

## 건성안 환자의 눈물내의 케모카인 리간드4의 농도와 눈물표면인자와의 상관관계

이승현 · 임성규 · 윤경철

전남대학교 의과대학 안과학교실

**목적:** 건성안 환자의 눈물에서 CCL4/MIP1-β (macrophage inflammatory protein1-β)의 발현에 대해 연구하였다.  
**대상과 방법:** 건성안 환자 40명(안검염 7명, 비안검염 33명)과 정상대조군 25명을 대상으로 눈물내의 CCL4의 농도를 효소면역요법으로 측정하였고, 건성안 환자의 눈물막파괴시간, 기저눈물분비, 눈물청소율, 각막상피병증, 그리고 결막의 술잔세포밀도 및 편평상피화생 정도를 검사하였다. 각 군의 대상자의 눈물에서 측정된 CCL4 농도와 눈물표면인자와의 상관성에 대해 조사하였다.  
**결과:** 대조군에서 CCL4의 농도는  $4.3 \pm 5.2$  pg/ml였고, 건성안 환자에서는  $81.6 \pm 294.3$  pg/ml ( $p=0.03$ )였다. 이 중 비안검염 환자( $90.4 \pm 313.9$  pg/ml)에서 CCL4 농도는 안검염 환자( $20.3 \pm 23.2$  pg/ml)에 비해 의미있게 높았다( $p=0.02$ ). 건성안 환자에서 CCL4 농도는 기저눈물분비, 눈물청소율, 각막상피병증, 그리고 결막술잔세포의 밀도와 유의한 상관관계를 보였다( $p<0.05$ ).  
**결론:** 건성안 환자의 눈물에서 CCL4의 농도가 증가하였으며, 이는 질병의 중증도와 상관성이 있었다.  
(대한안과학회지 2010;51(3):313-319)

건성안은 눈물삼투압의 증가와 안표면의 염증에 동반된 안구의 불편감, 시력장애, 눈물층의 불안정이 나타나는 다요인성 질환이라고 알려져 있다.<sup>1</sup> 건성안 발생의 병리학적인 기전은 아직 명확히 밝혀지지 않았지만 안표면의 염증성 변화와 관련이 있으며, 다양한 염증 인자들은 건성안의 병리학적인 진행과정뿐만 아니라 안구불편감에도 기인할 것이라는 여러 연구들이 보고되고 있다. 눈물과 결막상피 내의 IL-1 (interleukin-1), IL-6, IL-8, TNF-α (tumor necrosis factor-α)와 같은 염증성 사이토카인과, HL-DR, ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1)과 같은 결막상피세포내 면역활성 및 유착물질, 그리고 케모카인 수용체인 CCR5 등의 발현이 증가되어 건성안을 유발한다.<sup>2-6</sup> 그 외에도 건성안에서 MMP (matrix metalloproteinase) 농도와 활성이 증가하고 안구표면상피의 세포자멸사가 증가하는 소견도 보인다.<sup>7-9</sup>

케모카인은 염증부위로 염증 및 면역세포를 유도하는데 핵심적인 역할을 하는 단백질로서, 케모카인 수용체에 따라

여러 가지 세포아형을 유도하는데 특이성을 보인다. T 세포가 건성안 스트레스에 반응하여 결막내에서 증가하므로, 케모카인과 그 수용체들이 안구표면에서 증가될 수 있으며, 건성안에서 핵심적인 역할을 하는 1형 보조 T 세포(Th1)와 관련된 케모카인 수용체로는 CCR5와 CXCR3가 있다. CCR5와 관련된 케모카인으로서는 CCL3/MIP1-α (macrophage inflammatory protein1-α), CCL4/MIP1-β (macrophage inflammatory protein1-β), RANTES (regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted)가 있고 CXCR3와 관련된 케모카인으로서는 MIG (monokine induced by γ-interferon)/CCL9, IP-10 (interferon-γ inducible protein of 10kDa)/CCL10, ITAC (interferon-inducible T-cell alpha)/CCL11 등이 있다.

Delphi 패널에서는 건성안을 안검질환이 있는 경우와 없는 경우로 나누고, 증상과 임상징후의 중증도에 따라 네 단계로 나누었다.<sup>10</sup> DEWS (dry eye workshop)에서는 델포이 패널의 건성안 분류를 받아 들여 적용하였지만 눈물의 수성층이 부족한 건성안 환자들에서도 안검질환이 자주 나타나기 때문에 중증도에 따른 네 단계 모두에서 안검질환은 동반될 수 있다고 하였다.<sup>11</sup> 최근까지 Th-1 케모카인과 그 수용체가 안구건조증에서 증가한다는 여러 연구<sup>12-16</sup>가 있어왔으나, 건성안 환자에서 눈물내 CCL4에 관한 보고는 부족하다. 따라서 본 연구에서 저자들은 건성안 환자를 델포이 패널 기준에 따라 마이봄샘기능부전이 있는 경우와

■ 접 수 일: 2009년 8월 5일 ■ 심사통과일: 2009년 10월 19일

■ 책임저자: 윤 경 철

광주광역시 동구 학동 8번지  
전남대학교병원 안과  
Tel: 062-220-6742, Fax: 062-227-1642  
E-mail: kcyoon@chonnam.ac.kr

\* 본 논문의 요지는 2009년 대한안과학회 제10회 춘계학술대회에서 구연으로 발표되었음.

