

川崎病患者からのレトロウイルス様粒子の分離

白木 公康, 奥野 寿臣, 山西 弘一, 高橋 理明 (阪大微研)
浅野 喜造 (藤田学園衛生大、小児科)

私共は川崎病患者から表1の cell line を用いてウイルス分離を試みている。患者から得たリンパ球をこれらの cell と混合培養し3-7日毎に培養上清を集め超遠心沈澱させその DAN polymerase 活性を測定した(表2)。

図1は3才の男児発病後7日目のリンパ球を培養した上清の polymerase 活性である。20日目頃に数倍程度の上昇がみられている。図2は3才男児(Y.T.)発病後4日目のリンパ球を培養したものでH-9細胞で培養後70日目で約44倍の上昇がみられた。発病後30日を経過した患者(M.I.)からのリンパ球培養では上昇はみられなかった。

約44倍の上昇のみられた材料(Y.T.)を20-60%の蔗糖密度勾配により遠心してしらべたところ density 1.191 のところに活性の peak がみられた(図3, 下欄)。対照として用いたマウス白血球ウイルス(Kirsten Leukemia Virus)では1.15のところ活性の peak がみられた。

次に1才の患者O.N.(発病後4日目)及びその同胞(非発病)のリンパ球の培養結果を図4に示す。患者(O.N.)のリンパ球培養では培養後75日目に53.8倍の高い酵素活性がみられた(H-9細胞)が同胞(H.N.)のリンパ球培養では上昇はみられなかった。患者のリンパ球を更に培養した上清をCsClを用いた平衡密度勾配法でしらべると約1.19のところ酵素活性の peak がみられた。(図5)。

現在これらの酵素活性が真に逆転写酵素活性をあらわしているかどうかを基質をかえて検討中である。又患者の回復期血清を用いた serological test を実施中であり、川崎病との因果関係は現在の段階では断定できない。

表 1

Origin of cell line

H-9 :Adult lymphoid leukemia
HuT-78 :Human cutaneous T cell lymphoma
MOLT-3 :Acute lymphoblastic leukemia
CEM :Acute lymphoblastic leukemia
(CCRF-CEM)
U-937 :Human histiocytic lymphoma

