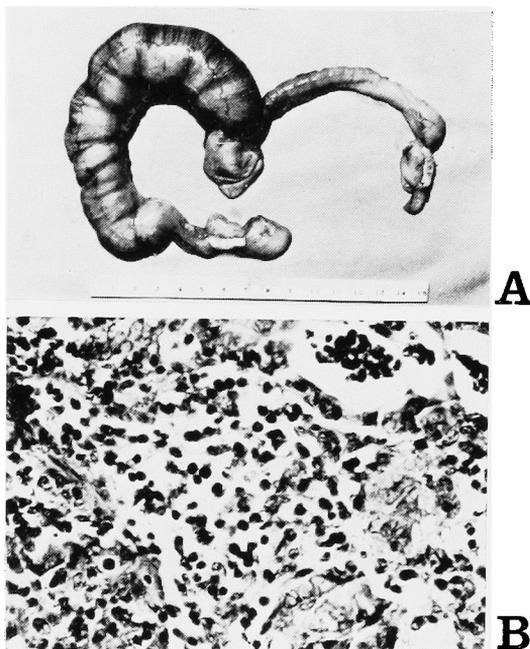
ウサギ子宮内感染症モデルを用いて、CTM と CEZ

Fig. 4 Pathological finding on the 10th day after inoculation

E. coli ($10^9/\text{ml}$ in 5% mucin, 1 ml) were inoculated in the left uterine horn and 5% mucin solution as control was injected into the right horn.

A: About 25 ml of *E. coli* positive pus was accumulated in the inoculated horn.

B: Poly- and mono-nuclear leukocytes severely infiltrated in lamina propria of the endometrium of the inoculated horn.



による治療試験を行なった。非投薬対照例では、菌接種子宮角腔内に平均 20 ml 程度の *E. coli* 陽性膿汁が貯留し、子宮内膜に白血球の浸潤が広範かつ高度に認められた (Fig. 4)。

CTM 7.5 mg/kg/day の4日間投与では、5例中の3例に、非投薬対照例に近い膿汁の貯留と PYO-252 株の存在が証明され、軽~中等度の炎症像が内膜に認められ、治療“無効”であった。残り2例は菌検査の結果が陰性を示したので治療“有効”と判定した。CTM 30 mg/kg/day 投与では全例が治療“有効”を示し、 45 mg/kg/day を投与した5例のうち2例においては膿汁の貯留がなく、子宮内膜に炎症像もほとんど認められなかったので“著効”と判定した。 60 mg/kg/day では5例中3例が“著効”を示した (Fig. 5)。

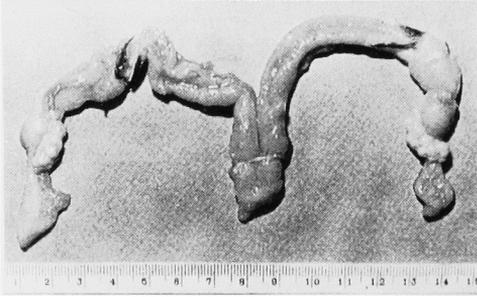
対照薬 CEZ の投与では、治療“有効”例は 30 mg/kg/day の投与で5例中3例にみられ、 60 mg/kg/day 投与で5例全例が“有効”となり、うち2例が“著効”を

Fig. 5 Uterine finding in a distinctly effective case, injected with CTM, 60 mg/kg/day, for 4 days

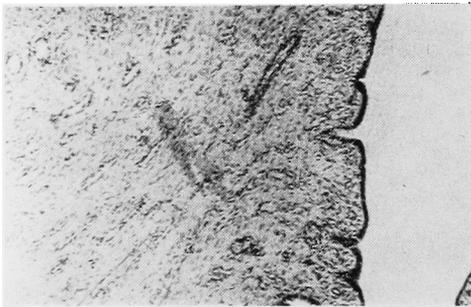
Inoculating condition was same as Fig. 4.

A: Almost no pus remained in the inoculated horn.

B: Only few inflammatory lesions were left in the endometrium of the inoculated horn.



