

E. Coli; 菌內毒素(Cr⁵¹Cl₃ 標識)의 妊娠「랫트」胎盤 胎兒 特히 그 糖原量에 미치는 影響에 關한 實驗的 研究

An experimental study of the effect of E. coli endotoxin (Cr⁵¹ labelled) on the rat placenta and foetus, especially on their glycogen content.

서울大學校 醫科大學 病理學教室

(主任 李 濟 九 教授)

李 揆 善

<本實驗은 University College Hospital Medical School, London의 病理學 教室에서 Professor Sir Roy Cameron指導下에 1958年 1月 부터 同年 6月 사이에 施行되었고, 本論文要旨은 權紀4292年 10月 第11次大韓醫學協會·學術講演會·病理分科學會에서 發表되었음>

目	次
I. 緒 論	V. 結 論
II. 實 驗 方 法	VI. 英 文 抄 錄
III. 實 驗 成 績	VII. 參 考 文 獻
IV. 總 括 及 考 案	

緒 論

Brucella abortus를 비롯하여 各種細菌이 妊娠動物 胎盤 胎兒에 一定한 變化를 惹起함은 오래前부터 알려진 事實이다. 일찌기 Smith(1919)는 Brucella abortus 感染牛에 있어서 同菌이 胎盤絨毛膜細胞에 雲集함을 觀察하였고, Ristic and Morse(1953)는 妊娠海豚에 있어서 Vibrio fetus가 胎兒吸收, 流產을 超來함을 報告한 바 있다. Payne(1957, 1958)은 數種의 gram陰性菌을 妊娠「랫트」腹腔內에 注射할 때, 胎盤은 一過性鬱血 血栓 限局性壞死 白血球浸潤을 示現하고, 該胎兒는 體重增加不振, 胎兒組織 特히 肝臟內 糖原蓄積不振을 示現하며 子宮內에서 死亡하는 例도 있음을 觀察하였다. 그는 또 「랫트」胎兒體重은 胎生17日에서 21日 사이에 4倍以上 增加하며, 胎兒體內糖原量도 이와 거의 平行한다고 하며 胎兒體重增加와 糖原蓄積量과의 密接한 關聯性을 強調하였다. 胎生末期 數日間に 胎兒體內糖原量이 激增함은 Goldwater & Stetten(1947)이 이미 報告한 바 있다. 한편 Cameron, Delafield & Wilson(1940) 등은 Bact. typhimurium의 細菌分屑을 正常「랫트」와 「마우스」에 注射할 때, 肝臟糖原이 早期에 急速히 消耗됨을 觀察하였다.

Payne(未發表)은 E. coli 菌內毒素注射時 胎盤, 胎兒에 前記의 變化가 일어나며, 이때 胎兒內糖原蓄積不振은 主로 母體毒血症으로 因한 母體肝臟內糖原消耗에 따르는 糖原의 母體·胎兒間移行量 減少에 基因하는 것이며, 萬一 胎兒에도 毒血症이 일어난다면 이것이 그 二次的原因일 것이라고 하였다. 胎兒毒血症 成立與否를論

함에는 爲先 注射菌內毒素의 胎盤通過與否를 證明함이 必要하다.

여기에 있어서 著者는 菌內毒素의 胎盤通過與否 및 그 의 胎盤 胎兒 特히 그 糖原量에 미치는 影響을 窺視하고져 Cr⁵¹Cl₃標識 E. coli 菌內毒素 注射實驗을 計劃實施하여 興味있는 結果를 얻었기에 此에 報告하는 바이다

實 驗 方 法

實驗動物로는 體重 250g 內外의 Wistar 系健康雌性處女「랫트」를 使用하였다. 이들은 M.R.C Diet 41B rat cube로 育養하고 飲料水는 無制限 供給하였다. 動物舍 溫은 全實驗期間을 通하여 65°~70°F로 維持하였다. 모 든 處置는 開放「이더ー」麻醉下에서 行하고 無菌의 操作, 處置後 看護에 特別留意하였다.

