

動物実験における腎症候性出血熱の発生と終息

山之内 孝 尚

元大阪大学微生物病研究所附属感染動物実験施設

はじめに

医学生物学の研究において研究実験に起因する生物学的災害すなわち Biohazard の防止は必須の前提条件であり、有毒微生物を扱う実験における感染事故の防止には、実験者のこれに対する正確な認識と確実な実験手法、実験環境については空気調和等適格な設備・機器の整備ならびに管理・運営が要求される。

しかしながら動物実験においては、実験動物がヒトに感染性を有毒微生物に汚染され、これによって実験実施者他関係者が予期しえない侵襲を受け発症する場合がある。

昭和59年末をもってその発症を停止したが、約15年に亘ってわが国の主として医学教育研究機関の動物実験関係者に散発した腎症候性出血熱 (hemorrhagic fever with renal syndrome: HFRS) はその典型的事例としてあげられよう。

昭和53年秋、数年来、動物実験関係者に出血傾向、腎障害を伴う不明熱性疾患が発生しており、これが症状に多少の差はあるが、広くユーラシア大陸に局所的に流行しているウイルス性疾患、Nephropathia epidemica¹⁾ (NE), Hemorrhagic nephroso-nephritis²⁾ (HNN), Epidemic hemorrhagic fever³⁾ (EHF: 流行性出血熱), Korean hemorrhagic fever⁴⁾ (KHF: 韓国型出血熱) と血清学的に同一又は酷似していることが明らかとなった。なお HFRS の病名は昭和57年2月東京で開かれ上記の各病症について統一するものとして勧告されたものである。

わが国での動物実験に伴う HFRS 発症の診断は、不明熱性疾患の発生した数機関から回復患者血清、疑汚染実験動物血清を KHF 病原体保有動

物 *Apodemus agrarius coreae* (朝鮮セスジネズミ) の肺・腎等の臓器中にウイルス抗原を回復患者血清を用い間接蛍光抗体法 (IFA) で証明し、本症の診断法を開発した⁵⁾韓国高麗大学ウイルス病研究所李鎬汪教授に送付し、同教授によってなされたものである。

わが国では大戦中に中国東北地域に駐留した陸国将兵が EHF を経験し、また昭和35年から大阪梅田地区で119名の EHF の軽症型が発症したことが田村雅太博士の発見と尽力、大阪大学医学部、微生物病研究所^{6),7)} (微研) の協力によって明らかにされていた。

当時筆者は微研感染動物実験施設専任教官として、これらの事実は初めて知り得たのであるが、なぜ閉鎖的動物実験環境がこのような病原体に汚染されたかについて重大な関心を持つと同時に、これが医学研究の基礎である動物実験の存続をゆるがすかもしれないとの危機感を持ったのであった。何故ならば、現実に動物実験関係者に本症が発生しており、もし一般市民の間に本症の発症が相次いだならば、正確な因果関係はともかく、汚染の原点としての動物実験環境の責任が社会的追求を受けることが必至であると直感したのであった。

当時昭和54年度科学研究費申請の時期であって、微研では本症発生の実態の把握、病原体の分離とわが国における検査体制の確立、予防制圧対策の立案に必要な基礎的研究を開始すべく、全国のウイルス学、実験動物学、臨床医学の研究者を班員として研究班を構成し申請した。文部省は事態の緊急性を認め、直ちに研究班の結成を促し、昭和53年度特定研究(1)「動物実験における人獣共通感染症、特に流行性出血熱の現状調査とそれら防止

表1 動物実験に伴う腎症候性出血熱（HFRS）の年次別、機関別発生状況

年次	機関	A	B	C	D	E	F	K	M	O	Q	T	U	V	W	X	Y	Z	NA	JU	IW	X"	OM	計
昭和45年('70)																5								5
" 50年('75)			1																		1			2
" 51年('76)		1		1 2			2					3 5												14
" 52年('77)		1	1 4	2 2								1 1												12
" 53年('78)			13	7 1	6 2	2		1	1															33
" 54年('79)					1 3					2	2	1	1		1									11
" 55年('80)					1		1					1 3		1	2	1								11
" 56年('81)						1		3				5	4		5	9	2 1	1						31
" 57年('82)						1										1								2
" 58年('83)																			1	1				2
" 59年('84)																1						1	1	3
" 60年('85)																								0
" 61年('86)																								0
" 62年('87)																								0
" 63年('88)																								0
計		2	19	15	13	5	3	4	1	2	2	20	5	1	8	17	3	1	1	1	1	1	1	126

註1) 間接蛍光抗体法による血清学的診断によって確認ないし推定された発症数。

2) 各年次を上半期，下半期に二分して表わしてある。

3) X"機関1名の発症は59年1月で昭和58年度の発症となる。

対策の研究」班（代表者：川俣順一阪大教授）が発足した。以来昭和54年より63年まで班研究は総合A研究として継続し，病原体の分離から検査体制の確立，予防制圧法の各機関，動物実験関係者への周知徹底の結果，昭和60年度以降本症患者の発生も停止して，班研究の目標を達成した。

