

마우스의 접촉과민반응의 감작과정에서 배수 임파절세포의 Interferon- γ 와 Interleukin-1 β 의 생산에 관한 연구

이상주 · 신정현* · 이민걸

연세대학교 의과대학 피부과학교실, LG화학 화장품연구소*

Production of IFN- γ and IL-1 β by Draining Lymph Node Cells During the Induction Phase of Contact Sensitization in Mice

Sang-Ju Lee, Jung-Hyun Shin*, and Min-Geol Lee

Department of Dermatology, Yonsei University College of Medicine, Seoul,
Cosmetic R&D Center, LG Chemical Ltd*, Taejon, Korea

Ears of BALB/C mice were exposed daily to various chemicals or vehicles for 3 consecutive days and auricular lymph nodes were obtained on the 4th day. Cells isolated from the auricular lymph nodes were cultured for 1 day. Supernatant of the cell culture was tested for the level of interferon- γ (IFN- γ) and interleukin-1 β (IL-1 β) by ELISA and the results were as follows:

1. Auricular lymph node cells produced more than 1000 pg/ml of IFN- γ after application of various concentrations of oxazolone (0.25%, 0.5%, 3.0%) and DNCB (0.5%, 1.0%, 2.0%) after a 24 hour culture.
2. After sensitizing with 1% oxazolone, IFN- γ started to increase at 9 hours (2058.5 pg/ml) of culture and reached a high level at 24 hours (19768.5 pg/ml). The level was maintained until 48 hours (21368.5 pg/ml).
3. After sensitizing with 1% DNCB, IFN- γ started to increase at 6 hours (225.4 pg/ml) of culture and rapidly increased until 48 hours. The level was maintained until 120 hours (20401.6 pg/ml) of culture.
4. IFN- γ was produced after sensitization with moderate to weak allergens such as isoeugenol, eugenol, and cinnamic aldehyde, while IL-1 β was produced after sensitization with weak allergens such as germall II, eugenol, and cinnamic aldehyde.

From the above results, we observed an increase in IFN- γ and IL-1 β in the draining lymph node cells of BALB/C mice after induction of contact hypersensitivity. Therefore, detection of IFN- γ and IL-1 β by ELISA from the supernatant of cultured draining lymph node cells may be a useful alternative method to detect weak allergens, which are not easily identified by conventional methods.

Key words : Contact hypersensitivity, Local lymph node assay

서 론

알레르기성 접촉피부염의 원인물질인 알레르겐이 피부에 접촉하면 표피에 있는 항원 전달세포인 랑거한스세포가 이 알레르겐을 processing하면서 주위 배수 림프절(drainage lymph node)로 이동한다¹. 배수 림프절로 이동한 랑거한스세포는 림프절에 있는 T 림프구에 알레르겐을 전달(present)하면서 T 림프구를 자극시켜 T 림프구의 증식이 일어나게 되는데, 이 과정이 접촉과민반응(contact hypersensitivity)의 감작과정(sensitization)이다².

어떤 화학물질의 접촉과민반응 유발능력 시험을 위하여 지금까지 여러 가지 검사법이 개발되었으나 객관적이며 감수성과 특이성이 뛰어난 등의 모든 조건을 만족시키는 방법은 아직 없다^{3,5}. 현재까지 많이 이용되는 방법중 하나가 guinea pig을 사용하는 방법이다⁶⁻¹². 즉 감작을 시킨 guinea pig에 화학물질을 재차 접촉(challenge)시켜 발생하는 홍반과 부종을 관찰하는 방법이다. 그러나 이들 방법은 피부반응정도를 관찰하는 주관적인 방법이므로 정량적인 결과를 얻는데 제한이 있고 많은 시간이 필요하며 비교적 많은 수의 실험동물이 필요하다. 그후 접촉과민반응의 예측방법으로 guinea pig 대신 마우스를 사용하는 방법이 개발되었다. 즉 마우스의 귀에 알레르겐을 재차 도포하였을 때 발생하는 귀의 두께의 변화를 관찰하여 알레르기성 접촉피부염의 정도를 비교하는 방법이다¹³⁻¹⁵. 그러나 이 방법도 주관적이고 예민도가 낮은 방법이기 때문에 알레르겐을 도포한 후에 주위 배수 림프절에 발생한 면역학적 변화를 관찰하는 local lymph node assay (LLNA)가 개발되었다¹⁶⁻¹⁸.

