

한탄바이러스 감염 백서의 조직병리학적 연구

인제의대 상계백병원 병리과, 고려의대 미생물학교실*, 서울의대 병리과 **

조혜제 · 백락주* · 이호왕* · 함의근**

= Abstract =

Study on Histopathologic Changes of Suckling Rats Inoculated with Hantaan Virus

Hyeje Cho, M.D., Luck Ju Paek, M.D.*, Howang Lee, M.D.* and Eui Keun Ham, M.D.**

Department of Pathology, Sanggye Paik Hospital, College of Medicine, Inje University

*Department of Microbiology Korea University Medical College**

*Department of Pathology, Seoul National University Hospital***

Hantaan and related viruses have been implicated as causative agents for a diverse group of human diseases known collectively as "hemorrhagic fevers with renal syndrome" (HFRS).

Outbred SD rats obtained within 24 hours after birth were inoculated by intracerebral (the first group) or intramuscular routes (the second group) with $10^{9.5}$ /ml DL₅₀ of Hantaan seed virus suspension in 0.02 ml and 0.1 ml, respectively. Brain, lung, liver, kidney and spleen were used for virus antigen detection by indirect immunofluorescence and histopathologic examination. In the first group, immunofluorescent intensity of virus antigen was increased in all organs (especially brain) and persisted until time of death (day 9). The histopathologic changes were relatively mild in brain and spleen and unremarkable in liver, lung and kidney. In the second group, immunofluorescent intensity of virus antigen was markedly increased in brain until time of death (day 17), but decreased in other organs.

The histopathologic findings, such as meningoencephalitis, interstitial pneumonitis with focal hemorrhage, and lymphoid hyperplasia of splenic white pulp were much prominent compared to the first group. However, those of liver and kidney were unremarkable.

The chronology of virologic and pathologic findings in Hantaan-infected suckling rats suggests a possible immune-mediated mechanism in disease pathogenesis.

Key Words: Hantann virus, Experimental inoculation, Virus antigenicity, Histopathology, Pathogenesis

서 론

신증후출혈열(Hemorrhagic fever with renal syn-

drome)의 원인병원체는 1976년 한국에서 이 등에 의하여¹⁾ 출혈열 유행 지역인 동두천읍 송내리에서 채집한 등줄쥐의 폐에서 세계 최초로 발견하였고 1978년에는 출혈열 환자 혈액에서도 분리되었으며 또한 이 항원을 등줄쥐에서 계대배양에 성공하므로써 병원체가 바이러스임을 증명하게 되었고 이병의 혈청학적 진단 방법을 완성하였다²⁾. 그후 간접형광법을 이용한 혈청 진단법에 의하여 소련³⁾, 스칸디나비아⁴⁾, 동구라파^{5,6)}, 일본⁷⁾ 및 중국⁸⁾ 등 여러나라에서 발생한 유사 출혈열 환

접 수: 1990년 12월 12일, 게재승인: 1991년 4월 2일
주 소: 서울시 노원구 상계7동 761-1, 우편번호 139-207
인제의대 상계백병원, 조 혜 제

* 본 연구의 소요된 경비는 1988년 인제의대 교수연구비
와 1989년 문교부장학연구비로 이루어졌음.

자의 혈청학적진단이 가능하게 되어 이들 질환의 병원체가 한국형 출혈열의 병원체와 동일하거나 또는 이와 유사한 항원을 가진 바이러스임이 증명되었다. 이후 이 새로운 바이러스를 한탄 바이러스(Hantaan virus)로 명명 등록하였고⁹⁾ 이 바이러스의 물리화학적성상 및 전자현미경 소견이 Bunyaviridae에 해당됨을 알 수 있었다¹⁰⁾. 또한 1982년 WHO는¹¹⁾ 한국형 출혈열 및 이와 유사한 임상증상을 나타내는 한탄바이러스 항원으로 진단이 가능한 각국의 출혈열의 명칭을 통일하여 신증후출혈열(hemorrhagic fever with renal syndrome)로 결정하였다.

이 질환의 대한 실험연구는 계속적으로 많은 진전을 보아 한탄 바이러스의 역학적, 혈청학적, 분자생물학적 특성은 많이 보고되었으나, 사람과 유사한 증상을 나타내는 실험동물이 발견되지 않아 그 조직병변에 대한 기술은 일부 몇 편의 설치류에서와 사람의 부검소견에 불과하고¹²⁻¹⁵⁾ 그 시기별에 따른 병변의 변화는 자세히 관찰되지 못하였다. 혈청학적, 바이러스학적 소견으로 설치류에 있어서 한탄바이러스와 유사한 바이러스들이 존재한다는 것은 이미 세계적으로 잘 알려져 있고¹⁶⁾ 이로 인한 인체감염은 이미 입증되었다^{21,7,18)}. 또 최근에는 면역학이 발달함에 따라 바이러스 질환에 대한 방어 및 회복기전이 광범위하게 연구되고 있다. 이로 인해 마우스의 한탄 바이러스 감염에 대한 저항성이 연령에 비례한다는 것을 알게 되었고¹⁹⁾, 면역된 성숙한 마우스의 비장세포를 바이러스에 감염시킨 유아기 마우스에 이식함으로써 저항성을 획득한다는 것도 발견할 수 있었으며²⁰⁾ 면역억제된 성숙한 마우스에 한탄 바이러스 감염이 치명적이라는 보고²¹⁾등으로 이 질환이 체내 면역기전과 밀접한 상관성이 있음을 시사하여 주고 있으나 이에 해당되는 조직 소견의 변화에 대한 기술에 있어서는 장기별로 시기에 따른 세밀한 관찰이 이루어지지 않았기 때문에 사람에서의 신증후출혈열을 이해하는데에는 아직 미해결된 문제점이 많다.

본 연구는 유아기 백서(suckling SD rat) 한탄 바이러스를 대뇌와 대퇴부 근육에 접종하여 유도된 조직병리학 소견을 시기별에 따라 조직내의 면역형광항체검사로 보여진 한탄바이러스 항원양상과 비교관찰하여 그 병리기전을 규명하고자 하였다.

연구재료 및 방법

1. 한탄바이러스

한탄바이러스 ROK84-105-1주는 1984년 신증후출혈열 환자 혈액을 Vero E6세포(kidney cell of green monkey)에 접종하여 분리한 것이다. 이 바이러스는 여러 종류의 한탄바이러스중 쥐의 뇌내에서 가장 잘 증식하여 ICR suckling mouse brain에 10대 계대배양 후 다시 SD suckling rat brain에 4대 계대배양한 종자 바이러스(seed virus)를 본 실험에 사용하였다.

2. 실험동물의 배치 및 한탄바이러스 접종방법

실험동물은 생후 24시간 이내의 Sprague-Dawley suckling rat를 사용하였으며 대조군 24마리, 실험군 40마리로 총 64마리를 사용하였다. 실험군은 종자 바이러스의 접종부위 및 접종양에 따라 2개의 군으로 구분하였는데 제 1군은 총 25마리로서 종자바이러스 부유액($10^{6.5}/\text{ml LD}_{50}$) 0.02 ml를 대뇌우측부에 접종하였으며 제 2군은 총 15마리로서 종자바이러스 부유액($10^{6.5}/\text{ml LD}_{50}$) 0.1 ml를 대퇴부 근육에 접종한 것이다. 제 1군에서는 접종후 초기 감염병변의 변화를 관찰하기 위해 폐 1, 3, 5, 7, 그리고 9일째에 각각 5마리씩(예비실험에서 조직소견의 변이가 크지 않았기 때문) 희생시켰고 제 2군은 보다 만성적인 감염병변을 관찰하기 위하여 제 7, 14 그리고 17일(21일로 예정하였으나 17일째에 모두 전신마비 증세를 보이며 사망하였음) 에 각각 5마리씩 희생시켰다.

두 군에 대한 대조군은 혈액내 한탄바이러스항원에 음성반응을 보이며 아무런 처치를 하지 않은 유아기 백서로 제1군과 제 2군의 시기별로 3마리씩 희생시켰다.

3. 면역형광항체법으로 각 조직내 한탄바이러스 항원 검사

모든 대상군 백서의 뇌, 폐, 비, 신과 간을 적출하여 각 장기의 일부는 면역형광검사를 위하여 -60°C 냉동고에 보관하였다가 cryostat(IEC Co.) 를 이용하여 4um 두께로 동결절편을 만들어 spot slide 에 붙이고 100% 아세톤으로 10분간 고정하였다. 1차 반응은 anti-ROK84-105-1 rat antiserum(16 unit)으로 반응

시켰으며 2차 반응은 FITC goat anti-rat Ig G(Miles Co.)를 8 unit 로 희석하여 사용하였으며 polyvynyl buffer 로 포매하여 형광현미경 (Zeiss Axioscope, Germany)하에서 관찰하였다. 각 개체의 조직마다 전 시야에서 강도가 제일 높게 나온 부위를 그 개체의 한탄바이러스 존재에 대한 항원성으로 평가하여 6등급으로 구분하였다. 전 시야에 반응이 없을 때를 음성(-), 산발적인 국소에 미약한 반응으로 고배율하에서만 인지될때를 미약양성(±), 국소적이거나 반응이 저배율에서도 인지될때를 약양성(+), 전반적으로 세포질내 혹은 세포 밖에서 소수의 바이러스 항원 양성이 보일 때를 경도양성(++), 전반적으로 세포질내에 여러 개의 바이러스 항원 양성이 보일때를 중등도 양성(+++), 전반적이고 세포내에 과립성 양상으로 관찰된 때를 강양성(++++)으로 구분하였다.

4. 한탄바이러스감염에 의한 각종 조직의 병리학적 소견

모든 대상군 백서에서 면역형광항체검사를 위한 일부조직을 제외한 나머지 뇌, 폐, 간, 비와 신은 10% 중성포르말린에 24시간 이상 고정후 파라핀포매하여 4um 두께로 절편을 만들어 Hematoxylin and eosin, reticulin, Masson-trichrome 염색을 하여 광학현미경으로 관찰하였다.

비를 제외한 각 장기는 침윤되어 있는 염증세포와 실질조직의 손상정도에 따라 5등급으로 구분하였다. 병변이 없을 때를 음성(-), 국소적으로 소수의 림프구 혹은 탐식구 세포만이 침윤되어 있거나 실질조직의 손상이 일부 세포에서만 있을 때를 국소병변(±), 전반적인 염증세포의 침윤이 있으나 그 수가 많지 않을 때 혹은 실질조직 변화가 경할 때를 경도 병변(+), 보다 염증세포 침윤과 실질조직 변화가 증가되어 있을 때를 중도 병변(++), 염증세포 침윤이 심하고 조직의 괴사가 초래됐을 때를 강도 병변(+++)으로 평가하였다. 비는 아무런 변화가 없을때 음성, 소수의 탐식구 침윤이 있을 때 국소병변, 비백수 림프구감소 혹은 증가가 전체면적의 1/3미만에서 보일 때 경도 병변, 비백수 림프구증가가 전체면적의 1/3이상 - 2/3미만에서 보일때 중도 병변, 비백수 림프구증가가 전체면적의 2/3 이상에서 관찰될 때를 강도 병변으로 구분하였다.

이중 한탄바이러스로 인한 병리소견이 강도 병변을

보인 예에서는 조직내 한탄바이러스 항원을 증명하기 위해 조직의 재절편을 만들어 미육군연구소에서 만들어진 Nucleocapsid Ig G₁ 단일 클론 항체(BE-08)를 이용하여 면역세포화학염색을 시도하였으며, 일부조직은 탈파라핀시킨후 2.5% glutaldehyde/0.1 M phosphate buffer, pH 7.4, 4도 C용액에 고정시켜 통상적인 방법에 의하여 전자현미경(Akashi LEM-2000) 관찰을 하였다.

