

糸球体腎炎患者における尿中 IL-6 活性測定法の確立

奈良県立医科大学第1内科学教室

平田英二, 岩野正之, 平山俊英
堀井康弘, 小川修二, 岸本匡司
北村嘉三, 土肥和紘, 石川兵衛

MEASUREMENT OF URINARY IL-6 IN HUMAN CHRONIC GLOMERULONEPHRITIS

EIJI HIRATA, MASAYUKI IWANO, TOSHIHIDE HIRAYAMA, YASUHIRO HORII,
SHUJI OGAWA, TADASHI KISHIMOTO, YOSHIZO KITAMURA,
KAZUHIRO DOHI and HYOE ISHIKAWA

The First Department of Internal Medicine, Nara Medical University

Received November 27, 1992

Summary: IL-6 is closely associated with the pathogenesis of human mesangial proliferative glomerulonephritis(mesPGN). We have previously shown that the measurement of urinary IL-6 is a helpful tool for monitoring the progression of IgA nephropathy. In this study, IL-6 activity of both 24-hour urine and spot urine from the same patients was measured to determine which urine sample functions better as a sample for the measurement of urinary IL-6.

Urine samples were collected from 131 patients with primary and secondary glomerular diseases followed at Nara Medical University Hospital. Spot urine samples were collected and stored immediately at -20°C until use. Twenty-four-hour urine samples were collected at room temperature and also stored at -20°C until use. Urinary IL-6 was measured by using IL-6 dependent hybridoma clone, MH60.BSF2, as well as enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA).

When the spot urine was used for the measurement of IL-6, IL-6 activity became undetectable in 15 out of 20 patients, while 24-hour urine samples from all 20 patients showed significant IL-6 activity. In addition, urinary IL-6 activity was not diminished by 24-hour storage of urine samples at room temperature. These data indicate that IL-6 was not excreted continuously. Thus, the 24-hour urine sample was a better sample for the measurement of urinary IL-6. The levels of urinary IL-6 measured by using MH60.BSF2 were positively correlated with those measured by ELISA system. However, urinary IL-6 in about 53% of patients whose urinary IL-6 activity could be determined by using MH60.BSF2 became undetectable when using ELISA system.

As a sample for the measurement of urinary IL-6, we should use the 24-hour urine sample. Urinary IL-6 could be measured easily by using ELISA system.

Index Terms

IgA nephropathy, IL-6, Mesangial proliferative glomerulonephritis, SLE

緒 言

インターロイキン 6(IL-6)は、生体の免疫応答、細胞の増殖分化および急性期蛋白の誘導に関与する多機能の生物活性化因子である¹⁻⁸⁾。また、IL-6 は、1)ラットおよびマウス培養メサンギウム細胞の autocrine growth factor (自己分泌増殖因子)であること⁹⁻¹¹⁾、2)メサンギウム増殖性糸球体腎炎(mesPGN)患者の尿中に IL-6 活性が認められること、3)尿中 IL-6 活性がメサンギウム増生と正相関を示すこと⁹⁻¹⁰⁾、4)mesPGN 患者の糸球体メサンギウム域に IL-6 の局在が認められていることから、mesPGN の発症・進展に関与していることが示唆されている^{9,12-15)}。さらに著者ら¹⁶⁾は、尿中 IL-6 活性の経時的測定が IgA 腎症の活動性の指標として有用であることを報告してきた。

成人発症糸球体腎炎の過半数を占める IgA 腎症は約 20%の症例が腎不全に至るとされており、活動性を正確に把握することが治療方針決定に重要である。しかし IgA 腎症の予後判定は腎生検所見に頼らざるを得ないのが現状といえる。また腎生検所見と臨床経過が一致しない症例も少なからず存在することも知られている。したがって、非侵襲的で簡便かつ正確な予後判定指標の開発が期待されるわけであり、著者らは前述の成績^{9,11,13-16)}から尿中 IL-6 活性の測定が有望と考えている。

