慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	アレルギー性結膜疾患におけるケモカインの役割
Sub Title	Therole of chemokines in asllergic conjunctival deseases
Author	高野, 洋之(Takano, Yoji)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2006
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.83, No.1 (2006. 3) ,p.1- 6
JaLC DOI	
Abstract	Due to changes in environmental factors and lifestyles, the incidence of allergic conjunctival diseases has increased in recent years. Severe allergic conjunctival diseases such as vernal keratoconjunctivitis and atopic keratoconjunctivitis are often complicated by corneal lesions, that often cause severe pain and sometimes decreases in visual acuity, The infiltration of inflammatory cells such as eosinophils and neutrophits observed in the late phase reaction of allergies is important in the pathogenesisof such lesions. Chemokines are key factors in the regulation of the infiltration of such cells to the ocnlar surface. In this article, we review the role of chemokines in allergic onjunctiva)diseases, the role of IL-4 in the regulation of the production of chemokines and possible therapeutic strategies that target chemokines.
Notes	綜説
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20060300-0001

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

慶應医学・83(1)：1～6，2006

綜　説

アレルギー性結膜疾患におけるケモカインの役割

[1]川崎市立川崎病院眼科，[2]慶應義塾大学医学部眼科学教室
高野洋之[1),2)]

ABSTRACT

Therole of chemokines in asllergic conjunctival deseases

Yoji Takano[1),2)]
[1)]Ophthalmology, Kawasaki Municipal Hospital
[2)]Department of Ophthalmology, Keio University School of Medicine

Due to changes in environmental factors and lifestyles, the incidence of allergic conjunctival diseases has increased in recent years. Severe allergic conjunctival diseases such as vernal keratoconjunctivitis and atopic keratoconjunctivitis are often complicated by corneal lesions, that often cause severe pain and sometimes decreases in visual acuity. The infiltration of inflammatory cells such as eosinophils and neutrophils observed in the late phase reaction of allergies is important in the pathogenesis of such lesions. Chemokines are key factors in the regulation of the infiltration of such cells to the ocular surface. In this article, we review the role of chemokines in allergic conjunctival diseases, the role of IL-4 in the regulation of the production of chemokines and possible therapeutic strategies that target chemokines.

Key Words：chemokine, atopic keratoconjunctivitis, vernal keratoconjunctivitis, CCL11 (eotaxin), corneal damage

はじめに

近年，環境因子およびライフスタイルの変化に伴いアレルギー性結膜疾患は増加傾向を示している．アレルギー性結膜疾患には，比較的軽症で組織障害を伴わない季節性・通年性アレルギー性結膜炎と，慢性炎症と組織障害を特徴とする春季カタル（vernal keratoconjunctivitis：VKC）やアトピー性角結膜炎（atopic keratoconjunctivitis：AKC）などに代表される重症型アレルギー性結膜疾患がある．

重症型アレルギー性結膜疾患の増悪期には，角膜潰瘍や角膜びらんなどの角膜病変が認められことがある．このような病態は，難治性であり，強い疼痛の原因にもなり，時には不可逆的な視力低下につながる場合もある．これら重症型アレルギー性結膜疾患の上眼瞼結膜は石垣状の増殖性病変をしばしば呈し，その組織中にはリンパ球，形質細胞，好中球，マスト細胞，好塩基球，好酸球などの浸潤細胞が認められる[1)]．このような炎症細胞の局所浸潤には選択的遊走活性を持つ様々なケモカインが重要な役割を担っていると考えられている．

ケモカインは白血球に対する走化活性を持つ低分子蛋白で，その構造により，CC，CXC，C，CX3Cの4つのサブファミリーに分類される．ケモカインレセプターは7回膜貫通型G蛋白共役型レセプターで，特異的に結合するケモカインのサブファミリーによりCCR，CXCR，XCR，CX3CRに分類される．

