

## 아토피 피부염 환자에서 집먼지 진드기 항원에 대한 랑게르한스 세포의 항원전달능력

유정환<sup>1</sup> · 최현주<sup>1,2</sup> · 이민걸<sup>1</sup> · 이광훈<sup>1,2</sup>

연세대학교 의과대학 피부과학교실<sup>1</sup>, 알레르기 연구소<sup>2</sup>

### Antigen Presenting Ability of Langerhans' Cells for House Dust Mite Antigen in Patients with Atopic Dermatitis

Jung Hoan Yoo<sup>1</sup>, Hyun-Joo Choi<sup>1,2</sup>, Min-Geol Lee<sup>1</sup>, and Kwang Hoon Lee<sup>1,2</sup>

*Department of Dermatology<sup>1</sup>, Institute of Allergy<sup>2</sup>,  
 Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea*

We studied the role of Langerhans' cells in the pathogenesis of atopic dermatitis. First, the skin specimens were obtained by shaving biopsy in lesional and non-lesional skin from the 18 atopic patients. To analyze the presence of IgE+ and CD1a+ cells, immunohistochemical staining of specimens and flow cytometry analysis of the Langerhans' cell-enriched suspension were done. Second, patient's peripheral T lymphocytes were co-cultured with Langerhans' cell-enriched suspension for the T lymphocyte proliferation test. Patient's eosinophil count, serum total IgE, serum house dust mite specific IgE were measured, and clinical evaluation grade was evaluated to find out the relationship between the T lymphocyte proliferation test and these parameters. Third, we compared the antigen presenting ability of Langerhans' cells using either house dust mite antigen or Candida albicans antigen. The results are as follows.

1. The CD1a+ and IgE+ cells were more frequently observed in lesional skin than non-lesional skin. The flow cytometry results revealed that CD1a+ and IgE+ cells were more abundant from lesional skin than non-lesional skin.
2. The PI (proliferation index) of the proliferation response of lesional Langerhans' cells was higher than that of non-lesional Langerhans' cells.
3. The PI of the proliferation response of Langerhans' cells of patients with a high blood eosinophil level (%) was significantly higher than that of patients with a low blood eosinophil level.
4. The PI of the proliferation response of patient's Langerhans' cells with house dust mite antigen was significantly higher than that of patient's Langerhans' cells with C. albicans antigen.

These results might suggest that the Langerhans' cells activated by a certain allergen existed in the skin of atopic dermatitis patient and they were able to provoke the immune response by activating T lymphocytes.

**Key words :** Atopic dermatitis, Langerhans' cell, T lymphocyte proliferation, IgE, House dust mite

\ 본 연구는 1997년도 보건의료기술 연구개발사업의 지원에 의해 이루어진 것임.

\ 본 논문은 1998년도 대한천식 및 알레르기학회 춘계학술대회에서 발표되었음.

저자연락처 : 이 광 훈, (120-752) 서울시 서대문구 신촌동 134, 연세대학교 의과대학 피부과학교실, Tel. (02) 361-5720 / Fax. (02) 393-9157

## 서 론

아토피 피부염은 전체 인구의 10-20%에서 발병되는 만성 재발성 알레르기성 습진성 피부질환으로 현재도 유병률이 증가하고 있으며<sup>1,2</sup>, 장기간의 치료에 따른 부작용 및 사회에 대한 적응도가 문제가 되고 있다.

아토피 피부염의 병인에 집먼지 진드기 등의 공중 알레르겐의 역할에 대해서는 아직도 논란이 많다. 즉 알레르겐에 대한 피부단자 검사 혹은 알레르겐 특이 IgE 검사 등의 즉시형 면역반응의 성적과 아토피 피부염의 임상증상간에 관련이 없을 때가 많으며, 아토피 피부염의 피부증상은 습진성 병변으로 피부반응 검사에서 나타나는 홍반이나 팽진과는 차이가 있다는 보고<sup>3</sup>도 있으나, 원인 알레르겐을 회피하거나 환경을 변화시키면 증상이 호전되고, 집먼지 진드기 항원으로 첨포시험을 시행하면 습진성 병변을 유도할 수 있으며, 집먼지 진드기 항원에 양성반응을 보인 환자에서 집먼지 진드기 항원을 회피하면 피부증상이 호전된다는 보고가 많다<sup>4-6</sup>. 대부분의 학자들은, 모든 환자는 아닐지라도, 아토피 피부염 환자 중에는 지속적으로 알레르겐에 노출되어 피부염이 유발되거나 악화, 재발 및 만성화되는 환자군이 분명히 있다는 사실에 공감하고 있다.

많은 음식 및 환경 알레르겐 중에서 집먼지 진드기 항원은 피부단자 검사상 아토피 피부염 환자의 약 60% 이상에서 양성 반응을 보이며<sup>7</sup>, 대부분의 환자에서 집먼지 진드기 항원 특이 IgE 항체가 발견되고<sup>9</sup>, 집먼지 진드기에 노출된 양과 병의 발생빈도간에 상관성이 보고되었으며<sup>10</sup>, 중등도 이상의 아토피 피부염 환자의 가정에서 정상대조군의 가정보다 집먼지 진드기의 수가 많은 것으로 보고된 바 있다<sup>11</sup>. 또한 집먼지 진드기 항원에 감작되어 있는 환자에게 집먼지 진드기 항원-항체 복합체를 이용한 탈감작 면역 치료로 효과를 보았다는 보고도 있다<sup>12,13</sup>.

아토피 피부염 환자들의 80% 이상에서 혈청 IgE치가 증가되어 있으며, 이 수치는 대체적으로 아토피 피부염의 임상적 중증도와 비례한다<sup>14</sup>. 즉 IgE는 아토피 피부염의 발병 기전과 밀접한 상관관계가 있을 것으로 생각되고 있으며, 혈청 IgE치의 증가는 특정 T 림프구 클론의 활성화에 기인하는 것으로 알려져 있다. 즉 CD4 양성 T 세포들 중에서 Th2 세포가 B 세포로부터 IgE의 생성을 유도하는 IL-4, IgE 생성을 촉진하는 IL-5, IgE생성을 증폭시키는 IL-6 등을 분비하는데, 아토피 피부염 환자의 말초혈액 및 병변피부로부터 분리한 T 세포 클론은 Th2 세포와 동일한 사이토카인 종류를 분비하는 것으로 확인되었다<sup>14-20</sup>.

그러나 아토피 피부염 환자에서 환경 알레르겐에 노출시,

특히 알레르겐의 피부 접촉 시 어떤 기전에 의해 피부병변이 유발되는지, 또한 IgE가 어떻게 관여하는지에 대해서는 명확히 밝혀져 있지 않다. 아토피 피부염 환자의 병변피부로부터 집먼지 진드기 알레르겐 특이 T 세포 클론이 분리되었으며, 말초혈액에 비해 병변피부에서 훨씬 높은 빈도로 분리되었다<sup>6</sup>. 이러한 결과는 알레르겐이 침투한 부위에 국소 면역반응이 관여하여 피부병변이 유발될 수 있음을 시사하는 소견이다. 표피의 랑게르ハン스 세포표면에 IgE-유착 수용체의 존재가 확인되면서, 아토피 피부염의 병인에서 피부로 침투한 항원의 전달과정과 IgE 중개성 면역반응의 유발요소로서 피부 및 점막에 위치한 랑게르ハン스 세포의 중요성이 대두되고 있다<sup>21-26</sup>. 아토피 피부염 환자에서 병변 내 표피 및 진피 항원전달세포는 정상피부의 항원전달세포에서는 발현되지 않는 CD1b와 CD36 분자를 발현하여 활성화되어 있으며, 동일환자의 정상피부에 비해 수적으로도 증가되어 있다는 보고가 있다<sup>27</sup>.

아토피 피부염의 병인에 관한 연구로서 집먼지 진드기 항원에 대한 세포매개성 면역반응에 관여하는 랑게르ハン스 세포의 역할을 규명하고자 본 연구에서는 1997년 10월부터 1998년 2월까지 세브란스병원 알레르기 클리닉에 내원하여 아토피 피부염으로 진단된 18명의 환자를 대상으로 다음과 같은 실험을 시행하였다. 첫째, 아토피 피부염 환자의 정상 피부와 병변피부로부터 조직 생검 후 면역조직화학 검사와 면역형광 유량 세포분석 (immunofluorescence flow cytometry)을 시행하여 IgE 부착 랑게르ハン스 세포를 분석하였다. 둘째, 정상피부와 병변피부로부터 분리한 랑게르ハン스 세포를 환자의 말초혈액 T 림프구에 첨가한 후 T 림프구의 증식 반응을 비교하였으며, 혈액내 호산구 수, 혈청 내 총 IgE 및 집먼지 진드기 항원 특이 IgE 등을 측정하여 증식반응과의 연관성이 여부를 분석하였다. 셋째, 항원의 특이성을 알아보기 위해 집먼지 진드기 항원과 *Candida albicans* 항원으로 T 림프구 증식반응실험을 시행하여 병변부위의 랑게르ハン스 세포의 항원전달능력을 비교하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 연구 대상

1997년 10월부터 1998년 2월까지 연세대학교 의과대학부속 세브란스병원 알레르기 특수 진료소에 내원하여 Hanifin 및 Rajka의 기준<sup>28</sup>에 따라 진단된 아토피 피부염 환자 중 집먼지 진드기 항원에 대한 즉시형 피부반응 검사 및 혈청 특이 IgE RAST검사 (BioWhittaker Inc., Walkersville, MD, U.S.A.)에 양성을 보인 환자 18명을 대상으로 하였다.