연구 성적

1. 면역형광항체법으로 제1검색군 백서조직중의 한탄바이러스 항원 증명

대조군의 총 15마리에서 한탄바이러스의 존재는 관찰되지 않았다. 실험군은 시기별로 5마리씩의 변화를 관찰한 후 각 개체의 장기마다 음성, 미약양성(Fig. 1), 약양성(Fig. 2), 경도양성(Fig. 3), 중등도 양성(Fig. 4), 강한 양성(Fig. 5) 의 6등급으로 구분하였다. 제 1일째에는 전 장기 모두 음성을 보여 한탄바이러스항원이 검출되지 않았고 그 이후 장기의 양성반응은 뇌, 폐, 신, 비, 간의 순서이었다. 뇌에서는 점진적으로 바이러스항원이 현저하게 증가되어 제 9일에는 강양성 반응을 나타내었고(Fig. 6), 폐와 신에서도 다소 반응이 약하나 서서히 증가되는 양상을 보였다(Fig. 7 & 8). 비는 제 3, 5일의 양성반응이 후기에 감소되었고(Fig. 9) 간은 미약한 반응만이 제9일에 관찰되었다(Fig. 10).

2. 면역형광항체법으로 제2검색군 백서조직중의 한탄바이러스 항원증명

대조군 총 9마리에서 모두 한탄바이러스 항원에 음성이었다. 대퇴부 근육에 한탄바이러스를 감염시킨 실험군에서는 제 1검색군에서와 동일하게 개체 장기별로 한탄바이러스 항원에 대한 반응을 6등급으로 구분하였다.

대뇌에서는 제 1군에서 제 7일에 강양성을 보인 것과 대조적으로 본 실험군에서는 동일시기에 모두 음성이었고 시간이 경과되면서 항원성이 증가되어 제 17일에 강양성을 보였다(Fig. 11). 폐와 비에서는 제7일에 관찰되는 한탄바이러스 항원성이 사망에 이르는 제 17일까지 점차 감소하였으며(Fig. 12, 13), 신과 간에서는 반응이 국소적이고 미약하게 관찰되었고 제 17일에는

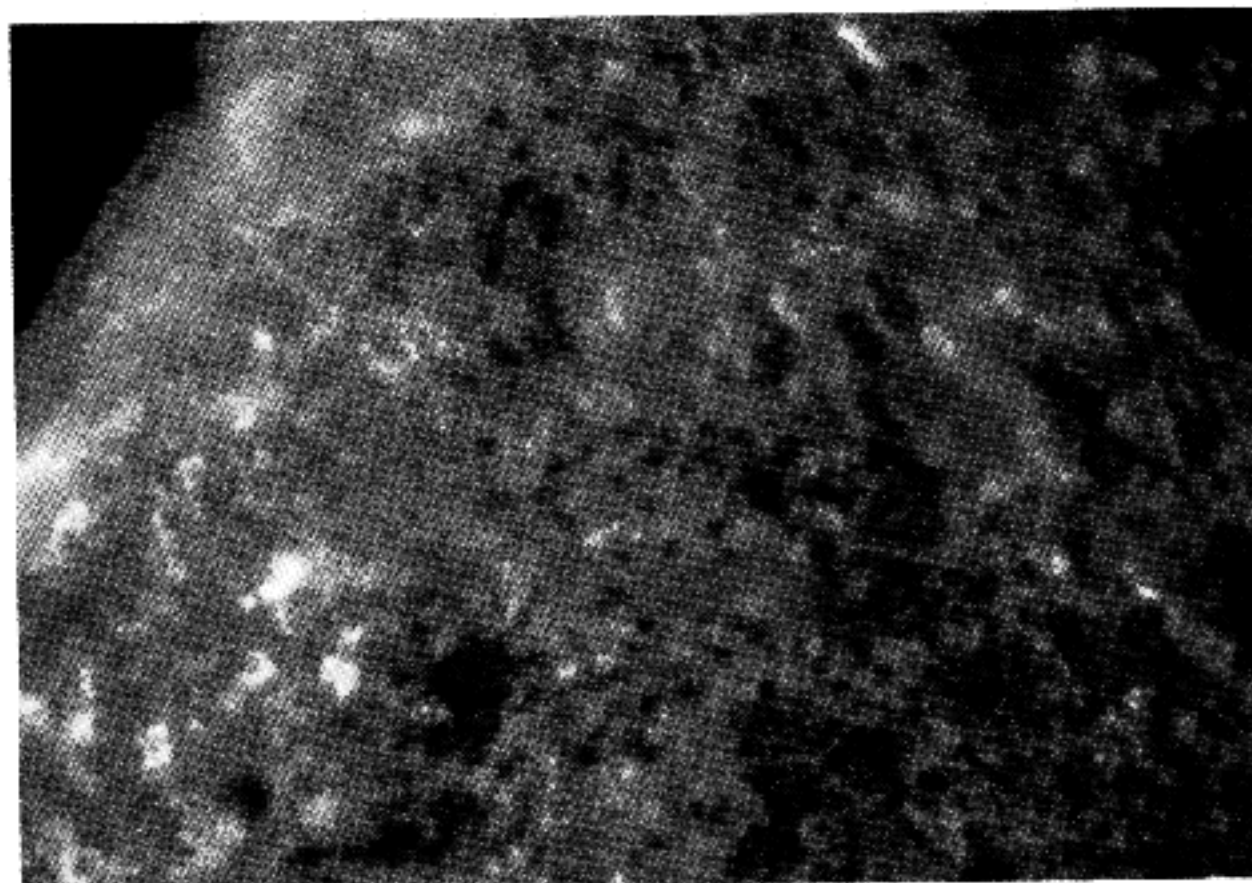


Fig. 1. Trace focal positive immunofluorescent finding of spleen after Hantaan virus inoculation. (×400)

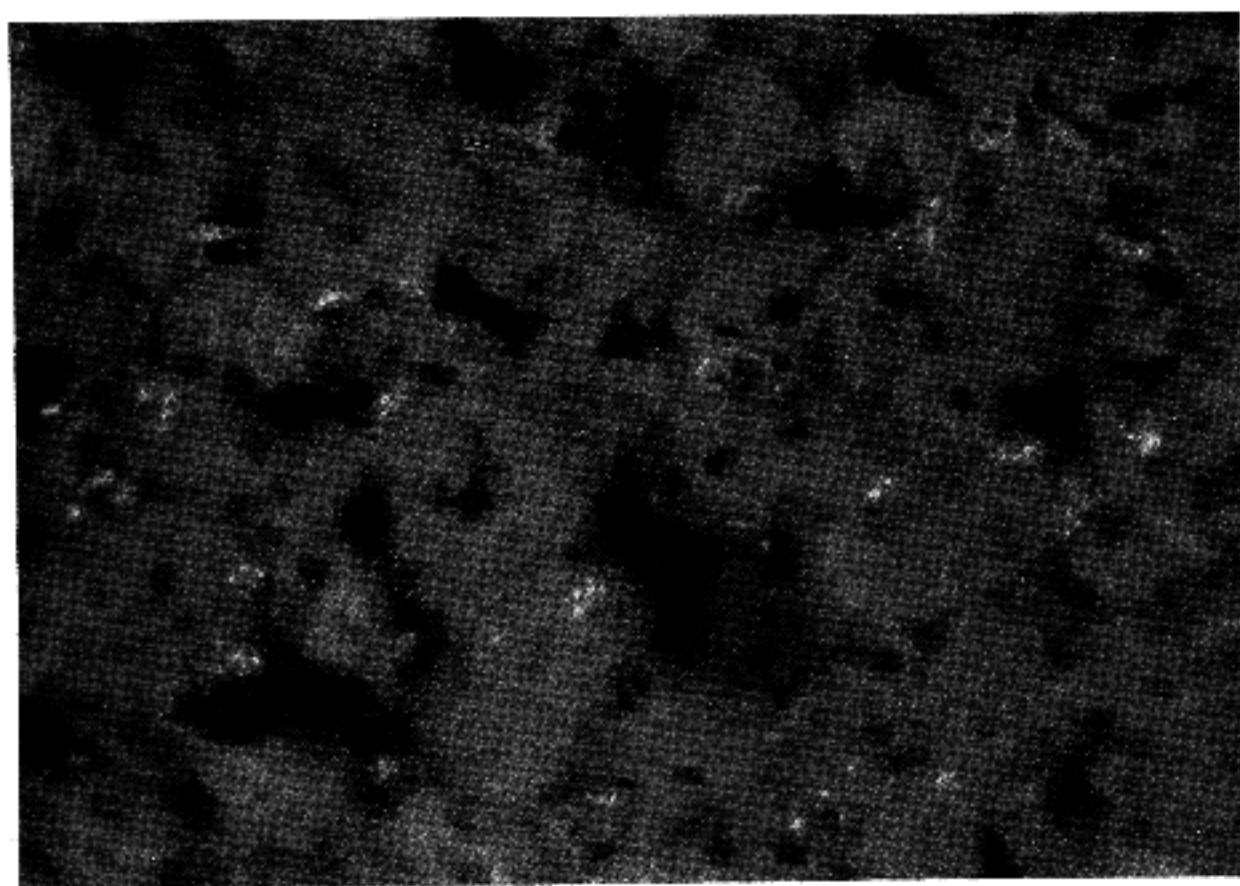


Fig. 2. Focal positive immunofluorescent finding of liver after Hantaan virus inoculation. (×400)

모두 음성반응이었다(Fig. 14, 15).

3. 제1검색군 백서에서의 장기별 조직병리변화
대조군의 시기별 각 백서 3마리의 총 15마리에서의

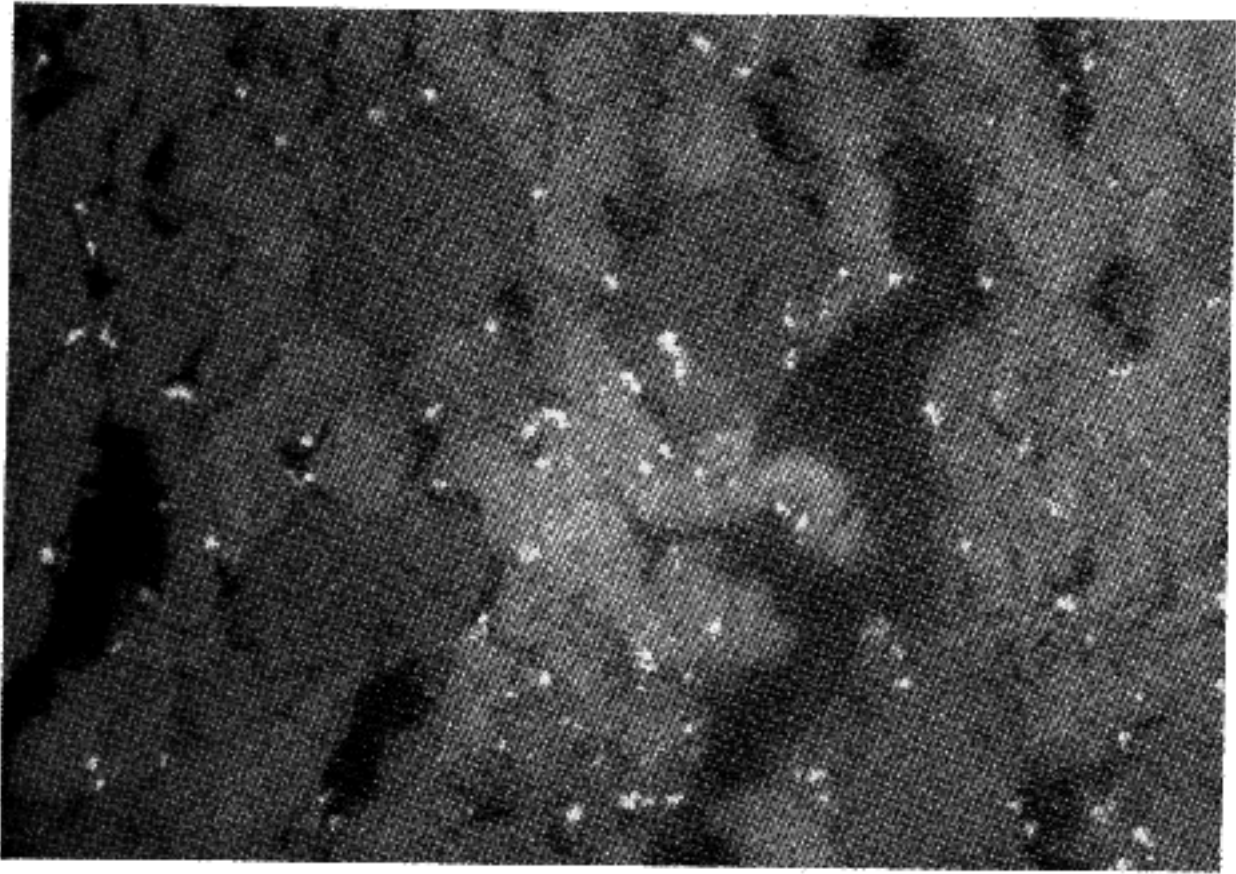


Fig. 3. Mild positive immunofluorescent finding of kidney after Hantaan virus inoculation. (×100)