そこで今回、著者らは一般臨床での尿中 IL-6 測定法の確立を目的として、尿検体採取法ならびに IL-6 測定法について検討を加えた。

対象と方法

1. 対象

対象は、奈良県立医科大学第 1 内科およびその関連病院において腎生検を施行し、クレアチニンクリアランスが 70 ml/分以上の mesPGN 患者 98 例、その他の原発性糸球体腎炎患者 13 例、全身性エリテマトーデス(SLE)患者 20 例の計 131 例である。健常対照には健常成人 18 例を選んだ。その他の原発性糸球体腎炎患者 13 例の内訳は、微小変化型ネフローゼ症候群(MCNS)患者 2 例、巣状糸球体硬化症(FGS)患者 6 例、膜性腎症(MN)患者 5 例である。対象および対照の性別と年齢は Table 1 に示すとおりである。なお mesPGN はメサンギウム増生の程度により、腎生検で得られた糸球体の約半数以上が係蹄腔の狭細化を示さない I 群と、糸球体の約半数以上が係蹄腔の狭細化を示す II 群に分類した¹⁶⁾。

2. 方法

(1) 測定用尿検体の準備

Table 1. Subjects

Renal histology	M/F	Age(mean)
mesPGN	50/48	13-62(37)
mild	20/18	13-62(36)
moderate	30/30	13-59(37)
other GN	3/10	16-65(37)
MCNS ^a	0/2	16-17(16.5)
FGS ^b	2/4	19-62(35)
MN ^c	1/4	26-63(47)
LN ^d	1/19	15-65(36)
WHOII	0/7	18-62(36)
WHOI	0/1	28
WHOIV	1/8	15-65(38)
WHOV	0/3	24-36(31)
control	9/9	24-38(29)

a : minimal change nephrotic syndrome,

b : focal glomerular sclerosis,

c : membranous nephropathy,

d : lupus nephritis

24 時間尿と随時尿：今回の検討では、治療開始前の任意の 1 日に室温で 24 時間蓄尿したものを 24 時間尿、別の日の任意時刻に採取したものを随時尿とした。検体は、採取後、0.01 M リン酸緩衝液(PBS；日本製薬社製)で 2 時間づつ 2 回透析し、さらに RPMI 1640(日本製薬社製)で 1 時間透析した。これを 0.45 μ m のフィルターで濾過し、-20℃に測定直前まで保存した。

凍結保存 24 時間尿と室温保存 24 時間尿：入院中の mesPGN 患者 18 例を対象に、24 時間尿について、排尿ごとに尿量を測定した後に、1/10 量を凍結保存し(凍結保存分画尿)、9/10 量を室温で保存した(室温保存分画尿)。

1 日尿中 IL-6 排泄動態と 24 時間尿中 IL-6 排泄量：凍結保存尿と室温保存尿の各分画についてそれぞれの IL-6 活性を測定し、各分画尿量を積算することによって 1 日間の尿中 IL-6 排泄動態と 24 時間尿中 IL-6 排泄量を求めた。24 時間尿中 IL-6 排泄量については、さらに、凍結保存尿と室温保存尿の 24 時間尿中 IL-6 排泄量を比較し、24 時間尿における IL-6 活性の安定性を検討した。

尿中 IL-6 活性の再測定：mesPGN の 4 例について、IL-6 活性測定済みの尿検体を 37℃で 24 時間放置した後、再度 IL-6 活性を測定して尿中 IL-6 活性の安定性を検討した。

