

ヒト培養網膜色素上皮細胞はインターロイキン6を産生する

千葉可芽里¹⁾²⁾, 稲田 捷也¹⁾, 坂本 真栄²⁾¹⁾岩手医科大学細菌学教室, ²⁾同 眼科学教室

要 約

培養ヒト網膜色素上皮細胞 (RPE) のインターロイキン6 (IL-6) の産生について, その培養上清中の IL-6 量を enzyme-linked immunosorbent assay キットで測定することにより検討した。その結果, 無刺激でも培養上清中に IL-6 を認め, さらに lipopolysaccharide (LPS) あるいはインターロイキン1 α による刺激で IL-6 量は約2~5倍の有意な上昇を示した。また, ハイドロコチゾンは10⁻⁷M以上の濃度で, LPSで刺激した RPE の IL-6 産生を約1/2に抑制した。RPEによって産生された IL-6 の分子量を測定するために行った培養上清のゲル濾過および western blotting analysis では, そのいずれにおいても分子量は約30,000~35,000であり, これまでに報告されている IL-6 の分子量と一致していた。以上の結果から, RPE が IL-6 を産生することが明らかとなり, 眼球内の免疫および炎症反応に対する IL-6 の関与が示唆された。(日眼会誌 97: 29-35, 1993)

キーワード: インターロイキン6, 網膜色素上皮細胞, リポ多糖, インターロイキン1 α , 培養

Human Cultured Retinal Pigment Epithelial Cells Produce Interleukin-6

Kagari Chiba¹⁾²⁾, Katsuya Inada¹⁾ and Shin-ei Sakamoto²⁾¹⁾Department of Bacteriology, ²⁾Department of Ophthalmology, School of Medicine, Iwate Medical University

Abstract

Production of interleukin 6 (IL-6) from cultured human retinal pigment epithelial cells (RPE) was demonstrated using an enzyme-linked immunosorbent assay. Production of IL-6 occurred without any stimulation and significantly increased approximately 2-5 times by lipopolysaccharide (LPS) or interleukin 1 α stimulation. Hydrocortisone reduced the production of the LPS-stimulated IL-6 to a half level. Both gel filtration and western blotting analysis indicated the molecular weight of IL-6 as 30,000~35,000. IL-6 produced in the RPE may play a role in amplifying ocular immune and inflammatory responses. (J Jpn Ophthalmol Soc 97: 29-35, 1993)

Key words: Interleukin-6, Retinal pigment epithelial cells, Lipopolysaccharide, Interleukin-1 α , Culture

I 緒 言

サイトカインは近年の基礎的研究の進歩や細胞工学の発達により, その炎症反応や免疫応答に果たす役割

が解明されつつある。サイトカインの一つであるインターロイキン6 (IL-6) は, 212残基のアミノ酸からなる蛋白で, 本来は生体の恒常性の維持に重要な役割を果たしているが, 炎症時には急性期蛋白の誘導あるい

別刷請求先: 020 盛岡市内丸19-1 岩手医科大学眼科学教室 千葉 可芽里

(平成4年3月31日受付, 平成4年6月11日改訂受理)

Reprint requests to: Kagari Chiba, M.D. Department of Ophthalmology, School of Medicine, Iwate Medical University, 19-1 Uchimaru, Morioka 020, Japan

(Received March 31, 1992 and accepted in revised form June 11, 1992)

はT細胞およびB細胞の分化・増殖を促すなどの多彩な生理活性を発揮して、炎症反応の進行に深く関与していることが明らかにされている。細菌あるいはウイルスの感染、火傷などの多くの急性炎症性疾患では血中に多量のIL-6が検出され、また慢性関節リウマチをはじめとする慢性炎症においても炎症組織からのIL-6の産生が確認され、血清中のIL-6濃度は炎症性疾患の重要な指標であるとされている。

眼組織においても、サイトカインが生体防御反応や炎症反応に関与していることが推察される。著者ら¹²⁾はこれまでに、培養したヒト角膜上皮細胞からはIL-1 α , β およびIL-6が、角膜実質細胞からはIL-6が産生され、しかもその産生様式は上皮細胞では恒常的、実質細胞では誘導的であることを報告した。