저자들은 여러 가지 알레르겐과 기제로 마우스의 귀에 접촉과민반응을 야기시키고 마우스의 귀 배수 림프절세포를 배양한 후 배양상청액에 포함된 interferon- γ (IFN- γ)와 interleukin-1 β (IL-1 β)의 양을 ELISA로 측정하여 변화를 관찰하고자 하였으며, 배수 림프절 세포에서 IFN- γ 와 IL-1 β 의 측정이 알레르겐을 예측할 수 있는 검사법이 될 수 있는지 살펴보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

1) 알레르겐과 기제

알레르겐으로 4-ethoxymethylene-2-phenyloxazol-5-one (oxazolone), dinitrochlorobenzene (DNCB), propyl paraben, geraniol, nickel sulfate, neomycin sulfate, germall II, 2-meth-

oxy-4-4propenylphenol (isoeugenol), eugenol (이상 Sigma Chemical Co., St. Louis, MO., U.S.A.), kathon CG (Rohm & Haas), cinnamic aldehyde (Aldrich chemical Co., West Saint, Wisconsin, U.S.A.)를 사용하였고 대조군으로 기체인 4:1 acetone:olive oil (AOO), DMSO (Sigma), ethanol을 사용하였다.

2) 실험동물

생후 6-10주된 BALB/C 마우스를 대한실험동물센터(충북 음성군)에서 구입하여 사용하였다.

3) ELISA

IFN- γ 와 IL-1 β 의 정량을 위해 ELISA kit (Genzyme, Cambridge, MA, USA)를 사용하였다.

2. 방 법

1) 접촉과민반응 유발과 배수 림프절 세포의 배양

BALB/C 마우스의 양쪽귀에 25 μ l의 기제와 알레르겐을 연속적으로 3일간 도포 하였다. 기제와 알레르겐을 처음 도포한 날부터 4일째에 배수 림프절인 귀 림프절(auricular lymph node)을 채취하였다. Mesh를 간 60 mm의 petri dish에 10% fetal calf serum (FCS)이 섞인 RPMI-1640 (10% FCS in RPMI)를 1-2 ml를 넣고 채취한 귀 림프절을 놓았다. 그리고 5 ml의 syringe의 뒤끝으로 mesh위에 놓인 귀 림프절을 으갠 후, mesh로 걸러 림프절 세포 suspension을 만들고 10% FCS in RPMI로 2회 세척하였다. 귀 림프절 세포 수를 1×10^7 cells/ml로 맞추어 96-well tissue culture plate에 넣어 5% CO₂가 포함된 37 $^{\circ}$ C 배양기에서 24시간 배양하였다. 배양 후 얻은 상청액을 700xg에서 5분간 원심분리하여 침전물을 버리고 ELISA를 시행하기전까지 영하 70도에 보관하였다.

2) ELISA를 이용한 IFN- γ 와 IL-1 β 의 정량

영하 70 $^{\circ}$ C에 냉동 보관되었던 배양상청액을 37 $^{\circ}$ C의 수조에서 10분간 서서히 녹인 후 IFN- γ 와 IL-1 β 의 농도를 ELISA kit로 측정하였다. 약술하면 다음과 같다.

IFN- γ 의 양을 측정하기 위해 anti-mouse IFN- γ antibody로 부착된 96-well tissue culture plate에 배양 상청액 100 μ l를 넣은 후 실온에서 2시간 배양 후 완충액으로 4회 세척하였다. Polyclonal goat anti-murine IFN- γ 100 μ l를 더한 후 실온에서 2시간 배양시키고 완충액으로 4회 세척하였다. Anti-goat-peroxidase 100 μ l를 더한 후 실온에서 1시간 더 배양시켰다. 그후 기질 100 μ l를 넣은 후 실온에서 10분간 배양시켰다. Kit에 포함된 반응중지액 100 μ l를 넣고 0 pg/ml의 IFN- γ 를 blank로 정하여 450 nm의 자외선에서 각 well의 흡광도를 측정하였다.

