

## 総 説

## 全身性強皮症の病態におけるケモカインの役割

長谷川 稔

## The roles of chemokines in the development of systemic sclerosis

Minoru HASEGAWA

Department of Dermatology, Kanazawa University Graduate School of Medical Science, Kanazawa, Ishikawa, Japan

(Received December 3, 2007)

## summary

Systemic sclerosis (SSc, scleroderma) is an autoimmune disease characterized by excessive extracellular matrix deposition and vascular injury in the skin and internal organs. Although the pathogenesis remains unclear, Raynaud's phenomenon, a kind of ischemia-reperfusion, usually precedes the development of skin sclerosis. Therefore, it is possible that endothelial cell injury caused by recurring ischemia-reperfusion induces inflammatory cell infiltration and subsequent cytokine production, leading to the development of tissue fibrosis. During this process, chemokines likely have important roles via mediating chemotaxis and activation of leukocytes, result in the interaction between leukocytes and fibroblasts. While chemokine abnormalities of SSc have been reported in amounts of literatures, monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1/CCL2) and its receptor, CCR2, likely have the most critical role for the development of SSc. Here recent data will be reviewed on the potential role of chemokines and their receptors in SSc.

**Key words**—systemic sclerosis; chemokine; MCP-1; fibrosis; vascular injury

## 抄 録

全身性強皮症は、皮膚や内臓臓器の過剰な細胞外基質蛋白の沈着と血管障害により特徴づけられる自己免疫疾患である。その病態はいまだ不明であるが、ほとんどの症例がレイノー現象という虚血再還流による臨床症状で発症する。繰り返すレイノー現象による血管内皮細胞障害がトリガーとなって、組織への細胞浸潤、浸潤細胞からのサイトカイン産生が生じ、組織の線維化が生じる可能性が考えられる。これらの過程において、ケモカインは白血球の浸潤、活性化とそれに引き続く浸潤細胞と線維芽細胞との相互作用などを介して、重要な役割を果たしているものと考えられる。これまでに、強皮症やそのモデルマウスにおいて多様なケモカインの発現異常や病態への関与を示唆する知見がみられるが、中でも monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1/CCL2) とその受容体である CCR2 の役割が重用視されている。本総説では、これまでに報告されている各種ケモカインの強皮症において想定される役割について概説する。

## はじめに

全身性強皮症は、皮膚や内臓臓器の線維化と血管障害により特徴づけられる自己免疫疾患であるが、その原因や病態はいまだ不明である。しかしながら、コラーゲンの過剰な沈着、血管障害、免疫の活性化の3つが病態の中心であり、それぞれが相互に関与し合っているものと考えられている<sup>1-3)</sup>。強皮症の最も特徴的な症状である皮膚や肺などの内臓臓器の線維化は、コラーゲンや他の細胞外基質蛋白の過剰沈着によるが、これは線維芽細胞からのコラー

ゲン産生が内在的にまたは他の細胞や線維芽細胞自身からのサイトカイン刺激により亢進しているためと考えられている<sup>4,5)</sup>。多くのサイトカインの中でも、transforming growth factor (TGF)- $\beta$ , platelet derived growth factor (PDGF), connective tissue growth factor (CTGF), interleukin (IL)-4, および IL-6 が強皮症の線維化に重要と考えられている<sup>6-11)</sup>。血管障害は、臨床的にはレイノー現象、指の潰瘍、肺動脈性肺高血圧症、腎クリーゼなどとしてみられる<sup>12)</sup>。典型的な血管病変は血管内膜の増殖による血流障害であり、通常、線維化より先行して認められる。免疫学的な活性化は、血管障害や線維化の誘導に重要と考えられている。強皮症患者や強

皮膚のモデルマウスの研究から、組織に浸潤する T 細胞や T 細胞から産生されるサイトカインが、組織の線維化に重要視されている<sup>13~15</sup>。更に、最近の研究では、B 細胞の異常が、強皮症やモデルマウスに検出されている<sup>9,16~19</sup>。

### 免疫担当細胞の役割

強皮症患者では、発症早期の皮膚硬化の明らかになる前の組織においても血管周囲に単核細胞の浸潤が認められる<sup>20~22</sup>。これらの浸潤細胞は T 細胞、マクロファージ、肥満細胞、および少数の B 細胞からなる<sup>20,23,24</sup>。特に血管周囲の T 細胞は主に活性化した T 細胞 (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> $\alpha/\beta$  T cell receptor<sup>+</sup>) である<sup>25,26</sup>。これと一致して、T 細胞由来のサイトカインや可溶性の細胞表面マーカーは、強皮症患者の血清中で増加している。すなわち、血清中の IL-2 や可溶性の IL-2 受容体、CD4, CD8 などが増加している<sup>27,28</sup>。モノクローナルないしオリゴクローナルな  $\alpha/\beta$  T 細胞の線維化皮膚での増加は、antigen-driven による T 細胞の増殖で説明しうるかもしれない<sup>29</sup>。また、オリゴクローナルな  $\gamma/\delta$  T 細胞も強皮症皮膚で増加、活性化している<sup>29</sup>。強皮症患者の肺では、CD8<sup>+</sup> T 細胞とオリゴクローナルな  $\gamma/\delta$  T cells が増加している<sup>30,31</sup>。 $\gamma/\delta$  T 細胞は線維芽細胞に接着傾向があり<sup>32</sup>、組織線維化に関与している可能性がある。 $\gamma/\delta$  T 細胞はまた、血管内皮細胞によく接着し、障害活性を有する<sup>33</sup>ため、本疾患の血管障害にも関与しているかもしれない。最近の研究では、強皮症皮膚病変部に B 細胞の浸潤や B 細胞と関連した遺伝子の発現が亢進しているとの報告がある<sup>23</sup>。高  $\gamma$  グロブリン血症や自己抗体の産生を反映して、末梢血の B 細胞は強皮症では活性化している<sup>9,17,34</sup>。

マイクロアレイの解析では、強皮症の線維芽細胞と健常人の線維芽細胞との間で発現の異なる遺伝子は検出されず<sup>23</sup>、免疫担当細胞による外因性の線維芽細胞の活性化が示唆されている。皮膚に浸潤している単核細胞は、TGF- $\beta$  や PDGF を発現していることが報告されている<sup>35,36</sup>。活性化したマクロファージは、炎症の制御や線維化に重要な IL-1, tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ , interferon (IFN)- $\gamma$ , IL-6, TGF- $\beta$ , および PDGF を産生する<sup>14</sup>。このうち、IL-1 や TNF- $\alpha$  はいくつかのケモカインや接着分子の誘導に重要である。皮膚と肺の両方において、T 細胞はマクロファージの活性化や線維化誘導

性サイトカインの産生を介して線維化に重要な働きを有していると思われる。多くの研究結果は、type 1 helper T 細胞(Th1)と type 2 helper T 細胞(Th2) サイトカインのバランス異常が、組織の線維化に関与していることを示唆している。IL-4, IL-6, IL-13 などの Th2 サイトカインは、in vitro でヒトの線維芽細胞からのコラーゲン産生を刺激する<sup>37~39</sup>。対照的に、IFN- $\gamma$  や TNF- $\alpha$  などの Th1 サイトカインは、線維芽細胞からのコラーゲン産生を抑制する<sup>39</sup>。このように、概して Th2 から Th1 へのバランスの移行が線維化に働く。強皮症患者では、皮膚や肺に浸潤する T 細胞は主として Th2 のプロファイルを示し<sup>10,29,40~43</sup>、Th2 から Th1 へのシフトは皮膚硬化の軽快と相関するとの報告がある<sup>44</sup>。ヒトの肥満細胞は、多数のサイトカイン、ケモカイン、成長因子の産生源であることが報告されている<sup>45</sup>。

このように、ある種の白血球サブセットやそれらから産生されるサイトカインが強皮症の線維化に関与していると考えられる。

### リンパ球遊走のメカニズム

血管内皮細胞を経由した白血球の組織への浸潤は、接着分子とケモカインを含む大きく分けて 4 つのカスケードを経て行われる<sup>46~48</sup>。ステップ 1: 白血球の最初の血管内皮細胞との接触。ステップ 2: ケモカインやケモカイン受容体によるインテグリンの急速な活性化 (“triggering”)。ステップ 3: 活性化したインテグリンによる白血球の血管内皮への強固な接着 (“firm adhesion”)。ステップ 4: 白血球が血管から漏出 (“diapedesis”)。この過程において、ケモカインとケモカイン受容体が接着分子と協調して、特定の白血球サブセットの選択的な組織浸潤を制御する。

