

DNCB에 의한 생쥐 복강피부의 지연형 과민반응에 관한 연구

김진택 · 박인식 · 안상현

동국대학교 한의과대학 해부학교실

〈초록〉 특정 외부항원에 노출됨으로써 생기는 피부에서의 지연형 면역과민반응을 형태학적으로 조사하기위해서 시행된 본 실험은 DNCB에 의해 인위적인 알러지성 접촉피부염을 유발시킨 후 시간의 경과에 따른 피부의 일반적인 형태, 비만세포의 변화, IL-2 receptor의 변화를 관찰하였다. DNCB 2차감작 후 실시된 contact hypersensitivity assay 결과 대조군에 비해 DNCB 처리군에서는 ear swelling이 점점 증가하여 48시간에 가장 높게 측정 되었다. 피부 조직의 일반적인 형태변화도 DNCB접종 후 48시간에서 가장 심한 피부손상의 양상을 보였는데, 진피에서 림프구 aggregation의 증가, 혈관 직경의 증가, 표피로의 림프구 infiltration 증가가 일어났다. Semithin section을 통해 관찰된 DNCB 처리군의 미세구조의 변화는 표피세포질내 액포화의 증가와 세포사이공간의 확장이었다. 진피에서 비만세포 수가 증가되었으며, 그 형태는 분비과립을 함유하고 있는 degranulated type으로 나타났다. 피부 진피에서 IL-2 receptor 양성반응세포수가 증가되었으며, 표피로 infiltration된 IL-2 receptor 양성반응세포가 48시간에서 가장 많이 나타났다. 이상의 결과로 미루어 DNCB 감작에 의해 세포성 면역과민반응이 일어나며, 이후 면역관여세포들의 복합적인 작용에 의해 급격한 염증반응이 일어나게 된다.

중심 낱말 : 지연형 면역과민반응, 알러지성 접촉피부염, DNCB, 비만세포, IL-2R

I. 서 론

면역과민반응은 후천성 면역반응(adaptive immune response)이 과도하거나 부적절한 형태로 일어나 염증반응과 조직손상을 야기하는 현상으로서, Roitt 들(1993)에 의해 제1형인 즉시형 과민반응(Type I or immediate hypersensitivity), 제2형인 항체의존성 세포독성 과민반응(Type II or antibody-dependent cytotoxic hypersensitivity), 제3형인 면역복합체 매개형 과민반응(Type III or immune-complex media-

ted hypersensitivity) 그리고 제4형인 지연형 과민반응(Type IV or delayed type hypersensitivity)의 4가지 형으로 분류된다. 특히 면역과민반응 중 1, 2, 3 형이 항체 매개형 과민반응인데 비해, 제4형은 T 림프구와 대식세포(macrophages) 등에 의해 발생하는 세포 매개형 과민반응으로 항원과 접촉시 수시간에서 72시간 사이에 비교적 늦게 염증반응이 시작되기 때문에 지연형 과민반응이라 부른다. 지연형 과민반응으로 유발될 수 있는 질환은 알러지성 접촉피부염, 결핵, 나병, 장기이식 거부반응, 유육종증 등이 있다.

이기영(1992)의 보고에 의하면 이러한 면역면역반응은 최근 산업발달로 인하여 합성물질의 범람과 환경오염이 가속화되면서 각종 allergen이 급증하여 면역과민성질환을 유발이 가속화되는 추세이며, 아울러 면역과민반응을 조절할 수 있는 치료제 개발에 많은 관심이 집중되어 있다.

외부환경과의 경계인 피부에서 일어나는 외부항원에 대한 면역과민반응기전은 피부를 통해 들어온 다양한 종류의 항원(대부분 분자량이 600 M.W. 이하인 hapten)이 상피의 운반 단백질과 결합된 후 표피내의 항원제공세포(antigen presenting cell : APC)인 랑게르한스세포(langerhans cell : LC)에 노출되면서 시작된다고 Boernigter 들(1985), Han(1995) 그리고 Rees 들(1990)이 보고하였다. 외부항원을 인지한 LC는 주변 림프절로 이동하여 도움 T 림프구(helper T lymphocyte)에 항원제공을 하게되며, 항원제공 받은 도움 T 림프구는 활성화(activation)된다고 Friedmann 들(1993), Steven 들(1987), Hill 들(1990) 그리고 Margaret 들(1990) 등이 보고하였다. 도움 T 림프구의 활성화는 세포성 면역반응의 활성화라는 면역연쇄반응(immunological cascade)을 작동하는 계기가 되며 그 결과 세포독성 T 림프구(cytotoxic) T lymphocyte의 증식(proliferation)을 유도하게 된다. 이들은 혈관계를 통해 항원노출지역으로 이동(homing)하여 외부항원에 대한 세포성 면역반응을 하게 된다고 Kinnaird 들(1989), Cumberbatch와 Kimber(1990) 그리고 Steven(1987)은 보고하였다. 이를 1차 감각이라고 하며, 반응지체에 의한 지연형과민반응이라고도 한다. 특정 외부항원에 재차 감각되었을때는 급속한 면역과민반응에 의한 알러지성 접촉피부염이 유도된다고 Ole와 Timothy(1991)와 Torres 들(1991)은 보고되었다.