IL-1 β 의 양을 측정하기 위해 anti-mouse IL-1 β monoclonal antibody가 부착된 96-well tissue culture plate에 상청액 100 μ l를 넣고 37 $^{\circ}$ C에서 1시간 배양한 후 완충액으로 4회 세척하고 종이수건에서 말렸다. 그 후 biotinylated anti-mouse IL-1 β 100 μ l를 넣은 후 37 $^{\circ}$ C에서 1시간 더 배양시키고 완충액으로 4회 세척하고 말렸다. 그 후 horseradish peroxidase-streptavidin 100 μ l를 넣고 37 $^{\circ}$ C에서 30분간 배양시킨 후 kit에 준비된 기질 100 μ l를 넣고 실온에서 10분간 배양시켰다. Kit에 포함된 반응중지액 100 μ l를 넣고 0 pg/ml의 IL-1 β 를 blank로 정하여 450 nm의 자외선에서 각 well의 흡광도를 측정하였다.

3) 알레르겐의 농도와 시간에 따른 배수 림프절세포의 IFN- γ 와 IL-1 β 의 생산의 변화

알레르겐의 농도에 따른 IFN- γ 의 생성변화를 관찰하기 위해 oxazolone 0.25%, 0.5%, 1.0%와 DNCB 0.5%, 1.0%, 2.0%로 감작시킨 마우스의 귀 림프절세포를 24시간 배양하여 얻은 상청액을 사용하였다. 또 배양시간에 따른 변화를 관찰하기 위해 1.0% oxazolone과 1.0% DNCB로 감작 후 마우스의 귀 림프절을 취하여 0시간, 6시간, 9시간, 24시간, 48시간 배양 후 상청액에서 IFN- γ 와 IL-1 β 의 변화를 관찰하였다.

4) 중등도 및 약알레르겐의 감작에 의한 배수 림프절세포의 IFN- γ 와 IL-1 β 의 생산의 변화

중등도 및 약알레르겐에 의한 IFN- γ 와 IL-1 β 의 생성변화를 알아보기 위해 50% propyl paraben, 75% geraniol, 1% kathon CG, 50% nickel sulfate, 50% neomycin sulfate, 50% germall II, 10% isoeugenol, 50% eugenol, 10% cinnamic aldehyde로 감작시킨 마우스의 귀 림프절을 취하여 24시간 배양한후 배양상청액으로 IFN- γ 와 IL-1 β 의 변화를 관찰하였으며, 대조군으로 기제인 AOO, DMSO, ethanol을 사용하였다.

결 과

1. 알레르겐 농도에 따른 배수 림프절세포의 IFN- γ 생산

Oxazolone 0.25%, 0.5%, 1.0%로 접촉과민반응을 일으킨 BALB/C에서 배수 림프절세포의 24시간 배양 후 생산된 IFN- γ 의 농도는 각각 23467.9 pg/ml, 25103.2 pg/ml, 13409.1 pg/ml로 0.5% oxazolone에서 가장 높은 농도를 보였다 (Fig. 1).

DNCB 0.5%, 1.0%, 2.0%에 의한 접촉과민반응을 일으킨

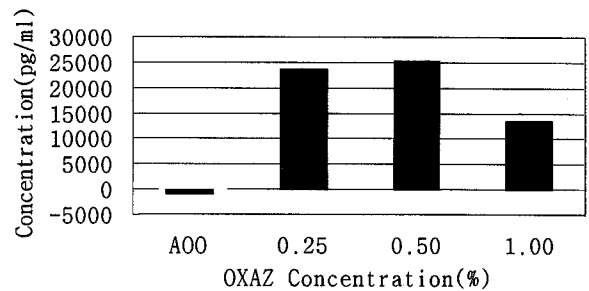


Fig. 1. Production of interferon- γ after sensitization of both ears of mice with different concentrations of oxazolone.

