

# 아토피성 피부질환 동물 모델 NC/Nga 생쥐에서 내재면역 T와 B 세포의 변형

<sup>1</sup>세종대학교 공과대학 생명공학과, <sup>2</sup>가톨릭대학교 의과대학 피부면역학교실, <sup>3</sup>고려대학교 생명공학원

김정은<sup>1</sup> · 김효정<sup>1</sup> · 김태윤<sup>2</sup> · 박세호<sup>3</sup> · 홍석만<sup>1</sup>

## Alteration of Innate Immune T and B Cells in the NC/Nga Mouse

Jungeun Kim<sup>1</sup>, Hyojeong Kim<sup>1</sup>, Tae-Yoon Kim<sup>2</sup>, Se-Ho Park<sup>3</sup> and Seokmann Hong<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Bioscience and Biotechnology, Sejong University, Seoul, <sup>2</sup>Laboratory of Dermatology and Immunology, Catholic Research Institute of Medical Science, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, <sup>3</sup>School of Life Sciences and Biotechnology, Korea University, Seoul, Korea

### ABSTRACT

**Background:** Millions of people in the world are suffering from atopic dermatitis (AD), which is a chronic inflammatory skin disease triggered by Th2 immune responses. The NC/Nga mouse is the most extensively studied animal model of AD. Like human AD, NC/Nga mice demonstrate increased levels of IgE, a hallmark of Th2 immune responses. Adaptive immunity cannot be generated without help of innate immunity. Especially natural killer T (NKT) cells and marginal zone B (MZB) cells have been known to play important roles in linking innate immunity to adaptive immunity. **Methods:** Through flow cytometric analysis and ELISA assay, we investigated whether these lymphocytes might be altered in number in NC/Nga mice. **Results:** Our data demonstrated that the number of NKT cells was reduced in NC/Nga mice and IFN  $\gamma$  production by NKT cells upon  $\alpha$ -GalCer stimulation decreased to the levels of CD1d KO mice lacking in NKT cells. However, reduction of NKT cells in NC/Nga mice was not due to CD1d expression, which was normal in the thymus. Interestingly, there was a significant increase of CD1d<sup>high</sup>B220<sup>+</sup> cells in the spleen of NC/Nga mice. Further, we confirmed that CD1d<sup>high</sup>B220<sup>+</sup> cells are B cells, not dendritic cells. These CD1d<sup>high</sup>B220<sup>+</sup> B cells show IgM<sup>high</sup>CD21<sup>high</sup>CD23<sup>low</sup>, a characteristic phenotype of MZB cells. **Conclusion:** We provide the evidence that there are decreased activities of NKT cells and increased number of MZB cells in the NC/Nga mice. Our findings may thus explain why NC/Nga mice are susceptible to AD. (*Immune Network* 2005; 5(3):137-143)

**Key Words:** Atopy dermatitis, NKT cells, MZB cells, NC/Nga mice, CD1d

## 서 론

전세계적으로 수많은 사람들이 아토피성 피부질환으로 고통받고 있다. 아토피 피부질환은 주로 유아와 소아

에 발생하는 만성적 또는 재발성 염증 피부질환이다 (1,2). 아직까지 정확한 원인을 규명하지 못하고 있으나, 유전적인 가족력과 음식섭취 등으로 인한 생활·환경의 영향, 결손된 피부층을 통해 유입된 항원물질에 대한 면역반응에 따른 혈중 IgE 항체의 수준이 증가함으로써 나타나는 복합적 질환이다(3,4). 기존 연구보고에 따르면, 아토피 환자에서 T 세포들의 불완전한 IFN  $\gamma$ 의 분비 그리고 B 세포들에서의 IgE 항체의 과발현 등이 나타난다 (5). 즉, 아토피 질병 초기 단계에서 Th2 타입의 T 세포들에서 IL4와 IL10이 과도하게 분비되고, 따라서 IL12가 불

책임저자 : 홍석만, 세종대학교 공과대학 생명공학과  
☎143-747, 서울시 광진구 군자동 98번지  
Tel: 02-3408-3649, Fax: 02-465-4187  
E-mail: shong@sejong.ac.kr

본 연구는 과학기술부의 나노바이오기술개발사업(#M1041602000 304N160200310) 지원으로 수행되었음.

안정하게 생산되어 IFN  $\gamma$  분비가 감소된다(6,7). 아토피 피부질환은 Th2 면역반응에 의하여 개시되어 점차 만성적인 Th1 면역반응으로 전환된다고 믿어지고 있다(8,9).

