マウスにおけるコクサッキーウイルス B3 の標的 脂肪組織：蛍光抗体法によるウイルス抗原の証明

富田マツ*・橋本 魁*・原嶋綾子*・甲原照子**

(受付：昭和59年3月26日)

コクサッキーウイルスB群は、特に小児の心筋炎の病因の一つとして重要視されており、これをマウスに接種すると、極めて著明な心筋炎及び脾臓炎が起ることが知られている。コクサッキーウイルスB3 (CB3) 感染マウスの心筋炎は、肉眼的に黄白色を呈するということがWilson (1969) と Matsumori and Kawai (1980) によって報告されている。著者らの実験室において、CB3 感染マウスの心筋炎の実験の際、腹腔内の全脂肪組織が極めて著明な黄白色に変化していることが肉眼的に認められた。そこで、CB3 をマウスに接種して、肉眼的に黄白色を呈する腹腔内の脂肪組織に、蛍光抗体法によってウイルス抗原が証明されるか、否かについて検討し、病理組織学的にどのような変化を呈するかについても検索した。なお、脂肪組織からウイルスが分離されるか否かについても検討を加えた。

CB3 は標準株である Nancy 株を用い、動物は BALB/c-nu/+ の4週令マウスの雌を用いた。ウイルス量 10^5 TCID₅₀/0.2 ml の0.2 ml をマウスの腹腔に接種した。CB3 接種マウスは、接種後1, 3, 6, 10, 13日目にそれぞれ4匹ずつ殺した。CB3 接種マウスは、心臓から全採血した直後に、腎臓上、腸間膜リンパ節上、骨盤両側などの脂肪組織と肩胛骨間の褐色脂肪組織の一部を取り出した。蛍光抗体法の間接法は、ウイルス実験学、総論 (国立予防衛生研究所学会編) に従って行なった。一次血清としては、Freund's complete adjuvant 1 ml と精製 CB3 1 ml ($10^{8.5}$ PFU) とを筋肉内に注射し、

1カ月後に精製 CB3 1 ml を耳静脈内に注射し、1週間後に全採血し、分離された抗血清を用いた。二次血清としては、FITC 標識抗ウサギガンマグロブリン山羊血清 (E. Y. 社, 米国) を用いた。それぞれの脂肪組織を Ames O. C. T. compound 凍結封入剤に封入し、直ちにドライアイス・アセトンで凍結させ、クリオスタットによって凍結切片を作製し、10%ホルマリンで10分間固定した。一次血清 (1:80) の場合は37度で1時間、二次血清 (1:80) の場合は同温で30分間反応させた。対照には CB3 接種前の正常ウサギ血清を用いた。ウイルス分離には初代サル胃培養細胞を用いた。病理組織学的な検索を行なうために、脂肪組織を磷酸緩衝10%ホルマリンで固定し、パラフィン包埋後、薄切切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン二重染色を行なった。

脂肪組織の病変は、接種後1日目では軽度の変性、壊死、細胞浸潤などが4匹中3匹に認められた。接種後3日以降は、病変の強さの程度が高くなっていく傾向がみられた。接種後6, 10, 13日目では腎臓上、腸間膜リンパ節上、骨盤両側などの脂肪組織と褐色脂肪組織に強度～軽度の変性、壊死、炎症性細胞浸潤、石灰沈着などがそれぞれ4匹全例に認められた (図1)。ただし、石灰沈着は褐色脂肪組織には認められなかった。蛍光抗体法では、CB3 接種後1日目ではいずれの脂肪組織からもウイルス抗原を証明することができなかったが、接種後3日から10日目までに腎臓上及び腸間膜リンパ節上と骨盤両側脂肪組織にウイルス抗原を証明することができた (図2)。CB3 接種マウスからのウイルス分離は、血液からは接種後1日から3日目までに CB3 が分離できたが、6日以降はそれぞれから分離できなかった。腎臓上及び腸間膜リンパ節上の脂肪組織からは3日目に、骨盤両側脂肪組織からは1日から10日目までに、褐色脂肪組織からは3日から10日目までに、それぞれから CB3 を分離することができた。

以上のごとく、CB3 接種後1日目の脂肪組織の病変は軽度であったが、病変の性質は3日以降のそれらと同

ADIPOSE TISSUE AS TARGET ORGAN OF INFECTION WITH COXSACKIE VIRUS B3: DETECTION OF VIRAL ANTIGENS BY IMMUNOFLUORESCENT TECHNIQUE Matsu TOMITA, Isao HASHIMOTO, Ayako HARASHIMA and Teruko KOHARA.