一方、1967年に網膜色素上皮細胞(RPE)が視細胞外節を貪食・消化する³⁴⁾ことが明らかにされて以来、RPEの貪食能については主として組織学的観点から研究が進められてきた。1970年代には、RPEの貪食能は病的状態で亢進し、変性・壊死に陥った細胞をマクロファージと共同で除去する³⁵⁻³⁷⁾ことが明らかとなり、免疫学的にも注目されるようになった。また、実験的自己免疫性ぶどう膜炎の発症機序にRPEが関与する³⁸⁾ことも報告され、眼内の炎症性病変とRPEの関連が論じられてきた。

そこで今回、ヒト培養RPEによる、サイトカイン、特にIL-6の産生の有無、産生刺激物質による産生量の変化、産生に対するハイドロコーチゾン(HCS)の影響、産生量の経時的变化およびIL-6の分子量について検討し、さらに眼球内の炎症へのIL-6の関与について考察した。

II 実験方法

1. RPEの培養および培養上清の採取

1) RPEの培養

角膜移植に使用した後の正常ヒト摘出眼球(73歳, 79歳, 2か月, 67歳)を赤道部にて半割し、硝子体および感覚網膜を除去した眼杯に、0.125%トリプシンを注ぎ、37°Cで30分間静置した。次に、ブルッフ膜を傷つけないようにcell scraperで眼底全体のRPEを剝離してこれをピペットで採取し、同一個体の2眼からのRPEに下記の培養液を10 ml加えて1,200 rpm, 15分遠心した。培養液としてはTC-199培地(ニッスイ)にL-グルタミン酸(10 mg/ml), ペニシリンG(100 U/ml), ストレプトマイシン(100 μ g/ml)およびウシ胎

児血清(FCS)(GIBCO)(10%)を添加したものを使用した。遠心分離によって得られたRPEを上記の培養液20 mlで再度遠心して洗浄し、この洗浄を3回繰り返した。この細胞沈渣に24 mlの培養液を加えて細胞浮遊液を作り、これを24穴の培養皿(Nunc, 直径15 mm)に各穴1 mlずつ播いて培養を開始した。培養液の交換は3, 4日ごとに行った。

培養したRPEがconfluentな状態となった時点(約1週後)で各穴の培養液を除去した後、0.125%トリプシンを1 mlずつ加えて37°Cで30分間静置して培養皿からRPEを剝離した。このRPEを上記と同じ培養液で同様に3回洗浄した後、細胞数を 10^6 /mlに調整し、数日間培養した。なお、培養はすべてtriplicate(n=3)で行い、1穴から1検体を採取した。

2) Lipopolysaccharide (LPS) 刺激後のRPEの培養上清の採取

1. 1)の方法で培養したRPE(73歳)がconfluentになった時点で、サイトカインの産生を誘導する目的で、グラム陰性細菌の細胞壁成分であるLPS(*E. coli* 0111:B4, Difco)を、各穴内での濃度が1, 10あるいは100 μ g/mlになるように加えた(各3穴)。対照にはLPSの代わりにLPSの溶媒であるCa⁺⁺およびMg⁺⁺フリーのダルベッコのリン酸緩衝食塩水(以下PBS(-)と表示する)を用いた。48時間後に培養液を採取し、3,000 rpm, 15分遠心分離後、その上清を採取して検体とした。

2. サイトカインの測定法

得られた検体についてIL-1 α , -1 β , -2, -4, -6および腫瘍壊死因子(TNF α)の6種のサイトカイン量を測定した。測定にはenzyme-linked immunosorbent assay(ELISA)を応用した測定キット(IL-1 α , -1 β は大塚アッセイ研究所, 他はgenzyme)を使用した。本測定法は各サイトカインに対するモノクローナル抗体を用いたサンドイッチ法で、特異性、感度ともに高いとされている。以下測定マニュアルにしたがって検体の吸光度を求め、この吸光度から各穴におけるサイトカイン量を算出した。なお、検体として用いたLPS刺激後のRPE培養上清に対する陰性対照としては10%FCSを加えたTC-199培地を用いた。