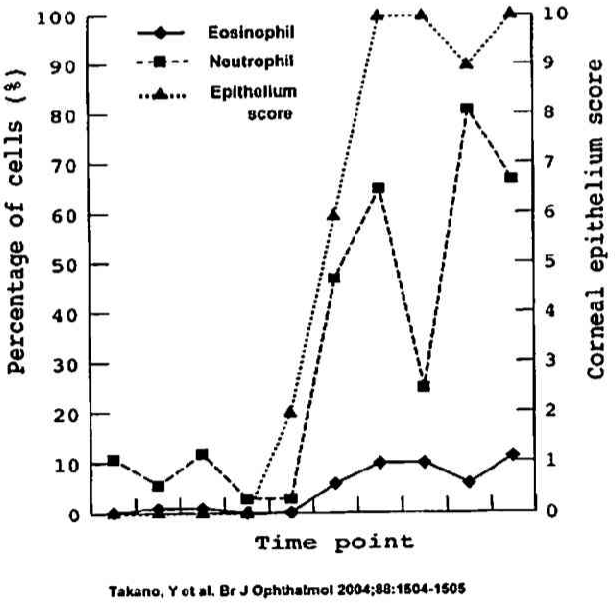
本稿では春季カタルやアトピー性角結膜炎などに代表される重症型アレルギー性結膜疾患におけるケモカインの役割について概説する．

ケモカインと遅発相反応（late phase reaction）

アレルギー性結膜疾患はⅠ型アレルギー反応で惹起される．Ⅰ型アレルギー反応は，即時相（early phase reaction）と遅発相（late phase reaction）に分けられる．即時相は，マスト細胞の脱顆粒時に放出されるヒスタミン，セロトニンなどの化学伝達物質により惹起される局所の組織浮腫・充血を主体とする急性の反応であり，遅発相は，4～6数時間後にみられる炎症細胞の組織内への浸潤と，それによる組織傷害を主体とする反応である．

ブラッシュサイトロジー法を用いて即時相が主体である軽症の季節性・通年性アレルギー性結膜炎の結膜擦過検体評価では，炎症細胞の浸潤をほとんど認めない．しかし，重症型のアレルギー性結膜疾患である春季カタルやアトピー性角結膜炎の場合では好中球や好酸球など組織傷害性のある炎症細胞の浸潤が多数認められ，病態の形成にはアレルギー性炎症の遅発相が重要だと考えられる．

我々は，経時的に上眼瞼結膜上皮に対し，結膜ブラッシュサイトロジー法で，浸潤してきた炎症細胞の出現率を検討した．また，同時に角膜上皮障害の程度をスコア化し，あわせて比較検討した[2]．



第1図　角膜上皮障害と炎症細胞数との関係
本症例では角膜上皮障害（▲）と好酸球の出現率（◆）はほぼ平行して推移している．（本図は Takano et al：Br J Ophthalmol 88：1504-1505, 2004. の第1図を許可を得て転載）

第1図に炎症細胞の出現率と角膜上皮障害スコアとの関係の一例を示す．好酸球は，角膜上皮障害を認めない時点では，サンプル中にほとんど認めなかったが，角膜上皮障害が重症化するに従い，出現率は増加した．これに対し好中球は角膜障害がない時点からも少数認められ，増悪期には出現率が上昇していた．以上のことから，角膜上皮障害には，上眼瞼結膜に浸潤した好中球，好酸球が関与していると考えられる．

炎症細胞の局所浸潤の機序は，以下のように考えられている．炎症細胞は，種々のサイトカインにより血管内皮細胞に発現した接着分子と接着して血管内皮細胞間隙を通過する．その後，組織内のケモカインなどの化学走性物質の濃度勾配にそって遊走集積すると考えられている．

