

## 건성안 환자의 눈물 내 케모카인 리간드 5의 농도 분석

최 원 · 이승현 · 윤경철

전남대학교 의과대학 안과학교실

**목적:** 건성안 환자의 눈물 내의 RANTES의 농도에 대해 분석하고자 하였다.

**대상과 방법:** 건성안 환자 40명(쇼그렌증후군 15명, 비쇼그렌증후군 25명)과 정상대조군 10명을 대상으로 눈물 내의 RANTES의 농도를 효소면역요법으로 측정하였고, 건성안 환자의 RANTES 농도와 눈물막파괴시간, 기저눈물분비, 눈물청소율, 각막상피병증, 그리고 결막의 술잔세포밀도를 포함한 눈물막 및 안구표면인자와의 상관성에 대해 조사하였다.

**결과:** 눈물 내 RANTES의 농도는 쇼그렌 증후군 환자에서  $435.46 \pm 104.45$  pg/ml, 비쇼그렌증후군 건성안 환자에서  $257.42 \pm 46.72$  pg/ml, 대조군에서  $97.53 \pm 29.15$  pg/ml로 각 군 간 유의한 차이를 보였다( $p < 0.01$ ). 건성안 환자에서 RANTES의 농도는 기저눈물분비, 눈물청소율, 각막상피병증, 그리고 결막술잔세포의 밀도와 유의한 상관관계를 보였다( $p < 0.05$ ).

**결론:** 건성안 환자의 눈물에서 RANTES의 농도가 증가하였으며, 이는 여러 눈물막 및 안구표면인자와 상관성이 있고 질병의 중등도와 관련이 있었다.

〈대한안과학회지 2011;52(6):658-664〉

최근 건성안은 눈물양이 부족하거나 눈물성분의 이상으로 눈이 불편한 증상과 함께 시력장애, 눈물막의 불안정성과 안구표면의 손상을 동반한 눈물과 안구표면의 복합적인 인자들로 인한 질환으로 눈물막의 오스몰 농도의 증가 및 염증성 사이토카인의 증가를 포함한 안구표면의 염증을 동반한다고 알려져 있다.<sup>1</sup> 최근 외국의 조사들에 의하면 인구의 약 10%에서 33%에서 건성안이 발생하며, 특히 동양에서 그 빈도가 높다고 보고되어 있다.<sup>2-4</sup>

지금까지 밝혀진 건성안 발생의 병리학적 기전은 안구표면의 염증과 관련이 있으며, 염증 인자들이 질환 자체를 일으킬 뿐 아니라 환자의 증상에도 영향을 미친다는 증거들이 제시되고 있다. 특히 건성안의 결막상피의 병리학적 변화에는 CD4+ T 세포의 침윤의 증가, HLA-DR, ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1) 등의 면역활성 및 유착물질의 발현 증가, IL-1 (interleukin-1), IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ ), IFN (interferone)- $\gamma$  등의 염증성 사이토카인의 발현 증가, 그리고 MMP (matrix

metalloproteinase) 농도와 활성의 증가 등이 있다.<sup>5-9</sup>

케모카인은 염증부위로 염증 및 면역세포를 유도하는 데 중요한 역할을 하는 단백질로서, 건성안의 안구표면에서 1형 보조 T세포(Th1)와 세포매개 면역반응에 연관된 케모카인과 그 수용체의 발현이 증가된다고 알려져 있다.<sup>10</sup> 대표적으로 건성안과 관련된 케모카인 수용체는 CCR5 (CC chemokine receptor 5)와 CXCR3 (CXC chemokine receptor 3)가 있으며,<sup>11-13</sup> 최근 저자들은 건성안 환자의 눈물막과 안구표면에서 CXCR3 수용체와 CXCL (cysteine-X amino acid-cysteine chemokine ligand)9, CXCL10, CXCL11 케모카인의 발현이 증가되어 있으며, 이 중 CXCL11 농도는 질병의 중등도 및 눈물막 및 안구표면 인자들과 유의한 상관성이 있다고 보고하였다.<sup>14,15</sup>

CCL5/RANTES (regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted)는 CCR5수용체의 리간드 케모카인 중의 하나이며, 염증부위로 Th1 세포를 유도하고 활성화 시키며 세포 분열을 촉진하는 케모카인이다. 본 연구에서 저자들은 쇼그렌증후군과 비쇼그렌증후군 건성안 환자의 눈물에서 CCL5의 농도를 분석하여 정상인의 농도와 비교하고, 건성안 환자의 눈물 내의 농도와 눈물막 및 안구표면인자와의 상관성을 분석해 보고자 하였다.