\* 이 논문은 전남대학교병원 임상의학연구소 학술 연구비에 의하여 연구되었음.

없는 경우로 나누어 각각의 눈물에서 CCL4 농도를 측정하고, 측정된 농도와 여러 눈물 표면 인자와의 상관관계에 대해 알아보고자 하였다.

## 대상 및 방법

2008년 1월 1일부터 2009년 1월 30일까지 본원 안과 외래에서 추적관찰이 가능했던 건성안 환자 40명(마이봄샘기능부전 7명, 비마이봄샘기능부전 33명(쇼그렌증후군 3명, 비쇼그렌증후군 30명)과 건강한 자원자 25명을 대상으로 하였다. 건성안 환자는 최소 3개월 이상의 안구건조증과 눈물막파괴시간이 7초 이하, 눈물분비검사 7 mm 미만, 눈물청소율은 표준검사지를 각각 1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256로 희석한 8단계로 형광색소의 농도가 연해짐에 따라 구분하고 염색정도의 수치적인 비교를 위하여  $\log_2^{-1}$ 값으로 변환하였으며, 눈물청소율이 1/8보다 덜 희석된 경우를 대상으로 하였다. 또한 각막상피병증의 정도는 형광색소염색 후 각막상피병증의 면적과 밀도를 점수화하여 이를 곱한 수치를 0에서 9까지 나타내어 안구표면 염색점수가 3 이상인 환자를 대상으로 하였다. 이 중 마이봄샘기능부전 환자는 열려있는 마이봄샘이 75% 이상 결핍되어 있거나, 형태학적 변화가 있는 마이봄샘이 2개 이상 있거나, 뒷눈꺼풀테에 샘파리위축, 구멍화생, 혈관의 확장 등의 소견이 있는 경우로 정의하였다.<sup>12</sup>

건성안과 직접적인 관련이 없는 급성 안구표면의 감염 또는 염증이 있는 경우, 콘택트렌즈를 사용하는 경우, 3개월 이내 수술을 받은 경우, 알레르기 질환이나 약물에 의한 독성이 있는 경우, 눈꺼풀의 이상 또는 염증이 있는 경우, 스테로이드나 면역억제제를 사용하고 있는 경우는 대상에서 제외하였다. 모든 환자에서 개개인의 동의를 얻었으며 전남대학교 의과대학의 임상시험윤리위원회(Chonnam National University institutional review board, IRB)의 승인을 받았다.

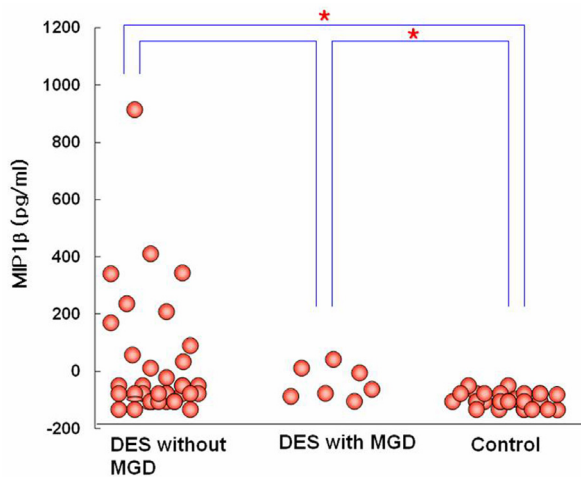
눈물은 직경 10  $\mu$ L의 유리모세관(Mariefeld, Lauda-Königshofen, Germany)을 이용하여 환자의 하측 결막낭에서 자극을 최소한으로 줄인 후 30  $\mu$ L 이상을 채취하였고, 마이크로튜브에 모아 -70°C에 보관한 후 ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)를 시행하였다. 대상자의 눈물검체 30  $\mu$ L를 PBS (Phosphate buffered saline)로 희석하여 100  $\mu$ L를 만든 후, ELISA kit (Quantikine, R&D system, Minneapolis, MN, USA)를 이용하여 제조사의 설명서에 따라 측정하였다. CCL4의 최소 검출 농도는 4.0 pg/mL (1.37~11.31 pg/mL)이었다.