多様な接着分子の中で、intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) が強皮症の病態に最も関与が指摘されている<sup>49</sup>。いくつかのこれまでの研究は、強皮症の線維芽細胞の ICAM-1 の発現増加と T 細胞への接着能亢進を示している<sup>50~52</sup>。亢進したコラーゲン mRNA の発現は、線維芽細胞と T 細胞の直接の接触を示唆するように、病変部皮膚の真皮血管に近接した線維芽細胞に認められる<sup>22,53</sup>。ヒトの皮膚線維芽細胞では、IL-4 により誘導された ICAM-1 の発現上昇が、T 細胞との接着能と相関する<sup>54</sup>。さらに、最近の研究は、ICAM-1 の発現、特に線維芽細胞上での発現上昇が、強皮症のモ

デルであるタイトスキンマウスの皮膚硬化に  
関与していることが報告されている<sup>55)</sup>。

### 強皮症におけるケモカイン

#### 1. ケモカイン

ケモカインの主要な役割は、それらに対する受容体の発現に応じて、細胞の種類に特異的に遊走作用を呈することである<sup>56~58)</sup>。さらに、ケモカインは線維化や血管新生にも関与するものがあり、これらの作用を介して強皮症の病態に関与している可能性が考えられる<sup>59)</sup>。ケモカインは、その構造により、CC, CXC, C, CX3C ケモカインの4つの大きなグループに分類される。近年、強皮症において、種々のケモカインの発現異常や病態への関与を示唆する報告が認められる(表1, 図1)<sup>49,60,61)</sup>。

#### 2. Monocyte chemoattractant protein 1/CCL2

MCP-1はマクロファージ、線維芽細胞、内皮細胞、その他の細胞から産生され、単球やT細胞の主要な遊走因子や活性化因子である。遊走活性に加えて、このケモカインはTh2細胞への偏倚<sup>62)</sup>やTGF-βを介して線維芽細胞からのコラーゲン産生を刺激する<sup>63)</sup>。

MCP-1遺伝子のプロモーター領域の多型性は、強皮症の頻度や皮膚線維芽細胞におけるMCP-1の発現と相関することが報告されている<sup>64)</sup>。血清中や末梢血単核細胞からのMCP-1の産生は、強皮症では健常人より増加している<sup>65)</sup>。免疫組織学的な検討により、MCP-1は強皮症硬化皮膚の表皮、浸潤単

核細胞、血管内皮細胞に強く発現がみられる<sup>65)</sup>。MCP-1の役割は、白血球の経内皮細胞の遊走を検討したin vitro assayでも明らかとなった<sup>66)</sup>。この

表1 全身性強皮症や他の線維化疾患において役割が想定されるケモカインの一覧

グループ	系統的名称	普通名称	対応する受容体	
CC	CCL2	MCP-1	CCR2	
	CCL3	MIP-1α	CCR1, 5	
	CCL4	MIP-1β	CCR5	
	CCL5	RANTES	CCR1, 3, 5	
	CCL7	MCP-3	CCR1, 2, 3	
	CCL17	TARC	CCR4	
	CCL18	PARC	CCR3	
	CCL21	SLC	CCR7	
	CCL22	MDC	CCR4	
	CCL27	CTACK	CCR10	
CXC	CXCL1	GRO-α	CXCR2	
	CXCL2	GRO-β	CXCR2	
	CXCL3	GRO-γ	CXCR2	
	CXCL5	ENA-78	CXCR2	
	CXCL8	IL-8	CXCR1, 2	
	CXCL9	MIG	CXCR3	
	CXCL10	IP-10	CXCR3	
	CXCL11	I-TAC	CXCR3	
	CXCL12	SDF-1	CXCR4	
	CX3C	CX3CL1	Fractalkine	CX3CR1

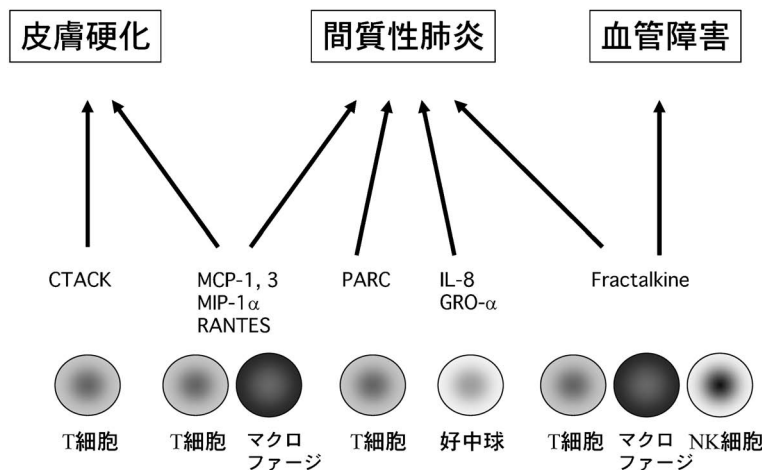


図1 強皮症の病態ごとのケモカインの関与

これまでの報告からは、CTACKはT細胞の皮膚への遊走に、MCP-1・3、MIP-1α、RANTESはT細胞やマクロファージの皮膚や肺への遊走に、PARCはT細胞、IL-8やGRO-αは好中球の肺への遊走への関与が指摘されている。また、FractalkineはT細胞、マクロファージ、NK細胞の肺や血管の障害への関与が考えられている。

研究では、強皮症の線維芽細胞は内皮細胞層を通り抜ける白血球の遊走能を MCP-1 依存性に促進した。

培養した強皮症の線維芽細胞では、MCP-1 の mRNA と蛋白の発現が増加している<sup>67-69</sup>。さらに、PDGF の刺激は強皮症の皮膚線維芽細胞における MCP-1 の発現を、健常人に比べて有意に亢進させた<sup>67,70</sup>。強皮症線維芽細胞における MCP-1 の発現増加は単核細胞の遊走を促進した<sup>70</sup>。MCP-1 は皮膚線維芽細胞に直接作用しなかったが、IL-4 産生性 T 細胞への分化を誘導することにより強皮症の線維化に関与している<sup>71</sup>。培養皮膚細胞に外から MCP-1 を添加すると MCP-1 mRNA の自己誘導が強皮症の線維芽細胞ではみられ、正常線維芽細胞ではみられない<sup>67</sup>。MCP-1 のリガンドである CCR2 は、活動性のある強皮症患者皮膚では高発現がみられる<sup>72</sup>。さらに、強皮症における MCP-1/CCR2 ループを介した線維化促進のオートクラインの機序を示唆するように、強皮症線維芽細胞における CCR2 の発現は MCP-1 の発現を制御することが報告されている<sup>72</sup>。MCP-1 はヒトの皮膚線維芽細胞における  $\alpha$ (I) コラーゲンやデコリンの mRNA の上昇を促す一方で、ファイブロネクチンやバイグリカンの発現には影響しない<sup>73</sup>。

強皮症では、肺胞気管支洗浄液細胞における MCP-1 の mRNA の発現は、健常人のものに比べて、4507 種の遺伝子の中で最も亢進していた<sup>74</sup>。これと一致して、MCP-1 の蛋白量は、肺線維症を有する強皮症患者血清中や肺病変を有する強皮症患者の肺胞気管支洗浄液中で増加していた<sup>65,74</sup>。

肥満細胞は強皮症において、組織線維化の重要な調節因子と考えられている。肥満細胞の成長因子のひとつである Stem cell factor は、強皮症皮膚線維芽細胞に高発現している<sup>75,76</sup>。Stem cell factor は肥満細胞からの MCP-1 の産生増加を促し、これにより線維芽細胞からのコラーゲン産生を促進する<sup>77,78</sup>。

動物モデルの検討も、MCP-1 の線維化への役割を支持するものである。マウスの皮膚硬化型 graft-versus-host disease (GVHD) モデルにおいて、MCP-1 の発現増加は皮膚や肺線維症の出現に先行する<sup>79</sup>。プレオマイシン誘導性肺線維症ラットモデルにおいて、MCP-1 の mRNA や蛋白の発現は上昇している<sup>80</sup>。抗 MCP-1 中和抗体の投与はプレオマイシン誘導性皮膚硬化を減少させた<sup>73</sup>。抗 MCP-1 遺伝子治療は、プレオマイシン誘導性皮膚硬化を軽減させた<sup>81</sup>。また、CCR2 を欠損している

マウスは、fluorescein isothiocyanate 誘導性またはプレオマイシン誘導性肺線維症の出現が阻害された<sup>82,83</sup>。これらの研究のひとつでは、MCP-1 と CCR2 の相互作用は肺胞上皮細胞におけるプロスタグランジン E2 の産生を抑制することにより、線維化を促進する機序が示されている<sup>82</sup>。CCR2 のシグナルは、線維化誘導性サイトカインの発現や TGF- $\beta$  に対する線維芽細胞の反応を制御することにより、プレオマイシン誘導性肺線維症の中心的な役割を果たしているとの報告もある<sup>84</sup>。