(2) 測定法

1) IL-6 依存性細胞株による生物活性測定法

IL-6 依存性細胞株の MH 60. BSF 2 細胞(大阪大学医学部、平野俊夫教授より供与)を RPMI 1640 培養液で 2

回洗浄後、同細胞数が 5×10^4 個/mlの細胞数になるように調整して培養液に浮遊させた。使用した培養液は、RPMI 1640に10%ウシ胎児血清(FCS; GIBCO社製)、 5×10^{-5} Mの2-メルカプトエタノール(ナカライテスク社製)、100単位/mlのペニシリンG(明治製薬社製)、100 μ g/mlのストレプトマイシン(明治製薬社製)を加えたものである。200 pg/mlの濃度から倍々希釈したリコンビナントIL-6(rIL-6)(大阪大学医学部、平野俊夫教授より供与)あるいは検体をMH60.BSF2細胞とともに96穴平底プレート(200 μ l/ウエル)に添加後、5%CO₂、37°Cの条件下で48時間培養した。培養終了4時間前にMTT[3-(4,5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2-H tetrazolium bromide](同仁化学社製)を10 μ l/ウエル加えた。培養終了後、各ウエルに0.04 N塩酸-インプロパノール液を添加し十分に攪拌後、イムノリーダ(ラボサイエンス社製)を用いて各ウエルのOD 570 nmにおける吸光度を測定した。検体のIL-6活性は既知濃度のrIL-6を用いて作成した標準曲線から算出した^{17),18)}。本法によるIL-6活性の検出感度は5 pg/ml以上であった。

2) ELISA 法

IL-6測定用ELISAキット(富士レビオ社製)を用いて測定した^{19,20)}。検体のIL-6活性は、既知濃度のrIL-6を用いて作成した標準曲線から算出した。本法によるIL-6の検出感度は生物活性測定法と同等の5 pg/ml以上であった。

(3) 推計学的処理

推計学的処理は、Wilcoxonの順位和検定およびSpearmanの順位相関係数に拠った。本文中の測定値は中央値(第1四分位数, 第3四分位数)で表した。

成 績

1. 尿中IL-6活性測定用の検体に関する検討

(1) 24時間尿と随時尿の比較

24時間尿と随時尿の尿中IL-6活性について生物活性法を用いて比較した。24時間尿について測定した尿中IL-6活性は、mesPGN患者98例中48例に検出された。この48例の中から任意に20例を抽出し、随時尿のIL-6活性を測定したが、IL-6活性は、20例中15例(75%)において測定感度以下であった(Fig. 1)。

(2) 尿中IL-6排泄動態

入院中のmesPGN患者18例を対象に、1日間におけるIL-6の尿中排泄動態を生物活性法で検討した。IL-6の尿中排泄パターンは、Fig. 2に図示したように、IL-6の尿中排泄が持続性の症例(Fig. 2, Upper; 43歳, 女性, II群), 間欠的の症例(Fig. 2, Lower; 35歳, 男性,

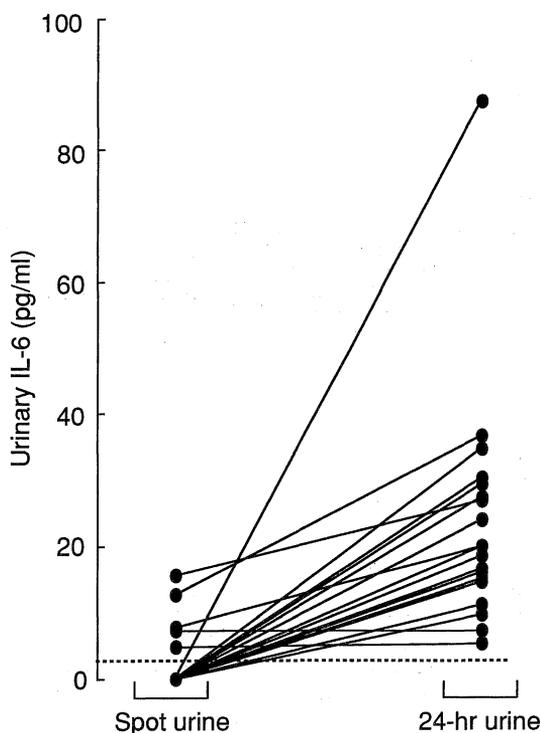


Fig. 1. IL-6 activity of 24-hr urine and spot urine. IL-6 activity in spot urine became undetectable in 15 out of 20 patients, while, 24-hour urine samples from all 20 patients showed significant IL-6.

