

子宮内膜症における Interleukin-6 産生に関する研究

防衛医科大学校産科婦人科学教室

今泉 英司 平田 純子 戸出 健彦
菊池 義公 永田 一郎

Interleukin-6 Production in Endometriosis

Eiji IMAIZUMI, Junko HIRATA, Takehiko TODE,
Yoshihiro KIKUCHI and Ichiro NAGATA*Department of Obstetrics and Gynecology, National Defense Medical College, Saitama*

概要 子宮内膜症では各種自己抗体が高頻度に陽性を示し, polyclonal な B リンパ球の活性化状態を示し, 自己免疫状態にあると考えられている. Interleukin(IL)-6は B リンパ球の最終的分化を誘導し, 抗体産生を促し, 慢性関節リウマチなど自己免疫疾患との関係が報告されている. 今回われわれは, 子宮内膜症病巣での IL-6産生について R-AFS 分類IV期の子宮内膜症患者21例を対象に検討した.

1. 子宮内膜症患者血清中自己抗体は, 抗核抗体の40%を筆頭に, 何らかの自己抗体陽性の率は46.2%であった. Immunoglobulin(Ig)G, IgA, IgM については, 対照群と差はみられなかった.

2. 子宮内膜症病巣を24時間組織培養し, その培養上清中の IL-6量を測定した. 全例 (n=8) 上清中に IL-6を認め, 1mg 組織乾重量当り約30pg/ml であった. 組織培養上清中 IL-6量と患者血清中 estradiol (E₂) 値, 上清中 IL-6量と自己抗体の有無の違いによる関係はみられなかった.

3. 子宮内膜症病巣より間質細胞を分離, 培養した. この細胞を IL-6抗体で免疫染色すると, 陽性を示した.

4. 子宮内膜症細胞の24時間培養を行い, 各種薬剤による IL-6産生に及ぼす影響を検討した. IL-6量は IL-1 α (0.5ng/ml) および lipopolysaccharide (LPS) (10 μ g/ml) によりそれぞれ50%, 130%と有意に (p<0.01)増加した. E₂, progesterone(P₄), danazol 添加では, IL-6産生量に変化はみられなかった.

5. 子宮内膜症 (n=14) および子宮筋腫 (n=10) 患者でそれぞれ術前術後の血清 IL-6値を測定した. 子宮筋腫では術後有意に (p<0.05) 血清 IL-6は増加したが, 子宮内膜症では術後減少傾向を示した.

6. 5日間細胞培養し, 各種薬剤による細胞増殖に及ぼす影響を調べた. IL-6抗体添加により, 10ng/ml と100ng/ml で約20%と有意な (p<0.05) 細胞増殖抑制がみられた. また, IL-1 α (0.5ng/ml) により約50%と有意な (p<0.01) 細胞増殖抑制を認めた.

以上の結果から, 子宮内膜症病巣局所より IL-6が産生されていることが初めてわかり, IL-1のみならず IL-6が子宮内膜症の発症又は進展に関与している可能性が示唆された.

Synopsis The purpose of this study was to assess whether endometriotic implants of endometriosis could produce Interleukin (IL)-6. IL-6 was measured by means of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in 21 patients with endometriosis of stage IV according to R-AFS classification of endometriosis. The tissues obtained from endometriotic implants were incubated for 24 hours and all their supernatants (n=8) were positive for IL-6 and the mean level of IL-6 was approximately 30pg/ml per 1mg tissue dry weight. The level of IL-6 in the supernatant did not correlate with the serum estradiol level or with positivity against autoimmune antibodies in patients with endometriosis before surgery. The cultured stromal cells obtained from endometriotic implants were immunohistochemically positive for rabbit antihuman IL-6 polyclonal antibodies. IL-1 α (0.5ng/ml) and lipopolysaccharide (LPS) (10 μ g/ml) caused a 50% and a 130% increase respectively, in IL-6 production in untreated cells (p<0.01) of 24-hour culture (n=3). On the other hand, estradiol, progesterone and danazol apparently had no effect on IL-6 production. The serum IL-6 levels of patients with myoma uteri (n=10) were significantly (p<0.05) enhanced after surgery, while those of patients with endometriosis (n=14) declined after surgery. The anti IL-6 antibodies between 10ng/ml and 100ng/ml inhibited cell growth 20% (p<0.05), while IL-1 α (0.5ng/ml) inhibited cell growth 50% (p<0.01) in a 5 day cell culture (n=6). These findings showed that IL-6 was produced from endometriotic implants and that IL-6 may be involved in autocrine growth of endometriotic cells.