이러한 알러지성 접촉피부염의 유발에 관여하는 cytokine작용은 1) 각질형성세포, LC, 대

식세포가 분비하는 인터루킨-1(Interleukin 1 : IL-1) 각질형성세포의 성장자극을 자극하여 상피과형성(epidermal hyperplasia)과 granulocytes macrophage colony stimulating factor(GM-CSF)의 분비를 촉진하거나, LC의 수를 증가시키며-Dustin(1986)와 Raz(1988), 2) 도움 T 림프구가 분비하는 IL-2에 의한 T 림프구의 활성화 및 증식이 일어나고-Minami 들(1993)와 Smith(1988), 3) 각질형성세포가 분비하는 IL-3에 의한 비만세포의 증식, 단핵구세포(monocytes)의 활성화, 증식 그리고 각질세포의 증식을 유도하고-Danner와 Luger(1987), 4) Interferone γ (INF- γ)에 의한 각질형성세포와 진피 혈관내피세포에서의 ICAM-1의 발현이 증가되고-Wedi 들(1996), 5) 비만세포에서 분비한 histamine에 의한 potent vasoconstriction과 platelet-activating factor(PAF)에 의한 leukocyte의 이동이 촉진된다는 Holliday 들(1993)와 Rachel 들(1989)의 보고 등의 다양한 작용을 하는 것으로 알려져있다.

이러한 *in vivo* 실험을 통해 피부내에서의 과민한 세포성 면역반응으로 인해 일어나는 홍반(erythema), spongiosis 그리고 상피과형성을 Viraben 들(1990), Richard(1991) 그리고 Veronique 들(1995)에 의해 보고되었으며, Gregory와 Arther(1993)에 의해 *in vitro*에서 비만세포와 T 림프구의 증가가 하는 것으로 알려져있다.

본 실험은 특정 외부항원에 노출됨으로써 생기는 피부에서의 지연형 면역과민반응을 형태학적으로 조사하기위해서 시행된 것으로 DNCB에 의해 인위적인 알러지성 접촉피부염을 유발시킨 후 피부의 일반적인 형태, 비만세포의 변화, 세포성 면역반응의 활성화에 중추적인 기능을 담당하고 있는 IL-2 receptor의 변화를 관찰하였다. 또한 저자들의 본 연구는 알러지성 접촉피부염 치료제 개발에 있어 형태학적으로 치료효능의 조사를 위한 기본적인 비교 자료로 활용가치가 인정되어 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 실험 동물

생명공학연구소에서 분양 받은 태령 4주된 ICR계 생쥐 암컷을 무균사육장치내에서 2주일 동안 적응시킨 후 체중 30g된 생쥐를 선별하여 사용하였다. 대조군, DNCB처리군으로 나눈 후 다시 DNCB 2차감작 후 시간의 경과에 따라 24, 48 그리고 72시간으로 세분시켰으며 각각에 5마리씩 배정하였다. 한편 Contact hypersensitivity assay(ear swelling test)를 위해 각 군에 별도로 10마리씩 배정하여 실험하였다.

2. DNCB 도포에 의한 피부 면역과민반응 유발

DNCB처리군에 5% 2,4-dinitrochlorobenzene (DNCB; in 4:1 acetone:Olive oil) 25 μ l을 면도된 오른쪽 살바위쪽 복부 2cm²에 도포하여 1차 감작시켰다. 1차 감작일로 7일 경과 후 2.5% DNCB 4 μ l을 면도된 왼쪽 살바위쪽 복부에 도포하여 2차 감작시켰다. 한편 Contact hypersensitivity assay를 실시하기 위해서 생쥐 오른쪽 귀에 2.5% DNCB 4 μ l을 도포하여 2차 감작시켰다. 대조군에서는 DNCB가 포함되지 않은 acetone-olive oil 용액만을 도포하였다.

3. Contact hypersensitivity assay

오른쪽 귀에 DNCB 2차감작한 후 24, 48 그리고 72시간에 귀의 두께를 vernier calipers(Mitutoyo, JAPAN)로 측정된 후 ear swelling 평균값을 구하여 각 각의 차이를 비교하였다.

4. 피부 조직표본 제작

2차 감작 후 24, 48 그리고 72시간에 생쥐를 경추 탈구로 희생시켰다. DNCB 처리된 부위인 왼쪽 살바위쪽 복부를 적출한 후 10% 중성 포르말린 용액에 실온에서 24시간 동안 고정된 후 통상적인 방법으로 paraffin에 포매하고 5 μ m 두

께로 연속 절편을 만들었다. 만들어진 연속 절편은 Hematoxyline과 Eosin으로 염색하여 표본을 제작하였다.

5. 피부 냉동절편 제작

2차감작 후 적출된 왼쪽 살바위쪽 복부 피부 절편을 4% paraformaldehyde로 고정하였다. 고정된 조직의 동결과괴 방지(cryoprotection)를 하기 위하여 30% sucrose 용액에 24시간 침적시킨 후 냉동절편기(cyrostat)로 5 μ m두께로 냉동절편하였다.

