
 総 説

アレルギー性結膜疾患におけるリモデリング

福田 憲, 熊谷 直樹, 藤津揚一郎, 西田 輝夫

山口大学大学院医学系研究科眼科学

要 約

春季カタルは慢性のアレルギー性炎症疾患であるが、結膜巨大乳頭や角膜プラークなどの組織構築の変化を伴った病変、すなわちリモデリングが生じる。巨大乳頭では炎症細胞の浸潤のみならず、上皮細胞の変化、間質への細胞外マトリックスの過剰な沈着、線維芽細胞や血管の過増殖などが観察される。また角膜プラークにおいては、広範な上皮欠損の後に変性上皮などの堆積物が沈着することで、正常な上皮細胞が被覆できず、創傷治癒が妨げられる。これらのリモデリングは、角膜や結膜における炎症反応の増悪因子として働く。培養細胞を用い

た研究により、これらの病変では活性化された線維芽細胞が重要な役割を演じていることが明らかとなりつつある。今後、春季カタルの治療では免疫反応を抑制する薬剤に加えて、これらのリモデリングを制御する治療も考慮すべきであると考えられる。(日眼会誌 111 : 699-710, 2007)

キーワード：リモデリング、細胞外マトリックス、春季カタル、線維芽細胞、サイトカイン

 A Review

Remodeling in Ocular Allergic Diseases

Ken Fukuda, Naoki Kumagai, Youichiro Fujitsu and Teruo Nishida

Department of Ophthalmology, Yamaguchi University Graduate School of Medicine

Abstract

Vernal keratoconjunctivitis (VKC), a chronic and severe form of ocular allergic disease, is characterized by tissue remodeling such as the formation of giant papillae at the upper tarsal conjunctiva and the development of corneal plaques. Giant papillae develop as a result of infiltration of inflammatory cells, changes in the epithelial layer, increased deposition of extracellular matrix molecules, proliferation of conjunctival fibroblasts, and an increase in the number of blood vessels. Corneal plaques form subsequent to corneal epithelial defects, and their surface remains uncovered by the corneal epithelium; consequently, corneal epithelial cells are not able to attach to or migrate over the plaques. These remodeling lesions not only affect tissue structure

but also contribute to amplification of allergic inflammation in the conjunctiva and cornea. Recent evidence from *in vitro* studies indicates that activated fibroblasts play a central role in the induction and amplification of ocular allergic inflammation and the consequent development of giant papillae and corneal disorders in individuals with VKC. Tissue remodeling thus represents a potential therapeutic target for treatment of VKC.

Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc 111 : 699-710, 2007)

Key words : Remodeling, Extracellular matrix, Vernal keratoconjunctivitis, Fibroblasts, Cytokines

I 緒 言

アレルギー性結膜疾患は、結膜の増殖性病変やアト

ピー性皮膚炎などの有無によりアレルギー性結膜炎、アトピー性角結膜炎、春季カタル、巨大乳頭性結膜炎の4疾患に分類される。このうち、春季カタルは上眼瞼結膜

別刷請求先：755-8505 宇部市南小串1-1-1 山口大学大学院医学系研究科眼科学 福田 憲

(平成18年10月23日受付, 平成19年4月24日改訂受理) E-mail: k.fukuda@yamaguchi-u.ac.jp

Reprint requests to: Ken Fukuda, M. D., Ph. D. Department of Ophthalmology, Yamaguchi University Graduate School of Medicine, 1-1-1 Minami-Kogushi, Ube-City, Yamaguchi 755-8505, Japan.

(Received October 23, 2006 and accepted in revised form April 24, 2007)

の巨大乳頭や輪部の堤防状隆起などの結膜増殖性病変を伴うものと定義されており、多くの症例で他の眼疾患ではみられない特有な角膜病変を生じる¹⁾。他のアレルギー性結膜疾患と同様に、I型アレルギー反応を主体とする病態でありながら、なぜ春季カタルのみでこれらの病変が出現するかについては未だ不明な点も多い。近年、種々の臓器や疾患において、急性炎症性疾患と慢性炎症性疾患の本質的な相違点の一つである組織構築の変化を説明する概念として、組織の再構築「リモデリング (remodeling)」が注目されている。本稿ではアレルギー性結膜疾患、特に慢性・重症な炎症性疾患である春季カタルにおける結膜増殖性変化や角膜障害の発生機序について、リモデリングの観点から概説する。

II リモデリングと細胞外マトリックス

リモデリングという言葉は組織障害や慢性炎症などを背景とした三次元的な組織構築の変化を指す。組織修復の観点から組織構造の変化を評価した場合、炎症を起こした部位が傷跡を残さずに元どおりに修復されることを完全修復 (repair) と呼び、傷跡を残して組織が修復され、組織構築が何らかの形で変化することがリモデリングと呼ばれる。したがって、「リモデリング」という用語の意味する組織学的な変化や引き起こされる臨床像は、臓器や疾患によって異なる²⁾。さらに、「リモデリング」という用語自体の定義は年代あるいは研究者によっても若干異なる。リモデリングが生じることにより心血管系、腎臓、肝臓、気道、あるいは関節などのさまざまな臓器において組織学的な変化のみならず、心不全や腎不全などの臓器機能の障害を来すために、生命予後や生活の質を左右する重要な要因である。一方、多くの臓器リモデリングに共通してみられる組織学的な変化も存在し、その代表的なものが組織の線維化である。線維化は炎症や傷害に対する反応性の治癒過程において重要な役割を果たしているが、過剰なあるいは持続的な線維化は組織の硬化を引き起こし、組織固有の機能障害を引き起こす。組織の線維化はさまざまな要因によって制御されているが、最も重要な制御因子は細胞外マトリックス (extracellular matrix, ECM) の産生増加・分解抑制による過剰沈着である。線維化においては、マクロファージなどの炎症細胞とともに、線維芽細胞や平滑筋細胞などの組織固有の間葉系細胞由来の細胞群が増殖や遊走、細胞死、形質変換を起こし、ECMの産生、分解酵素などによる分解・改変をすることによって組織の三次元的な構築が改変される。サイトカイン、成長因子などの液性因子による修飾も共通因子であると考えられる^{3,4)}。

生体内で細胞あるいは細胞集団を取り巻いている物質であるECMは、異なった複数の組織を1つの器官内に保持するために重要な物質であり、全身のあらゆる臓器

に存在する。ECMの構成成分は、コラーゲンやエラスチンなどの線維成分とプロテオグリカンやグリコサミノグリカンなどの非線維成分(基質成分)、およびこれらと細胞との接着を調節するフィブロネクチン、ラミニン、ビトロネクチンなどの接着物質などから成る。ECMは臓器の支持や臓器間の境界をつくる役割以外に、基底膜の構成成分として細胞接着の足場を提供し、細胞増殖、分化、移動などの制御において細胞の生存環境を形成している。

ECMの代謝は主に線維芽細胞や平滑筋細胞などの間葉系由来の細胞群が司っている。これらの細胞群はコラーゲンなどのECMの生合成と同時に、matrix metalloproteinase (MMP) などの分解酵素を分泌することでECMの分解にも関与し、これらの両者のバランスを保つことで組織構築の維持を行っている。さらに分解系は、主要なECM分解酵素であるMMPと、MMPの内因性の阻害物質であるtissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)のバランスによって全体的な分解活性が規定される。炎症などでは、この合成系と分解系のバランスがどちらか一方に傾くことにより正常な組織構築が破綻して種々の病的状態を呈する。すなわち分解系が合成系を上回ることによって組織融解に、反対に合成系が分解系を上回ることによって組織の線維化や過形成の状態へと向かう。ECMの過剰な蓄積による線維化は組織の硬化を来す。またECMは種々の炎症細胞に対して、接着を介して活性化や寿命の延長を促す作用をもつため^{5,6)}、ECMの組織内への過剰な沈着は、炎症反応が持続しやすくなる微小環境となる。さらにECMはサイトカインや成長因子などの貯蔵庫としても作用し⁷⁾、これらの生理活性物質を安定化することにより作用を増強する。したがって、炎症局所でリモデリングが生じ、ECMが過剰に沈着すると組織が増殖・肥厚するとともに、炎症細胞のさらなる活性化を促し、炎症反応の増幅および遷延化を促進していることが推察される。