本症の発生から終息に至る経過は各年度末に研究報告としてまた班研究については多く公表されているが，ここに再び概説して動物実験関係者諸賢の参考に供するものである。

1. 発症状況の推移

前述の通り当初は疑患者，疑汚染動物の診断は血清を李教授に送付し依頼したが，昭和56年末同教授より IFA 用の標品の分与を受け，57年6月 KHF 病因ウイルス Hantaan 76-118 株の分与，

同年 ATCC (American Type Culture Collection) より登録の同株を購入，A549細胞，Vero E₆細胞に培養して IFA 法用の標品を作成しわが国で診断が可能となった。昭和58年微研では HFRS ウイルス B-1 株を発生機関の担癌ラット腫瘍より分離し Proto type の株と併せて診断に用いることとした。

HFRS の年次別・機関別の発生状況を表1に示す。地域別（表2）では中部，北陸，近畿に偏在し，中国・四国地区では発生を確認していない。但し某機関では複数の動物施設教官から数十名の疑患者発生があったとの個人的談話もあり，表中の某機関でも発生は2講座に限られ他講座でも発生があったと直接の会話もなされている。班に実験動物の血清検査を依頼し陽性の結果を得，患者発生の場合を明示しながら公的には患者発生を否定

表2 地域別、機関別腎症候性出血熱発生状況

	北海道	東北	関東	中部・北陸	近畿	中国・四国	九州	全国
医学教育 研究機関	A, U	B		D, F, O, Q	C, E, V, W, X, Y, X', OM, NA			16
薬学教育 研究機関				K				1
獣医学教育 研究機関		IW						1
公的医学生物学 研究機関			M	T	Z, JW			4
計	2	2	1	6	11	0	0	22

した1機関を除いて、表中には示していない。班では55年度まで全国の動物実験に関係ある公的教育研究機関に調査表を送付し患者発生ならびにその状況についてアンケート調査を行ったが、伏せられた事実についてはアンケート調査の限界を感じさせられた次第である。

班研究の発足すなわち昭和53年後半以前の患者発生が表に認められるが、B⁸⁾、C⁹⁾、E、F、の各機関では個別に李教授に疑患者回復後の血清を送付しHFRSの発症を確認していた。以外の機関については班に診断を依頼されたものである。B、C機関では直ちに動物実験施設を閉鎖し、疑汚染動物を屠殺し、動物飼育実験室の薬剤散布消毒を繰返して、一定期間後施設を再開し以後の患者発生を停止せしめた。A機関では何等対応処置を行っていないが患者発生は停止している。昭和54年3月疑患者血清と共に施設職員の血清を対照として李教授に検査を依頼したが、系統ラットの繁殖・維持に従事した技術者がIFAで2000の抗HV抗体価を有する不顕性感染者であることが判明した。昭和57年行なったIFA検査では当人の抗体価は64に下降し、系統ラット血清は全て陰性であった。

当人が系統ラットより感染を受けた可能性が高いが、然りとすればA機関の系統ラットの汚染ウイルスは自然消滅したものと推定される。当機関の動物実験施設は空調他諸設備が整備され飼育状態も良好である。EHFの軽症型と診断された梅田奇病が、市街地の改修計画の実施、野鼠駆除等の環境改善によって患者発生が自然停止したと対比すると、実験動物を汚染したHFRSウイルス

の施設内汚染が蔓延するかあるいは消退するかの鍵は動物飼育実験環境の適否にあることを伺わせる事実である。

昭和53年に33名の患者発生が記録されたが、54年、55年とやや減少の傾向を示した患者数が昭和56年前半に26名と増加し不幸にも1名の死亡者¹⁰⁾を見るに至った。研究班は各年度末に本症の発生状況、研究成果ならびに国内、国外の本症に関する情報を収集して予防対策を立案してこれを研究報告書として作成し配布したが、昭和56年7月文部省学術国際局長より予防制圧の徹底を期すべき旨の通達が全国の教育研究機関に出され併せて、「人獣共通感染症の検査体制に関する打合せ会」で作成し、国立大学動物施設長会議で了承された「EHF、(KHF) 予防指針」、「同診断の手引」が配布された。それ以降、56年度後半は3機関5名、57年2機関2名、58年2機関2名、59年は3機関3名と発生患者は減少し、これらは1機関が中部地区である以外全て近畿地区である。60年以降HFRS発症を停止したが、この発生の減少から停止に至る経過を考えれば動物実験関係者に本症に関する認識が周知したことが発症停止の最大要因と思われる。

昭和58年2月東北地区某大学医学部動物施設職員7名の検査を依頼され、教官1名に中等度陽性の成績を得た。重ねて2年前採血した血清も陽性であり同教官が在学した大学獣医学科で疑EHF症状を示し約2ヵ月間入院した症例の存在の情報を得て、その症例当人の現時点における血清の送付を受け、検査の結果中等度陽性の成績であった。