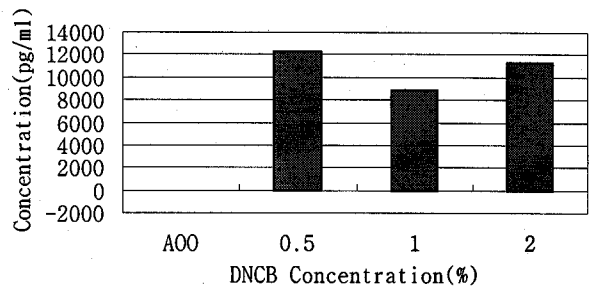


Fig. 2. Production of interferon- γ after sensitization of both ears of mice with different concentrations of DNCB.

BALB/C에서 배수 림프절세포 24시간 배양 후 생산된 IFN- γ 의 농도는 각각 12281.1 pg/ml, 8916.7 pg/ml, 11299.8 pg/ml로 각 농도의 DNCB에서 생산되는 IFN- γ 의 농도는 비슷하였다 (Fig. 2).

2. 배양시간에 따른 배수 림프절세포의 IFN- γ , IL-1 β 생산

1.0% oxazolone에 의한 접촉과민반응시 배수 림프절세포의 IFN- γ 생산은 배양 9시간 (2058.5 pg/ml)부터 점차 증가하여 배양 24시간 (19768.5 pg/ml), 배양 48시간 (21368.5 pg/ml)까지 계속 증가하는 소견을 보였으며 기제인 AOO를 도포한 군에서는 IFN- γ 생성을 관찰할 수 없었다 (Fig. 3).

1.0% DNCB에 의한 접촉과민반응시 배수 림프절세포의 IFN- γ 생산은 배양 6시간 (225.4 pg/ml)부터 증가하기 시작하여 배양 10시간 (355.6 pg/ml), 배양 21시간 (1967.7 pg/ml), 배양 24시간 (8556.2 pg/ml), 배양 48시간 (17898.3 pg/ml), 배양 72시간 (20641.9 pg/ml)까지 계속 증가하였고, 배양 120시간 (20401.6 pg/ml)까지도 계속 증가된 소견을 보였으며, 기제인 AOO를 도포한 경우 IFN- γ 생산에 큰 변화를 관찰할 수 없었다 (Fig. 4).

IL-1 β 는 1% oxazolone에 의한 접촉과민반응의 배수림

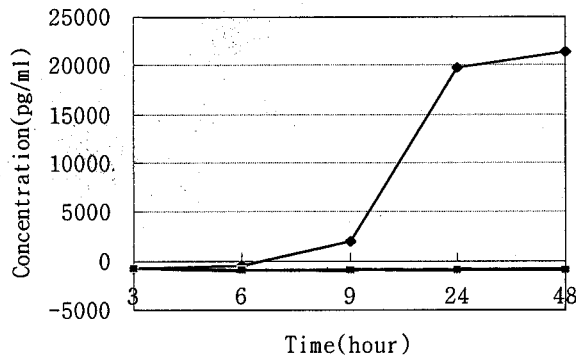


Fig. 3. Time course of interferon- γ production after sensitization of both ears of mice with 1% oxazolone. Lymph node cells prepared from mice exposed to 1% oxazolone(◆) or AOO(■) were cultured for various incubation times.

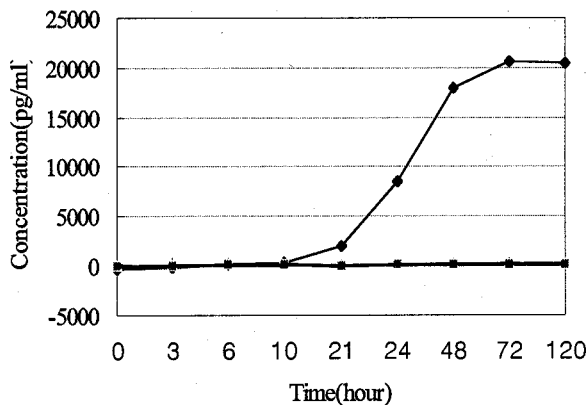


Fig. 4. Time course of interferon- γ production after sensitization of both ears of mice with 1% DNCB. Lymph node cells prepared from mice exposed to 1% DNCB(◆) or AOO(■) were cultured for various periods.

