各種腎・尿路系疾患および川崎病における尿中インターロイキン6の動態とその臨床的意義

メタデータ	言語: jpn
	出版者:
	公開日: 2017-10-04
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者: 太田, 和秀
	メールアドレス:
	所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8361

金沢大学十全医学会雑誌　第100巻　第5号　1004－1016（1991）

各種腎・尿路系疾患および川崎病における尿中インターロイキン6の動態とその臨床的意義

金沢大学医学部小児科学講座（主任：谷口　昻教授）
太　田　和　秀

（平成3年10月2日受付）

インターロイキン6 (interleukin 6, IL-6) は生体内における炎症反応や免疫応答において重要な役割を演じていることが知られている．本研究では，尿所見異常を伴うような各種疾患において，尿中IL-6活性を測定しその臨床的意義について検討した．IgA腎症をはじめとしたメサンギウム増殖性腎炎における尿中IL-6活性は，メサンギウム細胞の増殖性変化の強い症例ほど高値を示していた．なお4例のIgA腎症患者において，上気道炎などの感染症を契機とした一過性の急性増悪期に尿中IL-6活性も一過性の上昇が認められた．その他の増殖性腎炎（溶血性連鎖球菌感染後急性糸球体腎炎，膜性増殖性糸球体腎炎）でも尿中IL-6活性は高かった．逆に増殖性変化を示さない微少変化型ネフローゼ症候群，膜性腎症，ループス腎炎（WHO分類のI-b：微少変化型腎炎，およびV-a：膜性腎炎），非糸球体性血尿，体位性蛋白尿などでは大部分の例で尿中IL-6活性は低値であった．また尿路感染症の急性期においても尿中IL-6活性は高値を示した．以上の結果より，尿中IL-6活性の上昇は腎実質および尿路系における何らかの炎症過程の存在とその程度を反映しており，またこのような炎症反応に関与する多種の細胞に由来しているものと思われた．さらに川崎病の大部分の症例で，急性期に尿中IL-6活性の著明な上昇が認められ，また尿中N-acetyl-β-D-glucosaminidase (NAG) 活性，尿中β_2ミクログロブリン値の上昇も認められた．この結果から，川崎病の急性期では腎実質に一過性ではあるが尿細管障害を伴うような強い炎症が存在していることを示唆するものと思われた．

Key words　インターロイキン6（IL-6），腎・尿路系疾患，尿路感染症，川崎病

原発性糸球体疾患の多くはメサンギウム細胞の活性化・増殖およびメサンギウム基質の増生といったメサンギウム増殖性変化を基本病変とすることが多く，このような変化は糸球体疾患の予後を左右し，臨床的にも非常に重要な所見といえる．このためメサンギウム細胞増殖の機序の解明は，糸球体疾患の発症・進展機序の解明やその治療における重要な鍵となっている．近年，培養メサンギウム細胞を用いた実験系より各種サイトカインを含め多種のメサンギウム細胞増殖・抑制因子が判明しており[1]，また刺激されたメサンギウム細胞自身も血小板由来成長因子 (platelet-derived growth factor, PDGF)[2)3)]，インターロイキン1 (interleukin-1, IL-1)[4)5)]，インターロイキン6 (interleukin-6, IL-6)[6)7)]，インスリン様成長因子 (insulin-like growth factor-1, IGF-I)[8)]，血小板活性化因子 (platelet-activating factor, PAF)[9)] などの産生能を有することも明らかとなっている．とくに前4者はオートクリン増殖因子 (autocrine growth factor) としての可能性が示唆されている．なかでもIL-6は，メサンギウム増殖性腎炎患者の尿中においてその活性が検出され，尿中IL-6活性とメサンギウム細胞増殖との間に相関があったとの報告[6)]もあり注目されている．

Abbreviations: APAAP, alkaline phosphatase monoclonal anti-alkaline phosphatase; β_2-mg, β_2-microglobulin; Cr, creatinine; CRP, C-reactive protein; IGF-I, insulin-like growth factor-I; IL-1, interleukin-1; IL-6, interleukin-6; KD, Kawasaki disease; MCNS, minimal

IL-6は，当初T細胞によって産生され，B細胞の分化誘導に関与する生理活性因子として注目された[10][11]．しかし，その後従来より報告されてきた26－キロダルトン蛋白[12]，インターフェロンβ_2[13]，ハイブリドーマ・プラズマサイトーマ成長因子[14]，肝細胞刺激因子[15]などの物質と同一であり，免疫・炎症・造血などをつかさどる多彩な生物学的活性を有し，かつその産生細胞も多岐にわたることが明らかになった[16][17]．さらに臨床面では，前述のメサンギウム増殖性腎炎をはじめ慢性関節リュウマチ・シェーグレン症候群などの自己免疫性疾患，形質細胞腫・骨髄腫・粘液腫などの腫瘍性病変との関連性も示唆されている[17]．

本研究では，腎・尿路系疾患をはじめとし川崎病など尿所見異常を呈するような各種疾患において尿中IL-6活性を測定し，尿中IL-6活性が各種腎・尿路系疾患の病勢を評価しうる指標となりえるかどうかを検討した．さらに，無菌性膿尿を伴うことで知られる川崎病の腎病変についても考察を加えた．

対象および方法

I．対象および検体

対象は，当院小児科および関連施設に通院あるいは入院中の患者で，その総数は147名であった．年令は3ヵ月から72才まで，平均25才であった．性別は男子67名，女子80名で，男女比は1：1.2．疾患別では，IgA腎症をはじめとする糸球体疾患61名，尿路感染症14名（腎盂腎炎，出血性膀胱炎），微少血尿のみで腎生検は未施行であるが，円柱の存在や尿中赤血球形態などより腎炎が疑われている症例（微少血尿）11名，非糸球体性血尿（Nutcracker現象，高カルシウム尿症）3名，体位性蛋白尿8名，川崎病22名，上・下気道炎（尿所見正常）28名，それに対照として健康成人30名を用いた（表1）．

溶血性連鎖球菌感染後急性糸球体腎炎と微少変化型ネフローゼ症候群の一部の症例は臨床所見のみにて診断されているが，それ以外の糸球体疾患は腎生検によ

Table 1.Enrolled patients

Diagnosis	Number of Patients
Glomerular disease	61
Mes-PGN (IgA nephropathy)	28
Mes-PGN (non-IgA)	7
Purpura nephritis	8
Lupus nephritis	5
(I-b: normal glomeruli)	
(V-a: membranous glomerulonephritis)	
Membranoproliferative glomerulonephritis	2
Poststreptococcal acute glomerulonephritis	2
Minimal change nephrotic syndrome	5
Membranous nephropathy	4
Urinary tract infection	14
Pyelonephritis	10
Hemorrhagic cystitis	4
Microscopic hematuria	11
Non-glomerular bleeding	3
Nutcracker phenomenon	1
Hypercalciuria	2
Orthostatic proteinuria	8
Kawasaki disease	22
Respiratory tract infection	28

Mes-PGN: mesangial proliferative glomerulonephritis.

change nephrotic syndrome; MCP-NAG, m-cresolsulfonphthaleinyl NAG; Mes-PGN, mesangial proliferative glomerulonephritis; MPGN, membranoproliferative glomerulonephritis; MTT, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide; NAG, N-acetyl-β-D-

り組織学的に診断されている．尿路感染症は尿細菌培養にてコロニー数が10^5/ml 以上，Nutcracker 現象は腹部超音波断層法にての左腎静脈の狭窄および腎門部側での拡張所見の存在[18][19]，高カルシウム尿症は尿中カルシウム排泄量が 4mg/kg/日以上[20]，体位性蛋白尿は慢性腎炎の存在を除外したうえで前彎負荷試験にて[21]，川崎病は厚生省川崎病研究班の「川崎病診断の手引き」(1984年9月改訂4版)[22]にてそれぞれ診断した．