Key words: Endometriosis・Interleukin-6・Autoimmune disease

緒言

子宮内膜症の患者血清中には、抗核抗体など各種自己抗体が高頻度で陽性であることから、子宮内膜症では polyclonal な B リンパ球の活性化状態にあると考えられ、自己免疫状態を呈している¹⁾。IL-6は、B リンパ球から形質細胞への最終的分化を誘導し、抗体産生を起こす cytokine としてクローニングされた²⁾。しかし、IL-6の研究が進むにつれ、IL-6は T リンパ球のみならず多くの細胞から産生されること、その生理的作用も多彩で B リンパ球の抗体産生の誘導、hybridoma, myeloma の増殖、T リンパ球の増殖分化、造血幹細胞への作用、肝細胞での急性期反応タンパク質産生などの作用を持つことがわかってきた³⁾。また、IL-6は慢性関節リウマチ⁴⁾、キャスルマン病⁶⁾や炎症性大腸炎⁵⁾などの自己免疫性疾患との関与が報告されている。今回子宮内膜症における自己免疫状態を明らかにするため、子宮内膜症と IL-6 産生に関する研究を行った。

対象および方法

対象

付属器切除術又は単純子宮全摘出術を行い、術後病理組織検査で子宮内膜症 R-AFS 分類IV期と診断された患者を対象とした。それらのなかから無作為に選んだ症例について、以下の実験についてそれぞれ検討した。検討した症例は総数21症例であった。

方法

対象患者の血液は、手術前日と術後7日目に肘静脈から採血し、遠心して血清分離後、測定まで -80°C で凍結保存した。子宮内膜症患者で術前に検査した自己抗体は、抗核抗体、抗DNA抗体、抗マイクログローム抗体、抗サイロイド抗体、IgG カルジオリピン抗体、Lupus anticoagulant であった。

血中および培養上清中 IL-6測定：IL-6 ELISA キット (トーレフジ社) を用い、吸光度452nm で測定した。その測定可能濃度は25~600pg/ml であり、ヒト IFN- α , β , γ , IL-2, G-CSF, GM-CSF とは交差反応を示さなかつた。

血中 E₂ の測定：エストラジオールコートリア RIA キット (CIS diagnostic 社) で測定した。測定可能濃度は、15~5,000pg/ml であつた。

子宮内膜症組織の培養：患者の同意を得て、手術で摘出した卵巣チョコレート嚢胞の内壁側の組織片を、まず Ca, Mg イオンを含まないリン酸ナトリウム緩衝生理食塩水 (PBS) でよく組織を洗った後、約100mg 大の組織片にし、10%FCS を含む RPMI-1640培養液 (+100IU/ml Penicillin, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Streptomycin) で 37°C 、95%air-5%CO₂条件下で24時間組織培養した。その各上清を採取し、測定まで -80°C に凍結保存した。上清採取後、各組織片の乾重量を測定した。

子宮内膜症細胞の培養：子宮内膜症病巣から間質細胞を分離、培養した⁷⁾⁸⁾。すなわち、手術で摘出した卵巣チョコレート嚢胞の内側の組織を PBS で数回洗浄後、無菌的に小さく細切し、0.25%Collagenase (Sigma社) を含むRPMI-1640培養液で 37°C 、2時間酵素処理した。次に、金属性メッシュで未消化組織を除いた後、さらに、ポアサイズ105 μm 、38 μm のナイロンメッシュの順に細胞をふるいにかけて、38 μm のメッシュを通過した細胞 (子宮内膜症間質細胞) を、遠心、洗浄して、培養に供した。培養液は、RPMI-1640を基本培地とし、100 $\mu\text{l}/\text{ml}$ FCS, 100IU/ml Penicillin, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Streptomycin を加えたものを用いた。培養は 37°C 、95%air-5%CO₂条件下で行い、培地交換は3~4日間隔で行った。初代培養細胞を位相差顕微鏡で観察し、異細胞の混入がなく均一な紡錘型細胞増殖を確認した後、trypsin 0.05%+EDTA4NA 0.02%を含むハンス生理緩衝液で 37°C 15分で細胞を剥し、第2代又は第3代の細胞をそれぞれの実験に供した。培養皿はすべて Collagen IV (cellmatrix, Type IV, 新田ゼラチン社、5倍希釈で使用) であらかじめコートして用いた。

IL-6の免疫組織染色：培養した子宮内膜症細胞を culture chamber (Lab-Tek 4804, Miles Scientific 社) で上記のごとく培養し、100%ethanol で 4°C 1時間で固定した。Elite-ABC 免疫染

色キット (Vectastain 社) を用い、家兎ヒト IL-6 polyclonal 抗体 (Genzyme 社) で室温、30分間反応させ、DAB-H₂O₂ 溶液 (Vectastain 社) で発色させた。核はヘマトキシリン染色した。