건성안 환자 및 정상인에서 눈물막파괴시간, 기본눈물분량, 눈물청소율, 각막지각, 각막상피병증, 그리고 결막술잔세포의 밀도를 조사하였다. 눈물막파괴시간은 0.5% proparacaine hydrochloride (Alcaine, Alcon, Texas, USA)로 국소마취를 시행하고 형광 염색 후 첫 번째 결손이 나타나는 시간을 3회 측정 하여 평균값으로 하였으며, 기본눈물분량은 0.5% proparacaine hydrochloride (Alcaine)로 점안 마취 후 남아있는 눈물을 면봉으로 제거한 다음, 결막에 자극이 없는 것을 확인하고 쉬르머검사지(Colorbar, Eagle Vision, TN, USA)를 외측 결막낭에 넣고 5분 후에 적서진 길이를 측정하였다.

눈물청소율은 0.5% fluorescein 과 0.5% proparacaine hydrochloride (Alcaine)를 혼합한 용액 10  $\mu$ L를 결막낭에 점적한 5분 후 쉬르머검사지를 외측 결막낭의 1/3지점에 넣고, 5분 경과 후 염색액이 희석되는 정도를 표준 검사지와 비교하였다. 표준 검사지는 각각 1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256 로 희석한 8단계로 형광색소의 농도가 연해짐에 따라 구분하였다. 염색정도의 수치적인 비교를 위하여  $\log_2^{-1}$ 값으로 나타내었다.<sup>17</sup> 각막지각은 Cochet-Bonnet 각막지각계(Luneau, Chartres, France)를 이용하여 각막의 중심부에 나일론 섬유를 수직으로 압박하여 환자가 지각하는 최대 길이를 측정하였으며 3회 반복하여 평균치로 기록하였다.<sup>18</sup> 각막상피병증의 정도는 형광색소염색 후 각막상피병증의 면적과 밀도를 점수화하여 이를 곱한 수치로 하였다. 면적점수는 염색이 되지 않은 경우를 0, 각막의 1/3 이하인 경우를 1, 1/3과 2/3 사이를 2, 2/3이상을 3으로 하였고, 밀도점수는 염색이 되지 않은 경우를 0, 정도를 1, 중등도를 2, 밀도가 높고 병변 들이 겹치는 경우를 3으로 나타내었다.<sup>19,20</sup>

결막압흔검사는 0.5% proparacaine hydrochloride (Alcaine)로 점안 마취 후 6.2 mm 직경의 cellulose acetate 여과지(MFS membrane filter, Advante MFS, USA)를 적당한 원형 크기로 자른 후 무딘 면을 아래로 하여 각막윤부에 인접한 상이측 구결막에 2~3초간 접촉시켜 시행하였다.<sup>14</sup> 여과지를 조심스럽게 접촉면으로부터 떼어낸 후 젤라틴이 코팅된 유리슬라이드 위에 놓고 다른 슬라이드로 밀착 후 떼어내고 곧바로 95% 에탄올로 고정한 다음 Periodic Acid Schiff (PAS) 염색을 시행하였다. 광학 현미경하에서 400배로 확대하여 술잔세포의 밀도는 제곱 밀리미터당 세포의 수로 나타내었다.

결과 분석을 위한 통계 방법으로 Mann-Whitney U test를 사용하였고,  $p$ -value가 0.05 이하인 경우를 의미 있는 것으로 하였다. 건성안 환자에서 CCL4의 농도와 눈물지표와의 상관관계는 spearman correlation coefficients를 이



**Figure 1.** CCL4 levels in tears of Meibomian gland dysfunction patients, non-Mebomian gland dysfunction patients and control subjects. DES=dry eye syndrome; MGD=Meibomian gland dysfunction; \* $p<0.05$ .

용하여 분석하였다.

## 결 과

대상 환자 40명 중 남자는 14명, 여자는 26명이었으며, 평균 연령은  $45.0 \pm 14.1$ 세(26~72세)였다. 이중 마이봄샘 기능부전 환자는 남자 2명, 여자 5명이었고, 평균 연령은  $48.1 \pm 12.6$ 세(29~64세)였으며, 비마이봄샘기능부전 환자는 남자 12명, 여자 21명이었고, 평균 연령은  $44.3 \pm 14.8$  (26~72세)였다. 이 중 쇼그렌증후군 환자는 여자 3명이었고, 평균 연령은  $45.0 \pm 6.6$  (39~52세)였다.