## 2. 방법

### 1) 임상적 평가

모든 환자의 주관적인 증상의 중증도는 Rajka 및 Langeland의 기준<sup>29</sup>에 따라 병변의 침범 정도, 연중 증상이 지속되는 기간과 소양증의 정도에 따라 경증, 중등도, 중증으로 분류하였고, 임상증상의 객관적인 평가는 홍반, 찰상, 태선화, 인설과 소양증 정도를 병변의 정도에 따라 0에서 3까지 4단계로 나누어 평가하였다.

### 2) 표피 CD1a 양성 세포 및 IgE 양성 세포에 대한 면역조직화학염색

아세톤으로 고정시킨 냉동절편을 과산화수소수와 메틸알콜로 구성된 peroxidase quenching 용액에 10분간 잠기게 한 후 PBS로 3회 세척하였다. 각 절편에 비특이성 염색 반응을 억제시키기 위해 10% non-immune goat 혈청을 2방울씩 가하고 10분간 작용시킨 다음 남은 용액을 여과지로 제거하였다. 첫번째 1차 항체인 mouse anti-human IgE (일본의 Sagamihara 병원의 Hiroshi Yasueda 박사 제공)를 100μl 가하고 30분간 반응시킨 다음 0.05% tween-20이 함유된 PBS (T-PBS)로 3회 세척하였다. Biotin이 붙어있는 100μl의 2차 항체(goat anti-mouse IgG)를 가하고 10분간 반응시킨 후, 0.05% T-PBS로 3회 세척하였다. 100 μl의 streptavidin alkaline phosphatase (Zymed Laboratories Inc., San Francisco, CA, U.S.A.)를 가하고 10분간 반응시킨 다음 T-PBS로 3회 세척하였다. 발색기질로 100 μl의 BCIP/NBT 혼합용액을 가하고 5~10분간 반응시킨 다음 현미경하에서 적당한 발색을 확인 후 T-PBS로 3회 세척하였다. 100 μl의 이중 염색촉진시약을 가하고 30분간 반응시킨 다음 증류수로 세척한 후, T-PBS로 3회 세척하였다. 다시 각 절편에 혈청 봉쇄 용액을 2방울씩 가하고 10분간 작용시킨 다음 남은 용액을 여과지로 제거하였다. 두 번째 1차 항체인 rat anti-human CD1a (Biosource Co., Camarillo, CA, U.S.A.)를 100 μl씩 가하고 30분간 반응시키고 T-PBS로 3회 세척하였다. Biotin이 부착된 2차 항체(goat anti-rat IgG) 100 μl를 가하고 10분간 반응시킨 다음 T-PBS로 3회 세척하였다. 100 μl의 streptavidin peroxidase (Zymed)를 가하고 10분간 반응시킨 다음 PBS로 3회 세척하였다. 두 번째 발색기질로 3-amino-9-ethylcarbazole (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, U.S.A.)용액을 100μl씩 가하고 5~10분간 반응시킨 다음 현미경하에서 적당한 발색을 확인 후 T-PBS로 세척하였다. Mayer hematoxylin으로 대조 염색 후 광학현미경으로 관찰하였다.

### 3) 랑게르ハン스 세포가 풍부한 표피세포 부유액 준비

아토피 피부염 환자의 정상피부와 병변부위를 표층 생검하여 표피세포를 준비하였다. 랑게르ハン스 세포가 풍부한 표피세포 부유액(랑게르ハン스 세포 부유액)을 다음과 같은 종전의 방법<sup>21,30,31</sup>에 따라 준비하였다.

피부절편을 Hank's balanced salt solution (HBSS)으로 2회 세척한 후 0.3% trypsin 용액으로 37℃에서 30분간 처리하여 진피로부터 표피를 분리하였다. 분리된 표피를 0.025% DNase와 10% 비활성화한 우태아혈청이 함유된 HBSS에서 5분간 반응시켜 단일세포로 분리한 후 망사로 걸러서 단일 세포 부유액을 얻었다. 이 부유액을 1500 rpm에서 5분간 원심분리한 후 침전된 세포를 얻어 HBSS로 2회 세척하였다. RPMI배지 (Gibco, Grand Island, NY, U.S.A.)가 담긴 배양 용기에서 24시간 배양한 후 세포 부유액을 조심스럽게 수집하여 섬유모세포와 각질형성세포를 제거하고 랑게르ハン스 세포가 포함된 부유액을 얻었다. 이렇게 얻어진 랑게르ハン스 세포가 포함된 부유액을 Ficoll Hypaque 밀도구배법으로 원심분리하여 랑게르ハン스 세포 부유액을 준비한 후 RPMI배지로 세척하고 trypan blue로 염색한 후 혈구측정계로 세포 수와 생존율을 측정하였다.

### 4) 면역형광 유량 세포분석

분리된 랑게르ハン스 세포 부유액의 세포들을 HBSS로 3회 세척한 후 항체 염색을 위해 각 시험관으로 분주하였다. 0.5% BSA가 함유된 PBS (BSA-PBS)로 적절히 희석한 단클론항체 rat anti-human CD1a 또는, mouse anti-human IgE를 각 시험관에 10 μl씩 넣은 후 얼음속에서 30분간 반응시킨 다음 BSA-PBS로 3회 세척 후 BSA-PBS를 이용하여 1:20으로 희석한 FITC-conjugated goat anti-rat IgG (Fab)'2 (Sigma) 또는 FITC-conjugated goat anti-mouse IgG (Fab)'2 (Sigma)를 넣고 30분간 반응시켰다. BSA-PBS로 다시 3회 세척한 후 fluorescence activating cell sorter (FACStar, Beckton-Dickinson, Lincoln, NJ, U.S.A.)를 이용하여 랑게르ハン스 세포 표면의 CD1a 및 IgE의 발현양상을 측정하였다. 죽은 세포는 propidium iodide (Sigma)로 처리하였다.

### 5) 말초혈액 T 림프구의 분리

아토피 피부염 환자의 혈액을 채취하여 heparin을 처리하고 다음의 과정을 무균상태에서 실시하였다. 비중이 1.077되는 Ficoll Hypaque (Sigma)용액을 15 ml 튜브에 7 ml 씩 각각 분주한 후 그 위에 HBSS와 1:1로 잘 혼합된 7 ml의 혈액을 벽면을 따라 천천히 중첩시켰다. 이 혼합액을

2800 rpm으로 20분간 원심분리하여 단핵세포층만을 취해 100 U/ml의 penicillin, 100 µg/ml의 streptomycin, 2 mM의 L-glutamine (Gibco)이 함유된 RPMI 1640 배양배지에 옮긴 후 1800 rpm으로 10분간 원심분리하여 상청액을 버리고 다시 RPMI 1640 배양배지를 넣어 1500 rpm으로 10분간 위의 과정을 반복하여 말초혈액 단핵세포들을 분리하였다.

T 림프구 분리는 nylon wool 방법을 사용해서 시행하였다. 0.05g의 nylon wool (FT 242, Fenwal Laboratories, Morton Grove, IL, U.S.A.)과 지름 0.7 mm의 유리 column을 EO가스로 멸균하여 nylon wool column을 만들었다. 사용하기 전에 column을 20% 우태아 혈청이 함유된 RPMI 1640 배지로 세척한 후, 단핵세포들을 nylon column에 채워넣은 후 37°C에서 30분간 배양한 다음 column을 세워 빠져나오는 T 림프구들을 수집한 후 세포 수를 측정하여  $10^6/\text{ml}$ 이 되도록 하였다.

#### 6) 표피 랑게르한스 세포에 의한 T 림프구의 증식반응

랑게르한스 세포에 의한 T 림프구의 증식반응 실험을 2개의 군으로 나누어 시행하였다. 제1군은 환자의 말초혈액 T 림프구에 환자의 병변피부 내 랑게르한스 세포를 처리한 군이고, 제2군은 환자의 말초혈액 T 림프구에 환자의 정상 피부 랑게르한스 세포를 처리한 군이다.