프절 세포에서 배양 9시간 (333 pg/ml), 24시간 (256.6 pg/ml) 과 48시간 (454.5 pg/ml)에서 증가된 듯한 소견을 보였으나, 기제인 AOO를 도포한 군에서도 배양 24시간 (294.8 pg/ml), 배양 48시간 (193.4 pg/ml)에서도 증가된 소견을 보여 의미 있는 결과를 관찰하지 못하였다.

3. 중등도 및 약알레르겐에 의한 배수 림프절의 IFN- γ 와 IL-1 β 의 생산

중등도 및 약알레르겐중 isoeugenol, eugenol, cinnamic aldehyde는 배수 림프절세포에서 각각 1755.2 pg/ml, 471.8 pg/ml, 3538.5 pg/ml의 IFN- γ 의 생산을 보였다. 그리고 여러 약알레르겐중에서 germall II, eugenol, cinnamic aldehyde에 의한 접촉과민반응시 배수림프절 세포는 각각 265.6

pg/ml, 660.7 pg/ml, 597.1 pg/ml의 IL-1 β 을 생산하였다 (Table 1).

Table 1. Production of interferon- γ and interleukin-1 β (pg/ml) by auricular lymph node cells after sensitization of both ears of mice with several kinds of allergens and vehicles.

	IFN- γ	IL-1 β
AOO	-	-
DMSO	-	-
Ethanol	-	-
Propyl paraben	-	-
Geraniol	-	-
Kathon CG	-	-
Nickel sulphate	-	-
Neomycin	-	-
Germall II	-	265.6(+)
Isoeugenol	1755.2(+)	-
Eugenol	471.8(+)	660.7(+)
Cinnamic aldehyde	3538.5(+)	597.1(+)

고 찰

접촉피부염은 피부과 내원환자의 3-10% 정도를 차지하는 매우 흔한 질환중 하나이며, 이중 약 30-50%는 알레르기성 접촉피부염이다¹⁹. 알레르기성 접촉피부염을 일으키는 알레르겐이 피부표면에 접촉하면 이것은 피부의 항원전달 세포에 의하여 주위 배수 림프절로 이동된다¹. 배수 림프절에서 항원전달세포는 T 림프구에 항원을 전달하여 항원에 노출되지 않았던 T 림프구를 기억 T 림프구로 변화시킨다. 이 감작과정중에 배수 림프절에 있는 세포들은 여러가지 cytokine 들을 분비하면서 세포들이 증식한다². IL-1은 감작 초기에 배수 림프절에서 생성되는 것으로 알려져 있다. 즉 알레르겐을 가진 랭거한스세포가 국소 림프절에 도착하는 것이 IL-1의 초기 생성에 중요한 것으로 알려져 있다²⁰.

일반적으로 감작반응에서 T 림프구의 활성화는 다양한 cytokine의 생성과 분비와 관계있다. Yamazaki 등은 접촉감작 후 24시간 뒤 IFN- γ , IL-6, IL-1 β 가 림프절에서 표현되며, 48시간 후 이들 cytokine들 외에도 IL-2, IL-4, IFN- α 가 표현됨을 관찰하였다. 그리고 IFN- γ knockout mice를 사용하여 Th1 type의 여러가지 cytokine 중 IFN- γ 가 접촉과민 반응에 특히 중요함을 관찰하였다²¹. 또 Fujisawa 등은 쥐에 hapten을 이용한 접촉과민반응 12시간 후 배수 림프절에서 IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-10, IFN- γ , TNF- α 의 cy-

tokine mRNA가 증가하는 것을 관찰하였다²². Marcinkiewicz 등은 접촉감작 후 활성화된 배수 림프절세포는 IL-1, IL-2, IL-3, IL-6, granulocyte/macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), interferon 등 다수의 cytokine 을 생산함을 보였고 이렇게 생산된 cytokine의 양은 T 림프구 증식반응의 정도와 밀접한 상관관계가 있었다^{23,24}. 저자들은 배수 입과절세포의 상청액으로부터 IL-1 β 와 IFN- γ 의 생산량의 변화를 살펴보았다. 본 실험에서 IFN- γ 는 배양 6시간부터 증가하기 시작하여 배양 5일 까지 계속 증가된 소견을 보였고, IL-1 β 는 oxazolone에 의한 접촉감작 후 배양 9시간, 24시간, 48시간에서 증가하는 듯한 소견을 보였다. 이처럼 배양 24시간, 48시간 후 배수림프절세포에서 IL-1 β 와 IFN- γ 가 증가하는 것은 Yamazaki 등²¹과 Fujisawa 등²²의 실험 결과와 일치하였다.

