

□川崎病の病因ウイルスの探究

日沼 頼夫 (京都大学ウイルス研究所)

1. 研究目的

川崎病の病因論で、感染説の立場をとる唯一の手掛りは、大里らが提唱しているEBウイルスとの関連である。我々は、川崎病の病因をEBウイルスとは限らず、未知、既知のウイルスを想定し、患者材料から色々な方法を用いてウイルス分離を試みた。また患者血清中の抗体を測定することによって、EBウイルスとの関連をも追求した。

2. ウイルス分離

川崎病は免疫学的な背景から、リンパ球感染性のウイルスによる可能性を考え、患者のリンパ球を材料としてウイルス分離を行った。

材料と方法：

ヘパリン採血の患者末梢血1～3 mlより、比重遠心法でリンパ球を分離し、下記の諸条件で培養した。検体は、発病1週間以内の急性期と回復期を含む60人、83検体。培養期間5～7日毎に塗抹標本を作り、アセトンで室温10分間、また四塩化炭素で室温15分間固定し、蛍光抗体法または補体法で川崎病患者の回復期血清と反応する抗原の検出を試みた。

(A) 培地条件 20%に牛胎児血清を加えたRPMI 1640を基本培地とし、これに次の添加物に加え、 $1 \times 10^6/ml$ の患者リンパ球を24穴のcostarプレートに1 ml/well に接種し、炭酸ガス培養器内で培養した。炭酸ガスの濃度は5% および7% である。

- 1) 基本培地 添加物なし
- 2) 2% PHA
- 3) 50U Recombinant IL-2
- 4) 50U Recombinant IL-2 + 1～2% PHA
- 5) 20 ng/ml TPA

培養期間は1カ月間である。

(B) 継代リンパ球細胞株との混合培養

下記の継代リンパ球細胞を $2.5 \sim 10 \times 10^5/ml$ (表1)に川崎病患者のリンパ球を $2 \sim 5 \times 10^5$ 加えて培養し、7～10日目にその培養上清0.1～0.2 mlを同種の新しい細胞に継代した。各代ごとに蛍光抗体法で抗原の検出を行い3代の継代で、川崎病患者回復期血清と特異的に反応する抗原が検出されなかった場合は、陰性と判定した。細胞の変性についても観察した。

また、川崎病患者のリンパ球をPHAで刺激後、混合培養に移すことを試みた。

(C) ヒト胎児繊維芽細胞、血管内皮細胞、Vero細胞については、通常のウイルス分離法に従った。

表-1

混合培養に使用した細胞株リスト

1) TA11-1	6) Raji	11) MS-2
2) Molt-4	7) B-95-8	12) 臍帯リンパ球
3) MT-2	8) THP-1	13) ヒト胎児繊維芽細胞
4) MT-4	9) U ₉₃₇	14) 血管内皮細胞
5) Jurkat	10) KG-1	15) Vero細胞

(D) 逆転写酵素活性の測定

リンパ球の培養上清や混合培養上清を集め高速遠心して得た、沈渣の逆転写酵素活性を180検体について測定した。

結果：

いずれの場合も川崎病患者の回復期血清と特異的に反応する抗原の検出は出来なかった。また細胞変性も見られなかった。逆転写酵素活性は、対照の細胞培養上清との間に有意の差は認められなかった。

3. 血清学的検索

川崎病とEBウイルスとの関連について、いくつかの報告がなされているので、患者血清中のEBウイルス関連抗体の測定を行った。

材料： 1980年から1986年の間に川崎病と診断された患者155例うちペア血清，63例。

対照として同年間に京都大学ウイルス研究所ウイルス診断研究施設に検査依頼のあった諸種疾患（EBウイルス感染による疾患はのぞく）で年齢のマッチした362例。

方法： EBV関連抗体の測定は、VCAIgG，VCAIgMについては間接蛍光抗体法を、EBNAは補体法を用いた。抗体価10倍以下を一応陰性としたが必要に応じて5倍希釈で確認した。

結果： 表-2に見られるように川崎病患者ではEBVに対する抗体は対照に比べて著明に低い。これを年齢別に見ると（表-3）諸種疾患での抗体陽性率は3才ですでに80%を越えるが川崎病では13%である。1才以下の乳幼児のVCAIgG抗体陽性は、母親由来の抗体である可能性が高い。また、VCAIgG抗体陽性の19例のうち、EBNA抗体陰性は7例あった。これらは一見EBVの初感染のように思われるが、VCAIgM抗体はすべて陰性であったことと、対照においても特に1才以下ではVCAIgG(+)EBNA(-)の症例が $\frac{15}{46}$ (52%)あることから、直ちにEBVの初感染と決められない。

しかしながらペア血清の得られたもののうち7例において明らかなVCAIgG抗体とEBNA抗体の上昇が見られた。（表-4）これらはVCAIgM抗体は陰性である。この上昇は約1週間でも見られることやVCAIgG抗体とEBNAが同時に上昇するものがあるなど、伝染性単核症などの初感染とは異ったパターンをとる。この様な形の上昇は、大里らによっても確認されている。

結論： 川崎病患者のEBV抗体価は著明に低い傾向がある。

表-2

川崎病患者群と対照群におけるEBV抗体陽性率

疾患	検査数	VCAIgG 陽性 (%)	EBNA 陽性 (%)
川崎病	155	19 (12.2%)	11 (1) [*] (7.1%)
諸種疾患	362	247 (68.2%)	226 (62%)

*一検体は非特異反応

表-3

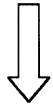
川崎病患者群と対照群の年齢別EBV抗体陽性率

年齢	<1	1	2	3	4	5	≥6	年齢不明	合計
川崎病 (%)	9/31 (29)	2/35 (6)	0/14	2/15 (13)	0/8	0/9	0/4	6/39	19/155
諸種疾患 (%)	46/89 (52)	30/63 (48)	32/46 (70)	37/42 (88)	42/53 (79)	32/39 (82)	28/30 (93)		247/362

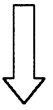
表-4

EBV抗体上昇例

病例No	年齢	採血病日	EBV抗体	
			VCAIgG	EBNA
568		5	<5	<5
1 629	2才	23	20	10
174		31	20	10
693		4	<5	<5
2 710	4才	10	80	40
751		24	80	40
3 840	4ヶ月	2	10	<5
229		23	40	40
4 262	3才5ヶ月	8	<10	<10
1209		16	80	40
5 1174	5才1ヶ月	6	<5	<5
241		20	40	10
51	1才6ヶ月	3	<10	<5
56		29	20	<5



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



1. 研究目的

川崎病の病因論で、感染説の立場をとる唯一の手掛りは、大里らが提唱している EB ウィルスとの関連である。我々は、川崎病の病因を EB ウィルスとは限らず、未知、既知のウィルスを想定し、患者材料から色々な方法を用いてウィルス分離を試みた。また患者血清中の抗体を測定することによって、EB ウィルスとの関連をも追求した。