1日 1回 腔洗滌水檢査를 行하여 發情期를 發見하던, 該處女「랫트」를 雌性「랫트」舍內에 移入하였다. 다음날 아침에 該動物腔洗滌水內의 精虫의 存在는 交尾를 裏證하는 것으로 看做하여 正確한 妊娠日字를 알 수 있었다 妊娠「랫트」는 屠殺時까지 隔離舍에서 飼育하였다.

E. Coli 菌內毒素는 Royal Veterinary College, London의 病理學教室保有의 乾燥菌內毒素中에서 Biuret 反應 및 ninhydrin反應 陰性을 呈하는 것을 選出使用하였다. 同乾燥毒素 35mg.을 5.0ml의 滅菌蒸溜水, 400μc에 該當하는 Cr⁵¹Cl₃와 混合한後 또다시 滅菌蒸溜水를 加하여 7.0ml가 되도록 하여 37°C溫水에 12時間潛置하였다. 同液을 透析外水의 放射能이 自然計數 (back ground count)에 近似해질 때까지 透析한後, 4°C冷室에 貯藏하였다가 實驗에 使用하였다. E. coli 菌內毒素를 上記

의 방법으로 標識할 때에 同毒素의 毒性和 放射能사이에 密接한 關聯性이 있으므로 同毒素注射後 그 生體內 分布像을 放射能測定으로 推知할 수 있다(Braude, Carey, Sutherland and Zalesky, 1955).

胎兒體重과 胎兒肝臟「糖原」蓄積量이 急速히 增加하는 時期인 妊娠 18¹/₂일에 標識菌內毒素 0.2ml (亞致死量)를 妊娠「랫트」腹腔內에 注射한 後, 一定間隔을 두고 屠殺하였다. 屠殺後 迅速히 胎盤, 胎兒를 剔出하여 胎兒의 總重量을 測定하고 그 一部分을 濃硫酸으로 消化하여 Scintillation counter로 10分間 測定하였다. 各動物에 있어서 胎盤, 胎兒의 一部分은 10%「포-마린」食鹽水(Formol saline)로 固定하고, 그 「파라핀」切片을 Ehrlich酸性「헤마톡실린」과 「이오신」으로 染色하고 少數切片은 Best氏 Carmine染色法으로 染色하였다.

實驗 成績

標識 E. Coli菌內毒素 腹腔內 注射後 1~2時間부터 妊娠「랫트」는 動物舍內 한구석에 位置하여 周圍刺戟에 對하여 反應을 보이지 않으며, 흔히 攝食을 中斷하였다. 注射後 24時間內에 死亡한 妊娠「랫트」數는 11匹이며, 이는 全注射動物의 55%에 該當한다. 혹간 腔內에 血液性 分泌物이 發見되었으나 流產은 없었다.

<表 I> Cr⁵¹ 標識 E.Coli菌內毒素 妊娠「랫트」

腹腔內注射後 胎兒組織 放射能

「랫트」番號	注射-屠殺 間隔	全入射放射能에 對한 胎兒 組織放射能의 百分率
50	23'	0
53	59'	0.2
49	115'	0.3
18	4°	2.0
23	4°	6.2
44	8°	7.1
65	12°	2.6
55	18°	0.6
21	24°	2.7

表 I 은 Cr⁵¹ 標識菌內毒素를 妊娠「랫트」에 注射한 後 그 胎兒組織放射能을 測定한 成績을 總括한 것이다.

同表는 菌內毒素를 妊娠「랫트」腹腔內에 注射할 때 早期부터 胎盤을 通過하여 胎兒에 移行하며, 注射後 8時間에 最高度에 達하고, 24時間에 이르도록 持續함을 證明한다.

胎盤은 肉眼的으로 中等度의 鬱血을 示現하고 때로는 子宮腔內에 相當量의 血液溢出도 觀察되었다. 顯微鏡的으로 鬱血을 示現하고 同鬱血은 注射後 6時間에 特히 胎盤周邊部에서 著明하며, 20~24時間에 最高度에 達한다. 本實驗終了時 即, 注射後 24時間以內에는 뚜렷한 壞死, 細胞浸潤을 發見할수 없다.