아토피 피부염 환자로부터 분리한  $1 \times 10^6/\text{ml}$ 의 T 림프구를 96 well 배양판 (Corning, NY, U.S.A.)에 각 well당 50 µl씩 분주하고 환자의 정상피부 및 병변피부에서 분리한  $3 \times 10^3$ 개의 세포가 포함된 랑게르한스 세포 부유액 50 µl씩을 넣은 후 20% 우태아 혈청이 함유된 100 µl의 RPMI 1640 배양액을 첨가해 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 항온 배양기에서 7일간 배양한 후 <sup>3</sup>H-thymidine (Du Pont Co., Washington, DE, U.S.A.)을 각 well에 1 µCi씩 첨가하고 18시간 배양 후 배양세포를 세포 수확기 (Titertek® Cell Harvester 550, Flow Laboratories, Irvine, Scotland, U.K.)를 이용하여 세포 수확기 여과지에 흡착시켜 전조시킨 다음, 3 ml의 scintillation cocktail 용액에 넣고 scintillation beta counter (TL 5000S, Beckman Instrument Inc., Fullerton, CA, U.S.A.)에서 방사선량을 측정하였다. 증식반응의 정도는 다음과 같은 증식지수로 평가하였다<sup>27,30</sup>.

#### T 림프구 증식지수=

랑게르한스 세포에 의한 T 림프구 증식반응 방사선량

T 림프구의 증식반응 방사선량

상기의 랑게르한스 세포에 의한 T 림프구 증식반응이 집먼지 진드기 항원 특이성으로 일어나는지를 알아보기 위해

다음의 실험을 시행하였다. 독일 Allergopharma사의 동결건조된 D. farinae 항원을 생리식염수에 50 µg/ml의 농도로 희석하여 준비한 후 랑게르한스 세포 부유액 50 µl에 10 µl씩 첨가하여 1시간 배양하였다. 대조군으로 C. albicans 항원을 같은 농도와 부피로 처리하였다. 항원을 처리한 랑게르한스 세포 부유액을 이용하여 상기와 동일한 방법으로 T 림프구 증식반응을 분석하였다.

#### 7) T 림프구 증식반응 후의 배양 상청액내 IL-4의 측정

IL-4의 측정은 Endogen사 (Cambridge, MA, U.S.A.)의 Human ELISA IL-4 kit®를 이용하여 시행하였다. IL-4에 대한 단클론 항체가 부착된 조직 배양용기에 biotin 처리된 항체 반응 시약 50 µl씩을 각 well에 가하고, 표준용액 또는 표피 랑게르한스 세포와 같이 배양한 T 세포 배양 상청액을 각각 50 µl씩 가한 다음 실온에서 2시간 반응시킨 후 3회 세척하였다. 100 µl의 streptavidin-horseradish peroxidase 용액을 가한 후 실온에서 30분간 배양한 다음 3회 세척하였다. 기질로서 100 µl의 tetramethylbenzidine을 가한 후 암실에서 30분간 반응시켰다. 반응정지용액 100 µl를 가하여 반응을 중지시키고 ELISA 판독기로 450 nm에서 각 well의 광학밀도를 측정하였다. 농도를 알고 있는 표준용액의 광학밀도와 농도를 log/log 값으로 환산한 후 선상 회귀분석법으로 얻은 표준곡선을 이용하여 T 세포 배양 상청액에서 IL-4의 농도를 산정하였다.

#### 8) 통계학적 분석

통계 분석 프로그램 (Statistical Analysis System, SAS Inc., Cary, North Carolina, U.S.A.)을 이용하여 정상피부와 병변피부내 랑게르한스 세포에 의한 T 림프구 증식반응에서 증식지수의 비교에는 Student's t-test를 사용하였고, 임상적 증상에 따른 검사항목별 차이의 비교와, 임상적 증상, 혈청 총 IgE치, 집먼지 진드기 특이 IgE치 및 호산구 수에 따른 증식지수의 비교에는 ANOVA와 다중비교의 통계학적 분석을 시행하였다. p값이 0.05 이하인 경우를 통계학적으로 의미있는 경우로 정의하였다.

## 결 과

### 1. 아토피 피부염 환자의 임상적 소견

대상 환자 18명 중 남자는 15명이었고 여자는 3명이었다. 환자의 나이는 12세에서 26세사이로 평균연령은 20.3 ± 4.1세였으며, 다른 아토피성 질환인 알레르기성 비염의 과거력이 2명에서 있었고, 아토피 피부염의 가족력은 2명

에서 있었다. 아토피 피부염의 주관적인 증상의 심한 정도는 경도가 2명, 중등도가 10명, 중증도 6명으로 대개 증상이 심한 환자들이 다수를 차지하였다. 아토피 피부염의 객관적인 임상증상 평가항목에서 증상의 중증도 점수의 평균값은 홍반  $2.18 \pm 0.73$ , 칼상  $2.12 \pm 0.60$ , 태선화  $2.06 \pm 0.83$ , 인설  $2.12 \pm 0.60$ , 소양증  $2.29 \pm 0.47$ 로 모두 중증도 2 이상의 심한 증세를 보였다. 혈청 총 IgE치는  $1941.6 \pm 1221.8 \text{ U/ml}$ 로서 증가되어 있었다. 혈액 내 호산구 수도  $534.5 \pm 333.7 / \mu\text{l}$ 로 증가되어 있었다. 혈청 집먼지 진드기 특이 IgE는 모든 환자들에서 양성으로 나타났으며, 3+ 이상의 높은 양성을 보인 경우는 *D. pteronissinus*와 *D. farinae*에서 각각 10명씩이었다. 집먼지 진드기 항원 즉시 형 피부반응 검사에서 모두 양성반응을 보였으며, *D. pteronissinus*와 *D. farinae*에 각각 10명에서 2+ 이상의 양성을 보였다. 임상증상의 중증도에 따라 혈청 총 IgE치, 혈청 집먼지 진드기 특이 IgE치는 유의한 상관관계를 보이지 않았다 (Table 1).

## 2. 아토피 피부염 환자 병변피부의 표피내 CD1a 양성 및 IgE 양성 세포에 대한 면역조직화학염색 소견

병변 부위 피부의 표피, 표피-진피 경계부와 상부진피 혈관주위에서 다수의 CD1a 양성 세포들이 관찰되었다. 정상 부위에서는 병변에서 보다 적은 수만이 관찰되었고, 진피내 혈관 주변에서는 다수 관찰되었다 (Fig. 1). 아토피 피부염 환자의 정상표피에서는 IgE 양성 세포들이 거의 관찰되지 않은 반면에, 병변부위 표피에서는 소수, 진피에서는 혈관주변에서 다수 관찰되었다 (Fig. 2). CD1a와 IgE를 함께 발현하는 세포들은 주로 병변 부위에서 관찰되었으며 표피에서 소수 발견되었고, 표피-진피 경계부 및 상부진피에서 자주 관찰되었다 (Fig. 3).

## 3. 랑게르란스 세포 부유액에서 CD1a 및 IgE 양성 세포에 대한 면역형광 유량 세포분석 소견

병변부위의 랑게르란스 세포 부유액의 CD1a에 대한 면

Table 1. The laboratory findings of atopic dermatitis patients according to clinical severity

Clinical Severity Laboratory test	Mild (N=2)	Moderate (N=10)	Severe (N=6)
Total IgE(U/ml)	$2751.0 \pm 431.3$	$2081.3 \pm 1162.4$	$1388.2 \pm 1481.8$
<i>D. farinae</i> specific IgE	$2.0 \pm 0.0$	$3.3 \pm 1.1$	$3.3 \pm 1.5$
Eosinophil count(%)	$3.0 \pm 0.0$	$8.6 \pm 5.2$	$7.0 \pm 5.1$

The values represent mean  $\pm$  standard deviation.

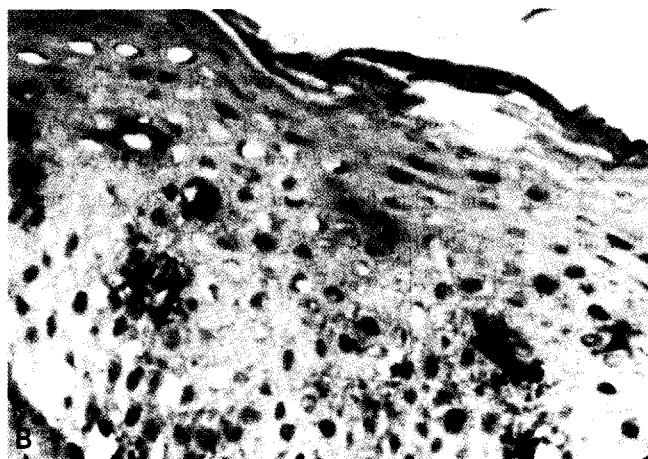
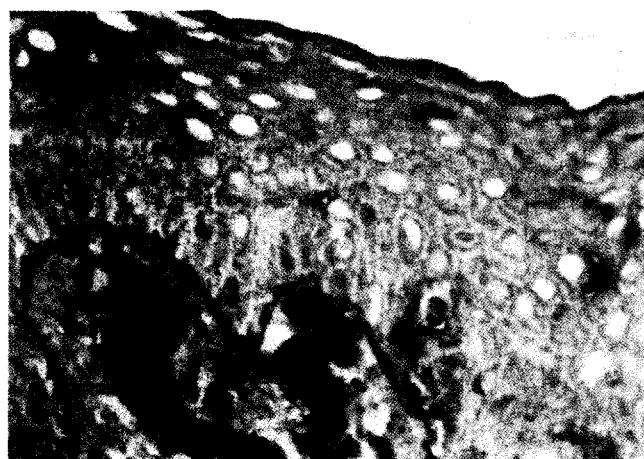


Fig. 1. Immunohistochemical stain of CD1a in skin of atopic dermatitis patient (200 $\times$ ).