접촉과민반응을 일으키는 물질은 대부분 분자량이 작은 화학물질이다. 어떤 화학물질이 접촉과민반응을 유발할 수 있는지 예측하기 위하여 많은 검사법들이 개발되어 사용되고 있다. 이 중 guinea pig를 이용하는 방법으로는 Draize test^{3,4}, guinea pig maximization test^{5,6}, occluded patch test of Buehler^{7,8}, split adjuvant technique, guinea pig optimization test^{9,10} 등이 있으며 sensitization을 시킨 guinea pig에 화학물질을 재차 접촉시켰을때 발생하는 홍반과 부종을 관찰하는 방법들이다. 그러나 이들 방법은 발생하는 홍반을 눈으로 관찰하는 주관적인 방법이며, 염료나 자극성 화학물질을 사용하였을때 홍반을 관찰하기가 어려운 등의 단점이 있다.

1968년 Asherson과 Ptace²⁵이 마우스에서 접촉과민반응을 처음 보고한 이래, 마우스에서 발생하는 접촉과민반응의 면역학적 특징에 대한 많은 연구가 이루어졌을뿐만 아니라^{1,15,26,28} 마우스를 이용하여 알레르겐을 찾기위한 검사 방법들이 함께 연구되었다. 이 중 화학물질을 쥐의 귀에 도포한 후 배수 림프절세포의 증식반응을 정량적으로 관찰함으로써 감작능을 검사하는 LLNA가 개발되었다. LLNA에는 배수 림프절세포를 체외 배양하면서 ³H-methyl thymidine을 부착시켜 배수 림프절세포의 증식 정도를 관찰하는 *in vitro* LLNA가 주로 이용되었으나, 그 후 쥐의 귀에 알레르겐을 감작시킨 후 ³H-methyl thymidine을 쥐의 꼬리 정맥에 주사하여 체내(배수 입과절내)에서, 배수 림프절세포의 증식을 관찰하는 *in vivo* LLNA가 개발되어 감수성이 향상되었다. LLNA는 빠르고 객관적이고 정량적인 방법이므로 화학물질의 접촉과민반응 유발의 선별방법으로 많이 사용되고 있으나 ³H-methylthymidine이라는 방사성 동위원소를 사용하는 단점이 있다.

본 실험에서는 oxazolone과 DNCB와 같은 강 및 중등도 알레르겐뿐 아니라 eugenol, cinnamic aldehyde 등의 약알레르겐으로 감작시킨 배수 림프절세포에서 IFN- γ 와 IL-1 β 의 생산을 관찰하였다. 그러므로 배수 림프절세포에서 ELISA로 IFN- γ 와 IL-1 β 의 생산을 관찰하는 것이 접촉과민반응을 일으키는 알레르겐을 찾아내는 방법으로 이용될 수 있을 뿐 아니라 약알레르겐까지도 찾아낼 수 있는 방법으로 시도될 수 있으리라 생각한다.

결론

여러가지 알레르겐과 기제로 접촉과민반응을 일으킨 마우스의 배수 림프절세포가 IFN- γ 와 IL-1 β 를 생산함을 관찰하였으며, eugenol, cinnamic aldehyde 등의 약알레르겐도 IFN- γ 와 IL-1 β 를 생산함을 관찰하였다. 그러므로 배수 림프절세포에서 생성된 IFN- γ 와 IL-1 β 를 ELISA로 측정하는 것이 약알레르겐을 포함하여 알레르겐을 찾아내는 방법으로 이용될 수 있으리라 생각한다.