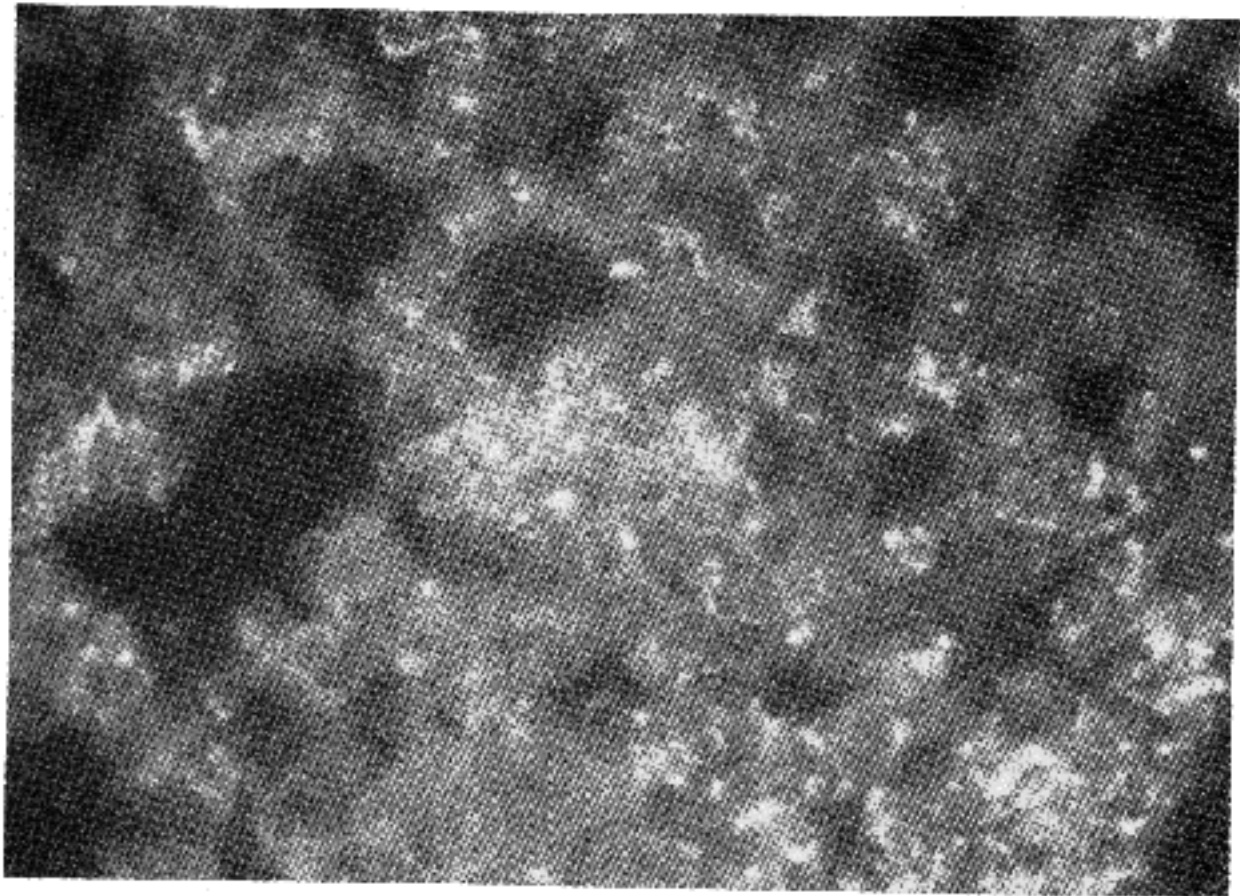


Fig. 4. Moderate positive immunofluorescent finding of lung after Hantaan virus inoculation. (×400)

조직변화는 보이지 않은 반면, 한탄바이러스를 대뇌에 감염시킨 제1검색군의 시기별 제 1, 3, 5, 7 그리고 9 일째의 각각 5마리의 장기별 변화는 다음과 같다.

대뇌에서는 시기별로 현저해지는 수막뇌염(Fig. 16 Left), 폐에서는 극소적인 출혈과 간질성 폐염(Fig. 17 Left), 비에서는 탐식구의 출혈과 비백수 림프구감소

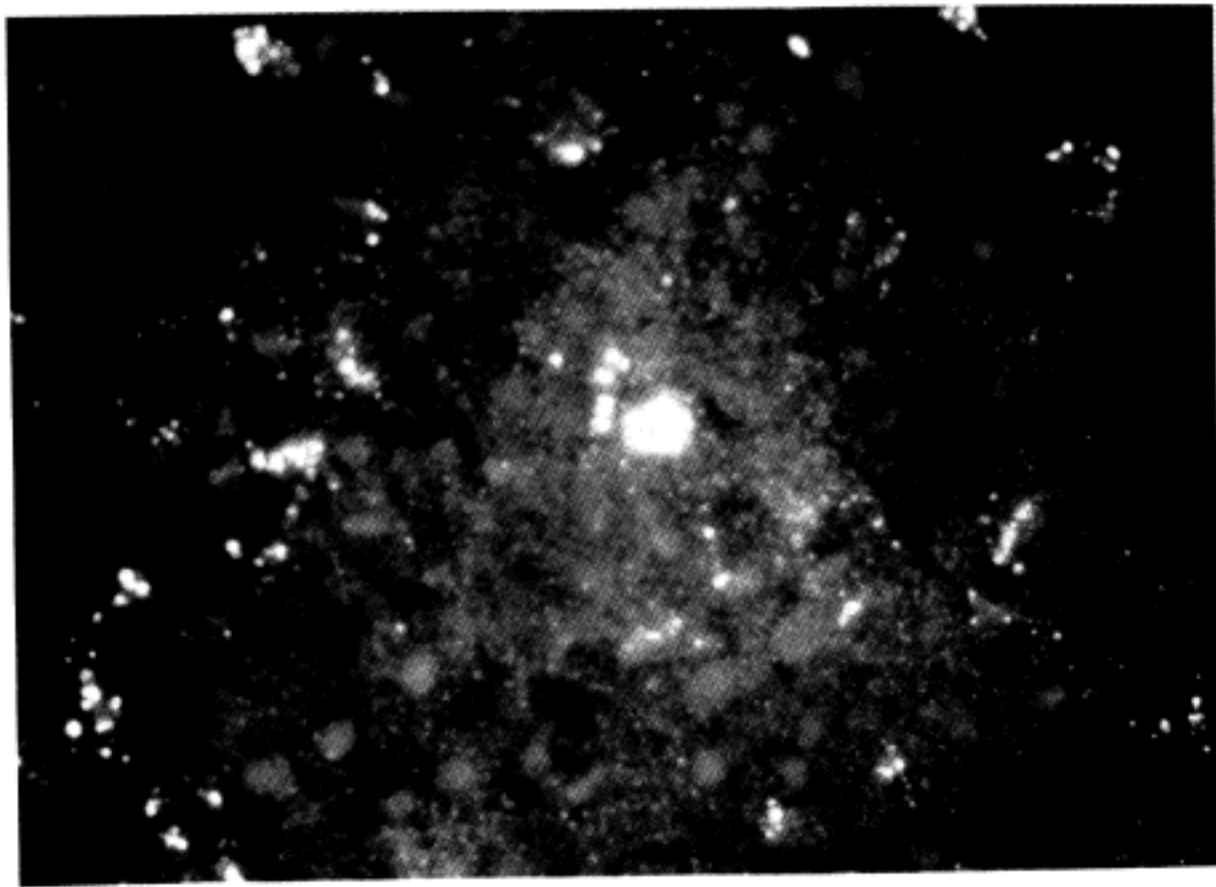


Fig. 5. Strong positive immunofluorescent finding of brain after Hantaan virus inoculation. ($\times 200$)

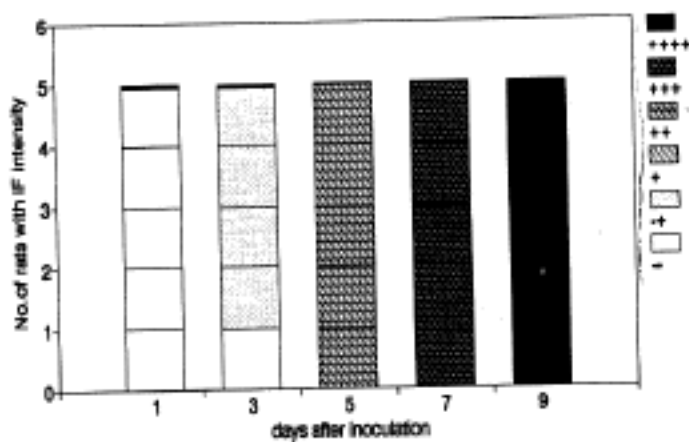


Fig. 6. Number of rats with IF intensity of virus antigen in brain by day after intracerebral inoculation of Hantaan virus.

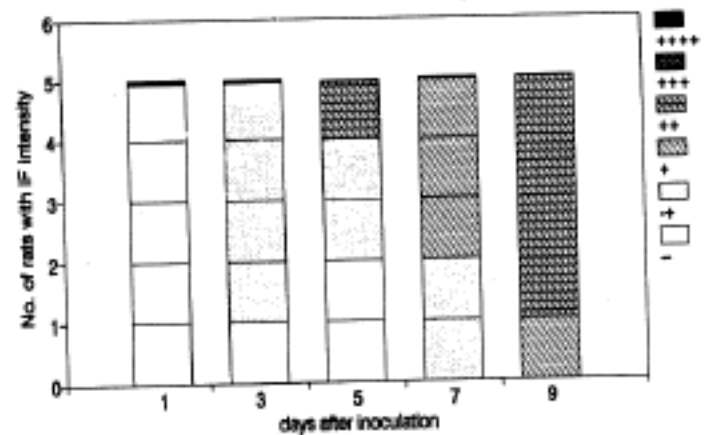


Fig. 7. Number of rats with IF intensity of virus antigen in lung by day after intracerebral inoculation of Hantaan virus.

