

妊娠・分娩時における羊水中 Interleukin-6 および soluble Interleukin-6 Receptor の動態に関する検討

東邦大学医学部第1産科婦人科学教室 (主任: 平川 舜教授)

石 崎 聡 之

A Study on Interleukin-6 and Soluble Interleukin-6 Receptors during Pregnancy and Delivery

Satoshi ISHIZAKI

First Department of Obstetrics and Gynecology, Toho University School of Medicine, Tokyo

(Director : Prof. Shun Hirakawa)

概要 サイトカインと妊娠、分娩との関連性を解明する目的で、Interleukin-6 (IL-6) および soluble Interleukin-6 Receptor (sIL-6R) の妊娠、分娩時における羊水中の変動を測定した。さらに培養羊膜細胞を用いて IL-6 の膜透過性に及ぼす影響についても検討し、以下の成績を得た。

1. 羊水中 IL-6 濃度は早産経陰分娩例 (早産例) では正常産経陰分娩例 (正常産例) に比較し有意な低値 ($p < 0.01$) を示した。
2. 羊水中 IL-6 濃度は、正常産分娩中子宮収縮を伴う経陰分娩例および帝王切開例ではいずれも子宮収縮を伴わない例に比較し有意な高値 ($p < 0.05$) を示した。
3. 羊水中 sIL-6R 濃度は早産例では正常産例に比較し有意な高値 ($p < 0.01$) を示した。
4. 羊水中 sIL-6R 濃度は、正常産分娩中子宮収縮を伴う経陰分娩例および帝王切開例と子宮収縮を伴わない例との間に有意差は認められなかった。
5. 正常産経陰分娩中前期破水例の羊水中 IL-6 濃度は、前期破水を伴わない例に比較し有意な高値 ($p < 0.01$) を示した。また羊水中 sIL-6R 濃度も前期破水例では前期破水を伴わない例に比較して有意な高値 ($p < 0.05$) を示した。
6. 培養羊膜細胞に IL-6 を 10~100 ng/ml 添加し、24 時間後に fluorescein isothiocyanate (FITC) labelled-albumin で透過性を測定した結果、濃度依存的に透過率の上昇 ($r = 0.912$, $p < 0.001$) が認められた。
7. 培養羊膜細胞に 10 ng/ml および 100 ng/ml の IL-6 を添加し経時的に FITC labelled-albumin で透過性を測定したところ、時間経過に対し各々に相関性が認められた [10 ng/ml : $r = 0.779$, $p < 0.01$, 100 ng/ml : $r = 0.804$, $p < 0.001$]。

以上の成績から子宮収縮時および破水時に羊水中 IL-6 濃度が上昇し、また羊水中 sIL-6R 濃度は破水時に上昇することが確認された。さらに IL-6 は培養羊膜細胞の物質透過性の亢進を惹起している成績から、IL-6 が子宮収縮時の羊膜細胞層における物質透過性の亢進に関与する可能性と卵膜の破綻に至る過程で重要な役割を演じている可能性が示唆された。

Synopsis In order to investigate the correlation between uterine contraction and Interleukin-6 (IL-6), we studied the effects of the prenatal course and uterine contraction on IL-6 and the soluble Interleukin-6 receptor (sIL-6R) concentration in human amniotic fluid. We also determined the effects of IL-6 on the permeability of the human amnion cell monolayer.

The results were as follows: 1) The level of IL-6 at full term delivery was significantly higher than that at premature delivery. 2) The level of IL-6 without uterine contraction was significantly ($p < 0.05$) higher than that with uterine contraction. 3) The mean sIL-6R value at full term delivery was 1.28 ± 0.21 ng/ml. There was no correlation between sIL-6R and the prenatal course. 4) IL-6 enhanced permeability in the human amniotic cell monolayer. This effect of IL-6 was concentration

dependent and time dependent. These results show that uterine contractions increased the IL-6 concentration in human amniotic fluid, and suggest that uterine contraction enhanced the permeability of the human amniotic cell in vivo.