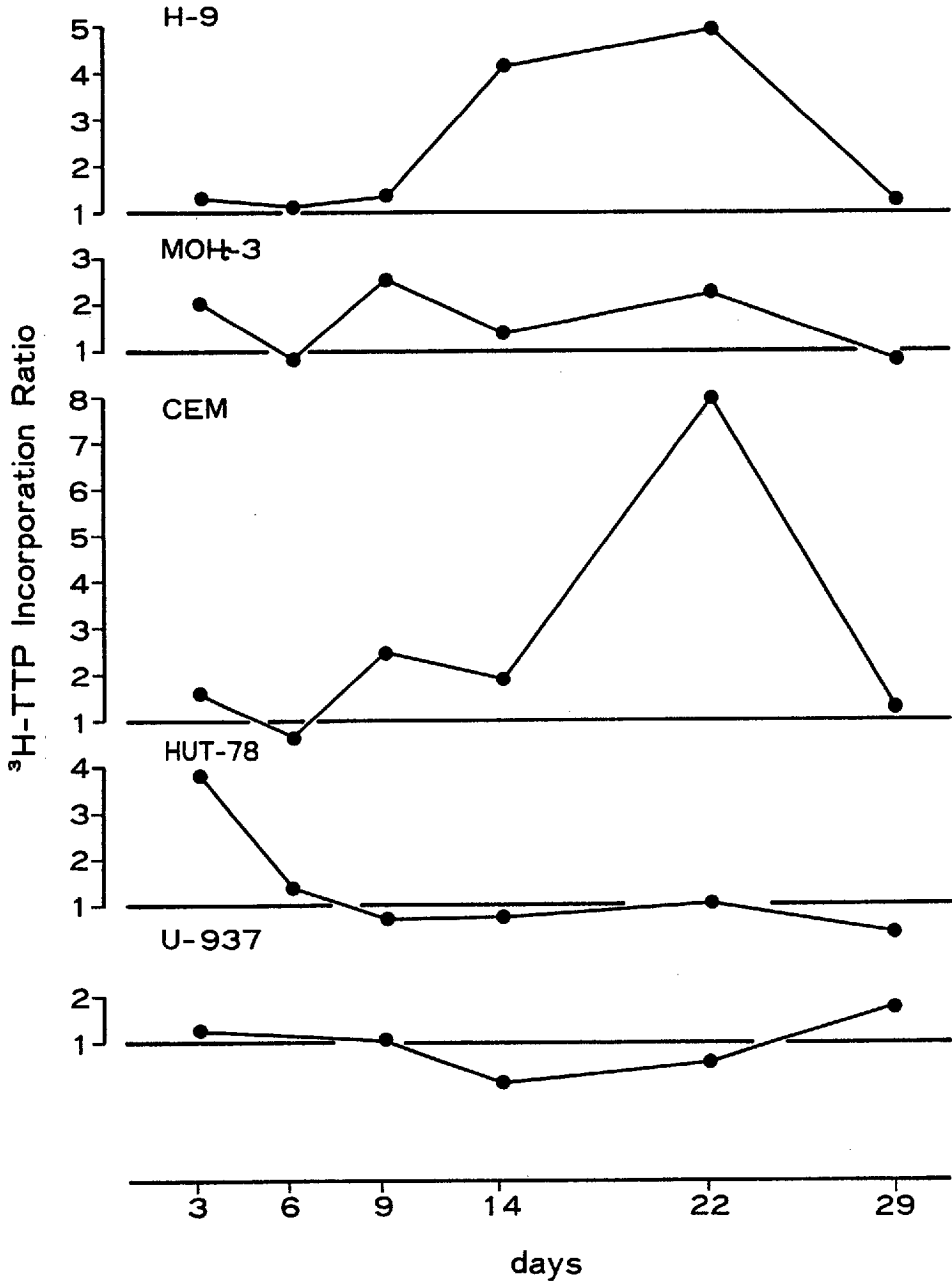
表 2

Reverse Transcriptase Assay

1. Culture supernatants 100,000 g for 90 min
2. Resuspend the pellet in a reaction mixture
 - 50 mM Tris-HCl (pH 8.0)
 - 10 mM dithiothreitol
 - 7.5mM MgCl₂
 - 0.1 % Triton X-100
 - 0.8 O.D. units/ml
 - 1-10 μ Ci ³H-thymidine triphosphate
3. Incubation at 37°C for 1 hour
4. Addition of ice-cold 5% trichloroacetic acid(TCA)
5. Filtrate on a glass filter
6. Wash with ice-cold TCA containing 1mM pyrophosphate
7. Wash with ethanol and dry up