尿は来院時尿もしくは入院患者では起床第2尿を遠心しその上清を，血清は採尿と同時に採血した新鮮血より分離し用いた．尿は透析膜(三光純薬，東京)に密封し風乾にて約10倍に濃縮した．その濃縮尿と血清を56°C，30分の熱処理によって非働化した後，リン酸緩衝生理食塩水 (phosphate-buffered saline, PBS) (pH 7.4)で24時間，2回，および RPMI 1640 培養液 (Gibco laboratories, Grand Island, New York, U. S. A.) で，24時間，1回透析後，0.45μm 異物濾過フィルターマイレクス HA (日本ミリポアリミテッド，東京) にて濾過し，測定まで−20°Cで凍結保存した．

なお加熱，透析及び濃縮処理が IL-6 活性に与える影響は殆ど認められなかった．

II．IL-6 活性の測定

IL-6 活性は，IL-6 依存性マウスハイブリドーマ・クローンである MH60・BSF2 (大阪大学医学部腫瘍病理平野俊夫教授，同第三内科岸本忠三教授より供与) に対する増殖促進効果[23]を指標としたバイオアッセイ法により測定した．すなわち96穴プレート (Corning Glass Works, New York, U. S. A.) に，検体ないしレコンビナイトIL-6 (recombinant IL-6, rIL-6) (大阪大学医学部腫瘍病理平野俊夫教授，同第三内科岸本忠三教授より供与) の2倍希釈系列を作成した．そこで，MH60・BSF2 継代3日目の対数増殖期にあるものを採取し，洗浄後 IL-6 を含まない培養液中で6時間 (前) 培養して細胞に結合した IL-6 を除去した後，再びこれらの細胞を洗浄し上記プレートの各穴に 1×10^4 個ずつ分注した．プレートは炭酸ガス培養器にて48時間培養した．

MH60・BSF2 の増殖は，3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri, U. S. A.) を用いた比色定量法により行った[24]．すなわち，培養終了4時間前に MTT を PBS にて 5mg/ml に調整し，各穴に 20μl ずつ分注した．培養終了後，プレートを 200 G，5分間遠心し，上清を捨て余分な染色液や培養液をペーパータオルにて除去した．その後，各穴に酸性化イソプロピルアルコール (0.04 N HCl isopropyl alcohol) を 100μl ずつ添加した．完全に色素が溶出してから，20μl のデタージェント溶液 (3% sodium dodecyl sulfate 水溶液) を加え，550nm における吸光度を酸素免疫測定装置 ELISA Analyser EAR 400 (SLT-Labinstruments, Salzburg, Austria) により測定した．IL-6 活性は rIL-6 により得られた標準曲線をもとに算出した．rIL-6 の特異活性は IL-6 反応性 Epstein-Barr ウイルス感染細胞株である SKW6-CL-4 を用いた検討で 5×10^6 U/mg とされている．

なお尿中 IL-6 活性は，クレアチニン (creatinine, Cr) にて補正した値を用いた (U/g・Cr)．尿中クレアチニン値は，クレアチニン測定用キット (クレアチニンーテストワコー®，Jaffé 法) (和光純薬工業，大阪) にて測定した．

III．尿中の N-acetyl-β-D-glucosaminidase (NAG) 活性，β_2-ミクログロブリン値および蛋白尿，血尿の評価

尿中NAG 活性，β_2-ミクログロブリン値は，当付属病院中央検査室にてそれぞれ m-cresolsulfonphthaleinyl NAG (MCP-NAG) 基質法[25]，ラテックス免疫比濁法[26]にて測定し，その結果を尿中クレアチニン値にて補正した．尿中蛋白および潜血の評価は試験紙法 (エームス尿検査試験紙) (マイルス・三共株式会社，東京) にて行った．

IV．メサンギウム細胞増殖の程度と尿中 IL-6 活性との関係

IgA 腎症，非 IgA 腎症，紫斑病性腎炎などのメサンギウム増殖性腎炎の患者で，検体尿の採取時より過去1年以内 (平均5ヵ月) に腎生検が施行してあり，腎生検後の病状がほとんど変化していないと思われる28例の組織所見を，メサンギウム細胞の増殖の程度より "軽度" ("mild")，"中等度" ("moderate")，"高度" ("severe") の3群に分け，その増殖の程度と尿中 IL-6 活性との比較検討を行った．なお増殖の程度は，末梢のメサンギウム領域に4個以上のメサンギウム細胞の増殖があるが比較的その程度は軽く糸球体毛細血管内腔が良く開大しているものを "軽度" ("mild")，

glucosaminidase; PAF, platelet-activating factor; PBS, phosphate buffered saline; PDGF, platelet-derived growth factor; PSAGN, poststreptococcal acute glomerulonephritis; rIL-6, recombinant IL-6; RTI, respiratory tract infection; sIL-6, serum IL-6; u-IL-6, urinary IL-6

糸球体毛細血管内腔の狭小化が著明なほどにメサンギウム細胞の増殖しているものを“高度”(“severe”)とし，さらにその中間群を“中等度”(“moderate”)とした(図1).

V．抗ヒト IL-6 抗体をもちいた免疫組織学的染色法

メサンギウム細胞が本当に IL-6 を産生しているかどうかを確認するため，“中等度”群の一例より腎生検にて得られ－20℃凍結保存の腎組織切片に，モノクローナル (monoclonal) 抗ヒト IL-6 抗体を用いた酵素抗体法による組織学的染色を施行してみた．モノクローナル抗ヒト IL-6 抗体 (α-BSF2-60, IgM, kappa) は大阪大学医学部腫瘍病理平野俊夫教授より供与されたものを使用し，alkaline phosphatase monoclonal anti-alkaline phosphatase (APAAP) 法[27]にて染色した．なお，浸潤している単球/マクロファージの同定には抗 CD14 抗体 (OKM14, IgG2a; Ortho Diagnostic System Inc., Raritan, New Jersey, U. S. A.) を使用し同じく APAAP 法にて染色した．

V．統計学的検討

各測定値は平均±標準偏差 (mean±S. D.) で表し，各測定値の比較検定には *t* test を用い，$p<0.05$にて有意の差とした．

成　　績

I．血清および尿中IL-6 活性の正常値

今回用いた IL-6 活性測定法の検出感度は 0.03U/ml 以上 (>6pg/ml) であった．すでに当教室の Ueno ら[28]や高野[29]のデーターでも示してあるように，このバイオアッセイ法における IL-6 活性の特異性は中和試験により証明済みである．

健康成人30名より得られた血清 IL-6 活性はすべて検出感度以下 (0.03U/ml 以下) であった．また尿中 IL-6 活性は 5.6±7.7U/g•Cr であり正常値を (平均値＋2×標準偏差) 以下つまり 21.0U/g•Cr 以下とした．

II．各種疾患における尿中 IL-6 活性

糸球体腎炎のうちメサンギウムの増殖性変化が主病変である IgA 腎症，非 IgA 腎症，紫斑病性腎炎では，尿中 IL-6 活性は正常範囲内から高値を示すものまで種々であった．こられの疾患におけるメサンギウム増殖性変化との関係は (結果III) に後述する．その他の増殖性糸球体腎炎では，溶血性連鎖球菌感染後急性糸球体腎炎で急性期に高値を示し回復期には正常化しており，また膜性増殖性糸球体腎炎の2例ではいずれも高値を示していた．非増殖性糸球体疾患である微少変化型ネフローゼ症候群 (病初期のネフローゼ期)，ループス腎炎 (WHO の分類の I-b: 微少変化型腎炎と V-a: 膜性腎炎) および膜性腎症などでは，微少変化型ネフローゼ症候群の一例をのぞいた大部分が低値であった．