Key words: Interleukin-6 (IL-6) • Soluble Interleukin-6 receptor (sIL-6R) • Uterine contraction

緒 言

サイトカインは同一細胞に複数の生物活性を示す一方、同一サイトカインが多数の標的細胞に種々の生物活性を示すこともあり、また複数のサイトカインが同一細胞に対して同じような作用を示すなど、その生物作用は極めて多彩であることが特徴である。

Interleukin-6 (IL-6) は B リンパ球の抗体産生、肝臓における急性期蛋白産生やメガカリオサイトの成熟および血小板産生などの生体防御に関与するサイトカインであり、多機能の生物活性を有することから種々の炎症性疾患や自己免疫疾患などの発症に深く関与していることが明らかにされている。IL-6による細胞内への情報伝達は、IL-6がその結合能を有する分子である soluble Interleukin-6 Receptor (sIL-6R) に結合したのち、IL-6非結合性であるが sIL-6R に親和性を有し情報伝達を担う細胞内分子の gp130 を介して行われることが知られている¹⁾。また sIL-6R は HIV 感染²⁾や多発性骨髄腫^{2,3)}などの免疫不全状態の場合、その濃度が上昇することが判明している。このように種々の生物活性を示す IL-6 が妊娠、分娩に対して、どのように関与しているのかを解明する目的で、今回、分娩直前あるいは破水直後羊水中の IL-6 と sIL-6R を測定し、妊娠の進行あるいは子宮収縮の有無に伴う量的変化について検討し、さらに培養羊膜細胞を用いて、子宮収縮あるいは妊娠の進行と羊膜透過性との関係について検討を行った。

研究対象および方法

1. 研究対象

東邦大学医学部付属大森病院において合併症、既往歴のない羊水穿刺24例、早産5例、正期産54例（未破水例41例、破水例13例）を対象とした。羊水採取時期は羊水穿刺例では妊娠16～19週に採取、早産、正期産未破水例では分娩直前に採取し、正期産破水例では破水直後に採取した。採取され

た羊水は速やかに遠心分離後、測定まで -20°C で凍結保存した。なお前期破水例は母体に感染が既存せず、かつ破水時においても白血球、CRP の上昇を認めない症例を選択した。羊膜採取は正期産予定帝王切開時の卵膜から無菌的に採取した。なお、検体採取に際してはインフォームドコンセントを得た後に行った。

2. 羊水中の IL-6 濃度測定

IL-6 の測定は Shintani et al.⁴⁾の方法に準じ、ELISA 法にて以下のように行った。IL-6 抗体を plate (96 well plate) に固相化し、500pg/ml から 3.9pg/ml までの標準液および適宜希釈したサンプルを 100 μl /well 加え、室温で 2 時間反応させ洗浄した。次に標識抗体 (Alkaline phosphatase 標識抗 IL-6 抗体) を 100 μl /well 添加し、室温で 2 時間静置した後に洗浄した。次に基質 (p-nitrophenyl phosphate) 1mg/ml を 100 μl /well 加え、室温で 50 分間反応させた。最後に反応停止液として 3N NaOH を 100 μl /well 加え、これを吸光度分析器 (Dynatech MR 5000) で分析し 405nm の吸光度を測定し、標準物質の検量線からサンプルの IL-6 濃度を測定した。

3. 羊水中の sIL-6R 濃度測定

IL-6R 抗体を plate (96 well plate) に固相化し、sIL-6R を 50ng/ml から 0.39ng/ml までの標準液および適宜希釈したサンプル 50 μl /well と標識抗体 (Alkaline phosphatase 標識抗 IL-6R 抗体) 50 μl /well を加え、室温で 2 時間反応させ洗浄した。次に基質 (p-nitrophenyl phosphate) 1mg/ml を 100 μl /well 加え、室温で 5～20 分間反応させた。最後に反応停止液 (3N NaOH) を 100 μl /well 加え、これを前記吸光度分析器で分析し、405nm の sIL-6R 濃度を測定した。

4. 羊膜細胞の分離培養

合併症のない正期産予定帝王切開にて得た胎盤より羊膜を無菌的に剝離し、Bennet et al.⁵⁾の方法に準じて羊膜細胞を分離培養した。すなわち羊膜

を Ca^{2+} および Mg^{2+} 不含 Phosphate buffered saline (PBS (-), GIBCO) で十分に洗浄し, 約 1cm 角に細切, 0.05% EDTA (SIGMA) 中で室温20分間処理した後, PBS (-) にて2回洗浄, 次に0.25% dispase (三光純薬) の中で, 37°C 30分間酵素処理した. Stainless steel mesh で濾過後, 1,000rpm 5分間遠沈して得られた細胞沈渣をペニシリン G (100u/ml; GIBCO), ストレプトマイシン (100mg/ml; GIBCO) および10%牛胎仔血清 (大日本製薬) を加え Medium 199 (GIBCO) に浮遊させ, 直径6.5mm のトランスウェル (Costar) に細胞数約 $2 \times 10^5/\text{ml}$ の濃度で播種し 5% CO_2 , 95% air の気相で培養した.