6. 피부 비만세포 변화 관찰

위의 4. 방법에 의해 만들어진 5 μ m의 연속 절편을 Luna's method에 의거하여 aldehyde fuchsin에 30분간 염색한 후 Weigert's iron hematoxylin과 methyl orange solution에 각 1분, 5분 동안 대조 염색한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

7. 피부의 IL-2 receptor 변화 관찰

피부에서 나타나는 IL-2 receptor 변화를 관찰하기 위해서 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 우선 냉동 절편을 1:500으로 희석된 normal rabbit serum에 30분 동안 반응시킨 후 1:500으로 희석된 1차 항체인 rat anti-mouse IL-2 receptor(CD25R; Vector LAB, USA)에 실온에서 24시간동안 반응시켰다. 그런 다음 1:250으로 희석된 2차 항체인 biotinylated rabbit anti-rat IgG(Vector LAB, USA)에 1시간 동안 반응시킨 후 Avidin biotin complex(ABC, Vector LAB, USA)에 30분간 반응시켰다. 통상적인 방법으로 DAB로 발색하고 Hematoxylin에 대조 염색한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

8. 피부의 Semi-thin 절편 제작

피부 절편을 1/2 Karnovsky 용액에 선고정된 후 1% OsO₄ 용액에 후고정하였다. Uranyl ace-

tate에 90분 동안 염색한 후 통상적인 방법으로 epon에 포매하였다. 조직절편은 ultramicrotome (LKB, Nova)으로 1 μ m 두께로 절편을 만들어 toluidine blue로 염색한 후 광학현미경으로 피부 미세구조의 변화를 관찰하였다.

III. 결 론

1. Contact hypersensitivity assay

Acetone & Olive 용액만을 painting한 대조군에서는 실험기간동안 right ear swelling은 변화

가 나타나지 않았지만, DNCB 처리군에서는 대조군과 비해 유의성있는 증가를 보였다(Table. 1).

우선 DNCB 처리군에서는 2차감작 후 24시간이 경과했을 때 오른쪽 귀의 두께는 400 \pm 7 μ m로 358 \pm 5 μ m인 대조군에 비해 증가된 양상을 보였으며 이러한 증가는 48시간이 되었을 때 418 \pm 10 μ m으로 가장 높은 증가를 보인 것으로 관찰되었다. 그러나 이러한 증가도 72시간이 되었을 때에는 오히려 406 \pm 6 μ m으로 약간 감소되는 경향성을 보였으나, 여전히 대조군에 비해서는 월등히 증가된 것으로 나타났다.

Table. 1. The change of ear swelling in mouse after secondary sensitization by 2.5% DNCB painting. The mean of ear swelling began to increase at hour-24 after secondary sensitization and reach a peak at hour-48.

group	(unit : μ m)			
	Initiation	24	48	72 hrs
Control	354 \pm 5	358 \pm 5	359 \pm 3	355 \pm 6
DNCB	356 \pm 5	400 \pm 7*	418 \pm 10*	406 \pm 6*

Abbreviation) M \pm S.D : Mean \pm Standard Deviation, Control : Acetone & Olive painted group, DNCB : DNCB painted group, * : P<0.05 compared with Control.

2. 피부의 일반적인 형태 변화

대조군은 실험기간동안 정상적인 피부의 형태를 유지하였으나, DNCB 처리군은 2차접종 후 알려지성 접촉 피부염 증상이 나타나는 것으로 관찰되었으며, 시간의 경과에 따라 달랐다.

우선 2차 감작 후 24시간이 경과했을 때 DNCB 처리군에서는 외부 형태적으로 DNCB 도포 부위에서 붉은 좁쌀 형태의 erythematous papule가 일부 나타나기 시작하였고, 내부적으로는 진피층에서는 림프구가 DNCB 도포 부위로 일부 모이는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 변화는 48시간이 되었을 때 절정에 도달하여 림프구 응집으로 생긴 lobule과 직경이 큰 모세혈관이 기저판아래 진피층에서 다수 관찰되었다

(Fig. 1). 특히 표피의 기저층(stratum basale)의 원주세포주변에서의 림프구 침윤(infiltration)이 관찰되었으며(Fig. 2) 원주세포들사이의 결합이 파괴되어 생긴 세포 사이공간이 관찰되었다(Fig. 3). 또한 기저층과 일부 가시층에서는 세포내에 액포화(vacuolation)를 관찰할 수 있었으나 이러한 변화들은 72시간이 되었을 때 약화되는 양상으로 관찰되었다.

3. 피부내 비만세포 변화 관찰

염증 반응에서 중요한 기능을 담당하는 비만세포의 분포 변화는 비만세포내에 함유되어 있는 histamine, heparin 그리고 serotonin 등의 sulfated mucopolysaccharide를 Luna's method로 염

색한 후 관찰하였다. 먼저 대조군에서는 정상적인 피부에서처럼 진피와 하피(hypodermis)에서 방추형의 비만세포가 분포하였으며, 이들의 형태는 sulfated mucopolysaccharide 과립을 제대로 함유하고 있는 granulated type으로 관찰되었다(Fig. 5). 대조군의 비만세포 분포 양상은 실험 기간동안 유지되었다. 그러나 DNCB 처리군은 시간의 경과에 따라 대조군과는 다른 비만세포의 수와 분포 양상이 관찰되었다.