TGF- $\beta$ 、CTGF、basic fibroblast growth factor (bFGF) を単独で皮下注射しても持続性の皮膚硬化は誘導できないが、TGF- $\beta$  に引き続いて CTGF や bFGF を注射すると持続性の皮膚硬化が生じる<sup>8,85,86</sup>。この強皮症モデルにおいて、皮膚の肥満細胞数は早期に一過性に増加するが、マクロファージ数は持続的な増加が認められる<sup>87</sup>。また、皮膚硬化部位においては、MCP-1 の皮膚硬化への重要性を反映して、TGF- $\beta$  に引き続いて CTGF を注射した皮膚では、TGF- $\beta$  や CTGF を単独で注射した皮膚よりも MCP-1 の mRNA の発現が著明に上昇していた。

このように、MCP-1 は線維芽細胞への直接作用、局所への白血球の遊走とそれからの多様なサイトカインの産生を介して、強皮症の線維化の中心的な役割を果たしているものと考えられる (図 2)。

### 3. 他の CC ケモカイン

Macrophage inflammatory protein-1 $\alpha$  (MIP-1 $\alpha$ /CCL3)、MIP-1 $\beta$ /CCL4、および regulated upon activation normal T cell expressed and secreted (RANTES/CCL5) は、主として T 細胞と単球を遊走させる。血清中および末梢血単核球からの MIP-1 $\alpha$  や MIP-1 $\beta$  の産生は強皮症患者で増加していた<sup>65</sup>。血清中の MIP-1 $\alpha$  の濃度は、このケモカインの肺線維症への関与を示唆して、肺線維症の重症度と相関した<sup>65</sup>。これと一致して、他のグループが気管支肺胞洗浄液中の MIP-1 $\alpha$  の濃度が間質性肺炎を有する強皮症患者で有しない患者よりも増加していることを報告している<sup>88</sup>。RANTES の mRNA や蛋白は健常人の皮膚ではほとんど発現していないが、強皮症患者の皮膚では高発現が認められる<sup>89,90</sup>。RANTES は、強皮症患者の気管支肺胞洗浄液中で増加している<sup>88</sup>。マウスの皮膚硬化型 GVHD モデルにおいて、皮膚での MIP-1 $\alpha$  や RANTES の mRNA の発現上昇は、皮膚や肺の線維化に先行す

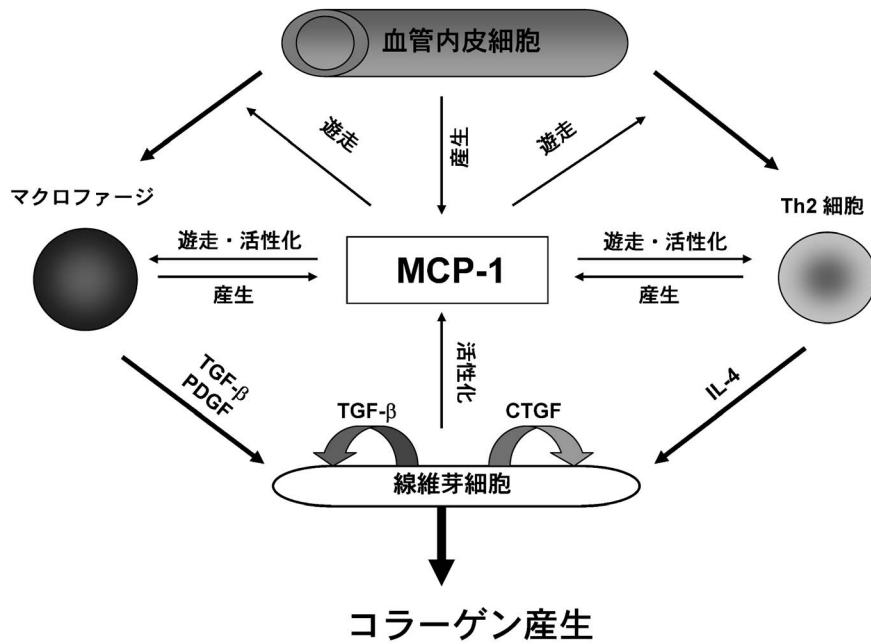


図2 全身性強皮症の組織線維化における MCP-1 の役割

MCP-1 は、マクロファージや T 細胞を線維芽細胞周囲に遊走させ、活性化させたこれらの浸潤細胞からの TGF- $\beta$  や PDGF の産生を誘導する。その結果、これらの成長因子が、線維芽細胞からのコラーゲン産生を促進する。また、MCP-1 は Th1 よりも Th2 細胞への分化を誘導する。線維芽細胞の周囲へ遊走した Th2 細胞は、IL-4 産生を介して線維芽細胞からのコラーゲン産生に働く。逆に、活性化された線維芽細胞は MCP-1 を産生し、これにより MCP-1 を中心とした組織線維化の活性化ループが形成される。

る<sup>79</sup>。韓国人では、RANTES 遺伝子の多型性と強皮症との間に有意な相関がみられる<sup>92</sup>。

Pulmonary and activation-regulated chemokine (PARC/CCL18) は健常人の主に肺に発現がみられる<sup>93</sup>。強皮症患者では、血清中の PARC 値の上昇は肺線維症と相関し、他の肺線維症の血清マーカーよりもより鋭敏に肺線維症と相関した<sup>94</sup>。興味深いことに、PARC の蛋白や mRNA の発現は、PARC の免疫を介した線維性肺疾患での役割を反映して、過敏性肺臓炎、特発性間質性肺炎、肺サルコイドーシス患者の肺で上昇している<sup>95~97</sup>。気管支肺胞洗浄液細胞からの PARC の産生は、肺機能と逆相関、気管支肺胞洗浄液中の好中球や好酸球数と相関した<sup>98</sup>。肺病変を有する強皮症患者では、PARC 陽性の肺胞マクロファージや PARC の発現量の増加が認められた<sup>98</sup>。PARC は培養ヒト皮膚または肺の線維芽細胞におけるコラーゲンの mRNA や蛋白の発現を促進することが示されている<sup>99</sup>。

血清中の MCP-3 の濃度は強皮症患者において増加しており、皮膚硬化の範囲や肺線維症の重症度と相関した<sup>100</sup>。他のグループは、発症早期の強皮症患者と tight-skin mouse において MCP-3 が高発現しており、このサイトカインの皮膚硬化への関与が考えられる<sup>101</sup>。血清中の cutaneous T-cell attracting

chemokine (CTACK/CCL27) の濃度は、強皮症患者で健常人よりも有意に増加した<sup>102</sup>。CTACK の発現は、強皮症患者の硬化皮膚において増強していた<sup>102</sup>。Th2 細胞の遊走に関与する monocyte-derived chemokine (MDC/CCL22) や thymus and activation-regulated chemokine (TARC/CCL17) の血清中の濃度は、強皮症患者では健常人よりも増加している<sup>103</sup>。プレオマイシン誘導性肺線維症において血清中の TARC は増加しており、TARC の阻害は肺線維症を軽快させる<sup>104</sup>。

#### 4. CXC chemokines

N 末端と最初の cystein との間に ELR (glutamic acid-leucine-arginine) モチーフを有する CXC ケモカインは好中球の遊走に働く<sup>105</sup>。ELR<sup>+</sup>CXC ケモカインは、IL-8 (CXCL8)、growth-regulated oncogene- $\alpha$  (GRO- $\alpha$ /CXCL1)、GRO- $\beta$ /CXCL2、GRO- $\gamma$ /CXCL3、および epithelial-neutrophil activating protein-78 (ENA-78/CXCL5) がある。強皮症患者において、IL-8、CXCR1、および CXCR2 の遺伝子多型が認められている<sup>106</sup>。韓国人では、IL-8 の遺伝子多型と強皮症との間に有意な相関がみられる<sup>92</sup>。血清中の IL-8 と GRO- $\alpha$  の濃度の増加が強皮症患者で認められている<sup>107</sup>。IL-8 の蛋白の発現は、強皮症皮膚で増加しており、特に発症 1 年未満

の患者皮膚で増加している<sup>108</sup>). *In vitro* では, 強皮症の皮膚線維芽細胞は正常線維芽細胞よりも多くの IL-8 を産生する<sup>109</sup>). IL-8 はまた肺線維症の肺組織で高発現しており, 血管新生を促進している可能性が想定される<sup>110</sup>). IL-8 はまた, 強皮症患者の気管支肺胞洗浄液中で増加している<sup>88</sup>). IL-8 は, 肺線維症を有する肺胞マクロファージや肺の線維芽細胞から産生される<sup>111,112</sup>). 血清中の GRO- $\alpha$  は, 肺線維症などの内臓病変と相関する<sup>107</sup>).

