

極低出生体重児における慢性肺疾患とインターロイキン6 遺伝子多型との関連性

白 田 東 平

新潟大学大学院医歯学総合研究科生体機能調節医学専攻

内部環境医学講座小児科学分野

(主任：齋藤昭彦教授)

Interleukin - 6 Polymorphism and Bronchopulmonary Dysplasia Risk in Very Low Birth Weight Infants

Touhei USUDA

Department of Pediatrics, Niigata University School of Medicine

(Director: Prof Akihiko SAITOH)

Abstract

Background: This study aimed to evaluate the role of interleukin (IL) - 6 - 634 polymorphism in neonatal disorders such as bronchopulmonary dysplasia (BPD) and periventricular leukomalacia (PVL) in very low birth weight infants.

Methods: This prospective cohort study included 202 infants (gestational age at birth was 23 - 34 weeks and birth weight ranged from 500 - 1499g). Genotypic analysis (polymerase chain reaction - restriction fragment length polymorphism assays) were performed with DNA extracted from whole - blood samples.

Results: Genotype distribution (66.8 % CC, 28.2 % CG, and 5.0 % GG) in this study was similar to that in the adult Japanese population. The duration of O₂ therapy in infants with CG/GG genotypes was significantly longer than that in infants with the CC genotype (CG/GG vs. CC: 40.3 ± 52.2 days vs. 28.4 ± 32.6 days, $p < 0.05$). Infants with CG/GG genotypes were more likely to have received postnatal corticosteroid therapy for BPD than those with the CC genotype (CG/GG vs. CC: 20.9 % vs. 11.1 %, $p = 0.05$). There was no significant difference in the frequency of PVL among IL - 6 - 634 polymorphisms.

Conclusions: This study showed an association between IL - 6 - 634 polymorphism and the duration of oxygen therapy for BPD in very low birth weight infants. This finding suggests that the IL - 6 - 634 polymorphism G allele is an aggravating factor of BPD. IL - 6 - 634 polymorphism is not associated with PVL.

Key words: bronchopulmonary dysplasia, periventricular leukomalacia, gene polymorphism, interleukin - 6, very low birth weight infant

Reprint requests to: Touhei USUDA
Division of Pediatrics Niigata University
Graduate School of Medical and Dental Sciences
1 - 757 Asahimachi - dori Chuo - ku,
Niigata 951 - 8510 Japan

別刷請求先：〒951 - 8510 新潟市中央区旭町通 1 - 757
新潟大学大学院医歯学総合研究科小児科学分野
白田 東平

はじめに

近年の新生児医療の進歩により超低出生体重児，超早産児の生存率は著明に改善しているが，生存率の上昇とともに，神経学的後遺症を残す児も増加している¹⁾²⁾．超低出生体重児の精神運動発達に及ぼす危険因子として，頭蓋内出血（intra-ventricular hemorrhage; IVH），脳室周囲白質軟化症（periventricular leukomalacia; PVL）に次いで慢性肺疾患（bronchopulmonary dysplasia; BPD）がある³⁾．早産児のPVLやBPDは，母体絨毛膜羊膜炎や胎児感染によってリスクが上昇し，特に胎内感染は，胎児の肺と脳に障害をもたらす主な原因の一つである^{4)~7)}．児に障害を起こす胎内感染の進展には，母体における炎症反応の差異が関連していることも報告され，母体の炎症反応が早産児の脳と肺への障害を促進すると考えられる．一方で，胎内感染を受けたすべての早産児がBPDやPVLを発症するわけではなく，発症はその一部の児に限られている．従って，胎児の未熟な肺と脳の障害の進展には，児自身の炎症反応やその耐性が影響を及ぼす可能性が考えられる．近年BPDやPVLの発症と進展には，遺伝的素因の重要性も指摘されており，出生前後における児自身の遺伝素因による全身の炎症反応の差が，BPDやPVLの発症と進展に関与しているのではないかと考えた．

インターロイキン6（IL-6）は，炎症の誘導において重要な役割を果たすサイトカインである．臍帯血中IL-6の上昇が，BPDの重症化と関連すること^{8)~10)}，およびPVL発症児では新生児期の血中IL-6濃度が高値を示すことが指摘され¹¹⁾¹²⁾，IL-6はBPDならびにPVLの発症や進展に関与する重要なサイトカインと考えられている．