아토피 피부질환의 동물모델로는 NC/Nga 생쥐가 잘 알려져 있다(10). NC/Nga 생쥐는 보통 specific pathogen-free 조건에서는 발병이 되지 않고 conventional 조건에서 6~7주 정도의 연령에서 아토피 피부염과 유사한 질환이 자연적으로 발생한다. 혈액 속의 IgE 수준이 점차 증가해서 약 16~18주 연령에서 최고조에 달하게 된다. 16~18주 정도의 NC/Nga 생쥐에서, 피부가 건조해져서 점차 마디 모양의 손상으로 발전하고 결국 딱딱한 상처로 변한다. 조직학상으로, NC/Nga 생쥐에서 나타나는 피부 손상들은 hyperkeratosis, acanthosis, parakeratosis 등의 특성을 띠고 이러한 특징들은 아토피 환자에서 모두 관찰된다.

면역시스템은 크게 내재면역과 적응면역으로 나뉘어져 있다. 최근의 많은 연구보고에 의하면, 적응면역은 내재면역반응 없이 일어날 수 없다(11). 이는 내재면역의 중요성을 단적으로 말해준다. 내재면역계를 담당하고 있는 여러 면역 세포들이 있는데 주로 수지상세포, 대식세포, 호산구, 비만세포 등이 여기에 포함된다. 하지만 이들 이외에 적응면역으로 발달하기 위해서 필요한 교량 역할을 담당하고 있는 T와 B 세포가 있다: Natural killer T (NKT) 세포와 marginal zone B (MZB) 세포가 이에 속한다(12,13). NKT 세포는 TCR 수용체와 NK 세포 특이적 수용체를 동시에 발현하고 있으며 자가면역질환, 감염성 질환, 암 등과 같은 다양한 면역질환(14)에서 면역조절 작용을 수행하는 T 세포의 한 부류이다. Th1 면역반응에 의해 매개되는 인슐린-의존성 제1형 당뇨병 동물모델에서 adoptive transfer에 의해 NKT 세포의 수를 증가시키거나, canonical NKT 세포 TCR인 V $\alpha$ 14-J $\alpha$ 18의 transgene를 도입함으로써 병의 진전을 억제시킬 수 있다는 보고가 있다(15,16). 더욱이, NKT 세포의 활성물질로 널리 알려진 glycolipid의 하나인  $\alpha$ -GalCer의 반복적인 투여로 Th2 반응을 유도함으로써 당뇨병을 억제할 수 있다는 보고가 있다(17). NKT 세포의 발달에는 MHC I 유사 분자인 CD1d가 매우 중요하여 CD1d KO 생쥐에는 NKT 세포가 결핍되어 있다(18). 한편, MZB 세포는 주로 비장의 marginal zone에 많이 존재하는 특별한 B 세포 군으로서 blood-borne microbial pathogen에 대한 방어를 담당한다. MZB 세포는 B 세포 대부분을 차지하는 follicular B 세포와는 세포표면에 발현되고 있는 분자에서 구별된다. MZB 세포는 IgM<sup>high</sup>CD21<sup>high</sup>CD23<sup>low</sup>CD1d<sup>high</sup>의 표현형을 지닌다(19). 보체 수용체인 CD21 분자가 높은 수준으로 발현하기 때문에 보체에 결합된 박테리아에 대한 B 세포의 반응을 증진시켜준다(20).

본 연구에서는 아토피 피부질환의 동물모델로 널리

알려진 NC/Nga 생쥐에서 내재면역과 적응면역을 증개해주는 NKT 세포와 MZB 세포에 변형이 있는지를 조사하였다. NKT 세포의 수가 야생형 생쥐에 비해 상당히 감소해 있을 뿐만 아니라 NKT 세포 활성화 시에 분비되는 IFN  $\gamma$ 의 양도 줄어들어 있음을 관찰하였다. 그리고 흥미롭게도 NKT 세포 발달 제한요소인 CD1d의 발현이 매우 높게 발현되는 세포군이 NC/Nga 생쥐에서 2~3배 증가되어 있고 이들 세포가 MZB 세포임을 밝혔다.

## 재료 및 방법

**실험 동물.** Balb/c, C57BL/6 (B6), 그리고 NC/Nga 생쥐를 일본 SLC (중앙실험동물)로부터 구입하였다. CD1d KO 생쥐는 Dr. Ablert Bendelac (Univ. of Chicago, USA)로부터 얻어 세종대학교 동물사육실에서 유지하였다. 방사선 멸균사료와 autoclave한 물을 자유롭게 섭취시켰고, 12시간 명 : 암 조건을 유지하였다.

**사용배지 및 세포 배양.** RPMI 1640 (Gibco, BRL)에 10% FBS, HEPES buffer, L-glutamine, penicillin-streptomycin, 2-mercaptoethanol을 첨가한 complete medium을 사용하였다.