他方，非糸球体性血尿や体位性蛋白尿および微少血尿の症例では，一例を除いた全てが低値であった．

尿路感染症では全例急性期に高値を示し回復期には正常化していた．なお腎盂腎炎と出血性膀胱炎との間

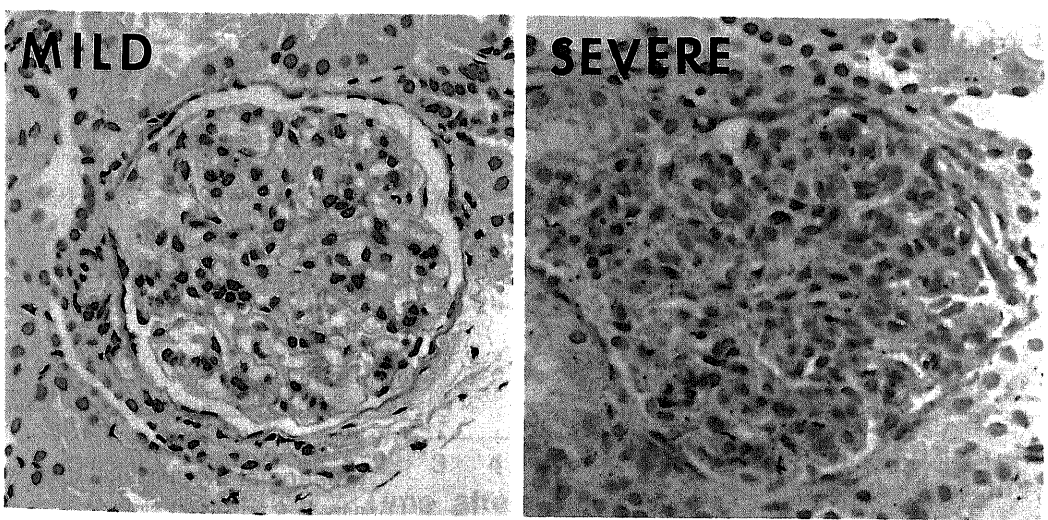


Fig. 1. Definition of mesangial hypercellularity. (MILD) "mild type": mesangial hypercellularity is mild and capillary lumina are well opened. (SEVERE) "severe type": there is closure of capillary lumina due to mesangial hypercellularity. "Moderate type" is intermediate between "mild type" and "severe type".

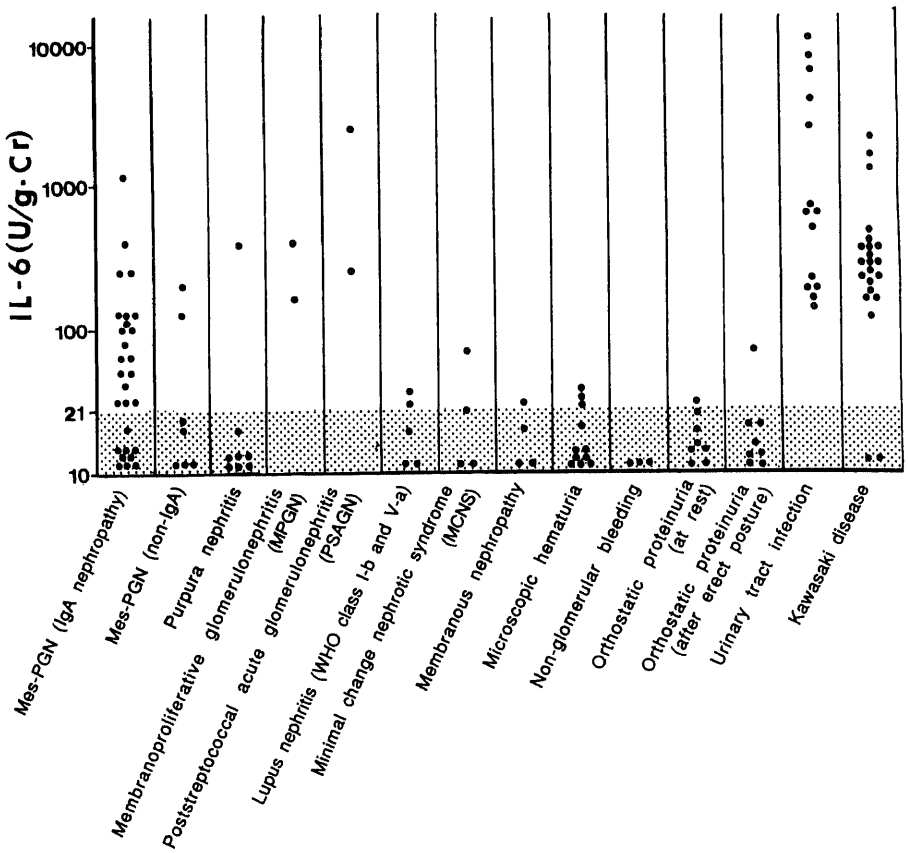


Fig. 2. Urinary IL-6 activities in various disease conditions. Urinary IL-6 activities in patients with each disease were indicated by closed circles. Mes-PGN: mesangial proliferative glomerulonephritis. ▨, normal range.

に特に差は認められなかった (図2).

Ⅲ. メサンギウム増殖性腎炎と尿中 IL-6 活性との関係

前述したように組織学的所見と比較し得たメサンギウム増殖性腎炎患者28例におけるメサンギウム細胞増殖の程度と尿中 IL-6 活性との比較では，“軽度”群において尿中 IL-6 活性は 27.3±54.1U/g·Cr，“中等度”群で 74.8±43.2U/g·Cr，“高度”群で 326.0±114.6U/g·Cr であり増殖性変化が強いほど尿中 IL-6 活性は高かった (図3).

さらに当科に通院中の患者のうち，経過観察できた“中等度”，“高度”群で，初回の尿中 IL-6 活性値の高かった症例に対し数ヵ月後に再び尿中 IL-6 活性を測定したが，多少の変動はあるもののすべて正常値以上であった (図4). ところが，初回の尿中 IL-6 活性が正常であった“軽度”群の IgA 腎症の患者で，経過観察中に感冒などの感染症を契機に急性増悪し肉眼的血

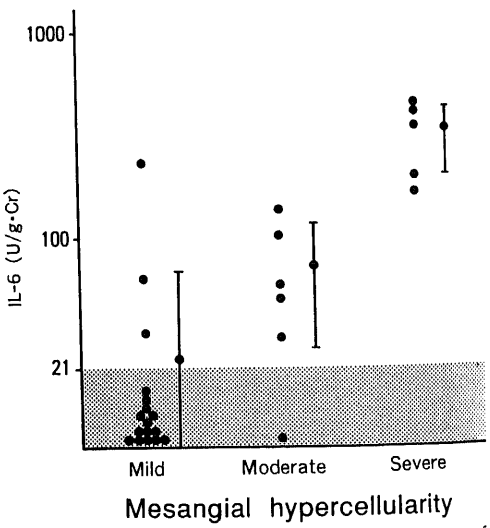


Fig. 3. Urinary IL-6 activity in various degree of mesangial hypercellularity. The mean values ± a standard deviation were indicated by closed circles with vertical bars. ▨, normal range.