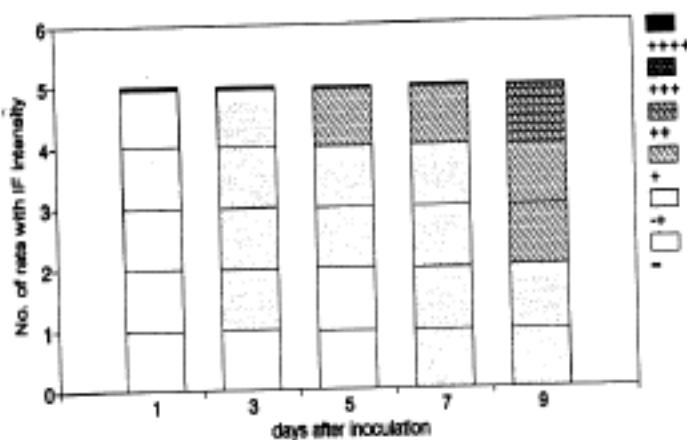


Fig. 8. Number of rats with IF intensity of virus antigen in kidney by day after intracerebral inoculation of Hantaan virus.

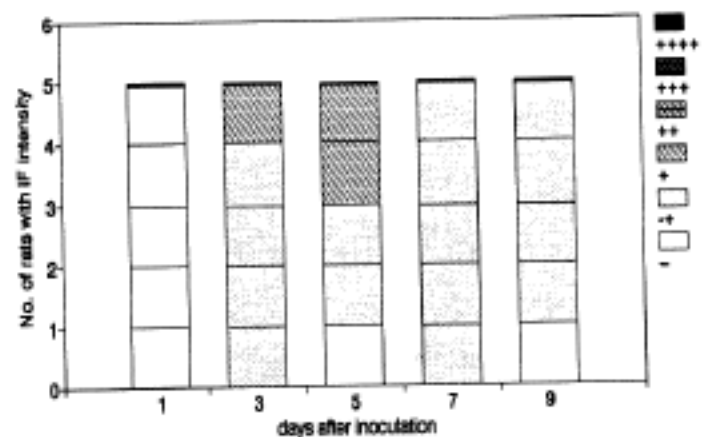


Fig. 9. Number of rats with IF intensity of virus antigen in spleen by day after intracerebral inoculation of Hantaan virus.

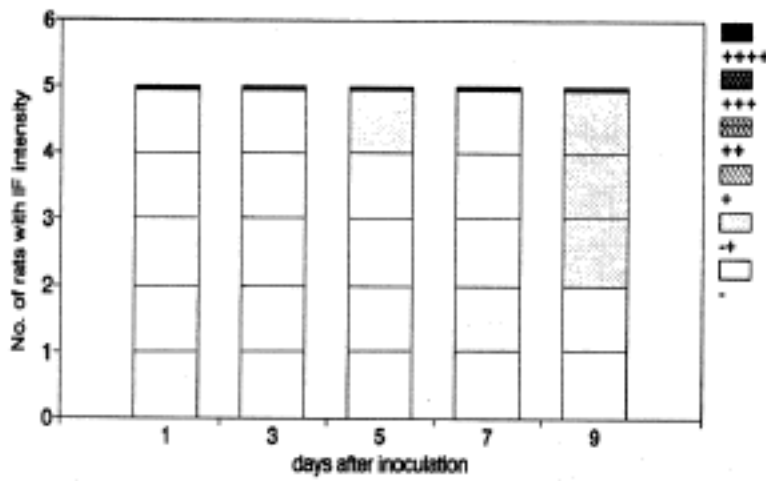


Fig. 10. Number of rats with IF intensity of virus antigen in liver by day after intracerebral inoculation of Hantaan virus.

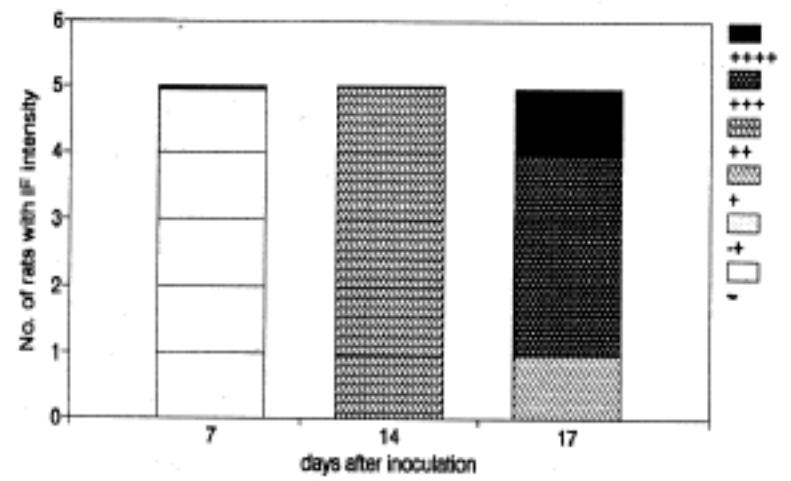


Fig. 11. Number of rats with IF intensity of virus antigen in brain by day after intramuscular inoculation of Hantaan virus.

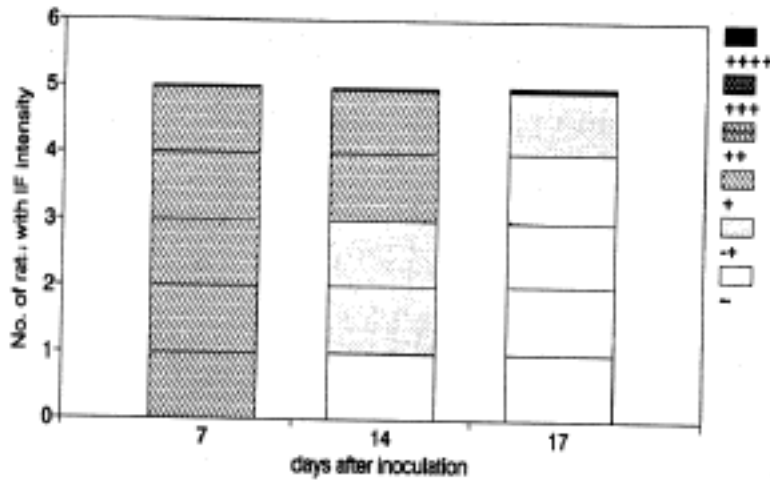


Fig. 12. Number of rats with IF intensity of virus antigen in lung by day after intramuscular inoculation of Hantaan virus.

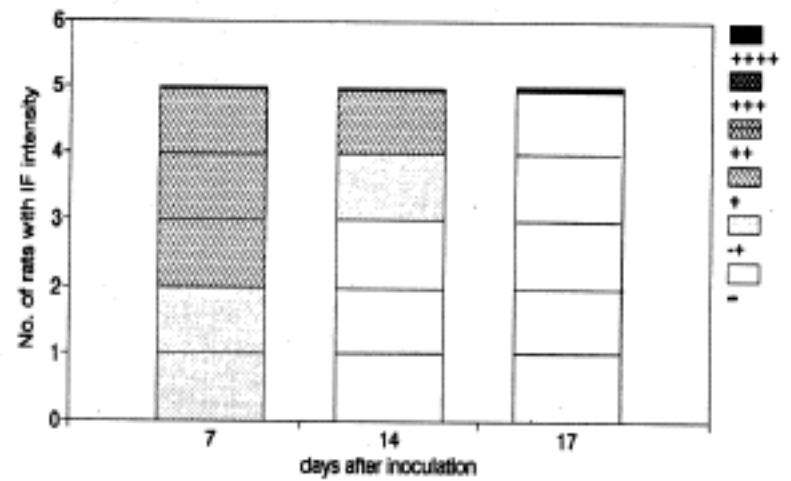


Fig. 13. Number of rats with IF intensity of virus antigen in spleen by day after intramuscular inoculation of Hantaan virus.

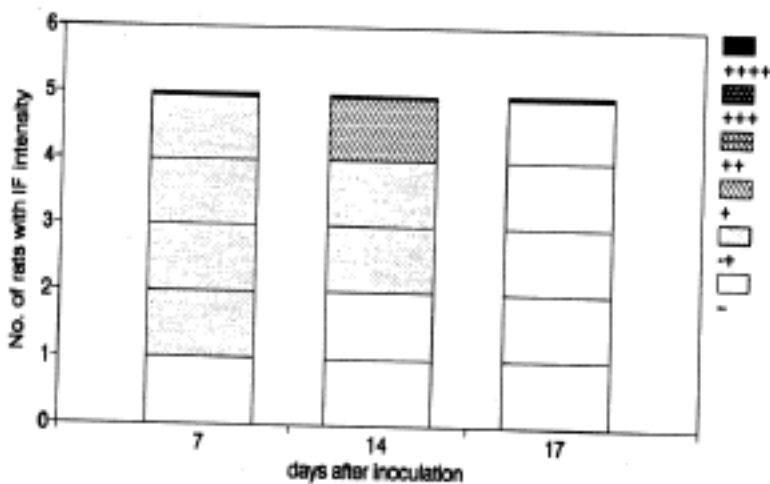


Fig. 14. Number of rats with IF intensity in virus antigen of kidney in day after intramuscular inoculation of Hantaan virus.

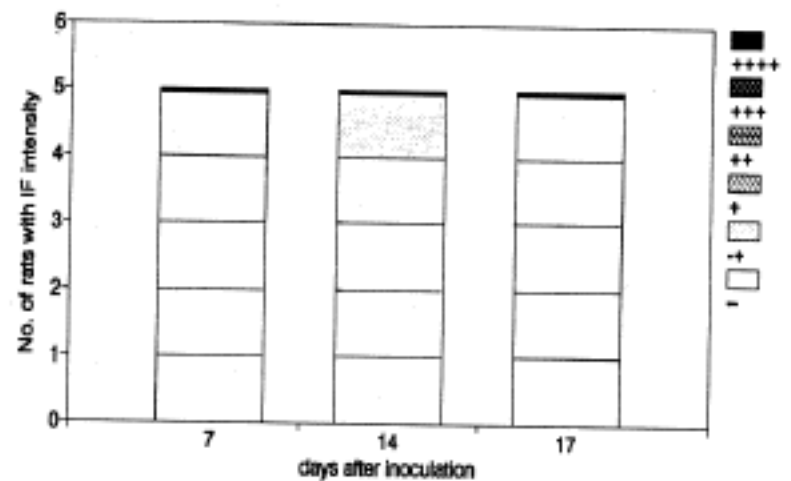


Fig. 15. Number of rats with IF intensity of virus antigen in liver by day after intramuscular inoculation of Hantaan virus.