ELR モチーフを有さない CXC ケモカインは, CXCR3 を発現した Th1 細胞を遊走する. これらのケモカインは, monokine induced by IFN- $\gamma$  (MIG/CXCL9), interferon- $\gamma$ -inducible protein (IP-10/CXCL10), IFN-inducible T cell attractant (I-TAC/CXCL11), および stromal cell-derived factor 1 (SDF-1/CXCL12) などが含まれる. 血清中の IP-10 濃度は強皮症患者で健常人よりも有意に増加していた<sup>103</sup>). I-TAC の全身投与は, 血管のリモデリングを抑制することにより, プレオマイシン誘導性肺線維症を軽快させる<sup>113</sup>). IP-10, MIG, および I-TAC のリガンドである CXCR3 を欠損させると, プレオマイシン誘導性肺障害の過程で IFN- $\gamma$  の産生が減少し, 線維化を抑制できなくなる<sup>114</sup>).

SDF-1 とその受容体である CXCR4 は, 血管形成の制御に重要な役割を有する. SDF-1 と CXCR4 は皮膚硬化が進行する発症早期の強皮症患者の皮膚や微小血管内皮細胞で高発現しており, 罹病期間が長くなるにつれて発現が低下することから病態への関与が示唆される<sup>115</sup>).

### 5. CX3C ケモカイン

Fractalkine/CX3CL1 は血管内皮細胞に発現し, その受容体である CX3CR1 発現白血球の遊走や接着に関与する. 可溶性の fractalkine は, CX3CR1 発現白血球の遊走に関与する. これと一致して, fractalkine は強皮症の罹患皮膚や肺組織において, 血管内皮細胞に強く発現する<sup>116</sup>). 可溶性 fractalkine の濃度は, 強皮症患者で有意に増加しており, 指尖潰瘍や肺線維症を有する症例で有意に高値を示した<sup>116</sup>). 単球/マクロファージを含む CX3CR1-発現細胞は, びまん皮膚型の強皮症患者からの罹患皮膚や肺組織において増加していた<sup>116</sup>). これらの結果は, fractalkine が CX3CR1-発現単核細胞の強皮症病変組織への遊走を促進し, 炎症や血管障害を誘導する可能性を示唆している.

### ケモカインと fibrocytes

最近の研究は, 白血球マーカー (CD45) と間葉系マーカー (collagen I) の両方を発現する fibrocyte がマウスの肺線維症, 血管壁のリモデリング, 肺高血圧, 創傷治癒モデルなどにおいて重要な役割を有していることを示唆している<sup>117~120</sup>). ヒトの fibrocyte は CCR3, CCR5, CCR7, および CXCR4 などのケモカイン受容体を発現する<sup>118,121,122</sup>). 一方, マウスの fibrocyte は CCR2, CCR7, および CXCR4 などを発現する<sup>118,121~123</sup>). 抗 CXCL12 中和抗体の投与は, 肺内の循環 CXCR4<sup>+</sup> fibrocyte の遊走を抑制し, プレオマイシン誘導性肺線維症の出現を抑制した<sup>118</sup>). CCR7 を発現する fibrocyte もまた, CXCR4 を発現する fibrocyte と異なる細胞群であるが, プレオマイシンを投与したマウスの肺へ遊走する<sup>118</sup>). しかし, 線維化肺にみられる CCR7<sup>+</sup> fibrocyte の数は, CXCR4<sup>+</sup> fibrocyte の数よりも著明に少なかった<sup>118</sup>). マウスの肺から分離された fibrocyte は, CCR2 を発現して MCP-1 や MCP-5/CCL12 などのリガンドに遊走する<sup>119,124</sup>). その著者らは, MCP-5 がマウスの肺線維化を促進する CCR2 の ligand であると指摘している. MIP-1 $\alpha$  や CCR5 を欠損したマウスでは, プレオマイシン誘導性肺線維症が著明に抑制された<sup>125</sup>). MIP-1 $\alpha$  や CCR5 を欠損したマウスにおける骨髄の fibrocyte の遊走は, 肺線維症における MIP-1 $\alpha$ -CCR5 軸の中心的な役割を反映して, 野生型マウスに比べて有意に減少した<sup>125</sup>). 最近の研究で, 腎硬化症のマウスモデルにおいて, CCR7 陽性の fibrocyte が secondary lymphoid tissue chemokine (SLC/CCL21) 陽性血管を介して腎臓内に浸潤することが報告されている<sup>126</sup>). このように, 少なくともマウスでは, いくつかの種類のケモカインが fibrocyte の罹患臓器浸潤に重要であることを示されている<sup>118,124</sup>). ヒトの fibrocyte が, 強皮症において, 皮膚や内臓臓器に遊走しているかについては, 今後の検討が待たれる.

### 血管障害におけるケモカインの役割

強皮症における血管異常は臨床的にはレイノー現象, 指尖潰瘍, 爪かく部出血点, 肺動脈性肺高血圧症, 腎クリーゼなどとして認められる<sup>12</sup>). レイノー現象は, 通常他の臨床症状の出現に先行するため, これによる血管内皮細胞障害が病態に重要な役割を

有しているかもしれない。その後、血小板や炎症細胞から産生される線維化誘導性サイトカインが、組織の線維化を誘導するのもかもしれない。レイノー現象は、1種の虚血再還流と考えられる。虚血再還流の過程では、活性酸素、サイトカイン、toll-like receptorを介した機序、補体カスケードなどを含むいくつかの機序が重複して作用し、引き続く白血球の浸潤や炎症反応を誘導していると考えられる<sup>127)</sup>。最近の知見は、toll-like receptorのシグナルが、虚血組織におけるケモカインの高発現に重要であることを示している<sup>127)</sup>。例えば、虚血再還流による急速な細胞外基質蛋白の破壊は、ヒアルロン酸の断片を集積させ、これらが toll-like receptor-4を架橋してマクロファージからのケモカイン産生を誘導する<sup>129)</sup>。心筋、腎臓、脳などの虚血再還流モデルにおいて、CXCケモカインは好中球とTh1細胞の浸潤を促し、CCケモカインは単核球を臓器に浸潤させる<sup>127)</sup>。加えて、これらのケモカインのシグナルはまた、血管新生や線維化を誘導する。しかしながら、強皮症のレイノー現象や血管障害の病態におけるケモカインの詳細な役割は不明である。

#### おわりに

この総説では、強皮症の病態におけるケモカインとケモカイン受容体の想定される機序について概説した。多くのケモカインやケモカイン受容体が、細胞の遊走、活性化、線維化、血管新生などを介して強皮症の発症に関与している。中でも、MCP-1とそのリガンドであるCCR2は、強皮症の病態の中心的な役割を果たしていると考えられる。しかし、他のCCケモカイン、CXCケモカイン、およびCX3Cケモカインもまた、協調的に本疾患の病態形成に関わっているかもしれない。関節リウマチに対しての抗MCP-1抗体治療は、動物実験の結果には反して、最近の無作為コントロール試験では有効性が認められなかった<sup>130)</sup>。これまでのところ、ほとんどの線維化マウスモデルの検討は、ある種のケモカインまたは受容体をターゲットとしたものであった。しかし、これらのケモカインの相補的な役割を明らかにしたり、治療効果を上げるためには、複数のケモカインや受容体を阻害するような治療戦略が必要かもしれない。あるいは、免疫抑制療法とケモカインをターゲットとした治療の組み合わせが、強皮症の治療に有用かもしれない。