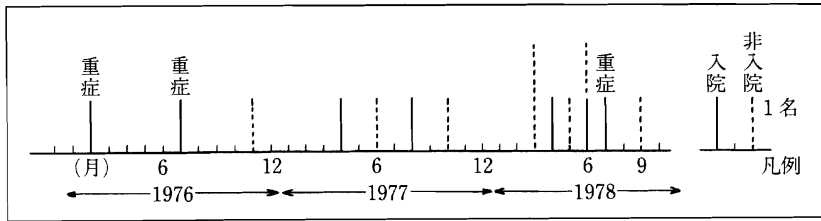


図1 C 機関における年月別発症例

表3 C 機関におけるヒト抗 HV 抗体保有状況

職 種	被 検 数	EHF 患者数	抗体陽性者数	抗体陰性者数
研 究 者	54	12	13	41
実験動物飼育等の技術者	28	2	4	24
学 生	37	1*	1*	36
計	119	15	18	101

患者発症経過は図1を参照（抗体検査は1978～82年に行なわれた）

*本学生はラット飼育に従事

同大学の当時の動物実験に従事した1名も陽性の成績を得た。これらの事実はB機関でEHF患者が初発した時期に一致して、同地区のIW機関の獣医学研究教育機関の動物実験環境が汚染されていたことを明らかにした。これと併せてHFRS発生末期の数年間、その地域が近畿に局限した事象を考えると、動物実験の場の汚染の要因にそれぞれ共通するものの存在が推定される。

2. 発症状況の解析

すべての発生機関について、動物施設または動物室の設備と機能、実験に関する人的構成、飼育形態と環境条件、発症者が用いた動物種と実験の性格等について調査されてはいないが、一部班研究での解析および発表された報文に基き動物相互間の感染、動物からヒトへの感染発症を左右する諸因子について概説する。

1) 患者発生は散発的である：表1に示す各発生機関の初発例と第2発症例との間に半年間以上を経過している例が多くその後1ヵ月に1～2名の患者が間をおいて、あるいは毎月発症しているのである。1ヵ月間に5名以上の発症を見たBおよびX機関については例外的事象である。ラット血清の抗体検査で80%弱(115例中85例)の陽性が認められたC機関の年月別発症状況⁹⁾を図1に示

表4 E 機関におけるヒトおよびラットの抗 HV 抗体保有状況

	ヒ	ト	ラット
	抗体陽性の割合	HFRS患者	抗体陽性の割合
動物施設職員	8/14	0	
基礎医学研究者	3/23	0	55*/110
臨床講座研究者	61/117	5	
	72/154	5	

*一部少数の野生色体毛の実験室での捕獲ラットを含む。

すが、散発的発症が理解されよう。被検53のマウス血清はすべて陰性であり、この機関の感染源は実験ラットと推定される。C機関のヒトの抗体保有状況を表3に示すが、陽性者中入院患者7名(すべて臨床講座研究者)、他の8名は高熱、筋肉痛、全身倦怠感などの症状からEHFと診断されている。不顕性感染者は3名である。B機関の状況⁹⁾もC機関と酷似しており被検26名中抗体陽性を示したのは17名で、その中ラット室で実験し発症した研究者14名は全て陽性、同室で飼育作業した技術者3名は抗体陽性の不顕性感染者であった。また同室で実験した無症状の研究者12名はすべて陰性であったことが報じられている。同室Vラット26匹の抗体検査で1日以上飼育された12個体が強陽

表5 V 機関ラットの抗 HV 抗体保有状況
(購入, 維持の別) (1980年)

飼育条件	ラットの区分	陽性数/総数
開放環境	購入ラット	7/13
開放環境	SHR*	0/17
バリアー環境	SHR*	0/7

*SHR: 高血圧自然発症ラット

性, 5 個体が抗体価256以下の弱陽性で, 他室のラットは全て陰性であった。

抗体検査で多数の不顕性感染者が認められた E 機関と発症状況に大きな差異が認められる。

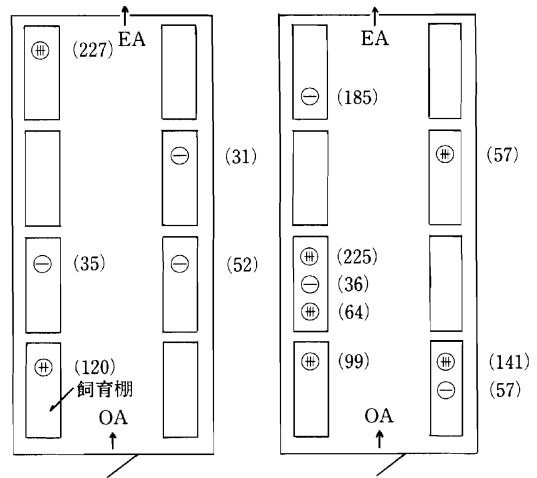
2) 汚染動物の局在性

HFRS 汚染動物 (ラット) がなんらかの原因で施設の一部に入った場合, 施設全域の収容動物に汚染が拡大することは稀で部屋単位に限局される場合が多い。

U 機関では昭和56年1月に, 1名の技術者が発症, 2月に死亡されたが, この技術者が飼育業務に従事した約1,200匹収容のラット室では被検35匹のラット中28匹が抗体陽性で, その中体重200g以下の4個体は全て陰性, 200~400gでは15匹中12匹陽性, 400g以上は16匹全て陽性であり, 同室から移動があった別棟のラット6匹中2匹が陽性であったが, 一方廊下を隔てた空気調和システムを同じくする800匹収容のラット室では被検10匹全て陰性であったと報ぜられている。

