



|              |   |
|--------------|---|
| Title        | 腎症候性出血熱（HFRS）病因ウイルス汚染ラット腫瘍（Malignant Fibrous Histiocytoma）よりのHFRSウイルスの消去  |
| Author(s)    | 安田, 正秀  |
| Citation     | 大阪大学, 1989, 博士論文  |
| Version Type |   |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/36869">https://hdl.handle.net/11094/36869</a>   |
| rights       |   |
| Note         | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

|         |  |        |         |         |
|---------|--|--------|---------|---------|
| 氏名・(本籍) | やす<br>安  | だ<br>田 | まさ<br>正 | ひで<br>秀 |
| 学位の種類   | 医  | 学      | 博       | 士       |
| 学位記番号   | 第  | 8910   | 号       |         |
| 学位授与の日付 | 平成元年12月13日   |        |         |         |
| 学位授与の要件 | 学位規則第5条第2項該当   |        |         |         |
| 学位論文題目  | 腎症候性出血熱(HFRS)病因ウイルス汚染ラット腫瘍(Malignant Fibrous Histiocytoma)よりのHFRSウイルスの消去 |        |         |         |
| 論文審査委員  | (主査)<br>教授 山之内孝尚   |        |         |         |
|         | (副査)<br>教授 高橋 理明 教授 上田 重晴  |        |         |         |

### 論文内容の要旨

#### (目的)

昭和60年以降発生を停止した腎症候性出血熱(HFRS)は医学生物学的研究における典型的バイオハザードであり、その予防制圧の基本は動物実験環境への疑汚染動物の持込み・野生動物の侵入排除と発症機関での疑汚染動物の処分・環境の消毒の徹底である。しかしながら、貴重な系統動物あるいは発症・汚染拡大の原因とされる腫瘍材料について、隔離環境で維持し、実験的手法により病因ウイルスを消去しうる可能性が発症状況等の解析によって示唆されていた。昭和58年、本症羅患の原因と推定された実験癌担癌ラットを発症機関より大阪大学微生物病研究所感染動物実験施設のP3レベルの一室に移送隔離し、腫瘍を継代移植によって維持し、移植に伴うウイルスの動態を検討すると共に、汚染腫瘍からのウイルスの消去を目的として実験を行った。

#### (実験材料および方法)

1) 腫瘍の継代移植：原機関での手法に準拠し、腫大した腫瘍を牛胎児血清を含む培養液中で細片とし各代各群5～6頭の6週齢♂のFischer344/Nslcラットの背部皮下に挿入管を通じて移植した。移植継代は3.5～5週間隔で行った。

2) ウィルス感染の確認：移植前各recipientラットの血液を採取、血清を分離し、Hantaan virus(HV)76-118株を感染7～10日間培養した単層Vero E6細胞から調製した細胞をスポットスライドに滴下培養し、アセトン固定した標品で間接免疫蛍光法(IF A)を行い特異蛍光顆粒の確認を指標として判定を行った。陽性限界は血清希釈16倍とし、抗体価はさらに2倍希釈法での陽性上限によって定めた。

3) 移植腫瘍細片の実験的処理：HFRS回復患者血清を10%に添加した培養液に腫瘍細片を浮遊し一定時間40°Cで抗体と接触した後移植を行った。

4) 抗体陽性ラットへの腫瘍移植：HV KHF 83-61 B1株感染新生仔ラットが生育後交配、分娩したF1ラットの生育後6周齢に達した個体をrecipientとして移植を行った。

#### 〔成績〕

このラット腫瘍は化学発癌した malignant fibrous histiocytoma (MFH) で構成細胞群の組織学的特質から giant cell, fibrous および myxoid の3型に分類される。移送された3型計13頭のラットはすべてIFAで強陽性であり、それぞれの型のMFHの移植を受けたrecipientがすべて強陽性を示し、これらのMFH担癌ラットが本症の感染原であることが実証された。移植1代では3型とも移植成功率は100%であったが、giant cell および fibrous type では以降移植率が低下し4代で20%となり、腫瘍維持のためnudeラットへの移植を併用した。移植3代までは移植率と無関係に強いHV感染が各recipientに成立していたが移植4代で腫瘍生育recipientの血清反応が陽性限界まで低下し、5代以降はすべて陰性となり giant cell および fibrous type の汚染腫瘍からHVは自然に消去された。一方、myxoid type MFHの移植率は常に100%であり、またrecipientラットに高度のHV感染が成立した。しかしながら、腫瘍細片をHFRS回復患者血清と接触後移植する、あるいは抗体陽性ラットをrecipientとして汚染腫瘍を移植し、生育腫瘍を次代へ移植することにより一部のrecipientに抗HV抗体の上昇しない個体を認めた。これら抗体陰性に転じたラットからの腫瘍継代移植によるすべてのrecipientラットは抗HV抗体の上昇を認めなかった。

#### 〔総括〕

MFHのgiant cell, fibrousの2つのtypeの腫瘍は実験環境を変換して継代移植をすることにより移植率が低下し、これに遅れて汚染したHVが自然に消去された。また myxoid type MFHでも継代移植に際して実験的処置を加えて消去し得た。汚染MFHからのHVの自然ならびに実験的消去の理由は明かでないが動物の飼育実験環境の諸種の環境因子によってrecipientラットの移植腫瘍に対する局所的、全身的反応性に差異を生じ、また実験的処置によって随伴するHVの増殖もこれに左右されるものと考えられる。梅田奇病の環境整備による自然消滅、統御された動物実験環境を有する発症機関が何等の制圧策を取らなかったにも拘らず汚染ラットの継代繁殖によりウイルスが自然消去された等の諸事実と本研究の成績は一致するものと考える。本研究に示される事実は動物実験における環境諸因子の適正なコントロールの重要性を特に示唆するものである。

#### 論文の審査結果の要旨

腎症候性出血熱(HFRS)病因ウイルス汚染化学発癌の担癌ラットを発症機関から環境諸因子が統御された動物実験環境に移送隔離し、腫瘍継代移植に伴うウイルスの動態を検討した。この悪性線維性組織球腫のgiant cell, fibrousの二型は新実験環境における継代の初期に移植率が低下し、同時に腫

瘍からウイルスが消去された。myxoid型では移植率は100%で各個体で高度のウイルス感染が30代の移植でも成立した。この腫瘍片を40°CでHFRS回復患者血清と接触して移植する、あるいは抗HFRSウイルス抗体保育ラットに移植し次代移植すると一部の recipient は抗体上昇せず以後の継代移植の全個体は抗体陰性を保持した。汚染悪性線維性組織球腫よりHFRSウイルスを統御された動物実験環境で自然にまた実験的処置により消去しえた。

以上の成績は実験環境が本実験ラット腫瘍の移植生育と汚染HFRSウイルスの消長を左右することを実証すると共に腫瘍からのウイルス消去の実験的方法を確立し、動物実験学上貴重な知見を明らかにしたものである。