#### 文 献

- 1) Charles C, Clements P, Furst DE. : Systemic sclerosis : hypothesis-driven treatment strategies. *Lancet* **367** : 1683-1691, 2006.
- 2) Varga J, Abraham D. : Systemic sclerosis : a prototypic multisystem fibrotic disorder. *J Clin Invest* **117** : 557-567, 2007.
- 3) Denton CP, Black CM. : Targeted therapy comes of age in scleroderma. *Trends Immunol* **26** : 596-602, 2005.
- 4) LeRoy EC. : Increased collagen synthesis by scleroderma skin fibroblasts in vitro : a possible defect in the regulation or activation of the scleroderma fibroblast. *J Clin Invest* **54** : 880-889, 1974.
- 5) Krieg T, Perlish JS, Mauch C, Fleischmajer R. : Collagen synthesis by scleroderma fibroblasts. *Ann N Y Acad Sci* **460** : 375-386, 1985.
- 6) LeRoy EC, Smith EA, Kahaleh MB, Trojanowska M, Silver RM. : A strategy for determining the pathogenesis of systemic sclerosis : is transforming growth factor  $\beta$  the answer? *Arthritis Rheum* **32** : 817-825, 1989.
- 7) Ihn H. : Pathogenesis of fibrosis : role of TGF- $\beta$  and CTGF. *Curr Opin Rheumatol* **14** : 681-685, 2002.
- 8) Takehara K. : Hypothesis : pathogenesis of systemic sclerosis. *J Rheumatol* **30** : 755-759, 2003.
- 9) Sato S, Fujimoto M, Hasegawa M, Takehara K, Tedder TF. : Altered B lymphocyte function induces systemic autoimmunity in systemic sclerosis. *Mol Immunol* **41** : 1123-1133, 2004.
- 10) Abraham DJ, Varga J. : Scleroderma : from cell and molecular mechanisms to disease models. *Trends Immunol* **26** : 587-595, 2005.
- 11) Baroni SS, Santillo M, Bevilacqua F, Luchetti M, Spadoni T, Mancini M, Fraticelli P, Sambo P, Funaro A, Kazlauskas A, Avvedimento EV, Gabrielli A. : Stimulatory autoantibodies to the PDGF receptor in systemic sclerosis. *N Engl J Med* **354** : 2667-2676, 2006.
- 12) Guiducci S, Pignone A, Matucci-Cerinic M. : Raynaud's phenomenon in systemic sclerosis. In *Systemic sclerosis*, ed. Clements PJ, Furst DE, 2004 ; pp. 221-40. Philadelphia : Williams & Wilkins.
- 13) Jimenez SA, Christner PJ, Gershwin ME. : Animal models of systemic sclerosis. In Sys-

- temic sclerosis*, ed. Clements PJ, Furst DE, 2004 ; pp. 39–62. Philadelphia : Williams & Wilkins.
- 14) Varga J, Korn JH. : Pathogenesis : Emphasis on human data. In *Systemic sclerosis*, ed. Clements PJ, Furst DE, 2004 ; pp. 63–98. Philadelphia : Williams & Wilkins.
  - 15) Sakkas LI, Chikanza IC, Platsoucas CD. : Mechanisms of Disease : the role of immune cells in the pathogenesis of systemic sclerosis. *Nat Clin Pract Rheumatol* **2** : 679–685, 2006.
  - 16) Saito E, Fujimoto M, Hasegawa M, Komura K, Hamaguchi Y, Kaburagi Y, Nagaoka T, Takehara K, Tedder TF, Sato S. : CD19-dependent B lymphocyte signaling thresholds influence skin fibrosis and autoimmunity in the tight-skin mouse. *J Clin Invest* **109** : 1453–1462, 2002.
  - 17) Sato S, Fujimoto M, Hasegawa M, Takehara K. : Altered blood B lymphocyte homeostasis in systemic sclerosis : expanded naive B cells and diminished but activated memory B cells. *Arthritis Rheum* **50** : 1918–1927, 2004.
  - 18) Asano N, Fujimoto M, Yazawa N, Shirasawa S, Hasegawa M, Okochi H, Tamaki K, Tedder TF, Sato S. : B Lymphocyte signaling established by the CD19/CD22 loop regulates autoimmunity in the tight-skin mouse. *Am J Pathol* **165** : 641–650, 2004.
  - 19) Hasegawa M, Hamaguchi Y, Yanaba K, Bouaziz JD, Uchida J, Fujimoto M, Matsushita T, Matsushita Y, Horikawa M, Komura K, Takehara K, Sato S, Tedder TF. : B-lymphocyte depletion reduces skin fibrosis and autoimmunity in the tight-skin mouse model for systemic sclerosis. *Am J Pathol* **169** : 954–966, 2006.
  - 20) Prescott RJ, Freemont AJ, Jones CJ, Hoyland J, Fielding P. : Sequential dermal microvascular and perivascular changes in the development of scleroderma. *J Pathol* **166** : 255–263, 1992.
  - 21) Fleischmajer R, Perlish JS, Reeves JRT. : Cellular infiltrates in scleroderma skin. *Arthritis Rheum* **20** : 975–984, 1977.
  - 22) Scharffetter K, Lankat-Buttgereit B, Krieg T. : 1988. Localization of collagen mRNA in normal and scleroderma skin by in-situ hybridization. *Eur J Clin Invest* **18** : 9–17, 1988.
  - 23) Whitfield ML, Finlay DR, Murray JI, Troyanskaya OG, Chi JT, Pergamenschikov A, McCalmont TH, Brown PO, Botstein D, Connolly MK. : Systemic and cell type-specific gene expression patterns in scleroderma skin. *Proc Natl Acad Sci USA* **100** : 12319–12324, 2003.
  - 24) Kalogerou A, Gelou E, Mountantonakis S, Settas L, Zafiriou E, Sakkas L. : Early T cell activation in the skin from patients with systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* **64** : 1233–1245, 2005.
  - 25) Gruschwitz M, von den Driesch P, Kellner I, Hornstein OP, Sterry W. : Expression of adhesion proteins involved in cell-cell and cell-matrix interactions in the skin of patients with progressive systemic sclerosis. *J Am Acad Dermatol* **27** : 169–177, 1992.
  - 26) Gruschwitz MS, Vieth G. : 1997. Up-regulation of class II major histocompatibility complex and intercellular adhesion molecule 1 expression on scleroderma fibroblasts and endothelial cells by interferon-g and tumor necrosis factor a in the early disease stage. *Arthritis Rheum* **40** : 540–550, 1997.
  - 27) Kahaleh MB, LeRoy EC. : Interleukin-2 in scleroderma : correlation of serum level with extent of skin involvement and disease duration. *Ann Intern Med* **110** : 446–450, 1989.
  - 28) Degiannis D, Seibold JR, Czarnecki M, Raskova J, Raska K, Jr. : Soluble and cellular markers of immune activation in patients with systemic sclerosis. *Clin Immunol Immunopathol* **56** : 259–270, 1990.
  - 29) Sakkas LI, Platsoucas CD. : Is systemic sclerosis an antigen-driven T cell disease? *Arthritis Rheum* **50** : 1721–1733, 2004.
  - 30) Yurovsky VV, Sutton PA, Schulze DH, Wigley FM, Wise RA, Howard RF, White B. : Expansion of selected V  $\delta 1^+$   $\gamma\delta$  T cells in systemic sclerosis patients. *J Immunol* **153** : 881–891, 1994.
  - 31) Yurovsky VV, Wigley FM, Wise RA, White B. : Skewing of the CD8<sup>+</sup> T-cell repertoire in the lungs of patients with systemic sclerosis. *Hum Immunol* **48** : 84–97, 1996.
  - 32) White B, Korn JH, Piela-Smith TH. : Preferential adherence of human  $\gamma\delta$ , CD8<sup>+</sup>, and memory T cells to fibroblasts. *J Immunol* **152** : 4912–4918, 1994.
  - 33) Kahaleh MB, Fan PS, Otsuka T. :  $\gamma\delta$  receptor bearing T cells in scleroderma : enhanced interaction with vascular endothelial cells in