The CD1a+ cells are located in the upper epidermis and papillary dermis. The CD1a+ cells are more frequently observed in lesional skin (B) than in normal skin (A).

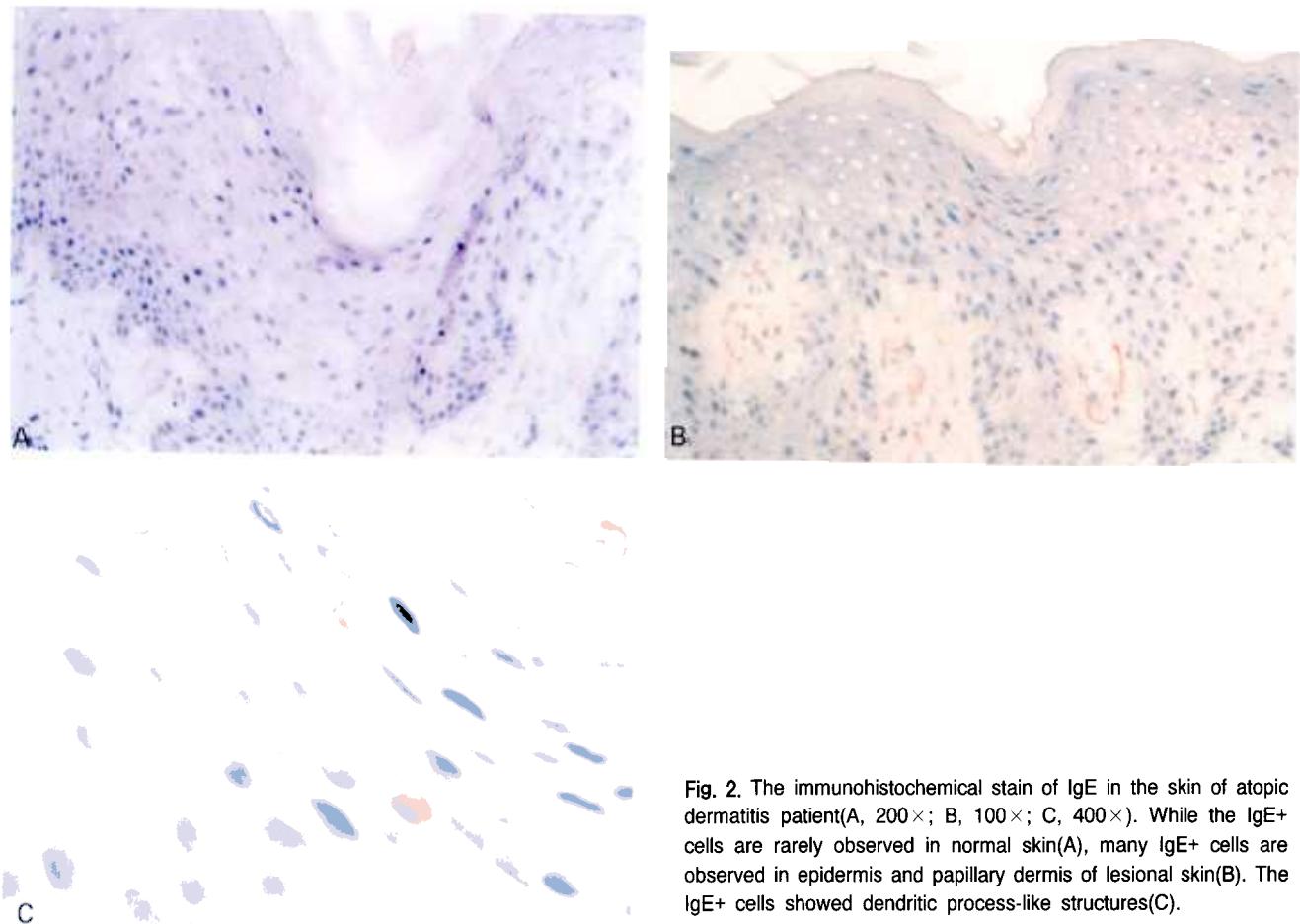


Fig. 2. The immunohistochemical stain of IgE in the skin of atopic dermatitis patient(A, 200 $\times$ ; B, 100 $\times$ ; C, 400 $\times$ ). While the IgE+ cells are rarely observed in normal skin(A), many IgE+ cells are observed in epidermis and papillary dermis of lesional skin(B). The IgE+ cells showed dendritic process-like structures(C).

역형광 유량 세포분석 결과 정상부위에서는 5.8%, 병변부위에서는 13.1%로 병변부위에서 얻어진 랑게르한스 세포 부유액에 더 많이 포함되어 있었으며, IgE 양성세포도 역시 정상부위에서는 8.2%, 병변부위에서는 12.9%로 병변부위에서 얻어진 랑게르한스 세포 부유액에 더 많이 존재하였다 (Fig. 4).

#### 4. 표피 랑게르한스 세포에 의한 T 림프구 증식반응

##### 1) 정상피부와 병변피부 내 랑게르한스 세포에 의한 T 림프구 증식반응의 비교

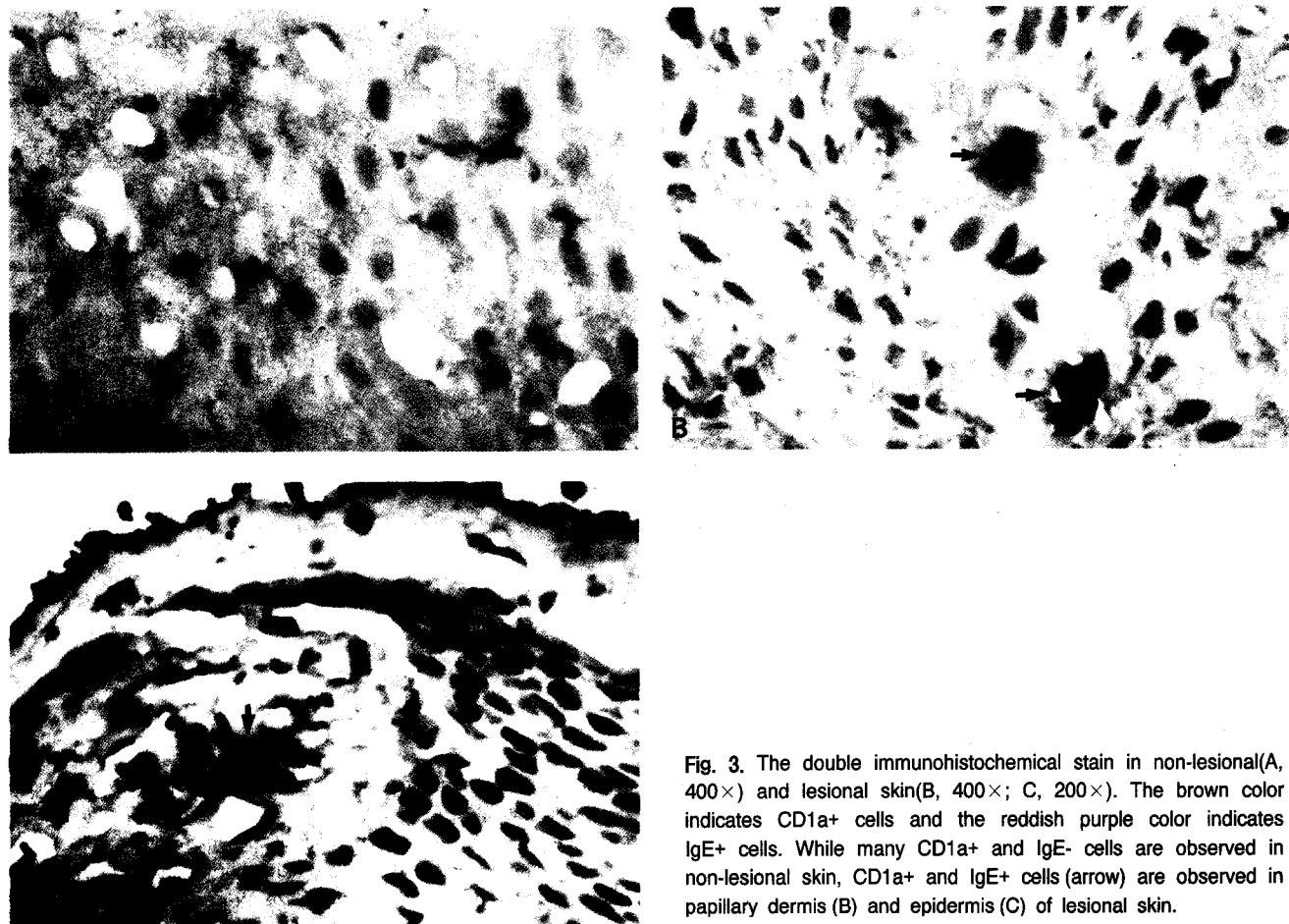
전체 환자의 말초혈액 T 림프구만의 배양시 방사선량의 범위는 746~6073 cpm이었고, 병변피부내 랑게르한스 세포와 같이 배양한 경우는 9155~36470 cpm이었으며, 정상피부 내 랑게르한스 세포와 같이 배양한 경우는 1664~19231 cpm이었다. 제1군의 증식지수는  $4.31 \pm 4.09$ , 제2군의 증식지수는  $3.21 \pm 4.47$ 로 나타나, 환자의 병변피부 내 랑게르한-

스 세포에 의한 환자의 말초혈액 T 림프구의 증식지수가 더 높았다 (Fig. 5). 개인간에 증식지수의 표준편차가 커서 전체 평균값의 비교시에는 통계학적으로 유의한 차이를 보이지는 않았으나, 환자 개인별로는 많은 환자에서 정상피부의 랑게르한스 세포 처치시에 비해 병변피부의 랑게르한스 세포 처치시에 T 림프구의 증식지수가 유의하게 높았다.