アレルギー疾患におけるリモデリングは、気管支喘息における気道リモデリングの研究が最も進んでいる。慢性の炎症反応により気道上皮細胞の増殖および杯細胞化、上皮基底膜の肥厚や上皮下組織の線維化、気管支平滑筋細胞の増殖・肥大などの特徴的な組織変化を生じるとともに、気道内腔の狭小化を来し、平滑筋収縮により気道狭窄はさらに増強されることから喘息の重症化、慢性化の主要な因子となる^{3,4)}。従来、気管支喘息では可逆性の気道収縮が病因とされてきたが、近年の研究ではこのようリモデリングによって生じる薬剤抵抗性の非可逆的な気道狭窄がその本態であると認識されている。

一方、眼アレルギー疾患におけるリモデリングにおける研究は、慢性炎症、組織障害などを背景とした三次元的な組織構築の変化というリモデリングの定義と合致する春季カタルにおいて主に研究が進められている。巨大

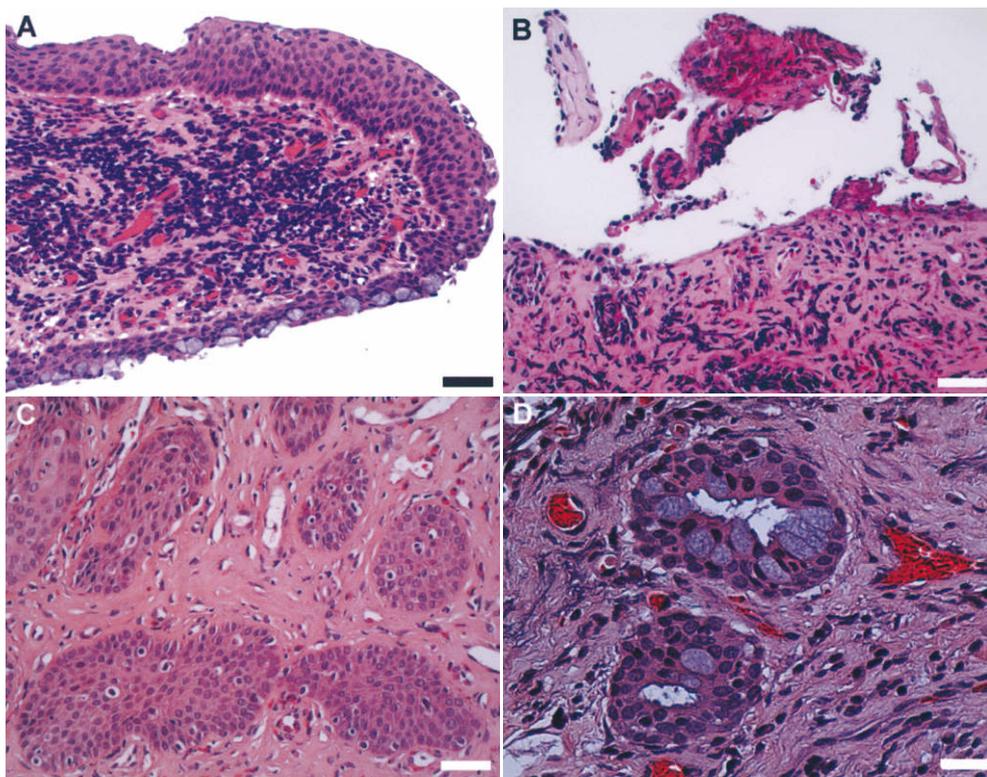


図 1 巨大乳頭における上皮細胞の変化。

巨大乳頭の上皮層は過形成しており、また Goblet 細胞も増加している (A)。反対に上皮層が欠損している部分も認められ、その部位には好酸球の集積が認められる (B)。結膜固有層に上皮細胞の異所性の増殖 (C) や偽腺管状構造 (D) もしばしば認められる。(scale bar: 20 μm , ヘマトキシリン・エオジン染色)

乳頭性結膜炎やアトピー性角結膜炎でも組織にリモデリングが生じていると考えられるが、これらの疾患においては診断目的での生検や治療目的での結膜切除は行われないため、現実にはその病理組織像はほとんど分かっていない。春季カタルの結膜巨大乳頭の形成と角膜プラークは、組織構築の変化を伴った典型的なリモデリングであると考えられる。巨大乳頭のような肉眼的に明らかな大きさの増殖性病変を認めるアレルギー疾患はなく、例えば喘息における気道上皮下の線維化はあくまで顕微鏡レベルの程度に過ぎない。またシールド潰瘍(楕型潰瘍)などの角膜上皮、実質病変がみられるが、これらも眼アレルギーに特徴的な所見であると考えられる。他臓器でのアレルギー疾患でも上皮傷害はみられるが、アトピー性皮膚炎における手指掻痒による上皮剝離を除けば、アレルギー反応自体でこのように広範囲に上皮が持続的に剝離する臓器はない。このように春季カタルは、他の臓器のアレルギー疾患とは大きく異なる臨床像や病態を示しており、標的臓器における個々の解析が病態の理解に必要であると考えられる。

III リモデリングの観点からみた春季カタル

1. 結膜増殖性病変

巨大乳頭や輪部の堤防状隆起などの結膜の増殖性変化は、他の炎症性結膜疾患ではみられない春季カタルに特

徴的な病変である。巨大乳頭は長期間続く炎症反応の結果、結膜下の網目状に存在する線維性構造物が崩壊して一部の網目構造が拡大するために、結膜固有層の腫脹が外方に大きく突出することにより形成されると考えられる。巨大乳頭でみられる増殖性病変は、病理組織学的に①結膜上皮層の変化、②ECMの過剰沈着、③炎症細胞の浸潤、④結膜固有の線維芽細胞の増加および⑤血管の増生などにより形成されている。春季カタルはI型アレルギー反応による角結膜炎である。したがって、肥満細胞上のIgEが抗原により架橋され脱顆粒することに始まる即時相と、好酸球やTリンパ球などの浸潤により生じる遅発相とから成る二相性の反応が生じていると考えられる。動物モデルや抗原誘発試験と異なり、実際の臨床では抗原刺激が持続的に与えられるために即時相と遅発相が混在し、同時に生じていると考えられ、病理組織切片でもこれらの反応が混在した結果をみていると考えられる。また病理標本上の巨大乳頭の所見は、症例により必ずしも均一ではなく、上記の特徴の程度は症例により大きく異なるが、これは疾患の経過や検体の採取された時期により影響を受けると考えられる。以下にリモデリングの観点からみた巨大乳頭の組織学的特徴を述べる。

1) 結膜上皮層の変化

眼結膜の上皮は通常2~3層の円柱上皮であるが、巨

表 1 春季カタルで発現している主な細胞外マトリックスと分解酵素

細胞外マトリックス	分解酵素
構造蛋白質	Matrix metalloproteinase (MMP)
コラーゲン (Type I, III, IV, V, VII)	proMMP-1, proMMP-9
プロコラーゲン (Type I, III)	activeMMP-2, activeMMP-9
接着蛋白質類	その他
フィブロネクチン	plasminogen activator
ラミニン	plasminogen
テネイシン	
オステオポンチン	

大乳頭では上皮層が5~10層に重層化して過形成している(図1 A)。反対に上皮層が菲薄化していたり、欠損している部分も認められる。これらの変化は同じ組織標本上に同時に存在していることも多い。上皮内には通常では認められない炎症細胞(好酸球, 肥満細胞)の浸潤が認められる。特に Horner-Trantas 斑の部位では, 結膜上皮が変性し好酸球が高度に集積している(図1 B)。また, 結膜固有層に上皮細胞の異所性の増殖(in-growth)や偽腺管状構造がしばしば認められる(図1 C, D)。Goblet 細胞の増加も認められる(図1 A)。免疫組織化学的検討により, 巨大乳頭の上皮層では上皮細胞の増殖が亢進し, 新生血管の誘導因子である vascular endothelial growth factor (VEGF)の産生の亢進, ECM に対する受容体であるインテグリン $\alpha 3$ および $\alpha 6$ の発現上昇が報告されている⁸⁾。

2) ECM の沈着

生化学的手法により, 瞼結膜巨大乳頭においてプロテオグリカンの減少とコラーゲンの増加が報告されている。また, コラーゲンのうち, I 型とIII型コラーゲンの比率が変化して, 相対的にIII型コラーゲンが増加していることが報告されている⁹⁾。また, 巨大乳頭を免疫組織化学的に解析した研究により, 春季カタルの増殖性変化では I 型, III型, IV型, V 型およびVII型コラーゲン, フィブロネクチン, テネイシン, ラミニンなどの ECM の沈着が増加していることが示されている^{10)~12)}(表 1, 図 2)。さらに活動性の眼瞼型の春季カタル患者の涙液中でも, プロコラーゲン濃度が上昇していることより¹³⁾, 巨大乳頭における結膜局所でのコラーゲンなどの ECM の合成が亢進していることが示唆されている。主に基底膜に分布するIV型コラーゲンと anchoring fibril として働くVII型コラーゲンも増加しているが, これらの増加は気道リモデリングにおける上皮基底膜の肥厚と同様の意義があると考えられる。