胎兒는 運動이 微弱하며, 때로는 子宮內에서 死亡하였다. 注射後 8時間以後群에 있어서는 皮下에 擴張充溢된 血管을 透視할 수 있었다. 顯微鏡的으로 胎生 19¹/₂日의 正常胎兒 肝細胞는 細胞質內에 充滿한 糖原에 依하여 膨脹되고, 球形을 呈하며, 밝게 보인다. 注射後 18~24時間群 胎兒肝臟에 있어서 肝細胞는 糖原量 減少를 暗示하는듯 細胞質은 어둡게 보이며, 正常細胞보다 훨씬 작다. Carmin 染色標本에서 糖原量減少는 더욱 明確하다.

總 括 및 考 按

Smith(1919)가 일찌기 Brucella abortus感染牛에 있어서 同菌이 胎盤에 多數發見됨을 報告한 후, Wohlwill and Bock(1933)는 turpentine과 數種細菌 注射時 海濱胎盤 胎兒의 態度를 研索함에 胎盤에 炎症이 惹起되는 경우에도 胎生 前半期에는 胎兒組織이 炎性反應을 示現하지 않음을 觀察하였고, Ristic and Morse(1953)는 妊娠海濱에 있어서 Vibrio fetus가 胎兒吸收 或은 流產을 招來함을 Gray, Singh and Thorp, (1955a, b)는 Listeria monocytogenes가 同一變化를 惹起함을 報告한 바 있다. 그러나 이 方面에 있어서 가장 綿密히 計劃實施된 實驗的 研究는 Payne(1957, 1958)의 것일 것이다. 그는 Brucella abortus를 비롯하여 數種의 gram 陰性菌을 妊娠「랫트」에 注射할 때 胎盤에 一過性鬱血에 이어 注射後 3~4日에는 限局性壞死, 多核白血球浸潤이 나타나고 該胎兒는 體內 特히 肝臟內 糖原含有量低下와 體重增加不振을 示現하며, 가끔 子宮內에서 死亡함을 觀察하였다. 細菌注射時분 아니라 gram陰性菌의 菌內毒素注射도 위와 恰似한 變化를 惹起하며 (Zahl & Bjerknes, 1943) E. Coli菌內毒素도 同一變化를 招來한다. (Payne, 未發表). 非妊娠健康「랫트」, 「마우스」에 gram陰性菌內毒素를 注射할 때 早期에 肝臟內 糖原이 迅速히 消耗됨은 Cameron Delafield and Wilson(1940) 등이 밝힌바 있다. 著者의 實驗에서 Cr⁵¹ 標識 E. coli 菌內毒素를 妊娠 18¹/₂일에 妊娠「랫트」腹腔內에 注射할 때, 胎盤이 高度의 鬱血, 出血을 示現하고 胎兒肝臟이 注射後 20~24時間에 正常胎兒肝臟에 比하여 著明한 糖原含有量低下를 示現함은 Wohlwill Bock(1933), Cameron等(1940) Zahl Bjerknes(1943), Payne(1957, 1958) 등의 實驗成績과 一致한다.

「랫트」에 있어서는 胎生 17日부터 出生時까지의 4~5日間이 胎兒發育에 가장 重要한 時期이다. 即, 胎生 17日에 胎兒體重은 1.0g內外이나. 그 後에는 急速한 增加를 보여 4日後 出生時에는 體重 4.5g 內外에 到達한다. 胎兒肝臟內 糖原蓄積率도 이 體重增加率과 平行한다. (Goldwater Stetten, 1943; Payne(1957). 著者實驗에서 Cr⁵¹標識 E.Coli 菌內毒素를 妊娠「랫트」에 腹腔內注射할

때 早期부터 胎兒에 出現하고 注射後 8時間에 最高度에 達하며 24時間에 이르도록 持續出現하였다. 著者の 實驗成績과 Cameron等 (1940), Goldwater Stetten (1947), Payne (1957, 1958) 등의 그것을 綜合考察하건데, 細菌毒素注射動物胎兒 特히 그 肝臟의 低糖原量示現은 一次的으로는 母體毒血症으로 因하여 母體內糖原이 消耗됨으로써 胎兒로 移行하는 糖原量이 減少하는 것과, 二次的으로는 胎兒로 移行한 注射毒素로 因한 胎兒 自身の 毒血症으로 말미암아 이미 蓄積된 糖原이 消耗됨으로서 이루어지는 것으로 思料된다.