##### 2) 임상적 증상의 중증도에 따른 T 림프구 증식지수의 비교

경도, 중등도 및 중증의 임상증상을 보인 모든 환자군에서 환자의 말초혈액 T 림프구에 환자의 병변피부 내 랑게르한스 세포를 처치한 후의 증식지수가 더 높았다. 임상적 중증도에 따른 제1군의 평균 증식지수는 경증에서 2.21, 중등도에서  $4.14 \pm 4.39$ , 중증에서  $5.03 \pm 4.26$ 으로 증상의 중증도에 따라 증식지수가 비례하는 양상을 보였다 (Table 2).

##### 3) 혈청 내 총 IgE치에 따른 T 림프구 증식지수의 비교



**Fig. 3.** The double immunohistochemical stain in non-lesional(A, 400 $\times$ ) and lesional skin(B, 400 $\times$ ; C, 200 $\times$ ). The brown color indicates CD1a+ cells and the reddish purple color indicates IgE+ cells. While many CD1a+ and IgE+ cells are observed in non-lesional skin, CD1a+ and IgE+ cells (arrow) are observed in papillary dermis (B) and epidermis (C) of lesional skin.

**Table 2.** The PI of T lymphocyte proliferation response according to clinical severity

Group	PI <sup>†</sup> according to clinical severity		
	Mild (N=1)	Moderate (N=9)	Severe (N=5)
PT <sup>†</sup> PLL	2.21	4.14±4.39	5.03±4.26
PT <sup>†</sup> PNL	0.74	3.76±5.65	2.87±2.56

<sup>†</sup>The PI was calculated by following equation and the values represent mean±standard deviation.

$$\text{Proliferation index (PI)} = \frac{\text{The radioactivity in the co-culture of T lymphocyte and Langerhans' cells(cpm)}}{\text{The radioactivity in the culture of T lymphocyte only(cpm)}}$$

Abbreviations used were PT; patient's peripheral T lymphocytes, PLL; patient's lesional Langerhans' cells, PNL; patient's non-lesional Langerhans' cells.

환자의 혈청 내 총 IgE치에 따라 200-1000 U/ml의 범위에 속하는 환자군을 경도, 1000-3000 U/ml의 범위는 중등도, 3000 U/ml이상의 경우를 중증의 IgE 증가로 분류하고 증식 지수를 비교하였다. IgE 증가를 보인 모든 환자군에서 병변 피부 내 랑게르한스 세포를 처치한 환자의 말초혈액 T 림

프구의 평균 증식지수가 더 높았다. 혈청 내 총 IgE치에 따른 제1군의 평균증식지수는 경증에서 5.31±4.19, 중등도에서 5.15±5.84, 중증에서 2.93±0.72로 환자 병변피부 내 랑게르한스 세포에 의한 T 림프구의 증식반응은 혈청 내 총 IgE와 유의한 상관관계 없었으나, 다소 역비례하는 양상

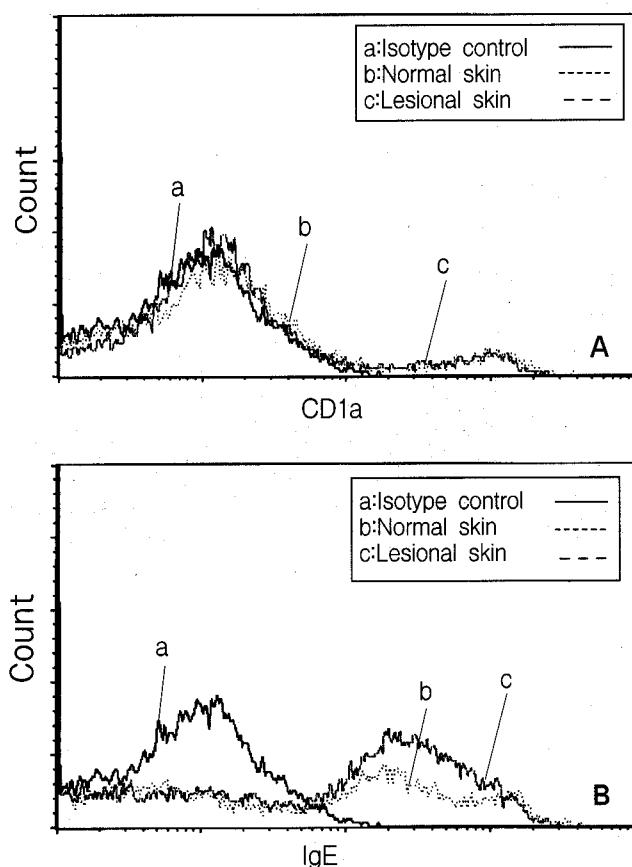


Fig. 4. The results of immuno fluorescence flow cytometry of CD1a(A) and IgE(B) in Langerhans' cell-enriched cell suspension. The small letter 'b' indicates cells from normal skin and 'c' indicates cells from lesional skin. The cell suspension from lesional skin contains more CD1a+ cells and IgE+ cells.

Table 3. The PI of T lymphocyte proliferation response according to total IgE level

Group	PI according to total IgE level(U/ml)		
	200-1000 (N=5)	1000-3000 (N=5)	above 3000 (N=5)
PT+PLL	5.31±4.19	5.15±5.84	2.93±0.72
PT+PNL	3.16±2.40	4.42±6.78	1.75±0.31

을 보였다 (Table 3).

#### 4) 집먼지 진드기 항원 특이 IgE치에 따른 T 림프구 증식지수의 비교

항원 특이 IgE치의 양성정도에 따른 T 림프구 증식지수는 환자의 말초혈액 T 림프구에 환자의 병변피부 내 랑제

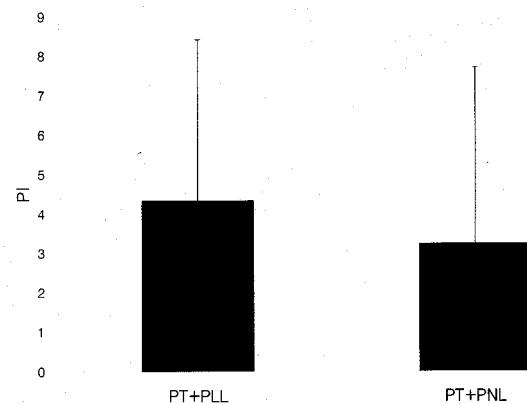


Fig. 5. The result of T lymphocyte proliferation response to Langerhans' cells. The proliferation index (PI) is higher in the co-culture with lesional Langerhans' cells than in the co-culture with non-lesional Langerhans' cells.

Table 4. The PI of T lymphocyte proliferation response according to D. farinae specific IgE level

Group	PI according to specific IgE level			
	1+ (N=2)	2+ (N=4)	3+ (N=1)	4+ (N=8)
PT+PLL	7.77±6.62	6.35±6.25	2.87	2.60±1.04
PT+PNL	4.55±2.87	5.19±7.57	0.92	1.55±0.60

르한스 세포를 처치한 경우의 증식지수가 더 높았다. 집먼지 진드기 항원 특이 IgE치에 따른 제1군의 평균증식지수는 1+에서 7.77±6.62, 2+에서 6.35±6.25, 3+에서 2.87, 4+에서 2.6±1.04로 환자의 병변피부 내 랑제르한스 세포에 의한 T 림프구의 증식반응은 특이 IgE치에 역비례하는 양상을 보였다 (Table 4).

#### 5) 호산구 수에 따른 T 림프구 증식지수의 비교

환자의 병변 내 랑제르한스 세포에 의한 환자의 말초혈액 T 림프구의 증식지수와 혈중 호산구 수(%)간의 관계에 대한 산포도상에서 호산구 수가 높은 집단이 낮은 집단보다 증식지수가 현저하게 높았다 (Fig. 6).