各種薬物の添加実験：子宮内膜症間質細胞を Collagen IV でコートした 96 穴マイクロプレート (Falcon 3072, Becton Dickinson 社) に各ウェル 5 万個の細胞を撒き生着した 24 時間後、液替えとともに各ウェルに各種薬剤を以下のごとく添加した。IL-1 α (Genzyme 社) 0.5ng/ml, lipopolysaccharide (LPS) (Sigma 社) 10 μ g/ml, E₂ (Sigma 社) 100pM, 1nM, 10nM, progesterone (P₄) (Sigma 社) 1nM, 10nM, 100nM, danazol (東京田辺社) 10nM, 100nM, 1 μ M. 各種薬剤添加 24 時間後、上清を採取し、-80°C で測定まで凍結保存した。E₂, P₄, danazol はそれぞれ生理的血中濃度を中心に、最終濃度 ethanol 0.001% 以下で溶解した。

細胞増殖測定法：Collagen IV でコートした 96 穴マイクロプレートに各ウェル 5 万個の細胞を撒き、24 時間後に液替えとともに、それぞれ薬剤を添加し、5 日後にクリスタルバイオレット法⁹⁾で細胞数を測定した。すなわち、培地を捨て PBS で

洗浄した後、0.4% cristal violet-ethanol 50 μ l (和光純薬社) を加え染色固定し、30 分後水洗し、よく乾燥させた後、492nm で吸光度を測定した。

統計解析は、術前術後の血清 IL-6 値の変動については F 検定で、それ以外は分散分析で行い、統計学的有意を probability が 5% 以下とした。

成績

子宮内膜症患者血清中自己抗体

子宮内膜症患者血清中自己抗体の陽性率は、抗核抗体, Lupus anticoagulant, 抗マイクロゾーム抗体, 抗サイロイド抗体, IgG カルジオリピン抗体, LE 因子, RF, RA, 抗 DNA 抗体でそれぞれ 40% (4/10 例), 25% (1/4 例), 8.3% (1/12 例), 0% (0/10 例), 0% (0/12 例), 0% (0/9 例), 0% (0/9 例), 0% (0/9 例), 0% (0/9 例) であった。何らかの一つ自己抗体陽性は、46.2% (6/13 例) であった。子宮筋腫患者では抗核抗体が 14.3% (1/7 例) 以外自己抗体陰性であった。また、子宮内膜症患者 (n=13) では血清 IgG 1,522 \pm 390IU/ml, IgA 245 \pm 89IU/ml, IgM 214 \pm 55IU/ml であった。対照群 (n=14) では IgG 1,674 \pm 373IU/ml, IgA 242 \pm 55IU/ml, IgM 232 \pm 80IU/ml であり、対照群の子宮筋腫患者との比較では、いずれも有

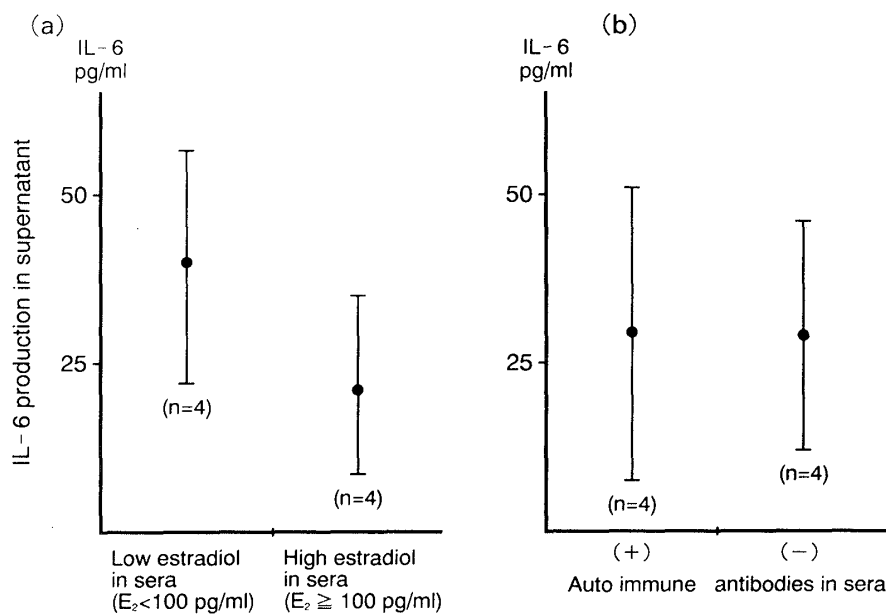


図1 子宮内膜症組織培養上清中 IL-6. 子宮内膜症病巣を24時間組織培養し、上清中 IL-6 値を ELISA 法で測定した。図(a)は、術前血清中の E₂ 値と培養上清中 IL-6 値との関係を示す。図(b)では、術前血清中自己抗体の有無と培養上清中 IL-6 値との関係を示す。Bars は mean \pm S.D. を示す。