**NKT 세포 활성화 측정.** 비장세포 내의 NKT 세포의 활성을 측정하기 위하여 round bottom의 96well plate에 10<sup>6</sup>/well빈도로 비장세포를 넣어주고 여기에 NKT 세포 활성화분자인  $\alpha$ -GalCer (100 ng/ml)을 처리하였다. 72시간 후에 세포배양 상층액을 걷어 사이토카인 IFN  $\gamma$ 의 양을 ELISA 방법으로 측정하였다.

**말초혈액세포, 비장세포, 흉선세포 및 간 림프구의 적출.** 생쥐(7~10 주령)로부터 혈액을 뽑은 다음, 이를 Lympholyte-M (Cedarlane, USA)에 실어 원심분리 (3,200 rpm, 실온, 20분)를 하여 lymphocyte만을 분리하였다. 비장의 경우, 비장을 적출하여 frosted microscope slide (Fisher, USA)를 사용하여 single cells suspension으로 만든 다음, ACK lysis buffer를 사용하여 적혈구를 제거하였다. PBS buffer로 세척한 후 세포배양 및 antibody staining에 이용하였다. 흉선세포의 경우에도 동일한 방법을 이용하여 antibody staining 실험을 하였다. 간에서의 NKT 세포를 조사하기 위하여 생쥐를 PBS buffer로 perfusion하여 간에 존재하는 혈액세포를 제거한 후, 간을 적출하여 frosted microscope slide를 사용하여 single cells suspension으로 만든 다음 Lympholyte-M에 실어 원심분리(3,200 rpm, 실온, 20분)하여 lymphocyte만을 분리하였다.

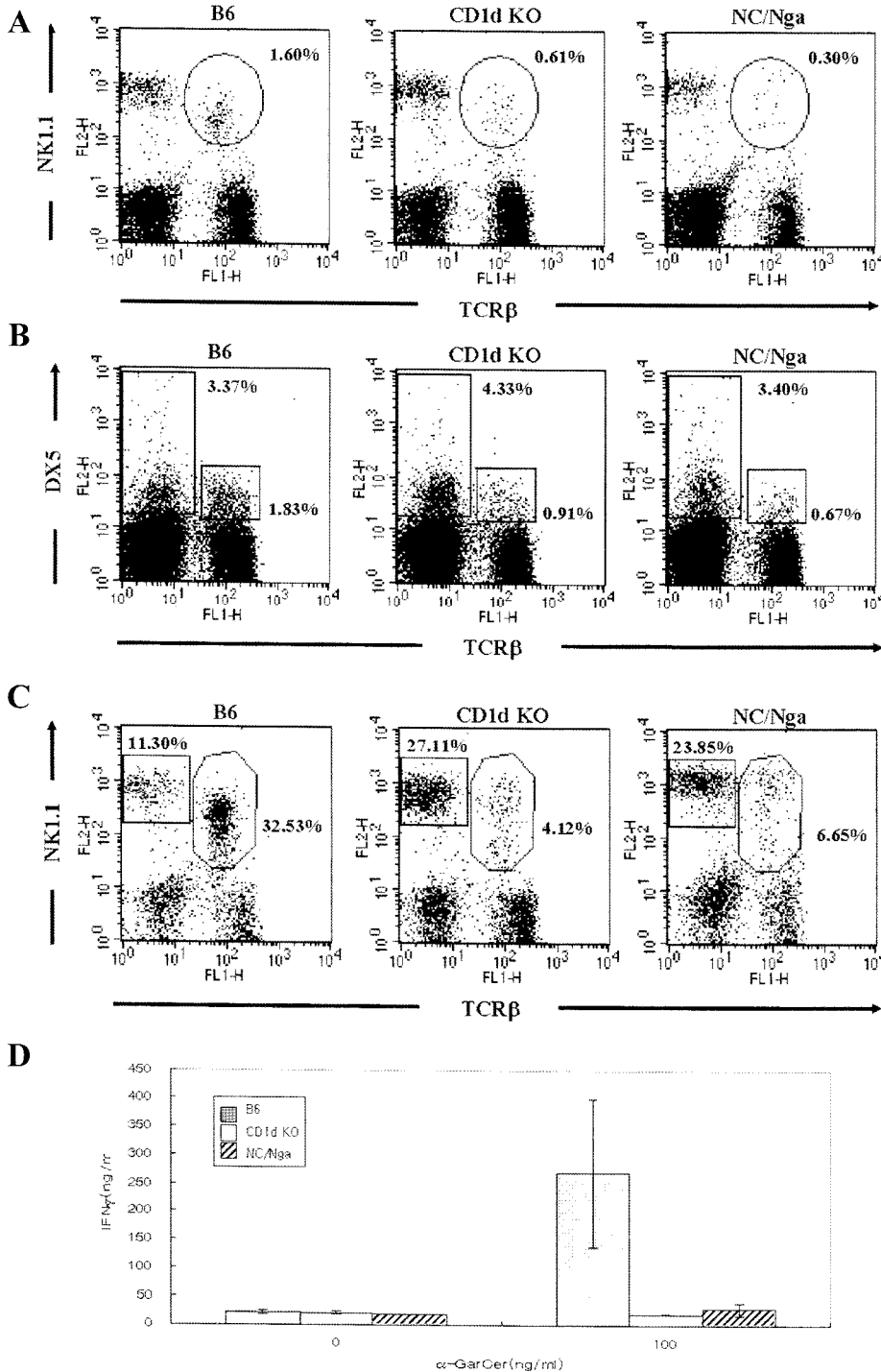
**유세포 분석 및 항체 염색.** Fluorescein isothiocyanate가 결합된 항TCR, IgM, CD23와 Phycoerythrin이 결합된 항NK1.1, CD1d, CD21항체, Tricolor이 결합된 항B220 항체를 이용하여 세포를 염색하였다. Antibody로 염색한 세포의 분석은 FACSCalibur (Becton Dickinson, USA)를 이