5. 培養羊膜細胞の濃度依存的透過率測定

4. の方法で3日間培養後, 洗浄し, 最終濃度10, 20, 40, 100ng/ml になるように調整した IL-6 と fluorescein isothiocyanate (FITC) labelled-albumin 10mg/ml を上層に加え, 24時間後, 上層および下層培地の530nm での吸光度を測定した.

6. 培養羊膜細胞の経時的透過率測定

4. に準じて3日間培養後, 洗浄し, 10ng/ml および100ng/ml になるように調製した IL-6 と FITC labelled-albumin 10mg/ml を上層に加え, 0, 1, 3, 6, 12, 24時間後, 上層および下層培地の530nm での吸光度を測定した.

7. データの検定法

データの検定は, まず F 検定を行った後, 母分散の等しい場合には t 検定を行い, 母分散の異なる場合には u 検定を行って有意差の有無を評価した.

研究成績

1. 妊娠の進行と羊水中 IL-6 濃度

羊水中 IL-6 濃度は早産経陰分娩例 (早産例) では $0.42 \pm 0.08 \text{ ng/ml}$ であり, 妊娠16~19週羊水穿刺例の $0.46 \pm 0.11 \text{ ng/ml}$ と比較し t 検定では有意差は認められなかった. しかし正期産経陰分娩例 (正期産例) の羊水中 IL-6 濃度 ($1.41 \pm 0.12 \text{ ng/ml}$) は妊娠20週末満羊水穿刺例および早産例に比べ約3倍の有意な高値 ($p < 0.01$: t 検定) を示した (図1).

2. 妊娠の進行と羊水中 sIL-6R 濃度

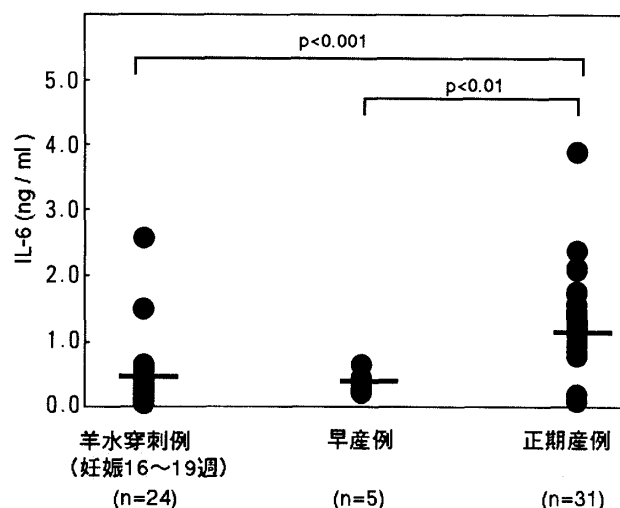


図1 妊娠進行と羊水中 IL-6 濃度

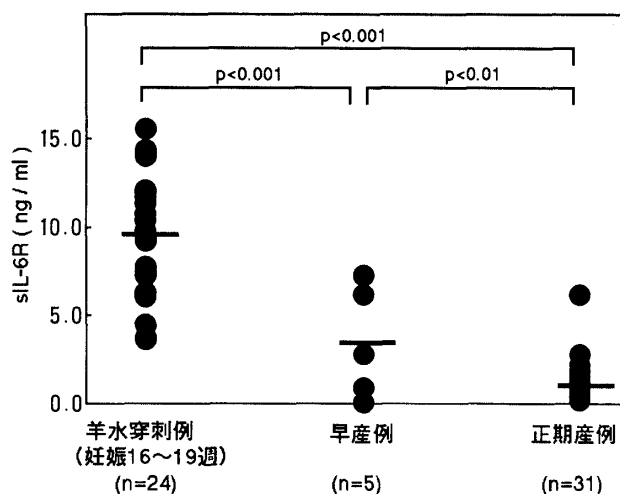


図2 妊娠進行と羊水中 sIL-6R 濃度

羊水中 sIL-6R 濃度は早産例では羊水中 sIL-6R 濃度が $3.58 \pm 1.44 \text{ ng/ml}$ であったのに対し, 正期産例では $1.28 \pm 0.21 \text{ ng/ml}$ と有意な減少 ($p < 0.01$: u 検定) を示した.