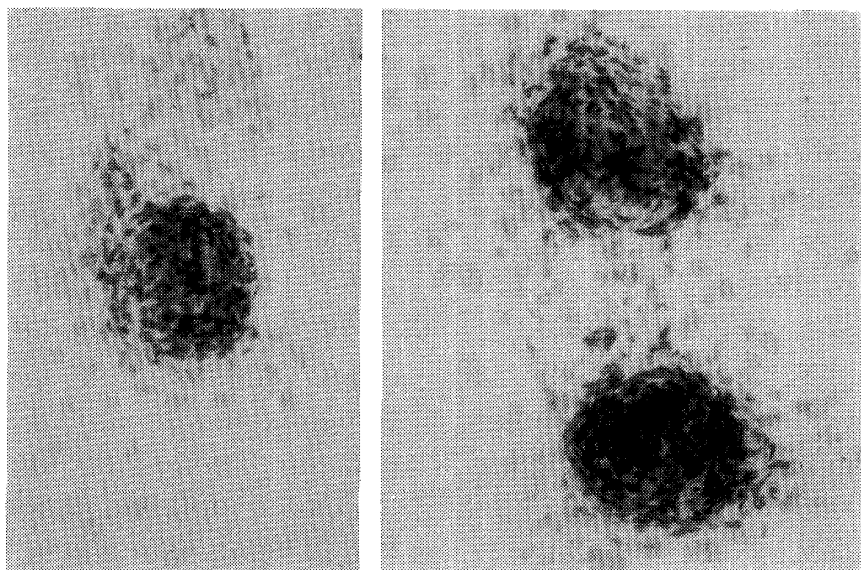


図2 子宮内膜症間質細胞に対するIL-6の免疫染色。子宮内膜症間質細胞を家兎抗ヒトIL-6抗体で免疫染色した。図左は家兎血清添加による対照で、図右はIL-6抗体で反応させた。細胞はcytokine未刺激で、IL-6抗体に対して陽性を示した。核はヘマトキシリン染色した。200倍。

意な差はみられなかった。

子宮内膜症組織培養上清中IL-6(図1)

子宮内膜症病巣を24時間組織培養した上清中では、8例中8例(100%)IL-6の存在を認め、1mg組織乾重量当り平均29.3pg/mlであった。子宮内膜症患者の術前血清E₂値をRIA法で測定した。血清E₂値は、平均91.3±61.9pg/ml(n=8)で、100pg/mlで低E₂群(E₂;40.0±26.8pg/ml, n=4)と高E₂群(E₂;142.5±35.0, n=4)の2群に分け、組織培養上清中IL-6値との関係をみた。培養上清中IL-6は、低E₂群で38.5pg/mlと高く、高E₂群では21.5pg/mlと低い値を示したが、有意な差は認めなかった。また、術前患者血清中に何らか一つ自己抗体陽性か否かの2群に分けると、培養上清中のIL-6量は陽性群で29.5pg/ml、陰性群で29.0pg/mlと両群に差はみられなかった。

子宮内膜症間質細胞に対するIL-6の免疫染色(図2)

卵巣チョコレート嚢胞内壁から得られた間質細胞は、紡錘型の細胞質を持つほぼ均一な細胞であった。この培養細胞を用いて家兎抗ヒトIL-6抗体で免疫染色を行った。図2左は対照で、図右はIL-6抗体添加したものである。cytokine未刺激で細胞質にほぼ均一にIL-6に対して陽性を示した。

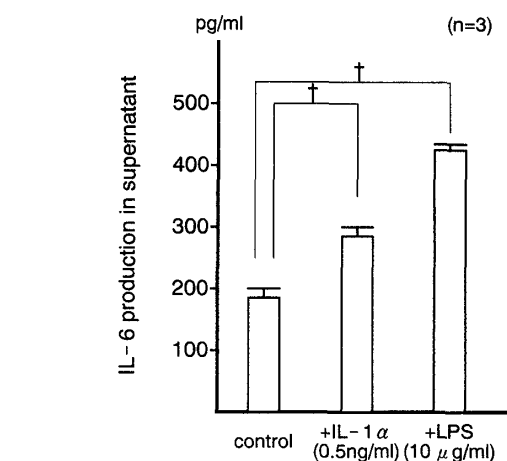


図3 子宮内膜症間質細胞における各種薬剤によるIL-6産生量。子宮内膜症間質細胞にIL-1α, LPSをそれぞれ添加し、24時間後の培養液中のIL-6量をELISA法で測定した。Barsはmean±S.D.を、†はp<0.01を示す。

胞質にほぼ均一にIL-6に対して陽性を示した。

子宮内膜症間質細胞における各種薬剤によるIL-6産生量(図3, 図4)

子宮内膜症間質細胞に各種薬剤を24時間添加し、培養上清中IL-6を測定した(n=3)。培養上清中IL-6は、IL-1α(0.5ng/ml)およびLPS(10μg/ml)によりコントロールに比してそれぞれ約