3) 炎症細胞の浸潤

巨大乳頭の内部では, 結膜固有層だけでなく上皮層にも種々の炎症細胞が浸潤している。浸潤している主な炎

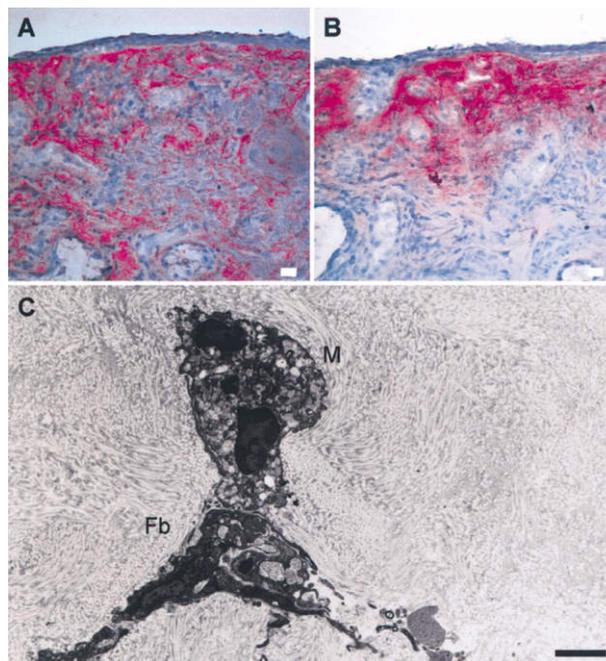


図 2 巨大乳頭における細胞外マトリックスの発現。

巨大乳頭では種々の細胞外マトリックスの沈着が亢進している。抗 I 型コラーゲン抗体および抗テネイシン抗体を用いた免疫組織化学染色では, I 型コラーゲン(A)は固有層の細胞間にびまん性に存在するが, テネイシン(B)は主に上皮下に沈着していることが分かる(scale bar: 20 μm)。電子顕微鏡(C)では, 細胞間(Fb:線維芽細胞, M:肥満細胞)にコラーゲン線維の増生が認められる(scale bar: 2 μm)。

症細胞は好酸球, 肥満細胞, T 細胞, 形質細胞, マクロファージなどである。好酸球の浸潤は結膜固有層, 特に血管周囲に顕著であるが, 上皮内にも多く認められ, 特に集積の多い部分の上皮層は変性・脱落が観察される(図1 B)。好酸球およびその顆粒蛋白質は涙液中でも増加しており¹⁴⁾, 血管内から結膜固有層へと浸潤した好酸球は上皮層へと移動し, さらに涙液中へ分泌物とともに出ていくと考えられる。

ヒト末梢組織の肥満細胞は含有するプロテアーゼにより 2 種類に分類され, トリプターゼを含み, キマーゼを含まない粘膜型(MC_T)と, トリプターゼとキマーゼの両者を含む結合組織型(MC_{TC})に分けられる。正常の結膜においては, 固有層に MC_{TC}が存在し, 上皮内においては肥満細胞を認めないという報告と少数の MC_Tが存在するという報告がある¹⁵⁾¹⁶⁾。春季カタルにおいては, 上皮内, 固有層ともに肥満細胞の増加が認められ, サブタイプとしては MC_Tと MC_{TC}の両者が増加している¹⁶⁾¹⁷⁾。さらに近年, 結膜に存在する肥満細胞が種々のサイトカインの産生源として重要であり, MC_{TC}はインターロイキン(IL)-4 および IL-13 を, MC_Tは IL-5 および IL-6 を含むことが示され¹⁵⁾, 即時相のみならず遅発相や組織のリモデリングを含むアレルギー性炎症の全経過に肥満細胞が関与している可能性が考えられる。

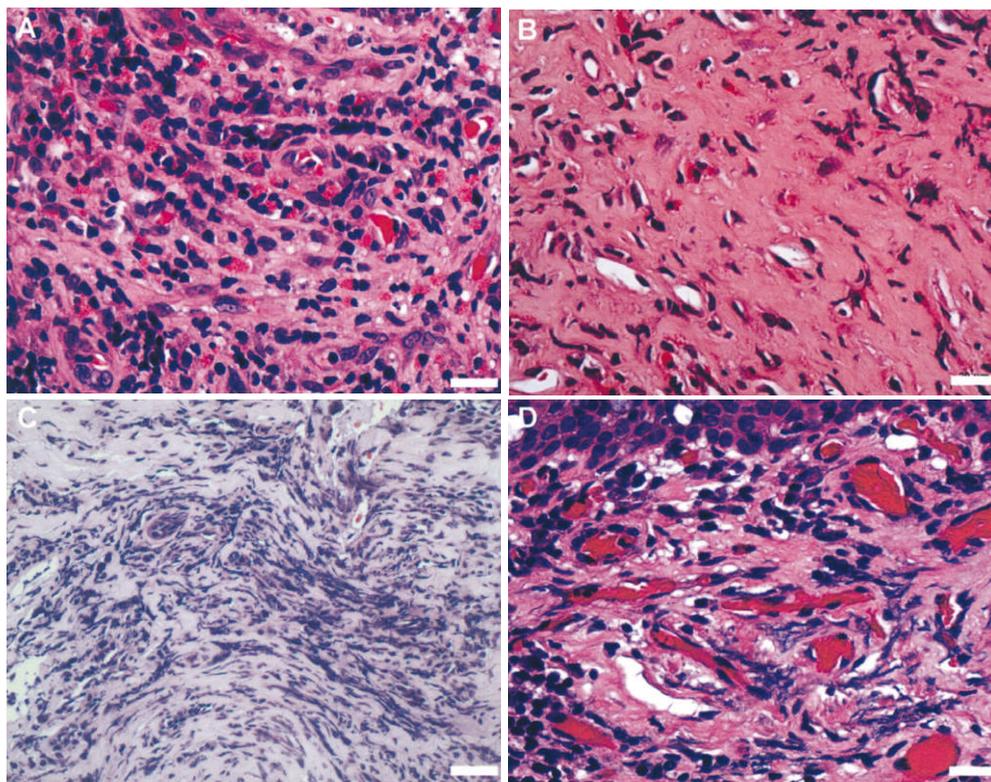


図 3 巨大乳頭における固有層の変化。

巨大乳頭では、炎症細胞の浸潤(A)、細胞外マトリックスの沈着(B)、結膜線維芽細胞の増殖(C)、血管の増生(D)などが観察される。(scale bar: 20 μm , ヘマトキシリン・エオジン染色)

リンパ球では、CD4 陽性 T 細胞の増加が認められる。これらの CD4 陽性 T 細胞のほとんどが CD45RO 陽性のメモリー T 細胞であることが知られている¹⁸⁾。さらに Maggi らは結膜に浸潤した CD4 陽性 T 細胞を培養することで、これらの細胞のほとんどが IL-4 を産生する Th2 細胞であることを示し¹⁹⁾、春季カタルもアレルギー性喘息やアトピー性皮膚炎などの他の臓器のアレルギー疾患と同様に Th2 優位な免疫反応であることが明らかとなった。

4) 組織構成細胞の変化

巨大乳頭内では、浸潤する炎症細胞の増加のみならず、組織構成細胞である結膜固有の線維芽細胞の増加が認められる⁹⁾²⁰⁾(図 3 C)。気道リモデリングにおいては、線維芽細胞が形質転換して筋線維芽細胞(myofibroblast)に変化していることが報告されているが、結膜線維芽細胞が形質転換しているかは未だ明らかでない。線維芽細胞の増加は、ECM の産生の増加、炎症性メディエーターの発現増加につながり、巨大乳頭形成に重要な役割を果たしていると考えられる。また、気道リモデリングと同様に、結膜固有層での血管の増生が認められる²⁰⁾(図 3 D)。新生血管の誘導因子である VEGF の発現が上皮細胞で亢進していることが報告されている。