V 機関でも昭和55年秋購入ラットで実験を行なった1名の医師が発症したが, そのラットの汚染状況 (表5) と汚染ラットケージの配置図を示す。汚染ラットは購入分に限られ併列した2室で飼育期間57日を限界として抗体陽性・陰性ラットに分かれるが, 風下185日飼育で陰性1個体の存在が目される。表中の開放環境での SHR ラット飼育室はこれら2室と同階にあり双方のケージは共通で, 洗滌後滅菌されることなく使用されていたが, SHR ラットはウイルス汚染を受けていない。病因ウイルスは洗滌・風乾の間に感染性を失っていることが示される。

NA 機関では10数室の動物飼育実験室が研究棟に散在的に配置され, 抽出された219匹のラット中77匹 (35%強) が抗体陽性であり, 強陽性検体32



血清16倍希釈定性検査

⊕ 中等度陽性, ⊕ 強度陽性, () 内数字は飼育日数

図中のラットは表5の第一横列, 購入ラット13匹中7匹陽性を示した成績と対応する

図2 V 機関ラットの抗 HV 抗体保有状況
(飼育日数とケージ位置)

は全て発症者の関係した講座の担癌ラットが収容された3室からのラットに限られていた。(図3-A) また発症者が化学発癌ラット腫瘍の累代移植を行なった担癌ラットは全て強陽性で, この動物室で21匹のラット血清中9検体は中等度以上陽性, 6は低度陽性, 47名のヒト血清中9検体が陽性, その中7が観血的実験を行っており, 他の1名は飼育技術補助者であった。

なお全動物についてハムスター20匹, 家兎5匹は抗体陰性で, 動物実験室で捕獲した野生色のラット3匹中2匹は中等度抗体陽性であったことは注目される。

OM 機関では昭和59年7月1名の患者発生した事が血清抗体強陽性の結果から判明した。動物実験関係者を基礎および臨床講座に分け, ヒトおよびラットを主として実験動物の血清について実施した血清 IFA 検査成績を表6-A・B, 図3-Bに示す。Lを以って示したのは動物実験施設職員分である。患者発生報告1名であるが, 抗体価1,000以上を示した基礎6名, 臨床8名の強陽性者中に検査に近い時期での発症者の存在が推定される。同機関の施設は3階 (F) 建て, 2Fおよび3Fの