### 대상과 방법

■ 접수 일: 2010년 12월 8일 ■ 심사통과일: 2011년 1월 6일  
■ 게재허가일: 2011년 5월 14일

■ 책임저자: 윤 경 철

광주시 동구 제봉로 671  
전남대학교병원 안과  
Tel: 062-220-6742, Fax: 062-227-1642  
E-mail: kcyoon@chonnam.ac.kr

\* 이 논문은 2008년도 전남대학교 학술연구비 지원에 의하여 연구되었음.

본원 외래에 건성안으로 내원하였던 환자 40명(쇼그렌

증후군 15명, 비쇼그렌증후군 25명)과 건강한 자원자 10명을 대상으로 조사하였다. 건성안 환자의 모집기준으로는 3개월 이상의 건성안 증상이 있으면서 눈물막파괴시간이 7초 이내, 눈물분비검사가 7 mm 이하, 눈물청소율이 1/8보다 덜 희석된 경우와 안구표면 염색점수가 3 이상일 때로 하였다. 이 중 쇼그렌증후군 환자는 American-European Consensus Group에서 제안한 진단 기준인 안 증상, 구강 증상, 쉬르머 I 검사에서 5 mm 이하이거나 로즈벤갈 염색 점수가 4 이상, minor 침샘의 국소 타액선염, 침샘의 침범 소견, 혈청내 Ro 또는 La 항원에 대한 자가항체의 존재여부를 평가하여 기준에 적합한 환자를 대상으로 하였다.<sup>16</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 본 대학병원의 임상시험윤리위원회의 승인을 받았다.

눈물은 직경 10  $\mu$ l의 유리모세관(Marienfeld, Lauda-Königshofen, Germany)을 이용하여 환자의 하측 결막낭에서 자극을 최소한으로 줄인 후 10  $\mu$ l 이상을 채취하였고, 마이크로튜브에 담아 원심분리(4°C, 3000 rpm, 5 min) 후 상층액을 모아 -70°C에 보관한 후 ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)를 시행하였다. 대상자의 눈물검체 10  $\mu$ l를 PBS (Phosphate buffered saline)로 희석하여 50  $\mu$ l를 만든 후, ELISA kit (Quantikine, R&D system, Minneapolis, MN, USA)를 이용하여 제조사의 설명서에 따라 측정하였다. CCL5/RANTES의 최소 검출 농도는 2.0 pg/ml (1.7-6.6 pg/ml)이었다.

건성안 환자 및 정상인에서 눈물막파괴시간, 기본눈물분비량, 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 측정하여 평균값으로 하였으며, 기본눈물분비량은 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 적셔진 길이를 측정하였다.

눈물청소율은 0.5% fluorescein과 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 검사지

와 비교하였다. 표준 검사지는 각각 1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256로 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.

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, 2/3 이상을 3으로 하였고, 밀도점수는 염색이 되지 않은 경우를 0, 정도를 1, 중등도를 2, 밀도가 높고 병변이 겹치는 경우를 3으로 나타내었다.<sup>18</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. 여과지를 조심스럽게 접촉면으로부터 떼어낸 후 젤라틴이 코팅된 유리슬라이드 위에 놓고 다른 슬라이드로 밀착 후 떼어내고 곧바로 95% 에탄올로 고정된 다음 Periodic Acid Schiff (PAS) 염색을 시행하였다. 광학 현미경하에서 400배로 확대하여 술잔세포의 밀도를 평가하였다.<sup>19</sup>

결과 분석을 위한 통계 방법으로 Mann-Whitney U test를 사용하였고,  $p$ -value가 0.05 이하인 경우를 의미 있는 것으로 하였다. RANTES의 농도와 눈물지표와의 상관 관계는 spearman correlation coefficients를 이용하여 분석하였다.