CCL4의 평균 농도는 정상인에서  $4.3 \pm 5.2$  pg/ml이었고, 건성안 환자에서는  $81.6 \pm 294.3$  pg/ml이었다( $p=0.03$ ). 건성안 환자 중 마이봄샘기능부전에서는  $20.3 \pm 23.2$  pg/ml ( $p=0.02$ )였고, 비마이봄샘기능부전에서는  $90.4 \pm 313.9$  pg/ml ( $p<0.01$ )였다. 또한 비마이봄샘기능부전에서 마이봄샘기

능부전보다 통계적으로 유의하게 높았다( $p=0.02$ , Fig. 1).

대상자의 눈물막파괴시간, 기본눈물분비량, 눈물청소율, 각막지각, 각막상피병증, 그리고 결막술잔세포의 밀도는 Table 1에 나타내었다. 건성안 환자와 정상인에서 눈물막 파괴시간, 기본눈물분비량, 눈물청소율, 각막상피병증 그리고 결막술잔세포밀도는 각각  $4.55 \pm 1.78$ 초와  $17.4 \pm 2.41$  초,  $5.41 \pm 1.65$  mm와  $12.4 \pm 2.99$  mm,  $2.24 \pm 0.89$ 와  $5.64 \pm 6.75$ ,  $5.08 \pm 2.55$ 와  $0.10 \pm 0.32$ ,  $174.29 \pm 40.4$ 개/mm<sup>2</sup>와  $357.6 \pm 33.1$ 개/mm<sup>2</sup> ( $p<0.05$ )로 차이가 있었고 각막지각은  $55.7 \pm 2.6$  mm,  $58.5 \pm 2.4$  mm ( $p=0.09$ )로 두 군간의 유의한 차이는 없었다. 건성안 환자 중 비마이봄샘기능부전에서 마이봄샘기능부전에 비해 각막상피병증은 높았고 결막술잔세포밀도는 낮았으며( $p<0.05$ ), 눈물막파괴시간, 기본눈물분비량, 눈물청소율, 각막지각은 유의한 차이가 없었다.

건성안 환자의 눈물내 CCL4 농도는 기본눈물분비량( $r=-0.531$ ,  $p=0.01$ ), 눈물청소율( $r=-0.729$ ,  $p<0.01$ ), 각막상피병증( $r=0.391$ ,  $p=0.04$ ), 결막술잔세포의 밀도( $r=-0.471$ ,  $p=0.02$ )와 유의한 상관관계가 있었으나, 눈물막파괴시간( $R=0.999$ ,  $p=0.68$ )과 각막지각( $r=-0.512$ ,  $p=0.09$ )과는 상관성이 없었다(Fig. 2).