I群)および尿中排泄のみられない症例の3型に分かれた。IL-6が持続性排泄を示した症例は7例(I群:4例, II群:3例), 間欠的排泄を示した症例は7例(I群:3例, II群:4例), 排泄されなかった症例は4例(I群:2例, II群:2例)であった。つまり、尿中IL-6の排泄動態は、メサンギウム増生と一定の関係を示さなかったことになる。

(3) 尿の保存方法とIL-6活性の安定性

1) 24時間尿中IL-6活性の安定性

24時間尿中IL-6活性の安定性を生物活性法によって検討した。Fig. 3に示すように、室温保存24時間尿について積算した24時間尿中IL-6排泄量は、凍結保存分画尿のIL-6活性値と尿量から積算して求めた24時間尿中IL-6排泄量と強い正相関を示した($r=0.89$, $p < 0.001$)。

2) 37°C24時間放置後の尿中IL-6活性の安定性

mesPGN患者4例から得た尿検体をIL-6活性測定後、凍結保存したものと、37°Cで24時間放置して再度IL-6活性を測定したものとで比較すると、後者のIL-6

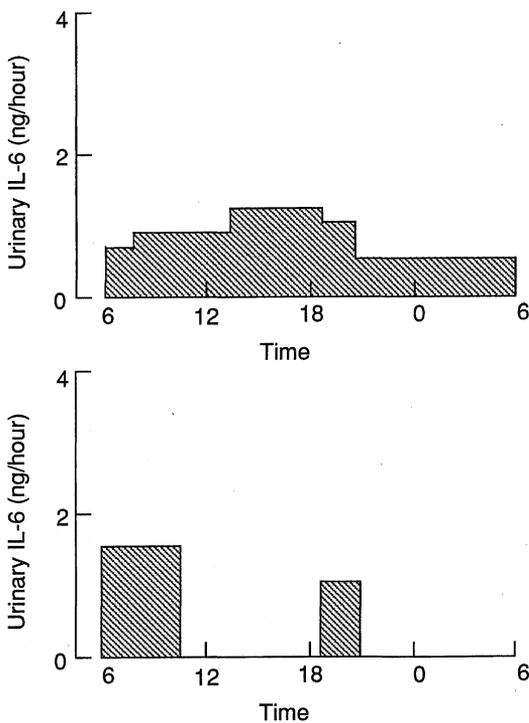


Fig. 2. Pattern of urinary IL-6 excretion. Upper ; IL-6 was excreted continuously. Lower ; IL-6 was excreted uncontinuously.

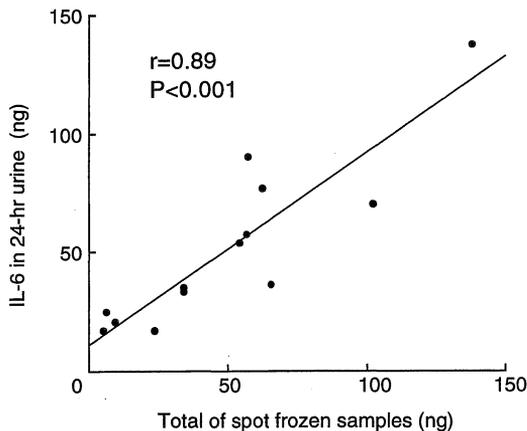


Fig. 3. IL-6 activity in 24-hr urine samples and total of spot frozen samples. IL-6 activity in 24-hr urine samples was positively correlated with that in total of spot frozen samples.

活性値は凍結保存尿の IL-6 活性値を 100 % として 90 % 以上 (91 %, 94 %, 95 %, 97 %) であった。

2. 糸球体腎炎患者における尿中 IL-6 活性

糸球体腎炎患者における尿中 IL-6 活性を生物活性法

によって測定した。健常対照群の尿中 IL-6 活性は、全例において測定感度以下であった。mesPGN については、IL-6 活性は、I 群では 38 例中 15 例 (39 %)、II 群では 60 例中 33 例 (55 %) で検出された。IL-6 活性の中央値 (第 1 四分位数, 第 3 四分位数) は、I 群が 5 ng 以下/日 (<5 ng/日, 9.1 ng/日)、II 群が 10.9 ng/日 (<5 ng/日, 26.6 ng/日) であり、2 群間に有意差 ($p < 0.05$) が認められた。

その他の原発性糸球体腎炎では、尿中 IL-6 活性が 13 例中 6 例 (46 %) に検出されており、IL-6 活性の中央値は 5 ng/日以下 (<5 ng/日, 24.8 ng/日) であった。なお MCNS 2 例中 2 例 (100 %), FGS 6 例中 2 例 (33 %), MN 5 例中 2 例 (40 %) において尿中 IL-6 活性が検出された。