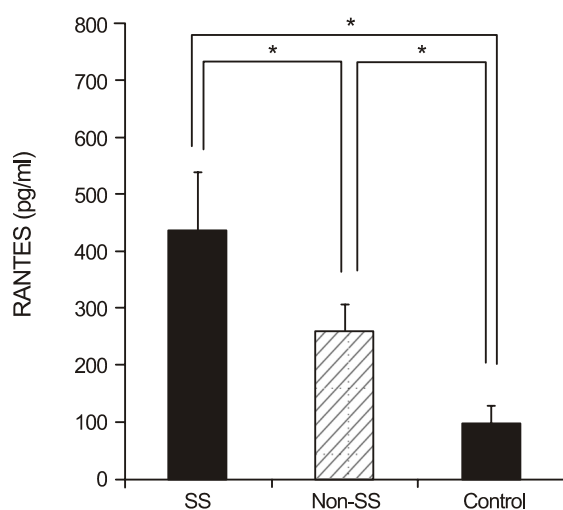
## 결 과

정상인 10명 중 남자는 4명, 여자는 6명이었으며 평균연령은  $44.0 \pm 15.2$ 세(34-70세)였고, 건성안 환자 40명 중 남자는 15명, 여자는 25명이었으며, 평균 연령은  $46.1 \pm 15.4$ 세(28-75세)였다. 이 중 비쇼그렌증후군 환자는 남자 11명, 여자 14명이었고, 평균 연령은  $46.3 \pm 16.8$ 세(28-75세)였으며, 쇼그렌증후군 환자는 남자 4명, 여자 11명이었고, 평균 연령은  $48.3 \pm 13.6$ 세(29-71세)였다.

눈물 내 RANTES의 평균 농도는 정상인에서는  $97.53 \pm 29.15$  pg/ml이었고, 건성안에서는  $324.19 \pm 68.37$  pg/ml ( $p < 0.01$ )였다. 건성안 환자 중 비쇼그렌증후군에서는

257.42 ± 46.72 pg/ml였고, 쇼그렌증후군에서는 435.46 ± 104.45 pg/ml였다. 또한 쇼그렌증후군에서 비쇼그렌증후군보다 통계적으로 유의하게 높았다( $p=0.02$ ) (Fig. 1).

대상자의 눈물막파괴시간, 기본눈물분비량, 눈물청소율, 각막지각, 각막상피병증, 그리고 결막술잔세포의 밀도는 Table 1에 나타내었다. 정상인과 건성안 환자에서 눈물막 파괴시간, 기본눈물분비량과 눈물청소율은 각각  $13.43 \pm 3.51$ 초와  $4.55 \pm 1.75$ 초( $p<0.01$ ),  $13.41 \pm 3.69$  mm와  $4.61 \pm 1.74$  mm ( $p<0.01$ ),  $5.51 \pm 1.25$ 와  $2.64 \pm 0.91$  ( $p=0.01$ )이었고, 각막지각, 각막상피병증 그리고 결막술잔 세포밀도는 각각  $58.95 \pm 2.03$  mm와  $55.63 \pm 3.41$  mm ( $p=0.15$ ),  $0.13 \pm 0.22$ 와  $3.58 \pm 2.51$  ( $p<0.01$ ),  $337.3 \pm 36.4$ 개/mm<sup>2</sup>와  $214.2 \pm 46.5$ 개/mm<sup>2</sup> ( $p<0.01$ )였다. 건성안 환자 중 쇼그렌증후군에서 비쇼그렌증후군에 비해 결막술잔세포밀도( $p=0.01$ )는 낮았고, 눈물막파괴시간( $p=0.03$ ), 기본눈물분비량( $p=0.03$ )과 각막상피병증은 높았으나( $p=0.02$ ), 눈물청소율( $p=0.51$ )과 각막지각( $p=0.81$ )은 유의한 차이가 없었다.



**Figure 1.** RANTES levels in tears of Sjögren's syndrome patients, non-Sjögren's syndrome patients and control subjects. SS = Sjögren's syndrome. \* $p < 0.05$ .