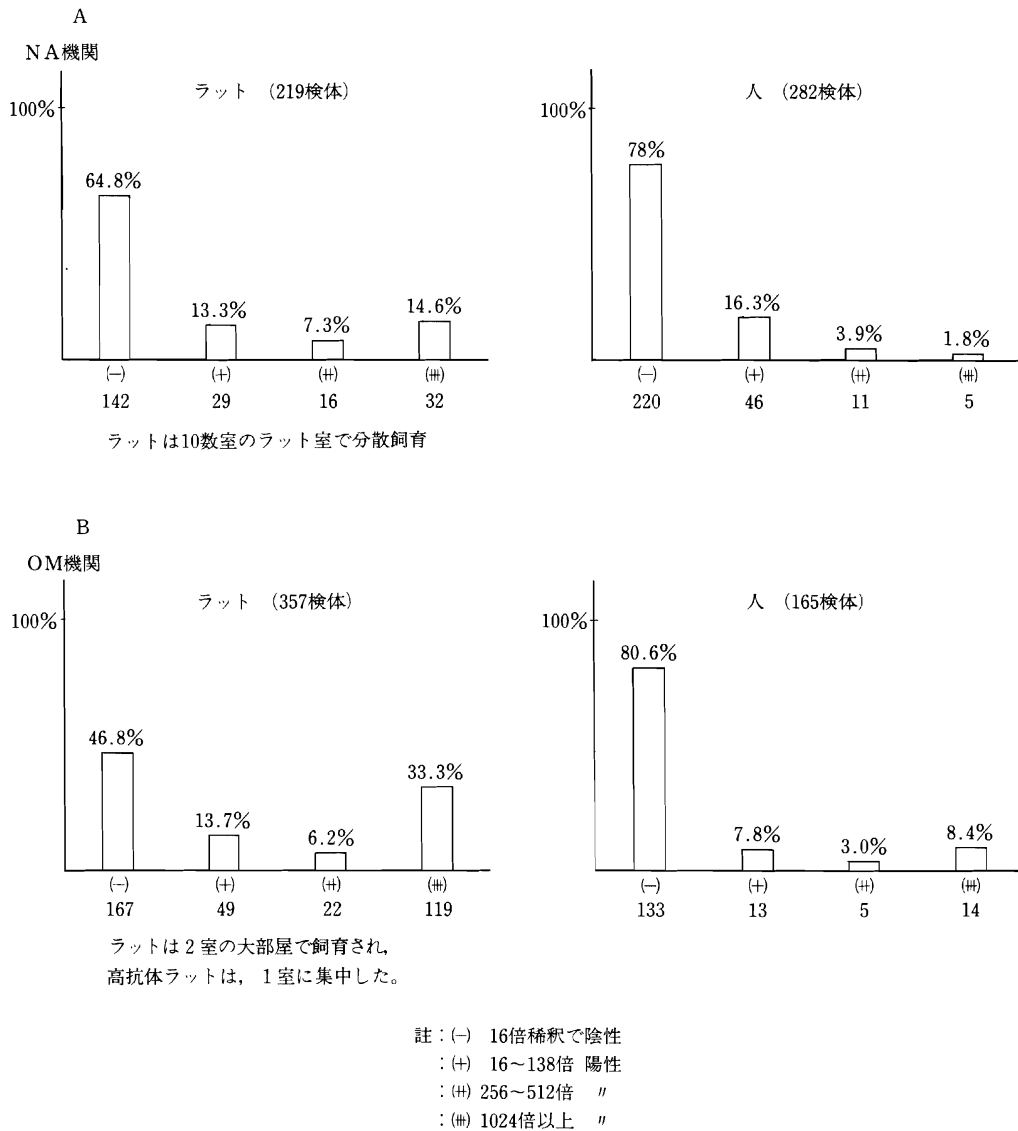


図3 A, B 患者発生2機関のラット及び人の抗HV抗体IFA検査成績

大動物室にラット、マウスが収容されていた。2Fではラット263匹中170匹(64.6%)に、3Fでは94匹中20匹(21.2%)に抗体陽性個体が認められたが、図3-B中の強陽性を示した119のラットは2Fラット室に集中していた。マウスでは25検体中3検体に弱陽性が認められている。

NA機関では全ラットをOM機関では2Fのラットは全て、3Fでは陽性ラットを全て処分し、各室の消毒を繰返してそれぞれ過密であった収容数を減少して使用を再開した。以後、両機関共定

期的にラット血清について抗体検査を行なったが、陽性ラットは証明されず、HFRSの予防制圧の目標を達成した。

なおNA機関の担癌ラット腫瘍からHFRSウイルスB-1株¹⁰⁾、OM機関の強陽性ラット臓器からB-2、B-3株を山西らは分離している。

3. 動物実験施設のHFRSウイルス汚染の原因ならびに感染様式について

HFRSは人獣共通感染症とされているが、人か

表6 A 発症機関の動物実験関係者の IFA 検査結果 (基礎講座)

講座	定性検査陽性数	被検査	陽性検査の抗体価 (1:稀釈度)
A	1	7	128.
B	1	6	8,192.
C	0	5	
D	1	6	16.
E	4	8	4,096. 1,024. 512. 512.
F	0	1	
G	1	3	16.
H	1	2	2,048.
I	1	4	32.
J	3	11	256. 16. 16.
K	0	2	
L	4	6	8,192. 1,024. 64. 64.
総数	17	61	

註: IFA 検査は HFRS ウイルス B-1 株感染 A 549 細胞をスポットスライドに培養, アセトン固定 FITC 標識抗ヒト IgG (heavy+light chain) 羊血清を用いた。

表6 B

講座	定性検査陽性数	被検査	陽性検査の抗体価 (1:稀釈度)
A	1	5	16,384.
B	6	22	8,192. 4,096. 4,096. 32. 16. 16.
C	0	4	
D	0	10	
E	1	1	16,384.
F	4	17	>16,384. 8,192. 256. 16. ?
G	1	10	16.
H	0	6	
I	0	6	
J	1	7	8,192.
K	0	3	
L	0	1	
M	0	2	
N	0	2	
O	1	8	256.
総数	15	104	

ら人への感染, 人から動物への感染は EHF, KHF 研究の当初から無しとされている。然りとすれば, 外界から隔離された動物実験あるいは実験動物生産環境での実験動物の汚染は環境に侵入した病原

体保有野生動物, 特に野鼠あるいは人為的に持込まれた実験動物 (ラット) に起因するとする以外に考えられない。後者としては汚染系統ラットの研究者間, 施設相互間の授受と購入市販ラットが既に HFRS ウイルスの汚染を受けている場合があげられる。

第一の汚染要因の存在は二機関について実例を記述した。また昭和45年は梅田奇病の終息の時期にあたり, 地域を考え併せて動物実験に伴う HFRS の発症と梅田奇病の病因为無関係とするのは非論理的と言わざるをえない。

西欧諸国での動物実験に伴う HFRS の発症は 1976, 78年に計 4 名のベルギーの医学研究所¹¹⁾及び 1977年に英国の癌研究所¹²⁾での 4 名の発症例である。それぞれ 1981年, 83年に回復患者血清の IFA 法により診断されているが, 1975年前者より後者へ Immunocytoma およびこれを担癌した LOU/Wsl ラットおよび未発症機関の同癌材料, 同系統ラットが HFRS ウイルスに汚染されていた事実も明らかにされている。これは汚染ラットおよび移植性腫瘍材の授受が汚染の拡大から発症の要因となった事実を明らかにしたものである。