3. IL-1 α 刺激によるRPEのIL-6産生量の測定

IL-1 α 刺激によるRPEからのIL-6産生量の変化をみるために、前項の1. 1)の方法で培養したRPE(79歳)にIL-1 α を各穴の濃度が、1, 10あるいは100 pg/mlになるように加えた(各3穴)。48時間培養した

後に、培養上清を採取して検体とし、上記の方法でIL-6量を測定した。対照にはIL-1 α の代わりに同量のPBS(-)を用いた。

4. RPEのIL-6産生に及ぼすHCSの影響

RPEのIL-6産生に対するステロイド剤の影響を検討する目的で、1. 1)の方法で培養したRPE(2か月児)を、LPSが各穴内で1 μ g/mlの濃度になるように添加した群と添加しない群とに分け、同時にそれぞれの群にHCSを各穴内で 10^{-8} 、 10^{-7} あるいは 10^{-6} Mの濃度になるように添加した(各3穴)。LPS非添加群にはLPSに代えて同量のPBS(-)を用いた。48時間培養した後、その培養液を3,000 rpm、15分遠心分離し、その上清を検体として検体中のIL-6量を測定した。

5. RPEの培養上清中のIL-6量の経時的变化

RPEによるIL-6産生の経時的な変化をみるため、前項4.のRPEに、LPSを各穴内の濃度が1 μ g/mlになるように添加した群とLPSに代えてPBS(-)を添加した群とに分け、添加直前の、あるいは添加後1, 2, 6, 12, 24, 48および72時間培養した上清をそれぞれの群から採取し(各時間ごとに3穴ずつ)、3,000 rpm、15分遠心分離し、その上清を検体として検体中のIL-6を測定した。

6. 高速液体クロマトグラフィー(fast protein liquid chromatography: FPLC)によるゲル濾過

上記の1. 1)の方法でRPEを培養(67歳)し、LPSを各穴に1 μ g/mlの濃度で添加してIL-6の産生を誘導したRPEの培養上清200 μ lをFPLCシステム(Pharmacia)のSuperose 12カラム(HR 10/30)に注入し、PBS(-)(pH 7.4)を30 ml/hの流量で流してゲル濾過を行った。開始10分後から培養上清を0.5 mlずつ画分し、各画分から100 μ lずつ採取してIL-6量を測定した。また、分子量を決定するためにウシ血清アルブミン(分子量68,000)とキモトリプシノーゲン(分子量25,000)とを標準マーカーとして用いた。さらに73歳の2眼からRPEを採取して培養し、得られた検体を上記と同様にゲル濾過した。なお、ゲル濾過は同一検体につき2度ずつ行った。

7. Western blotting analysis

上記の4.で得たLPS 1 μ g/mlの添加でIL-6の産生を誘導したRPEの培養上清を検体としてIL-6のwestern blottingを行った。検体45 μ lに2%ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)45 μ lを加えて90℃で3分間加熱することによって検体をSDS化した。このSDS化

した検体および標準分子量マーカー(Low Molecular Weight Calibration Kit, Pharmacia)をポリアクリルアミドゲル(FUNA SDS-PAGE, フナコシ)を用い、原点を同じくして25 mAで1時間電気泳動した。次いで泳動した検体および分子量マーカーを転写装置(モデル88, フナコシ)を用いてニトロセルロース膜(A 045 A 224, 東洋濾紙)に30 V、1時間の条件で転写した後、分子量マーカーのレーンのみを切り離してクマシーブルーで染色した。検体のレーンはブロックエース®(大日本製薬)をマウントしてブロッキングした後、1次抗体であるポリクローナル家兔抗ヒトIL-6抗体(genzyme)を結合させた。このニトロセルロース膜を5%Tween 20を含むPBS(-)で3回洗浄後、2次抗体としてビオチン化ヤギ抗家兔抗体を1次抗体に結合させた。再び洗浄して、アビジン化ペルオキシダーゼを2次抗体に結合させ、十分に洗浄した後、3,3'-ジミノベンジジンで発色させた。RPEの培養上清中のIL-6に対する陽性対照にはヒトリコンビナントIL-6、陰性対照には10%FCSを加えたTC-199培地を用い、上記と同じ方法で発色させた。さらに2眼から採取したRPEを同様に培養し、得られた検体を上記の方法で泳動した。なお、電気泳動は同一検体につき2度ずつ行った。