용하였다.  $1 \times 10^6$ 세포에 각 항체를 염색( $4^\circ\text{C}$ , 45~50분)한 후, FACS wash buffer (1% FBS을 함유한 PBS)로 3번 세척하고 1% paraformaldehyde로 고정시켰다. 본 연구에 사용된 anti-TCR, anti-NK1.1, anti-DX5, anti-CD1d, anti-CD21 단클론항체는 BD Pharmingen에서 구입하였고, anti-B220, anti-IgM, anti-CD23 단클론항체는 Caltag에서 구입하였다.

**ELISA.**  $\alpha$ -GalCer을 처리하여 배양한 세포의 배양 상층액에 있는 IFN  $\gamma$ 의 함량을 측정하기 위하여 표준 sandwich ELISA 방법을 사용하였다(21).

**결 과**

**Lack of NKT cells in NC/Nga mice.** NKT 세포는  $\alpha$ -GalCer와 같은 ligand에 의해서 활성화 될 때 IFN  $\gamma$ , IL4



**Figure 1.** Lack of NK1.1<sup>+</sup>T cells in the NC/Nga mice. The number of NK1.1<sup>+</sup> T cells in the spleen (A) and liver (C) of NC/Nga mice was reduced to the level of CD1d KO mice which lack NKT cells. (B) While the number of splenic DX5<sup>+</sup>TCRβ<sup>+</sup> NKT cells in NC/Nga was decreased to that of CD1d KO mice, the number of NK cells (DX5<sup>+</sup>TCRβ<sup>-</sup>) in NC/Nga was not significantly different from that of the control mice. (D) Splenocytes from NC/Nga mice did not produce IFN  $\gamma$  upon stimulation with  $\alpha$ -GalCer.