次に X 機関昭和57年発症の 1 例は動物飼育実験に関連したもので生化学実験材料としてのラット血液および臓器採取中に誤って注射針で指を刺し, 約 1 ヶ月後に高熱を発し数日後微研での患者血清抗体 IFA 検査で強陽性であることが判明した。同時に作業を行なった 2 名の研究者は陰性であった。また同一業者から数度に亘って購入したラットの抗体保有状況を表 7 に示したが, 特定の日の購入分に特に強陽性の個体が集中している。購入後の感染数日で抗体強陽性に転ずるとは考えられず, 購入時感染が成立していたと推定される。

また実験ラット生産の場でも HFRS ウイルス汚染が局在していることが表中の成績から伺われる。以上, 諸事実から動物実験施設が汚染される三つの要因は実証されたと判断するものである。

病原微生物がヒトあるいは動物体内に感染侵入するのは経気道, 経消化管, 等の経粘膜あるいは動物, 外部寄生虫等による。また注射針等による創傷に基づく経皮感染があげられるが, HFRS 感染経路について考察を加えたい。自然感染または

表7 X 機関患者発生(昭57. 8)に関連したラットの抗 HV 抗体保有状況

Lab.	ラット 個体番号	購入月日	定性検査 結果	採血日
講座 No. 1	1	Jul. 12	- < 16	Sept. 7
	2	"	-	"
	3	"	+	"
	4	Jul. 21	+	"
	5	"	+	"
	6	"	-	"
	7	Jul. 26	≠	"
	8	"	≠	"
	9	"	≠	"
	10	Jul. 28	≠	"
	11	"	-	"
	12	"	+	"
中央実験室	13	About 3months before	≠	"
	14	"	-	"
	15	"	-	"
	16	"	≠	"
	17	"	≠	"
講座 No. 2	18	Jul. 23	≠	Jul. 30 [*]
	19	Jul. 26	≠	"
	20	"	≠	"
	21	"	-	Sept. 7
	22	"	-	"
	23	"	-	"

註*同日発症を含む3人の研究グループが採血、臓器採取を行った。血清は凍結保存。

実験感染を受けた小型哺乳動物が体外に病原体を排出する経路について尿、尿、唾液があげられる。李¹³⁾は実験感染 *Apodemus agrarius coreae* と正常 *Apodemus* を同居せしめて感染が成立すること、一年近く尿中に HV が排泄され期間は短い尿、唾液中に排泄されることを証明している。

汚染実験ラットからの同室飼育ラットへの感染の成立は上述のように U および V 機関の飼育日数の長短ならびに体重の軽重の差により抗体陽性、陰性が左右される成績から推定しうる。然しながら、実験感染した成獣ラットは感染源となりえぬことは森田等¹⁴⁾の報告に見るところであり、筆者等も同様の成績をえている。

表8 発生機関における施設・実験技術者の HFRS の感染状況

機関	発症実験者	技 術 者	
		発症者	不顕性感染者
A	2	0	1
B	19	0	3
C	13	2	2/24*
D	13	0	2
E	5	0	8/14*
Q	2	0	2
T	11	9	
U	4	1	2
W	4	1	
X	14	2	
Y	1	2	
NA	1	0	1
JU	0	1	
13	89	18	

*C 及び E 機関については全員の抗体検査を行なっているが、他は限定された対象に対する検査結果である。C 機関では24名の技術者中それぞれ2名の発症者、抗 HV 抗体陽性者、E 機関では14名中8名の抗体陽性者が認められたが、発症者の無しを意味する。

施設職員は長時間施設内に滞留し給飼・給水・ケージ交換等の作業を考えれば、動物あるいは汚物に接する時間は、実験実施者に比較して汚染施設での感染発症の機会が多いと考えられるが、表8に見るように特殊な例を除いて実験実施者の発症の比率は高い。これは汚染ラットから排出される HFRS ウイルスに加えて剖検等の直接動物に接触する実験において血液・体液・臓器に由来するウイルスに感染する機会が多いことによるものであろう。M 機関の発症例は実験動物の微生物モニタリングの専門家から実験動物の送付を受け、採血・剖検のみを行なって感染発症したものである。なおこの症例は唯一の関東地区での症例である。

昭和56年 Y 機関の2例の発症例は感染性エアロゾルによる発症を実証するものである。動物死体は袋(多くはビニール袋)に入れ焼却等の最終処理に至るまでフリーザで保管する場合が多いが、袋を取出す際、袋が破れてこぼれ落ちフリーザ内が汚物によって汚れることはよくあることである。Y 機関では電気を止めて解氷し水シャワーで内部

を洗滌した。この作業を行なった2名の技術者が約2週後相次いで発症した。動物が HFRS ウイルスに汚染されておれば、庫内に病因ウイルスが蓄積保存され、洗滌時多量の感染性エアロゾルが発生したことは想像に難くなく、これを吸入することによって発症の転機を取る大量のウイルス感染が起ったものと判断される。

前述のように U 機関では技術者1名の死亡例¹⁹⁾を生じたが、この技術者が飼育清掃作業に従事したラット室は底網を超えて落下した尿尿を皿に敷いた紙に受け毎日これを巻取り袋に入れる清掃作業を行っていた。冬期暖房のみで湿度調節を行っていないので、相対湿度は極度に低下し、作業時に多量の塵埃と感染性エアロゾルが発生したものである。