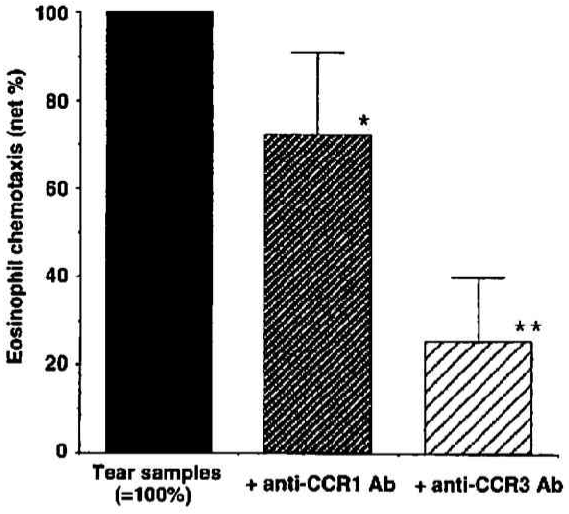
重症アレルギー性結膜疾患においては結膜組織中や涙液中のケモカイン等が特に重要であり，マスト細胞，局所へ浸潤してきた炎症細胞のみならず，炎症の場を構成する角結膜の上皮・実質細胞からも産生されると考えられる．

眼表面におけるケモカイン

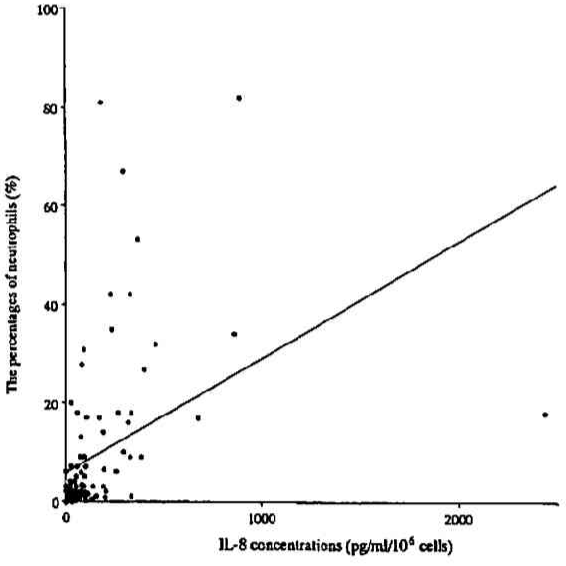
眼表面構成細胞からのCCケモカインの産生について，角膜実質細胞[3,4]，結膜実質細胞[5]がCCL11 (eotaxin) を産生することが報告されている．また，単球・マクロファージ，Tリンパ球，好酸球，好塩基球を走化させる能力を持つCCL5 (RANTES：regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted) は結膜上皮細胞[6]および角膜実質細胞[7,8]からの産生が報告されている．

我々のグループは，好酸球に対して強い選択的遊走活性を持ち，CCケモカインであるCCL11の涙液中濃度が角膜上皮障害の重症度と相関することを報告した[9]．また，重症結膜アレルギー患者から採取した涙液を用いた好酸球の遊走実験を行い患者涙液に好酸球遊走活性があることも確認した．この遊走活性はCCR1，CCR3に対する抗体で各々のレセプターを介した作用を阻害した場合，各々27.8%，74.5%抑制された（第2図）[10]．このことから，重症結膜アレルギー患者の涙液中に存在する，CCL11，CCL5がCCR3に結合することが好酸球の組織浸潤に重要な役割を果たしていることが示唆された．

好中球の遊走因子であるCXCケモカインであるCXCL8は，角膜上皮・実質細胞[11]，結膜上皮[12]・実質細胞[13]から産生される．我々は，重症アレルギー性結膜



第2図　患者涙液による好酸球遊走およびその抑制
重症結膜アレルギー患者涙液による好酸球の遊走は抗CCR1抗体により27.8%，抗CCR3抗体により74.5%抑制された（本図はFukagawa et al：Invest Ophthalmol Vis Sci 43：58-62, 2002の第4図を許可を得て転載）