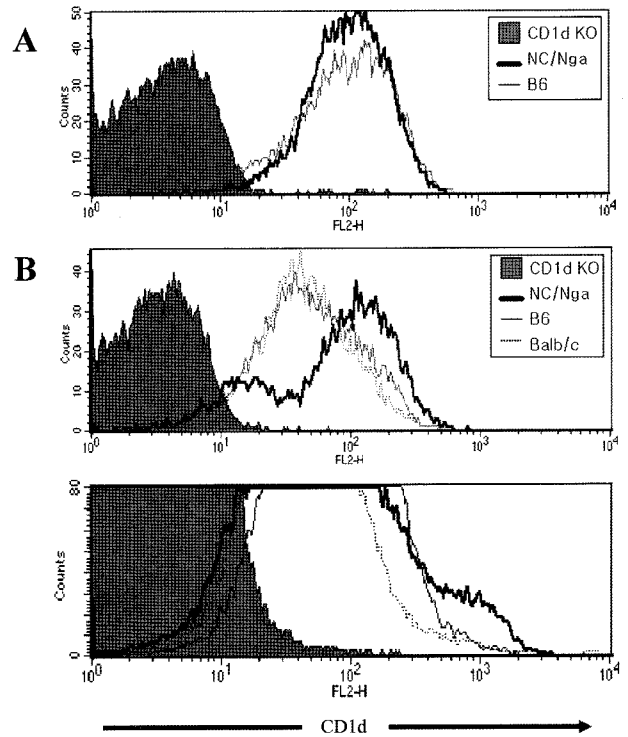
와 같은 적응면역반응을 결정하는데 중요한 사이토카인들을 빠르게 분비한다. 이러한 특성 때문에 NKT 세포는 내재면역반응과 적응면역반응을 연결시키는 중요한 역할을 수행할 수 있다(22). 이와 같이 중요한 역할을 담당하는 NKT 세포가 아토피 피부질환 동물 모델인 NC/Nga 생쥐에서 정상인지 아닌지를 비교하였다. 비장세포에서의 NC/Nga 생쥐는 야생형인 B6 생쥐와 비교하였을 때 NKT 세포의 수가 현저히 감소되어 있는 것을 알 수 있었고 이는 NKT 세포의 발달에 매우 중요한 제한 요소로 알려져 있는 MHC class I과 유사한 분자인 CD1d 결손 생쥐와 거의 비슷한 수준의 NKT 세포가 있음을 flow cytometry 분석을 통하여 알 수 있었다(Fig. 1A). 말초혈액세포를 분리하여 동일한 실험을 한 결과 마찬가지로 NC/Nga 생쥐에서 NKT 세포가 상당히 줄어 있음을 알 수 있었다(data not shown). 전체 NK세포 population을 관찰하기 위해 pan-NK 세포 항체로 널리 쓰이는 anti-DX5 항체로 비장세포를 염색하였다. NK1.1에 대한 항체를 사용한 실험에서와 마찬가지로 NC/Nga 생쥐에서 DX5<sup>+</sup>TCRβ<sup>+</sup>한 NKT 세포가 역시 감소되어 있음을 확인하였다(Fig. 1B). 그리고 이러한 현상이 NKT 세포에 국한된 것이 아니고 전체적인 DX5<sup>+</sup>한 세포의 감소에 기인하는 것인지를 확인하기 위해 NC/Nga 생쥐의 DX5<sup>+</sup>TCRβ<sup>-</sup> NK 세포의 비율을 대조군과 비교하였고 별 차이가 없음을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 NKT세포가 높은 비율로 존재하는 간에서도 같은 결과를 얻었다(Fig. 1C). 이상의 실험으로 NC/Nga 생쥐는 NK 세포가 아닌 NKT 세포에만 수적으로 감소되어 있음을 보였다. 그리고 NC/Nga 생쥐에 존재하는 NKT 세포의 활성을 조사하기 위하여 NKT 세포의 활성분자로 알려진 α-GalCer을 72 시간 동안 처리한 후 분비되는 IFNγ의 양을 야생형과 CD1d 결손 생쥐에서 ELISA 방법을 통하여 비교하였다. NC/Nga 생쥐에서 NKT 세포의 활성은 매우 감소되어 있는 것을 확인하였다(Fig. 1D).

**Expression of CD1 in NC/Nga mice.** NC/Nga 생쥐에서 NKT 세포의 감소가 NKT 세포 발달의 제한요소인 CD1d 분자의 발현 여부와 관련되어 있는지를 조사하였다. 먼저 NC/Nga 생쥐의 흉선에서의 CD1d 발현을 flow cytometry 방법으로 비교분석하였다. 야생형 B6 생쥐에서의 발현과 비교해볼 때 흉선에서의 CD1d 발현 정도는 큰 차이가 없었다(Fig. 2A). 다음으로, 비장과 말초혈액에 존재하는 세포에서의 CD1d 발현 정도를 위와 같은 방법을 통하여 조사하였다. 전반적으로 CD1d 발현에는 이상이 없었지만, 흥미롭게도 야생형 생쥐와 비교할 때, CD1d를 매우 강하게 발현하는 세포군이 있음을 관찰하였다(Fig. 2B).

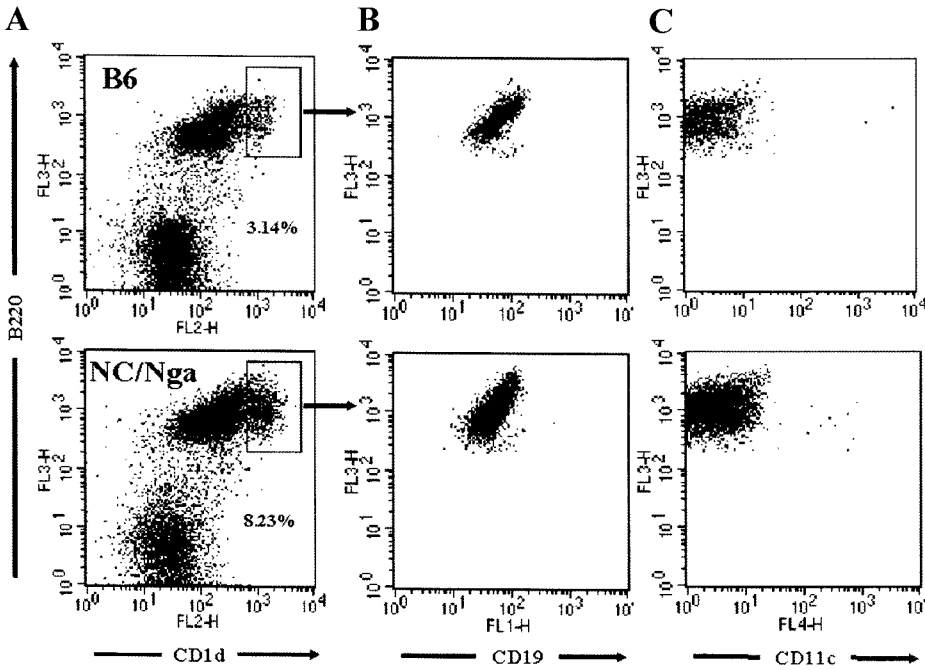
**CD1d<sup>high</sup> cells are B cells, not dendritic cells.** CD1d는 주로 T, B 세포, 수지상세포, 대식세포 등과 같은 hema-