また正期産例は妊娠16~19週羊水穿刺例の羊水中 sIL-6R 濃度 ($9.63 \pm 0.68 \text{ ng/ml}$) との間にも著明な減少 ($p < 0.001$: u 検定) が認められたことより, 妊娠週数が進行するにつれ羊水中 sIL-6R 濃度が減少することが確認された (図2).

3. 子宮収縮と羊水中 IL-6 濃度

羊水中 IL-6 濃度は正期産分娩において子宮収縮を伴わない帝王切開例の羊水中 IL-6 濃度は $0.68 \pm 0.09 \text{ ng/ml}$ であるのに対し, 収縮を伴う帝王切開例では $2.49 \pm 1.70 \text{ ng/ml}$ であり, また経陰

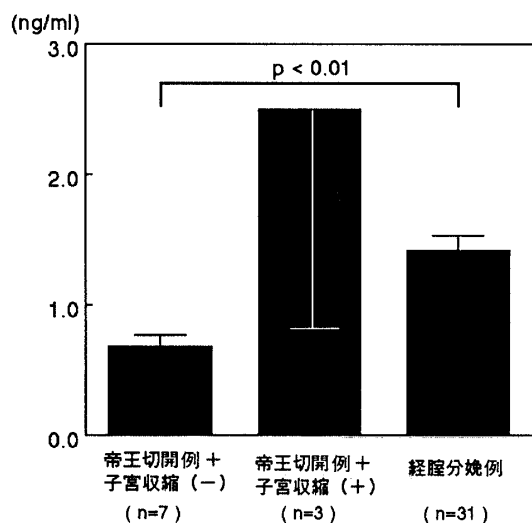


図3 子宮収縮と羊水中 IL-6濃度

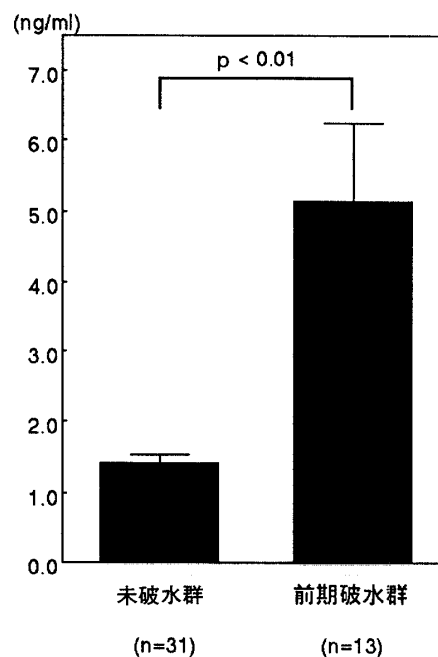


図5 前期破水と羊水中 IL-6濃度

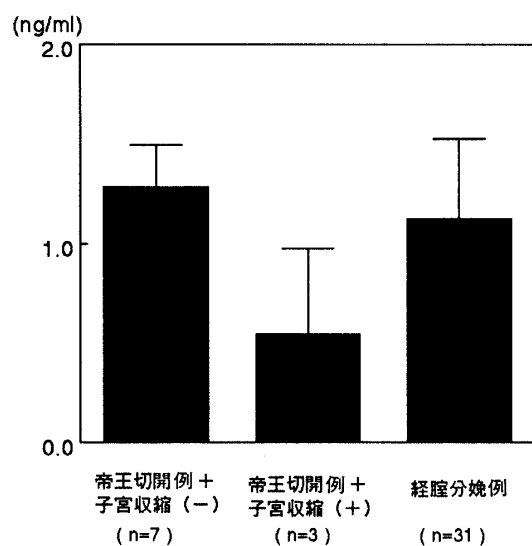


図4 子宮収縮と羊水中 sIL-6R 濃度

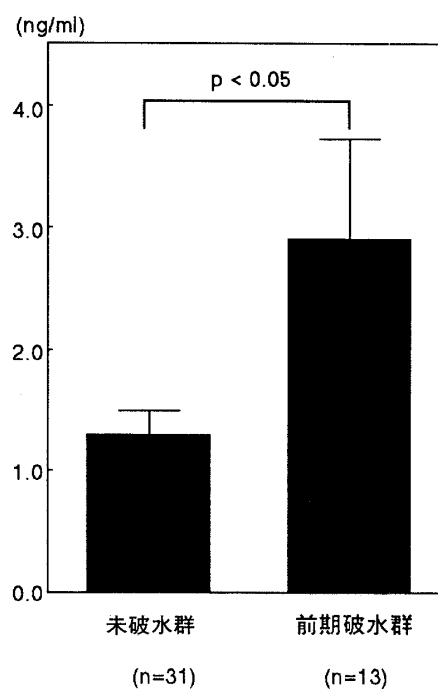


図6 前期破水と羊水中 sIL-6R 濃度

分娩例も $1.41 \pm 0.12 \text{ ng/ml}$ と各々収縮を伴わない例に比較し有意に高値 ($p < 0.01$: u 検定) を示した (図3)。

4. 子宮収縮と羊水中 sIL-6R 濃度

羊水中 sIL-6R 濃度は正期産分娩において経膣分娩例 $1.28 \pm 0.21 \text{ ng/ml}$ ，子宮収縮を伴う帝王切開例 $0.54 \pm 0.43 \text{ ng/ml}$ ，子宮収縮を伴わない帝王切開例は $1.12 \pm 0.41 \text{ ng/ml}$ であり，子宮収縮の有無による羊水中 sIL-6R 濃度の変化には有意差は認められなかった (図4)。