건성안 환자의 눈물내 RANTES 농도는 기본눈물분비량( $R=-0.535$ ,  $p=0.03$ ), 눈물청소율( $R=-0.745$ ,  $p=0.02$ ), 각막상피병증( $R=0.782$ ,  $p=0.01$ ), 그리고 결막술잔세포의 밀도( $R=-0.785$ ,  $p=0.02$ )와 유의한 상관관계가 있었으나, 눈물막파괴시간( $R=-0.155$ ,  $p=0.22$ ), 각막지각( $R=0.047$ ,  $p=0.66$ )과는 상관성이 없었다(Fig. 2).

## 고 찰

건성안은 복합적인 원인을 가진 다요인성 질환으로서 안구표면의 손상으로 인한 염증반응이 일차적인 원인이며, 안구 표면에서 IL-1 $\alpha$ , IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ ), TGF- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ ) 등이 증가하는 것과 HLA-DR (human leukocyte antigen-DR)이 과다 발현되는 점이 건성안의 병리기전이라는 보고가 있다.<sup>19,20</sup> 최근 이러한 병인에 대한 이해를 바탕으로 치료적 접근도 단순한 수성층 눈물을 보충하던 단계에서 누액을 분비시켜 눈물층을 유지하는 쪽으로 관심이 전환되었다. 건성안 환자의 결막에서 활성화된 T세포가 발견된다는 점과 전신적인 염증성 질환을 가진 환자에서 술잔세포가 감소되고, 스테로이드 또는 사이클로스포린 등의 면역세포 조절약제의 국소적인 사용이 효과적이라는 점은 건성안 발생이 염증에서 기인한다는 증거가 된다. 또한, 건성안 발생과 관련된 여러 사이토카인과 케모카인이 알려져 있고 대표적인 케모카인으로 CXCR3와 관련된 monokine induced by interferon- $\gamma$  (MIG), interferon- $\gamma$ -inducible protein10 (IP-10), interferon- $\gamma$ -inducible T-cell alpha chemoattractant (I-TAC)와 CCR5와 관련된 macrophage inflammatory protein-1 $\alpha$  (MIP-1 $\alpha$ ), macrophage inflammatory protein-1 $\beta$  (MIP-1 $\beta$ ), RANTES가 있다.