IL-6遺伝子多型と感染や組織障害におけるホストの免疫反応との関連性については，今までに多くの報告があり，IL-6遺伝子（GenBank accession number NG_011640）のプロモーター領域の174G/C single nucleotide polymorphism（SNP）においては，BPDとPVLとの関連性が報告されている^{13)~15)}．しかし，この多型は東アジア

の人種では極めてまれであり¹⁶⁾，日本人での解析は困難である．一方，IL-6-634C/G SNPは，反復流産リスクなどの成人疾患との関連性が日本人において報告されている¹⁷⁾¹⁸⁾が，新生児疾患における報告は今まで見られていない．

本研究で，BPDやPVLなどの新生児疾患の遺伝素因を明らかにするために，IL-6-634C/G SNPと極低出生体重児でのBPDやPVLとの関連性について検討した．

方 法

1. 対象

新潟県の3つの総合周産期母子医療センターで，2007年1月～2009年12月までに出生した極低出生体重児を対象とした前向きコホート研究である．対象の判定基準は，1) 出生体重500g～1499g，2) 在胎23～34週の早産児，3) 重度の先天奇形を除く，の3項目を満たすものとした．本研究は，新潟大学遺伝子倫理審査委員会の承認を受けた．

2. DNA抽出とSNP解析

インフォームドコンセントを得た上で，患者から血液を採取し，DNAzol[®] BD 試薬（Invitrogen, Carlsbad, CA, USA）を用いて，末梢白血球からDNAを抽出した¹⁸⁾後，PCR-RFLP（polymerase chain reaction - restriction fragment length polymorphism）法によりIL-6遺伝子プロモーター領域にある634C/G SNPの解析を行った¹⁹⁾²⁰⁾．プライマーとして，5'-GAGACGCCTTGAAG-TAACTG-3'と5'-AACCAAAGATGTTCTGAACT-GA-3'のオリゴヌクレオチドを用いた．反応液[10 mM Tris-HCl (pH 8.3), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP]に，各プライマー 10 pmol, 1 unit の recombinant Taq polymerase (TOYOBO, Osaka, Japan) および DNA100 ng を加え，計 20 μ l とし，変性 94 $^{\circ}$ C 1 分，アニーリング 58 $^{\circ}$ C 1 分，伸長 72 $^{\circ}$ C 45 秒の条件で，35 サイクルの PCR を行った．PCR 産物 2 μ l を 10U の制限酵素 BsrBI (New England Biolabs, Beverly, MA, USA) にて

37℃で3時間処理した後、3%アガロースゲルで電気泳動を行った。BsrBIにより *IL-6* 遺伝子の G アレルは 120bp と 60bp の 2 つの断片に切断され、C アレルは切断されないことで 634C/G SNP を検出した。

3. 分類

慢性肺疾患の診断と分類：

慢性肺疾患 (BPD) の診断と分類は、Jobe と Bancalari の分類に従った²⁾。少なくとも生後 28 日の酸素使用により BPD と診断した。在胎 32 週未満児における重症度により、1) 軽症 BPD：修正 36 週または退院時に酸素を使用せずに呼吸が確立している児、2) 中等症 BPD：修正 36 週または退院時に 30% 未満の酸素を必要とする児、3) 重症 BPD：修正 36 週または退院時に 30% 以上の酸素または陽圧換気が必要とする児と分類した。在胎 32 週以上の児では、1) 軽症 BPD：生後 56 日または退院時に酸素を使用せずに呼吸が確立している児、2) 中等症 BPD：生後 56 日または退院時に 30% 未満の酸素を必要とする児、3) 重症 BPD：生後 56 日または退院時に 30% 以上の酸素または陽圧換気または経鼻持続陽圧換気を要する児と分類した。

脳室周囲白質軟化症 (PVL) の診断：

すべての児の日齢 0-3, 5-7, 14-21, 28 と、さらに退院に至るまで月 1 回の頭部エコーを施行した。側脳室後角部周囲の白質とモンロー孔付近の白質における嚢胞化を以って嚢胞性 PVL と診断した。その診断は、遺伝子多型結果を知らされていない主治医によってなされた。頭部 MRI 検

査は、退院前正期産週数付近で、すべての対象児に対して施行した。嚢胞性 PVL の診断は、遺伝子多型の結果を知らされていない神経放射線専門医によってなされた。頭部エコーまたは、頭部 MRI 検査によって診断された児を嚢胞性 PVL と診断した。