topoietic 세포에서 주로 발현하는 것으로 알려져 있다(23,24). 그렇다면, 비장세포에서 증가된 CD1d 분자가 어떤 종류의 면역세포에서 과발현되는지 여러 면역세포 특이항체를 이용하여 조사하였다. B 세포 표지분자인 B220을 발현하는 세포의 일부가 CD1d를 매우 높게 발현함을 관찰하였다. B220 분자를 발현하는 세포는 대개 B 세포이지만 최근 보고에 따르면, 수지상세포의 한 종류인 plasmacytoid 수지상세포는 B220를 발현하는 것으로 알려져 있다(25-27). 따라서 높은 CD1d의 발현을 보이는 B220<sup>+</sup> 세포가 어떤 세포인지 정확하게 구별하기 위하여 B 세포에는 발현되지 않고 수지상세포에만 발현되는 세포표면분자인 CD11c와, 수지상세포에는 발현되지 않고 B 세포에만 발현되는 CD19 세포표면분자의 발현을 flow cytometry 방법을 통하여 분석하였다. Fig. 3에서와 같이 CD1d<sup>high</sup>B220<sup>+</sup> 세포군을 gate한 후 CD19와 CD11c의 발현을 비교한 결과, 모두 CD19 분자만을 발현하는 것으로 보아 CD1d<sup>high</sup> B220<sup>+</sup> 세포군은 수지상세포가 아니고 B 세포임을 알 수 있었다.

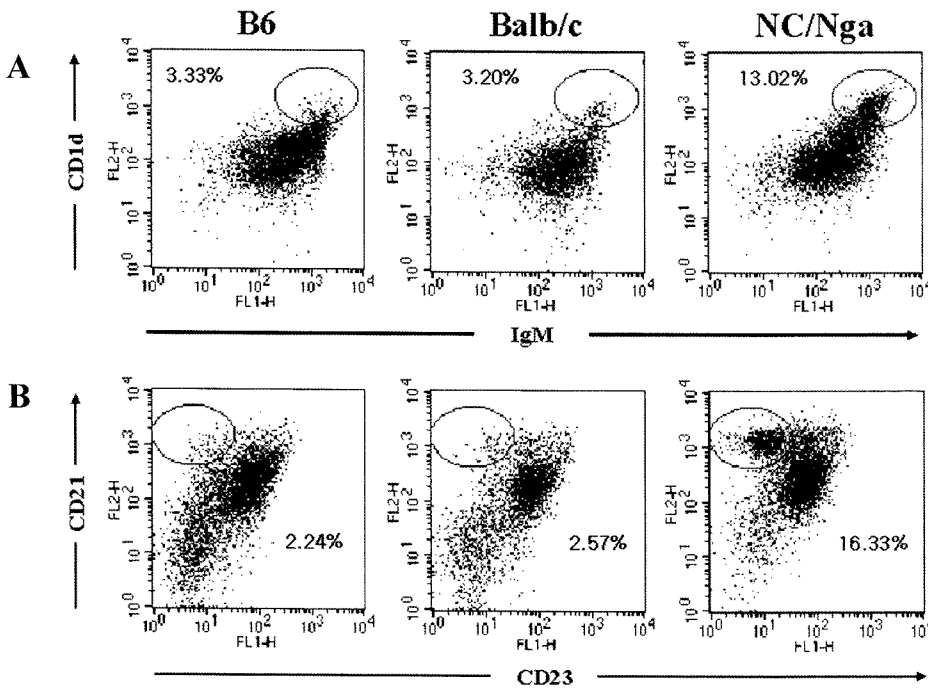
**MZB cells are increased in NC/Nga mice.** 앞서 우리는 NC/Nga에서 CD1d<sup>high</sup> 발현하는 B 세포가 상당히 증가되어 있음을 볼 수 있었다. B 세포 중 내재면역반응의 역할



**Figure 2.** CD1d expression in the NC/Nga mice. (A) Whole thymic CD1d expression in NC/Nga mice is not different from that in wild type mice. (B) CD1d expression of PBMC (top panel) and splenocytes (bottom panel) from NC/Nga mice is increased compared to that of wild type mice.