8. 統計処理

結果の有意差を求めるために、得られたデータ間のt検定を行った。

III 結 果

1. 培養細胞の状態

培養したRPEは光顕で観察した結果、ほぼ六角形を保っていて脱色素や化生は認められなかった。

2. 培養したRPEの各種サイトカイン産生およびLPS刺激によるIL-6産生の変化

培養したRPEをLPSで刺激したとき、培養上清中にその産生が明らかに認められたのはIL-6のみであり、IL-1 α 、 -1β 、 -2 、 -4 およびTNF α はいずれの濃度のLPS刺激でもすべて測定限界以下であった(各n=3)。

IL-6は、図1に示したように、LPSを添加しない対照でもその産生が認められた(2.88 ± 0.48 ng/ml)が、LPS(1, 10, 100 μ g/ml)の添加によって量依存性に増強された(それぞれの平均値 $\pm$ 標準偏差は 5.93 ± 0.74 , 7.05 ± 1.49 , 10.8 ± 0.85 ng/ml, $p=0.047$, 0.033 , 0.006) (n=3)。

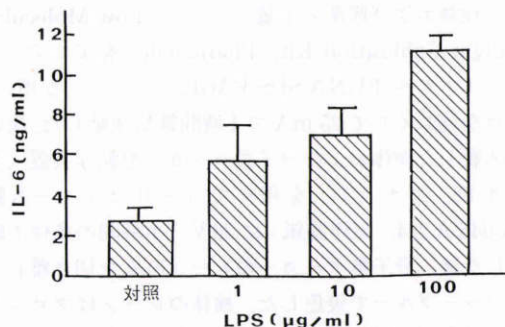


図1 LPS刺激によるRPEのIL-6産生.

RPEからのIL-6産生量はLPS濃度に依存して増加した。LPS: lipopolysaccharide, RPE: 網膜色素上皮細胞, IL: インターロイキン, 平均値±標準偏差(n=3)

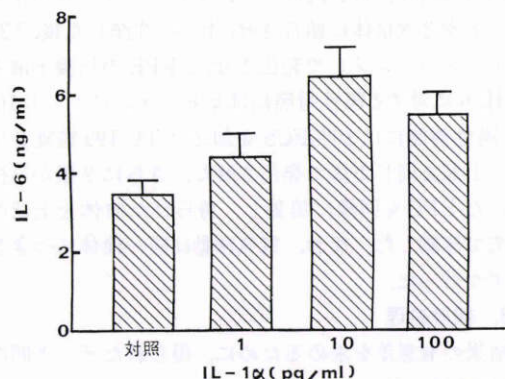


図2 IL-1α刺激によるRPEのIL-6産生.

RPEからのIL-6産生量はIL-1α濃度が10あるいは100 pg/mlで有意に増加した。平均値±標準偏差(n=3)

3. IL-1α刺激によるIL-6産生の変化

培養したRPEをIL-1α(1, 10, 100 pg/ml)で刺激した培養上清中のIL-6量は、PBS(-)を加えた対照(3.41 ± 0.33 ng/ml)に比較して増加した(それぞれの濃度で 4.39 ± 0.57 , 6.44 ± 0.76 , 5.45 ± 0.50 ng/ml, $p=0.199$, 0.038 , 0.011) (n=3) (図2)。