第3図　好中球出現率と結膜上皮中CXCL8 (IL-8) 濃度
CXCL8 (IL-8) 濃度は好中球出現率と正の相関を示した．（本図はMiyoshi et al：Cornea 20：743-747, 2001の第3図を許可を得て転載）

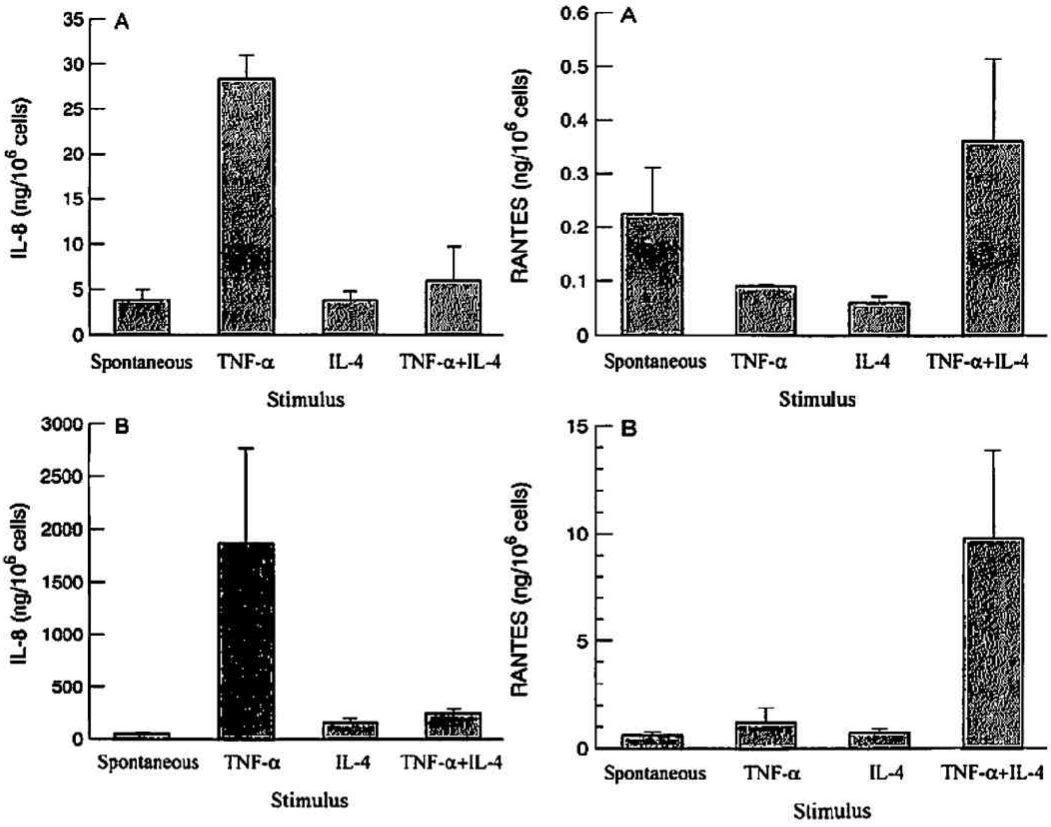
疾患における好中球出現率と角膜障害が相関すること[2]，重症角膜上皮障害例では結膜上皮中CXCL8濃度が高値であることを報告している[14]．結膜上皮中のCXCL8 (IL-8) 濃度と炎症細胞の出現率との関係についても検討した[14]．CXCL8濃度は好中球出現率と正の相関を示した（第3図）．アレルギー性炎症において，好中球由来の組織傷害性蛋白であるneutrophil myeloperoxidaseが涙液中で高値を示すことが報告されており[15]，さらに好中球由来の活性酸素なども組織傷害に関与している可能性も示唆されている．しかし好中球のアレルギー性結膜疾患における役割の詳細についてはまだ不明な点が多く，今後の検討が期待される．