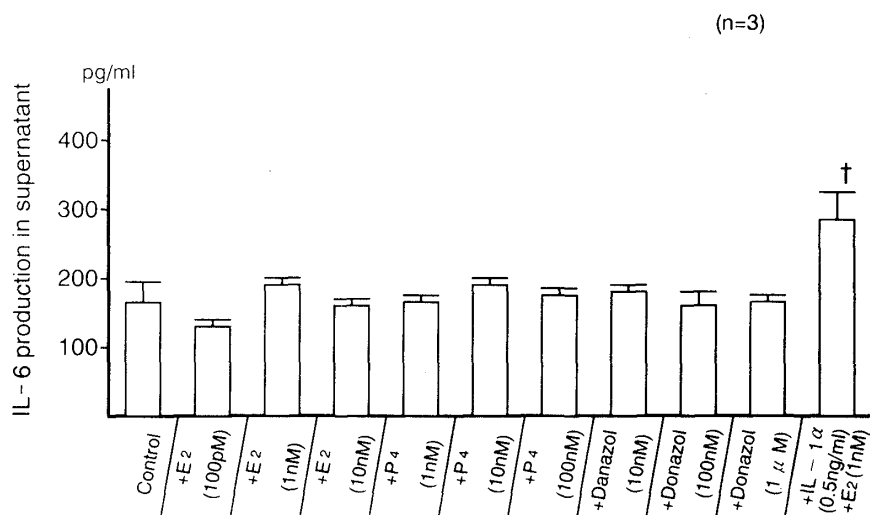


図4 子宮内膜症間質細胞における各種薬剤によるIL-6産生量. 子宮内膜症間質細胞にE₂, P₄, danazolをそれぞれ添加し, 24時間後の培養液中のIL-6量をELISA法で測定した. Barsはmean±S.D., †はp<0.01を示す.

50%, 130%増加し, 有意差 (p<0.01) を認めた (図3). E₂, P₄, danazolではそれぞれ100pM~10nM, 1nM~100nM, 10nM~1μMの各種濃度でも差はみられなかった (図4).

子宮内膜症および子宮筋腫患者における術前, 術後の血清IL-6値 (図5)

子宮筋腫10例, 子宮内膜症14例を対象に術前, 術後の血清IL-6を測定した. 術前血清IL-6値が25pg/ml以上の者は, 子宮筋腫で10例中2例(20%), 子宮内膜症で14例中5例(35.7%)であった. 子宮筋腫では, 術前と比較して有意な差 (p<0.05)で術後高値を示した. 子宮内膜症では, 術後IL-6値は低下傾向を示したが, 有意な差はみられなかった. また, 術後卵巣の有無による明らかなIL-6値の違いはみられなかった.

各種薬剤による子宮内膜症間質細胞の増殖に及ぼす効果 (図6)

子宮内膜症の間質細胞の増殖について, 5日間の培養実験を行った (n=6). その結果, IL-6抗体10ng/mlと100ng/mlで約20%と有意な (p<0.05)細胞増殖抑制がみられたが, 1μg/mlでは約10%抑制で有意な差はみられなかった. また, IL-1α (0.5ng/ml)では約50%と有意な (p<0.01)抑制を認めた.

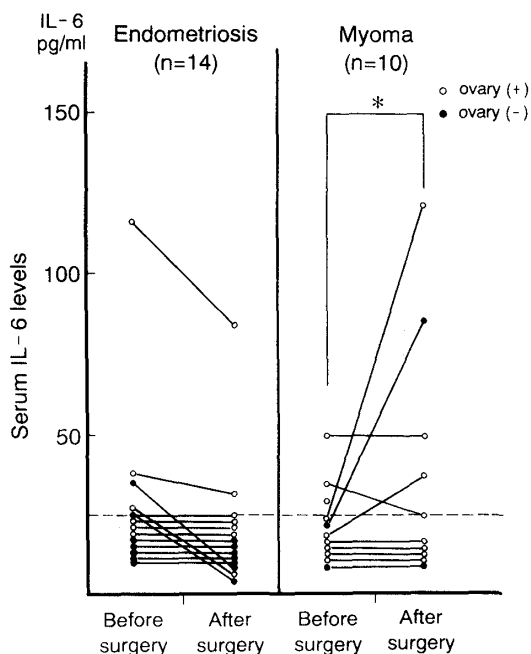


図5 子宮内膜症および子宮筋腫患者における術前, 術後の血清IL-6値. 術前および術後7日目の血清中IL-6値をELISA法で測定した. 図左は子宮内膜症患者, 図右は子宮筋腫患者のIL-6値を示す. ○は術後卵巣温存例, ●は両側卵巣摘出例を示す. *はp<0.05を示す.