환자의 호산구의 밀도에 따라 호산구 수가 높은 집단(8% 이상)과 낮은 집단(8% 미만)으로 구분하여 증식지수를 비교하였다. 호산구 수가 높은 환자군에서 제1군의 증식지수는 14.00±2.19, 제2군은 11.53±7.00로 나타나, 환자의 병변피부 내 랑제르한스 세포에 의한 환자의 말초혈액 T 림프구의 증식반응이 더 높았다. 호산구 수가 낮은 환자군에

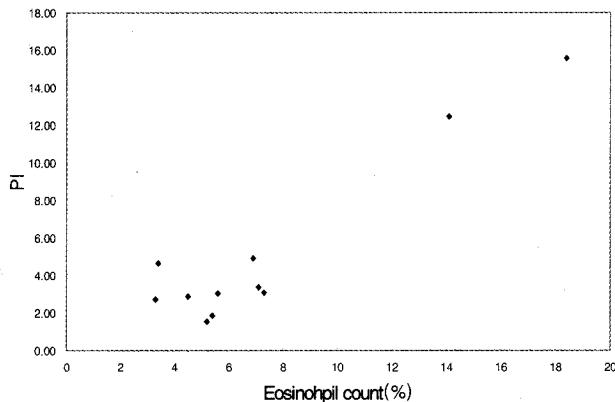


Fig. 6. The scattering diagram between T lymphocyte proliferation response and eosinophil count(%). The T lymphocyte proliferation responses are proportional to eosinophil count.

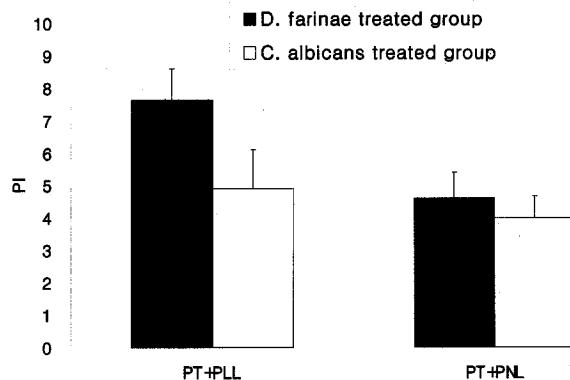


Fig. 8. The T lymphocyte proliferation response to house dust mite(*D. farinae*) antigen and *C. albicans* antigen. The T lymphocyte proliferation response of lesional Langerhans' cells with *D. farinae* antigen shows the highest PI(\*, p<0.05 in ANOVA).

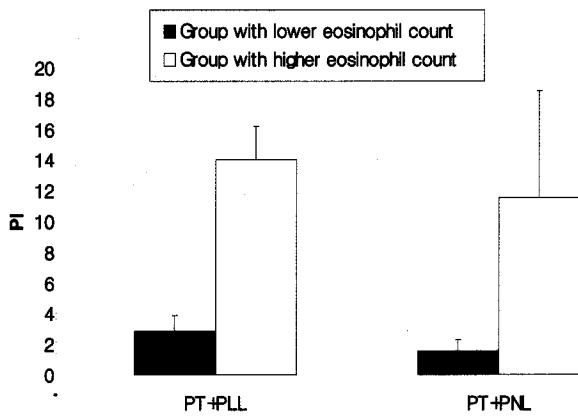


Fig. 7. The T lymphocyte proliferation response according to eosinophil count. The T lymphocyte proliferation response in group with higher eosinophil count shows higher PI score than that of group with lower eosinophil count(p<0.05 in ANOVA). Within the group with lower eosinophil count, the T lymphocyte proliferation response with lesional Langerhans' cell represented higher PI than that with non-lesional Langerhans' cells.

서는 제1군의 증식지수가  $2.82 \pm 1.03$ , 제2군은  $1.55 \pm 0.73$ 로 나타나, 병변피부 내 랑게르한스 세포에 의한 환자의 말초혈액 T 림프구의 증식반응이 정상피부 내 랑게르한스 세포에 의한 환자의 말초혈액 T 림프구의 증식지수보다 유의하게 높았다( $p<0.05$ ). 호산구 수에 따른 제1군의 환자의 병변피부 내 랑게르한스 세포에 의한 환자의 말초혈액 T 림프구의 증식반응의 평균증식지수는 밀도가 높은군에서  $14.00 \pm 2.19$ 이었으며 밀도가 낮은군에서  $2.82 \pm 1.03$ 으로 밀도가

높은군에서 유의하게 높았다( $p<0.05$ ) (Fig. 7).

#### 6) 집먼지 진드기 항원과 *Candida albicans* 항원 투여 시 표피 랑게르한스 세포에 의한 T 림프구의 증식반응 소견

집먼지 진드기 항원 투여시 제1군 환자의 말초혈액 T 림프구의 증식지수는  $7.64 \pm 0.95$ 이었고, *C. albicans* 항원 투여시에는  $4.61 \pm 0.79$ 이었다 (Fig. 8). 집먼지 진드기 항원 투여시 제2군의 증식지수는  $4.90 \pm 1.19$ 이었고, *C. albicans* 항원 투여시에  $4.00 \pm 0.67$ 이었다. 즉, 집먼지 진드기 항원을 처치하고 환자의 말초혈액 T 림프구에 환자의 병변피부 랑게르한스 세포를 처치한 군의 증식지수는 다른 모든 실험군에 비해 유의하게 높았다( $p<0.05$ ).

#### 5. 표피 랑게르한스 세포에 대한 T 림프구의 증식반응 상청액에서 IL-4의 측정

모든 well에서 측정 하한값보다 매우 작은 값으로 측정되어 사용한 ELISA kit의 측정 한계치 보다 낮았다.

## 고 칠

아토피 피부염의 발병기전은 아직도 확실히 밝혀져 있지 않으나, 유전적 감수성, 환경적 유발인자와 비정상적인 면역 반응에 의한 것으로 생각되고 있다<sup>28</sup>. 병변피부의 병리조직 소견에서는 접촉 피부염이나 다른 T 세포 매개성 과민반응

에서 관찰되는 것과 유사한 활성화된 T 림프구들과 대식세포들이 관찰된다<sup>3</sup>. Cyclosporine A 치료로 아토피 피부염 환자들의 임상증상이 호전되는 것으로 보아, 보조 T 세포의 활성화가 아토피 피부염의 병리기전에 중요한 역할을 할 것으로 생각되고 있다<sup>32,33</sup>. 아토피 피부염 환자에서 병변피부의 표피 및 진피에서 관찰되는 항원전달세포는 활성화된 랑게르한스 세포의 특징인 HLA-DR 양성, CD1a 양성, CD1b 양성, CD36 양성의 표현형을 나타내며, 수적으로도 증가되어 있다는 보고가 있다<sup>27</sup>. 따라서 아토피 피부염 환자에서 병변 내 T 림프구의 활성화에 병변 내에 존재하는 활성화된 랑게르한스 세포가 중요한 역할을 할 것으로 추정되고 있다.

아토피 피부염 환자 중 80% 이상에서 혈중 IgE가 상승해 있고, 집먼지 진드기 항원을 비롯한 여러 흡입성 알레르겐들에 대한 특이 IgE 항체가 발견된다<sup>34</sup>. 아토피 피부염 환자의 병변에서 표피의 랑게르한스 세포 표면에 부착된 IgE의 존재가 확인되었고<sup>35</sup>, 이는 랑게르한스 세포 표면에 존재하는 IgE에 대한 높은 친화력을 갖는 Fcε 수용체에 기인됨이 밝혀졌다<sup>26</sup>. 따라서, 랑게르한스 세포가 항원 특이 IgE를 매개로 하여 특정 항원에 대한 항원전달능력이 항진되어 T 림프구가 활성화되는 과정을 통해 피부로 침투한 알레르겐이 아토피 피부염을 유발하거나 혹은 악화시킬 것으로 생각되고 있다.

개를 실험동물로 사용한 아토피 피부염의 실험에서 정상 군보다 아토피 피부염 발생군에서 표피의 랑게르한스 세포와 진피의 수지상 세포가 더 많이 관찰되었고, 표피의 랑게르한스 세포의 숫자도 병변내에서 더 많이 관찰되었다. IgE 양성 수지상 세포는 아토피 피부염 발생군의 병변 및 정상 피부의 표피 및 진피에서 확인되었으나, 정상군의 피부에서는 확인되지 않았다. IgE 양성 수지상 세포의 수는 혈청 IgE치와 연관성을 나타내는 것으로 보고된 바 있다<sup>25</sup>.

아토피 피부염에서 알레르기 단자 시험상 양성을 보이는 항원 중 가장 흔한 항원인 집먼지 진드기는 첨포검사로 습진성 병변을 유발하기도 하고, 환경에서 제거하면 아토피 피부염의 호전을 보이는 경우가 있어 중요한 원인으로 생각되고 있다<sup>36</sup>. 최근의 연구에서 아토피 피부염 환자의 피부 단자 시험상 임상증상이 심할수록 집먼지 진드기 항원 양성을 증가되는 양상을 보였고, 항원 특이 IgE의 양성을도 임상증상과 비례함이 보고되었다<sup>8</sup>.