우선 DNCB 처리군에서의 비만세포는 2차감작 후 서서히 증가하였으며, 이러한 증가는 48시간이 되었을 때 최고에 이르렀다. 그러나 48시간의 DNCB처리군에서 나타나는 비만세포의 형태는 세포내 함유물이 이미 분비된 형태(degranulated type)로 세포질내에는 sulfated mucopolysaccharide 과립만이 일부 남아 있는 것으로 관찰되었으며(Fig. 4.), 이러한 degranulation 상태의 비만세포는 진피에서 잘 나타나는 것으로 관찰되었다(Fig. 6.)

4. 피부내 IL-2 receptor의 변화 관찰

피부내 IL-2 receptor의 변화는 CD25R 항체를 이용한 면역조직화학적 염색 후 관찰되었다. 대조군의 진피에서 IL-2 receptor 양성반응세포가 적게 나타났으며 이러한 양상은 실험기간동안 지속되는 것으로 나타났다. 그러나 DNCB에 의한 2차감작된 DNCB 처리군은 대조군과는 다른 양상의 변화가 관찰되었다.

우선 DNCB 처리군의 IL-2 receptor 양성반응세포는 DNCB의 2차감작 후 시간이 경과할수록 증가하여 48시간에서 가장 많은 수가 나타났으며(Fig. 7-A.), IL-2 receptor의 양성반응성도 증가되는 것으로 관찰되었다. 또한 IL-2 receptor 양성반응세포가 표피로 infiltration을 되는 것이 빈번하게 관찰되었다(Fig. 7-B.).

IV. 고 찰

피부의 면역과민반응인 알러지성 접촉피부염은 생활양식의 변화와 산업의 급속한 발달로 인해 다양한 항원에 신체가 노출됨으로서 야기되는 피부염(eczema)으로 그 발병은 점차 증가되는 추세를 보이고 있다고 이기영(1992)은 보고하였다. 알러지성 접촉피부염에서의 면역과민반응의 유발은 특정 외부 항원-low molecular weight, high reaction, lipid-soluble hapten과 epidermal carrier protein의 conjugator(Boerrigter 등(1985), Rees 등(1990))-는 LC(CD1a⁺ DR⁺ LC)에서 내재화(internalization)의 과정을 거친 후(Detlef 등(1992), Detlef 등(1992), Detlef 등(1994)), 항원노출 주변 림프절(regional lymph node)의 paracortex에서 도움 T 림프구의 T cell receptor(TCR)에 의해 인식된다고 Kinnaid 등(1989)와 Cumberbatch와 Kimber(1990)가 보고되었다. 외부항원을 인식 후 도움 T 림프구는 autocrine인 IL-2 분비하여 세포성 면역활성을 일으킨다고 Minami 등(1993)과 Smith(1988)는 보고하였다. Cytokine 분비에 의해 면역활성된 CD8⁺ - 세포독성 T 림프구/ 억제 T 림프구(suppressor T lymphocytes), 항원 특이성 기억 T 림프구(TCR⁺ CD4⁺ IL-2R⁺ DR⁺ T lymphocyte)는 혈관계를 통해 항원 노출지역으로 이동하여 세포성 면역반응에 의한 haptenized epidermal cell을 파괴시킨다고 Baadsgaard와 Timothy(1991)가 보고하였다. 1차 감작된 T 림프구는 흉관(thoracic duct)을 통해 순환계로 들어가 recirculating lymphocyte pool로 합류하거나 특정 림프성 기관에 위치하게 된다. 항원에 감작된 후 항원 인식능력이 있는 채로 오랫동안 생존해 있는 기억 T 림프구(memory T lymphocytes)는 recirculating lymphocyte

pool에서 postcapillary venules를 통해 조직내로 이동하게 된다. 이때 기억 T 림프구가 원래 항원이 존재했던 특정 조직으로 유주하는 데는 내피세포 복귀 수용체 (endothelial homing receptors)의 선별적 선택에 의해 이뤄진다. 특정 조직으로 유주한 1차 감작된 기억 T 림프구는 표피 혹은 진피에서 CD1a⁺ DR⁺ LC와 CD1a⁻ DR⁺ non-LC나 진피 수지상세포(dermal dendritic cell)로부터 항원을 전달 받아 빠르고 강력한 2차 면역반응을 유발하여 알려지성 접촉피부염을 일으키게 된다고 Baadsgaard와 Timothy(1991)와 Torres 들(18)는 보고하였다.