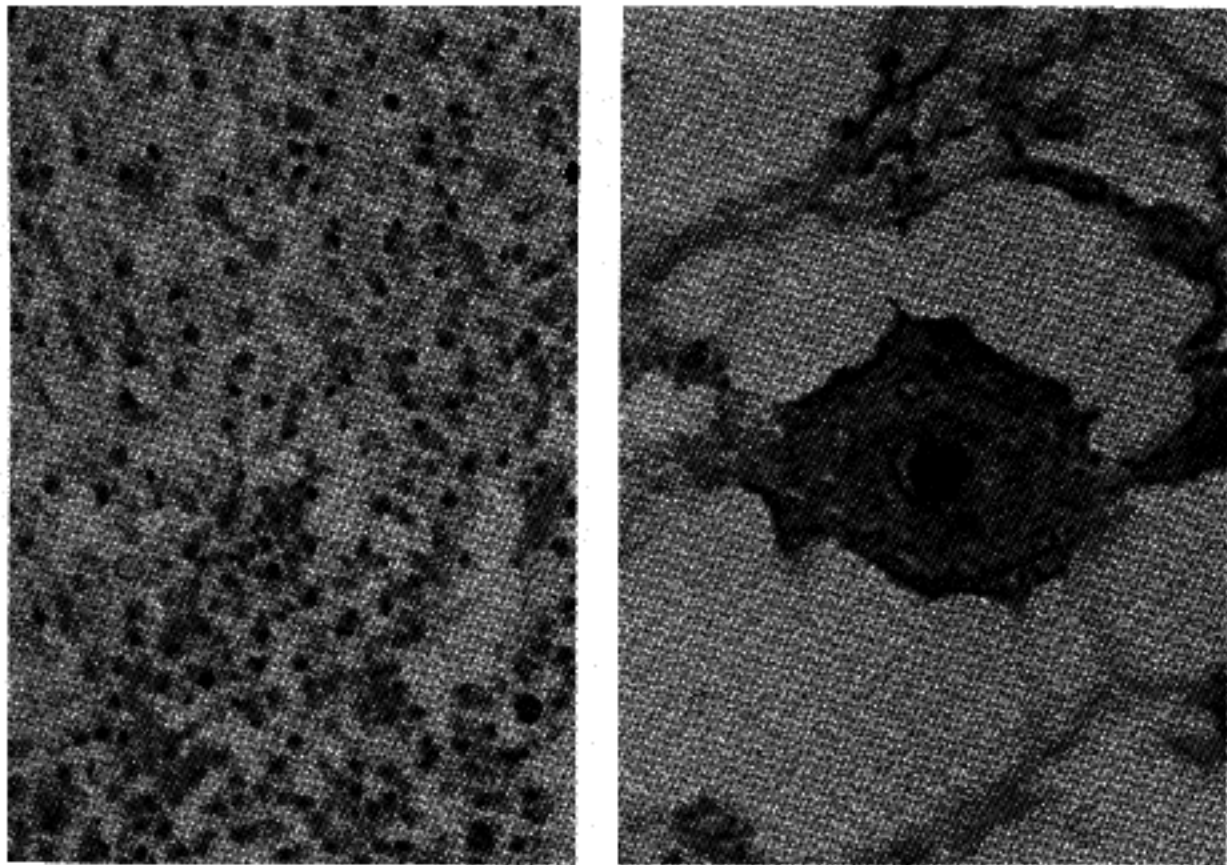


Fig. 16. Left: Severe encephalitis with focal necrosis of brain, Right: Positive cytoplasmic reaction of neuron cells for BE-08 monoclonal antibody to Hantaan viurs (Immunoperoxidase stain)

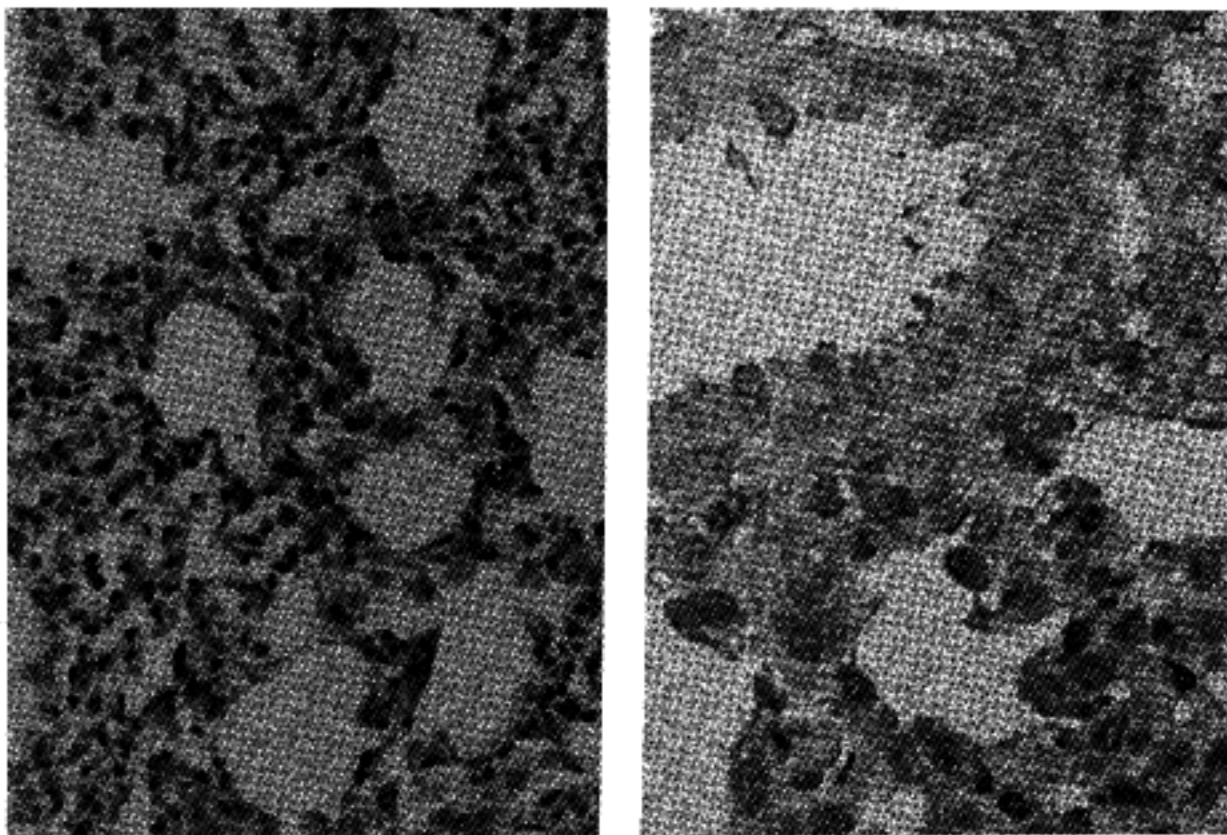


Fig. 17. Left: Moderate interstitial pneumonitis with focal hemorrhage Right: Positive reaction for BE-08 monoclonal Ab to Hantaan vi-rus (Immunoperoxidase stain)

혹은 증가가 관찰되었다(Fig. 18) 신에서는 후기에 비
약한 국소적 배뇨관 상피세포의 변성을 보이는 것을
제외하고는 변화가 없었고(Fig. 19), 간도 일부 간세포

의 세포질내 공포 혹은 Kupffer세포의 증가가 관찰되
는 외에 특이한 변화는 보이지 않았다(Fig. 20).