5. 前期破水と羊水中 IL-6濃度

羊水中 IL-6濃度は正期産経膣分娩において前

期破水を伴う例は $5.12 \pm 1.13 \text{ ng/ml}$ であり，前期破水を伴わない例では $1.41 \pm 0.12 \text{ ng/ml}$ と前者で有意な高値 ($p < 0.01$: t 検定) を認めた (図5)。

6. 前期破水と羊水中 sIL-6R 濃度

羊水中 sIL-6R 濃度は正期産経膣分娩において前期破水を伴う例は $2.89 \pm 0.83 \text{ ng/ml}$ であり，前

期破水を伴わない例は $1.28 \pm 0.21 \text{ ng/ml}$ と比べ前者で有意な高値 ($p < 0.05$: t 検定) を示した (図6)。

7. 培養羊膜細胞における IL-6 の影響

1) 濃度依存的変化

羊膜細胞をトランスウェル内に培養し confluent にしたのち、培地中最終濃度 $10 \sim 100 \text{ ng/ml}$ の IL-6 と FITC labelled-albumin 10 mg/ml を上層に添加し、24時間後の上層から下層への FITC labelled-albumin の透過率を測定した。その結果、図7に示すように無添加群では $2.78 \pm 0.61\%$ 、IL-6濃度 10 ng/ml では $10.20 \pm 1.00\%$ 、 20 ng/ml では $12.70 \pm 2.41\%$ 、 40 ng/ml では $25.65 \pm 2.47\%$ 、 100 ng/ml では $32.17 \pm 3.13\%$ と培養羊膜細胞膜透過性は、添加 IL-6 の濃度依存的に亢進傾向 ($r = 0.912$, $p < 0.001$) にあることが認められ