考 案

Gleicher et al.¹⁾は, 子宮内膜症で有意に血清IgG値が高く, 各種自己抗体の陽性率が高いことから, 子宮内膜症患者では polyclonalなB細胞

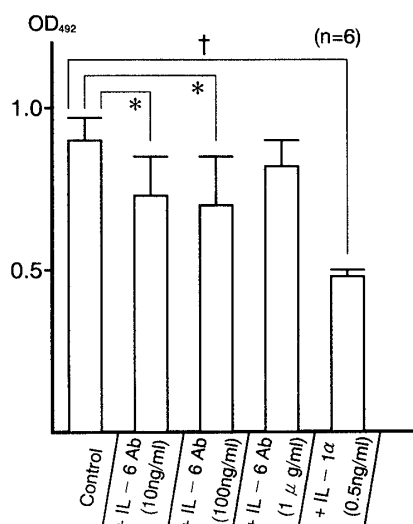


図6 各種薬剤による子宮内膜症間質細胞の増殖に及ぼす効果. 子宮内膜症細胞に抗ヒトIL-6抗体, IL-1 α をそれぞれ添加し, 5日間培養. クリスタルバイオレット法⁹⁾で細胞数を測定した. Barsはmean \pm S.D.を, *は $p < 0.05$ を, †は $p < 0.01$ をそれぞれ示す.

の活性化が起きていると報告している. また, 子宮内膜症患者の子宮内膜および病巣でIgや補体(C)が沈着していると報告されている¹⁰⁾. 一方, IL-6は多彩な生理活性を持ち, myeloma細胞の増殖, Bリンパ球からの抗体産生誘導, 肝細胞でのCRPなど急性炎症蛋白の産生などが知られている³⁾. また, IL-6は, Tリンパ球のほか線維芽細胞, 単球/マクロファージ, Bリンパ球, 血管内皮細胞, 滑膜細胞, 各種腫瘍細胞など多くの細胞で産生されている³⁾. IL-6は慢性関節リウマチ⁴⁾やキャスルマン病⁶⁾や炎症性大腸炎⁵⁾などの自己免疫性疾患との深い関係が知られている. 今回われわれは子宮内膜症における自己免疫状態を解明するために, これらの事実から子宮内膜症とIL-6産生との関係を検討した.

子宮内膜症患者の術前Ig値, 自己抗体陽性率を子宮筋腫患者と比較検討した. Igではいずれも有意な差はみられなかった. Gleicher et al.¹⁾は, 子宮内膜症でIgGが高いと報告し, Badawy et al.¹¹⁾は, 血清Igでは差がみられず, 腹水中IgM値が有意に高く, また血清および腹水中補体C_{3c}とC₄値が高いと報告している. しかし, 今回IV期子宮内膜症の検討では, IgやCについて有意な差はみら

れなかった. 血清自己抗体に関する検討では, 抗核抗体の陽性率は40%であり, 何らかの一つ自己抗体陽性の率は46.2%であった. Gleicher et al.¹⁾は, 抗核抗体の陽性率を28.8%と報告しており, ほぼこれに準ずる結果と思われた.

子宮内膜症病巣でIL-6が産生されているかどうかを検討するため, まず子宮内膜症病巣の組織培養を行った. 24時間組織培養上清中に全例IL-6を認め, 1mg組織乾重量当り平均約30pg/mlであった. 組織培養上清中IL-6量と患者血清中E₂値および血清中自己抗体の有無との関係を検討した. 上清中IL-6量は低E₂群で高E₂群と比較して, 約50%高値を示したが, 有意な差はみられなかった. また, 血清自己抗体の有無による培養上清中IL-6量の差はみられなかった. 対照群と比較して子宮内膜症患者腹水中の単球細胞はpokeweed mitogen刺激により, IgGおよびIgAの産生が亢進していると報告されている¹²⁾. 今回の結果からは, IL-6と自己抗体との明らかな関係を示しえなかったが, 自己抗体産生の機序における子宮内膜症病巣でのIL-6産生の関与は否定できないと思われる.

次に, 子宮内膜症病巣から Satyaswaroop et al.^{7,8)}の方法をmodifyして間質細胞を分離, 培養した. この細胞で, IL-6抗体で免疫染色をすると, cytokine未刺激で陽性を示した. 24時間細胞培養で各種薬剤による上清中IL-6量を測定すると, IL-1 α (0.5ng/ml) およびLPS (10 μ g/ml) 添加により, IL-6産生量はそれぞれ50%, 130%と有意な増加を示した. しかし, E₂, P₄およびdanazolではいずれも産生量の変化を認めなかった. 多くのIL-6産生細胞では, ウイルス感染やLPSにより, また各種cytokineによりIL-6産生が誘導されると報告されている³⁾.