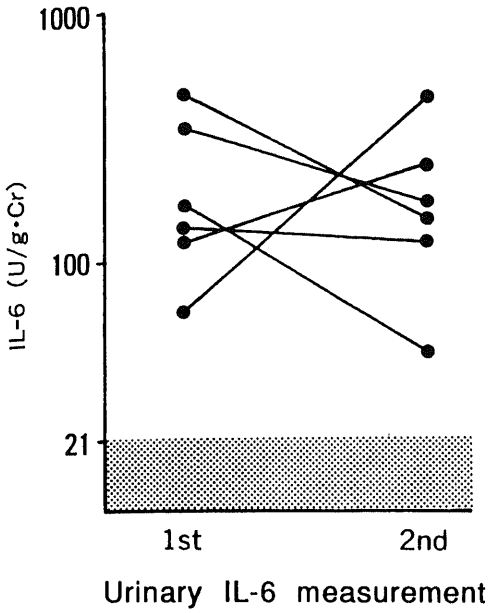


Fig. 4. Time course of urinary IL-6 activity in 6 patients with "moderate" or "severe" mesangial proliferative glomerulonephritis. Periods ranging from the first (1st) to the second (2nd) urinary IL-6 measurement ranged several months. ▩, normal range.

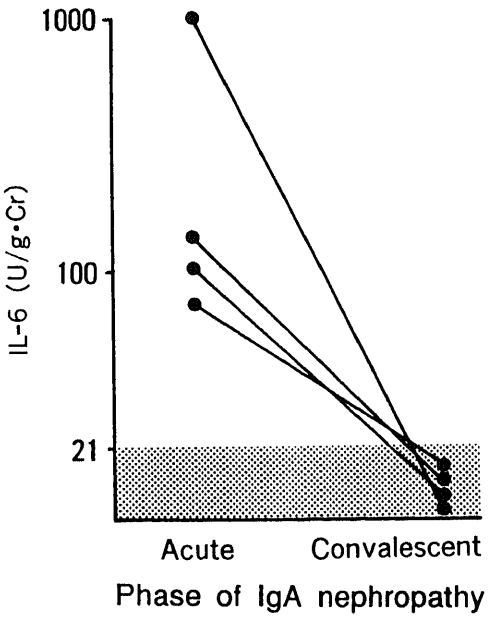


Fig. 5. Urinary IL-6 activities in 4 patients with" mild" mesangial proliferative glomerulonephritis (IgA nephropathy) at the acute phase (episode of macroscopic hematuria with fever) and convalescent phase. ▩, normal range.

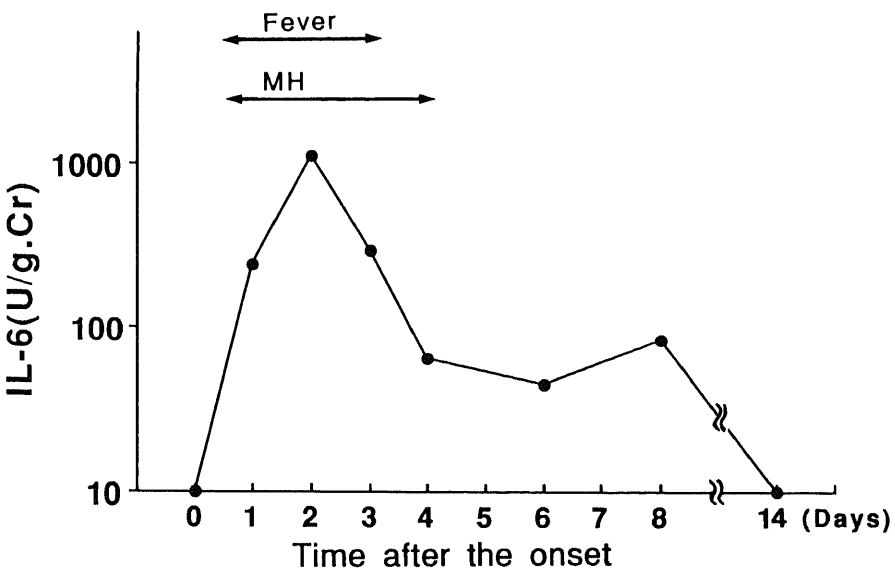


Fig. 6. Serial urinary IL-6 activity in a patient with IgA nephropathy. A typical result of urinary IL-6 activity seen during episode of macroscopic hematuria (MH) with fever (>38°C) is represented.

尿を呈するようになった4症例を経験した．4症例とも急性増悪期に尿中 IL-6 活性は高値を呈し尿所見の正常化とともに尿中 IL-6 活性も正常化するという一過性の上昇が認められた (図5)．図6には典型的な症例の経過を示した．

尿中 IL-6 活性と蛋白尿・血尿との比較は IgA 腎症28例について行なった．顕微鏡的血尿の程度 (試験紙法にて (−) から (3+)) とは明らかな相関は得られなかったが，顕微鏡的血尿と肉眼的血尿の間には有意差をもって肉眼的血尿における尿中 IL-6 活性値が高かった (図7)．蛋白尿との関係では，尿蛋白陰性もしくは痕跡程度 (試験紙法にて (−) や (±)) では尿中 IL-6 活性は低く，明らかな蛋白尿といえる (1+) 以上で高い傾向にあった (図8)．統計学的には，(−) と (3+) との間で有意差がみられた．

メサンギウム細胞が IL-6 を産生しているのかどうかを確認するため，“中等度”群の一例より腎生検にて得られた凍結切片に抗ヒト IL-6 抗体による免疫組織学的染色を APAAP 法にて施行した．その結果，抗ヒト IL-6 抗体にて腎糸球体のメサンギウム領域が強く染色された．なお浸潤している単球/マクロファージが染まっている可能性もあり抗 CD14 抗体にても染色してみたがごく一部が染まるのみであった (図9)．よって抗ヒト IL-6 抗体にて染まったのはメサンギウム細胞であると考えられた．

Ⅳ．川崎病における尿中 IL-6 活性

無菌性膿尿を伴うことで知られる川崎病では2例を除く大部分の症例で急性期に高値を示し回復期には正常化していた (図2)．川崎病の膿尿は1視野10個前後から100個前後までと多彩であったが，その数と尿中 IL-6 活性との間に明らかな相関はなかった．なお尿中 IL-6 活性が正常値を示した川崎病の2症例はいずれも測定時に膿尿が認められなかった症例である．

川崎病における尿中 NAG 活性と尿中β_2-ミクログロブリン値を，測定し得た症例だけではあるが図10に示す．大部分の症例が両者ともに高値を示している．さらに尿中 NAG 活性，尿中β_2-ミクログロブリン，尿中 IL-6 活性，血清 IL-6 活性および血清 CRP (C-reactive protein) を経時的に測定し，川崎病の経過に伴うそれぞれの変化を検討した．その経過を図11に示す．本例では，いずれの値も第6〜7病日に最高値

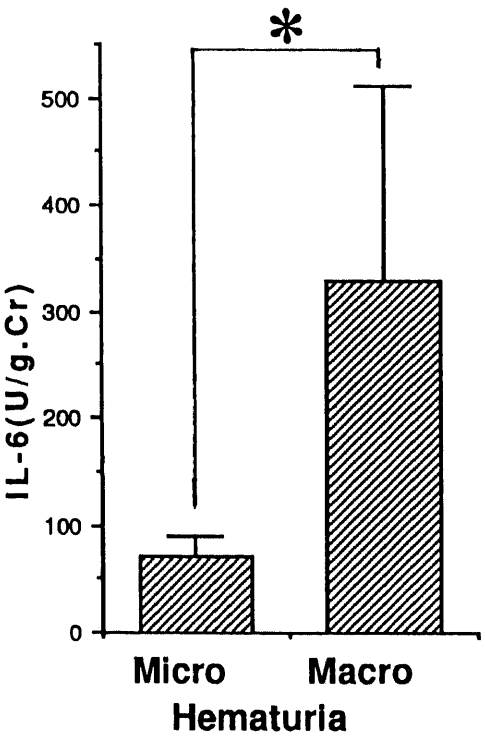


Fig. 7. A correlation between urinary IL-6 activity and hematuria. There is significant difference between microscopic hematuria and macroscopic hematuria ($p<0.05$). Each value represents a mean value ± a standard deviation.
Significant difference ; *$p<0.05$.