조직병리소견이 제일 뚜렷하였던 제 9일째의 뇌와

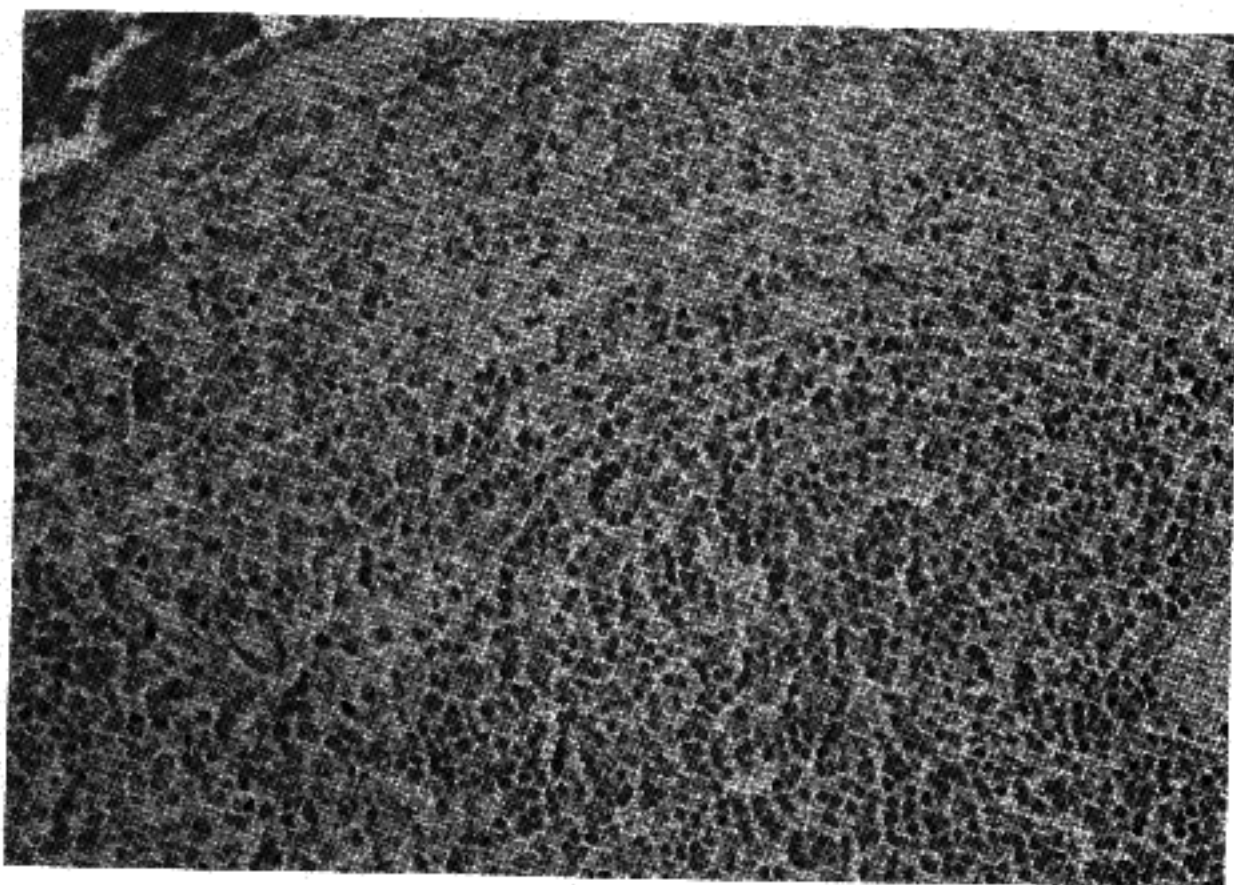


Fig. 18. Diffuse lymphoid hyperplasia of spleen

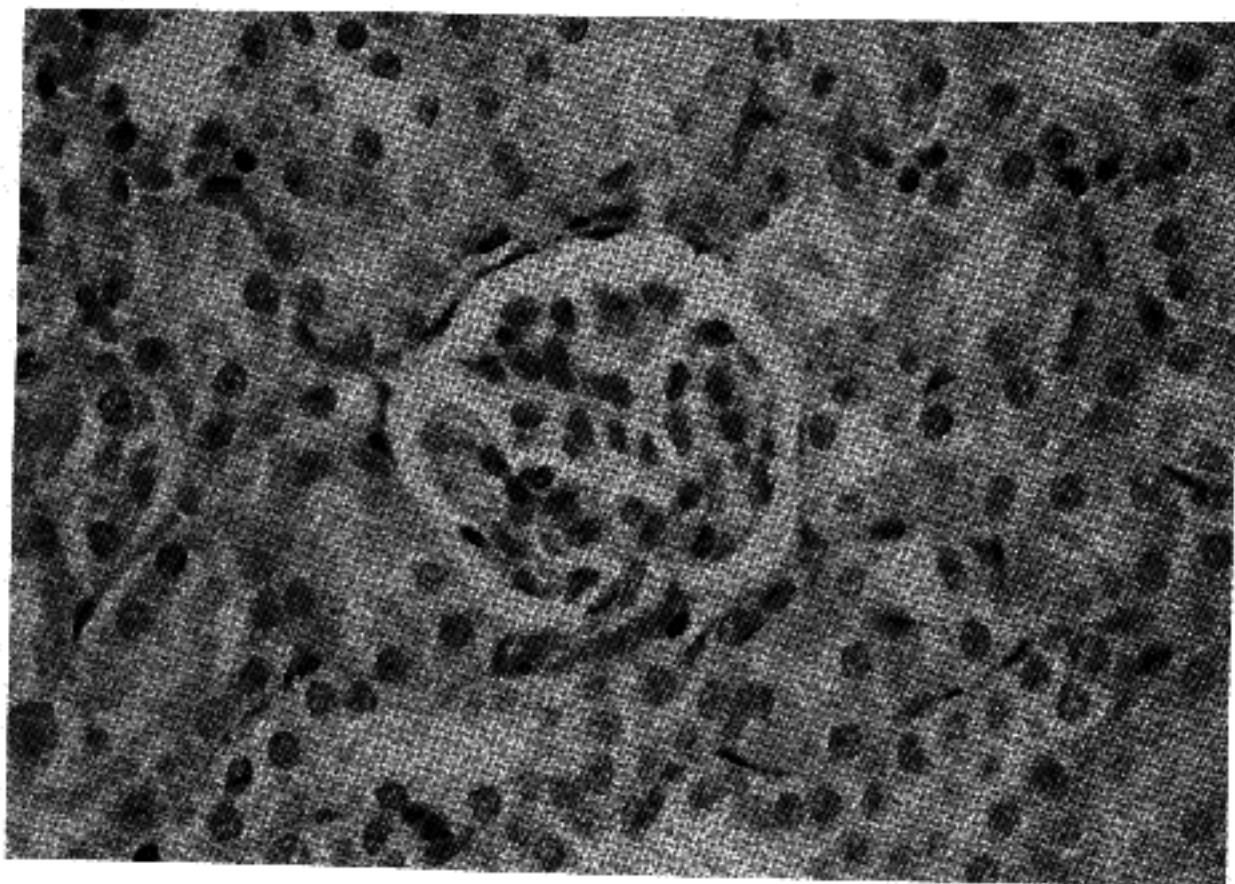


Fig. 19. No remarkable histopathologic finding of kidney

폐는 한탄바이러스 항원에 대한 BE-08 단일클론항체로 면역세포화학염색을 시행한 결과 뇌에서는 신경세포와 신경교세포 모두에서 세포질내 양성반응을 보였고(Fig. 16 Right), 폐에서는 간질성 염증이 심한 부위의 기관지 상피세포, 폐포세포와 침윤된 조직구 세포

내에서 모두 세포질내 양성반응이 관찰되었다(Fig. 17 Right).

그러나 동일한 조직으로 시행한 전자현미경검사로 2만배 확대비율까지 관찰한 결과 세포내 한탄바이러스는 증명하지 못하였다.

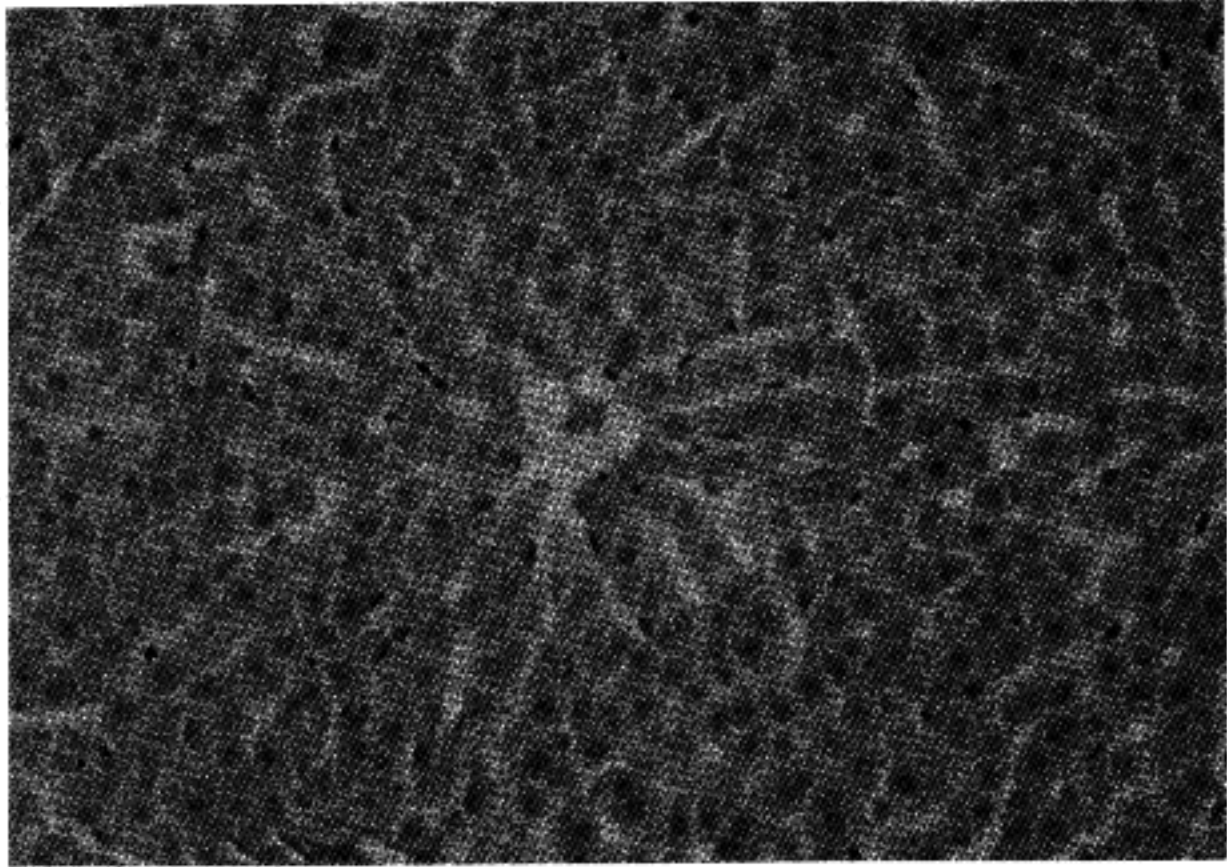


Fig. 20. No remarkable histopathologic finding of liver

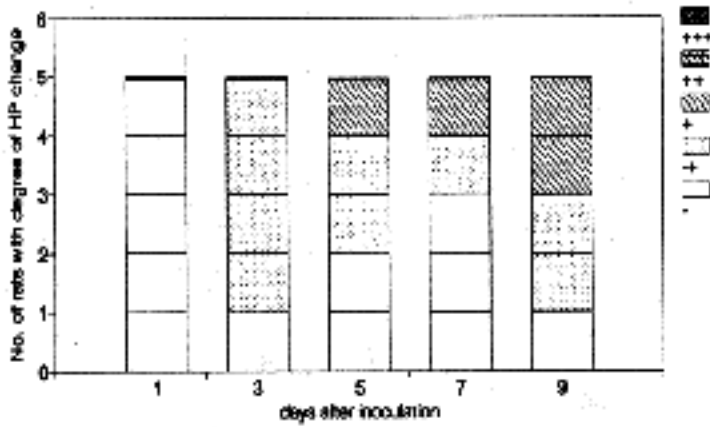


Fig. 21. Number of rats with degree of histopathologic changes in brain by day after intracerebral inoculation of Hantaan virus.

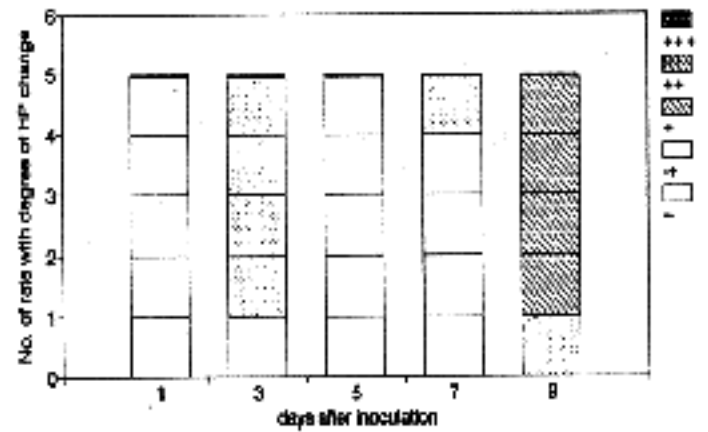


Fig. 22. Number of rats with degree of histopathologic changes in spleen by day after intracerebral inoculation of Hantaan virus.

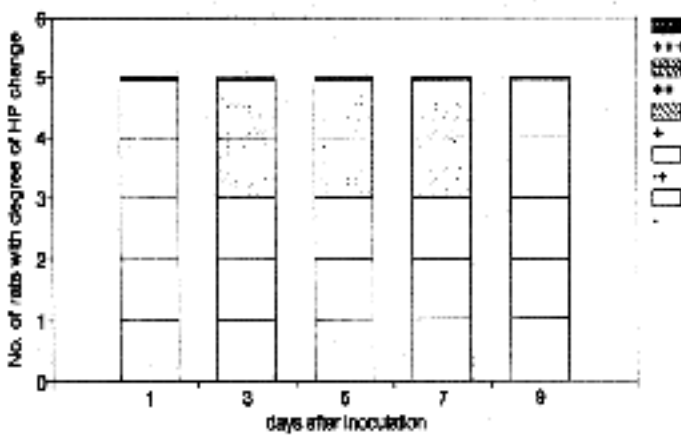


Fig. 23. Number of rats with degree of histopathologic changes in lung by day after intracerebral inoculation of Hantaan virus.

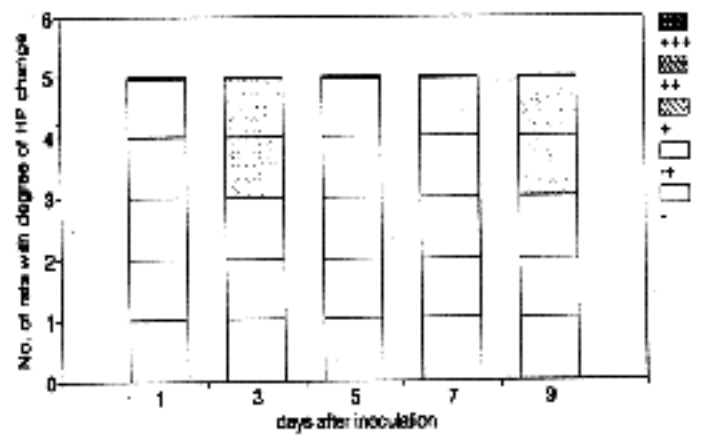


Fig. 24. Number of rats with degree of histopathologic changes in liver by day after intracerebral inoculation of Hantaan virus.

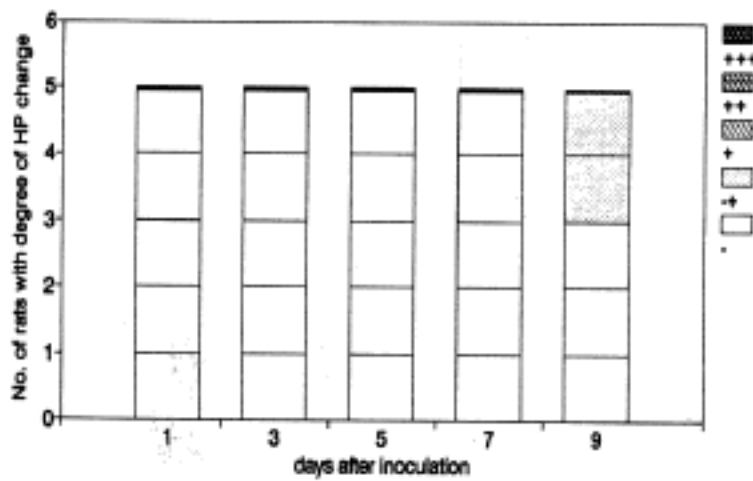


Fig. 25. Number of rats with degree of histopathologic changes in kidney by day after intracerebral inoculation of Hantaan virus

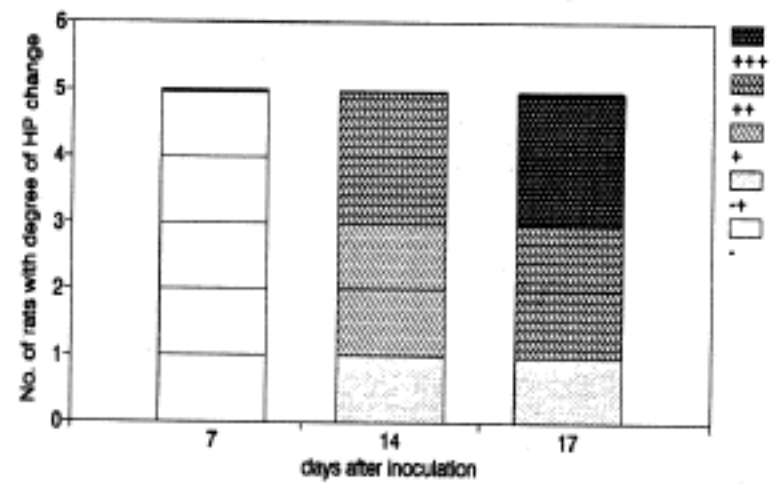


Fig. 26. Number of rats with degree of histopathologic changes in brain by day after intramuscular inoculation of Hantaan viurs.