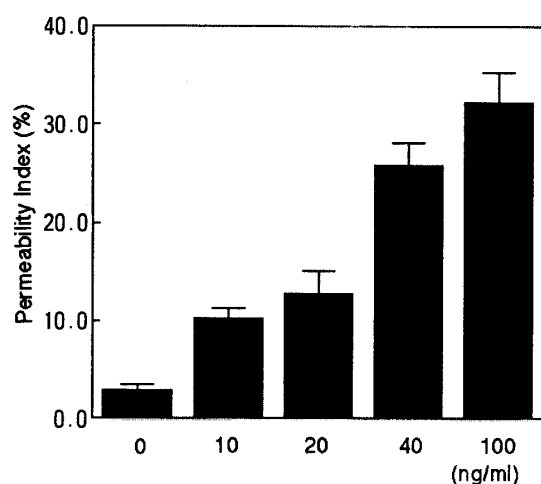


図7 培養羊膜細胞膜透過性の濃度依存的変化

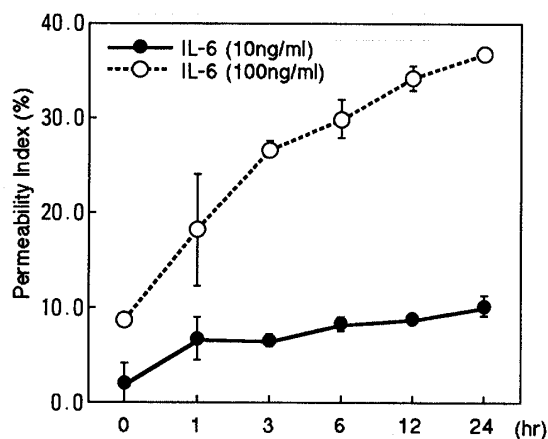


図8 培養羊膜細胞膜透過性の経時的変化

た。

2) 経時的変化

次に IL-6 添加後の FITC labelled-albumin の透過率の変化を経時的に測定した。 10 ng/ml と 100 ng/ml に調製した IL-6 と FITC labelled-albumin 10 mg/ml を上層に添加し、各々 0, 1, 3, 6, 12, 24 時間後の FITC labelled-albumin の透過率を測定した。図8に示すように IL-6 濃度 10 ng/ml 添加群は各々の時間に対し、 $2.12 \pm 2.12\%$, $6.71 \pm 2.22\%$, $6.60 \pm 0.70\%$, $8.30 \pm 0.70\%$, $8.80 \pm 0.30\%$, $10.20 \pm 1.00\%$ であり、反応時間に対し有意に相関した ($r = 0.779$, $p < 0.01$)。IL-6 濃度 100 ng/ml 添加群は各々の時間に対し、 $8.63 \pm 0.03\%$, $18.20 \pm 5.95\%$, $26.70 \pm 0.90\%$, $29.90 \pm 2.00\%$, $34.20 \pm 1.30\%$, $36.80 \pm 0.60\%$ であり、反応時間に対し有意に相関した ($r = 0.804$, $p < 0.001$)。

考 案

IL-6 は $21 \sim 28 \text{ kd}$ の蛋白であり B リンパ球の抗体産生、肝臓における急性期蛋白産生やメガカリオサイトの成熟および血小板産生などの生体防御に関与するサイトカインである。多機能の生物活性を有することから種々の炎症性疾患や自己免疫疾患の発症に深く関与すると思われる。近年、卵膜における細胞間相互作用にもサイトカインが重要な位置を占めており、羊膜においてもサイトカインネットワークの生理的および病理的状态での変化が注目されている。サイトカインは細胞膜に存在する特異的なレセプターと結合し、細胞内に情報を伝達すると考えられている。また今回検討した受容体である sIL-6R は IL-6 結合能を有する 80 kd の膜を 1 回貫通するタイプであり、イムノグロブリンスーパーファミリーに属しているが⁶⁾、スプライシングにより sIL-6R として可溶化されることが知られている。

著者は、羊水中に存在するマクロファージなどが放出すると考えられる IL-6 あるいは IL-6-sIL-6R 結合体が卵膜に作用して、生体に器質的あるいは機能的変化を引き起こす可能性があるのではないかと仮説し、分娩直前の羊水を対象に抗 IL-6 抗体あるいは抗 sIL-6R 抗体を用いた ELISA 法に

