

## 成人T細胞白血病ウイルス(HTLV-I)の感染メカニズムの解明

宮本 寛治<sup>1)</sup>, 富田 徳子<sup>2)</sup>

要約：ゼラチン粒子凝集法(PA法)で陽性、間接蛍光抗体法(IF法)で陰性として判定された検体の血清及びリンパ球について Western blot 法、co-culture 法による抗原誘導及び酵素的遺伝子増幅法(PCR法)による HTLV-1 ゲノムの分析について検討した。その結果 PCR 法で PA 法(+)、IF 法(-) 4 例中 1 例で増幅された virus 遺伝子が検出された。他の方法では陰性であった。PA 法(+)(x128 倍以上)、IF 法(-) の検体について Western blot 法をおこなった。その結果、富士レビオの膜では P19、P24 IgM 抗体が検出されたが、日本バイオラドの膜では陰性であった。また ELISA 法(エーザイ社)で陽性と出た検体の妊婦について Western blot 法について検討した。結果は陽性であったが band pattern が膜によって異なっていた。陽性コントロールとして IF 法(+) の血清及びリンパ球を用いて Western blot 法、co-culture 法による抗原誘導、PCR 法をおこなったが全て陽性であった。

見出し語：ゼラチン粒子凝集法(PA法)、Co-culture 法、PCR 法、  
Western blot 法

研究方法：抗 ATLA 抗体検査は PA 法、及び トリップを用いた。co-culture 法は PA 法  
MT-1 細胞株又は MT-2 / Molt-4 細胞株を 陽性者(donor cell)の白血球を分離した後、  
用いた IF 法で行った。PA 法は 3 管(x16 1 日シャーレで培養し、単球を除去した白血  
倍)以上を陽性とした。Western blot 法は 球と抗 ATLA 抗体陰性者(recipient cell)  
富士レビオ社製と日本バイオラド社製のス の白血球を分離後、donor cell と同じ

<sup>1)</sup> 岡山大学医療技術短期大学部 (School of Health Sciences, Okayama Univ.)

<sup>2)</sup> 岡山県赤十字血液センター研究課 (Okayama Red Cross Blood Center)

く単球を除去した白血球をそれぞれ  $2 \times 10^6$  個 / ml づつ混合し培養した。培地は RPMI1640 + 10%FCS + 5%HCS とし Medium change は週 2 回半量とし、約 3 週間培養した。培養後、生細胞を分離後アセトン固定し IF 法をマウスのモノクローナル抗体 (GIN-14, P19 を認識) で反応させ、抗原を判定した。遺伝子増幅法 (PCR) は DNA 熱変性 ( $92^\circ \text{C}$ 、1 分)、合成 primer との annealing ( $62^\circ \text{C}$ 、2 分)、Taq poly-merase による primer の伸長 ( $72^\circ \text{C}$ 、1 分) を 1 cycle とし、30 cycles の反応を行った。Primer は HTLV-1 enV-PX 領域の約 250 bp 離れた +鎖、-鎖各 19 mer とした。反応終了後、agarose gel で泳動分離し、nylon 膜に移行した。その後アイソトープを用いない digoxigenin 標識した HTLV-1enV-PX 部分の probe と hybridization の後 ELISA 法で検出した。

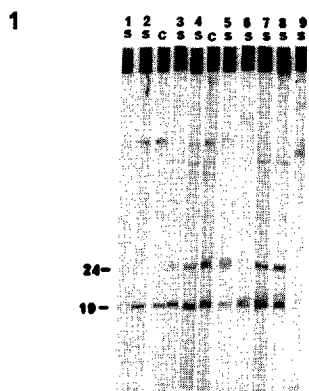
結果：Western blot 法で PA 法 (+)、IF 法 (+) の血清は P19、P24、P53 等のバンドが認められたが PA 法 (+)、IF 法 (-)、及び PA 法 (-)、IF 法 (-) の血清ではバンドが認められなかった。ELISA 法で陽性と判定された妊婦の血清を富士レビオ社製のストリップと日本バイオラド製のストリップで比較したが、レビオ社では P19、P24、P53 等のバンドの他に 3~5 本のバンドが認められた。一方、バイオラド社では P19、P24 のバンドの他に 1~2 本のバンドが認められた (図1) また PA 法で (X128 倍以上) 陽性、IF 法 (-) 例の血清について Western blot 法を