A



B

示した。

Table 4 に上述の成績を要約した。治療“有効”率から両剤の最小治療有効量を算出すると、CTM が 30 mg/kg/day であり、CEZ は 60 mg/kg/day であった。このことから、CTM は CEZ の半量で同等の薬効を示すことが明らかとなった。

なお、CTM, CEZ を投与した全 55 例において、副作用の発現は感知されなかった。

III. 考 察

セファロsporin系抗生剤 CTM のウサギ子宮内感染症モデルに対する治療試験を行なった。その結果、CTM の接種 *E. coli* PYO-252 株に対する MIC は 0.1 $\mu\text{g/ml}$ と CEZ のそれより約 30 倍高力価であったが、実際の治療効果は、最小治療有効量が 30 mg/kg/day と CEZ の約 2 倍であった。この *in vitro*, *in vivo* の *E. coli* PYO-252 株に対する抗菌力の差は種々の要因に基づくことが推測される。両剤の 10 mg/kg をそれぞれウサギ耳静脈内に注射した時の血漿中濃度は CEZ の方が CTM を上回った。しかし、MIC レベル以上の

Table 4 Results of the therapeutic examination with CTM and CEZ

Dose (mg/kg/day)	Ratio of cured case	
	CTM	CEZ
	(%)	(%)
7.5	2/5 (40)	0/5 (0)
15.0	4/5 (80)	1/5 (20)
22.5	4/5 (80)	—
30.0	5/5 (100)	3/5 (60)
45.0	5/5 (100)	4/5 (80)
60.0	5/5 (100)	5/5 (100)

濃度を持続した時間の比較では、CTM が 4 時間であったのに対し CEZ は約 2 時間という結果を示し (Fig. 2, 3), CTM の方が優れていた。一方、感染子宮における薬剤の持続時間は両剤とも約 1 時間と同じであった。以上のような薬物動態がウサギ子宮内感染モデルでの治療効果に反映し、*in vivo* と *in vitro* での両剤の抗菌力に種々に影響を及ぼしたものと推察されるが、ここではこれ以上詳しく論議できる資料をもたない。

ヒトについて調べられた報告³⁾では、CTM の各種性器組織への移行はウサギと異なり良好で、1g を 1 時間かけて静脈内に点滴注射した際の最高子宮組織内濃度は 23~27 $\mu\text{g/g}$ で、MIC 以上の濃度を数時間持続したとされている。Fig. 5 に示したように、比較的高い濃度の CTM を投与した場合、その治療効果は極めて明瞭である。したがって、ヒトにおいては CTM は通常の臨床投与量で子宮内感染症の治療に十分な効果を発揮すると結論されているのは頷けるものである。

文 献

- 1) 鎌田洋一, 松田浩珍, 關守龍雄: ウサギを用いての子宮内感染モデルの作成。日本不妊学会雑誌, 28: 205~210, 1983
- 2) 日本化学療法学会・最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について。Chemotherapy 29: 76~79, 1981
- 3) 高瀬善次郎: 産婦人科領域における Cefotiam (CTM) の基礎的・臨床的検討。産婦人科の世界, 34: 331~334, 1982

EFFECT OF CEFOTIAM ON A RABBIT UTERINE INFECTION MODEL

YOHICHI KAMATA and TATSUO IMORI

Department of Veterinary Science, College of Agriculture,
University of Osaka Prefecture, Sakai, Osaka

We carried out an examination of the therapeutic effects of Cefotiam (CTM) against uterine infectious diseases by using a rabbit experimental model of intra-uterine infection. Cefazolin (CEZ) was used as the standard antibiotic in each test.

1) MIC of CTM and CEZ against 10^6 cells/ml of *E. coli* PYO-252 strain, which were inoculated into rabbit uteri, were 0.1 $\mu\text{g/ml}$ and 3.1 $\mu\text{g/ml}$, respectively.

2) Plasma level of both antibiotic after a single intravenous injection quickly fell. However, 60 minutes after injection, the concentration of CEZ in plasma was a little higher than that of CTM. The concentration of CEZ in the uterine tissue was 3 to 5 times that of CTM.

3) *In vivo* therapeutic examination was performed. By the injection of 60 mg/kg/day of CTM for 4 days, the inoculated *E. coli* disappeared and almost no pathological findings were recognized in the inoculated uterine horn. The minimal effective dose measured by the disappearance of *E. coli* was 60 mg/kg/day of CEZ and 30 mg/kg/day of CTM. Thus CTM was as effective as CEZ at half the dose.

Accordingly, it is strongly suggested that CTM has a use in the therapy of the uterine infectious diseases.