T 림프구의 활성화와 염증반응을 유발하는데는 다양한 종류의 cytokine들이 작용한다. Jonathan 들(1992)의 보고에 의하면 주위 환경으로부터 각질형성세포(keratinocytes)가 자극되면 epidermal cell derived thymocyte activation factor(ETAf) : IL-1, GM-CSF, epidermal cell derived natural killer cell activating factor(ENKAF), IL-3 그리고 IL-6, TNF- α 등을 분비하게 되며, 각질형성세포표면에 intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1), E-Selectin 및 vascular cell adhesion molecule-1(VCAM-1)과 같은 표면 백혈구 부착 배위자(surface leukocyte adhesion ligand)를 생성하여 결국 단핵-식세포계열 백혈구, 림프구 및 중성호성백혈구들이 혈관 밖으로 빠져나오는 것을 촉진한다고 Raz 들(1988), Dustin 들(1986), Danner와 Luger(1987) 그리고 Thomas(1989) 등이 보고하였다. 이와 동시에 각질형성세포에서 분비되는 IL-8은 화학주성인자로 작용하여 T 림프구를 표피내로 끌어들여 각질형성세포의 ICAM-1과 이의 배위자인 T 림프구의 leukocyte function-associated antigen 1 (LFA-1)이 유착되며 그 결과 보다 많은 cytokine의 방출을 유도시킨다고 Grabbe(1984), Hancock 들(1988) 그리고 Jonathan(1992) 등이 보고하였다. 이러한 과정을 통하여 비활성 T 림프구가 자극되어 IL-2가 생성되며, 유리된 IL-2는 항원에 의해 활성화된 T 림프구의 IL-2 수용체에 부착하여 항원특이성 T 림프구의 완전

활성화를 유발하고 항원특이성 클론의 분화 및 증식을 일으킨다고 Minami 들(1993), Smith (1988) 그리고 Zaloom 들(1991) 등이 보고하였다. 결국 피부에 항원성 자극이 가해지면 각질형성세포, LC와 같은 단핵-식세포계열 세포 및 T 림프구 상호간의 세포 반응과 IL-1, IL-2, IL-8, TNF- α 를 비롯한 다양한 cytokine의 협동작용에 의해 항원 특이성 T 림프구가 활성화되어 세포성 면역반응을 유발하며 이때 발현되는 여러종류의 CAM과 비만세포에 의해 진피의 postcapillary venules를 통해 염증관련세포가 특정 조직으로 빠져나와 염증 반응을 유발하게 된다.

본 실험은 외부 항원에 대한 피부의 면역과민반응에 관해서 조사하기 위해 시행된 것으로 ear swelling test로 DNCB에 대한 면역과민반응을 확인한 후 표피의 손상과 회복, 피부내 림프구의 infiltration정도, 진피에서의 혈관의 변화, 비만세포의 변화 그리고 IL-2 receptor 발현 등을 관찰하였다.

DNCB를 오른쪽 귀 피부에 도포하여 swelling정도를 측정하는 contact hypersensitivity assay 결과 대조군에 비해 DNCB 처리군에서는 ear swelling이 점점 증가하여 48시간에 가장 높게 측정 되었다. 이러한 결과는 DNCB 감작에 의한 면역과민반응으로 생긴 피부의 부종(edema)에 의한 것으로 사료되며 이러한 시간 경과에 따른 Swelling의 변화양상은 Gregory과 Arthur(1993)의 보고와 일치하였다.

피부 조직의 일반적인 형태변화를 관찰한 바 대조군에 비해 DNCB 처리군에서는 DNCB 2차감작 후 진피에서 림프구 aggregation의 증가, 혈관 직경의 증가와 표피로의 림프구 infiltration 증가가 일어났으며 또한 semithin section한 표본 관찰을 통해 표피세포의 세포질내 액포화의 증가와 세포사이공간이 확장되는 표피세포의 손상이 관찰되었다. 이러한 일련의 변화는 알려지성 접촉피부염 유발시 나타나는 피부조직손상을 보고한 R. Viraben들(1990), Richard(1991), Veronique들(1995) 등의 보고와도 일치한다.

혈관투과성을 증가시키는 물질을 분비하는

비만세포는 본 실험의 결과에서도 DNCB 처리군에서는 대조군에 비해 비만세포의 수는 증가되었으며, DNCB 처리군에서의 비만세포는 그 형태가 분비과립을 함유하고 있는 degranulated type으로 나타났다. 이러한 결과는 외부특정항원에 의해 비만세포는 왕성한 세포분열을 하게 되며, 그 결과 비만세포의 수가 증가되는 것으로 생각된다. 이렇게 증가한 많은 수의 비만세포는 세포질내 과립을 분비하여 면역과민반응을 유도하게 되는 것으로 생각되며, 이는 Holliday 등 (1993) 이전의 *in vitro*의 결과와 일치하였다.

알러지성 접촉피부염에서 세포성 면역반응의 주요인자인 IL-2 receptor의 변화를 DNCB 2차 감작 후 피부에서 관찰하였다. 대조군에 비해 DNCB 처리군의 피부에서 IL-2 receptor 양성 반응세포수가 증가되었는데, 이는 과민한 세포성 면역반응시 나타나는 IL-2 receptor의 변화를 보고한 김 등(1995), 하(1991) 그리고 하 등 (1991)의 보고와 연관성을 가진다. 또한 DNCB 처리군의 표피에 침윤된 IL-2 receptor 양성 반응세포는 활성화된 T 림프구로 사료된다.