T細胞の組織浸潤も重症アレルギー性結膜疾患の特徴の一つである．VKC患者の輪部結膜において，T細胞に対して強い走化活性を持つCCケモカインであるCCL18 (PARC)，CCL22 (MDC)，CCL1 (I-309) の発現がCD68陽性単球/マクロファージ上に認められた[16]．CCL18 (PARC) はnaïve T細胞に対して遊走活性を持ち，CCL22 (MDC) はCCR4を介してCD4陽性T (Th) 細胞のうちTh2細胞を遊走させる．したがって，T細胞の遊走に対しても，ケモカインが重要な役割を果たしていると考えられる．

アレルギー性結膜疾患とIL-4

重症結膜アレルギー患者の涙液中にはIL-4が高値であることが報告されている[17]．IgE受容体を介した刺激によりマスト細胞がTNF-αおよびIL-4を産生し[18]，組織中に浸潤してきたTh2細胞もIL-4を産生することから，IL-4がアレルギー性結膜疾患の病態形成に重要な役割を果たしていると考えられる．

IL-4刺激下により角膜実質細胞はCCL11を産生する[3, 4]．我々はCXCL8とCCL5産生がIL-4により制御されていることも明らかにした（第4図）[6]．TNF-α刺激による角膜上皮，実質細胞からのCXCL8産生は，IL-4により抑制された．一方，角膜実質細胞からのCCL5産生は，IL-4とTNF-αの同時刺激により認められた．CXCL8は好中球に対し，CCL5は好酸球に強い遊走および活性化作用をもつ因子である．また，IL-4は血管内皮細胞にVCAM-1の発現を誘導する[19]．VCAM-1の対応受容体であるVLA-4はリンパ球や好酸球に発現が認められるが，好中球には発現しない．IL-4はこのように様々なメカニズムによりアレルギー性結膜疾患に認められる好酸球主体の炎症の病態形成に中心的な役割を果たしていると考えられる．



第4図　角膜上皮細胞（A）および実質細胞（B）からのケモカイン産生
TNF-αは角膜実質細胞および上皮細胞からのCXCL8 (IL-8) 産生を誘導したが，IL-4同時添加により，このCXCL8産生能は有意に抑制された．角膜実質細胞ではTNF-αとIL-4の同時刺激によりCCL5産生に対する相乗的効果が認められた．両細胞共にIL-4単独刺激ではCXCL8，CCL5産生は誘導されなかった．（本図はTakano et al：Br J Ophthalmol 83：1074-1076, 1999.の第1および2図を許可を得て転載）

CCR3拮抗薬などを使用した治療の可能性

重症アレルギー性疾患の病態形成にはCCL11やCCL5が重要であり，最近はそれらのレセプターであるCCR3をターゲットとした治療が検討されている．

現在，研究が進められているCCR3拮抗薬として，(i) modified natural chemokines，(ii) peptide/protein based antagonists，(iii) small molecular antagonistsがある[20]．

ケモカイン遺伝子の塩基配列の一部を操作することにより，構造を変化させることで，シグナルを発生させないケモカイン拮抗薬の作製が研究されている．Met-RANTESはCCR1とCCR3に結合し，これらの受容体と結合しうるリガンドの結合を阻害し，結果的に好酸球機能を抑制する[21]．この他にもCCL18 (MIP-4) を修飾したmet-chemokineβ7[22]や，CCL11のN末端のアミノ酸をCXCL11（I-TAC：CXCR3作用薬）で置換したCCR3拮抗薬[23]などについても研究がすすめられている．

Peptide/protein based antagonistsとしてCPWYFWPCがCCR3拮抗薬として[24]，small molecular antagonistsとしてはbenzylpiperidine誘導体[25]が報告されている．これらの薬剤については，動物を用いたアレルギー疾患モデル（*in vivo*）における効果についての研究が期待される．