*国立予防衛生研究所病理部

**国立予防衛生研究所腸内ウイルス部

〒190-12 東京都武蔵村山市学園4-7-1

図1. CB3接種後3日目の骨盤の左側の脂肪組織. 著明な脂肪組織の壊死(矢印)と炎症性細胞浸潤(I). HE染色, $\times 100$.

図2. CB3接種後6日目の骨盤の左側の脂肪組織. 蛍光抗体法による著明に変性を呈した脂肪組織におけるウイルス抗原を示す. $\times 200$.

様であったことと、ウイルスが1日目にも分離でき、蛍光抗体法によってもウイルス抗原が証明され、血液内のCB3は接種後6日以降は分離できなかったことと、対照群のそれらには全く病変が認められなかったことなどの事実からして、脂肪組織の病変は、明らかにCB3によって惹起したものと考えられた。CB3を接種したマウスでは、極めて著明な心筋炎及び脾臓炎が起ることと、特に心臓におけるウイルス力価は他の臓器に比べて高く、しかもウイルスが長い間心臓に留まっているということから、Komatsu et al. (1983)はCB3感染の標的臓器

は心臓と脾臓であるとしている。

一方、リス及びコウモリは冬眠及び非冬眠にかかわらず、肩胛骨間の褐色脂肪組織にCB3感染が成立することから、Dempster et al. (1961)は、褐色脂肪組織も心臓及び脾臓と同様にCB3感染の標的組織であるとしている。著者らの実験においては、CB3接種マウスの腹腔の全脂肪組織は肉眼的に著明な黄白色を呈し、病理組織学的には極めて著明な脂肪組織の変性、壊死、炎症性細胞浸潤、石灰沈着などが認められたという実験結果から、腹腔内の脂肪組織も、心臓、脾臓、褐色脂肪

組織と同様に CB3 感染の標的組織になり得ることが示唆された。CB3 接種後 1 日目から脂肪組織に病変が認められたということと、蛍光抗体法では 1 日目はウイルス抗原が認められなかったが、3 日から 10 日目にそれを検出し、CB3 は 1 日目から分離できたことなどを考え合わせるに、おそらく早い時期に CB3 が脂肪組織で増殖したためにその障害が起り、脂肪組織で増殖した CB3 が心筋炎の発症に関与しているのではないかということが想像された。CB3 感染マウスの脂肪組織におけるウイルスの増殖と心筋炎の発症との関係については今後の検討にまたなければならない。

文 献

- 1) Dempster, G., Grodums, E. I. and Spencer, W. A. (1961): Experimental Coxsackie B-3 infection in the hibernating squirrel and bat. *Canad. J. Microbiol.*, **7**, 587-594.
- 2) Komatsu, T., Hashimoto, I. and Kohara, T. (1983): Variation in virulence of Coxsackie virus B3 in the hearts of mice. I. Comparison of mortality and virus growth in the heart and other organs. *Microbiol. Immunol.*, **27**, 265-272.
- 3) Matsumori, A. and Kawai, C. (1980): Coxsackie virus B3 perimyocarditis in BALB/c mice: Experimental model of chronic perimyocarditis in the right ventricle. *J. Pathol.*, **131**, 97-106.
- 4) Wilson, F. M., Miranda, Q. R., Chason, J. L. and Lerner, A. M. (1969): Residual pathological changes following murine Coxsackie A and B myocarditis. *Am. J. Pathol.*, **55**, 253-265.
- 5) ウイルス実験学，総論，国立予防衛生研究所学友会編，1973.