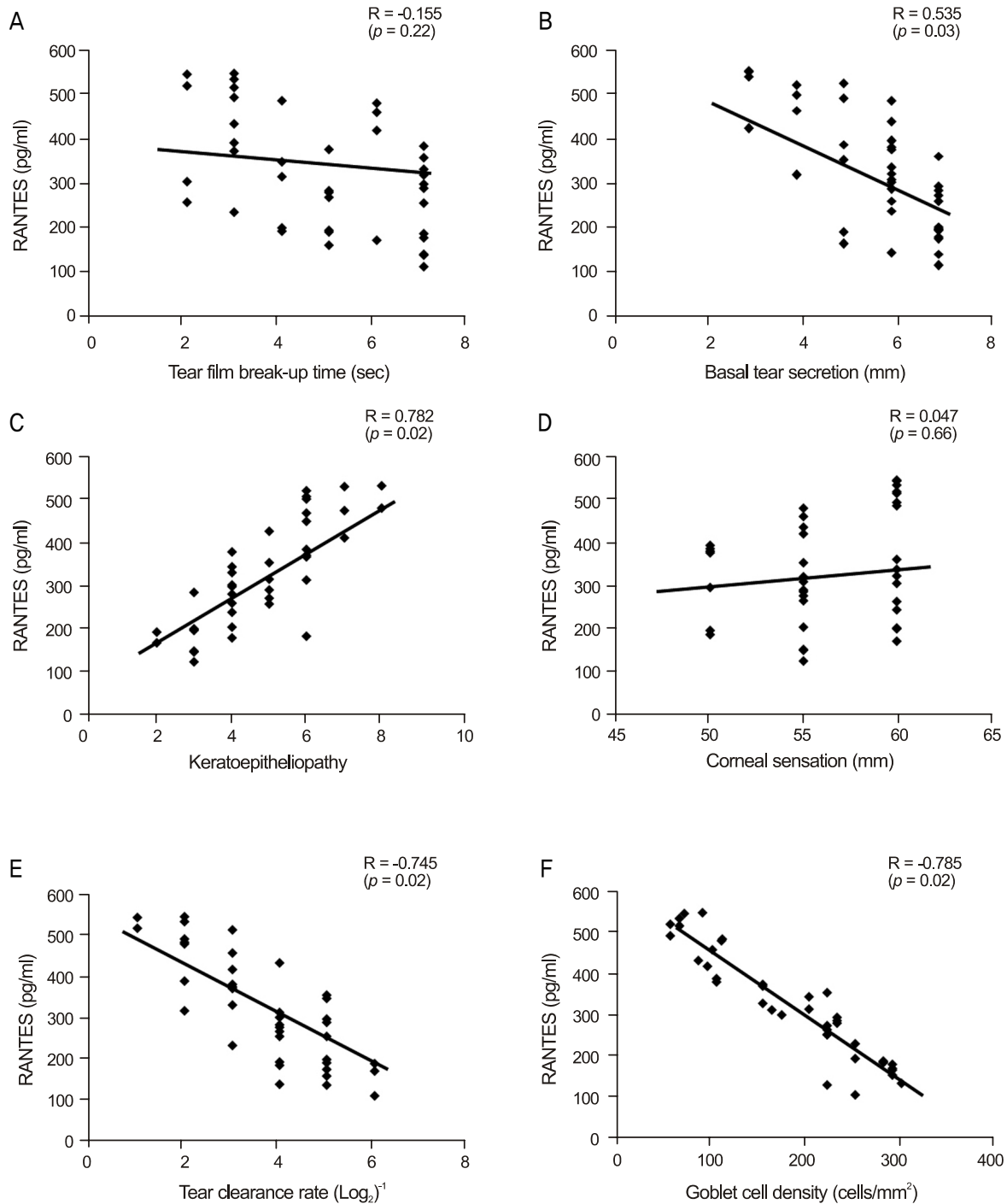
이와 관련된 연구로 Lee et al<sup>21</sup>은 각각 다른 strain의 mice에게 건성안을 유발한 후 C57BL/6 쥐 모델에서는 Th1 케모카인인 MIP1 $\alpha$ , MIP1 $\beta$ , MIG, IP-10 등의 케모카인과 그 수용체가 증가하고 BALB/c 쥐 모델에서는 Th2 케

**Table 1.** Comparison of tear film parameters in dry eye patients with and without Sjögren's syndrome and control subjects

Parameters	Control group (n = 10)	Dry eye group		
		Non-SS (n = 25)	SS (n = 15)	Total (n = 40)
Tear film break-up time (mean ± SD, sec)	13.43 ± 3.51	4.77 ± 1.85*	3.83 ± 1.41*†	4.55 ± 1.75*
Basal tear secretion (mean ± SD, mm)	13.41 ± 3.69	5.24 ± 2.31*	3.80 ± 0.95*†	4.61 ± 1.74*
Tear clearance rate (mean ± SD, (Log <sub>2</sub> ) <sup>-1</sup> )	5.51 ± 1.25	2.85 ± 0.93*	2.39 ± 0.87*	2.64 ± 0.91*
Corneal sensation (mean ± SD, mm)	58.95 ± 2.03	56.93 ± 3.31	54.85 ± 3.55*	55.63 ± 3.41
Keratoepitheliopathy score (mean ± SD)	0.13 ± 0.22	2.41 ± 2.32*	4.96 ± 2.95*†	3.58 ± 2.51*
Goblet cell density (mean ± SD, cell/mm <sup>2</sup> )	337.3 ± 36.4	252.4 ± 46.6*	152.9 ± 46.5*†	214.2 ± 46.5*

SS = Sjögren's syndrome.

\* $p < 0.05$  compared with control subjects; † $p < 0.05$  compared with non-Sjögren's syndrome subjects.