SLE については、WHO IV 型と WHO II・III・V 型に分けて尿中 IL-6 活性を検討した。WHO IV 型の尿中 IL-6 活性の中央値は、87.0 ng/日 (40.0 ng/日, 119.6 ng/日) であり、WHO II・III・V 型の 7.8 ng/日 (6.1 ng/日, 13.3 ng/日) に比して有意に高値を示した ($p < 0.01$) (Fig. 4)。

3. 生物活性法と ELISA 法の比較

今回対象とした 131 例の 24 時間尿検体の中から 112 検体 (mesPGN 患者 86 検体, その他の原発性糸球体腎炎患者 6 検体, SLE 患者 20 検体) を任意に抽出し、ELISA 法を用いて尿中 IL-6 を測定した。生物活性法で得られた IL-6 活性値と ELISA 法で得られた値の間には低い有意の正相関が認められた ($r = 0.54, p < 0.01$) (Fig. 5)。また 112 検体中、34 検体 (mesPGM 患者 23 検体, その他の原発性糸球体腎炎患者 1 検体, SLE 患者 10 検体) の IL-6 活性は生物活性法と ELISA 法の両法で検出されたが、38 検体 (mesPGN 患者 25 検体, その他の原発性糸球体腎炎患者 4 検体, SLE 患者 9 検体) は生物活性法で検出されたにすぎず、40 検体 (mesPGN 患者 38 検体, その他の原発性糸球体腎炎患者 1 検体, SLE 患者 1 検体) は両法とも測定感度以下であった。なお IL-6 活性が ELISA 法で検出されるが、生物活性法で検出されないという検体は存在しなかった (Fig. 6)。

考 察

1. 随時尿と 24 時間尿における尿中 IL-6 活性の比較

本研究の成績からみると、24 時間尿で尿中 IL-6 活性が検出される症例でも、随時尿については、採尿時刻によって測定感度以下になる可能性が明らかになった。尿中 IL-6 の排泄が、Fig. 2 に示したように、間欠的に行われる症例が多数含まれるからである。24 時間蓄尿の一部を用いて求めた 24 時間 IL-6 排泄量は、排尿ごとにその

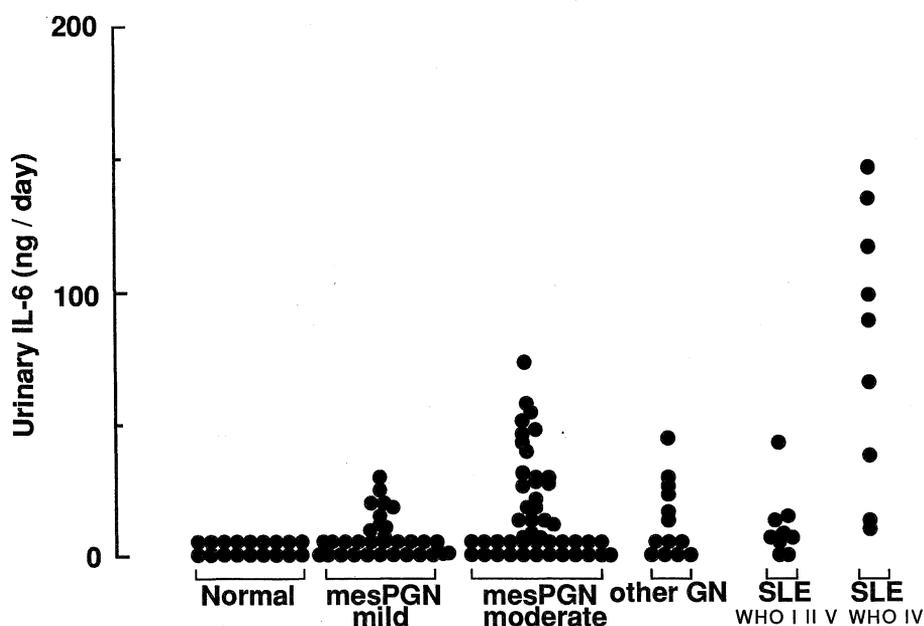


Fig. 4. Urinary IL-6 in patients with various kinds of glomerulonephritis. Urinary IL-6 activity was detected in various kinds of glomerulonephritis. In patients with mesPGN and lupus nephritis, the level of IL-6 activity was positively correlated with the degree of mesangial proliferation.