4. 統計学的検定

Dr. SPSS II (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) ソフトを使用し、統計は t 検定と χ^2 検定を、少数例は Fisher の直接確立法を用いた。

結 果

入院した極低出生体重児の全 264 例中、203 例が基準を満たし、DNA 採取を行った。基準を満たさず除外された 61 例は、19 例 (7.2%) が入院期間中の死亡、5 例 (1.9%) が染色体異常、37 例 (14.0%) が不同意であった。全例日本人であった。203 例の検体中、1 検体は DNA が採取されず、202 検体につき *IL-6-634* SNP を解析した。*IL-6-634* SNP: CC, Wild type; CG, Heterozygous; GG, Homozygous の遺伝子型頻度を表 1 に示す。その分布は、過去に報告された日本人における *IL-6-634* 遺伝子型と同様であり、有意な差はなかった²²⁾。表 2 に、遺伝子型で比較した対象の極低出生体重児の出生時の臨床的特徴を示す。CC 遺伝子型群は CG/GG 遺伝子型群と比較して、男児が有意に多かった (CC, 58.5%; CG/GG, 40.3%) が、その他の在胎週数、出生体重、前期破水等の臨床的特徴は、遺伝子型間において有意

表 1 The prevalence of the *IL-6-634* genotype in the study population

Genotype	CC	CG	GG
	(Wild type)	(Heterozygous)	(Homozygous)
	n (%)	n (%)	n (%)
<i>IL-6-634</i> (n=202)	135 (66.8%)	57 (28.2%)	10 (5.0%)

表2 Infant characteristics between patients with *IL-6*-634C/C and C/G or G/G

Genotype	CC (n=135)	CG/GG (n=67)	p
Mean gestational age (weeks)	28.9 ±2.6	28.4 ±3.0	0.16
Mean birth-weight (g)	1093.2 ±254.9	1015.1 ±287.7	0.06
Male gender (%)	58.5	40.3	0.01
SFD (%)	19.3	19.4	0.56
PPROM (%)	28.1	23.9	0.32
Antenatal steroids (%)	45.9	53.7	0.52
Cesarean birth (%)	88.9	83.6	0.20
Apgar score at 5 min	7.7 ±1.6	7.2 ±1.9	0.07

SFD, small for date infant; PPRM, preterm premature rupture of the membranes

表3 Hospital course between patients with *IL-6*-634C/C and C/G or G/G

Genotype	CC(n=135)	CG/GG(n=67)	p
Respiratory distress syndrome (%)	45.9	50.7	0.31
PDA (indomethacin) (%)	34.1	37.3	0.38
Late-onset sepsis (%)	1.5	0	0.45
Necrotizing enterocolitis (%)	0	3.0	0.11
Oxygen at 28 days (%)	40.0	46.3	0.24
Oxygen or positive pressure at 36 weeks (%)	29.6	25.4	0.32
Mean time of mechanical ventilation (days)	16.8 ±22.6	20.5 ±27.8	0.35
Duration of O ₂ therapy(days)	28.4±32.6	40.3±52.2	< 0.05
Postnatal corticosteroids (%)	11.1	20.9	0.05
Mean time of hospitalization (days)	88.2 ±29.1	99.2 ±48.8	0.09

PDA, patent ductus arteriosus

差がなかった。

入院中の臨床経過につき表3に示す。生後28日の酸素投与例数や修正36週での酸素投与症例数に示される長期呼吸機能は、*IL-6*-634 SNP各群間で、有意な差がなかった。平均機械式人工呼吸管理日数には有意な差はなかったが、平均酸素投与日数は、CG/GG遺伝子型群で有意に長かった (CG/GG vs. CC: 40.3 ± 52.2 days vs. 28.4 ± 32.6 days, $p < 0.05$)。さらに、CG/GG遺

伝子型群は、慢性肺疾患治療のための副腎皮質ステロイド投与の割合が多い傾向にあった (CG/GG, 20.9%; CC, 11.1%, $p = 0.05$)。また、CG/GG遺伝子型群は、CC遺伝子型群と比較して、有意差はなかったが、在院日数が長期の傾向であった。平均酸素投与期間に有意差があったにもかかわらず、予後比較では、各遺伝子型群間において、BPD発症例の頻度に有意差はなかった (表4)。また、PVL, IVH, 脳白質病変, 未熟児網膜症