이상의 결과로 미루어보아 외부항원에 대해 피부에서 일어나는 세포성 면역과민반응은 IL-2 receptor에 의해 T 림프구의 증가되며, 이렇게 증가된 T 림프구는 항원노출지역의 각질세포와 비만세포 등에서 분비하는 여러 가지 cytokine에 의해 외부항원에 노출된 피부로 폭발적인 이동이 이루어진다. 이러한 면역과민반응은 외형적으로는 edema와 홍반으로 나타났으며, 또한 피부내에서는 피부상피세포의 손상, 피부상피내로의 T 림프구의 infiltration, 진피에서 혈관이 확장에 의한 직경이 큰 모세혈관의 빈번한 출현, 비만세포의 수의 증가와 같은 형태변화가 나타났다.

V. 참고 문헌

1. 김진택, 김동환, 안상현 : Sarcoma 180 cell이 생쥐 가슴샘의 T 림프구와 IL-2 수용기의

변화에 미치는 면역조직화학적 연구, 동국논집. 14 : 303, 1995.

2. 양준모 : 접촉피부염의 역학적연구, 대한피부과학회지. 21(2) : 165-169, 1983.

3. 하대유 : Lymphokine을 중심으로 면역반응 조절에 대하여, 녹십자의보. 5 : 232, 1991.

4. 하대유, 박병숙, 황희성 : 알콜이 IL-2 및 IL-6 생산과 체액성 및 세포성 면역반응에 미치는 영향, 대한면역학회지. 13 : 17, 1991.

5. A. Kinnaird, S. W. Peters, J. R. Foster, and I. Kimber : Dendritic Cell Accumulation in Draining Lymph Nodes during the Induction Phases of Contact Allergy in Mice. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 89 : 202-210, 1989.

6. B. Wedi, J. Elsner, W. Czech, J. H. Butterfield, and A. Kapp : Modulation of intercellular adhesion molecule 1(ICAM-1) expression on the human mast-cell line(HMC)-1 by inflammatory mediators. *Allergy.* 51 : 676-684, 1996.

7. Danner, M. and Luger, T. A. : Human keratinocytes and epidermoid carcinoma cell lines produce a cytokine with interleukin 3-like activity. *J. Invest. Dermatol.* 88 : 353-361, 1987.

8. Detlef Becker, Gerhard Kolde, Konrad Reske, and Jurgen Knop : An *in vitro* test for endocytotic activation of murine epidermal Langerhans cells under the influence of allergens. *J. Immuno. Methods.* 169 : 195-204, 1994.

9. Detlef Becker, Mansour Mohamadzadeh, Konrad Reske, and Jurgen Knop : Increased Level of Intracellular MHC Class II Molecules in Murine Langerhans Cells Following *In Vivo* and *In Vitro* Administration of Contact Allergens. *J. Invest. Dermatol.* 99 : 545-549, 1992.

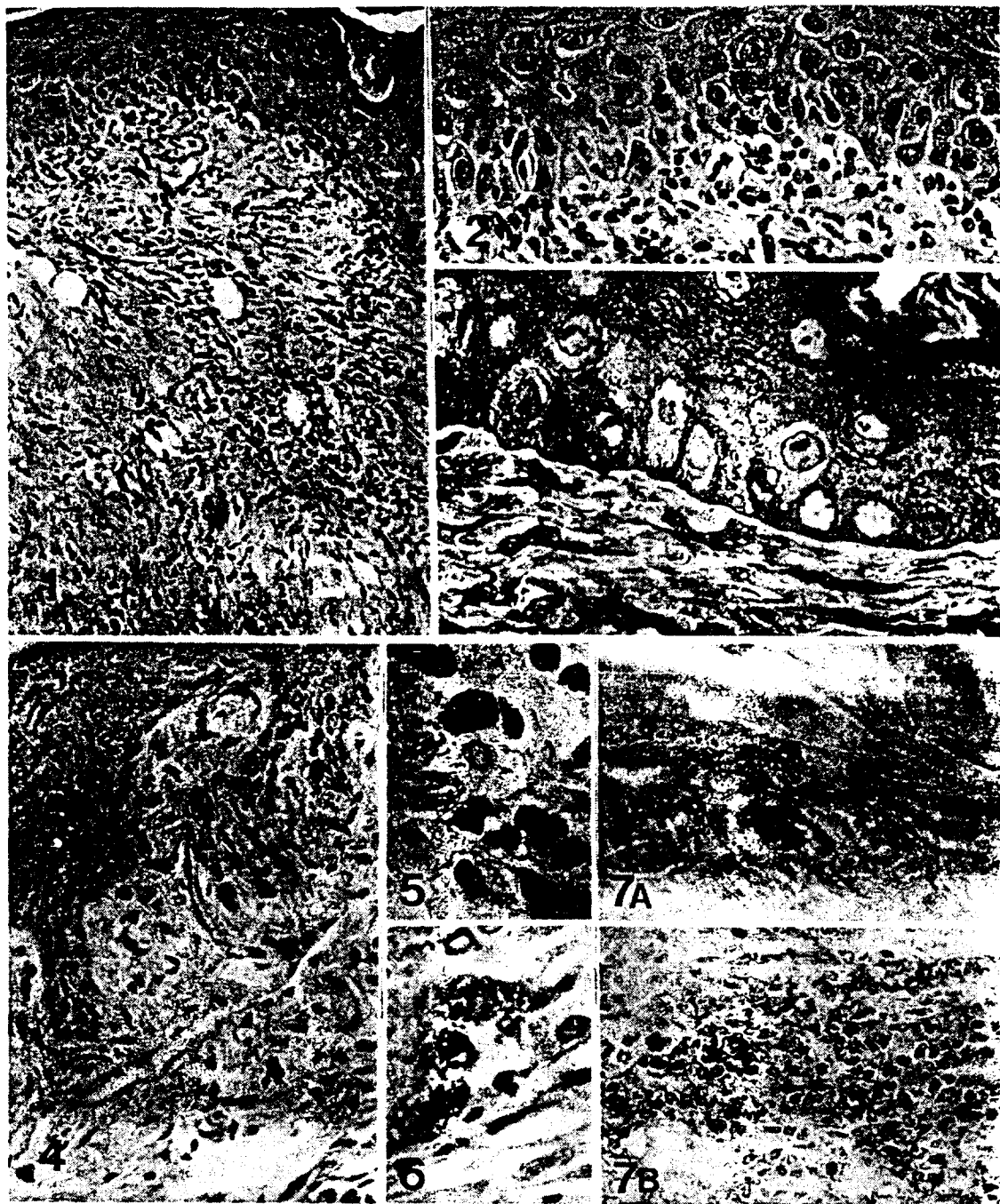
10. Detlef Becker, Ursula Neib, Sabine Neis,