따라서 본 연구에서는 피부 단자 검사 및 항원 특이 IgE 검사상 집먼지 진드기 항원에 양성을 보인 환자를 대상으로 이 항원에 대한 랑게르한스 세포의 T 림프구 증식능력을 관찰하였다. 면역조직화학염색상 아토피 피부염 병변의 표

피, 표피-진피 경계부와 상부 진피 혈관주위에서 다수의 CD1a 양성 세포들이 관찰되었고, IgE 양성 세포는 진피내 혈관 주변에서 다수, 표피에서 소수가 관찰되었다. 정상 부위에 비해 병변에서 CD1a 양성세포가 더 많이 관찰되었고, IgE 양성세포도 주로 병변부위 표피에서 관찰되었다. CD1a와 IgE를 함께 발현하는 세포들은 병변부위의 표피에서도 발견되었으나, 표피-진피 경계부 및 상부 진피에서 더 많이 관찰되었다. 이러한 결과는 IgE 부착 랑게르한스 세포가 표피내에서 IgE 매개성으로 항원을 포획 가공한 후 항원전달을 위해 진피내로 이동함에 따라 가능성을 생각할 수 있겠다. 또한 면역형광 유량 세포분석상 랑게르한스 세포 부유액에서 CD1a 양성세포와 IgE 양성세포는 모두 정상부위에 비해 병변부위에서 증가되었음을 보여주어 병변 부위에 집먼지 진드기 항원과 결합한 IgE가 부착된 랑게르한스 세포가 더 많이 존재함으로써 피부병변의 유발에 관여할 수 있을 것으로 생각한다.

종전에 집먼지 진드기 항원에 의한 T 림프구 증식능이 유의하게 증가한다는 보고들<sup>37,38</sup>은 많으나, 랑게르한스 세포에 의한 T 림프구 증식능에 관한 문헌은 많지 않다. 본 연구에서는 환자의 말초혈액 T 림프구와 병변피부 내의 랑게르한스 세포를 처리한 군에서 환자의 정상피부 랑게르한스 세포를 처리한 군에 비해 T 림프구의 증식지수가 높게 나타났다. 이러한 결과는 종전의 보고<sup>30</sup>와 일치되는 소견으로, 이는 알레르겐에 감작되어 있는 피부에만 랑게르한스 세포가 활성화되고 항원전달능력의 증가로 인한 T 림프구 활성이 국소적으로 이루어짐을 시사한다.

본 연구에서 환자의 병변 내 랑게르한스 세포에 의한 환자의 말초혈액 T 림프구 증식지수와 혈중 호산구 수간에는 뚜렷한 상관성을 보였다. 이런 결과는 호산구 수 및 eosinophil cationic protein (ECP)치와 아토피 피부염의 질병의 중증도와 상관관계를 보였다는 보고<sup>39</sup>와 아토피 피부염과 천식이 동반된 환아들과 아토피 피부염만 단독으로 있는 환아들의 비교에서 호산구 수, ECP치 및 호산구의 leukotriene C4 생성능력을 천식보다는 아토피 피부염의 유무에 의해 영향을 받는다는 보고<sup>40</sup>의 결과들과 비교해 볼 때, 호산구 수와 T 림프구의 증식반응간에 어떤 연관성이 있어, 아토피 피부염의 병리기전에서 호산구와 랑게르한스 세포, 혹은 T 림프구 사이의 아직 알려지지 않은 상호작용이 있을 가능성을 시사한다고 생각한다.

랑게르한스 세포에 의한 T 림프구 증식반응은 환자의 임상적 중증도나, 혈청 IgE치 및 특이 IgE 항체 검사 성적과는 통계학적으로 유의성이 있는 상관관계를 보이지는 않았다. 그러나, 환자의 임상증상이 심할수록 T 림프구 증식지

수가 높은 경향을 보여, 이는 아토피 피부염의 병인과 상관하여 알레르겐이 어떤 역할을 할 수 있음을 보여주는 결과이며, 임상적으로도 임상적 중증도를 평가할 때 유용한 평가지표로 이용될 수 있는 흥미로운 결과로 생각된다. 또한, 랑게르ハン스 세포에 의한 T 림프구 증식지수는 혈청 IgE치 및 항원 특이 IgE치와 역비례하는 양상을 보였는데, 알레르겐에 대한 즉시형 면역반응이 강할 때는 지연형 면역반응이 약해지고, 즉시형 반응이 약할 때는 지연형 반응이 강해질 수 있음을 시사하는 소견이다. 앞으로 이의 확인을 위하여 좀 더 많은 환자를 대상으로 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

본 연구에서 랑게르ハン스 세포에 의한 T 림프구 증식능은 항원 특이성 양상을 보였는데 이는 아토피 피부염 환자에서 항원특이 T 세포 클론을 분리 보고한 종전의 연구결과<sup>41,42</sup>와 일치되는 소견이며, 검사환자수가 적어 단정적으로 결론을 내리기는 어려우나 아토피 피부염 환자에서 추정되는 원인 알레르겐의 종류에 따라 환자마다 T 림프구에 대한 랑게르ハン스 세포의 항원전달능력이 특이함을 시사하는 소견으로 생각되며 이는 아마도 랑게르ハン스 세포표면의 항원특이 IgE에 의한 것으로 생각된다.

아토피 피부염 환자들의 병변피부에서 Th2 사이토카인을 생성하는 T 세포 클론들이 분리되었다<sup>43</sup>. 즉, Th2 세포 클론으로부터 분비되는 IL-4가 IgE 생성을 유도하여 아토피 피부염의 발병기전에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 본 연구실험에서 Th2세포의 증식을 확인하기 위해 표피 랑게르ハン스 세포에 의한 T 림프구의 증식반응 후 배양 상청액에서 IL-4를 측정하였으나 ELISA kit의 측정 한계치 내에서는 검출되지 않았다. 이러한 결과는 본 연구에서는 T 림프구를 병변부위로부터 분리한 것이 아니고 말초혈액 T 림프구를 사용하였으며, T 림프구가 클론성 팽창을 한 것이 아니기 때문에 혈액 T 림프구 중 Th2 세포 클론이 많지 않을 가능성과 다른 클론의 사이토카인에 의한 억제작용에 의한 가능성을 생각할 수 있겠다.

본 연구의 결과로부터 아토피 피부염 환자 병변피부에는 항원에 의해 활성화된 랑게르ハン스 세포수가 증가되어 있어 T 림프구에 대한 항원전달능력이 항진되어 있으며, 이 과정은 랑게르ハン스 세포 표면의 IgE에 의해 증개될 것으로 여겨진다. 랑게르ハン스 세포의 활성화를 확인하기 위해서는 앞으로 랑게르ハン스 세포 표면의 CD1b 혹은 CD36분자의 발현에 관한 연구가 추가되어야 하며, 또한 랑게르ハン스 세포의 활성화에 관련된 알레르겐 외의 보조 신호인자에 대한 연구도 필요할 것으로 생각한다.

## 결 롬

아토피 피부염의 병인에서 집먼지 진드기 항원에 대한 세포매개성 면역반응에 관여하는 랑게르ハン스 세포의 역할을 규명하고자 18명의 아토피 피부염 환자를 대상으로 다음과 같은 실험을 시행하였다. 첫째, 아토피 피부염 환자의 정상피부와 병변피부로부터 조직 생검 후 면역조직화학 검사와 면역형광 유량 세포분석을 시행하여 IgE 부착 랑게르ハン스 세포를 비교 분석하였다. 둘째, 정상피부와 병변피부로부터 분리한 랑게르ハン스 세포를 환자의 말초혈액 T 림프구에 첨가한 후 T 림프구의 증식반응을 비교 검토하였으며, 혈액내 호산구 수, 혈청 내 총 IgE 및 집먼지 진드기 항원 특이 IgE 등을 측정하여 증식반응과의 연관성 여부를 분석하였다. 셋째, 항원의 특이성을 알아보기 위해 집먼지 진드기 항원과 C. albicans 항원을 넣고 T 림프구 증식반응 실험을 시행하여 병변부위와 정상부위의 랑게르ハン스 세포의 항원전달능력을 비교 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 면역 조작화학 검사상 CD1a 양성 및 IgE 양성세포가 아토피 피부염 환자의 정상표피에 비해 병변부위에서 더 많이 관찰되었으며, 면역형광 유량 세포분석상 CD1a 양성 및 IgE 양성 세포들은 병변부위에서 얻어진 랑게르ハン스 세포 부유액에서 더 많았다.
- 환자 말초혈액 T 림프구에 병변피부 랑게르ハン스 세포를 처치한 후의 증식지수는 환자 정상피부의 랑게르ハン스 세포를 처치한 군의 증식지수보다 높았다.
- 환자 병변피부의 랑게르ハン스 세포를 처치한 후 관찰된 T 림프구의 증식지수는 임상증상의 중증도와는 정비례하고, 혈청 총 IgE치 및 집먼지 진드기 항원 특이 IgE치와는 역비례하는 경향을 보였다.
- 혈중 호산구가 높은 환자군에서 환자 병변피부 랑게르ハン스 세포를 처치한 후의 T 림프구 증식지수는 혈중 호산구가 낮은 군의 증식지수에 비해 유의하게 높았다.
- 집먼지 진드기 항원을 처치한 환자의 병변피부 랑게르ハン스 세포에 의한 T 림프구 증식지수는 칸디다 항원을 처치한 군의 증식지수에 비해 유의하게 높았다.