4. RPEのIL-6産生に及ぼすHCSの影響

LPSとHCSを加えて培養したRPEの培養上清中のIL-6量を図3(下段)に示した。HCSを加えた場合のIL-6産生は、LPSのみの対照に比べ、HCSが 10^{-8} Mでは抑制されなかったが、 10^{-7} および 10^{-6} Mでは有意に抑制された(LPS 1 µg/mlのみでは 5.96 ± 0.62 , LPSとHCS 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} Mではそれぞれ 6.79 ± 0.73 , 3.06 ± 0.51 , 2.98 ± 0.47 ng/ml, $p=$

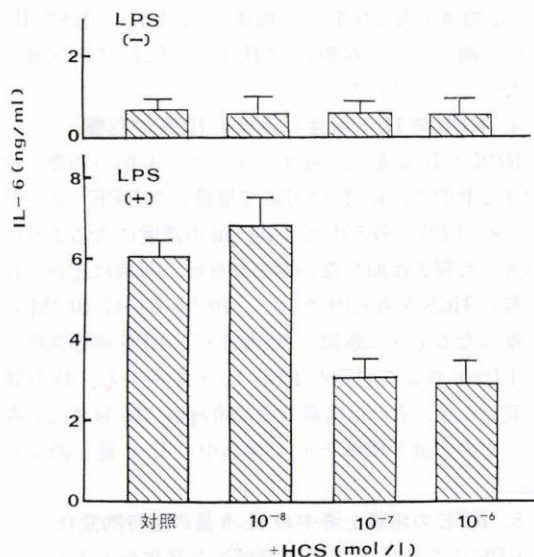


図3 RPEのIL-6産生に対するHCSの影響.

上段: RPEのIL-6産生量はHCSを添加してもPBS(-)のみの対照と差はなかった。下段: LPS刺激によるRPEのIL-6産生量はHCSを 10^{-7} M以上の濃度で添加した場合にLPSのみの対照に比べて有意に抑制された。HCS: ハイドロコチゾン, 平均値±標準偏差(n=3)

0.278, 0.025, 0.041) (n=3)。しかし、LPSによる産生刺激を与えずPBS(-)とHCSを加えた場合(図3上段)には、PBS(-)のみの対照に比べ、HCSのいずれの濃度においてもRPEからのIL-6産生は抑制されなかった(n=3)。

5. RPEのIL-6産生の経時的変化

RPEの培養上清中にLPSを添加して培養を継続し、経時的に培養上清中のIL-6量を測定した結果を図4に示した。IL-6はLPSを添加した2時間後より増加し始め、48時間後にピークに達した(添加直前と1時間後は測定限界以下, 2, 6, 12, 24, 48および72時間後の値はそれぞれ 0.39 ± 0.12 , 3.51 ± 0.45 , 8.12 ± 1.66 , 15.7 ± 4.52 , 23.6 ± 2.52 , 23.3 ± 1.60 ng/ml) (n=3)。またPBS(-)を添加した場合にも、立ち上がりはやや遅いものの、ピークに達するまでの時間はほぼ同じであった(2時間以降の値はそれぞれ 0.36 ± 0.14 , 0.34 ± 0.20 , 1.92 ± 0.74 , 5.55 ± 1.14 , 7.66 ± 1.62 , 8.18 ± 0.49 ng/ml) (n=3)。

6. FPLCによるゲル濾過

RPEの培養上清をゲル濾過して画分したそれぞれの画分中のIL-6量を測定した代表例を図5に示した。

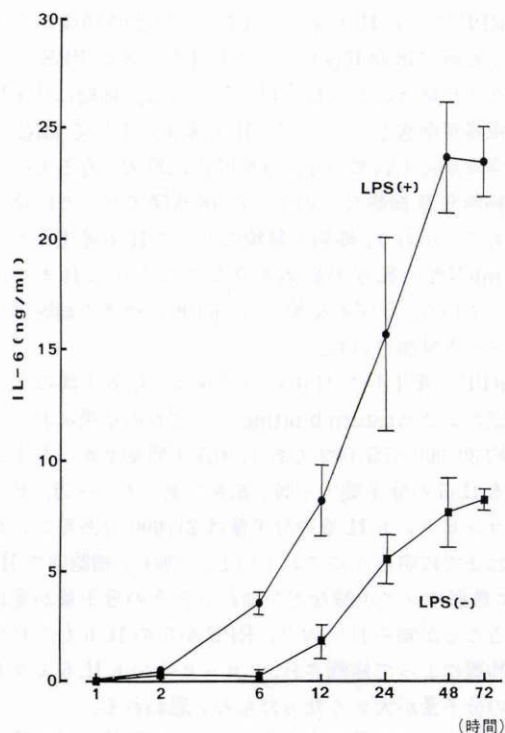


図 4 RPE による IL-6 産生の経時的変化.