表4 Infant outcomes between patients with *IL-6*-634C/C and C/G or G/G

Genotype	CC(n=135)	CG/GG(n=67)	p
BPD (%)	65.9	61.2	0.31
Moderate-Severe BPD (%)	29.6	25.4	0.32
HOT (%)	1.5	1.5	0.71
IVH (all grade) (%)	7.4	9.0	0.45
IVH (grade3 or 4) (%)	0.7	0	0.67
Cystic PVL (ultrasound) (%)	1.5	3.0	0.40
Cystic PVL (MRI) (%)	3.0	3.0	0.65
White matter lesion (MRD) (%)	14.1	9.0	0.21
ROP (laser photocoagulator) (%)	3.7	6.0	0.35

BPD, bronchopulmonary dysplasia; HOT, home oxygen therapy;

IVH, intraventricular hemorrhage; PVL, periventricular leukomalacia;

ROP, retinopathy of prematurity

(ROP) や壊死性腸炎 (NEC) の発症頻度にも、各遺伝子型群間での有意差はなかった。

考 考

本研究は、日本人における *IL-6* SNP と新生児疾患との関連性につき明らかにした初めての研究である。今回の研究では、*IL-6*-634 SNP と BPD による酸素投与期間との関連性が認められた。BPD は、肺胞、肺血管発達障害を特徴とした多因子疾患である²¹⁾。環境因子 (高濃度酸素、機械的人工管理) が主因であるが、最近の研究では、遺伝的素因の重要性が示唆されている。Parker らは、家族研究で、患者同胞内における BPD の高い一一致性を示し²³⁾、Pascal らの双胎研究は、二卵性よりも一卵性双胎において BPD 一一致性がより高いことを明らかにしている²⁴⁾。また、Bhandari らは、他の新生児疾患よりも BPD において、発症における遺伝的素因の関与がさらに強いことを示した²⁵⁾。本研究においても *IL-6* 遺伝子多型との関連性は、我々が解析した新生児疾患の中で唯一 BPD のみに認められた。

BPD は未熟肺における肺発達または肺損傷の修復に必要な因子の欠乏や pro-inflammatory と

anti-inflammatory メカニズムの不均衡により発症、進展すると考えられている^{26) - 29)}。環境因子によって引き起こされる肺での炎症反応の差異が、BPD の重症化に関連していると考えられるため、炎症進展にかかわる *IL-6* SNP は、BPD の遺伝的素因として重要である。母体の *IL-6*-174 SNP と BPD との関連性についての報告もある¹⁴⁾ が、日本人における *IL-6*-174 SNP は極めてまれであるため、今回の研究では、過去に日本人の成人疾患との関連の報告がある *IL-6*-634 SNP について検討した¹⁷⁾¹⁸⁾。

今回の研究では CG/GG 遺伝子型群は、CC 遺伝子型群と比較して、有意に酸素投与期間が長く、入院期間が長い傾向にあり、BPD に対しての副腎皮質ステロイド投与例が多い傾向にあった。これらのことは、G アレルが BPD のリスク因子である可能性を示唆している。*IL-6*-634 各遺伝子型群で BPD 発症頻度に差がみられなかったのは、副腎皮質ステロイド投与の影響もあるが、*IL-6*-634 SNP は、発症そのものよりも、発症した BPD をより重症化することに関与するためではないかと考察した。一方で、CG/GG 遺伝子型群は在胎週数が短く、出生体重が小さい傾向にあり、その影響によって酸素投与日数に有意差がみ

られた可能性も否定できない。児の *IL-6* 多型自体が児自身の早産に関与しているとも考えられ、今後さらに症例数を増やすことで、*IL-6* SNP と早産との関連性を明らかにできる可能性がある。また、*IL-6-634* SNP と血行中の *IL6* 産生量との関連性についての報告は少なく¹⁷⁾³⁰⁾、今後の検討課題である。さらに、BPD の発症と進展には多くの因子が関与しており、今後、様々なリスク因子関連 SNP を解析することによって BPD の遺伝的背景をより明確にできると考えられる。

今回の検討では、PVL、脳白質病変、ROP、NEC 等の新生児疾患では、*IL-6-634* SNP との関連性について有意差がなかった。しかしながら、脳性麻痺の発症に関して、児の炎症に対する反応性が重要であることが指摘され、*IL-6* SNP との関連性の報告¹⁰⁾³¹⁾もあることから、症例数を増やし、さらに他の炎症関連 SNP の解析を加えることで、遺伝的関連性が指摘できるかもしれない。