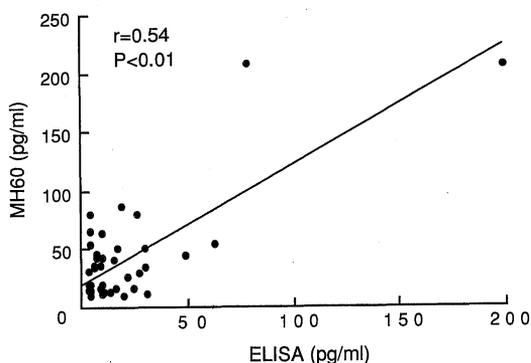


Fig. 5. Correlation between urinary IL-6 measured by MH60, BSF2 and ELISA.

一部を凍結保存して求めた24時間IL-6排泄量と強い正相関を示すこと、また尿中IL-6活性は尿検体を室温に24時間放置しても、37℃で24時間放置した場合でも、失活せずに安定していたことから、24時間尿中IL-6活性は安定性が高いと考えられる。以上のことから、糸球体腎炎患者の尿中IL-6活性は、24時間蓄尿した検体を用いて測定するのが実用的といえる。

2. 糸球体腎炎患者における尿中IL-6活性

すでに著者らは、mesPGN患者の随時尿中にIL-6活性が認められること、尿中IL-6活性がメサンギウム増

生の程度と正相関を示すことを明らかにしている^{9,11,13-16}。今回は、糸球体腎炎患者における尿中IL-6活性を24時間尿で検討した。今回の検討でも、mesPGN患者ではメサンギウム増生の進展とともに尿中IL-6活性は有意の上昇を示した。加えてSLE患者では高度のメサンギウム増生を呈するWHO IV型がWHO II・III・V型に比して有意に高値の尿中IL-6活性を示したことから、尿中IL-6活性はメサンギウム増生の指標になると考えられる。

著者ら¹²⁾は、MCNS 19例中19例(100%)およびMN 27例中25例(93%)で尿中IL-6活性は認められなかったことを報告した。しかし、今回の成績では、対象例数が少ないが、MCNS 2例中2例(100%)、MN 5例中2例(40%)で尿中IL-6活性が検出された。この相違は、前回の成績が随時尿を用いたことによると考えられる。またMCNS、FGSおよびMNなどのメサンギウム増生を示さない糸球体腎炎患者にも尿中IL-6活性が検出されたことから、尿中IL-6活性は、メサンギウム細胞での産生以外に、尿細管上皮での産生や糸球体基底膜における蛋白透過性の亢進などによっても規定されるものと推測される。

著者らは、尿中IL-6活性の経時的測定がmesPGN患者の経過観察に有用な指標となること、ループス腎炎

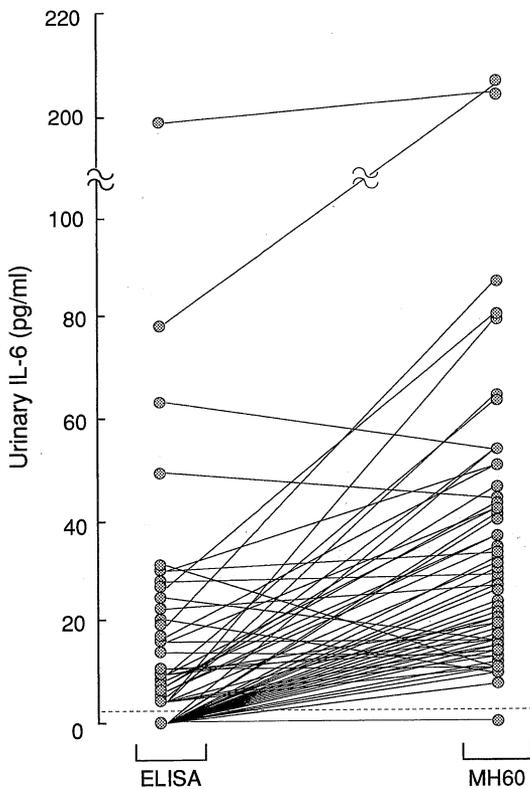


Fig. 6. Urinary IL-6 by using ELISA and MH60. BSF2. When using ELISA, IL-6 activity became undetectable in 38 out of 72 patients.