참고문헌

1. Kripke ML, Dunn CG, Jeevan A, Jang J, Bucana C. Evidence that cutaneous antigen-presenting cells migrate to regional lymph nodes during contact sensitization. *J Immunol* 1990;145:2833-8
2. Schuler G. Contact allergy. *Wien Klin Wochenschr* 1993; 105:641-7
3. Draize JH, Woodward G, Calvery HO. Methods for the study of irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membranes. *J Pharmacol Exp Ther* 1944;82:377-90
4. Johnson AW, Goodwin BF. The Draize test and modifications. *Curr Probl Dermatol* 1985;14:31-8
5. Magnusson B, Kligman AM. The identification of contact allergens by animal assay, the guinea pig maximization test method. *J Invest Dermatol* 1969;52:268-76
6. Wahlberg JE, Boman A. Guinea pig maximization test. *Curr Probl Dermatol* 1985;14:59-106
7. Buehler EV. Delayed contact hypersensitivity in the guinea pig. *Arch Dermatol* 1965;91:171-7
8. Buehler EV. A rationale for the selection of occlusion to induce and elicit delayed contact hypersensitivity in the guinea pig. *Curr Probl Dermatol* 1985;14:39-58
9. Maguire HC Jr. The bioassay of contact allergy in the guinea pig. *J Soc Cosmet Chem* 1973;24:151-62
10. Maguire HC Jr, Cipriano D. Split adjuvant technique. *Curr*

- Probl Dermatol 1985;14:107-13
11. Maurer T, Thomas P, Weirich EG, Hess R. *The optimization test in the guinea pig.* Agents Actions 1075;5:174-9
 12. Mauer T. *The optimization test.* Curr Probl Dermatol 1985; 14:114-51
 13. Tanaka K. *Contact sensitivity in mice induced by toluene diisocyanate (TDI).* J Dermatol 1980;7L277-80
 14. Johnson KW, Holsapple MP, White KL Jr, Munson AE. *Assessment of delayed contact hypersensitivity in mice.* Toxicologist 1984;4:109
 15. Mor S, Ben-Efraim S, Leibovici, Ben-David A. *Successful contact sensitization to chromate in mice.* Int Arch Allergy Appl Immunol 1988;85:452-7
 16. Kimber I, Weisenberger C. *A murine local lymph node assay for the identification of contact allergens.* Arch Toxicol 1989;63L274-82
 17. Kimber I, Hilton J, Botham PA. *The murine local lymph node assay: results of an inter-laboratory trial.* Toxicol Lett 1991;55L203-13
 18. Kimber I, Basketter DA. *The murine local lymph node assay: A commentary on collaborative studies and new directions.* Food Chem Toxicol 1992;30:165-9
 19. 은희철, 이유태. 접촉피부염 환자에 있어서 화장품 관련항원의 첩포시험에 관한 연구. 대한피부연구학회지 1984; 22:187-90
 20. Hopkins SJ, Humphrey M, Kinnaird A, Jones DA, Kimber I. *Production of interleukin-1 by draining lymph node cells during the induction phase of contact sensitization in mice.* Immunol 1990;71:493-6
 21. Yamazaki S, Kuwahara H, Kakishima H. *Analysis of contact dermatitis by cytokines.* Yakugaku Zasshi 1997;117: 155-61
 22. Fujisawa H, Kondo S, Wang B, Shivji GM, Sauder DN. *The role of CD4 molecules in the induction phase of contact hypersensitivity cytokine profiles in the skin and lymph node.* Immunol 1996;89:250-5
 23. Marcinkiewicz J, Chain BM. *Antigen-specific inhibition of IL-2 and IL-3 production in contact sensitivity to TNP.* Immunol 1989;68:185-9
 24. Marcinkiewicz J, Chain BM. *Further studies on the regulation of lymphokines biosynthesis in contact sensitivity.* Cytokine 1990;2:344-52
 25. Asherson GL, Ptak W. *Contact and delayed hypersensitivity in the mouse.* Immunol 1968;15:405-16
 26. Asherson GL, Zembala M, Thomas WR, Perera MACC. *Suppressor cells and the handling of antigen.* Immunol Rev 1980;50:3-45
 27. Claman HN, Miller SD, Conlon PJ, Moorhead JW. *Control of experimental contact sensitivity.* Adv Immunol 1980;30: 121-57
 28. Claman HN, Miller SD, Sy MS, Moorhead JW. *Suppressive mechanisms involving sensitization and tolerance in contact allergy.* Immunol Rev 1980;50:105-13213