また，抗CCL11モノクローナル抗体[26]の臨床応用が検討されており，こちらの分野での今後の発展が期待される．

結　語

本稿では重症結膜アレルギー患者における炎症細胞の選択的集積におけるケモカインの重要性について概説した．アレルギー性炎症にてはケモカイン（特にCCL11）の過剰発現が病態の重症化，遷延化に関与していると考えられる．現在開発中のケモカイン拮抗薬の多くは比較的選択性が高く，ステロイドなど広範囲に作用する薬剤に比べてアレルギー性炎症に適していると考えられる．今後の研究によりケモカイン拮抗薬が次世代の抗アレルギー薬として活躍することが期待される．

文　献

1) Collin HB, Allansmith MR：Basophils in vernal conjunctivitis in humans：an electron microscopy study. Invest Ophthal Vis Sci 16：858-864, 1977.
2) Takano Y, Fukagawa K, Dogru M, Asano-Kato N, Tsubota K, Fujishima H：Inflammatory cells in brush cytology samples correlate with the severity of corneal lesions in atopic keratoconjunctivitis. Br J Ophthalmol 88：1504-1505, 2004.
3) Kumagai N, Fukuda K, Ishimura Y, Nishida T：Synergistic induction of eotaxin expression in human keratocytes by TNF-alpha and IL-4 or IL-13. Invest Ophthalmol Vis Sci 41：1448-1453, 2000.
4) Fukagawa K, Nakajima T, Saito H, Tsubota K, Shimmura S, Natori M, Hirai K：IL-4 induces eotaxin production in corneal keratocytes but not in epithelial cells. Int Arch Allergy Immunol 121：144-150, 2000.
5) Leonardi A, Jose PJ, Zhan H, Calder VL：Tear and mucus eotaxin-1 and eotaxin-2 in allergic keratoconjunctivitis. Ophthalmology 110：487-489 2003.
6) Fukagawa K, Saito H, Tachimoto H, Tsubota K, Akasawa A, Oguchi Y：RANTES production in a conjunctival epithelial cell line. Cornea 16：564-570, 1997.
7) Tran MT, Tellaetxe-Isusi M, Elner V, Strieter RM, Lausch RN, Oakes JE：Proinflammatory cytokines induce RANTES and MCP-1 synthesis in human corneal keratocytes but not in corneal epithelial cells. Beta-chemokine synthesis in corneal cells. Invest Ophthalmol Vis Sci 37：987-996, 1996.
8) Takano Y, Fukagawa K, Shimmura S, Tsubota K, Oguchi Y, Saito H：IL-4 regulates chemokine production induced by TNF-α in keratocytes and corneal epithelial cells. Br J Ophthalmol 83：1074-1076, 1999.
9) Fukagawa K, Nakajima T, Tsubota K, Shimmura S, Saito H, Hirai K：Presence of eotaxin in tears of patients with atopic keratoconjunctivitis with severe corneal damage. J Allergy Clin Immunol 103：1220-1221, 1999.
10) Fukagawa K, Okada N, Fujishima H, Nakajima T, Tsubota K, Takano Y, Kawasaki H, Saito H, Hirai K：CC-chemokine receptor 3：a possible target in treatment of allergy-related corneal ulcer. Invest Ophthalmol Vis Sci 43：58-62, 2002.
11) Cubitt CL, Tang Q, Monteiro CA, Lausch RN, Oakes JE：IL-8 gene expression in cultures of human corneal epithelial cells and keratocytes. Invest Ophthalmol Vis Sci 34：3199-206, 1993.
12) Irkec M, Bozkurt B：Epithelial cells in ocular allergy. Curr Allergy Asthma Rep 3：352-357, 2003.
13) Leonardi A, DeFranchis G, Fregona IA, Violato D, Plebani M, Secchi AG：Effects of cyclosporine A on human conjunctival fibroblasts. Arch Ophthalmol 119：1512-1517, 2001.
14) Miyoshi T, Fukagawa K, Shimmura S, Fujishima H, Takano Y, Takamura E, Tsubota K, Saito H, Oguchi Y：Interleukin-8 concentrations in conjunctival epithelium brush cytology samples correlate with neutrophil, eosinophil infiltration, and corneal damage. Cornea 20：743-747, 2001.
15) Leonardi A, Borghesan F, Faggian D, Depaoli M, Secchi AG, Plebani M：Tear and serum soluble leukocyte markers in conjunctival allergic diseases. Am J Ophthalmol 129：151-158, 2000.
16) El-Asrar AM, Struyf S, Al-Kharashi SA, Missotten L, Van Damme J, Geboes K：Expression of T lymphocyte chemoattractants and activation markers in vernal keratoconjunctivitis. Br J Ophthalmol 86：1175-1180, 2002.
17) Fujishima H, Takeuchi T, Shinozaki N, Saito I, Tsubota K：Measurement of IL-4 in tears of patients with seasonal allergic conjunctivitis and vernal keratoconjunctivitis. Clin Exp Immunol 102：395-398, 1995.
18) Bradding P, Roberts JA, Britten KM, Montefort S, Djukanovic R, Mueller R, Heusser CH, Howarth PH, Holgate ST：Interleukin-4, -5, and -6 and tumor necrosis factor-alpha in normal and asthmatic airways：evidence for the human mast cell as a source of these cytokines. Am J Respir Cell Mol Biol 10：471-480, 1994.
19) Gundel R, Lindell D, Harris P, Fournel M, Jesmok G, Gerritsen ME：IL-4 induced leucocyte trafficking in cynomolgus monkeys：correlation with expression of adhesion molecules and chemokine generation. Clin Exp Allergy 26：719-729,1996.
20) Gangur V, Birmingham NP, Thanesvorakul S, Joseph S：CCR3 and CXCR3 as drug targets for allergy：principles and potential. Curr Drug Targets Inflamm Allergy 2：53-62, 2003.
21) Elsner J, Petering H, Hochstetter R, Kimmig D, Wells TN, Kapp A, Proudfoot AE：The CC chemokine an-