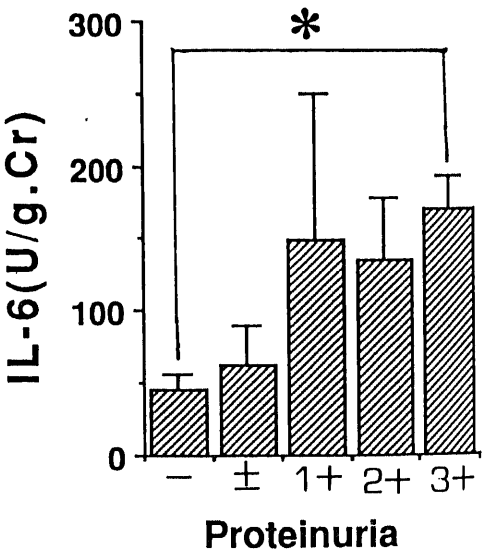


Fig. 8. A correlation between urinary IL-6 activity and proteinuria. There is significant difference between (±) and (3+) ($p<0.05$). Each value represents a mean value ± a standard deviation.
Significant difference ; *$p<0.005$.

を示し第14病日の寛解期にはすべて正常化していた．無菌性膿尿を認めている期間は有熱期間よりも短かった．同じように尿中 IL-6 活性，尿中 NAG 活性，尿中 β_2 ミクログロブリンの異常値を示す期間は血清 IL-6 活性，血清 CRP が上昇している期間よりも短くかつ早期に正常化していた．

V．血清 IL-6 活性と尿中 IL-6 活性との比較

無菌性膿尿を伴った川崎病では血清 IL-6 活性，尿中 IL-6 活性ともに高値であったが，尿所見が正常である上・下気道炎では血清 IL-6 活性は高値であるにもかかわらず尿中 IL-6 活性は低値であった．逆に尿中 IL-6 活性が高値であった腎炎群で，全身性の炎症所見を伴っていない6症例において血清 IL-6 活性を測定してみたがいずれも低値であった（図12）．このように尿中 IL-6 活性の上昇は，単純に血中から尿中への漏出では説明できず腎・尿路系における何等かの病変の存在を反映している可能性が示唆された．

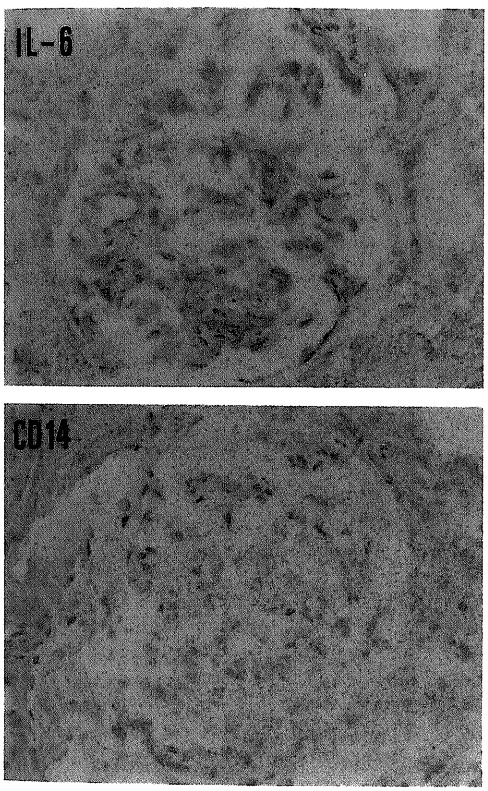


Fig. 9. Immunohistochemical analysis of IL-6 producing cells in glomeruli. The biopsy specimen from a patient with "moderate" mesangial proliferative glomerulonephritis was stained with monoclonal antibodies against human IL-6 (upper) and CD14 (lower) and counterstained red by APAAP technique.

考　　察

腎・尿路系疾患の代表でもある糸球体腎炎に関しては，古くから成因や進展機序に関していろいろと研究がなされており，何らかの遺伝的要因に免疫病理学的発生機序や炎症のメディエーター作用が加わり発症進展するものと考えられている[30]．最近，糸球体病変の主体をなすメサンギウム細胞とサイトカインとの関係が注目され，培養メサンギウム細胞を用いた実験系より各種サイトカインを含めた多種のメサンギウム細胞増殖・抑制因子が判明しており[1]，また刺激されたメサンギウム細胞自身も PDGF[2)3)]，IL-1[4)5)]，IL-6[6)7)]，IGF-I[8]，PAF[9] などの産生能を有することも明らかとなっている．とくに前4者はオートクリン増殖因子 (autocrine growth factor) としての可能性が示唆されている．

なかでも IL-6 に関して Horiiら[6]は，前述のオートクリン増殖因子としての可能性の他に，臨床的にはメサンギウム増殖性腎炎患者の尿中においてその活性を検

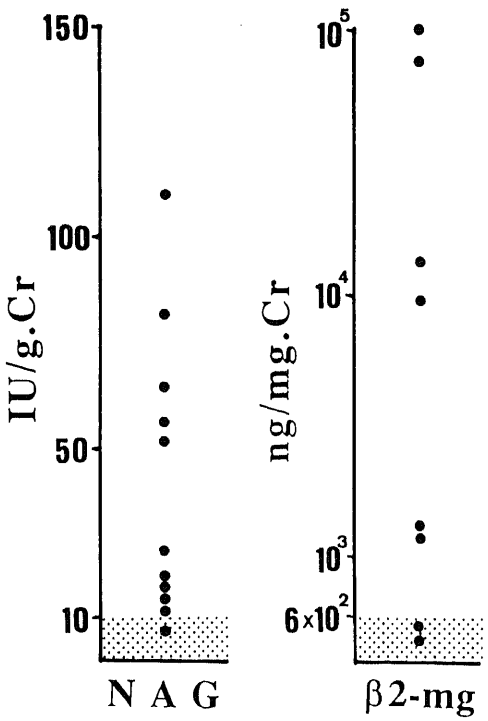


Fig.10. Levels of NAG and β_2-microglobulin (β_2-mg) in patients with Kawasaki disease at the acute phase. ▨, normal range.

出し，その活性値とメサンギウム細胞増殖との間に相関があり，かつその腎組織をモノクローナル抗ヒトIL-6 抗体を用いた免疫組織染色にて糸球体に IL-6 を証明したと報告している．また Suematsu ら[31]は，作製した IL-6 トランスジェニックマウス (transgenic mouse) において組織学的にメサンギウム増殖性腎炎を併発していることから，IL-6 は強力なメサンギウム増殖作用を有していると報告している．

本研究では，増殖性腎炎をはじめとした各種腎・尿路系疾患および無菌性膿尿を伴うことで知られる川崎病など尿所見異常を呈するような各種疾患において尿中 IL-6 活性を測定し，その臨床的意義について検討してみた．