Tabibzadeh et al.¹³⁾は, 正常子宮内膜間質細胞を分離し, 間質細胞でIL-1 α , β , TNF, INF- γ 刺激によりIL-6が産生され, 未刺激やLPS刺激ではIL-6は産生されず, E₂添加によりIL-6産生が抑制されたと報告している. 今回の検討では, 子宮内膜症ではcytokine未刺激の状態ですでにIL-6が産生され, IL-1 α およびLPS刺激でIL-6産生

の増加がみられた。また、 E_2 によるIL-6産生の抑制はみられなかつた。子宮内膜症患者腹水中で活性化マクロファージが増加し¹⁴⁾¹⁵⁾、腹腔マクロファージの精子貪食能が上昇していると報告されている¹⁶⁾。また、子宮内膜症患者腹水中IL-1は高値を示し、腹腔マクロファージよりIL-1が産生されていることがbioassayおよびmRNAの方法で報告されている¹⁷⁾¹⁸⁾。以上のことから、子宮内膜症周囲の環境は、正所子宮内膜と異なり、すでにIL-6産生に関して刺激状態にあると思われた。子宮内膜症病巣では正常子宮内膜と比較して、 E_2 receptor および P_4 receptor 量が少ないことが報告されている¹⁹⁾。子宮内膜症病巣の組織培養や細胞培養で、IL-6産生に関して E_2 の抑制がかからないのは、組織中におけるこれらreceptor量の違いによるのかもしれない。

子宮内膜症患者と子宮筋腫患者の血清IL-6値の術前術後の変動をみると、子宮筋腫で術後有意に血清IL-6値は上昇を示したが、子宮内膜症では術後低下傾向を示した。Nishimoto et al.²⁰⁾は一般外科手術後、血清IL-6が術中3時間より上昇し、24時間で最大となると報告している。子宮内膜症患者では手術で子宮内膜症病巣を摘出したことにより、術後血清IL-6値は低下傾向を示したと思われる。

5日間の細胞増殖実験では、IL-6抗体を10, 100 ng/ml添加により約20%、IL-1 α (0.5ng/ml)により約50%と有意な細胞増殖抑制がみられた。IL-6と細胞増殖に関して、肺癌細胞²¹⁾、骨髄腫白血球細胞²¹⁾²²⁾や臍帯血管内皮細胞²³⁾ではIL-6は抑制的に働くと報告されている。一方、腎細胞癌²⁴⁾や軟骨肉腫細胞²⁵⁾で促進的に働くと報告されている。今回IL-6抗体添加により20%細胞抑制がみられたことより、IL-6は子宮内膜症細胞増殖に促進的に働くことが示唆された。また、臍帯血管内皮細胞ではIL-1による細胞増殖抑制効果が報告されている²³⁾。

以上子宮内膜症とIL-6産生に関して、組織器官培養、細胞培養、細胞免疫染色、子宮内膜症患者の術前術後の血清中変化など一連の実験により、子宮内膜症病巣局所でIL-6が産生されているこ

とが今回初めてわかつた。子宮内膜症病巣におけるIL-6の意味について、三つの可能性があると思われる。すなわち、1) 自らの増殖に働いている可能性、2) 自己免疫状態に関与している可能性、3) 子宮内膜症病巣で血管新生を起こしている可能性²⁶⁾などである。子宮内膜症における自己免疫状態を明らかにするため、IL-6について検討を行つたが、今回の検討ではIL-6産生と血清中自己抗体との間にはつきりとした関係は認められず、むしろIL-6が子宮内膜症病巣の増殖、進展に関与している可能性が示唆された。

文 献

1. Gleicher N, El-Roeiy A, Confino E, Friberg J. Is endometriosis an autoimmune disease? *Obstet Gynecol* 1987; 116: 115-122
2. Hirano T, Yasukawa K, Harada H, Taga T, Watanabe Y, Matsuda T, Kashiwamura S, Nakajima K, Koyama K, Iwamatsu A, Tsunawasa S, Sakiyama F, Matsui H, Takahara Y, Taniguchi T, Kishimoto T. Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature* 1986; 324: 73-76
3. Snick JV. Interleukin-6: An overview. *Annu Rev Immunol* 1990; 8: 253-278
4. Hirano T, Matsuda T, Turner M, Miyasaka N, Buchan G, Tang B, Sato K, Shimizu M, Maini R, Feldmann M, Kishimoto T. Excessive production of interleukin-6/B cell stimulatory factor-2 in rheumatoid arthritis. *Eur J Immunol* 1988; 18: 1797-1801
5. Mitsuyama K, Sata M, Tanikawa K. Significance of interleukin-6 in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Jpn* 1991; 26: 20-28
6. Yoshizaki K, Matsuda T, Nishimoto N, Kiritani T, Tagoh L, Komori T, Kishimoto S, Hirano T, Kishimoto T. Pathogenic significance of interleukin-6 (IL-6/BSF-2) in Castleman's disease. *Blood* 1989; 74: 1360-1367
7. Satyaswaroop PG, Bressler B, de la Penna MM, Gurpide E. Isolation and culture of human endometrial gland. *J Clin Endocrinol Metab* 1979; 48: 639-641
8. Taketani Y, Mizuno M. Hormonal regulation of the cell growth in an endometriotic cell culture system. *Arch Gynecol Obstet* 1992; 251: 29-34