Hantaan virus 76-118株が KHF の病因ウイルスとして分離されて以来、Virus 学的性状¹⁵⁾について検討されたが、*Ap. agrarius* に対する感染性は pH 7.0~9.0では安定であるが、pH. 5.0以下では不活化されることが記録されている。ラット飼育に木屑を床敷として使用した場合、その水浸出液について測定すると pH 4.6~4.8であり、排泄されたウイルスは容易に感染性を失う。飼育1週後の測定では、尿尿を含む床敷は産生アンモニアによって pH. 7.4以上に变化する。従ってケージ交換を怠った場合、床敷の pH はウイルスの感染性を安定に作用すると考えられる。

最後に、感染にダニ類等の外部寄生虫の介在の可能性であるが、EHF の病原体を *Apodemus agrarius* に体表に寄生した北満トゲダニの乳剤を接種して、口過性病原体とした日本陸軍軍医団¹⁶⁾と KHF について Vector の介在を主張する米軍の研究¹⁷⁾があるが、これを否定する全ら¹⁸⁾の主張もある。NA 機関の発症者は外部の民間病院から週に一度研究のため大学に赴いていた。夏期帰途一定時間後に全身に痒感を覚えたとの事である。この動物実験環境で感染にダニ類が介在すれば、早期に多数の患者が発生したと考えられ、動物実験に伴う HFRS の発生には外部寄生虫の介在は否定されよう。

以上の発症状況の解析から、動物相互間、動物からヒトへの HFRS ウイルスの感染様式は汚染動

物の排泄物中に含まれるウイルスを含む感染性エアロゾルの経気道、経口ならびに経皮感染を主とし、剖検等の操作時には血液、体液、臓器に含まれるウイルスの接触、感染が主役を演ずるものと判断される。散発的発症状況、汚染ラットの局在性、実験環境からの汚染動物の自然消滅、わが国のみならず世界の港湾他都市部での野鼠の存在にも拘らず、これに起因する住民の発症が稀であることから、野鼠由来の HFRS ウイルス所謂 Seoul virus はせい弱で物理化学的因子等によって容易に感染性を失うものと推定される。

これでは一見説明のつかない事象も存在する。最終発症例¹⁹⁾は動物実験室を訪問して約10分間立話しをただけで2週後発症したものである。また昭和54年 D 機関の2発症例²⁰⁾は4月11日の1日のみラット飼育に従事し、22日、27日に高熱を以って発症した。高麗大李教授の研究室で HV 保有 *Apodemus* 臓器乳剤を Wistar 系ラットに接種実験し重症例2、中等症、軽症それぞれ1の発症を見ているが、内2名は分単位で動物室に立入った外来者であったとのことである。密集、多数の HFRS 汚染ラットが存在すれば環境中のエアロゾルのウイルスの感染性が高くなる時機があり、これによる感染発症が起ると解釈すれば、ウイルスの特質との矛盾はないと思われる。

おわりに

HFRS に関する研究実験は多くの成果をあげたが、本症ウイルス汚染ラットでのウイルスの動態が環境によって左右される成績についてここに概説する。

4 HQO (4 (Hydroxyamino) quinoline-1 Oxide) 溶剤皮下注入によって F344ラットに生じた Malignant fibrous hystiocytoma 担癌ラットについて移植実験に従事した医師が昭和58年1月発症したが、この腫瘍の累代移植、ウイルス分離ならびに可能ならば腫瘍からのウイルス消去を目的として担癌ラット13匹を NA 機関より微研感染動物実験施設の P₃ レベル感染動物室に移送した。この腫瘍は病理組織像から3型に分かれるが、移植1代で全ての recipient 個体は donar と同じく 16,000の抗 HV 抗体価を示し、移植ならびに

HFRS ウイルス感染が成立した。然しながら、2型の腫瘍移植率は低下しこれに遅れてHV感染が成立しない個体が出現し、4代移植で移植率が20%に低下同時にIFA抗体は<16倍以下となりHVは消失した。ヌードラット通過によって逐次移植率は回復したが、全ての recipient 個体は抗体陰性でHV感染は自然に除去された。なおこの型は原機関で25代維持されていたものである。

他の1型は移入後30代まで100%の移植成功率で、全ての recipient は抗体価が高く、強度のHV感染が成立していたが、移植片を *in vitro* で42℃、3時間、10%回復患者血清と接触する、また移行抗体を保有する recipient に移植し次代に移植する2つの処置によってそれぞれ一部抗体陰性の個体を認め、いずれもそれ以降の全 recipient に抗体陽性の個体を認めていない。すなわちHFRSウイルス汚染腫瘍から自然に、実験的に消去することが出来た。前半部について同一業者が生産したF344ラットに、同一の実験者により(腫瘍移植継代の初期はNA機関から研究者が施設に来て施行した)同じ手法で腫瘍移植を行っていたのであり、異なるのはラット飼育環境のみである。以上の成績はラット腫瘍の移植率、および腫瘍に随伴あるいは定着していた病因ウイルスが環境の差、すなわち諸環境因子が統御されていない環境から統御された相対的清浄環境に移されることにより変動を受けることを実証したものであって、動物実験における動物飼育実験環境の重要性を示唆するものである。