2. 角膜障害

アレルギー性結膜疾患のうち、春季カタルやアトピー

性角結膜炎においては結膜での強い炎症により落屑状の点状表層角膜症、角膜びらん、シールド潰瘍、および角膜プラークなどの種々の角膜障害を来す²¹⁾。いずれの病変も他の結膜や角膜での炎症性疾患では認められず、本疾患に特異的な病変であるといえる。角膜プラーク以外の病変においては生検が事実上不可能であり、その病理像はほとんど明らかでないが、角膜潰瘍の潰瘍底に好酸球の顆粒蛋白質が沈着していることが報告されている²²⁾²³⁾。また角膜プラークの病理組織学的検討も十分にはなされていないため不明な点が多いが、電子顕微鏡で上皮細胞や好酸球が認められること²⁴⁾や、免疫染色で好酸球由来の細胞傷害性蛋白質が検出されることなどから、変性した上皮細胞や好酸球、ムチンなどがその構成成分ではないかと考えられている。角膜プラークは明瞭な層状の構造を呈し、その内部には細胞成分を認めず、辺縁や裏面に好酸球や角膜上皮細胞を認めることが多い(図 4 A~C)。電子顕微鏡では、表層部にフィブリン様物質が付着し、その下に顆粒状の層と無構造な層が交互に積み重なっていることが報告されている²⁴⁾²⁵⁾(図 4 D)。角膜プラークの形成機序は未だ明らかにならず、なぜこのような明瞭な層状構造を呈するかは不明である。厚いプラーク上には角膜上皮は被覆することができず、外科的に剝離しない限り上皮欠損の状態が継続する。

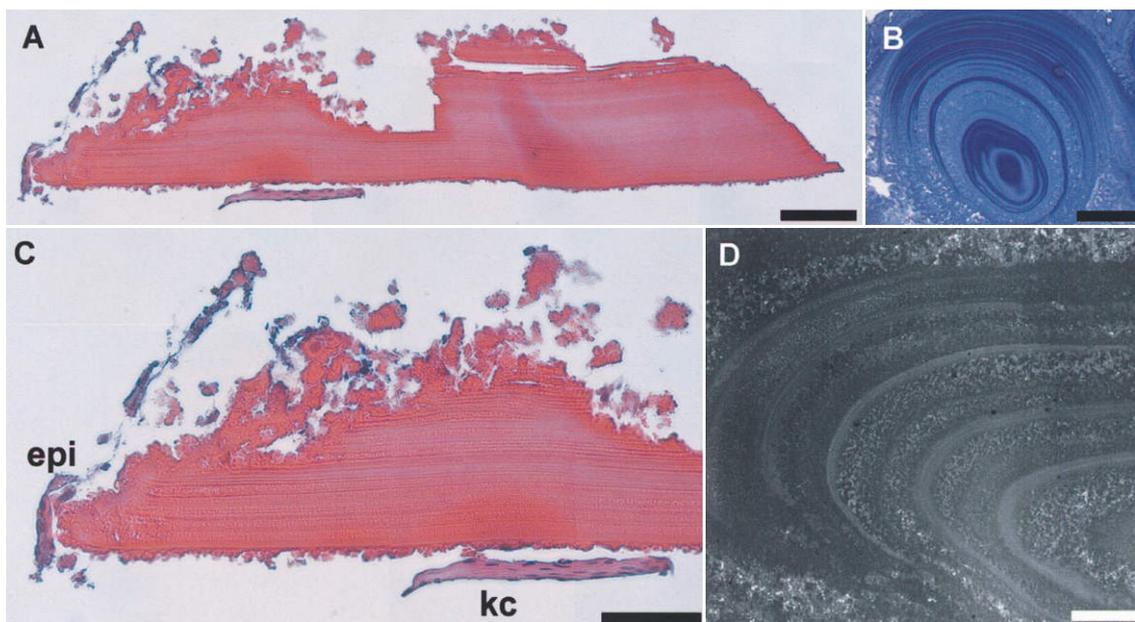


図 4 光学顕微鏡および電子顕微鏡による角膜プラークの観察。

角膜プラークは、明瞭な層状の構造を呈し(A, B)、辺縁や表層部に角膜上皮細胞(epi)や好酸球、またプラーク下の実質には角膜実質細胞(kc)が認められる(C)(A, C:ヘマトキシリン・エオジン染色, B:トルイジンブルー染色)。電子顕微鏡では、電子密度の異なる顆粒状の層と無構造な層が交互に観察される(D)。(scale bar: A~C; 100 μ m, D; 5 μ m)。文献 25 より引用。

3. リモデリング関連因子の発現

リモデリングには種々の液性因子が間接的に関与すると考えられる。これらの液性因子は涙液中の濃度や活性、あるいは巨大乳頭内での発現を免疫染色を用いて多数検討されている。炎症性サイトカインでは IL-1 β , tumor necrosis factor- α , IL-6 および可溶性 IL-6 受容体が、Th1 サイトカインとしては IL-2, interferon(IF-N)- γ , IL-12, Th2 サイトカインでは IL-4, IL-5, IL-10, および IL-13 などの濃度の上昇が報告されている。ケモカインとしては eotaxin, eotaxin-2, IL-8, CXCL9, monocyte chemo-attractant protein-1, thymus and activation-regulated chemokine(TARC), macrophage-derived chemokine(MDC)などの発現の亢進が報告されている。成長因子では, transforming growth factor(TGF)- β , basic fibroblast growth factor(bFGF), platelet-derived growth factor(PDGF), VEGF などの発現が亢進している¹¹⁾¹²⁾²⁶⁾。TGF- β は特に好酸球とマクロファージに発現していることが報告されている。

ECM の沈着の亢進、およびプロコラーゲンの涙液中での上昇など前述したように、ECM の産生の亢進を示唆する所見が報告されているが、分解酵素の発現に関しても検討されている。ECM を分解する主要な因子である MMP では、巨大乳頭内での MMP-9 の発現亢進、涙液中の proMMP-1, proMMP-9 濃度の上昇²⁷⁾、および涙液中の活性型 MMP-2 および活性型 MMP-9 の発現上昇²⁸⁾が報告されている。また春季カタル患者の涙液中

には肥満細胞のプロテアーゼであるトリプターゼとキマーゼも有意な増加がみられる^{29)~31)}。さらに、ECM の分解にかかわる因子として涙液中の urokinase-type plasminogen activator(uPA)および tissue-type plasminogen activator(tPA)の濃度の上昇とプラスミノゲン活性の上昇が報告されている。これらの事実より、巨大乳頭においては ECM の産生と分解が同時に亢進していることが示唆される。

4. 細胞生物学的研究

気道リモデリングにおいては、喘息モデルマウスで種々のサイトカインやケモカイン、成長因子などの抗体や欠損マウスを用いて多数の研究がなされ、徐々にリモデリングを誘導する因子が解明されつつある。しかしながら、眼アレルギーにおいては春季カタルのような結膜増殖性病変や角膜障害を来す動物モデルが確立されていないため、動物モデルでのリモデリングの検討はあまり行われていない。リモデリングの機序の解明のために、春季カタル患者の巨大乳頭や涙液中で発現が上昇している上記の因子の線維芽細胞や上皮細胞に対する作用について、培養細胞を用いた研究が多くなされており、以下に概説する。

1) 肥満細胞由来因子

肥満細胞から分泌されるヒスタミンは H₂ 受容体を介して結膜線維芽細胞の増殖および遊走を促進する。またヒスタミンは結膜線維芽細胞による I 型コラーゲンの産生も促進する³²⁾。トリプターゼは結膜線維芽細胞上の受容体である protease-activated receptor-2 の活性化

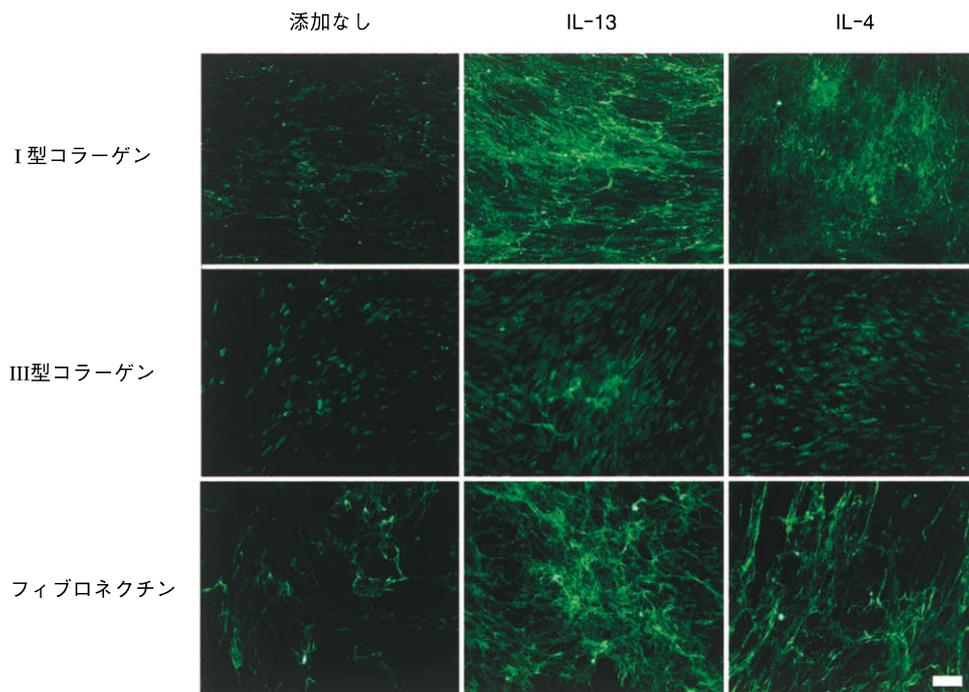


図 5 結膜線維芽細胞の細胞外マトリックス産生に対するインターロイキン(IL)-4 および IL-13 の作用。培養結膜線維芽細胞に IL-4 および IL-13 (10 ng/ml) を添加して培養すると、I 型、III 型コラーゲン、フィブロネクチンの産生が促進される(間接蛍光抗体法によるコラーゲンおよびフィブロネクチンに対する免疫染色)。文献 39 より転載、一部改変。scale bar : 100 μm