## 고 찰

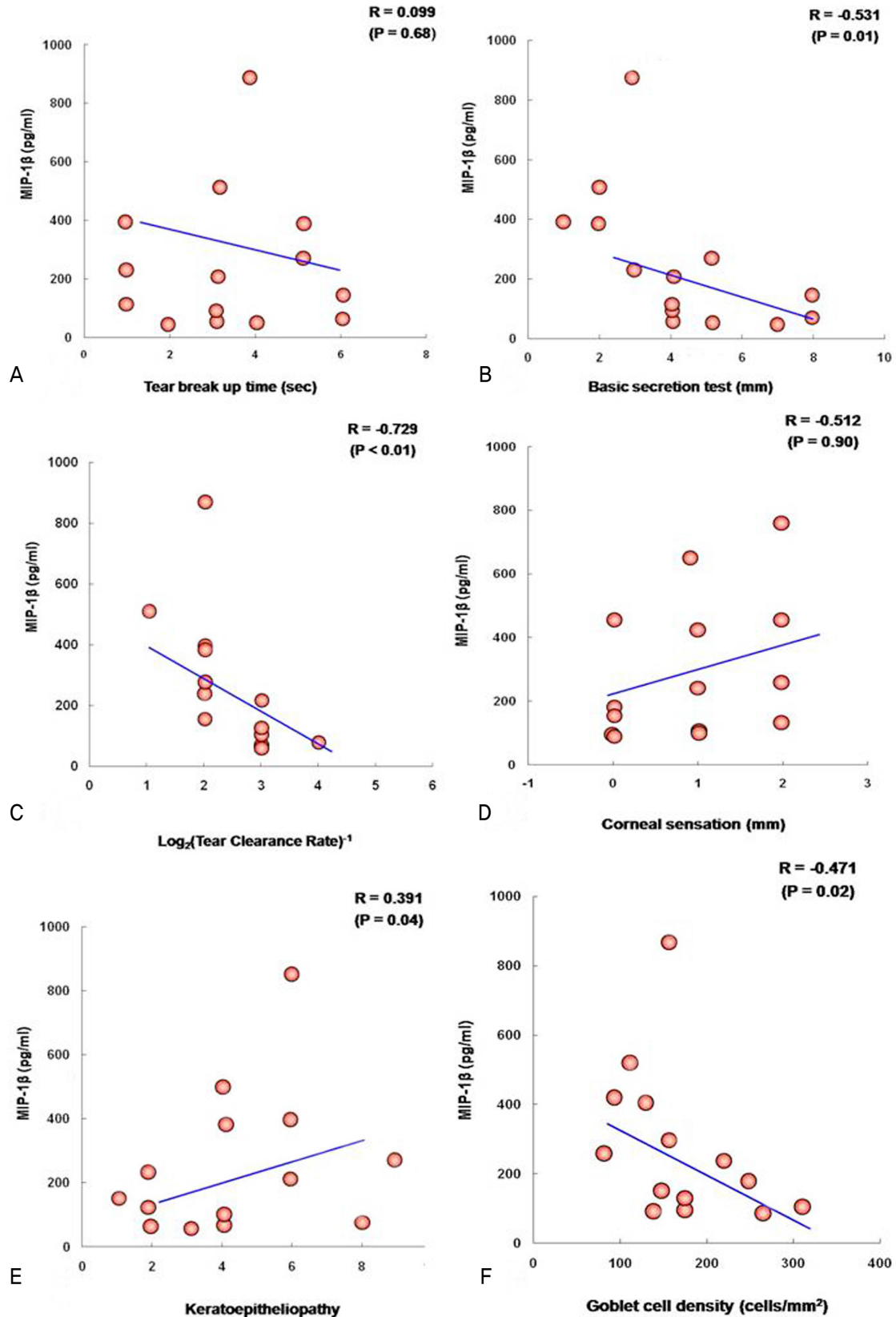
최근 건성안은 눈물막의 고삼투압과 안구 표면 염증에 대한 중요성이 인식되면서, 눈물막의 증가된 삼투압과 안구 표면의 염증이 동반된 눈의 불편감, 시각장애, 눈물막의 불안정성을 유발하는 눈물과 안구 표면의 다요소적 질환으로 정의되고 있다. 고삼투압성 눈물이 안구 표면에서의 염증 반응을 활성화 시키고 염증 관련 매개체들이 눈물로 분비되어 안구 표면 상피를 손상시키게 되어 세포 사멸, 술잔세포 소실, 무신 분비 이상이 초래되고 눈물막의 불안정성이 유발되어 결국 눈물의 삼투압 증가로 다시 이어지는 악순환이 건성안을 유발하며, 이외에도 염증반응 활성화로 인한

**Table 1.** Comparison of tear film parameters in dry eye patients with and without meibomian gland disease and control subjects

	Control	DES <sup>‡</sup>		
		Non-MGD	MGD <sup>§</sup>	Total
Tear film break-up time (sec)	$17.4 \pm 2.41$	$4.73 \pm 2.45^*$	$3.70 \pm 0.95^*$	$4.55 \pm 1.75^*$
Basal tear secretion (mm)	$12.4 \pm 2.99$	$5.20 \pm 0.45^*$	$6.40 \pm 2.45^*$	$5.41 \pm 1.65^*$
Tear clearance rate ((Log2) <sup>-1</sup> )	$5.64 \pm 6.75$	$2.19 \pm 0.78^*$	$2.50 \pm 0.53^*$	$2.24 \pm 0.89^*$
Corneal sensation	$58.5 \pm 2.4$	$54.5 \pm 2.3^*$	$57.1 \pm 2.5$	$55.7 \pm 2.6$
Keratoepitheliopathy score	$0.10 \pm 0.32$	$5.60 \pm 3.55^{*†}$	$2.62 \pm 2.21^*$	$5.08 \pm 2.55^*$
Goblet cell density (cell/mm <sup>2</sup> )	$357.6 \pm 33.1$	$155.2 \pm 36.6^{*†}$	$264.3 \pm 44.6$	$174.29 \pm 40.4^*$

\* $p<0.01$  compared with control subjects; <sup>†</sup> $p<0.01$  compared with Meibomian gland disease subjects; <sup>‡</sup>DES=dry eye syndrome;

<sup>§</sup>MGD=Meibomian gland disease.



**Figure 2.** Correlation between MIP-1β levels in tears of dry eye patients and tear surface parameters including tear break-up time (A), basal tear secretion (B), tear clearance rate (C), corneal sensation (D), keratoepitheliopathy score (E), and conjunctival goblet cell density(F).