**Figure 3.** Increased B220<sup>+</sup>CD1d<sup>high</sup> expressing cells in NC/Nga mice are B cells, not dendritic cells. Splenocytes were prepared from B6 and NC/Nga mice. These cells were stained with antibodies against B220, CD1d, CD11c, and CD19. Subsequently flow cytometric analysis was followed to identify B220<sup>+</sup>CD1d<sup>high</sup> cells. B220<sup>+</sup>CD1d<sup>high</sup> cells in the spleen from NC/Nga mice were increased in number (A) and these cells are B cells (B), but not dendritic cells (C).



**Figure 4.** B220<sup>+</sup> B cells increased in NC/Nga mice show a characteristic phenotype of MZB cells. Splenocytes were prepared from the indicated mice and were stained with antibodies against B220, CD1d, IgM, CD21, and CD23. On B220<sup>+</sup> gated cells, both IgM<sup>high</sup>-CD1d<sup>high</sup> cells (A) and CD21<sup>high</sup>-CD23<sup>low</sup> cells (B) were increased in NC/Nga mice.

을 담당하는 MZB 세포가 CD1d의 발현이 높다는 예전 보고가 있다(19). MZB 세포는 CD1d의 과발현 이외에 IgM<sup>high</sup>IgD<sup>low</sup>CD21<sup>high</sup>CD23<sup>low</sup>와 같은 표현형을 지닌다. 따라서, NC/Nga 생쥐에서 MZB 세포의 수가 늘어나 있는지 MZB 세포에서 발현되는 여러 세포표면 분자에 특이적인 항체를 이용하여 그 존재 여부를 살펴보았다. B220<sup>+</sup>한 세포를 gate하여 IgM과 CD1d의 관계를 살펴 보았다

(Fig. 4A). CD1d와 IgM을 과발현하는 B 세포가 NC/Nga 생쥐에서 야생형 생쥐인 B6와 Balb/c의 그것보다 3~5배 정도 많이 존재함을 알 수 있었다. 그리고 또한 B220<sup>+</sup>한 세포에서 CD21과 CD23의 관계를 조사하였다(Fig. 4B). 앞의 실험결과와 마찬가지로, MZB 세포의 특징인 CD21<sup>high</sup>CD23<sup>low</sup>한 세포군이 NC/Nga 생쥐에서 많이 증가되어 있음을 알 수 있었다.

## 고 찰

본 연구에서 내재면역 T와 B 세포로 적응면역반응에 중요한 영향을 미치는 NKT 세포와 MZB 세포가 아토피 피부질환 동물모델인 NC/Nga 생쥐에서 야생형 생쥐와는 달리 양적으로 변형되어 있음을 발견하였다. NC/Nga 생쥐를 이용한 기존의 연구를 살펴보면 내재면역세포인 비만세포 또는 호산구 등의 수가 다소 증가되어 있음이 보고되고 있고(28) 아토피 피부질환 환자에서 수지상세포의 아집단이 정상인과 다소 차이가 난다는 보고도 있다(29). 하지만 적응면역세포인 T와 B 세포의 수에는 큰 차이가 없는 것으로 보고되고 있다(6). 감염성 질환, 알레르기 등과 같은 적응면역반응은 내재면역반응의 도움이 없이는 일어나지 못한다. 즉, 내재면역세포에서의 차이는 적응면역반응으로의 차이로 발전할 것이며 따라서 아토피 피부질환 모델 생쥐가 Th2 면역반응 매개성 질환에 쉽게 노출되리라 여겨진다. 이런 근거를 토대로, NC/Nga 생쥐에 내재면역과 적응면역을 중개하는 면역세포인 NKT 세포와 MZB 세포에 양적인 변화가 있는지 조사하였다. 먼저, NKT 세포의 경우를 살펴보면, NKT 세포가 거의 결여되어 있는 CD1d KO 생쥐와 비슷한 수준까지 감소되어 있음을 확인하였다. Habu *et al.* 연구(6)에 의하면 NC/Nga 생쥐의 경우 TCR $\beta$  사슬의 V $\beta$ 8 유전자 부분에 결손이 있다. V $\beta$ 8은 NKT 세포의 TCR 수용체를 이루는 중요한 구성요소이므로 NC/Nga 생쥐에서의 NKT 세포 감소는 예전의 결과를 매우 잘 뒷받침해준다고 할 수 있다. 또한 NKT 세포에 내재면역 수용체인 Toll-like receptor들이 발현하고 있다는 보고가 있다(personal communication). 이는 외부에서 들어오게 되는 여러 pathogen의 TLR ligand들을 인지하여 그 결과로 IFN $\gamma$ 와 같은 Th1 타입의 사이토카인 분비를 유도할 수 있음을 의미한다. NC/Nga 생쥐에서는 이러한 NKT 세포의 활성이 크게 감소되어 있어 보다 Th1 타입의 면역반응이 약화되어 나타날 가능성이 있다. 아토피 환자의 경우 NKT 세포의 수가 정상인에 비해 현저하게 줄어 있다는 보고는 매우 흥미롭다(30).