9. *Saotome K, Morita H, Umeda M.* Cytotoxicity test with simplified crystal violet staining method using microtiter plates and its application to injection drugs. *Toxicol In Vitro* 1989; 3: 317—321
10. *Mathur S, Garza DE, Smith LF.* Endometrial autoantigens eliciting immunoglobulin (Ig)G, IgA, and IgM responses in endometriosis. *Fertil Steril* 1990; 54: 56—63
11. *Badawy SZA, Cuenca V, Frelich H, Stefanu C.* Endometrial antibodies in serum and peritoneal fluid of infertile patients with and without endometriosis. *Fertil Steril* 1990; 53: 930—932
12. *Badawy SZA, Stitzel A, Cuenca V, Thompson M, Kaufman L.* The regulation of immunoglobulin production by B cells in patients with endometriosis. *Fertil Steril* 1989; 51: 770—773
13. *Tabibzadeh SS, Santhanam U, Sehgal PB, May LT.* Cytokine-induced production of IFN- β 2/IL-6 by freshly explanted human endometrial stromal cells. *J Immunol* 1989; 142: 3134—3139
14. *Badawy SZA, Cuenca V, Marshall L, Munchback R, Rinas AC, Coble DA.* Cellular components in peritoneal fluid in infertile patients with and without endometriosis. *Fertil Steril* 1984; 42: 704—708
15. *Halme J, Becker S, Hammond M, Raj MHG, Raj S.* Increased activation of pelvic macrophages in infertile women with mild endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1983; 145: 333—337
16. *Muscato JJ, Haney AF, Weinberg JB.* Sperm phagocytosis by human peritoneal macrophages: A possible cause of infertility in endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1982; 144: 503—510
17. *Fakih H, Baggett B, Holtz G, Tsang KY, Lee JC, Williamson HO.* Interleukin-1: A possible role in the infertility associated with endometriosis. *Fertil Steril* 1987; 47: 213—217
18. *Mori H, Sawairi M, Nakagawa M, Itoh N, Wada K, Tamaya T.* Expression of interleukin-1 (IL-1) beta messenger ribonucleic acid (mRNA) and IL-1 receptor antagonist mRNA in peritoneal macrophages from patients with endometriosis. *Fertil Steril* 1992; 57: 535—542
19. *Bergqvist A.* Steroid receptors in endometriosis. In *Modern Approches to Endometriosis*, 1st ed. In: Thomas, E Rock, J eds., 33. Boston & London: Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 1991
20. *Nishimoto N, Yoshizaki K, Tagoh H, Monden M, Kishimoto S, Kishimoto T.* Elevation of serum interleukin 6 prior to acute phase proteins on the inflammation by surgical operation. *Clin Immunol Immunopathol* 1989; 50: 399—401
21. *Chen L, Mory Y, Zilberstein A, Revel M.* Growth inhibition of human breast carcinoma and leukemia/lymphoma cell lines by recombinant interferon- β 2. *Proc Natl Acad Sci* 1988; 85: 8037—8041
22. *Miyaura C, Onozaki K, Akiyama Y, Taniyama T, Hirano T, Kishimoto T, Suda T.* Recombinant human interleukin-6 (B cell stimulatory factor 2) is a potent inducer of differentiation of mouse myeloid leukemia cells(M1). *FEBS* 1988; 234: 17—21
23. *May LT, Torcia G, Cozzolino F, Ray A, Tatter SB, Santhanam U, Sehgal PB, Stern D.* Interleukin-6 gene expression in human endothelial cells: RNA start sites, multiple IL-6 proteins and inhibition of proliferation. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 159: 991—998
24. *Koo AS, Armstrong C, Bochner B, Shimabukuro T, Tso CL, de Kernion JB, Belldegrin A.* Interleukin-6 and renal cell cancer: production, regulation, and growth effects. *Cancer Immunol Immunother* 1992; 35: 97—105
25. *Guerne PA, Lotz M.* Interleukin-6 and transforming growth factor- β synergistically stimulate chondrosarcoma cell proliferation. *J Cellul Physiol* 1991; 149: 117—124
26. *Motro B, Itin A, Sachs L, Keshet E.* Pattern of interleukin 6 gene expression in vivo suggests a role for this cytokine in angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci* 1990; 87: 3092—3096

(No. 7331 平5・1・18受付)