結 論

E. coli菌內毒素의 「렛트」胎盤通過與否 및 그 胎盤, 胎兒, 特히 그 糖原量에 미치는 影響을 窺視하고자 Cr⁵¹ Cl₃ 標識 E. coli菌內毒素 注射實驗을 計劃實施하여 다음의 知見을 얻었다.

1. E. coli菌內毒素는 妊娠 18¹/₂일에 妊娠「렛트」腹腔內에 注射할때 그 一部分은 胎盤을 通過하여 胎兒에 移行한다.

2. E. coli菌內毒素는 「렛트」胎盤에 早期鬱血과 該胎兒 肝臟의 糖原含有量 減少를 招來한다.

3. E. coli菌內毒素 注射動物胎兒肝臟의 糖原量減少는 注射菌內毒素로 因한 母體內 糖原缺乏에 따르는 母體·胎兒間 糖原移行量減少와 胎兒로 移行한 同菌內毒素로 因하여, 胎兒肝臟에 이미 貯藏된 糖原이 消耗됨에 基因하는 것으로 思料된다.

< 擧筆에 臨하여 本實驗을 通하여 始終 指導하여 주신 Prof. Sir Roy Cameron과 稿閱의 勞苦를 베푸신 恩師 李濟九教授에게 深甚한 謝意를 表한다. 또한 E. coli 菌內毒素를 주신 Prof. P. Harvey, 放射能測定을 指導하여 주신 Dr. T.A.J. Prankerd, 恒常 鞭達하여 주신 Dr. J. Payne에게 아울러 謝意를 表하는 바이다. 所要經費는 British Council로 부터의 personal Grant와 Graham Research Fund로부터의 expenses grant로 充當하였다. >

SUMMARY

Transmission of E. coli endotoxin to the foetus and its effect on the placenta and foetus, especially on glycogen content of the foetal liver, after intraperitoneal injection of Cr⁵¹ labelled E. coli endotoxin into the pregnant rats were described. The marked level of radioactivity⁵ of the foetal tissue a few hours after injection of the labelled endotoxin into a pregnant rat is conclusive evidence that a consider-

able amount of the injected endotoxin has reached the foetus via the placenta and that foetal toxæmia has occurred. E. coli endotoxin is capable of causing lesions in the placenta associated with vascular engorgement and changes in the foetus associated with low glycogen content of the liver. It is suggested that the low concentration of glycogen in the foetal liver is the outcome firstly of want of glucose available to transfer from mother to foetus due to maternal toxæmia and secondly of consumption of the glycogen previously accumulated in the foetal liver due to foetal toxæmia.

參 考 文 獻

- 1) Braude, A.I., Carey, F. J., Sutherland, D., and Zalesky, M., Studies with radioactive endotoxin. I. The use of Cr to label endotoxin of Escherichia coli. J. Clin. Invest., 1955, 34, 850.
- 2) Cameron, G.R., Delafield, M.E., and Wilson, Joyce, Pathological changes produced in rats and mice by a toxic fraction derived from bact. typhimurium. J. Path. and Bact., 1940, 51, 223.
- 3) Gray, M.L., Singh, C. and Thorp, F. Jr. Abortion, stillbirth, early death of young in rabbits by Listeria monocytogenes. I. Ocular instillation. Proc. Soc. Exper. Biol and Med., 1955, 89, 163.
- 4) Gray, M.L., Singh, C. and Thorp, F. Jr., Abortion, stillbirth, early death of young in rabbits by Listeria monocytogenes. II. Oral exposure. Proc. Soc. Exper. Biol. and Med., 1955, 89, 169.
- 5) Payne, J.M., Changes in the rat placenta and foetus following experimental infection with Brucella abortus. J. Path. and Bact., 1957, 73, 141.
- 6) Payne, J.M., Changes in the rat placenta and foetus following experimental infection with various species of bacteria. J. Path. and Bact., 1958, 75, 367.
- 7) Smith, T., A characteristic localization of bacillus abortus in the bovine foetal membranes. J. Exper. Med., 1919, 29, 451.
- 8) Zahl, P.A., and Bjercknes, Clara, Induction of decidua-placental hemorrhage in mice by the endotoxins of certain Gram-negative bacteria. Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.,