糸球体疾患における尿中 IL-6 活性は，IgA 腎症，非 IgA 腎症，紫斑病性腎炎などの，メサンギウム増殖性腎炎で正常範囲内から高値を示す例まで種々であったが，メサンギウム細胞の増殖性変化の強い症例ほど高値を示した．また，膜性増殖性糸球体腎炎でもメサンギウム細胞の増殖性変化が強く認められるが，同様に尿中 IL-6 活性は高値であった．しかし，膜性腎症，微少変化型ネフローゼ症候群およびループス腎炎 (微少変化型腎炎：WHO 分類の I-b，膜性腎炎：WHO 分類の V-a) のような非増殖性糸球体疾患では 1 例を除いて大部分が低値を示していた．さらにメサンギウム増殖性糸球体腎炎患者の腎組織をモノクローナル抗ヒト IL-6 抗体を用いた免疫組織学的染色によりメサンギウム領域が強く染色された．これらの結果からは，Horii ら[6]の報告と同様メサンギウム細胞が IL-6 を産生し尿中に放出しており尿中 IL-6 活性はメサンギウム細胞の増殖性変化の程度を知る良い指標になり得るものと考えられた．なお，メサンギウム細胞から尿腔への放出機序に関してはメサンギウム細胞間隙からこれに接した基底膜を透過して尿腔にいたるものと想定されるが[32]その確証は得ていない．

今回測定した微少血尿群では尿中 IL-6 活性の上昇はなかった．これらの症例は腎生検を施行していないが，尿中 IL-6 活性値からそのメサンギウム細胞の増殖性変化は軽微なものと推測された．また微少変化型ネフローゼ症候群の一例で尿中 IL-6 活性が異常高値を示していた．この症例では急性期において腎生検は未施行であるが，本症では急性期にメサンギウム細胞の増殖性変化を認める例もあり，そのような病態をみている可能性が示唆された．

非糸球体性血尿や体位性蛋白尿のような非糸球体疾患では，尿中 IL-6 活性は低値を示しており腎炎との

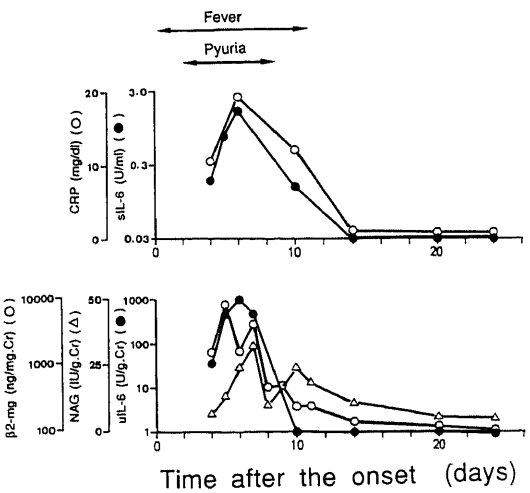
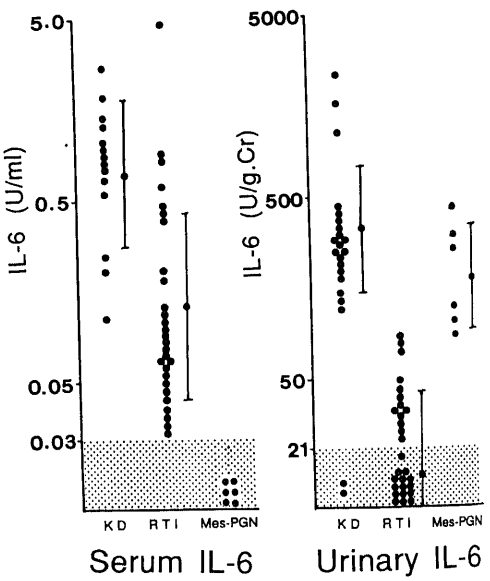


Fig.11. Serial serum and urinary levels of IL-6 activity in a patient with Kawasaki disease. A typical result of serial serum and urinary levels of IL-6 activity seen in a case of Kawasaki disease is represented. sIL-6, serum IL-6; uIL-6, urinary IL-6.



Fgi.12. Urinary IL-6 activities in Kawasaki disease (KD), respiratory tract infection (RTI) and mesangial proliferative glomerulonephritis (Mes-PGN). The mean values ± a standard deviation were indicated by closed circles with vertical bars. ▨,normal range.

鑑別における補助的診断法としても有用であると思われた．なお，体位性蛋白尿の前彎負荷後に尿中 IL-6 活性が異常高値を示した症例が一例あった．慢性腎炎の固定期では体位性蛋白尿と同じく安静時に蛋白尿が消失し起立および前彎負荷にて蛋白尿が出現する病態をとることがしばしばある．本症例の場合，このような病態をみている可能性もあり今後注意深く経過観察してゆく必要があると思われた．

一方，尿中 IL-6 活性に視点を向けた場合，その活性の由来はメサンギウム細胞以外にもいろいろ考えられる．今回，著者は上述の結果以外に，メサンギウム細胞の増殖性変化が“軽度”な群で感染を契機に急性増悪した例，溶血性連鎖球菌感染後急性糸球体腎炎，さらに尿路感染症などで，尿中 IL-6 活性が急性期に高値を示し寛解期には正常化するという結果も得た．メサンギウム増殖性腎炎で感染を契機とした急性増悪期（すべて IgA 腎症）に腎生検を施行した症例は4例中1例しかなかったが，一般にメサンギウム細胞の増殖性変化はもとより細胞性半月体の存在や炎症性細胞の浸潤も強く認められる[33)~35)]．溶血性連鎖球菌感染後急性糸球体腎炎では，メサンギウム細胞の増殖性変化のほかに血管内皮細胞の増殖や炎症性細胞の浸潤，さらに細胞性半月体を認めることが多い[36)]．また尿路感染症では，単球/マクロファージのような炎症性細胞の組織内（腎内の間質や膀胱上皮）への浸潤が特徴である[37)]．なお IL-6 の産生細胞としては，線維芽細胞，単球/マクロファージ，T細胞，B細胞，血管内皮細胞，滑膜細胞，脳アストロ・グリア細胞，皮膚ケラチノサイト，各種腫瘍細胞そしてメサンギウム細胞などが知られており[16)17)]，上述の組織学的特徴と考え合わせると，尿中 IL-6 の産生細胞はメサンギウム細胞の他に単球/マクロファージ，線維芽細胞，血管内皮細胞などの可能性も考えられた．以上から，尿中 IL-6 活性は急性に経過する腎・尿路系疾患の炎症の程度や慢性腎炎におけるメサンギウム細胞の増殖の程度などを知る良い指標であると思われたが，疾患や病態の違いによってその産生細胞には違いがあるものと考えられた．

さらに尿中 IL-6 活性に対する血清 IL-6 活性の影響を検討した．無菌性膿尿を伴った川崎病では，血清・尿中とも高値であった．上・下気道炎では，血清 IL-6 活性が高値にもかかわらず尿中 IL-6 活性は低値であった．さらに全身性の炎症所見を伴っていないようなメサンギウム増殖性腎炎患者で，尿中 IL-6 活性の高かった症例において血清 IL-6 活性を測定してみたが低値であった．以上の所見より血清 IL-6 の尿中への漏出は完全には否定できないものの，その影響は少ないと考えられ，尿中 IL-6 活性の上昇は腎・尿路系における何らかの炎症の存在を示唆するものと考えられた．

すでに何度か述べているように川崎病において無菌性膿尿を伴うことはよく知られており，本症において腎・尿路系に何等かの炎症が存在しているものと思われる．本症における腎病変に関する報告は急性腎不全[38)]やネフローゼ症候群の合併例[39)]，剖検例[40)~42)]さらに尿中 NAG 活性を測定した報告[43)]などがあるがその数は少ない．これは川崎病でみられる膿尿は一過性であり腎機能障害を呈することはほとんどなく腎生検の機会が少ないためと思われる．剖検例の報告[40)~42)]では，腎内の動脈炎，糸球体の増殖性変化（メサンギウム細胞，上皮細胞，内皮細胞），間質における細胞浸潤（間質性腎炎），前立腺炎，膀胱炎などがあげられる．これらの病変は致命的な症例における所見であり，膿尿はむしろ病初期に一過性に認められることから，川崎病すべての症例に当てはまるものではないと思われる．また，浅見[43)]は，急性期において全例尿中 NAG 活性は高く，川崎病の病初期に間質性腎炎が潜在している可能性を報告している．今回の著者の検討では，川崎病の急性期における尿中 IL-6 活性は大部分が高値を示した．この活性値は膿尿の程度とは明らかな相関が得られなかったが膿尿が消失すると同時にすみやかに正常化しており，川崎病の病初期にしかも一過性に上昇することがわかった．また，これらの患者において，尿中NAG 活性，尿中β_2ミクログロブリン値ともに一過性の高値を示しており，川崎病の急性期では腎臓内に尿細管障害を伴うような強い炎症が一過性ではあるが存在しているものと思われた．