(LN)の予後判定因子として有用であることをすでに報告している²¹⁾。今後は、尿中IL-6活性がmesPGNやLNに対する治療の有効性を判定する手段になり得るか否かを検討する必要があると思われる。

3. 生物活性法とELISA法の比較

今回の検討では、生物活性法による測定で尿中IL-6活性が検出された症例は検討症例の131例中72例(55%)であったが、ELISA法による測定ではこの72例中38例(53%)が測定感度以下であった。この原因として、1)IL-6依存性細胞株であるMH60. BSF2がIL-6以外の未知の因子によって増殖誘導される、2)ELISA法における抗原抗体反応に対する阻害物質が尿中に存在する、などの理由が考えられる。しかし、IL-6活性の測定感度は生物活性法とELISA法が同等であること、IL-6活性値は生物活性法による値とELISA法による値の両者間に正相関が認められたことから、ELISA法も尿中IL-6測定に利用可能であると判断してよいようである。加えてELISA法は、簡便であることと測定時間が短いことなどの利点を持っている。今後もELISA法によるIL-6

測定の臨床応用について検討を重ねる必要があると思われる。

結 論

1. IL-6の尿中排泄動態からみて、尿中IL-6活性測定用の検体には24時間尿が優れており、尿検体は室温保存でIL-6の失活をみない。
2. mesPGNでは、メサンギウム増生の程度と尿中IL-6活性の上昇が相関した。SLEについては、WHO II型、III型およびV型に比し、WHO IV型で尿中IL-6活性の上昇が著しい。
3. 尿中IL-6活性値はELISA法と生物活性法の間で正相関を示した。尿中IL-6活性の測定にはELISA法の臨床応用が可能と思われる。

本論文の要旨は第20回日本腎臓学会西部部会(1990年4月、岡山)、第34回日本腎臓学会総会(1991年11月、岡山)、第9回アジア腎臓コロキウム(1992年5月、ソウル)において発表した。

文 献

- 1) Hirano, T., Yasukawa, K., Harada, H., Taga, T., Watanabe, Y., Matsuda, T., Kishiwamura, S., Nakajima, K., Koyama, K., Iwamatsu, A., Tsunasawa, S., Sakiyama, F., Matsui, H., Takahara, Y., Taniguchi, T. and Kishimoto, T. : Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature* **324** : 73, 1986.
- 2) Andus, T., Geiger, T., Hirano, T., Northoff, H., Ganter, U., Bauer, J., Kishimoto, T. and Heinrich, P. C. : Recombinant human B cell stimulatory factor 2 (BSF-2/IFN- β 2) regulates β -fibrinogen and albumin mRNA levels in Fao-9 cells. *FEBS. Lett.* **211** : 18, 1987.
- 3) Muraguchi, A., Hirano, T., Tang, B., Matsuda, T., Horii, Y., Nakajima, K. and Kishimoto, T. : The essential role of B cell stimulatory factor 2 (BSF-2/IL-6) for the terminal differentiation of B cells. *J. Exp. Med.* **167** : 332, 1988.
- 4) Lotz, M., Jirik, F., Kabouridis, P., Tsoukas, C., Hirano, T., Kishimoto, T. and Carson, D. A. : B cell stimulating factor 2/Interleukin 6 is a costimulant for human thymocytes and T lymphocytes. *J. Exp. Med.* **167** : 1253, 1988.