品質管理された実験動物を用い、統御された適切な飼育実験環境で、正確な技術で実験を行うことが科学的動物実験の基本である。現在ライフサイエンスの教育・研究における動物実験の重要性とその特質に鑑み、各教育研究機関において動物実験指針が策定されている現在では動物実験環境の汚染、HFRSの発生等の事故は再び起らないものと信じ、幾多の困難な状況を克服して動物実験における腎症候性出血熱を制圧した実験動物学界的各位に深い敬意を表すものである。

参考文献

1. Myhrman, G.: Nephropathia epidemica: A new infectious disease in Northern Scandinavia. *Acta Med. Scand.* **140**, 52-56, 1951.
2. Smorodintser, A.A. et al.: Hemorrhagic nephrosonephritis. Pergamon Press. London. 1959.
3. 陸軍省医務局:「叢報」—流血性出血熱に就て。陸軍軍医団雑誌, **346**, 361-371, 1942(昭和17年)。
4. Lee, H.W.: Korean hemorrhagic fever, *Edola Virus Hemorrhagic Fever*, Elsevier/North-Holland Bimedical Press. S.R. Pattyn ed., Amsterdam, 331-344, 1978.
5. Lee, H.W., Lee, P.W. and K.M. Johnson: Isolation of the etiologic agent of Korean hemorrhagic fever. *J. Infect. Dis.*, **137**, 298-308, 1978.
6. Tamura, M.: Occurrence of epidemic hemorrhagic fever in Osaka City—First cases found in Japan with characteristic feature of marked proteinuria. *Biken J.*, **7**, 79-94, 1964.
7. 山村雄一, 熊谷 朗, 池上晴通, 八倉隆保, 森本靖彦, 田村雅夫: 日本に於ける流行性出血熱 — 17例の臨床. *日本医事新報*, **2217**: 16-28, 1964(昭和41年)。
8. Umenai, T., Lee, H.W., Lee, P.W., Sato, T., Toyoda, T. and Ishida, N.: Korean hemorrhagic fever in staff in animal laboratory, *Lancet*. **1**, 1314-1316, 1979.
9. 西岡新吾, 矢高 勲, 宮村 敬, 船道真人, 宮本博行, 李鎬 汪他: 和歌山医科大学に発生した流行性出血熱 — 特に7例の臨床像を中心に —, *感染症学会雑誌*, **56**, 466-475, 1982(昭和57年)。
10. Yamanishi, K., Dantas, J.R.Jr., Takahashi, M., Yamanouchi, T., Domae, K., Kawamata, J. and Kurata, T.: Isolation of hemorrhagic fever with renal syndrome virus from tumor specimen of a rat, *Biken J.*, **26**, 155-160, 1983.
11. Desmyter, J., Leduc, J.W., Johnson, K.M., Brasseur, F., Deckers, C. and van Ypersela de Strihou, C.: Laboratory rat associated outbreak of hemorrhagic fever with renal syndrome due to Hantaan-like virus in Belgium, *Lancet*, **2**, 1445-1448, 1983.
12. Lloid, G. and Jones, N.: Infection of laboratory workers with Hanta virus acquired from immunocytoplast propagated in laboratory rat, *J. Infect.*, **12**, 117-125, 1986.
1. Myhrman, G.: Nephropathia epidemica: A new

13. Lee, H.W., Lee, P.W., Baek, L.J., Song, C.K. and Seong, I.W. : Intraspecific transmission of Hantaan virus, Etiologic agent of Korean hemorrhagic fever, in the rodent *Apodemus agrarius*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **30**, 1106-1112, 1982.
14. Morita, C., Matsuura, Y., Morikawa, S. and Kitamura, T. : Age-dependent transmission of hemorrhagic fever with renal syndrome (HARS) in rats, *Acta Virol.*, **85**, 145-149, 1985.
15. Lee, H.W. : Korean hemorrhagic fever, *Prog. in Med. Virol.*, **28**, 96-113, 1982.
16. 笠原四郎, 北野政次, 菊地 齊, 作山元治, 金沢謙一, 根津尚光, 吉村濟夫, 工藤忠雄 : 流行性出血熱の病原体の決定, *日本病理学会誌*, **34**, 3-5, 1944 (昭和19年).
17. Gauld, R.L. and Crapig, J.P. : Epidemiological pattern of localized outbreaks of epidemic hemorrhagic fever, *Am. J. Hyg.*, **59**, 32-38, 1954.
18. 全 鍾暉 : 韓国型出血熱, *からだの科学*, **77**, 25-29, 1977.
19. 森本靖彦, 中村秀次, 林英二期, 山本孝夫, 岸本 進, 山之内孝尚, 山西弘一, 高橋理明, 川溪順一 : 腎症候性出血熱 (流行性出血熱) 重症型の1例における臨床検査値と抗ウイルス抗体価の経時的変化に関する検討, *感染症学雑誌*, **60**, 322-335, 1986 (昭和61年).
20. 札幌医科大学 KHF 対策委員会 : 1981年札幌医科大学に発生した流行性出血熱 (韓国型出血熱) について, *札幌医科大学雑誌*, **51**, 特集号, 1-43, 1982 (昭和57年).