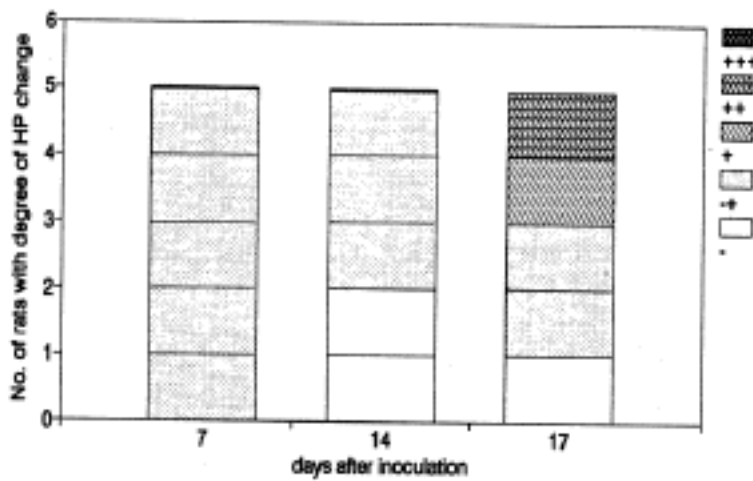


Fig. 27. Number of rats with degree of histopathologic changes in lung by day after intramuscular inoculation of Hantaan virus.

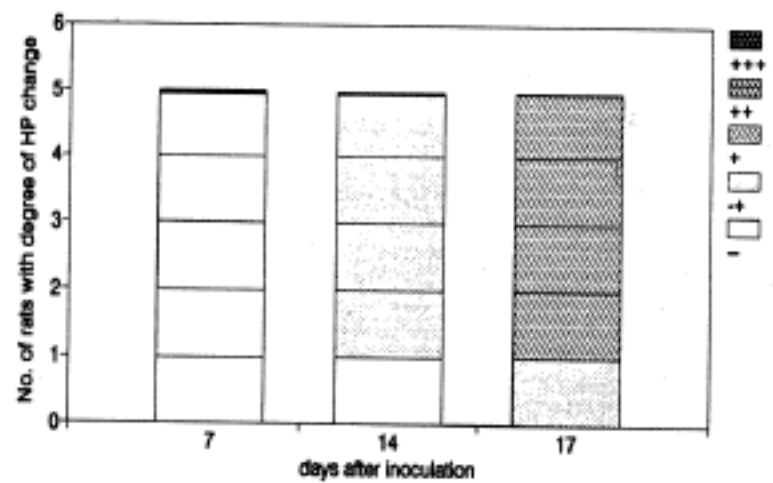


Fig. 28. Number of rats with degree of histopathologic changes in spleen by day after intramuscular inoculation of Hantaan virus.

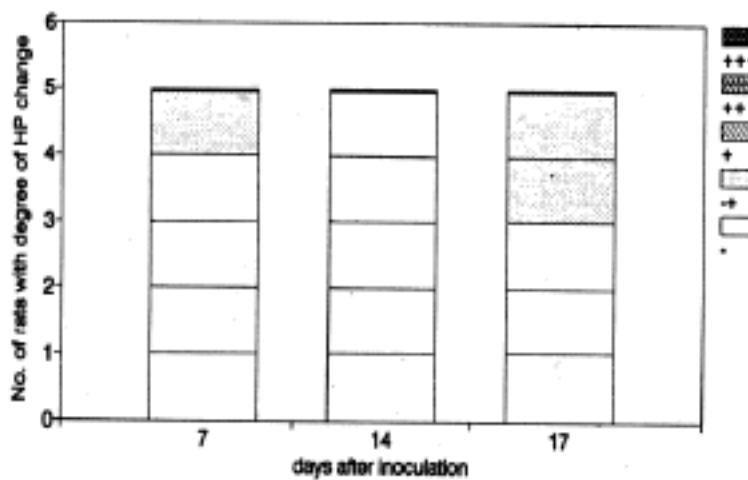


Fig. 29. Number of rats with degree of histopathologic changes in liver by day after intramuscular inoculation of Hantaan virus.

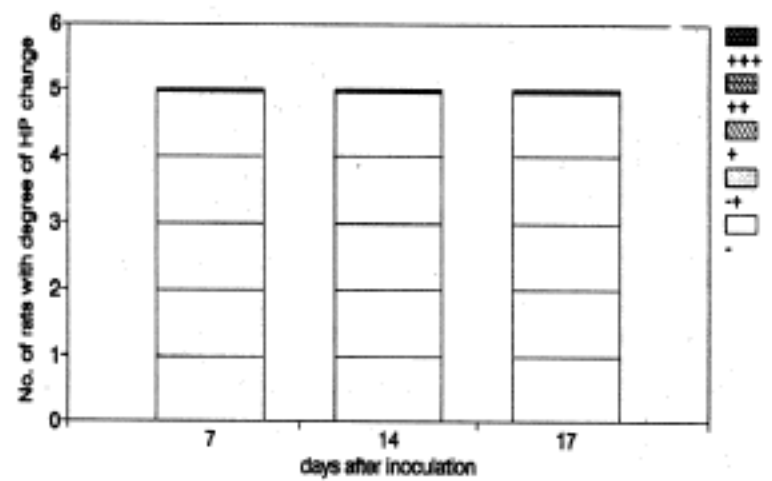


Fig. 30. Nuber of rats with degree of histopathologic changes in kidney by day after intramuscular inoculation of Hantaan virus.

장기증 개체마다 뇌에서의 염증성변화가 가장 현저히 나타났으며(Fig. 21) 그 다음이 비, 폐의 순서로 변화를 보였고(Fig. 22, 23), 신과 간에서의 특기할 소견은 관찰되지 않았다(Fig. 24, 25).

4. 제 2검색군 백서에서의 장기별 조직병리변화

대조군의 시기별 백서 3마리의 총 9마리의 조직변화는 나타나지 않는 반면 한탄바이러스를 대퇴부 근육에 감염시킨 제 2검색군의 제 7, 14 그리고 17일째의 각각 5마리의 장기별변화는 제 1검색군에서와 유사하였으나 염증성 변화와 실질조직 손상이 보다 심하게 나타났다.

대뇌의 수막뇌염은 제 14일부터 사망에 이르는 17일까지 현저히 진행되어(Fig. 26) 국소 괴사를 동반하였다. 폐도 간질성 폐염과 국소적인 출혈이 제 14일 이후에 현저히 나타났다(Fig. 27). 조직병변이 제일 심한 제 17일째의 뇌와 폐에서 시행한 BE-08 단일클론 항체에 대한 면역세포화학염색과 투과전자현미경 검사소견은 제 1검색군에서와 동일하였다. 비에서는 진행되는 비백수 림프구증가(Fig. 28)가 관찰되었고 신과 간에서의 변화는 제 1군에서와 유사하게 특이하지 않았고 시기별 변화도 보이지 않았다(Fig. 29, 30).

각각 장기에서의 조직변화를 시기별로 비교하였을 때 역시 대뇌에서의 변화가 가장 두드러졌고, 다음이 비와 폐의 변화이고, 신과 간의 변화는 특이하지 않았다.

고 찰

1976년 이등은¹⁾ 출혈열 환자 혈청 중에 다량의 IgM과 IgG가 증가하는 점으로 보아 항체인 면역글로불린이 형성된다는 사실을 알았고, 출혈열 환자가 다수 발생하는 지역에서 채집한 건강한 등줄쥐의 폐조직 세포에서 출혈열환자 회복기 혈청과 특이하게 반응하는 항원을 면역형광항체법으로 발견하여 이것이 신증후출혈열의 병원체라는 사실을 증명하고 한탄강의 이름을 따서 한탄바이러스로 명명하였다²⁾. 그후 한탄바이러스가 조직배양한 A549 세포 및 Vero E6 세포에서도 배양이 가능하게 되었으며 또 직접 Vero E6 세포에서 바이러스의 분리도 가능하게 되었다^{22,23)}. 또 많은 출혈열 환자들이 Wistar 및 SD rats를 사육하는 동물실에서 발생하였음이 증명되었으며²⁴⁾, 특이하게도 바이

러스 여러 주 중에서 출혈열 환자에서 분리한 한탄바이러스주가 가장 항원성이 강하며 바이러스에 대한 형광항체도 바이러스 접종후 1일에 나타나기 시작하여 2~3주경에 최고치에 달하는 것을 알 수 있었다²⁵⁾.

이 질환의 병리기전에 대한 연구는 자연적으로 설치류인 Muroidea속의 숙주동물에서 이루어졌으며 한탄바이러스 감염은 Arenavirus로 야기되는 것과 유사하게 만성적이고 보균상태를 보여주며 실험쥐에 접종하면 일시적으로는 불분명한 감염을 일으키나 이 바이러스로 질환을 일으킬수 있는 동물모델이 없어 연구가 제한되어 왔다. 그러던 중 생후 3일 이내의 유아기 마우스의 뇌내에 한탄바이러스를 접종하면 18일 후에 마우스가 뇌염으로 사망한다는 새로운 사실이 보고되었고²⁶⁾ 또한 새로이 태어난 이계교배 유아기 ICR마우스가 non-mouse adapted 바이러스로 치사감염을 일으킬 수 있음이 밝혀졌고, 뇌 혹은 복강내에 접종한 마우스에서 바이러스는 감염된지 제 8일에 최고치를 보이고, 근육이나 피하조직에 접종한 마우스에서는 바이러스증의 지연이 보인다고 보고되었다²⁷⁾.

저자는 본 연구에서 한탄바이러스 접종경로를 급성(1주일 전후까지)과 만성(2~3주일)의 조직변화를 비교하여 보고자 전자를 위하여는 뇌에 바이러스를 접종하였고 후자를 위하여는 바이러스증의 지연을 일으키기 위해 대퇴부 근육에 바이러스를 접종하여 관찰하였다. 각 시기별로 실험군과 대조군에서 실험동물 수의 산정은 저자의 예비실험 결과 동일접종경로와 동일시기에서 유아기 SD 백서 10마리의 소견변이가 크지 않았으므로 5마리로 기준하였다.