BPD との関連性についての報告³²⁾がある代表的な炎症性サイトカイン *TNF- α -238G/A* SNP についても解析し、比較検討してみたが、変異例 (GA/AA 遺伝子型) が 5% と少なく、新生児関連疾患において、有意差は得られなかった (結果掲載せず)。疾患と SNP の関連性についての報告は多いが、日本人新生児における報告はわずかである。SNP には人種差があるため、今後も日本人における SNP 検討が重要であると考えられる。

結 論

IL-6-634 SNP は、極低出生体重児における BPD による酸素投与期間と関連性が認められ、BPD の重症化に関与している可能性が示唆された。*IL-6-634* SNP と PVL との関連性については示されなかった。

謝 辞

本研究においてご指導賜りました齋藤昭彦教授、小林武弘准教授、検体採取にご協力いただきました長岡赤十字病院、新潟市民病院長の先生方に深謝いたします。

参 考 文 献

- 1) Hack M, Friedman H and Fanaroff AA: Outcomes of extremely low birth weight infants. *Pediatrics* 98: 931 - 937, 1996.
- 2) Lorenz JM, Wooliever DE, Jetton JR and Paneth N: A quantitative review of mortality and developmental disability in extremely premature newborns. *Arch Pediatr Adolesc Med* 152: 425 - 435, 1998.
- 3) Kinsella JP, Greenough A and Abman SH: Bronchopulmonary dysplasia. *Lancet* 367: 1421 - 1431, 2006.
- 4) Yoon BH, Romero R, Kim KS, Park JS, Ki SH and Kim BI: A systemic fetal inflammatory response and the development of bronchopulmonary dysplasia. *Am J Obstet Gynecol* 181: 773 - 779, 1999.
- 5) Perlman JM, Risser R and Broyles RS: Bilateral cystic periventricular leukomalacia in the premature infant: associated risk factors. *Pediatrics* 97: 822 - 827, 1996.
- 6) Alexander JM, Gilstrap LC, Cox SM, McIntire DM and Leveno KJ: Clinical chorioamnionitis and the prognosis for very low birth weight infants. *Obstet Gynecol* 91: 725 - 729, 1998.
- 7) De Felice C, Toti P, Laurini RN, Stumpo M, Picciolini E and Todros T: Early neonatal brain injury in histologic chorioamnionitis. *J Pediatr* 138: 101 - 104, 2001.
- 8) Schibler KR, Liechty KW, White WL, Rothstein G and Christensen RD: Defective production of interleukin - 6 by monocytes: a possible mechanism underlying several host defense deficiencies of neonates. *Pediatr Res* 31: 18 - 21, 1992.
- 9) Schultz C, Rott C, Temming P, Schlenke P, Moller JC and Bucsky P: Enhanced interleukin - 6 and interleukin - 8 synthesis in term and preterm infants. *Pediatr Res* 51: 317 - 322, 2002.
- 10) An H, Nishimaki S, Ohyama M, Haruki A, Naruto T and Kobayashi N: Interleukin - 6, interleukin - 8, and soluble tumor necrosis factor receptor - I in the cord blood as predictors of chronic lung disease in premature infants. *Am J Obstet Gynecol* 191: 1649 - 1654, 2004.