이상의 결과로 보아 아토피 피부염 환자의 피부에 알레르겐 노출에 의해 활성화된 랑게르ハン스 세포가 존재하여 T 림프구에 항원을 전달하여 T 림프구의 활성을 유도하여 면역반응 유발에 관여할 것으로 생각된다.

## 참 고 문 헌

1. Larsson PA, Linden S. *Prevalence of skin diseases among adolescents 12-16 years of age*. Acta Derm Venereol 1980;60:415-23
2. Coleman R, Trembath R, Harper JI. *Genetic studies of atopy and atopic disease*. Br J Dermatol 1997;136:1-5
3. Tong AK, Mihm MC. *The pathology of atopic dermatitis*. Clin Rev Allergy 1986;4:27-34
4. August PJ. *House dust mite cause atopic eczema: a preliminary study(abstract)*. Br J Dermatol (Suppl) 1984;26:10-21
5. Barnetson RSC, Macfarlane HAF, Benton EC. *House-dust mite allergy and atopic eczema*. Br J Dermatol 1987;116: 857-60
6. Ring J, Darsow U, Abeck D. *The "Atopy Patch Test" with aeroallergens in atopic eczema*. J Allergy Clin Immunol 1989;116:857-60
7. 구상완, 김유찬, 김수찬, 김동건. 아토피 피부염 환자의 단자 시험과 혈청 IgE 성적에 관한 연구. 대피지 1992;30:43-50
8. 조흔정, 최현주, 김동건, 이광훈. 아토피 피부염 환자에서 Dermatophagoides farinae 항원에 대한 특이 IgE 및 IgG4 항체. 대피지 1998;36:16-22
9. Kristal L, Clark RAF. *Cutaneous Medicine and Surgery*. Arndt KA, Leboit PE, Robinson JK, Wintroub BU. 1st ed. Philadelphia, WB Saunders, 1996:195-6
10. Colloff MJ. *Exposure to house dust mites in home of people with atopic dermatitis*. Br J Dermatol 1992;127: 322-7
11. Beck HI, Korsgaard J. *Atopic dermatitis and house dust mites*. Br J Dermatol 1989;120:245-51
12. Leroy BP, Lachapelle JM, Somville MM, Jacquemin MG, Saint-Remy JM. *Injection of allergen-antibody complexes is an effective treatment of atopic dermatitis*. Dermatologica 1991;182:98-106
13. Leroy BP, Boden G, Lachapelle JM, Jacquemin MG, Saint-Remy JM. *A novel therapy for atopic dermatitis with allergen-antibody complexes: a double blind, placebo-controlled study*. J Am Acad Dermatol 1993;28:232-9
14. Cooper KD. *Atopic dermatitis: recent trends in pathogenesis and therapy*. J Invest Dermatol 1994;102:128- 37
15. Stingl G, Gazze LA, Czarnecki N, Wolff K. *T cell abnormalities in atopic dermatitis patients: imbalances in T cell subpopulations and impaired generation of con-A-induced suppressor cells*. J Invest Dermatol 1981;76:468-73
16. Reinhold U, Pawelec G, Wehrmann W, et al. *Cytokine release from cultured peripheral blood mononuclear cells of patients with severe atopic dermatitis*. Acta Derm Venereol 1989;69:497-502
17. Kapsenberg ML, Wierenga EA, Bos JD, Jansen HM. *Functional subsets of allergen-reactive human CD4+ T cells*. Immunol Today 1991;12:392-5
18. Parronchi P, Macchia D, Piccinni MP, et al. *Allergen- and bacterial antigen-specific T cell clones established from atopic donors show a different profile of cytokine production*. Proc Natl Acad Sci USA 1991;88:4538-42
19. Toshitani A, Ansel JC, Chan SC, Li SH, Hanifin JM. *Increased interleukin 6 production by T cells derived from patients with atopic dermatitis*. J Invest Dermatol 1993;100: 299-304
20. Kagi MK, Wuthrich B, Montano E, et al. *Different cytokine profile in peripheral blood lymphocyte supernatants and skin biopsies from patients with different forms of atopic dermatitis, psoriasis and normal individuals*. Int Arch Allergy Immunol 1994;103:332-40
21. Bruynzeel-Koomen CA, van Wichen DF, Toonstra J, Berrens L, Bruijnzeel PL. *The presence of IgE molecules on epidermal Langerhans' cells in patients with atopic dermatitis*. Arch Dermatol Res 1986;278:199-205
22. Bieber T, Reiger A, Neuchrist C, et al. *Induction of Fcε R2/CD23 on human epidermal Langerhans' cells by human recombinant interleukin 4 and interferon*. J Exp Med 1989; 170:309-14
23. Tanaka Y, Anan S, Yoshida H. *Immunohistochemical studies in mite antigen induced patch test sites in atopic dermatitis*. J Dermatol Sci 1990;1:361
24. Hogan AD, Burks AW. *Epidermal Langerhans' cells and their function in the skin immune system*. Ann Allergy Asthma Immunol 1995;75:5-10
25. Olivry T, Moore PF, Affolter VK, Naydan DK. *Langerhans' cell hyperplasia and IgE expression in canine atopic dermatitis*. Arch Dermatol Res 1996;288:579-85
26. Klubal R, Osterhoff B, Wang B, et al. *The high-affinity receptor for IgE is the predominant IgE-binding structure in lesional skin of atopic dermatitis patients*. J Invest Dermatol 1997;108:336-42
27. Taylor RS, Baadsgaard O, Hammerbag C, Cooper KD. *Hyperstimulatory CD1a+ CD1b+ CD36+ Langerhans cells are responsible for increased autologous T lymphocyte reactivity to lesional epidermal cells of patients with atopic dermatitis*. J Immunol 1991;147:3794-802
28. Hanifin JM, Rajka G. *Diagnostic features of atopic dermatitis*. Acta Derm Venereol 1980;92(Suppl):44
29. Rajka G, Langeland T. *Grading of the severity of atopic dermatitis*. Acta Derm Venereol 1989;144(Suppl):13-9
30. Mudde GC, van Reijzen FC, Boland GJ, et al. *Allergen presentation by epidermal Langerhans' cells from patients with atopic dermatitis is mediated by IgE*. Immunology 1990;69:335-41

31. Lee MG, Borkowski TA, Udey MC. *Regulation of expression of B7 by murine Langerhans' cells: a direct relationship between B7 mRNA levels and the levels of surface expression of B7 by Langerhans' cells.* J Invset Dermatol 1993;101:883-6
32. Taylor RS, Cooper KD, Headington JT, et al. *Cyclosporine therapy for severe atopic dermatitis.* J Am Acad Dermatol 1989;21:580-90
33. Ross JS, Camp RD. *Cyclosporine A in atopic dermatitis.* Br J Dermatol 1990;122:41-51
34. Juhlin L. *Immunoglobulin E in dermatoses(levels in atopic dermatitis and urticaria).* Arch Dermatol 1969;100:12-6
35. Brujinzeel-Koomen C. *IgE on Langerhans' cells: New insights into the pathogenesis of atopic dermatitis.* Dermatologica 1986;172:181-3
36. Kubota Y, Imayama S, Hori Y. *Reduction of environmental mites improved atopic dermatitis patients with positive mite-patch tests.* J Dermatol (Tokyo) 1992;19:177-80
37. O'Brien RM, Thomas WR, Wootton AM. *T cell responses to the purified major allergens from the house dust mite Dermatophagoides pteronyssinus.* J Allergy Clin Immunol 1992;89:1021-31
38. Okano M, Nagano T, Ono T, Masuda Y, Ohta N. *Clonal analysis of human T-cell responses to fractionated house dust mite antigens.* Int Arch Allergy Immunol 1993;101:82-8
39. Nakama T. *Relationship between eosinophil-associated parameters and disease severity in atopic dermatitis.* Kurume Med J 1995;42:95-106
40. Schauer U, Trube M, Jager R, Gieler U, Rieger CH. *Blood eosinophilia, eosinophil-derived proteins, and leukotriene C4 generation in relation to bronchial hyperreactivity in children with atopic dermatitis.* Allergy 1995;50:126-32
41. Neumann C, Gutgesell C, Fliegert F, Bonifer R, Herrmann F. *Comparative analysis of the frequency of house dust mite specific and nonspecific Th1 and Th2 cells in skin lesions and peripheral blood of patients with atopic dermatitis.* J Mol Med 1996;74:401-6
42. Van der Heijden FL, Wierenga EA, Bos JD, Kapsenberg ML. *High frequency of IL-4 producing CD4+ allergen-specific T lymphocytes in atopic dermatitis lesional skin.* J Invest Dermatol 1991;97:389-94
43. Van Reijse F, Bruynzeel-Koomen CA, Kalthoff FS, et al. *Skin-derived aeroallergen-specific T-cell clones of Th2 phenotype in patients with atopic dermatitis.* J Allergy Clin Immunol 1992;90:184-92