を介して作用し、細胞増殖を促進する³³⁾。さらにキマーゼはフィブロネクチンを分解することで結膜上皮細胞の接着性を低下させ、アポトーシスを引き起こす³⁴⁾。また、角膜上皮細胞におけるバリアー機能の低下や細胞遊走を阻害する³⁵⁾。

2) Th2 細胞由来因子(Th2 サイトカイン)

春季カタルでは、前述したようにアレルギー炎症で放出される Th2 サイトカインの発現の上昇が一つの特徴であり、これらの因子が巨大乳頭の形成に対して何らかの作用をもっていることが考えられる。前述のように結膜組織の構成細胞の中で、線維芽細胞は ECM の代謝を司り、巨大乳頭の形成に重要な役割を演じている可能性がある。そこで我々は Th2 サイトカインの結膜線維芽細胞への作用を培養細胞を用いて検討した。炎症局所における細胞数の増加は、細胞の増殖だけでなく、アポトーシスなどの細胞死や細胞の遊走などのバランスによって規定されると考えられ、Th2 サイトカインの結膜線維芽細胞における細胞増殖、細胞死(アポトーシス)、遊走に対する影響を検討した。まず細胞増殖に対する作用であるが、Th2 サイトカインのうち IL-4 および IL-13 は濃度依存的に結膜線維芽細胞の増殖を促進した³⁶⁾³⁷⁾。また、これらのサイトカインは、結膜線維芽細胞の遊走を濃度依存的に促進した³⁸⁾。一方、IL-5, IL-9, IL-10 などの他の Th2 サイトカインには結膜線維芽細胞に対する増殖促進作用は認められない³⁶⁾³⁷⁾。また興

味深いことに、Th1 サイトカインである IFN- γ は、IL-4 や IL-13 とは反対の作用を示し、結膜線維芽細胞の増殖を抑制する作用を有していた。さらに IFN- γ は IL-4 や IL-13 で促進された結膜線維芽細胞の細胞増殖も抑制した³⁹⁾。次に、細胞死に対する作用は、Th2 サイトカインのうち IL-4 および IL-13 は一酸化窒素(NO)によって誘導される結膜線維芽細胞のアポトーシスを抑制した。細胞の増殖、分化、生存シグナルの制御には種々の細胞においてリン脂質代謝系を介したシグナル経路が重要な役割を果たしている。結膜線維芽細胞における IL-4 および IL-13 によるアポトーシスの抑制は、この PI 3 キナーゼ複合体によるイノシトールリン脂質代謝系シグナルを介した Akt シグナルの活性化が、重要な役割を果たしていた³⁶⁾。これらの結果から、肥満細胞や Th2 細胞から分泌された IL-4 と IL-13 は、免疫反応を促進するのみならず、結膜線維芽細胞に作用し、細胞増殖、遊走の亢進と細胞死を抑制することで、巨大乳頭における線維芽細胞の増加に関与していることが明らかとなった。

また、Th2 サイトカインの ECM の代謝に対する作用が種々の研究者より報告されている。我々は培養結膜線維芽細胞に IL-4 あるいは IL-13 を添加して培養し、培養上清中に分泌あるいは細胞表面・培養シャーレ上に沈着した ECM を定量したところ、これらのサイトカインは I 型コラーゲン、III 型コラーゲン、フィブロネクチン

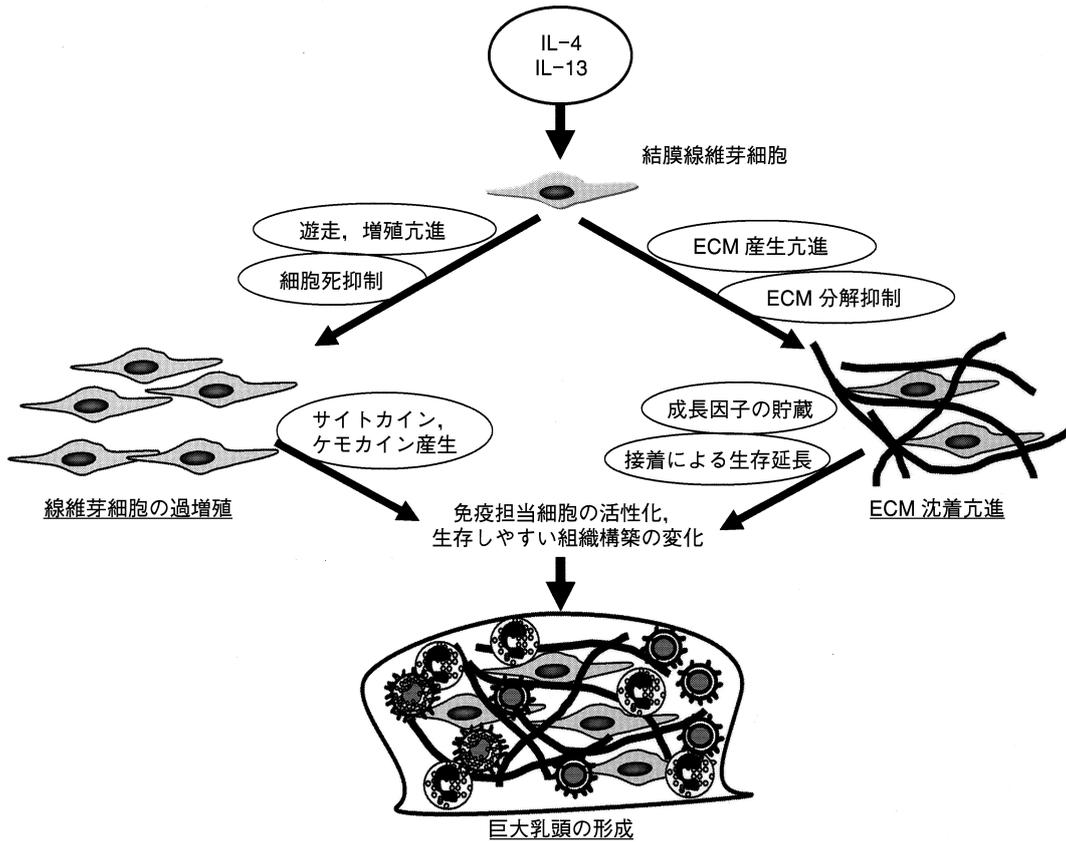


図 6 巨大乳頭形成における結膜線維芽細胞の役割。

IL-4 や IL-13 などのサイトカインによって活性化された結膜線維芽細胞は、過増殖するとともに、細胞外マトリックス (ECM) の沈着を促進する。これらの組織構築の変化によって免疫担当細胞が活性化、生存しやすい微少環境が形成され炎症の増悪とともに、巨大乳頭が形成されると考えられる。

などの巨大乳頭で蓄積が示されている ECM の産生を促進した (図 5)。IL-4 あるいは IL-13 による I 型コラーゲンの産生促進作用は、Leonardi らや Razzaque らによっても報告されている^{40,41}。また、Razzaque らは、結膜線維芽細胞において IL-4 の刺激によりコラーゲン産生に重要である補酵素の heat shock protein 47 の発現が促進されることも報告している⁴⁰。ECM の分解系における Th2 サイトカインの作用については、主に I 型コラーゲンを基質とする分解酵素である MMP-1 の結膜線維芽細胞による産生が IL-4 および IL-13 の添加により抑制されることが報告されている⁴¹。我々はコラーゲンだけでなくフィブロネクチンなどの多くの ECM を基質とし、また種々の proMMP の活性化に重要な分解酵素である MMP-3 の産生を検討したが、IL-5, IL-9, IL-10 などは MMP-3 の産生に影響を与えないのに対し、IL-4 および IL-13 は結膜線維芽細胞による MMP-3 の基礎分泌および IL-1 によって誘導された分泌をほぼ完全に抑制した⁴²。さらに ECM の分解系においては、MMP による分解とその内因性の阻害物質である TIMP とのバランスによって規定されるが、IL-4 および IL-13 は結膜線維芽細胞による TIMP-1⁴¹ および TIMP-2³⁸ の産生を促進する。これらの結果をまとめると、Th2 サ