- Konrad Reske, and Jurgen Knop : Contact Allergens Modulate the Expression of MHC Class II Molecules on Murine Epidermal Langerhans Cells by Endocytotic Mechanisms. *J. Invest. Dermatol.* 98 : 700-705, 1992.
11. Dustin, M. L., Rothlein, R., Bahn, A. K. : Induction by IL-1 and interferon : tissue distribution, biochemistry, and function of a natural adherence molecule(ICAM-1). *J. Immunol.* 137 : 245-254, 1986.
 12. Funk, J. O. and Maibach, H. I. : Horizons in pharmacologic intervention in allergic contact dermatitis. *J. Am. Acad. Dermatol.* 31 (6) : 999-1014, 1994.
 13. G. H. Boerrigter, H. Brill, and R. J. Schepfer : Hapten-specific antibodies in allergic contact dermatitis in the guinea pig. *Int. Archs Allergy. Appl. Immun.* 85 : 385-391, 1985.
 14. Grabbe, J., Czarnetzki, B. M., and Mardin, M. : Release of lipoxigenase products of arachidonic acid from freshly isolated human keratinocytes. *Arch Dermatol Res.* 276 : 128-130, 1984.
 15. Hancock, G. E., Kaplan, G., Cohn, Z. A. : Keratinocyte growth regulation by the products of immune cells. *J. Exp. Med.* 168 : 1395-1402, 1988.
 16. Hans, U. W. : How T cells Recognize Hapten. *Am. J. Con. Dermatitis.* 6(3) : 176-180, 1995.
 17. J. L. Rees, P. S. Friedmann, and J. N. S. Matthews : The influence of area of application on sensitization by dinitrochlorobenzene. *British. Foun. Dermatol.* 122 : 29-31, 1990.
 18. Jonathan N. W. N. Barker : Role of keratinocytes in allergic contact dermatitis. *Contact Dermatitis.* 26 : 145-148, 1992.
 19. K. Gregory Moore and Arthur M. Dannenberg Jr : Immediate and Delayed(Late phase) Dermal Contact Sensitivity Reactions in Guinea Pigs. Passive Transfer by IgG1 Antibodies, Initiation by Mast Cell Degranulation, and Suppression by Soybean Proteinase Inhibitor. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 101 : 72-81, 1993.
 20. Linda, J. J., James, S.T., and Howard, O. : Allergic contact dermatitis from topical corticosteroid preparations. *Am. J. Con. Dermatitis.* 6(2) : 67-74, 1995.
 21. Margaret L. Kripke, C. Gwyneth Munn, Amminikutty Jeevan, Iun-Min Tang, and Corazon Bucana : Evidence that cutaneous antigen-presenting cells migrate to regional lymph nodes during contact sensitization. *J. Immunology.* 145(9) : 1833-2838, 1990.
 22. M. Cumberbatch and I. Kimber : Phenotypic characteristics of antigen-bearing cells in the draining lymph nodes of contact sensitized mice. *Immunology.* 71 : 404-410, 1990.
 23. M. R. Holliday, R. J. Dearman, I. Kimber and J. W. Coleman : Sensitization of mice to chemical allergens modulates the responsiveness of isolated mast cells to IgE-dependent activation. *Immunology.* 78 : 508-510, 1993.
 24. Minami, Y., Kono, T., Miyazaki, T., and Taniguchi, T. : The IL-2 receptor complex ; Its structure, function and target genes. *Ann. Rev. Immunol.* 11 : 245-267, 1993.
 25. Morrison, D., Capewell, S., Reynolds, S. P., Thomas, J., Ali, N. J., Read, G. F., Henley, R., and Raid-Fahmy, D. : Testosterone levels during systemic and inhaled corticosteroid therapy. *Respir. Med.* 88(9) : 659-63, 1994.