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

모카인인 monocyte chemoattractant protein (MCP)-3나 eotaxin-1 등이 증가한다고 하였고, Malesinski et al<sup>22</sup>은 건성안 환자의 눈물에서 CCL3와 CCL4가 유의하게 증가했다고 하였다. Lee et al<sup>21</sup>은 안검염환자와 비안검염환자에서 눈물내 CCL4가 증가되어 있으며 질병의 중증도와 상관관계가 있다고 하였고, Kim et al<sup>15</sup>은 건성안 환자의 눈물에

서 CXCL11의 농도가 증가하였고 이는 질병의 중증도 및 눈물표면인자와 상관성이 있다고 보고하였다. 또한, 쇼그렌 증후군 환자의 침샘 상피세포에서 침샘을 침범한 림프구에서 분비된 INF- $\gamma$ 에 의해 CXCL11의 분비가 증가하였으며, CXCL11은 CCR5와 CCR3에 길항작용을 한다는 연구가 있었다.<sup>23,24</sup>

케모카인 수용체에 대한 최근 연구에서 Baudouin et al<sup>10</sup>은 17명의 건성안 환자에서 결막압흔검사로 유세포분석기를 시행하였을 때 CCR5의 발현이 봄철각결막염, 거대유두결막염에서 정상안보다 증가되어 있다고 하였고, Gulati et al<sup>11</sup>은 건성안 환자 45명과 대조군 15명을 대상으로 결막압흔 검사로 결막상피에서 CCR5의 발현을 중합 효소 연쇄 반응(polymerase chain reaction)과 유세포분석기(flow cytometry)로 조사하였을 때 건성안 환자에서 CCR5의 발현이 정상안보다 유의하게 높았다고 보고하였다. 이러한 보고들을 종합해볼 때 Th1 세포와 연관된 반응과 케모카인이 건성안의 병리 기전에 중요한 역할을 한다는 것을 알 수 있다.

RANTES는 8kDa의 단백질로서 염증부위로 T세포, 호산구와 호염기구 등의 백혈구를 모이게 하는 중요한 화학주성인자로 작용하며 17번 염색체에 위치한다. 또한, T 세포에서 분비되는 IL-2나 INF- $\gamma$ 의 도움으로 NK (natural killer)세포가 CHAK (CC-chemokine-activated killer) 세포로 전환되며, MIP-1 $\alpha$ 와 MIP-1 $\beta$ 와 함께 CD8+ T 세포로부터 인간면역결핍바이러스 억제 인자를 분비하는 것으로 알려져 있다. RANTES의 발현은 KLF (Kruppel like factor) 13에 의해 T세포가 조절하고 최근에는 Lactobacillus 세균으로부터 실험실적으로 합성하는 방법 또한 개발되었다.<sup>25-29</sup>

CCR5에 작용하는 다른 케모카인인 CCL3와 CCL4는 각각 T세포의 화학주성인자로만 작용하는 것과는 다르게, RANTES는 저농도에서는 T세포의 화학주성인자로, 고농도에서는 화학주성인자뿐만 아니라 PI3K (phosphatidylinositol 3-kinase) 경로를 통해서 T세포를 활성화 시키기도 하지만 또한 T세포의 분열을 촉진시키는 역할을 하기도 한다. 따라서, RANTES는 CCR5에 작용하는 케모카인 중 유일하게 염증 부위로 T세포를 끌어들이고, 활성화 시키며, 활성화된 세포를 분화시킴으로써 T세포가 작용하는 전 과정에 영향을 미치는 케모카인이다.<sup>30-32</sup> 하지만 현재까지 눈물 내 RANTES의 농도와 건성안의 중증도와와의 관련성에 대한 연구는 없었다.