イトカインのうち、IL-4 と IL-13 は結膜線維芽細胞による ECM の産生の亢進と、MMP の産生抑制と阻害物質である TIMP の産生の亢進による分解系の抑制によって、ECM を組織に沈着させる方向に向かわせていることが示唆される (図 6)。

3) 好酸球由来因子

巨大乳頭内に多数浸潤している好酸球は、TGF- β などの成長因子を介して、線維芽細胞へ作用している可能性が考えられる。実際に好酸球と結膜線維芽細胞を共培養すると線維芽細胞の増殖の亢進やコラーゲンやフィブロネクチンの産生が促進される。また、結膜線維芽細胞と好酸球の共培養により、線維芽細胞由来の GM-CSF の作用により好酸球の生存期間が延長することが示されている⁴³。これらの結果より、好酸球と結膜線維芽細胞は互いに作用し合い、炎症の増幅や ECM の沈着に関与していると考えられる。気道においては、好酸球の分化、生存に関与する IL-5 の欠損マウスを用いた動物実験でリモデリングの抑制が示唆され⁴⁴、実際にヒト化抗 IL-5 抗体の投与により好酸球浸潤の抑制、肺胞洗浄液中の TGF- β の減少、上皮基底膜の ECM 沈着の減少が報告されている⁴⁵。

また好酸球は、細胞内に major basic protein (MBP)

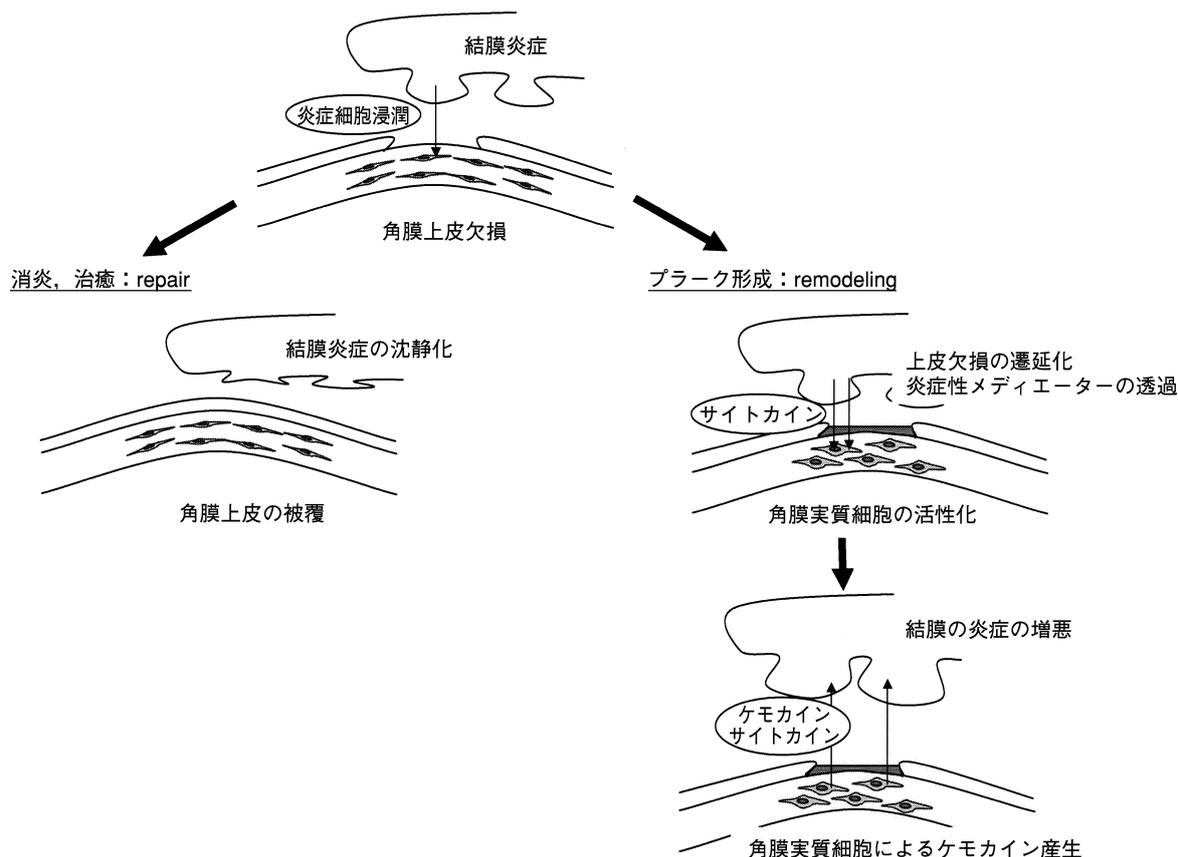


図 7 角膜プラークと結膜炎の炎症。

角膜上皮欠損の部位に角膜プラークが堆積すると、上皮が再被覆できずバリアー機能が破綻し、涙液中のメディエーターの透過性が亢進し、角膜実質細胞が持続的に活性化される。その結果、産生されるケモカインや細胞表面に発現する接着分子により炎症反応が増悪するという悪循環に陥る。

や eosinophil cationic protein (ECP) などの細胞傷害性蛋白質を多く含んでおり、ケモカインや接着分子などにより刺激を受けると細胞外へ放出する。MBP などの顆粒蛋白質は高濃度において角膜上皮細胞に対して細胞毒性や創傷治癒阻害作用をもっている⁴⁶⁾⁴⁷⁾。さらに好酸球は角膜上皮基底膜を分解する蛋白質分解酵素である MMP-9 を涙液中に分泌する²⁸⁾することや、好酸球数と角膜障害の程度が相関する⁴⁸⁾⁴⁹⁾、などの報告により、現在では好酸球の角膜への浸潤と活性化が角膜障害の原因と考えられている。好酸球の角膜への浸潤には、サイトカインによって活性化された角膜実質細胞が eotaxin や TARC などのケモカインを産生し^{50)~53)}、また細胞表面に vascular cell adhesion molecule-1 や intercellular adhesion molecule-1 などの接着分子を発現する^{54)~56)}ことによって、その病態に重要な役割を演じている³⁸⁾³⁹⁾⁵⁷⁾⁵⁸⁾。

IV 春季カタルにおけるリモデリングの意義

このように巨大乳頭では慢性炎症により組織学的に明らかな種々の構造的変化を生じている。好酸球由来の細胞傷害性蛋白質などにより組織が傷害を受けたことに対する正常な創傷治癒機転に加えて、アレルギー炎症に

伴って放出される種々のメディエーターによって組織固有の上皮細胞、線維芽細胞などの機能が変化し ECM の代謝が変化し、ECM の分解、沈着の双方が亢進しているが、全体としてはバランスが沈着に傾いていると考えられる。結膜線維芽細胞数の増加、ECM の沈着などにより巨大乳頭内の微小環境は変化して免疫系の細胞は活性化され、炎症反応が持続しやすくなる。さらに結膜線維芽細胞は種々のサイトカイン、ケモカイン、接着分子などの産生能をもち、これらの生理活性物質を介して種々の免疫系の細胞を活性化する³⁸⁾³⁹⁾⁵⁷⁾。また ECM は成長因子などの液性因子の貯蔵庫としても働き、これらの物質の作用を増強することが知られている^{5)~7)}。したがって、結膜での増殖性病変は単に組織の体積が増加したというだけでなく、炎症反応自体の増幅・遷延化を促進していることが推察される(図 6)。春季カタルの治療に用いられる副腎皮質ステロイド剤やシクロスポリン、一部の抗アレルギー剤では、結膜線維芽細胞の増殖や ECM 産生の抑制効果が報告されており、これらの薬剤は免疫反応だけでなく、線維芽細胞に作用しリモデリングの抑制にも働いていて効果を示していると考えられる。さらに副腎皮質ステロイド剤は ECM への接着によ