おこなった。レビオ社製では P19、P24 の IgM 抗体が検出されたが、バイオラド社製のストリップではバンドが認められなかった (図2)。Co-culture 法で抗原誘導を試みたが PA 法 (+)、IF 法 (-) 5 例とも陰性であった。陽性コントロールとして PA 法 (+)、IF 法 (+) 3 例とも抗原が誘導できた。PCR 法では PA 法 (+)、IF 法 (+) の 3 例中 3 例と、PA 法 (+)、IF 法 (-) 4 例中 1 例で増幅された virus 遺伝子が検出された (図3)。

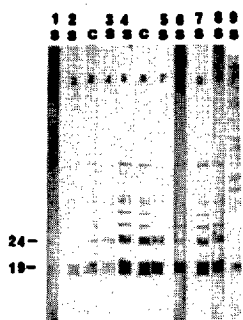
考察：今回検討した方法で全て判定が一致したのは PA 法 (+)、IF 法 (+) 例のみであった。PA 法 (+)、IF 法 (-) 例で 1 例 PCR 法が陽性であった。以前 co-culture 法で抗原誘導を試みた際、PA 法 (+)、IF 法 (-) 例で陽性であったが<sup>1)</sup>今回は陰性であった。Western blot 法でストリップ膜を変えて比較検討したところ band pattern のちがいが生じたことと、IgM の結果がことなることが明らかとなった。このことはウイルス抗原のちがいか又はウイルス抗原の可溶化の過程の差等が考えられ検討する余地があろう。

## 文献

- 1) 宮本寛治ら：成人 T 細胞性白血病ウイルス抗体検出法としてのゼラチン粒子凝集法における 1 つの問題 - cut off 値に関して：医学のあゆみ、134, 377, 1985



a

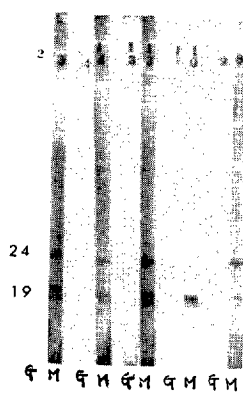


b

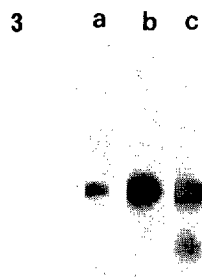


IgM

a



b



図の説明

図1. ELISA 法で陽性と出た妊婦血清の Western blot法.

妊婦 1~9、S は血清、C は臍帯血清

a:日本バイオラドストリップ

b:富士レビオストリップ

図2. PA 法 (+) で x128 倍以上、IF 法 (-) の血清 (健康人)

a:日本バイオラドストリップ

全て IgM 抗体陰性

b:富士レビオストリップ

IgM 抗体陽性、P19、P24

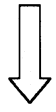
IgG 抗体陰性 (IgM 抗体陽性の検体)

図3. PCR 法 (健康人)

a: PA 法 (+)、IF 法 (-)

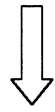
b: PA 法 (+)、IF 法 (+)

c: ATL 患者由来株 MT-1



## 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:ゼラチン粒子凝集法(PA法)で陽性、間接蛍光抗体法(IF法)で陰性として判定された検体の血清及びリンパ球について Western blot 法、co-culture 法による抗原誘導及び酵素的遺伝子増幅法(PCR法)による HTLV-1 ゲノムの分析について検討した。その結果 PCR 法で PA 法(+)、IF 法(-)4 例中 1 例で増幅された virus 遺伝子が検出された。他の方法では陰性であった。PA 法(+)(x128 倍以上)、IF 法(-)の検体について Western blot 法をおこなった。その結果、富士レビオの膜では P19、P24IgM 抗体が検出されたが、日本バイオラドの膜では陰性であった。また ELISA 法(エーザイ社)で陽性と出た検体の妊婦について Western blot 法について検討した。結果は陽性であったが band pattern が膜によって異なっていた。陽性コントロールとして IF 法(+)の血清及びリンパ球を用いて Western blot 法、co-culture 法による抗原誘導、PCR 法をおこなったが全て陽性であった。