눈물샘의 눈물 분비 감소, 눈꺼풀 질환으로 인한 눈물 증발의 증가 등 여러 요인이 관련되어진다고 생각되고 있다.<sup>1</sup> 건성안 발생의 핵심적인 기전인 염증반응에는 Th1 세포와 이와 관련된 여러 사이토카인과 케모카인이 관여한다고 알려져 있다. 대표적인 케모카인으로서는 CXCR3와 관련된 CXCL9, CXCL10, CXCL11이 있고 CCR5와 관련된 CCL3, CCL4가 있으며, 이와 관련된 연구로 Paiva et al<sup>13</sup>은 건성안 동물모델의 눈물에서 INF- $\gamma$ 의 농도가 증가하였으며 이는 결막의 편평상피화생을 촉진하고 T 세포의 침윤과 관계된 기전에 중요한 역할을 한다고 하였다. 또한 쇼그렌증후군 환자의 침샘 상피세포에서 침샘을 침범한 림프구에서 분비된 INF- $\gamma$ 에 의해 CXCL11의 분비가 증가하였으며, CXCL11은 CCR5와 CCR3에 길항작용을 한다는 연구가 있었다.<sup>14,15</sup> Kim et al<sup>21</sup>은 건성안 환자의 눈물에서 CXCL11의 농도가 증가하였고 이는 질병의 중증도 및 눈물표면인자와 상관성이 있다고 보고하였다. Yoon et al<sup>16</sup>은 각각 다른 strain의 mice에게 건성안을 유발한 후 C57/BL6 쥐 모델에서는 Th1 케모카인인 CCL3, CCL4, MIG, IP-10등이 증가하고, BALB/c 쥐 모델에서는 Th2 케모카인인 MCP-3나 eotaxin-1 등이 증가한다고 하였고 Gulati et al<sup>5</sup>은 건성안 환자의 결막에서 케모카인 수용체인 CCR5가 증가한다고 하였다.

MIP-1은 CCR5와 관련된 케모카인에 속하는 단백질로 세균의 내독소에 자극 받은 대식세포에 의해서 생성되며 사람에서는 CCL3와 CCL4의 두 형태가 있다고 보고되고 있다.<sup>22</sup> 이들의 기능은 중성구, 호산구, 호염구, 자연 살해 세포, T 림프구 등을 자극, 활성화 시켜 염증 반응을 유발하는 것으로 알려져 있다.<sup>23</sup> 최근 안과적으로는 건성안과 MIP-1과의 연관성에 대하여 Kim et al<sup>24</sup>은 항산화 및 염증 억제 기능성 복합 식품인 Optibiol<sup>®</sup>은 건성안 환자에서 증상과 징후를 모두 호전시키며 치료 효과를 나타내었고, 이는 염증 관련 단백질의 발현 감소, 특히 CCL4 감소에 의한 염증 반응 억제가 주요한 요인이라고 하였다. Malesiński et al<sup>25</sup>은 62명의 건성안 환자의 눈물과 18명의 정상 대조군의 눈물을 비교하여 건성안에서 CCL3, CCL4가 유의하게 증가하였다고 발표하였으나, CCL4와 건성안의 중증도와와의 관련성에 대한 연구는 없었다.

본 연구에서는 대상자의 눈물에서 CCL4의 농도를 측정하였으며 그 결과 건성안 환자의 눈물에서 정상대조군에 비해 CCL4의 농도가 높았다. 또한 마이봄샘기능부전이 동반된 건성안 환자보다 마이봄샘기능부전이 동반되지 않은 건성안 환자에서 농도가 더 높았다. 이는 마이봄샘기능부전 환자에서는 눈물의 지방층의 불안정으로 인한 눈물증발의 증가가 건성안 발생의 주요한 원인이 되기 때문에 쇼그렌

증후군 등 다른 건성안 환자들에 비하여 결막의 염증반응이 심하지 않았을 것이다. 또한 CCL4의 농도는 눈물지표 중 기본눈물분비량, 눈물청소율, 각막상피병증, 결막술잔세포의 밀도와 의미 있는 상관관계가 있었다. 눈물막파괴시간과 유의한 관계를 보이지 않은 이유는 마이봄샘기능부전이 동반된 건성안 환자군에서 CCL4의 농도는 낮았지만 눈물막파괴시간은 짧았기 때문으로 생각된다.

정상대조군의 눈물에서도 소량의 CCL4가 검출되었는데, 이는 안표면의 정상적인 면역학적 방어기전에 CCL4가 관여하기 때문으로 생각된다. 결막과 눈물샘의 염증은 안표면 상태를 변화시켜 건성안을 유발하며, 여기에는 T 세포와 여러 가지 사이토카인과 케모카인이 관여한다고 알려져 있다.<sup>17-21,26-28</sup> 눈물의 사이토카인과 케모카인은 건성안과 밀접한 관련이 있는 염증의 정도를 직접적으로 반영하므로 기존의 눈물막파괴시간검사, 눈물분비량검사, 각막상피병증 등의 임상적인 검사들에 비해 질환의 중증도를 평가함에 있어 보다 정확한 지표가 될 수 있을 것으로 생각된다.