- vitro. *Clin Immunol* **91** : 188–195, 1999.
- 34) Fujimoto M, Sato S. : B lymphocytes and systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol* **17** : 746–751, 2005.
- 35) Gruschwitz M, Muller P, Sepp N, Hofer E, Fontana A, Wick G. : Transcription and expression of transforming growth factor type  $\beta$  in the skin of progressive systemic sclerosis : a mediator of fibrosis? *J Invest Dermatol* **94** : 197–203, 1990.
- 36) Gay S, Jones RE, Jr., Huang GQ, Gay RE. : Immunohistologic demonstration of platelet-derived growth factor (PDGF) and sis-oncogene expression in scleroderma. *J Invest Dermatol* **92** : 301–303, 1989.
- 37) Duncan MR, Berman B. : Stimulation of collagen and glycosaminoglycan production in cultured human adult dermal fibroblasts by recombinant human interleukin 6. *J Invest Dermatol* **97** : 686–692, 1991.
- 38) Postlethwaite AE, Holness MA, Katai H, Raghoebar R. : Human fibroblasts synthesize elevated levels of extracellular matrix proteins in response to interleukin 4. *J Clin Invest* **90** : 1479–1485, 1992.
- 39) Wynn TA. : Fibrotic disease and the T (H)1/T (H)2 paradigm. *Nat Rev Immunol* **4** : 583–594, 2004.
- 40) Mavalia C, Scaletti C, Romagnani P, Carossino AM, Pignone A, Emmi L, Pupilli C, Pizzolo G, Maggi E, Romagnani S. : Type 2 helper T-cell predominance and high CD30 expression in systemic sclerosis. *Am J Pathol* **151** : 1751–1758, 1997.
- 41) Atamas SP, Yurovsky VV, Wise R, Wigley FM, Goter Robinson CJ, Henry P, Alms WJ, White B. : Production of type 2 cytokines by CD8<sup>+</sup> lung cells is associated with greater decline in pulmonary function in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* **42** : 1168–1178, 1999.
- 42) Scaletti C, Vultaggio A, Bonifacio S, Emmi L, Torricelli F, Maggi E, Romagnani S, Piccinni MP. : Th2-oriented profile of male offspring T cells present in women with systemic sclerosis and reactive with maternal major histocompatibility complex antigens. *Arthritis Rheum* **46** : 445–450, 2002.
- 43) Chizzolini C, Parel Y, De Luca C, Tyndall A, Akesson A, Scheja A, Dayer JM. : Systemic sclerosis Th2 cells inhibit collagen production by dermal fibroblasts via membrane-associated tumor necrosis factor  $\alpha$ . *Arthritis Rheum* **48** : 2593–2604, 2003.
- 44) Matsushita T, Hasegawa M, Hamaguchi Y, Takehara K, Sato S. : Longitudinal analysis of serum cytokine concentrations in systemic sclerosis : association of interleukin 12 elevation with spontaneous regression of skin sclerosis. *J Rheumatol* **33** : 275–284, 2006.
- 45) Selvan RS, Butterfield JH, Krangel MS. : Expression of multiple chemokine genes by a human mast cell leukemia. *J Biol Chem* **269** : 13893–1398, 1994.
- 46) Ebnet K, Kaldjian EP, Anderson AO, Shaw S. : Orchestrated information transfer underlying leukocyte endothelial interactions. *Annu Rev Immunol* **14** : 155–77, 1996.
- 47) Springer TA. : Traffic signals on endothelium for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration. *Annu Rev Physiol* **57** : 827–872, 1995.
- 48) Butcher EC. : Leukocyte-endothelial cell recognition : three (or more) steps to specificity and diversity. *Cell* **67** : 1033–1036, 1991.
- 49) Sato S. : Abnormalities of adhesion molecules and chemokines in scleroderma. *Curr Opin Rheumatol* **11** : 503–507, 1999.
- 50) Shi-wen X, Panesar M, Vancheeswaran R, Mason J, Haskard D, Black C, Olsen I, Abraham D. : Expression and shedding of intercellular adhesion molecule 1 and lymphocyte function-associated antigen 3 by normal and scleroderma fibroblasts : effects of interferon- $\gamma$ , tumor necrosis factor  $\alpha$ , and estrogen. *Arthritis Rheum* **37** : 1689–1697, 1994.
- 51) Needleman BW. : Increased expression of intercellular adhesion molecule 1 on the fibroblasts of scleroderma patients. *Arthritis Rheum* **33** : 1847–1851, 1990.
- 52) Abraham D, Lupoli S, McWhirter A, Plater-Zyberk C, Piela TH, Korn JH, Olsen I, Black C. : Expression and function of surface antigens on scleroderma fibroblasts. *Arthritis Rheum* **34** : 1164–1172, 1991.
- 53) Kahari VM, Sandberg M, Kalimo H, Vuorio T, Vuorio E. : Identification of fibroblasts responsible for increased collagen production in localized scleroderma by in situ hybridization. *J Invest Dermatol* **90** : 664–670, 1988.
- 54) Piela-Smith TH. : Binding of human rhinovirus and T cells to intercellular adhesion molec-

- ule-1 on human fibroblasts : discordance between effects of IL-1 and IFN- $\gamma$ . *J Immunol* **147** : 1831-1836, 1991.
- 55) Matsushita Y, Hasegawa M, Matsushita T, Fujimoto M, Horikawa M, Fujita T, Kawasuji A, Ogawa F, Steeber DA, Tedder TF, Takehara K, Sato S. : Intercellular adhesion molecule-1 deficiency attenuates the development of skin fibrosis in tight-skin mice. *J Immunol* **179** : 698-707, 2007.
- 56) Luster AD. : Chemokines-chemotactic cytokines that mediate inflammation. *N Eng J Med* **338** : 436-445, 1998.
- 57) Baggiolini M. : Chemokines and leukocyte traffic. *Nature* **392** : 565-568, 1998.
- 58) Baggiolini M, Dewald B, Moser B. : Human chemokines : an update. *Annu Rev Immunol* **15** : 675-705, 1997.
- 59) Gerard C, Rollins BJ. : Chemokines and disease. *Nat Immunol* **2** : 108-115, 2001.
- 60) Atamas SP, White B. : The role of chemokines in the pathogenesis of scleroderma. *Curr Opin Rheumatol* **15** : 772-777, 2003.
- 61) Yamamoto S, Shimizu K, Shimizu K, Suzuki K, Nakagawa Y, Yamamoto T. : Calcium-dependent cystein proteinase (calpain) in human arthritis synovial joints. *Arthritis Rheum* **35** : 1309-1317, 1992.
- 62) Gu L, Tseng S, Horner RM, Tam C, Loda M, Rollins BJ. : Control of TH2 polarization by the chemokine monocyte chemoattractant protein-1. *Nature* **404** : 407-411, 2000.
- 63) Gharaee-Kermani M, Denholm EM, Phan SH. : Costimulation of fibroblast collagen and transforming growth factor  $\beta$ 1 gene expression by monocyte chemoattractant protein-1 via specific receptors. *J Biol Chem* **271** : 17779-17784, 1996.
- 64) Karrer S, Bosserhoff AK, Weiderer P, Distler O, Landthaler M, Szeimies RM, Muller-Ladner U, Scholmerich J, Hellerbrand C. : The -2518 promotor polymorphism in the MCP-1 gene is associated with systemic sclerosis. *J Invest Dermatol* **124** : 92-98, 2005.
- 65) Hasegawa M, Sato S, Takehara K. : Augmented production of chemokines (MCP-1, MIP-1 $\alpha$ , and MIP-1 $\beta$ ) in patients with systemic sclerosis : MCP-1 and MIP-1 $\alpha$  may be involved in the development of pulmonary fibrosis. *Clin Exp Immunol* **117** : 159-165, 1999.
- 66) Denton CP, Shi-Wen X, Sutton A, Abraham DJ, Black CM, Pearson JD. : Scleroderma fibroblasts promote migration of mononuclear leukocytes across endothelial cell monolayers. *Clin Exp Immunol* **114** : 293-300, 1998.
- 67) Galindo M, Santiago B, Rivero M, Rullas J, Alcami J, Pablos JL. : Chemokine expression by systemic sclerosis fibroblasts : abnormal regulation of monocyte chemoattractant protein 1 expression. *Arthritis Rheum* **44** : 1382-1386, 2001.
- 68) Yamamoto T, Eckes B, Krieg T. : High expression and autoinduction of monocyte chemoattractant protein-1 in scleroderma fibroblasts. *Eur J Immunol* **31** : 2936-2941, 2001.
- 69) Yamamoto T, Eckes B, Hartmann K, Krieg T. : Expression of monocyte chemoattractant protein-1 in the lesional skin of systemic sclerosis. *J Dermatol Sci* **26** : 133-139, 2001.
- 70) Distler O, Pap T, Kowal-Bielecka O, Meyringer R, Guiducci S, Landthaler M, Scholmerich J, Michel BA, Gay RE, Matucci-Cerinic M, Gay S, Muller-Ladner U. : Overexpression of monocyte chemoattractant protein 1 in systemic sclerosis : role of platelet-derived growth factor and effects on monocyte chemotaxis and collagen synthesis. *Arthritis Rheum* **44** : 2665-2678, 2001.
- 71) Distler JH, Jungel A, Caretto D, Schulze-Horsel U, Kowal-Bielecka O, Gay RE, Michel BA, Muller-Ladner U, Kalden JR, Gay S, Distler O. : Monocyte chemoattractant protein 1 released from glycosaminoglycans mediates its profibrotic effects in systemic sclerosis via the release of interleukin-4 from T cells. *Arthritis Rheum* **54** : 214-225, 2006.
- 72) Carulli MT, Ong VH, Ponticos M, Shiwen X, Abraham DJ, Black CM, Denton CP. : Chemokine receptor CCR2 expression by systemic sclerosis fibroblasts : evidence for autocrine regulation of myofibroblast differentiation. *Arthritis Rheum* **52** : 3772-3782, 2005.
- 73) Yamamoto T, Nishioka K. : Role of monocyte chemoattractant protein-1 and its receptor, CCR-2, in the pathogenesis of bleomycin-induced scleroderma. *J Invest Dermatol* **121** : 510-516, 2003.
- 74) Luzina IG, Atamas SP, Wise R, Wigley FM, Xiao HQ, White B. : Gene expression in bronchoalveolar lavage cells from scleroderma patients. *Am J Respir Cell Mol Biol* **26** : 549-