图1

F.O. 3Y 7th day



2

Y.T. 3Y 4th day

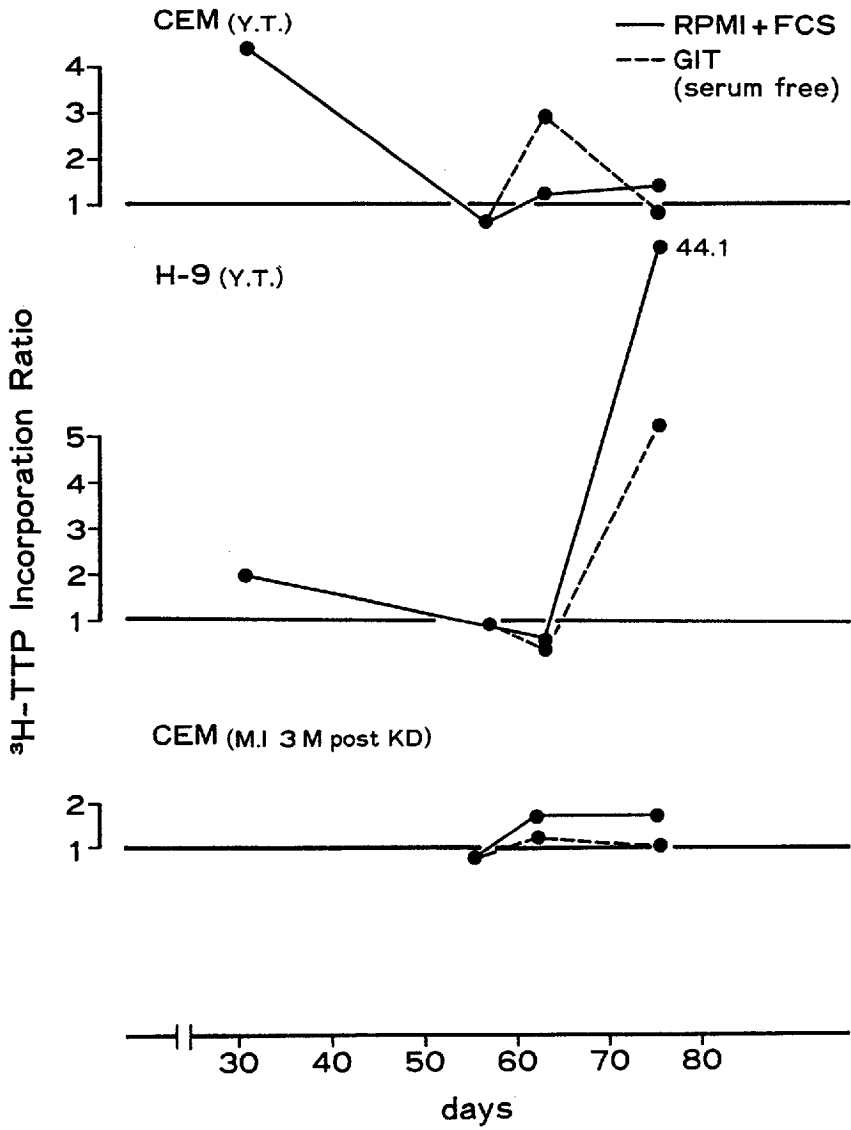


图3

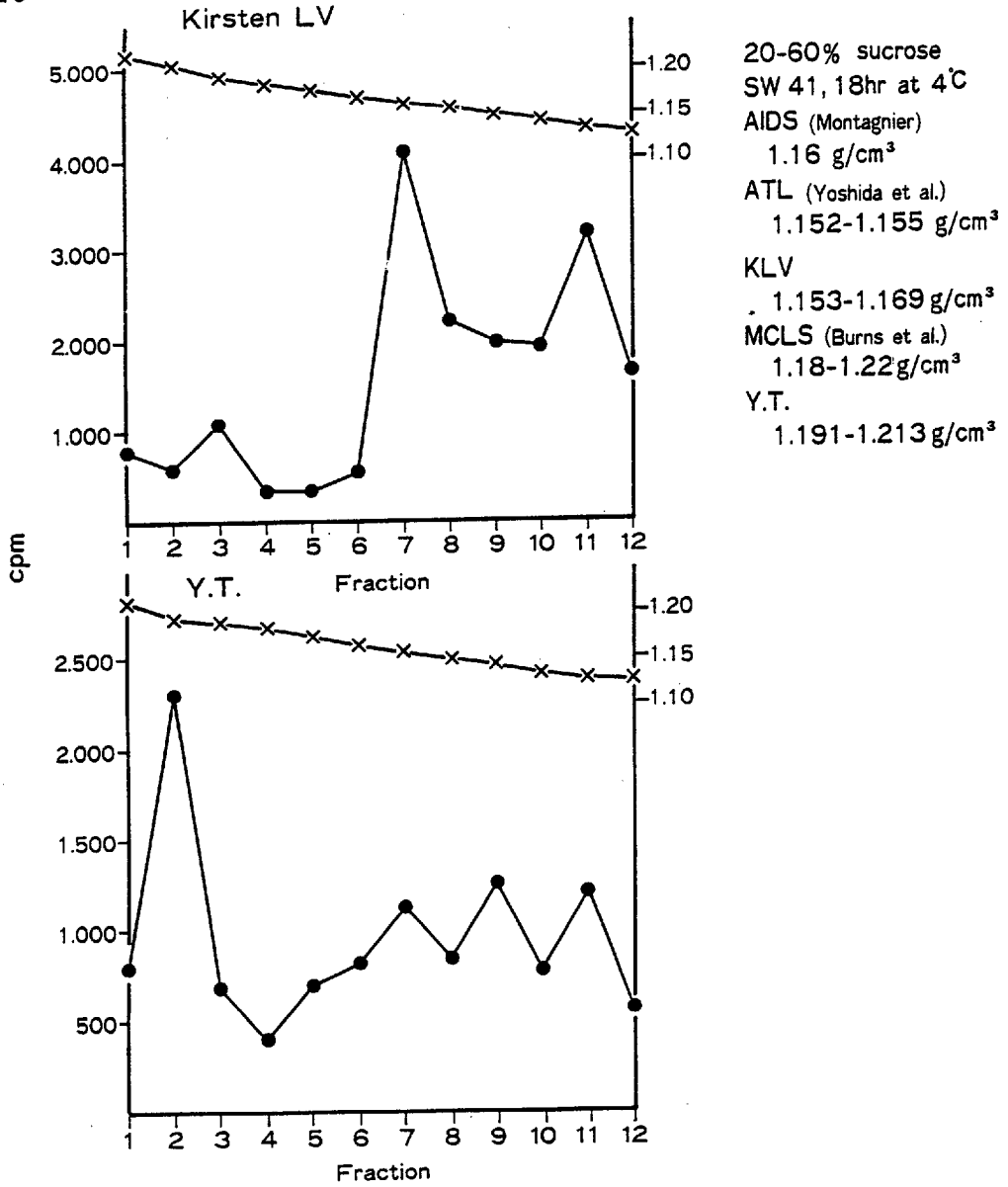


图4

O.N. 1 Y 4th day