以上，尿中 IL-6 は腎・尿路系疾患の病態を反映し，多彩な細胞に由来するものと推測されるが，各疾患間での尿中 IL-6 産生細胞の相違，同定については今後の検索が待たれる．また，本研究では尿中 IL-6 活性の評価にバイオアッセイ法を用いたが，最近ではより簡便な酵素標識免疫吸着測定法（ELISA）も確立され入手可能となっており，今後，後者の方法による尿中 IL-6 の測定も進めてゆく計画である．

結　　論

腎・尿路系疾患および川崎病など尿所見異常を伴うような各種疾患における尿中 IL-6 活性を測定し，その臨床的意義や川崎病の腎障害について検討し以下の結論を得た．

1．尿中 IL-6 活性は腎・尿路系におけるメサンギ

ウム細胞の増殖性変化を含めた何等かの炎症の存在ならびにその程度を反映しており，その病態を知る良い指標になり得ると思われる．

2．尿中 IL-6 活性は非糸球体性疾患の鑑別における補助的診断としても有用かと思われる．

3．川崎病の急性期では，ほぼ全例において尿中 IL-6 活性が高値を示し，さらに尿中 NAG 活性，尿中 β_2 ミクログロブリン値の高値も認めており，一過性ではあるが腎臓内に尿細管障害を伴うような強い炎症が存在するものと考えられる．

4．尿中 IL-6 活性の産生細胞としては，各疾患の組織学的所見との比較によりメサンギウム細胞をはじめ単球/マクロファージ，線維芽細胞，血管内皮細胞などの可能性も考えられる．

謝　　辞

稿を終えるにあたり，御指導と御校閲を賜りました恩師谷口　昴教授に深謝いたします．また直接御指導いただきました当教室の宮脇利男講師，谷内江昭宏助手，前講師の加藤英治先生，第一内科学教室の横山　仁助手，金沢大学医療技術短期大学の友杉直久助教授をはじめ，始終研究にご協力いただきました小児科免疫グループ，腎臓グループの諸兄ならびに教室員の皆様に感謝いたします．さらに MH60.BSF2, rIL-6, モノクローナル抗ヒト IL-6 抗体を供与して頂きました大阪大学医学部腫瘍病理の平野俊夫教授，同第三内科の岸本忠三教授ならびに貴重な検体の収集に御協力いただきました各病院の先生方に深く御礼申し上げます．なお，本論文の要旨は第93回日本小児科学会学術集会（1990年5月，東京）において発表した．

文　　献

1) **Mene, P., Simonson, M. S. & Dunn, M. J.:** Physiology of the mesangial cell. Physiol. Rev., **69**, 1347-1424 (1989).

2) **Silver, B. J., Jaffer, F. E. & Abbud, H. E.:** Platelet-derived growth factor synthesis in mesangial cells. Induction by multiple peptide mitogens. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **86**, 1056-1060 (1989).

3) **Abboud, H. E., Poptic, E. & DiCorleto, P.:** Production of platelet-derived growth factor-like protein by rat mesangial cells in culture. J. Clin. Invest., **80**, 675-683 (1987).

4) **Lovett, D. H. & Larsen, A.:** Cell cycle-dependent interleukin-1 gene expression by cultured glomerular mesangial cells. J. Clin. Invest., **82**, 115-122 (1988).

5) **Werver, H. I., Emancipator, S. N., Tykocinski, M. L. & Sedor, J. R.:** The interleukin 1 gene is expressed by rat glomerular mesangial cells and is augmented in immune complex glomerulonephritis. J. Immunol., **138**, 3207-3212 (1987).

6) **Horii, Y., Muraguchi, A., Iwano, M., Matsuda, T., Hirayama, T., Yamada, H., Fujii, Y., Dohi, K., Ishikawa, H., Ohmoto, Y., Yoshizaki, K., Hirano, T. & Kishimoto, T.:** Involvement of IL-6 in mesangial proliferative glomerulonephritis. J. Immunol., **143**, 3949-3955 (1989).

7) **Ruef, C., Budde, K., Lacy, J., Northemann, W., Baumann, M., Sterzel, B. & Coleman, D. L.:** Interleukin 6 is an autocrine growth factor for mesangial cell. Kidney Int., **38**, 249-257 (1990).

8) **Aron, D. C., Rosenzweig, J. L. & Abboud, H. E.:** Synthesis and binding of insulin-like growth factor-I by human glomerular mesangial cells. J. Clin. Endocrinol. Metab., **68**, 585-591 (1989).

9) **Schlondorff, D., Goldwasser, P. & Neuwirth, R.:** Production of platelet-activating factor in glomeruli and cultured glomerular mesangial cells. Am. J. Physiol., F1123-F1127 (1986).

10) **Kishimoto, T. & Hirano, T.:** Molecular regulation of B lymphocyte response. Annu. Rev. Immunol., **6**, 485-512 (1988).

11) **寺西　強：** B細胞の分化・増殖に関与するサイトカイン．臨床免疫，**20**, 1-10 (1988).

12) **Haegeman, G., Content, J., Volckaert, G., Derynck, R., Tavernier, J. & Fiers, W.:** Structure analysis of the sequence for an inducible 26-kDa protein in human fibroblasts. Eur. J. Biochem., **159**, 625-632 (1986).

13) **Sehgal, P. B., May, L. T., Tamm, I. & Vilcek, J.:** Human interferon and B-cell differentiation factor BSF-2 are identical. Science, **235**, 731-732 (1987).

14) **Van Damme, J., Opdenakker, G., Simpson, R. J., Rubira, M. R., Cayphas, S., Vink, A., Billiau, A. & Van Snick, J.:** Identification of the human 26-kD protein, interferon β_2 (IFN β_2), as a B cell hybridoma/plasmacytoma growth factor induced by interleukin 1 and tumor necrosis factor. J. Exp. Med., **165**, 914-919 (1987).

15) **Gauldie, J., Richards, C., Harnish, D., Lansdorp, P. & Baumann, H.:** Interferon β_2/B-cell stimulatory factor type 2 shares identity with monocyte-derived hepatocyte-stimulating factor and

regulates the major acute phase protein response in liver cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **84**, 7251-7255 (1987).

16) **審良静男**：IL-6 産生細胞と遺伝子発現．実験医学, **7**, 21-26 (1989).

17) **Hirano, T. & Kishimoto, T.**: Interleukin-6. *In* M. B. Sporn & A. B. Roberts (eds.), Handbook of Experimental Pharmacology, Vol. 95/I, p633-665, Springer-Verlag Press, Berlin, 1990.

18) **Wolfish, N. M., McLaine, P. N. & Martin, D.**: Renal vein entrapment syndrome (frequency and diagnosis). A lesson in conservatism. Clin. Nephrol., **26**, 96-100 (1986).

19) **Nishimura, Y., Fushiki, M., Yoshida, M., Nakamura, K., Imai, M., Ono, T., Morikawa, S., Hatayama, T. & Komatz, Y.**: Left renal vein hypertension in patients with left renal bleeding of unknown origin. Radiology, **160**, 663-667 (1986).