- 57, 2002.
- 75) Yamamoto T, Katayama I, Nishioka K. : Expression of stem cell factor in the lesional skin of systemic sclerosis. *Dermatology* **197** : 109–114, 1998.
- 76) Kihira C, Mizutani H, Asahi K, Hamanaka H, Shimizu M. : Increased cutaneous immunoreactive stem cell factor expression and serum stem cell factor level in systemic scleroderma. *J Dermatol Sci* **20** : 72–78, 1998.
- 77) Yamamoto T, Hartmann K, Eckes B, Krieg T. : Role of stem cell factor and monocyte chemoattractant protein-1 in the interaction between fibroblasts and mast cells in fibrosis. *J Dermatol Sci* **26** : 106–111, 2001.
- 78) Baghestanian M, Hofbauer R, Kiener HP, Bankl HC, Wimazal F, Willheim M, Scheiner O, Fureder W, Muller MR, Bevec D, Lechner K, Valent P. : The c-kit ligand stem cell factor and anti-IgE promote expression of monocyte chemoattractant protein-1 in human lung mast cells. *Blood* **90** : 4438–4449, 1997.
- 79) Zhang Y, McCormick LL, Desai SR, Wu C, Gilliam AC. : Murine sclerodermatous graft-versus-host disease, a model for human scleroderma : cutaneous cytokines, chemokines, and immune cell activation. *J Immunol* **168** : 3088–3098, 2002.
- 80) Zhang K, Gharaee-Kermani M, Jones ML, Warren JS, Phan SH. : Lung monocyte chemoattractant protein-1 gene expression in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *J Immunol* **153** : 4733–4741, 1994.
- 81) Inoshima I, Kuwano K, Hamada N, Hagimoto N, Yoshimi M, Maeyama T, Takeshita A, Kitamoto S, Egashira K, Hara N. : Anti-monocyte chemoattractant protein-1 gene therapy attenuates pulmonary fibrosis in mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* **286** : L1038–L1044, 2004.
- 82) Moore BB, Paine R, 3rd, Christensen PJ, Moore TA, Sitterding S, Ngan R, Wilke CA, Kuziel WA, Toews GB. : Protection from pulmonary fibrosis in the absence of CCR2 signaling. *J Immunol* **167** : 4368–4377, 2001.
- 83) Okuma T, Terasaki Y, Kaikita K, Kobayashi H, Kuziel WA, Kawasuji M, Takeya M. : C-C chemokine receptor 2 (CCR2) deficiency improves bleomycin-induced pulmonary fibrosis by attenuation of both macrophage infiltration and production of macrophage-derived matrix metalloproteinases. *J Pathol* **204** : 594–604, 2004.
- 84) Gharaee-Kermani M, McCullumsmith RE, Charo IF, Kunkel SL, Phan SH. : CC-chemokine receptor 2 required for bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Cytokine* **24** : 266–276, 2003.
- 85) Shinozaki M, Kawara S, Hayashi N, Kakinuma T, Igarashi A, Takehara K. : 1997. Induction of subcutaneous tissue fibrosis in newborn mice by transforming growth factor- $\beta$ —simultaneous application with basic fibroblast growth factor causes persistent fibrosis. *Biochem Biophys Res Commun* **237** : 292–297, 1997.
- 86) Mori T, Kawara S, Shinozaki M, Hayashi N, Kakinuma T, Igarashi A, Takigawa M, Nakanishi T, Takehara K. : Role and interaction of connective tissue growth factor with transforming growth factor- $\beta$  in persistent fibrosis : a mouse fibrosis model. *J Cell Physiol* **181** : 153–159, 1999.
- 87) Chujo S, Shirasaki F, Kawara S, Inagaki Y, Kinbara T, Inaoki M, Takigawa M, Takehara K. : Connective tissue growth factor causes persistent pro $\alpha$ 2 (I) collagen gene expression induced by transforming growth factor- $\beta$  in a mouse fibrosis model. *J Cell Physiol* **203** : 447–456, 2005.
- 88) Bolster MB, Ludwicka A, Sutherland SE, Strange C, Silver RM. : Cytokine concentrations in bronchoalveolar lavage fluid of patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* **40** : 746–751, 1997.
- 89) Distler O, Rinkes B, Hohenleutner U, Scholmerich J, Landthaler M, Lang B, Gay S, Muller-Ladner U. : Expression of RANTES in biopsies of skin and upper gastrointestinal tract from patients with systemic sclerosis. *Rheumatol Int* **19** : 39–46, 1999.
- 90) Anderegg U, Saalbach A, Hausteiner UF. : 2000. Chemokine release from activated human dermal microvascular endothelial cells—implications for the pathophysiology of scleroderma? *Arch Dermatol Res* **292** : 341–347, 2000.
- 91) Oshima M, Maeda A, Ishioka S, Hiyama K, Yamakido M. : Expression of C-C chemokines in bronchoalveolar lavage cells from patients with granulomatous lung diseases. *Lung* **177** : 229–240, 1999.

- 92) Lee EB, Zhao J, Kim JY, Xiong M, Song YW. : Evidence of potential interaction of chemokine genes in susceptibility to systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* **56** : 2443–2448, 2007.
- 93) Hieshima K, Imai T, Baba M, Shoudai K, Ishizuka K, Nakagawa T, Tsuruta J, Takeya M, Sakaki Y, Takatsuki K, Miura R, Opdenakker G, Van Damme J, Yoshie O, Nomiyama H. : A novel human CC chemokine PARC that is most homologous to macrophage-inflammatory protein-1  $\alpha$ /LD78  $\alpha$  and chemotactic for T lymphocytes, but not for monocytes. *J Immunol* **159** : 1140–1149, 1997.
- 94) Kodera M, Hasegawa M, Komura K, Yanaba K, Takehara K, Sato S. : Serum pulmonary and activation-regulated chemokine/CCL18 levels in patients with systemic sclerosis : a sensitive indicator of active pulmonary fibrosis. *Arthritis Rheum* **52** : 2889–2896, 2005.
- 95) Pardo A, Smith KM, Abrams J, Coffman R, Bustos M, McClanahan TK, Grein J, Murphy EE, Zlotnik A, Selman M. : CCL18/DC-CK-1/PARC up-regulation in hypersensitivity pneumonitis. *J Leukoc Biol* **70** : 610–616, 2001.
- 96) Zou J, Young S, Zhu F, Gheyas F, Skeans S, Wan Y, Wang L, Ding W, Billah M, McClanahan T, Coffman RL, Egan R, Umland S. : Microarray profile of differentially expressed genes in a monkey model of allergic asthma. *Genome Biol* **3** : research0020, 2002.
- 97) Mrazek F, Sekerova V, Drabek J, Kolek V, du Bois RM, Petrek M. : Expression of the chemokine PARC mRNA in bronchoalveolar cells of patients with sarcoidosis. *Immunol Lett* **84** : 17–22, 2002.
- 98) Prasse A, Pechkovsky DV, Toews GB, Schafer M, Eggeling S, Ludwig C, Germann M, Kollert F, Zissel G, Muller-Quernheim J. : CCL18 as an indicator of pulmonary fibrotic activity in idiopathic interstitial pneumonias and systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* **56** : 1685–1693, 2007.
- 99) Atamas SP, Luzina IG, Choi J, Tsymbalyuk N, Carbonetti NH, Singh IS, Trojanowska M, Jimenez SA, White B. : Pulmonary and activation-regulated chemokine stimulates collagen production in lung fibroblasts. *Am J Respir Cell Mol Biol* **29** : 743–749, 2003.
- 100) Yanaba K, Komura K, Kodera M, Matsushita T, Hasegawa M, Takehara K, Sato S. : Serum levels of monocyte chemotactic protein-3/CCL7 are raised in patients with systemic sclerosis : association with extent of skin sclerosis and severity of pulmonary fibrosis. *Ann Rheum Dis* **65** : 124–126, 2006.
- 101) Ong VH, Evans LA, Shiwen X, Fisher IB, Rajkumar V, Abraham DJ, Black CM, Denton CP. : Monocyte chemoattractant protein 3 as a mediator of fibrosis : Overexpression in systemic sclerosis and the type 1 tight-skin mouse. *Arthritis Rheum* **48** : 1979–1991, 2003.
- 102) Hayakawa I, Hasegawa M, Matsushita T, Yanaba K, Kodera M, Komura K, Takehara K, Sato S. : Increased cutaneous T-cell-attracting chemokine levels in sera from patients with systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* **44** : 873–878, 2005.
- 103) Fujii H, Shimada Y, Hasegawa M, Takehara K, Sato S. : Serum levels of a Th1 chemoattractant IP-10 and Th2 chemoattractants, TARC and MDC, are elevated in patients with systemic sclerosis. *J Dermatol Sci* **35** : 43–51, 2004.
- 104) Belperio JA, Dy M, Murray L, Burdick MD, Xue YY, Strieter RM, Keane MP. : The role of the Th2 CC chemokine ligand CCL17 in pulmonary fibrosis. *J Immunol* **173** : 4692–4698, 2004.
- 105) Clark-Lewis I, Schumacher C, Baggiolini M, Moser B. : Structure-activity relationships of interleukin-8 determined using chemically synthesized analogs. Critical role of NH<sub>2</sub>-terminal residues and evidence for uncoupling of neutrophil chemotaxis, exocytosis, and receptor binding activities. *J Biol Chem* **266** : 23128–23134, 1991.
- 106) Renzoni E, Lympany P, Sestini P, Pantelidis P, Wells A, Black C, Welsh K, Bunn C, Knight C, Foley P, du Bois RM. : Distribution of novel polymorphisms of the interleukin-8 and CXC receptor 1 and 2 genes in systemic sclerosis and cryptogenic fibrosing alveolitis. *Arthritis Rheum* **43** : 1633–1640, 2000.
- 107) Furuse S, Fujii H, Kaburagi Y, Fujimoto M, Hasegawa M, Takehara K, Sato S. : 2003. Serum concentrations of the CXC chemokines interleukin 8 and growth-regulated oncogene- $\alpha$  are elevated in patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol* **30** : 1524–1528, 2003.