본 연구의 제한점으로는 첫째, 쇼그렌증후군 환자의 수가 적어서 쇼그렌증후군과 비쇼그렌증후군으로 나누어 분석을 하지 못했으며, 둘째, 마이봄샘기능부전을 가진 건성안 환자의 수가 적고, 동일 성별에서 분석이 이루어지지 않았다는 점이다. 하지만, 14명의 남자 건성안 환자와 26명의 여자 건성안 환자간의 CCL4 농도의 차이는 없었고, 각 군에서 CCL4 농도와 눈물지표와의 상관성도 전체 건성안 환자에서의 결과와 유의한 차이를 보이지 않았다. 이는 건성안 유무에 따른 CCL4 농도의 차이가 성별에 따른 CCL4의 농도의 차이보다 충분히 크기 때문에 성별은 의미 있는 편견으로 작용하지 않을 것으로 사료된다.

결론적으로, CCL4는 건성안 환자의 눈물에서 증가하였고 마이봄샘기능부전이 동반되지 않은 환자들에서 더 저명하였으며, 여러 눈물표면인자와 관련이 있었다. 향후 건성안과 관련이 있는 여러 사이토카인 및 케모카인과 함께 CCL4에 대한 추가적인 연구를 시행하여, 건성안의 발병기전 규명에 도움을 줄 수 있을 것으로 생각된다.

## 참고문헌

- 1) The definition of classification of dry eye diseases: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). Ocul Surf 2007;5:75-92.
- 2) Raphael M, Bellefqih S, Piette JC, et al. Conjunctival biopsy in Sjögren's syndrome : correlations between histological and immunohistochemical features. Histopathology 1988;13:191-202.
- 3) Jones DT, Monroy D, Ji Z, et al. Sjögren's syndrome: cytokine and Epstein-Barr viral gene expression within the conjunctival epithelium. Invest Ophthalmol Vis Sci 1994;35:3493-504.

- 4) Pflugfelder SC, Huang AJ, Feuer W, et al. Conjunctival cytologic features of primary Sjögren's syndrome. *Ophthalmology* 1990;97: 985-91.
- 5) Pflugfelder SC, Jones D, Ji Z, et al. Altered cytokine balance in the tear fluid and conjunctiva of patients with Sjögren's syndrome keratoconjunctivitis sicca. *Curr Eye Res* 1999;19:201-11.
- 6) Gulati A, Sacchetti M, Bonini S, Dana R. Chemokine receptor CCR5 expression in conjunctival epithelium of patients with dry eye syndrome. *Arch Ophthalmol* 2006;124:710-6.
- 7) Sobrin L, Liu Z, Monroy DC, et al. Regulation of MMP-9 activity in human tear fluid and corneal epithelial culture supernatant. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:1703-9.
- 8) Pflugfelder SC, Farley W, Luo L, et al. Matrix metalloproteinase-9 knockout confers resistance to corneal epithelial barrier disruption in experimental dry eye. *Am J Pathol* 2005;166:61-71.
- 9) Corrales RM, Stern ME, De Paiva CS, et al. Desiccating stress stimulates expression of matrix metalloproteinases by the corneal epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:3293-302.
- 10) Behrens A, Doyle JJ, MPH, Stern L, et al. Dysfunctional tear syndrome. A Delphi approach to treatment recommendations. *Cornea* 2006;25:900-7.
- 11) Management and therapy of dry eye disease: Report of the management and therapy subcommittee of the International dry eye workshop (2007). *Ocul Surf* 2007;5:163-78.
- 12) Lam H, Bleiden L, de Paiva CS, et al. Tear cytokine profiles in dysfunctional tear syndrome. *Am J Ophthalmol* 2009;147:198-205.
- 13) De Paiva CS, Villarreal AL, Corrales RM, et al. Dry eye-induced conjunctival epithelial squamous metaplasia is modulated interferon-gamma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:2553-60.
- 14) Ogawa N, Kawanami T, Shimoyama K, et al. Expression of interferon-inducible T cell alpha chemoattractant (CXCL11) in the salivary glands of patients with Sjögren's syndrome. *Clin Immunol* 2004;112:235-8.
- 15) Petkovic V, Moghini C, Paoletti S, et al. I-TAC/CXCL11 is a natural antagonist for CCR5. *J Leukoc Biol* 2004;76:701-8.
- 16) Yoon KC, De Paiva CS, Qi H, et al. Expression of Th-1 Chemokines and Chemokine Receptors on the Ocular Surface of C57BL/6 Mice: Effects of Desiccating Stress. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:2561-9.
- 17) Yoon KC, Heo H, Im SK, et al. Comparison of autologous serum and umbilical cord serum eye drops for dry eye syndrome. *Am J Ophthalmol* 2007;144:86-92.
- 18) Yoon KC, Im SK, Park YG, et al. Application of umbilical cord serum eyedrops for the treatment of dry eye syndrome. *Cornea* 2006;25:268-72.
- 19) Yoon KC, Jeong IY, Im SK, et al. Therapeutic effect of umbilical cord serum eyedrops for the treatment of dry eye associated with graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant* 2007;39:231-5.
- 20) Yoon KC, Im SK, Seo MS. Changes of tear film and ocular surface in diabetes mellitus. *Korean J Ophthalmol* 2004;18:168-74.
- 21) Kim HG, You IC, Yoon KC. I-TAC concentration in tears of dry eye patients and its correlation with tear surface parameters. *J Korean Ophthalmol Soc* 2008;49:1565-71.
- 22) Sherry B, Tekamp-Olson P, Gallegos C, et al. Resolution of the two components of macrophage inflammatory protein 1, and cloning and characterization of one of those components, macrophage inflammatory protein 1β. *J Exp Med* 1988;168:2251-9.
- 23) Menten P, Wuyts A, Van Damme J. Macrophage inflammatory protein-1. *Cytokine Growth Factor Rev* 2002;13:455-81.
- 24) Kim JH, Kim HY, Ryu YH, et al. The effect of an anti-oxidative and anti-inflammatory functional dietary supplement in dry eye syndrome. *J Korean Ophthalmol Soc* 2008;49:1397-1405.
- 25) Malesiński R, Bakunowicz-Lazarczyk A, Wysocka J. The role of chemokines CCL3/ MIP-1 α and CCL4/ MIP-1 β in pathogenesis of dry eye syndrome. *Klin Oczna* 2008;110-9:277-9.
- 26) Stern ME, Gao J, Schwalb TA, et al. Conjunctival T-cell subpopulations in Sjögren's and non-Sjögren's patients with dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43:2609-14.
- 27) Pflugfelder SC, de Paiva CS, Li D-Q, Stern ME. Epithelial-immune interaction in dry eye. *Cornea* 2008;27:S9-11.
- 28) Niederkorn JY, Stern ME, Pflugfelder SC, et al. Desiccating stress induces T-cell mediated Sjögren's syndrome-like lacrimal keratoconjunctivitis. *J Immunol* 2006;176:3950-7.