RPE の IL-6 量は, LPS, PBS (-) のいずれを添加した場合にも, 添加 2 時間後から増加し始め, 48 時間後にピークに達した. 平均値±標準偏差 (n=3)

16~20 の画分に IL-6 を認め, その値はそれぞれ 1.63, 13.6, 24.5, 9.50, 4.11 ng/ml であり, 17 および 18 の画分で高値を示した. 分子量マーカーから求めたこれらの画分の IL-6 の分子量は 30,000 および 35,000 であり, このことから RPE の培養上清中における IL-6 分子量はおおよそ 30,000~35,000 と想定された.

7. Western blotting analysis

RPE の培養上清中の IL-6 は分子量約 30,000 の位置に染色されたバンドを形成した. 従って, RPE の産生した IL-6 の分子量はおおよそ 30,000 であることが明らかとなった. なお, 陽性対照として用いたヒトリコンビナント IL-6 は分子量約 20,000 の位置にバンドを形成し, 陰性対照の 10%FCS 加 TC-199 培地ではバンドを認めなかった (代表例を図 6 に示す).

IV 考 按

今回, 培養ヒト RPE のサイトカイン産生について検討したが, 調べたサイトカイン IL-1 α , -1 β , -2, -4,

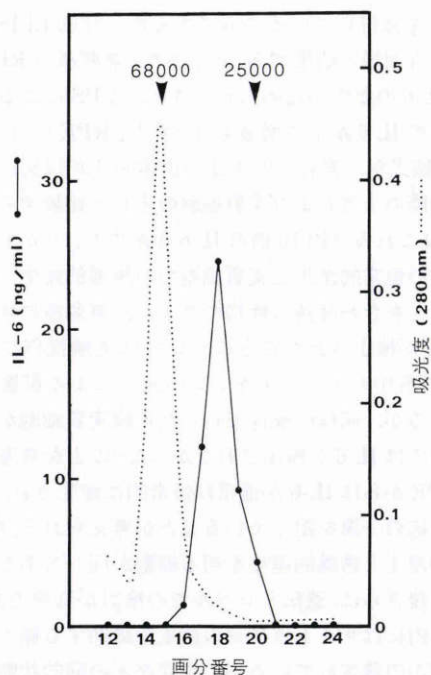


図 5 RPE 培養上清のゲル濾過.

IL-6 は 17, 18 の画分で高値を示し, これらの IL-6 の分子量は分子量マーカーから 30,000~35,000 と想定された.

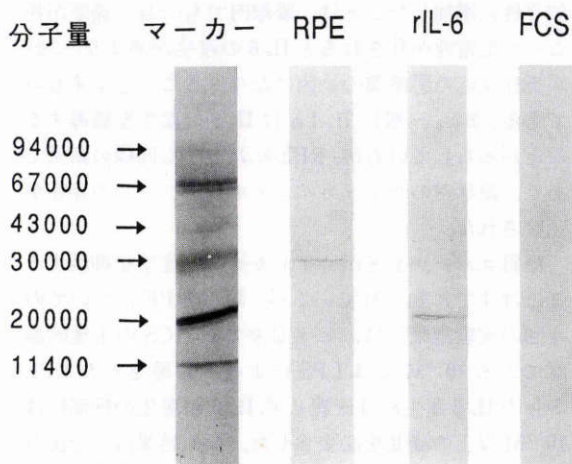


図 6 RPE 培養上清の western blotting.