る好酸球の生存延長作用を抑制する⁵⁹⁾ことより、ECMと炎症細胞の相互作用にも影響を与えている。また種々の薬物療法で十分に消炎できない症例においては、巨大乳頭を外科的に切除することで炎症の急速な沈静化が得られる。さらに、巨大乳頭切除に加えてマイトマイシンC処理を併用した治療法も報告されている⁶⁰⁾。これらの治療法は、外科的な切除による組織傷害がさらに組織、細胞反応を助長する可能性も考えられるが、ECMや線維芽細胞および好酸球などの炎症細胞をすべて含めて、いったん蓄積した炎症反応の増悪・遷延化しやすい場をすべて取り除くことにより一時的に結膜の炎症が軽快し、それに伴って角膜障害も治癒していると考えられる。実際に、巨大乳頭切除後早期には涙液および結膜擦過物中の好酸球あるいは好酸球由来のECPの減少が認められる⁶¹⁾。また、術中にマイトマイシンC処理を行うことにより、切除後6か月においても角膜障害の再発の頻度が有意に低く、これはマイトマイシンにより結膜線維芽細胞の増殖が抑制されているためではないかと推察される。

また角膜のリモデリングにおいては、角膜上皮の傷害およびそれに引き続く角膜プラークの形成により上皮のバリアー機能が破綻することで涙液中のサイトカインなどのメディエーターの透過性が亢進し、角膜実質細胞が持続的に活性化される。その結果、産生されるケモカインや細胞表面に発現する接着分子により好酸球などの炎症細胞が角膜へ浸潤し炎症反応が増悪するという悪循環に陥っていると考えられる(図7)。実際、我々はアレルギー性結膜炎の動物モデルにおいて、角膜上皮剥離があると結膜の炎症が増悪することを確認している。また春季カタルの症例の多くで、角膜プラークを除去し角膜上皮を再被覆させることで、結膜の慢性炎症が軽快することを経験している。これらの事実は結膜および角膜でのリモデリングは、結膜、角膜それぞれの組織での炎症反応の増悪因子であると同時に、リモデリングの存在が角膜と結膜相互の炎症反応の増幅に関与していることが考えられる(図7)。

V 結 語

春季カタルでは、慢性の強い炎症により組織のリモデリングが生じている。結膜の増殖性病変や角膜プラークなどの特徴的なリモデリングは、単に組織構築が変化したというだけでなく、炎症反応の増悪因子として働く。今後、春季カタルの治療では免疫反応を抑制する薬剤に加えて、これらのリモデリングを制御する治療法の開発にも目を向けるべきであると考えられる。

本論文は日本眼科アレルギー研究会からの総説である。

文 献

- 1) 熊谷直樹：アレルギー性結膜疾患の疫学. 眼科 69 : 905—909, 1998.
- 2) 小室一成：臓器リモデリング. BIO Clinica 21 : 16—17, 2006.
- 3) Vignola AM, Mirabella F, Costanzo G, Di Giorgi R, Gjomarkaj M, Bellia V, et al : Airway remodeling in asthma. Chest 123 : 417 S—422 S, 2003.
- 4) Bousquet J, Jeffery PK, Busse WW, Johnson M, Vignola AM : Asthma. From bronchoconstriction to airways inflammation and remodeling. Am J Respir Crit Care Med 161 : 1720—1745, 2000.
- 5) Anwar AR, Moqbel R, Walsh GM, Kay AB, Wardlaw AJ : Adhesion to fibronectin prolongs eosinophil survival. J Exp Med 177 : 839—843, 1993.
- 6) Ra C, Yasuda M, Yagita H, Okumura K : Fibronectin receptor integrins are involved in mast cell activation. J Allergy Clin Immunol 94 : 625—628, 1994.
- 7) Roberts R, Gallagher J, Spooner E, Allen TD, Bloomfield F, Dexter TM : Heparan sulphate bound growth factors : a mechanism for stromal cell mediated haemopoiesis. Nature 332 : 376—378, 1988.
- 8) Abu El-Asrar AM, Al-Mansouri S, Tabbara KF, Missotten L, Geboes K : Immunopathogenesis of conjunctival remodelling in vernal keratoconjunctivitis. Eye 20 : 71—79, 2006.
- 9) Leonardi A, Abatangelo G, Cortivo R, Secchi AG : Collagen types I and III in giant papillae of vernal keratoconjunctivitis. Br J Ophthalmol 79 : 482—485, 1995.
- 10) Abu el-Asrar AM, Geboes K, al-Kharashi SA, al-Mosallam AA, Tabbara KF, al-Rajhi AA, et al : An immunohistochemical study of collagens in trachoma and vernal keratoconjunctivitis. Eye 12(Pt 6) : 1001—1006, 1998.
- 11) Abu El-Asrar AM, Meersschaert A, Al-Kharashi SA, Missotten L, Geboes K : Immunohistochemical evaluation of conjunctival remodelling in vernal keratoconjunctivitis. Eye 17 : 767—771, 2003.
- 12) Leonardi A, Brun P, Tavolato M, Abatangelo G, Plebani M, Secchi AG : Growth factors and collagen distribution in vernal keratoconjunctivitis. Invest Ophthalmol Vis Sci 41 : 4175—4181, 2000.
- 13) Leonardi A, Borghesan F, DePaoli M, Plebani M, Secchi AG : Procollagens and inflammatory cytokine concentrations in tarsal and limbal vernal keratoconjunctivitis. Exp Eye Res 67 : 105—112, 1998.
- 14) Shoji J, Kitazawa M, Inada N, Sawa M, Ono T, Kawamura M, et al : Efficacy of tear eosinophil cationic protein level measurement using filter paper for diagnosing allergic conjunctival dis-