**=ABSTRACT=**

## **CCL4 Concentration in Tears of Dry Eye Patients and Its Correlation With Tear Surface Parameters**

Seung Hyun Lee, MD, Seoung Kyu Im, MD, Kyung Chul Yoon, MD, PhD

Department of Ophthalmology, Chonnam National University Medical School, Gwangju, Korea

**Purpose:** To investigate the expression of CCL4/MIP-1 $\beta$  in tears of patients with dry eye syndrome and its correlation with the tear surface parameters.

**Methods:** Forty patients with dry eye syndrome (seven Meibomian gland dysfunction and 33 non-Meibomian gland dysfunction patients) and 25 control subjects were recruited. The concentrations of CCL4 in tears were measured using an enzyme-linked immunosorbent assay. The correlations between CCL4 levels and tear surface parameters including tear film break-up time (BUT), basal tear secretion (BST), tear clearance test (TCR), corneal sensation, keratoepitheliopathy (KEP) and conjunctival goblet cell density (GCD) were analyzed in patients with dry eye syndrome.

**Results:** The mean levels of MIP-1 $\beta$  were  $4.3 \pm 5.2$  pg/ml in patients with dry eye syndrome and  $81.6 \pm 294.3$  pg/ml in control subjects ( $p=0.03$ ). The mean levels in non-Meibomian gland disease patients ( $90.4 \pm 313.9$  pg/ml) were significantly higher than those of Meibomian gland dysfunction patients ( $20.3 \pm 23.2$  pg/ml,  $p=0.02$ ). CCL4 levels correlated significantly with BST, TCR, KEP and GCD ( $p<0.05$ ).

**Conclusions:** The level of MIP-1 $\beta$  is elevated in tears of patients with dry eye syndrome and correlates with disease severity and tear surface parameters.

J Korean Ophthalmol Soc 2010;51(3):313–319

**Key Words:** CCL4, Chemokine, Dry eye syndrome, Tear surface parameter

---

Address reprint requests to **Kyung Chul Yoon, MD, PhD**

Department of Ophthalmology, Chonnam National University Medical School

#8 Hak-dong, Dong-gu, Gwangju 501-746, Korea

Tel: 82-62-220-6742, Fax: 82-62-227-1642, E-mail: kcyoon@chonnam.ac.kr