

分担研究報告

□川崎病の病因ウイルスの探求

日沼 頼夫

要約 その臨床と疫学から、川崎病の病因としてある種のウイルスを想定し、患者末梢血リンパ球を材料として、種々の方法によりウイルスの分離を試みた。回復期採血の28例を含む142例のリンパ球の培養からは、川崎病に特異な抗原やウイルスは検出出来なかった。また、川崎病とEBウイルス(EBV)との相関を血清学的に検索した結果、川崎病患者では、EBV抗体の保有率は異常に低い(12%)という以上の所見が今回も確認された。

見出し語：ウイルス分離，EBウイルス抗体，逆転写酵素活性

研究方法 (1)リンパ球培養。発病後1週間以内の急性期患児114例，発病後約一ヶ月の回復期患児28例の末梢血からリンパ球を分離し下記の諸条件で培養した。20%牛胎児血清RPMI 1640を基本培地としこれに2%PHA，50単位IL-2，20ng/mlPHAなどを加えて培養に用いた。またT細胞系(TALL-1，Molt-4，MT-2，MT-4，Jurkat)，B細胞系細胞株(Raji，B-95-8)，monocyte由来の細胞株(THP-1，U937，ML-3，KG-1，MS-2) 初代ヒトリンパ球(臍帯血，成人末梢血)ヒト胎児繊維芽細胞，ヒト血管内皮細胞(SV40トランスフォーム)，Vero細胞と，川崎病患児のリンパ球を混合培養した。

(2)ウイルス抗原の検出法。細胞培養期間中定期的に細胞塗抹標本を作り，間接蛍光抗体法または補体法で川崎病患児回復期血清と特異的に反応する抗原の検出を試みた。また培養細胞を抗原として，

Western Blot法により患児回復期血清と反応する特異バンドの検出をも試みた。

(3)逆転写酵素活性：リンパ球の培養上清や混合培養上清より，template primerとしてpoly(rA)，oligo(dT)の系を用い， Mn^{++} ， Mg^{++} の存在下で 3H Thymidine triphosphate (TTP)の取り込みで活性を測定した。

(4)EBV抗体測定。VCAIgG，VCAIgMに対する抗体は間接蛍光抗体法で，EBNA抗体は補体法で測定した。

結果 (1)ウイルス分離。142検体のリンパ球中の培養に，川崎病患児の回復期血清と特異的に反応する抗原は検出されなかった。逆転写酵素の活性は，23例中7例で対照の正常人由来のリンパ球培養を上清の活性よりやや高値を示したが，この値は低く，細胞継代培養でも持続的に上昇を認

めず、レトロウイルス増殖によるものは判定出来なかった。

(2)血清学的検索。1985年から1988年1月の間に川崎病と診断された患児77名の急性期血漿では、VCAIgG抗体陽性率は、対照に比べて異常に低い。またVCAIgG陽性者中EBNA陰性者は多い(表-1)。

表1 川崎病患児急性期血清中のEBV抗体

疾患	検査数	EBV抗体陽性数(%)		
		VCAgG	VCAIgM	EBNA
川崎病	77	9(11.7)	0	1(1.3)
諸種疾患	95	64(67.4)	0	55(57.9)

表2 EBV抗体と全IgG増加率

		IgG増加率(%)			合計
		1.5倍以下	1.5~2倍	2倍以上	
EBV抗体	上昇	3(27)	0	8(73)	11
	陰性	6(50)	4(33)	2(17)	12
合計		9(39)	4	10(43)	23

VCAIgG抗体陽性者は、すべてVCAIgM陽性陰性であり、殆ど一歳未満である。ペア血清が得られた31例中12例において明らかなVCAIgG抗体の上昇があり、また7例においてEBNA抗体の上昇が見られたが、VCAIgM抗体は陰性であった。これらのペア血清23例について血清中のIgGを測定しその増加率を調べた(表-2)。EBV抗体陰性例中でも全IgG量の増加している例がやく50%存在した。

考察 川崎病の病因ウイルスの探索のために、患児末梢血からのウイルス分離を試みた。しかし、病因関係を示唆する抗原ウイルスも検出出来なかった。また川崎病患児ではEBVに対する抗体の異常が報告されているが、今回の検索でも、抗体保有率の低下が観察された。

文献

Harada, S., Imai, J., Tominaga, K., Komoda, H., El-Farrash, M-A. and Hinuma, Y. Attempt to isolate a causative agents of Kawasaki Disease. Ann. Report Inst. Virus Res. 29, 90-91, 1986.

Abstract

An Attempt to Isolate a Causative Agent of Kawasaki Disease

Yorio Hinuma

Institute for Virus Research, Kyoto University, Kyoto

At present, the aetiology of Kawasaki Disease is unknown. Clinical and eitological features of the diseases have suggested that a certain virus might be involved in aetiology of this disorder.

Our trials have been made for isloation and identification of such viral agents from mononuclear cells of patients with Kawasaki Disease.

For detection of the antigens we have cultured the peripheral blood mononuclear cell from 142 patients under the various conditions, including the employment of co-cultivation of cells with a variety of established

cell lines. The cultured cells were sampled at intervals and examined whether they appeared to carry specific antigens reacting with convalescent sera of patients, by means of immunofluorescence technique or immunoblotting assay. Reverse transcriptase activity in the culture supernatants was also assayed for detection of retroviruses. To date, we neither specific antigens have yet been found nor significant activity of reverse transcriptase is detected in spite of our effort.



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



要約 その臨床と疫学から、川崎病の病因としてある種のウイルスを想定し、患者末梢血リンパ球を材料として、種々の方法によりウイルスの分離を試みた。回復期採血の28例を含む142例のリンパ球の培養からは、川崎病に特異な抗原やウイルスは検出出来なかった。また、川崎病とEBウイルス(EBV)との相関を血清学的に検索した結果、川崎病患者では、EBV抗体の保有率は異常に低い(12%)という以上の所見が今回も確認された。