

川崎病の病因ウイルスの分離の試み (分担研究：川崎病の病因ウイルスの探求)

佐川公矯^{*}, 片桐和子^{*}, 横山三男^{*}
島津圭子^{**}, 佐藤 登^{**}, 井上 治^{**}, 加藤裕久^{**}

要約 川崎病の病因ウイルスを分離することを目的として、58例の川崎病の急性期の患者および17例の対照者より末梢血の単核球を分離し、細胞株およびヒト臍帯血の単核球との混合培養を行なった。この混合培養細胞について、cytopathic effectsの観察、逆転写酵素活性の測定、蛍光抗体法によるウイルス関連抗原の同定、および電顕的解析を行ったが、現在までのところ、明確な病因ウイルスの分離および固定はできなかった。

見出し語：川崎病，ウイルス分離，リンパ球の混合培養，逆転写酵素活性

研究目的・方法 川崎病の病原体はウイルスであると想定し、その病因ウイルスを分離・同定することを目的とした。

急性期の川崎病患者(58名) および対照者(17名)の末梢血より分離した単核球を、PHA-P, IL-2 および polybreneの存在下に5日間培養し、続いて、ヒトT細胞性白血病細胞株であるH9細胞またはMOLT-4 clone8細胞，あるいはヒト臍帯血の単核球と混合培養した。混合培養系にはIL-2とpolybreneを加え、2～4

週間培養を継続し、その培養細胞について、1) cytopathic effectsの観察、2) 固定した培養細胞の塗抹標本を標的として、川崎病患者の回復期血清を一次抗体とした間接蛍光抗体法によるウイルス関連抗原の同定、3) 電顕的解析によるウイルス粒子の同定、4) 培養上清中の逆転写酵素活性の測定によるレトロウイルスの同定、の4項目の検索を実施した。

結果 まずcytopathic effects についての

表1 混合培養したH9細胞に対するcytopathic effects

	tested cases	cytopathic effects	
		inverted microscope	M-G stain
Kawasaki disease	19	negative	negative
Control	9	negative	negative

久留米大学免疫^{*} (Dept, of Immunology, Kurume Univ.)

久留米大学小児科^{**} (Dept, of Pediatrics, Kurume Univ.)

結果は表1に示したとおりである。合計28例の症例に関しては、培養顕微鏡による生きた細胞の観察と、塗抹標本をMay-giemsa染色し光学顕微鏡的観察の両者を実施したが、明瞭な cytopathic effects は認められなかった。

逆転写酵素活性については、表2に示すように陽性例も見られたが、対照との差は認められなかった。しかも、陽性と判定された例はすべて弱陽性であり、検索を繰り返すと陰性となった。

間接蛍光抗体法によるウイルス関連抗原の検索

表2 混合培養の培養上清中の逆転写酵素活性

	tested cases	positive cases	% positive cases
Kawasaki disease	19	3	16
Control	9	2	22

では、表3に示すように、川崎病例で9例の陽性例が観察されたが、これらの例も、培養を継続して検索を繰り返すと reproducible な結果が得られず、最終的には陰性と判定された。

電顕的観察では、川崎病患者の単核球とH9細胞との混合培養例の限られた一部の例で、図1に示すような virus-like particles が観察された。しかし現在までのところ、川崎病の病因ウイルスと断定できる証拠はそろっていない。

胞との混合培養例の限られた一部の例で、図1に示すような virus-like particles が観察された。しかし現在までのところ、川崎病の病因ウイルスと断定できる証拠はそろっていない。

表3 間接蛍光抗体法による川崎病の病因ウイルスの関連抗原の同定

	tested cases	negative cases	positive cases	undeterminable cases
Kawasaki disease	58	42	9	7
Control	17	17	0	0