- 11) Yoon BH, Romero R, Jun JK, Park KH, Park JD and Ghezzi F: Amniotic fluid cytokines (interleukin - 6, tumor necrosis factor - alpha, interleukin - 1 beta, and interleukin - 8) and the risk for the development of bronchopulmonary dysplasia. *Am J Obstet Gynecol* 177: 825 - 830, 1997.
- 12) Yoon BH, Romero R, Yang SH, Jun JK, Kim IO and Choi JH: Interleukin - 6 concentrations in umbilical cord plasma are elevated in neonates with white matter lesions associated with periventricular leukomalacia. *Am J Obstet Gynecol* 174: 1433 - 1440, 1996.
- 13) Resch B, Radinger A, Mannhalter C, Binder A, Haas J and Muller WD: Interleukin - 6 G (-174) C polymorphism is associated with mental retardation in cystic periventricular leukomalacia in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 94: F304 - 306, 2009.
- 14) Reiman M, Kujari H, Ekholm E, Lapinleimu H, Lehtonen L and Haataja L: Interleukin - 6 polymorphism is associated with chorioamnionitis and neonatal infections in preterm infants. *J Pediatr* 153: 19 - 24, 2008.
- 15) Resch B, Radinger A, Mannhalter C, Horvath B, Binder A and Zenz W: Maternal interleukin - 6 (-174) C/C polymorphism is associated with chorioamnionitis and cystic periventricular leukomalacia of the preterm infant. *J Perinatol* 30: 712 - 716, 2010.
- 16) Tanaka C, Mannami T, Kamide K, Takiuchi S, Kokubo Y and Katsuya T: Single nucleotide polymorphisms in the interleukin - 6 gene associated with blood pressure and atherosclerosis in a Japanese general population. *Hypertens Res* 28: 35 - 41, 2005.
- 17) Saijo Y, Sata F, Yamada H, Kondo T, Kato EH and Kishi R: Single nucleotide polymorphisms in the promoter region of the interleukin - 6 gene and the risk of recurrent pregnancy loss in Japanese women. *Fertil Steril* 81: 374 - 378, 2004.
- 18) Mackey K, Steinkamp A and Chomczynski P: DNA extraction from small blood volumes and the processing of cellulose blood cards for use in polymerase chain reaction. *Mol Biotechnol* 9: 1 - 5, 1998.
- 19) Ota N, Nakajima T, Nakazawa I, Suzuki T, Hosoi T and Orimo H: A nucleotide variant in the promoter region of the interleukin - 6 gene associated with decreased bone mineral density. *J Hum Genet* 46: 267 - 272, 2001.
- 20) Tsukamoto K, Haruta K, Shiba T and Emi M: Isolation and mapping of a polymorphic CA repeat sequence at the human interleukin 6 locus. *J Hum Genet* 43: 71 - 72, 1998.
- 21) Jobe AH and Bancalari E: Bronchopulmonary dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med* 163: 1723 - 1729, 2001.
- 22) Sata F, Toya S, Yamada H, Suzuki K, Saijo Y and Yamazaki A: Proinflammatory cytokine polymorphisms and the risk of preterm birth and low birthweight in a Japanese population. *Mol Hum Reprod* 15: 121 - 130, 2009.
- 23) Parker RA, Lindstrom DP and Cotton RB: Evidence from twin study implies possible genetic susceptibility to bronchopulmonary dysplasia. *Semin Perinatol* 20: 206 - 209, 1996.
- 24) Lavoie PM, Pham C and Jang KL: Heritability of bronchopulmonary dysplasia, defined according to the consensus statement of the national institutes of health. *Pediatrics* 122: 479 - 485, 2008.
- 25) Bhandari V, Bizzarro MJ, Shetty A, Zhong X, Page GP and Zhang H: Familial and genetic susceptibility to major neonatal morbidities in preterm twins. *Pediatrics* 117: 1901 - 1906, 2006.
- 26) Speer CP: Inflammation and bronchopulmonary dysplasia. *Semin Neonatol* 8: 29 - 38, 2003.
- 27) Zimmerman JJ: Bronchoalveolar inflammatory pathophysiology of bronchopulmonary dysplasia. *Clin Perinatol* 22: 429 - 456, 1995.
- 28) Pierce MR and Bancalari E: The role of inflammation in the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Pulmonol* 19: 371 - 378, 1995.
- 29) De Dooy JJ, Mahieu LM and Van Bever HP: The role of inflammation in the development of chronic lung disease in neonates. *Eur J Pediatr* 160: 457 - 463, 2001.
- 30) Kitawaki J, Kiyomizu M, Obayashi H, Ohta M, Ishihara H and Hasegawa G: Synergistic effect of

- interleukin - 6 promoter (IL6 - 634C/G) and intercellular adhesion molecule - 1 (ICAM - 1 469K/E) gene polymorphisms on the risk of endometriosis in Japanese women. *Am J Reprod Immunol* 56: 267 - 274, 2006.
- 31) Wu YW, Croen LA, Torres AR, Van De Water J, Grether JK and Hsu NN: Interleukin - 6 genotype and risk for cerebral palsy in term and near-term infants. *Ann Neurol* 66: 663 - 670, 2009.
- 32) Kazzi SN, Kim UO, Quasney MW and Buhimschi I: Polymorphism of tumor necrosis factor - alpha and risk and severity of bronchopulmonary dysplasia among very low birth weight infants. *Pediatrics* 114: e243 - 248, 2004.

(平成 23 年 12 月 20 日受付)