より IL-6 と sIL-6R 濃度を測定した。さらに培養羊膜細胞を用いて IL-6 添加による細胞層の物質透過性についても検討を加えた。

その結果、羊水中 IL-6 濃度は妊娠経過の進行に伴い上昇することが判明した。さらに子宮収縮の有無による羊水中 IL-6 濃度の変動について検討を行ったところ、37～41 週の分娩直前羊水では子宮収縮を伴わない例に対し、子宮収縮を伴う例は羊水中 IL-6 濃度が 2～4 倍にも上昇していることが認められた。一方、羊水中 sIL-6R 濃度は妊娠経過の進行に伴い IL-6 とは逆に漸時減少することが認められ、妊娠末期の羊水中 sIL-6R 濃度は妊娠中期のそれと比べ約 1/5 にまで減少することを確認した。しかし、前期破水を伴う羊水中 IL-6 および sIL-6R 濃度は、前期破水を伴わない症例に比べ両者とも上昇することが確認された。ここで経腔的に羊水を採取する際に、contamination の可能性のある腔内容物が IL-6 および sIL-6R 濃度に及ぼす影響を検討する目的で以下の実験を行った。すなわち子宮口全開大時に人工破膜し腔内に貯留した羊水と、無菌的に採取した羊水中の IL-6 および sIL-6R 濃度を測定した結果、両者間に有意差は認められなかった。IL-6 は前述したように sIL-6R と結合することにより gp130 との結合能をもち、シグナルを細胞内に伝達することができることを考えると、妊娠初期および子宮収縮を伴わない正期産分娩時の IL-6 がともに低値を示すことは、いずれもシグナル伝達が不十分な状態にあると考えられる。一方、正期産経腔分娩において前期破水群で羊水中 IL-6 濃度の高値、sIL-6R の高値は破水と IL-6 との関係を強く示唆するものと思われる。

これらの関係を in vitro 系で確認する目的で、羊膜細胞を confluent の状態まで培養し、羊膜を介した透過性を調べた。その結果、IL-6 の添加により羊膜を介した透過性が亢進することが明らかとなった。この透過性の亢進が直接破水と関係するか否かは、さらに詳細な検討が必要となる。しかし、間崎⁷⁾は培養絨毛膜細胞を用いて、IL-1 β や Lipopolysaccharide 刺激により羊膜および絨毛膜から IL-6 が産生され、この IL-6 により羊膜細胞

の収縮が起こり、羊膜細胞間の破綻により羊膜細胞層が脆弱化し、前期破水に至る可能性を報告している。今回得られた IL-6 が羊膜細胞層の透過性を亢進するという事実は、間崎の仮説を支持するものと思われる。羊膜組織は羊膜上皮とそれを裏打ちする強固なコラーゲン線維層と線維芽細胞層から成り立っている。妊娠末期の羊膜上皮細胞には、表面に微絨毛が密生し基底側には多数の足状突起が出ており、隣接上皮細胞との間には細胞質突起が多い。細胞間はデスモソームで結合しており、基底側足状突起細胞質膜には基底膜に対しセミデスモソームが存在する⁸⁾。Eis et al.⁹⁾は羊膜組織を境に二つの chamber をつくり、胎児側に Endothelin-1 を作用させることにより、羊膜組織の物質透過性が著明に亢進することを報告している。本研究における IL-6 による羊膜透過性の急激な亢進は、Endothelin-1 と同様に IL-6 による羊膜細胞間隙の開大を示唆するものである。したがって、生体においても羊水中に IL-6 および sIL-6R が高値に存在するとき羊膜細胞間隙が拡大し、高分子物質の透過性が亢進すると考えられる。高分子物質の漏出により局所的に好中球やマクロファージが出現し炎症様反応が生じ、さらに IL-1, IL-6, エラスターゼなどの産生されることが予想される。そして IL-1 により産生されたメタロプロテアーゼや好中球エラスターゼなどによる卵膜コラーゲン組織の破壊が引き起こされ破水に至るといった無菌的な卵膜破綻の機序が推測された。

sIL-6R は IL-6 と結合し、細胞内に情報を伝達する際に必要とされる物質である。最近では、重篤な感染症や多発性骨髄腫といった免疫不全状態の場合にも、sIL-6R が亢進するとの報告がある²⁾³⁾。一般に、妊婦は細胞性免疫、体液性免疫ともに抑制状態にある。細胞性免疫について抗原の感作なしに標的細胞に対して働くナチュラルキラー (NK) 細胞を考えると、妊娠経過の量的解析においては現在まで一致した見解は得られていないが、NK 活性は非妊娠と比べ妊婦の方が有意に低下していると報告¹⁰⁾されている。また体液性免疫についても母体血中の免疫グロブリンのうち IgG と IgA が妊娠中期以降で減少すると報告¹¹⁾され

ている。本研究にても妊娠初期には妊娠末期と比べ約8倍量の羊水中sIL-6Rが認められた。このことは妊娠の成立や妊娠初期における妊娠継続に係わる母体免疫能の低下と一致したものと考えられる。Romero et al.¹²⁾は絨毛羊膜炎を合併した前期破水例では羊水中IL-6が上昇することを報告している。またCox et al.¹³⁾は陣痛発来により腔および頸管粘液中のIL-1 β , IL-6濃度が上昇することを報告している。著者は臨床的に炎症所見の存在しない前期破水例の羊水中でIL-6のみならずsIL-6Rも上昇することを確認した。この成績より明らかな炎症が存在しない炎症様反応下においてもIL-6およびsIL-6Rが合成あるいは分泌されることが示唆された。