- 5) **Hirano, T. and Kishimoto, T.** : in Handbook of experimental pharmacology, Interleukin-6. Peptide growth factors and their receptors I (Sporn, M. B., Roberts, A. B., eds.). vol. 95, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, NewYork, London, Paris, Tokyo, HongKong, p 633, 1990.
- 6) **松田 正** : IL-6 の機能多様性と疾患とのかかわり. 臨床科学 26 : 1115, 1990.
- 7) **岩野正之, 松田 正, 堀井康弘, 平野俊夫** : IL-6 とその臨床的側面. Medical Immunol. 18 : 568, 1989.
- 8) **Suematsu, S., Matsuda, T., Aozasa, K., Akira, S., Nakano, N., Ohno, S., Miyazaki, J., Yamamura, K., Hirano, T. and Kishimoto, T.** : IgG1 plasmacytosis in interleukin 6 transgenic mice. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 86 : 7547, 1989.
- 9) **Horii, Y., Muraguchi, A., Iwano, M., Matsuda, T., Hirayama, T., Yamada, H., Fujii, Y., Dohi, K., Ishikawa, H., Ohmoto, Y., Yoshizaki, K., Hirano, T. and Kishimoto, T.** : Involvement of IL-6 in mesangial proliferative glomerulonephritis. J. Immunol. 143 : 3949, 1989.
- 10) **Ruef, C., Budde, K., Lacy, J., Northemann, W., Baumann, M., Sterzel, R. B. and Coleman, D. L.** : Interleukin 6 is an autocrine growth factor for mesangial cells. Kidney Int. 38 : 249, 1990.
- 11) **Iwano, M., Dohi, K., Hirata, E., Horii, Y., Shiiki, H. and Ishikawa, H.** : Induction of interleukin 6 synthesis in mouse glomeruli and cultured mesangial cells. Nephron 62 : 58, 1992.
- 12) **Fukatsu, A., Matsuo, S., Tamai, H., Sakamoto, N., Matsuda, T. and Hirano, T.** : Distribution of interleukin-6 in normal and diseased human kidney. Lab. Invest. 65 : 61, 1991.
- 13) **岩野正之, 堀井康弘, 土肥和紘** : メサングウム増殖性腎炎とサイトカイン. 臨床科学 27 : 1215, 1991.
- 14) **岩野正之, 堀井康弘, 平野俊夫** : メサングウム細胞の増殖とIL-6. 腎と透析 28 : 79, 1990.
- 15) **岩野正之, 堀井康弘, 土肥和紘** : IL-6 トランスジェニックマウス. 腎と透析 31 : 348, 1991.
- 16) **Dohi, K., Iwano, M., Muraguchi, A., Horii, Y., Hirayama, T., Ogawa, S., Shiiki, H., Hirano, T., Kishimoto, T. and Ishikawa, H.** : The prognostic significance of urinary interleukin 6 in IgA nephropathy. Clin. Nephrol. 35 : 1, 1991.
- 17) **Matsuda, T., Hirano, T. and Kishimoto, T.** : Establishment of an interleukin 6 (IL-6)/B cell stimulatory factor 2-dependent cell line and preparation of anti-IL 6 monoclonal antibodies. Eur. J. Immunol. 18 : 951, 1988.
- 18) **Mosmann, T. R.** : Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival ; application to proliferation and cytotoxicity assays. J. Immunol. Methods 65 : 55, 1983.
- 19) **谷内江昭宏, 太田和秀, 上野康尚, 大木徹郎, 干場勉, 矢吹朗彦, 宮脇利男, 谷口 昂** : 急性炎症反応の指標としての小児血中IL-6 濃度の定量 : ELISA法を用いた検討. 日児誌. 96 : 110, 1992.
- 20) **上野康尚, 干場 勉, 矢吹朗彦, 谷内江昭宏, 太田和秀, 宮脇利男, 谷口 昂** : 新生児臍帯血中IL-6 濃度とその臨床的意義について. 日児誌. 96 : 252, 1992.
- 21) **Iwano, M., Hirata, E., Matsumura, N., Kato, K., Horii, Y., Hirayama, T., Ogawa, S., Shiiki, H., Dohi, K. and Ishikawa, H.** : Urinary IL-6 in patients with active systemic lupus erythematosus. J. Am. Soc. Nephrol. 2 : 269, 1991 (Abstract).