본 연구에서는 대상자의 눈물에서 RANTES의 농도를 측정하였으며 그 결과 건성안 환자에서 정상인에 비해 눈물 내 RANTES의 농도가 높았다. 건성안 환자 중에서는 쇼그렌증후군 환자가 비쇼그렌증후군 환자에서보다 더 높아 Th1세포와 이와 관련된 여러 케모카인 반응이 건성안의 발병기전에 중요한 역할을 할 것이라는 기존 연구와 부합하였다.<sup>10-12,15,18</sup> 또한 RANTES가 T세포의 화학주성인자일 뿐 아니라 이를 활성화 시키며 활성화된 세포를 분화시키는 인자로 작용하여 T세포의 전 과정에 영향을 미치는 것을 고려할 때, 눈물 내 농도와 눈물지표 중 기본눈물분비량, 눈

물청소율, 각막상피병증, 결막술잔세포의 밀도와 유의한 상관관계를 보인 것은 RANTES의 눈물 내 농도가 건성안의 발생에 중요한 역할을 함을 시사하였다. 따라서, 향후 T세포의 침윤과 관계된 케모카인을 조절함으로써 건성안의 병리기전 중 염증세포의 침윤을 줄여 치료에 도움을 줄 수 있을 것으로 생각하며, 건성안 진단에 있어 보조적인 생물학적인 표지자로 사용될 수 있을 것으로 생각한다.

본 연구의 제한점은 대상환자의 수가 적고 RANTES 수용체와 유사한 기전을 가진 다른 케모카인에 대한 연구가 이루어지지 않았다는 점이다. 하지만 본 연구에서는 건성안 발생에서 RANTES의 역할을 눈물 내 농도만을 분석하여 증명하였고, 추후 연쇄중합반응이나 유세포분석기를 이용한 비교 연구가 필요할 것으로 생각한다.

결론적으로, 쇼그렌 증후군을 포함한 심한 건성안 환자의 눈물에서 Th1 세포 반응과 관련이 있는 케모카인인 RANTES의 농도가 증가하였고 이는 질병의 중증도와 상관성이 있었으며 여러 눈물표면인자와 관련이 있었다. 향후 건성안 환자에서 RANTES 등의 케모카인 수용체 차단제에 대한 치료효과 및 많은 환자를 대상으로 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각한다.

## 참고문헌

- 1) The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). *Ocul Surf* 2007;5:75-92.
- 2) Moss SE, Klein R, Klein BE. Prevalence of and risk factors for dry eye syndrome. *Arch Ophthalmol* 2000;118:1264-8.
- 3) Lee AJ, Lee J, Saw SM, et al. Prevalence and risk factors associated with dry eye symptoms: a population based study in Indonesia. *Br J Ophthalmol* 2002;86:1347-51.
- 4) Uchino M, Uchino Y, Dogru M, et al. Dry eye disease in Japan: An epidemiologic study. *Cornea* 2009;28:S31-4.
- 5) 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.
- 6) Rolando M, Barabino S, Mingari C, et al. Distribution of conjunctival HLA-DR expression and the pathogenesis of damage in early dry eyes. *Cornea* 2005;24:951-4.
- 7) 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.
- 8) Yoon KC, Jeong IY, Park YG, Yang SY. Interleukin-6 and tumor necrosis factor- $\alpha$  levels in tears of patients with dry eye syndrome. *Cornea* 2007;26:431-7.
- 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) Baudouin C, Liang H, Bremond-Gignac D, et al. CCR 4 and CCR 5 expression in conjunctival specimens as differential markers of