今回の研究により、子宮収縮時、妊娠末期および前期破水時に羊水中IL-6が上昇していること、妊娠初期と前期破水時に羊水中sIL-6Rが上昇していることが判明した。また培養羊膜細胞においてIL-6が濃度依存的あるいは経時的に膜透過性が亢進する成績から、臨床的には子宮収縮時、妊娠末期あるいは絨毛羊膜炎が存在するとき、生体内羊膜においても物質透過性が亢進している可能性が考えられた。さらに羊膜の物質透過性亢進により高分子物質が羊膜外へ漏出し、その結果、非感染性の炎症様反応が引き起こされて卵膜が破綻する機序が推測された。

稿を終わるにあたり、御指導、御校閲賜りました東邦大学第1産科婦人科学教室平川 舜教授、御指導頂きました同田中政信講師、研究の場を提供され終始御指導下さいました東京医科歯科大学大学院生体機能制御系細胞機能制御学講座の室田誠逸教授、同森田育男助教授、IL-6ならびにsIL-6R測定に御協力下さいました東ソー株式会社丸尾直子博士に深謝いたします。

文 献

1. Taga T, Hibi M, Hirata Y, Yamasaki K, Yasukawa K, Matsuda T, Hirano T, Kishimoto T. Interleukin-6 triggers the association of its receptor with a possible signal transducer, gp130. *Cell* 1989; 58: 573—581
2. Tamura T, Udagawa N, Takahashi N, Miyaura C, Tanaka S, Yamada Y, Koishihara Y, Ohsugi Y, Kumaki K, Taga T, Kishimoto T, Suda T. Soluble interleukin-6 receptor triggers osteoclast formation by interleukin 6. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 11924—11928
3. Kyle RA. Why better prognostic factors for multiple myeloma are needed. *Blood* 1994; 83: 1713—1716
4. Shintani F, Kanba S, Maruo N, Naniki T, Nibuya M, Suzuki E, Kinoshita N, Yagi G. Serum interleukin-6 in schizophrenic patients. *Life Sciences* 1991; 49: 661—664
5. Bennet PR, Rose MP, Myatt L, Elder MG. Preterm labor: Stimulation of arachidonic acid metabolism in human amnion cells by bacterial products. *Am J Obstet Gynecol* 1987; 156: 649—655
6. Yamasaki K, Taga T, Hirata Y, Yawata H, Kawanishi Y, Seed B, Taniguchi T, Hirano T, Kishimoto T. Cloning and expression of human interleukin 6 (BSF-2/IFN β 2) receptor. *Science* 1988; 241: 825
7. 間崎和夫. 前期破水におけるインターロイキン6の関与—生化学的検討. *日産婦誌* 1992; 44: 643—649
8. 丸山淳士. 人羊膜細胞の電子顕微鏡的研究. *日産婦誌* 1972; 24: 189—197
9. Eis AW, Mitchell MD, Myatt L. Endothelin transfer and endothelin effects on water transfer in human fetal membranes. *Obstet Gynecol* 1992; 79: 411—415
10. Vaquer A, Hera A, Jorda J, Martinez AC, Escudero M, Alvarez-Mon M. Diminished natural killer activity in pregnancy: Modulation by interleukin 2 and interferon γ . *Scand J Immunol* 1987; 26: 691—698
11. Amino N, Tanizawa O, Miyai K, Tanaka F, Hayashi C, Kawashima M, Ichihara K. Change of serum immunoglobulins IgG, IgA, IgM, and IgE during pregnancy. *Obstet Gynecol* 1978; 52: 415—420
12. Romero R, Avila C, Santhanam U, Sehgal PB. Amnion fluid interleukin 6 in preterm labor. *J Clin Invest* 1990; 85: 1392—1400
13. Cox MS, King RM, Casey LM, Macdonald CP. Interleukin-1 β , -1 α , and -6 and prostaglandins in vaginal/cervical fluids of pregnant women before and during labor. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77: 805—815

(No. 7656 平7・7・10受付)