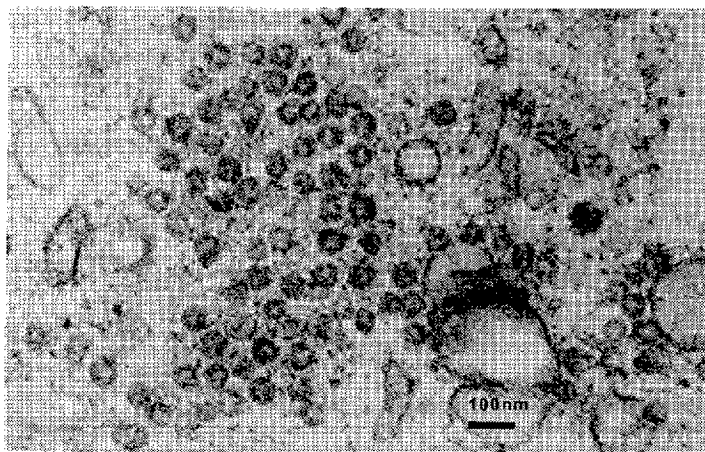


図1 川崎病患者の単核球と混合培養したH9細胞の細胞質内に認められたウイルス様粒子

考察 現在までのところ、当初の目的である病因ウイルスの分離には成功していないし、レトロウイルスの関与についても否定的な結果しか得られていない。

病因ウイルスの分離を成功させるためには、患者より得られる検索材料、採取時期、およびウイルス分離の方法に関して再検討を加え、新しいプロトコールで実験を継続していきたい。

文 献

1. 佐川公矯, 片桐和子, 守川俊英, 横山三男, 古賀優子, 富田尚文, 井上治, 藤本保, 加藤裕久, 川崎病患者血清の retrovirus に対する抗体活性の検討, Prog.Med.7:39-43, 1987.
2. 加藤裕久, 古賀優子, 井上治, 藤本保, 富田尚文, 佐川公矯, 片桐和子, 横山三男, 服部俊夫, 小糸厚, 川崎病の病因検索, レトロウイルス関与の可能性. MCLS(川崎病)の病因並びに病態解明に関する総合研究, 研究成果報告書(研究代表者 鴨下重彦) P221-223, 1987.

Abstract

Attempts to Isolate the Etiological Virus of Kawasaki Disease

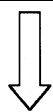
Kimitaka Sagawa, Kazuko Katagiri, Mitsuo Yokoyama, Keiko Shimazu, Noboru Sato, Osamu Inoue, and Hirohisa Kato.

Attempts were made to isolate the etiological virus of Kawasaki disease in co-cultivation system.

Mononuclear leucocytes separated from the peripheral blood of the patients with Kawasaki disease in the acute stage, and the control donors, were first cultivated in complete tissue culture medium supplemented with PHA-P, IL-2 and polybrene, for 5 days in the CO₂ incubator atmosphere. Those cultured mononuclear cells were next co-cultivated with human established cell line cells (H9, or MOLT-4 clone 8) and human cord blood mononuclear cells for 2 to 4 weeks. On the co-cultured cells, cytopathic effects, virus associated antigens detected by indirect immunofluorescence methods using patients sera in the convalescent stage as primary reagents, and electron microscopic analysis were studied. Reverse transcriptase activity of culture supernatant was also examined.

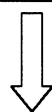
Fifty eight cases of Kawasaki disease and 17 cases of control donors were thus studied. No significant cytopathic effects were observed. In indirect immunofluorescence study, 9 cases of Kawasaki disease were found to be weakly positive. However, negative results were disclosed by repeated tests. The distinct etiological virus particles have not been observed yet by electron microscope. There were no significant differences in reverse transcriptase activities between Kawasaki disease cases and control cases.

So far we have not successfully isolated the etiological virus of Kawasaki disease.



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 川崎病の病因ウイルスを分離することを目的として,58 例の川崎病の急性期の患者および 17 例の対照者より末梢血の単核球を分離し,細胞株およびヒト臍帯血の単核球との混合培養を行なった。この混合培養細胞について,cytopathic effects の観察,逆転写酵素活性の測定,蛍光抗体法によるウイルス関連抗原の同定,および電顕的解析を行ったが,現在までのところ,明確な病因ウイルスの分離および固定はできなかった。