- orders. *Jpn J Ophthalmol* 47 : 64—68, 2003.
- 15) **Anderson DF, Zhang S, Bradding P, McGill JI, Holgate ST, Roche WR** : The relative contribution of mast cell subsets to conjunctival T_H2-like cytokines. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 42 : 995—1001, 2001.
 - 16) **Irani AM, Butrus SI, Tabbara KF, Schwartz LB** : Human conjunctival mast cells : distribution of MCT and MCTC in vernal conjunctivitis and giant papillary conjunctivitis. *J Allergy Clin Immunol* 86 : 34—40, 1990.
 - 17) **Morgan SJ, Williams JH, Walls AF, Church MK, Holgate ST, McGill JI** : Mast cell numbers and staining characteristics in the normal and allergic human conjunctiva. *J Allergy Clin Immunol* 87 : 111—116, 1991.
 - 18) **Metz DP, Hingorani M, Calder VL, Buckley RJ, Lightman SL** : T-cell cytokines in chronic allergic eye disease. *J Allergy Clin Immunol* 100 : 817—824, 1997.
 - 19) **Maggi E, Biswas P, Del Prete G, Parronchi P, Macchia D, Simonelli C, et al** : Accumulation of Th-2-like helper T cells in the conjunctiva of patients with vernal conjunctivitis. *J Immunol* 146 : 1169—1174, 1991.
 - 20) **Leonardi A** : Vernal keratoconjunctivitis : pathogenesis and treatment. *Prog Retin Eye Res* 21 : 319—339, 2002.
 - 21) 熊谷直樹, 藤津揚一朗, 福田 憲 : 花粉症における結膜の増殖性変化と化学伝達物質. *臨床医* 30 : 203—206, 2004.
 - 22) **Messmer EM, May CA, Stefani FH, Welge-Luessen U, Kampik A** : Toxic eosinophil granule protein deposition in corneal ulcerations and scars associated with atopic keratoconjunctivitis. *Am J Ophthalmol* 134 : 816—821, 2002.
 - 23) **Trocmé SD, Kephart GM, Bourne WM, Buckley RJ, Gleich GJ** : Eosinophil granule major basic protein deposition in corneal ulcers associated with vernal keratoconjunctivitis. *Am J Ophthalmol* 115 : 640—643, 1993.
 - 24) 斎藤達也, 福地健郎, 田沢 博, 坂上富士夫, 沢口昭一, 岩田和雄 : 春季カタルにおける corneal plaque の病理組織学的検討. *日眼会誌* 97 : 201—209, 1993.
 - 25) 福田 憲, 熊谷直樹, 西田輝夫 : 角膜ブランク. *臨眼* 60 : 162—164, 2006.
 - 26) **Shoji J, Inada N, Sawa M** : Antibody array-generated cytokine profiles of tears of patients with vernal keratoconjunctivitis or giant papillary conjunctivitis. *Jpn J Ophthalmol* 50 : 195—204, 2006.
 - 27) **Leonardi A, Brun P, Abatangelo G, Plebani M, Secchi AG** : Tear levels and activity of matrix metalloproteinase (MMP)-1 and MMP-9 in vernal keratoconjunctivitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 44 : 3052—3058, 2003.
 - 28) **Kumagai N, Yamamoto K, Fukuda K, Nakamura Y, Fujitsu Y, Nuno Y, et al** : Active matrix metalloproteinases in the tear fluid of individuals with vernal keratoconjunctivitis. *J Allergy Clin Immunol* 110 : 489—491, 2002.
 - 29) **Butrus SI, Ochsner KI, Abelson MB, Schwartz LB** : The level of tryptase in human tears. An indicator of activation of conjunctival mast cells. *Ophthalmology* 97 : 1678—1683, 1990.
 - 30) **Ebihara N, Funaki T, Takai S, Miyazaki M, Fujiki K, Murakami A** : Tear chymase in vernal keratoconjunctivitis. *Curr Eye Res* 28 : 417—420, 2004.
 - 31) **Margrini L, Bonini S, Centofanti M, Schiavone M, Bonini S** : Tear tryptase levels and allergic conjunctivitis. *Allergy* 51 : 577—581, 1996.
 - 32) **Leonardi A, Radice M, Fregona IA, Plebani M, Abatangelo G, Secchi AG** : Histamine effects on conjunctival fibroblasts from patients with vernal conjunctivitis. *Exp Eye Res* 68 : 739—746, 1999.
 - 33) **Asano-Kato N, Fukagawa K, Okada N, Dogru M, Tsubota K, Fujishima H** : Tryptase increases proliferative activity of human conjunctival fibroblasts through protease-activated receptor-2. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 46 : 4622—4626, 2005.
 - 34) **Ebihara N, Takai S, Miyazaki M, Murakami A** : Mast cell chymase induces conjunctival epithelial cell apoptosis by a mechanism involving degradation of fibronectin. *Curr Eye Res* 30 : 429—435, 2005.
 - 35) **Ebihara N, Funaki T, Murakami A, Takai S, Miyazaki M** : Mast cell chymase decreases the barrier function and inhibits the migration of corneal epithelial cells. *Curr Eye Res* 30 : 1061—1069, 2005.
 - 36) **Fujitsu Y, Fukuda K, Kimura K, Seki K, Kumagai N, Nishida T** : Protection of human conjunctival fibroblasts from NO-induced apoptosis by interleukin-4 or interleukin-13. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 46 : 797—802, 2005.
 - 37) **Fujitsu Y, Fukuda K, Kumagai N, Nishida T** : IL-4-induced cell proliferation and production of extracellular matrix proteins in human conjunctival fibroblasts. *Exp Eye Res* 76 : 107—114, 2003.
 - 38) **Fukuda K, Fujitsu Y, Kumagai N, Nishida T** : Fibroblasts as local immune modulators in ocular allergic disease. *Allergol Int* 55 : 121—129, 2006.
 - 39) **Kumagai N, Fukuda K, Fujitsu Y, Yamamoto K, Nishida T** : Role of structural cells of the cornea and conjunctiva in the pathogenesis of vernal keratoconjunctivitis. *Prog Retin Eye Res* 25 : 165—187, 2006.
 - 40) **Razzaque MS, Ahmed BS, Foster CS, Ahmed AR** : Effects of IL-4 on conjunctival fibroblasts : possible role in ocular cicatricial pemphigoid. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 44 : 3417—3423, 2003.
 - 41) **Leonardi A, Cortivo R, Fregona I, Plebani M,**

- Secchi AG, Abatangelo G** : Effects of Th2 cytokines on expression of collagen, MMP-1, and TIMP-1 in conjunctival fibroblasts. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 44 : 183—189, 2003.
- 42) **Fukuda K, Fujitsu Y, Kumagai N, Nishida T** : Inhibition of matrix metalloproteinase-3 synthesis in human conjunctival fibroblasts by interleukin-4 or interleukin-13. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 47 : 2857—2864, 2006.
- 43) **Solomon A, Shmilowich R, Shasha D, Frucht-Pery J, Pe'er J, Bonini S, et al** : Conjunctival fibroblasts enhance the survival and functional activity of peripheral blood eosinophils *in vitro*. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41 : 1038—1044, 2000.
- 44) **Cho JY, Miller M, Baek KJ, Han JW, Nayar J, Lee SY, et al** : Inhibition of airway remodeling in IL-5-deficient mice. *J Clin Invest* 113 : 551—560, 2004.
- 45) **Flood-Page P, Menzies-Gow A, Phipps S, Ying S, Wangoo A, Ludwig MS, et al** : Anti-IL-5 treatment reduces deposition of ECM proteins in the bronchial subepithelial basement membrane of mild atopic asthmatics. *J Clin Invest* 112 : 1029—1036, 2003.
- 46) **Trocme SD, Gleich GJ, Kephart GM, Zieske JD** : Eosinophil granule major basic protein inhibition of corneal epithelial wound healing. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 35 : 3051—3056, 1994.
- 47) **Trocme SD, Hallberg CK, Gill KS, Gleich GJ, Tyring SK, Brysk MM** : Effects of eosinophil granule proteins on human corneal epithelial cell viability and morphology. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 38 : 593—599, 1997.
- 48) **Fukagawa K, Nakajima T, Tsubota K, Shimamura 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.
- 49) **Leonardi A, Jose PJ, Zhan H, Calder VL** : Tear and mucus eotaxin-1 and eotaxin-2 in allergic keratoconjunctivitis. *Ophthalmology* 110 : 487—492, 2003.
- 50) **Fukagawa K, Nakajima T, Saito H, Tsubota K, Shimmura S, Natori M, et al** : IL-4 induces eotaxin production in corneal keratocytes but not in epithelial cells. *Int Arch Allergy Immunol* 121 : 144—150, 2000.
- 51) **Fukuda K, Fujitsu Y, Seki K, Kumagai N, Nishida T** : Differential expression of thymus- and activation-regulated chemokine (CCL 17) and macrophage-derived chemokine (CCL 22) by human fibroblasts from cornea, skin, and lung. *J Allergy Clin Immunol* 111 : 520—526, 2003.
- 52) **Kumagai N, Fukuda K, Ishimura Y, Nishida T** : Synergistic induction of eotaxin expression in human keratocytes by TNF- α and IL-4 or IL-13. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41 : 1448—1453, 2000.
- 53) **Kumagai N, Fukuda K, Nishida T** : Synergistic effect of TNF- α and IL-4 on the expression of thymus- and activation-regulated chemokine in human corneal fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 279 : 1—5, 2000.
- 54) **Kumagai N, Fukuda K, Fujitsu Y, Nishida T** : Expression of functional ICAM-1 on cultured human keratocytes induced by tumor necrosis factor- α . *Jpn J Ophthalmol* 47 : 134—141, 2003.
- 55) **Kumagai N, Fukuda K, Fujitsu Y, Nishida T** : Synergistic effect of TNF- α and either IL-4 or IL-13 on VCAM-1 expression by cultured human corneal fibroblasts. *Cornea* 22 : 557—561, 2003.
- 56) **Okada N, Fukagawa K, Takano Y, Dogru M, Tsubota K, Fujishima H, et al** : The implications of the upregulation of ICAM-1/VCAM-1 expression of corneal fibroblasts on the pathogenesis of allergic keratopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 46 : 4512—4518, 2005.
- 57) **Fukuda K, Fujitsu Y, Yamada N, Seki K, Kumagai N, Nishida T** : Role of tissue-resident fibroblasts in vernal keratoconjunctivitis. In : Pandalai SG (Ed) : *Recent Research Developments in Allergy & Clinical Immunology Research Signpost*. Kerala, India, 85—102, 2004.
- 58) **福田 憲** : アレルギー性結膜疾患における角膜線維芽細胞の役割. *日眼会誌* 109 : 717—726, 2005.
- 59) **Walsh GM, Wardlaw AJ** : Dexamethasone inhibits prolonged survival and autocrine granulocyte-macrophage colony-stimulating factor production by human eosinophils cultured on laminin or tissue fibronectin. *J Allergy Clin Immunol* 100 : 208—215, 1997.
- 60) **Tanaka M, Takano Y, Dogru M, Fukagawa K, Asano-Kato N, Tsubota K, et al** : A comparative evaluation of the efficacy of intraoperative mitomycin C use after the excision of cobblestone-like papillae in severe atopic and vernal keratoconjunctivitis. *Cornea* 23 : 326—329, 2004.
- 61) **Tanaka M, Dogru M, Takano Y, Miyake-Kashima M, Asano-Kato N, Fukagawa K, et al** : Quantitative evaluation of the early changes in ocular surface inflammation following MMC-aided papillary resection in severe allergic patients with corneal complications. *Cornea* 25 : 281—285, 2006.