tagonist Met-RANTES inhibits eosinophil effector functions through the chemokine receptors CCR1 and CCR3. Eur J Immunol 27 : 2892-2898, 1997.

22) Nibbs RJ, Salcedo TW, Campbell JD, Yao XT, Li Y, Nardelli B, Olsen HS, Morris TS, Proudfoot AE, Patel VP, Graham GJ : C-C chemokine receptor 3 antagonism by the beta-chemokine macrophage inflammatory protein 4, a property strongly enhanced by an amino-terminal alanine-methionine swap. J Immunol 164 : 1488-1497, 2000.

23) Loetscher P, Pellegrino A, Gong JH, Mattioli I, Loetscher M, Bardi G, Baggiolini M, Clark-Lewis I : The ligands of CXC chemokine receptor 3, I-TAC, Mig, and IP10, are natural antagonists for CCR3. J Biol Chem 276 : 2986-2991, 2001.

24) Houimel M, Loetscher P, Baggiolini M, Mazzucchelli L : Functional inhibition of CCR3-dependent responses by peptides derived from phage libraries. Eur J Immunol 31 : 3535-3545, 2001.

25) De Lucca GV, Kim UT, Johnson C, Vargo BJ, Welch PK, Covington M, Davies P, Solomon KA, Newton RC, Trainor GL, Decicco CP, Ko SS : Discovery and structure-activity relationship of N-(ureidoalkyl)-benzyl-piperidines as potent small molecule CC chemokine receptor-3 (CCR3) antagonists. J Med Chem 45 : 3794-3804, 2002.

26) Dent G, Hadjicharalambous C, Yoshikawa T, Handy RL, Powell J, Anderson IK, Louis R, Davies DE, Djukanovic R : Contribution of eotaxin-1 to eosinophil chemotactic activity of moderate and severe asthmatic sputum. Am J Respir Crit Care Med 169 : 1110-1117, 2004.