PRE からの IL-6 は分子量約 30,000 の位置にバンドを形成した. rIL-6: ヒトリコンビナント IL-6

-6 および TNF α のうち培養上清中に明らかな産生がみられたのは IL-6 のみであった. RPE からの IL-6 産生については, Planck ら¹⁰⁾がマウスの cell line を用いて RPE 培養上清中の IL-6 が IL-1 α の刺激で増加す

ることを報告しているのみであるが、今回 ELISA を用いても同様の結果であった。また、無刺激の RPE からも IL-6 の産生が認められ、さらに LPS による濃度依存性の IL-6 産生の増強もみられた。RPE からの IL-6 産生様式を、著者ら¹²⁾および坂本ら¹¹⁾が以前に報告した角膜の上皮および実質細胞のそれと比較すると、RPE はこれらの約 10 倍の IL-6 を産生し、しかも上皮細胞での恒常的産生と実質細胞での誘導的産生（緒言参照）とを合わせ持つ性格であった。無刺激の状態でも IL-6 が検出されたことについては実験操作に不可避な FCS 中のエンドトキシンの混入による影響も考えられるが、同様の操作で行った角膜実質細胞からは無刺激では IL-6 が検出されなかった²⁾ことを考慮すると、RPE からは IL-6 が通常は恒常的に産生され、生体防御反応の一翼を担っていることが考えられる。なお、恒常的産生と誘導的産生を司る細胞が同一であるか否かは今後さらに、遺伝子レベルでの検討が必要である。

生体内にはサイトカインの産生を調節する様々な制御機構が内蔵されているが、炎症などの病的状態ではこのような制御機構が乱れ、しかも、この乱れが乱れを呼ぶポジティブ・フィードバック機能が作動して、いわゆる vicious cycle が形成されることが知られている。RPE からの IL-6 産生が LPS による刺激で濃度依存性に増加したことは、眼球内でも一旦、炎症が起こって恒常性が乱されると IL-6 の産生が高まり、これが炎症反応の悪循環の一因になり得ることを示すものである。また、一般に IL-1 α は IL-6 の産生を誘導することが知られているが、RPE においても同様の結果であり、眼球内のサイトカイン・ネットワークの存在が示唆された。

糖質コルチコイドがサイトカインの産生を抑制することはすでに知られているが、培養 RPE についての今回の実験結果では、ヒト血中での HCS の生理的濃度である 10^{-8} M では LPS によって誘導された RPE からの IL-6 産生には影響せず、IL-6 の産生の抑制には 10^{-7} M 以上の濃度を必要とした。この結果は、今後の眼球内炎症性病変に対するステロイド剤の消炎治療を確立する上で一つの目安になるものと思われる。また LPS による刺激を与えずに、PBS(-)と HCS を RPE 培養上清に加えた場合には HCS が 10^{-6} M の高濃度でも IL-6 産生を抑制する効果は認められなかったことから、恒常的に産生された IL-6 と LPS によって誘導された IL-6 とではその産生の機序に違いがあるとも考えられた。

RPE による IL-6 産生は LPS 添加 2 時間後から上昇し始め、48 時間後にピークに達し、また PBS (-) を加えた場合にも同様の経過であった。細胞には単球や線維芽細胞などのように IL-6 産生における mRNA の発現が産生刺激の 4, 5 時間後に最大になるものと T 細胞や B 細胞などのように 48 時間でピークに達するものがあり、細胞の種類によって IL-6 産生における mRNA の転写の経過が異なることがこれまでに判っている。今回の結果から、RPE は後者の細胞群に属すると推測された。

RPE が産生した IL-6 の分子量は、培養上清のゲル濾過および western blotting のいずれの結果においても約 30,000~35,000 であり、角膜実質細胞から産生される IL-6 の分子量¹¹⁾と同じ結果であった。一方、ヒトリコンビナント IL-6 の分子量は 21,000 であることがこれまでに明らかにされている。一般に、細胞内で IL-6 に糖鎖やシアル酸などが加わるとその分子量が変化することが知られており、RPE からの IL-6 もこれらの物質によって修飾され、リコンビナント IL-6 よりもその分子量が大きくなったものと思われる。