26. Ole Baadsgaard and Timothy Wang, B. S. : Immune Regulation in Allergic and Irritant Skin Reactions. *Int. J. Dermato.* 30(3) : 161-172, 1991.
27. P. S. Friedmann, I. Strickland, A. A. Memon and P. M. Johnson : Early time course of recruitment of immune surveillance in human skin after chemical provocation. *Clin. Exp. Immunol.* 91 : 351-356, 1993.
28. P. Torres, F. Guerra, A. Aenas, R. Miguel, C. Moreno, J. C. Daza, M. Santamaria, and P. Sanchez Guijo : Humoral and Cellular Immunity in Different Phases of Contact Dermatitis. *Am. J. Contact Dermatitis.* 2(3) : 187-191, 1991.
29. Rachel, E. L., Marion, B., Diana, W., and George, F. M. : Intercellular adhesion molecule expression in the evolving human cutaneous delayed hypersensitivity reaction. *J. Invest. Dermatol.* 93 : 672-677, 1989.
30. Raz, A., Wyche, A., Siegel, N. : Regulation of fibroblast cyclooxygenase synthesis by interleukin-1. *J. Biol. Chem.* 263 : 3022-3028, 1988.
31. Richard S. Kalish : Recent Developments in the Pathogenesis of Allergic Contact Dermatitis. *Arch. Dermatol.* 127 : 1558-1563, 1991.
32. R. Viraben, J. L. Labrousse and J. Bazex : Erythema multiforme due to DNCB. *Contact Dermatitis.* 22 : 179-191, 1990.
33. S. Hill, A. J. Edwards, I. Kimber, and S. C. Knight : Systemic migration of dendritic cells during contact sensitization. *Immunology.* 71 : 277-281, 1990.
34. Smith, K. L. : Interleukin-2 : inception, impact and implications. *Science.* 240 : 1169-1176, 1988.
35. Steven E. Macatonia, Stella C. Knight, Andrew J. Edwards, Stephen Griffiths, and Patricia Fryer : Localization of antigen of lymph node dendritic cells after exposure to the contact sensitizer fluorescein isothiocyanate functional and morphological studies. *J. Exp. Med.* 166 : 1654-1667, 1987.
36. Thomas, S. K. : Mechanisms of cutaneous inflammation - Interaction between epidermal cytokines, adhesion molecules, and leukocytes. *Arch. Dermatol.* 125 : 1406-1412, 1989.
37. Veronique Galliaerde, Cyril Desvignes, Eric Peyron and Dominique Kaiserlian : Oral tolerance to haptens : intestinal epithelial cells from 2,4-dinitrochlorobenzene-fed mice inhibit hepten-specific T cell activation in vitro. *Eur. J. Immunol.* 25 : 1385-1390, 1995.
38. Y. Zaloom, L. P. Walsh, P. McCulloch, and G. Gallagher : Enhancement of a delayed hypersensitivity reaction to a contact allergen, by the systemic administration of interleukin-2. *Immunology.* 72 : 584-587, 1991.

Legend for figure

- Fig. 1. The abdominal skin in mouse at hour-48 after secondary sensitization by DNCB painting. H & E. $\times 200$
- Fig. 2. The insertion of T lymphocytes in murine skin at hour-48 after secondary sensitization by DNCB painting. H & E. $\times 400$
- Fig. 3. The vacuolation of epithelial cell in stratum basalis of mouse at hour-48 after secondary sensitization by DNCB painting. semithin-section. Toluidine blue. $\times 1000$
- Fig. 4. The distribution of mast cell in mouse at hour-48 after secondary sensitization by DNCB painting. Luna's method. $\times 400$
- Fig. 5. The granulated type of mast cell. Luna's method. $\times 1000$
- Fig. 6. The degranulated type of mast cell. Luna's method. $\times 1000$
- Fig. 7. A) The distribution of IL-2 positive reaction T lymphocyte in murine abdominal skin at hour-48 after secondary sensitization by DNCB painting. immunostain. $\times 400$
B) The insertion of IL-2 positive reaction T lymphocyte in the epithelium of murine abdominal skin. $\times 1000$



=Abstract=

Delayed Type Hypersensitivity on Abdominal Skin of Mouse by DNCB Sensitization

Jin-Taek Kim · In-Sick Park · Sang-Hyun Ahn

Department of Anatomy, Oriental Medical College, Dongguk University

Abdominal skin tissues of ICR mouse painted with Dinitrochlorobenzene (DNCB) were observed to investigate the delayed type hypersensitivity of skin by chemical allergen as hapten. The abdominal skin tissues were obtained at hour-48 after secondary DNCB sensitization that were stained by Luna's method for mast cell, and immunohistochemical stain method for IL-2 receptor. The superficial perivascular lymphocytic aggregation were shown in basement membrane after DNCB secondary painting and the large size capillaries in dermis were appeared. The infiltration of lymphocyte to epithelium, the vacuolation of epithelial cell and intercellular space were increased. The number of mast cell in dermis was increased and these shape is degranulation type. The number of IL-2 receptor positive cell was increased in dermis. As results indicated that the hypersensitivity of immune system were induced by DNCB, subsequently to damage evoke inflammation in skin.

Key Word : Delayed Type Hypersensitivity, Allergic Contact Dermatitis,
DNCB, Mast cell, IL-2R