- T(H)1/ T(H)2 in ocular surface disorders. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:614-9.
- 11) 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.
- 12) 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.
- 13) Yoon KC, De Paiva CS, Qi H, et al. Desiccating environmental stress exacerbates autoimmune lacrimal keratoconjunctivitis in non-obese diabetic mice. *J Autoimmun* 2008;30:212-21.
- 14) Yoon KC, Park CS, You IC, et al. Expression of CXCL9, -10, -11, and CXCR3 in the tear film and ocular surface of patients with dry eye syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:643-50.
- 15) 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.
- 16) Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, et al. Classification criteria for Sjögren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Ann Rheum Dis* 2002;61:554-8.
- 17) Dogru M, Katakami C, Inoue M. Tear function and ocular surface changes in noninsulin-dependent diabetes mellitus. *Ophthalmology* 2001;108:586-92.
- 18) Yoon KC, Jeong IY, Park YG, Yang SY. Interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha levels in tears of patients with dry eye syndrome. *Cornea* 2007;26:431-7.
- 19) Pflugfelder SC. Anti-inflammatory therapy of dry eye. *Ocul Surf* 2003;1:31-6.
- 20) 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.
- 21) Lee SH, Im SK, Yoon KC. CCL4 concentration in tears of dry eye patients and its correlation with tear surface parameters. *J Korean Ophthalmol Soc* 2010;51:313-9.
- 22) Malesiński R, Bakunowicz-Lazarczyk A, Wysocka J. The role of chemokines CCL3/ MIP-1 alpha and CCL4/ MIP-1 beta in pathogenesis of dry eye syndrome. *Klin Oczna* 2008;110:277-9.
- 23) 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.
- 24) Petkovic V, Moghini C, Paoletti S, et al. I-TAC/CXCL11 is a natural antagonist for CCR5. *J Leukoc Biol* 2004;76:701-8.
- 25) Donlon TA, Krensky AM, Wallace MR, et al. Localization of a human T-cell-specific gene, RANTES (D17S136E), to chromosome 17q11.2-q12. *Genomics* 1990;6:548-53.
- 26) Maghazachi AA, Al-Aoukaty A, Schall TJ. CC chemokines induce the generation of killer cells from CD56+ cells. *Eur J Immunol* 1996;26:315-9.
- 27) Song A, Nikolcheva T, Krensky AM. Transcriptional regulation of RANTES expression in T lymphocytes. *Immunol Rev* 2000;177:236-45.
- 28) Cocchi F, DeVico AL, Garzino-Demo A, et al. Identification of RANTES, MIP-1 alpha, and MIP-1 beta as the major HIV-suppressive factors produced by CD8+ T cells. *Science* 1995;270:1811-5.
- 29) Vangelista L, Secchi M, Liu X, et al. Engineering of *Lactobacillus jensenii* to secrete RANTES and a CCR5 antagonist analogue as live HIV-1 blockers. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54:2994-3001.
- 30) Bacon KB, Premack BA, Gardner P, Schall TJ. Activation of dual T cell signaling pathways by the chemokine RANTES. *Science* 1995;269:1727-30.
- 31) Appay V, Dunbar PR, Cerundolo V, et al. RANTES activates antigen-specific cytotoxic T lymphocytes in a mitogen-like manner through cell surface aggregation. *Int Immunol* 2000;12:1173-82.
- 32) Turner L, Ward SG, Westwick J. RANTES-activated human T lymphocytes. A role for phosphoinositide 3-kinase. *J Immunol* 1995;155:2437-44.

=ABSTRACT=

## Analysis of CCL5 Concentration in Tears of Dry Eye Patients

Won Choi, MD, Seung-Hyun Lee, MD, Kyung-Chul Yoon, MD, PhD

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

**Purpose:** To investigate the expression of CCL5/RANTES (regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted) in the tears of dry eye patients.

**Methods:** Forty patients with dry eye (15 Sjögren's and 25 non-Sjögren's syndrome patients) and ten control subjects were recruited for the present study. The concentration of RANTES in tears was measured using an enzyme-linked immunosorbent assay. The correlations between RANTES level, tear film and ocular surface parameters, including tear film break-up time, basal tear secretion, tear clearance rate, corneal sensation, keratoepitheliopathy, and conjunctival goblet cell density, were analyzed in patients with dry eye syndrome.

**Results:** The concentrations of RANTES were  $435.46 \pm 104.45$  pg/ml in Sjögren's syndrome patients,  $257.42 \pm 46.72$  pg/ml in non-Sjögren's syndrome patients, and  $97.53 \pm 29.15$  pg/ml in the control patients ( $p < 0.01$ ). The levels correlated significantly with basal tear secretion, tear clearance rate, keratoepitheliopathy, and goblet cell density ( $p < 0.05$ ).

**Conclusions:** CCL5/RANTES level increases in the tears of dry eye patients and correlates with various tear film and ocular surface parameters.

J Korean Ophthalmol Soc 2011;52(6):658-664

**Key Words:** CCL5/RANTES, Dry eye, Ocular surface, Sjögren's syndrome, Tear film

---

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

Department of Ophthalmology, Chonnam National University Hospital

#671 Jebong-ro, Dong-gu, Gwangju 501-757, Korea

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