20) **黒瀬裕史，山岡完次，石田　允，清野良紀**：特発性高カルシウム尿症．小児科臨床，**39**, 769-774 (1986).

21) **Springberg, P. D., Garrett, L. E., Thompson, A. L., Collins, N. F., Lordon, R. E. & Robinson, R. R.**: Fixed reproducible orthostatic proteinuria: Results of a 20-year follow-up study. Ann. Intern. Med., **97**, 516-519 (1982).

22) **川崎富作**：「診断の手引き」の解説．川崎病（川崎富作，重松逸造，濱島義博，柳川　洋，加藤裕久編），第1版，112-116頁，南江堂，東京，1988.

23) **Matsuda, T., Hirano, T. & Kishimoto, T.**: Establishment of an interleukin 6 (IL-6)/B cell stimulatory factor 2-dependent cell line and preparation of anti-IL6 monoclonal antibodies. Eur. J. Immunol., **18**, 951-956 (1988).

24) **Green, L. M., Reade, J. L. & Ware, C. F.**: Rapid colormetric assay for cell viability: Application to the quantitation of cytotoxic and growth inhibitory lymphokines. J. Immunol. Methods, **70**, 257-268 (1984).

25) **野戸　章，森　幸雄，北風　猛，中村益久**：NAG 活性測定法概説．臨床病理，特集56号，65-72 (1983).

26) **望月照次，石井規子，平沢政人，鵜沢龍一，千住紀，五味邦秀**：Latex Agglutination Photometric Immunoassay System による生体微量物質の定量：第6報 β_2-microglobulin の定量．機器・試薬，**8**, 1244-1248 (1985).

27) **Cordell, J. L., Falini, B., Erber, W. N., Ghosh, A. K., Abdulaziz, Z., Macdonald, S., Pulford, K. A. F., Stein, H. & Masson, D. Y.**: Immunoenzymatic labeling of monoclonal antibodies using immune complexes of alkaline phosphatase and monoclonal anti-alkaline phosphatese (APAAP Complexes). J. Histochem. Cytochem., **32**, 219-229 (1984).

28) **Ueno, Y., Takano, N., Kanagane, H., Yokoi, T., Yachie, A., Miyawaki, T. & Taniguchi, N.**: The acute phase nature of interleukin 6: studies in Kawasaki disease and other febrile illnesses. Clin. Exp. Immunol., **76**, 337-342 (1989).

29) **高野信彦**：ヒト末梢血の IL-6 産生能（菌血症モデルによる検討）．十全医会誌，**99**, 186-200 (1990).

30) **中本　安**：糸球体腎炎の全貌：臨床家はいかに腎炎を把握すればよいか．Medical Practice, **6**, 1588-1599 (1989).

31) **Suematsu, S., Matsuda, T., Aozasa, K., Akira, S., Nakao, N., Ohno, S., Miyazaki, J., Yamamura, K., Hirano, T. & Kishimoto, T.**: Ig G1 plasmacytosis in interleukin 6 transgenic mice. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **86**, 7547-7551 (1989).

32) **Latta, H. & Fligiel, S.**: Mesangial fenestrations, sieving, filtration and flow. Lab. Invest., **52**, 591-598 (1985).

33) **Nicholls, K. M., Fairley, K. F., Dowling, J. P. & Kincaid-Smith, P.**: The clincal course of mesangial IgA associated nephropathy in adults. Q. J. Med., **210**, 227-250 (1984).

34) **Kincaid-Smith, P., Nicholls, K. & Birchall, I.**: Polymorphs infiltrate glomeruli in mesangial IgA glomerulonephritis. Kidney Int., **36**, 1108-1111 (1989).

35) **Lévy, M., Gonzalez-Burchard, G., Broyer, M., Dommergues, J., Foulard, M., Sorez, J. P. & Habib, R.**: Berger's disease in children: natural history and outcome. Medicine, **64**, 157-180 (1985).

36) **Boineau, F. G. & Lewy, J. E.**: Glomerulonephritis associated with infection. A) Poststreptococcal glomerulonephritis. *In* S. G. Massay, & R. J. Glassock, (eds), Textbook of Nephrology, 2nd ed., p611-619, Williams & Wilkins Press, Baltimore, 1989.

37) **Feigin, R. D. & Cherry, J. D.**: Textbook of Pediatric Infectious Diseases, 2nd ed., p517-621, W. B. Saunders Campany, Philadelphia, 1987.

38) 川口 洋, 大矢達男, 鈴木英子: 経過中に急性腎不全の所見を示した川崎病の7歳女児の1例. 日児誌, **83**, 592-593 (1979).

39) **Yap, H. K., Yip, W. C., Giam, Y. C. & Tay, J. S.:** Nephrotic syndrome in Kawasaki disease. Aust. Paediatr. J., **25**, 241-242 (1989).

40) **Ogawa, H.:** Kidney pathology in muco-cutaneous lymphnode syndrome. 日腎誌, **27**, 1229-1237 (1985).

41) **Amano, S., Hazama, F., Kubagawa H., Tasaka, K., Haebara, H. & Hamashima, Y.:** General pathology of Kawasaki disease. Acta Pathol. Jpn., **30**, 681-694 (1980).

42) 浅地 聰, 渋谷宏行, 増田弘毅, 田中 昇: 川崎病における腎病変の病理形態学的研究: 冠動脈病変との関連も考慮して. 脈管学, **29**, 453-460 (1989).

43) 浅見 直: MCLS における腎障害: 尿中 NAG 活性動態よりの検討. 小児科診療, **45**, 1376-1380 (1982).

Detection and Clinical Usefulness of Urinary Interleukin-6 in Various Renal and Urinary Tract Diseases and Kawasaki Disease

Kazuhide Ohta, Department of Pediatrics, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920

J. Juzen Med Soc., **100**, 1004－1016 (1991)

Key words Interleukin 6 (IL-6), Renal and urinary tract disease, Urinary tract infection, Kawasaki disease

Abstract

Interleukin-6 (IL-6) plays a key role in inflammatory and immune responses in the host. In the present study, the IL-6 activity in the urine from patients with various diseases showing abnormal urinary findings was examined to elucidate the pathological and clinical significance of urinary IL-6. In patients with mesangial proliferative glomerulonephritis including IgA nephropathy, the urinary IL-6 activity tended to increase with the progression of mesangial hypercellularity. In four patients with IgA nephropathy, urinary IL-6 activities increased markedly but transiently during episodes of acute exacerbation plus upper respiratory tract infection. In addition, it was demonstrated that urine from patients with other types of proliferative glomerulonephritis such as poststreptococcal acute glomerulonephritis and membranoproliferative glomerulonephritis contained much IL-6. However, the levels of urinary IL-6 activity were almost within normal values in non-proliferative glomerular diseases such as membranous nephropathy, minimal change nephrotic syndrome and lupus nephritis (WHO class Ⅰ: normal glomeruli and Ⅴ: membranous glomerulonephritis), non-glomerular bleeding and orthostatic proteinuria. It should be noted that a marked increase in urinary IL-6 was often observed at the acute phase in patients with urinary tract infection. These results indicated that IL-6 in the urine may serve as an indicator of an active inflammatory process not only in the renal parenchyma but also in the urinary tract and may be derived from various types of cells participating for these inflammatory reactions. Furthermore, in most patients with Kawasaki disease, urinary IL-6 levels increased markedly in the acute phase and were related to those of N-acetyl-β-D-glucosaminidase (NAG) and β_2-microglobulin. The results support the notion that Kawasaki disease may be accompanied by some inflammatory process in the renal parenchyma, possibly including the renal tubules.