- 108) Koch AE, Kronfeld-Harrington LB, Szekanecz Z, Cho MM, Haines GK, Harlow LA, Strieter RM, Kunkel SL, Massa MC, Barr WG, Jimenez SA. : In situ expression of cytokines and cellular adhesion molecules in the skin of patients with systemic sclerosis. *Pathobiology* **61** : 239–246, 1993.
- 109) Kadono T, Kikuchi K, Ihn H, Takehara K, Tamaki K. : Increased production of interleukin 6 and interleukin 8 in scleroderma fibroblasts. *J Rheumatol* **25** : 296–301, 1998.
- 110) Keane MP, Arenberg DA, Lynch JP, 3rd, Whyte RI, Iannettoni MD, Burdick MD, Wilke CA, Morris SB, Glass MC, DiGiovine B, Kunkel SL, Strieter RM. : The CXC chemokines, IL-8 and IP-10, regulate angiogenic activity in idiopathic pulmonary fibrosis. *J Immunol* **159** : 1437–1443, 1997.
- 111) Pantelidis P, Southcott AM, Black CM, Du Bois RM. : Up-regulation of IL-8 secretion by alveolar macrophages from patients with fibrosing alveolitis : a subpopulation analysis. *Clin Exp Immunol* **108** : 95–104, 1997.
- 112) Ludwicka-Bradley A, Tourkina E, Suzuki S, Tyson E, Bonner M, Fenton JW, 2nd, Hoffman S, Silver RM. : Thrombin upregulates interleukin-8 in lung fibroblasts via cleavage of proteolytically activated receptor-I and protein kinase C- $\gamma$  activation. *Am J Respir Cell Mol Biol* **22** : 235–243, 2000.
- 113) Burdick MD, Murray LA, Keane MP, Xue YY, Zisman DA, Belperio JA, Strieter RM. : CXCL11 attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis via inhibition of vascular remodeling. *Am J Respir Crit Care Med* **171** : 261–268, 2005.
- 114) Jiang D, Liang J, Hodge J, Lu B, Zhu Z, Yu S, Fan J, Gao Y, Yin Z, Homer R, Gerard C, Noble PW. : Regulation of pulmonary fibrosis by chemokine receptor CXCR3. *J Clin Invest* **114** : 291–299, 2004.
- 115) Cipriani P, Franca Milia A, Liakouli V, Pacini A, Manetti M, Marrelli A, Toscano A, Pingiotti E, Fulminis A, Guiducci S, Perricone R, Kahaleh B, Matucci-Cerinic M, Ibba-Maneschi L, Giacomelli R. : Differential expression of stromal cell-derived factor 1 and its receptor CXCR4 in the skin and endothelial cells of systemic sclerosis patients : Pathogenetic implications. *Arthritis Rheum* **54** : 3022–3033, 2006.
- 116) Hasegawa M, Sato S, Echigo T, Hamaguchi Y, Yasui M, Takehara K. : Up regulated expression of fractalkine/CX3CL1 and CX3CR1 in patients with systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* **64** : 21–28, 2005.
- 117) Bucala R, Spiegel LA, Chesney J, Hogan M, Cerami A. : Circulating fibrocytes define a new leukocyte subpopulation that mediates tissue repair. *Mol Med* **1** : 71–81, 1994.
- 118) Phillips RJ, Burdick MD, Hong K, Lutz MA, Murray LA, Xue YY, Belperio JA, Keane MP, Strieter RM. : Circulating fibrocytes traffic to the lungs in response to CXCL12 and mediate fibrosis. *J Clin Invest* **114** : 438–46, 2004.
- 119) Moore BB, Murray L, Das A, Wilke CA, Herrygers AB, Toews GB. : The role of CCL12 in the recruitment of fibrocytes and lung fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* **35** : 175–181, 2006.
- 120) Strieter RM, Gomperts BN, Keane MP. : The role of CXC chemokines in pulmonary fibrosis. *J Clin Invest* **117** : 549–556, 2007.
- 121) Abe R, Donnelly SC, Peng T, Bucala R, Metz CN. : Peripheral blood fibrocytes : differentiation pathway and migration to wound sites. *J Immunol* **166** : 7556–7562, 2001.
- 122) Quan TE, Cowper S, Wu SP, Bockenstedt LK, Bucala R. : Circulating fibrocytes : collagen-secreting cells of the peripheral blood. *Int J Biochem Cell Biol* **36** : 598–606, 2004.
- 123) Moore BB, Ballinger MN, White ES, Green ME, Herrygers AB, Wilke CA, Toews GB, Peters-Golden M. : Bleomycin-induced E prostanoïd receptor changes alter fibroblast responses to prostaglandin E2. *J Immunol* **174** : 5644–5649, 2005.
- 124) Moore BB, Kolodnick JE, Thannickal VJ, Cooke K, Moore TA, Hogaboam C, Wilke CA, Toews GB. : CCR2-mediated recruitment of fibrocytes to the alveolar space after fibrotic injury. *Am J Pathol* **166** : 675–684, 2005.
- 125) Ishida Y, Kimura A, Kondo T, Hayashi T, Ueno M, Takakura N, Matsushima K, Mukaida N. : Essential roles of the CC chemokine ligand 3-CC chemokine receptor 5 axis in bleomycin-induced pulmonary fibrosis through regulation of macrophage and fibrocyte infiltration. *Am J Pathol* **170** : 843–854, 2007.
- 126) Sakai N, Wada T, Yokoyama H, Lipp M, Ueha S, Matsushima K, Kaneko S. : Secondary lymphoid tissue chemokine (SLC/CCL21) /

- CCR7 signaling regulates fibrocytes in renal fibrosis. *Proc Natl Acad Sci USA* **103** : 14098–14103, 2006.
- 127) Frangogiannis NG. : Chemokines in ischemia and reperfusion. *Thromb Haemost* **97** : 738–747, 2007.
- 128) McKee CM, Penno MB, Cowman M, Burdick MD, Strieter RM, Bao C, Noble PW. : Hyaluronan (HA) fragments induce chemokine gene expression in alveolar macrophages. The role of HA size and CD44. *J Clin Invest* **98** : 2403–2413, 1996.
- 129) Taylor KR, Trowbridge JM, Rudisill JA, Termeer CC, Simon JC, Gallo RL. : Hyaluronan fragments stimulate endothelial recognition of injury through TLR4. *J Biol Chem* **279** : 17079–17084, 2004.
- 130) Haringman JJ, Gerlag DM, Smeets TJ, Baeten D, van den Bosch F, Bresnihan B, Breedveld FC, Dinant HJ, Legay F, Gram H, Loetscher P, Schmouder R, Woodworth T, Tak PP. : A randomized controlled trial with an anti-CCL2 (anti-monocyte chemoattractant protein 1) monoclonal antibody in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* **54** : 2387–2392, 2006