近年、ぶどう膜炎患者やラットの実験的ぶどう膜炎の前房水中の IL-6 濃度が上昇しているとの報告¹²⁾¹³⁾があり、IL-6 が眼球内の炎症反応に関わっていることは確かである。今回 RPE からも IL-6 の産生が認められ、前部ぶどう膜炎のみならず後部ぶどう膜炎においても IL-6 病変の発症あるいは修飾に関わっていることが推測された。また、これまでの著者らの研究および今回の結果で、角膜の上皮・実質細胞および RPE すべてにおいて IL-6 の産生を認めたことになり、この炎症性サイトカインは、未だ不明な点が多い眼球内のサイトカイン・ネットワークにおいて重要な位置を占めるものであると考えられる。現在、インターフェロン、IL-2、ロイコトリエンあるいは腫瘍壊死因子などのサイトカインは、一部の悪性腫瘍や慢性肝炎などの治療に臨床応用が試みられている。これらのサイトカインの作用および調節機構を解明することが眼球内の免疫応答や炎症性疾患に対する新たな治療法の確立に繋がるものと思われた。

本論文の要旨は第 95 回日本眼科学会総会（1991 年 5 月 18 日、京都）で発表した。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました本学細菌学教室吉田昌男教授、眼科学教室田澤 豊教授に深謝致します。

文 献

- 1) 坂本真栄, 清野雅子, 田澤 豊, 稲田捷也, 吉田昌男: ヒト角膜培養上清中のIL-1活性—モノクローナル抗体を用いたELISAによる検出—, 眼紀 41: 505—510, 1990.
- 2) 坂本真栄, 稲田捷也, 千葉可芽里, 吉田昌男, 田澤豊: 人眼角膜上皮細胞によるインターロイキン6およびインターロイキン1 α の産生, 日眼会誌 95: 728—732, 1991.
- 3) Young RW: The renewal of photoreceptor cell outer segments. J Cell Biol 33: 61—72, 1967.
- 4) Young RW, Bok D: Participation of the retinal pigment epithelium in the rod outer segment renewal process. J Cell Biol 42: 392—403, 1969.
- 5) Kroll AJ, Machemer R: Experimental retinal detachment in the owl monkey. III. Electron microscopy of retina and pigment epithelium. Am J Ophthalmol 66: 410—427, 1968.
- 6) Marshall J, Fankhauser F, Lotmar W, Roulier A: Pathology of short pulse retinal photocoagulations using the Goldmann contact lens. Albrecht von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol 182: 154—169, 1971.
- 7) 原田正夫, 菊地 紘: 光凝固の作用機序に関する網膜の酵素組織化学的研究, 日眼会誌 81: 818—828, 1977.
- 8) 臼井正彦: ブドウ膜炎の発生機構, 眼科 19: 193—199, 1977.
- 9) 臼井正彦, 松島利明, 坂井潤一, 関 文治, 三橋正忠, 今井一男: 実験的自己免疫性葡萄膜炎の発生機構における網膜色素上皮の関与について, 日眼会誌 84: 1064—1074, 1980.
- 10) Planck SR, Dang TT, Graves D, Tara D, Ansel JC, Rosenbaum JT: Retinal pigment epithelial cells secrete interleukin-6 in response to interleukin-1. Invest Ophthalmol Vis Sci 33: 78—82, 1992.
- 11) 坂本真栄, 稲田捷也: 培養ヒト角膜上皮細胞, 実質および内皮細胞によるインターロイキン6の産生, 日眼会誌 96: 702—709, 1992.
- 12) Murray PI, Hoekzema R, van Haren MAC, de Hon FD, Kijlstra A: Aqueous humor interleukin-6 levels in uveitis. Invest Ophthalmol Vis Sci 31: 917—920, 1990.
- 13) Hoekzema R, Murray PI, van Haren MAC, Helle M, Kijlstra A: Analysis of interleukin-6 in endotoxin-induced uveitis. Invest Ophthalmol Vis Sci 32: 88—95, 1991.