각 조직의 면역형광항체 검사와 조직병리소견을 비교하여 보면 장기에 따라 각기 다른 양상을 나타내었다. 뇌에서는 형광항체검사로 두 경로 접종 모두에서 바이러스항원이 점진적으로 사망할 때까지 증가함을 보였고, 조직에서는 염증 및 괴사소견이 항원 존재 정도와 대체적으로 비례하여 수막뇌염 및 국소 괴사 등의 실질조직의 변화가 심하게 나타났다. 그러나 제 1군과 2군 모두에서 한탄바이러스항원이 형광현미경상 강양성을 보인데 반하여, 조직변화소견은 제 2군에서 접종감염된지 2주일 이상 경과된 경우에 현저한 염증성 변화와 조직괴사가 초래된 것은 특이하였다. 폐에서는 바이러스 항원이 형광항체검사상 1주일까지는 증가되고 2주일 후부터 사망전까지 다소 감소되었으

나, 조직소견은 이와는 반대로 2주일 후부터 사망전까지 현저하게 나타났다. 비에서는 바이러스항원 접종감염 1주일까지 약하게 관찰되다가 2주일 전후에는 보이지 않았다. 조직내에서는 초기에는(제3일째) 탐식구의 출현이 있다가 1주일 경에는 비백수 림프구감소, 2주일 후부터 사망전까지는 비백수 림프구 증가를 보여 시기에 따른 대조적인 결과를 보였다. 신과 간에서의 면역형광검사와 조직소견은 모두 일치하여 비특이한 변화를 보일 뿐 염증이나 출혈 소견은 보이지 않았다.

이와 같은 실험백서에서의 조직변화 소견은 주로 폐와 신에서의 문제를 일으키고 있는 사람의 신증후출혈열환자에서의 부검소견¹³⁾과 다소 차이를 보이고 있으나, 마우스의 실험적인 연구에서의¹⁹⁾ 결과와는 비교적 일치함을 보이고 있다.

또한 조직내 병변이 심한 부위에서 한탄바이러스가 병변을 초래시키는 혹은 침범하는 세포를 규명하기 위하여 본 연구에서 처음으로 한탄바이러스 항원에 대한 단일클론 항체로 면역세포화학염색을 시도하였다. 뇌와 폐에서 실질세포와 침윤된 탐식구 세포질내에서 바이러스항원이 존재하였고 혈관벽에서는 관찰되지 않았는데, 이는 이전에 면역형광항체법으로 한탄바이러스 항원이 모든 장기의 모세혈관벽에서 존재한다는 보고와는²⁷⁾ 대조적인 결과로 이것은 관찰시기와 관련된 소견으로 생각되며 초기 바이러스 혈증상태에서는 혈관벽에 바이러스항원의 침윤이 보이다가 시간이 경과되면서 바이러스항원이 실질조직세포로 들어가고 감염 2주일 후에는 혈청내 항체치의 상승과 더불어 조직염증성변화와 괴사가 초래되는 것으로 생각된다. 더우기 혈청내 바이러스에 대한 항체가 최고에 달한다는 2주일 시기에 비백수 림프구세포 증식소견과 더불어 뇌와 폐의 현저한 조직손상 변화는 이 질환을 면역기전에 의한 병변의 가능성을 생각하게 한다.

그러나 사람에서의 주된 병변의 하나인 폐와 신에서의 변화가 실험백서에서 보이지 않는 점은, 앞서 연구에서 발표된 바는 없지만, 본 연구에서 한탄바이러스를 뇌에서 여러번 계대배양한 종자 바이러스를 사용한 때문인 것으로 추정되며 사람에서 주된 병변을 실험적으로 초래시키기 위하여는 감염된 폐 혹은 신에서 분리한 바이러스를 계대배양 한 후 실험하여 비교하는 것이 필수적이라고 생각되며 앞으로 이에 대한 연구가 더욱 이루어져야 할 것으로 사료된다.

결 론

저자는 1984년 한국형출혈열 환자의 혈액에서 분리한 한탄바이러스ROK 84-105주를 생후 24시간 이내의 유아기 백서(suckling SD rats)의 대뇌와 대퇴부 근육에 각각 접종하므로써 유도된 감염양상을 각각 제9일과 17일에 사망하기 직전까지 시기별로 관찰하였으며 각 장기에서의 면역형광항체검사로 관찰된 바이러스항원 양상과 조직내 병리학적 소견을 비교하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 대뇌에 한탄바이러스를 접종하여 감염시킨 제1검색군 백서에서는 면역형광항체검사로 바이러스 항원은 각 장기마다 제3일부터 사망하는 제9일까지 증가되었으며 그 정도는 뇌, 폐, 신, 비와 간의 순서이었다.

2) 제1검색군 백서에서 조직병리학적으로 관찰된 소견은 뇌에서 경한 수막뇌염, 비는 국소적인 소수 탐식구 출현과 비백수 림프구의 감소, 폐에서는 약한 간질성 폐염 및 국소출혈을 보였다. 신과 간에서의 변화는 별로 관찰되지 않았다.

3) 대퇴부에 한탄바이러스를 접종감염시킨 제2검색군 백서에서는 면역형광항체검사로 관찰되는 바이러스 항원이 뇌에서는 사망하는 제17일까지 현저한 증가를 보인 반면 폐, 비, 신과 간에서는 제7일에 관찰되던 항원이 오히려 감소되는 경향을 보였다.

4) 제2검색군 백서에서의 조직병리학적 소견은 제1색군에서와 유사하나 뇌와 폐에서 현저한 염증변화와 국소적인 괴사를 보였고, 비는 전반적인 비백수 림프구증가를 보였다.

5) 면역형광항체검사와 조직병리소견의 상관성을 보면 뇌에서는 바이러스항원의 검출정도와 조직변화가 제1검색군 및 제2검색군 모두에서 밀접한 일치성을 보였으나 폐와 비에서는 오히려 상반된 양상을 보였으며, 간과 신은 변화와 미미하여 비교하기 곤란하였다.

6) 한탄바이러스의 조직내 감염으로 주로 출현되는 세포는 탐식구와 림프구이며, 한탄바이러스가 침범하는 실질세포는 BE-08 단일클론항체를 이용한 면역세포화학염색에서 특이성이 없는 것으로 보였다.

7) 한탄바이러스 접종 감염후 혈액내 항체치가 최고에 이르는 2주일 이후에, 실질조직내 바이러스 항원의 감소와 더불어 뇌 그리고 폐의 심한 괴사성 염증성 소

견 및 비백수의 현저한 림프구증가로 이 병변은 면역 기전에 의한 질환으로 생각된다.

참 고 문 헌

- 1) 이호왕, 이평우: 한국형출혈열. I. 원인항원 및 항체 증명. 대한내과학회잡지 19: 371-383, 1976
- 2) Lee HW, Lee PW, Johnson KM: Isolation of the etiologic agent of Korean hemorrhagic fever. *J Infect Dis* 137: 298-308, 1978
- 3) Smordintsev AA, Altshuler IS, Dunaevskii MI, Kakhreideze KA, Meustroeve VD, Neustroeve VD, Churilov AV: Etiology and clinics of hemorrhagic nephrosonephritis. *Moscow Medgiz Publishers* 26-47, 1944
- 4) Myhrman G: Nephropathia, a new infectious disease in northern Scandinavia. *Acta Med Scand* 140: 52-56, 1951
- 5) Trencseni T, Keleti B: Haemorrhagic nephrosonephritis in Hungary and Europe. *Orv Hetil* 10: 1872-1876, 19959
- 6) Verbev P, Gubev E: Haemorrhagic nephrosonephritis in Bulgaria. *J Hyg Epidem (praha)* 2: 136-140, 1963
- 7) Lee HW, Lee PW, Tamura M, Tamura T, Okuno Y: Etiological relation between Korean hemorrhagic fever and epidemic hemorrhagic fever in Japan. *Biken J* 22: 41-45, 1979
- 8) Lee PW, Gibbs CJ, Gajdusek DC, Hsiang CM, Hsiung GD: Identification of epidemic haemorrhagic fever with renal syndrome in China with Korean hemorrhagic fever. *Lancet* 1: 1025-1026, 1980
- 9) Karabatsos N: International catalogue of arboviruses, including certain other viruses of vertebrates. *San Antonio, American Society of Tropical Medicine and Hygiene* 927-928, 1985
- 10) McCormick JB, Sasso DR, Palmer EI, Kiley MP: Morphologic identification of the agent of Korean hemorrhagic fever (Hantaan virus) as a member of the Bunyaviridae. *Lancet* 1: 765-768, 1982
- 11) White, JD, Shirey FG, French JR, Huggins JW, Brand OM, Lee HW: Hantaan virus, etiologic agent of Korean Haemorrhagic fever, has Bunyaviridae-like morphology. *Lancet* 768-771, 1982
- 12) World Health Organization: Regional Office for the Western Pacific Report of the working group on haemorrhagic fever with renal syndrome. *Tokyo, Japan, February 22, 1982*
- 13) 김용일: 한국형 유행성 출혈열의 병리. 대한내과학회잡지 15: 13-18, 1972
- 14) 안인숙, 이호왕, 이용주, 성인화, 백락주, 최종상: 한탄 바이러스를 접종한 설치류의 병리조직학적 소견. 대한미생물학회지 19: 1-10, 1984
- 15) Mckee KT, Kim GR, Green DE, Peters CJ: Hantaan virus infection in suckling mice. virologic and pathologic correlates. *J Med Virol* 17: 107-117, 1985
- 16) Gajdusek DC: Rodent-borne viral nephropathy [hemorrhagic fever with renal syndrome: nephropathia epidemica]. Report of WHO working group on Hemorrhagic fever with renal syndrome, *Tokyo, Japan Feb, 22-24, 1982*
- 17) Lee HW, Back LJ, Johnson KM: Isolation of Hantaan virus, the etiologic agent of Korean hemorrhagic fever from wild urban rats. *J Infect Dis* 146: 638-644, 1982
- 18) Lee HW: Korean Hemorrhagic fever. *Prog Med Virol* 28: 96-113, 1982
- 19) Kim GR, Mckee KJ Jr, Lee HW: Pathogenesis of Hantaan virus infection in suckling mice. Clinical, virologic and serologic observations. *J Kor Soc Microbio* 20(1): 115-125, 1985
- 20) Nakamura T, Yanagihara R, Gibbs CJ Jr, Gajdusek DC: Immune spleen cell mediated protection against fatal Hantaan virus infection in infant mice. *J Infect Dis* 151: 691-697, 1985
- 21) Nakamura T, Yanagihara R, Gibbs CJ Jr, Amix HL, Gajdusek DC: Differential susceptibility and resistance of immunocompetent and immunodeficient mice to fatal Hantaan virus infection. *Arch Virol* 86: 109-115, 1985
- 22) French GR, Foulke RS, Brand OA, Eddy GA, Lee HW, Lee PW: Korean hemorrhagic fever. Propagation of the etiologic agent in a cell line of human origin. *Science* 211: 1046-1048, 1981
- 23) 이호왕, 박동욱: 한국형 출혈열. IV. 한국형 출혈열 병원체 한탄바이러스의 조직배양 세포에서의 증식. 대한바이러스학회지 12: 1-6, 1982
- 24) Lee HW, Baek LJ, Kawamata J, Yamanouchi T: Laboratory infection of hemorrhagic fever with renal syndrome and transmission of Hantaan and Seoul virus in rats. In: Abstracts from the 11th Int Congr Trop Med Mal Calgary, Canada, September 16-22, 1984

25) 이호왕, 백탁주, 성인화, 이용주, 이운진 : 각종 동물에
서의 한탄바이러스 증식 및 항체형성에 관한 연구.
대한바이러스학회지 14:9-16, 1984

26) Tsai TF, Bauer SP, Mc Cormick JB, Kurata T :
Intracerebral inoculation of suckling mice with

Hantaan virus. Lancet 2:503-504, 1982

27) Kurata T, Tsai TF, Bauer SP, Mc Cormick JB :
Immunofluorescence studies of disseminated Han-
taan virus infection of suckling mice. Infect Immun
41:391-398, 1983