한편, blood-borne pathogen들에 민감하게 반응하여 적응면역반응에 큰 영향을 미치는 MZB 세포는 NC/Nga 생쥐에서 3~5배 정도 증가되어 있는 것을 관찰하였다. 주로 초기 항체면역반응에 관여하는 MZB 세포가 lupus 동물모델인 NZB/NZW 생쥐에서 수적으로 많이 증가되어 있다는 흥미로운 보고가 있다(31). 이는 MZB 세포의 증대가 Th2 면역반응과 관련성이 있음을 시사한다. 종합적으로 NKT 세포의 양적 감소와 MZB 세포의 증가는 NC/Nga 생쥐가 왜 아토피 피부면역 질환의 좋은 모델이 될 수 있는지에 대한 설명이 된다고 생각된다. 앞으로 MZB 세포가 아토피 피부질환의 발달에 어떠한 영향을

미치는지 조사하는 것은 매우 흥미로운 것이다. 아울러, MZB 세포의 활성을 조절할 수 있는 방법을 모색한다면 보다 나은 아토피 치료제 개발에 많은 도움이 될 것이라고 생각된다.

## 참 고 문 헌

1. Leung DY, Boguniewicz M, Howell MD, Nomura I, Hamid QA: New insights into atopic dermatitis. *J Clin Invest* 113; 651-657, 2004
2. Heinzmann A, Daser A: Mouse models for the genetic dissection of atopy. *Int Arch Allergy Immunol* 127;170-180, 2002
3. Rousset F, Robert J, Andary M, Bonnin JP, Souillet G, Chretien I, Briere F, Pene J, de Vries JE: Shifts in interleukin-4 and interferon-gamma production by T cells of patients with elevated serum IgE levels and the modulatory effects of these lymphokines on spontaneous IgE synthesis. *J Allergy Clin Immunol* 87(1 Pt 1);58-69, 1991
4. van der Kleij HP, Kraneveld AD, van Houwelingen AH, Kool M, Weitenberg AC, Redegeld FA, Nijkamp FP: Murine model for non-IgE-mediated asthma. *Inflammation* 28;115-125, 2004
5. Matsumoto M, Ra C, Kawamoto K, Sato H, Itakura A, Sawada J, Ushio H, Suto H, Mitsuishi K, Hikasa Y, Matsuda H: IgE hyperproduction through enhanced tyrosine phosphorylation of Janus kinase 3 in NC/Nga mice, a model for human atopic dermatitis. *J Immunol* 162;1056-1063, 1999
6. Habu Y, Seki S, Takayama E, Ohkawa T, Koike Y, Ami K, Majima T, Hiraide H: The mechanism of a defective IFN-gamma response to bacterial toxins in an atopic dermatitis model, NC/Nga mice, and the therapeutic effect of IFN-gamma, IL-12, or IL-18 on dermatitis. *J Immunol* 166;5439-5447, 2001
7. Vestergaard C, Yoneyama H, Murai M, Nakamura K, Tamaki K, Terashima Y, Imai T, Yoshie O, Irimura T, Mizutani H, Matsushima K: Overproduction of Th2-specific chemokines in NC/Nga mice exhibiting atopic dermatitis-like lesions. *J Clin Invest* 104;1097-1105, 1999
8. Mastrandrea F: The potential role of allergen-specific sublingual immunotherapy in atopic dermatitis. *Am J Clin Dermatol* 5;281-294, 2004
9. Miyamoto K, Miyake S, Yamamura T: A synthetic glycolipid prevents autoimmune encephalomyelitis by inducing TH2 bias of natural killer T cells. *Nature* 413;531-534, 2001
10. Vestergaard C, Yoneyama H, Matsushima K: The NC/Nga mouse: a model for atopic dermatitis. *Mol Med Today* 6;209-210, 2000
11. Janeway CA Jr, Medzhitov R: Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol* 20;197-216, 2002
12. Snapper CM, Yamada H, Smoot D, Sneed R, Lees A, Mond JJ: Comparative in vitro analysis of proliferation, Ig secretion, and Ig class switching by murine marginal zone and follicular B cells. *J Immunol* 150;2737-2745, 1993
13. Snapper CM, Yamaguchi H, Moorman MA, Mond JJ: An in vitro model for T cell-independent induction of humoral immunity. A requirement for NK cells. *J Immunol* 152;4884-4892, 1994
14. Zeng D, Lewis D, Dejbakhsh-Jones S, Lan F, Garcia-Ojeda M, Sibley R, Strober S: Bone marrow NK1.1(-) and NK1.1(+) T cells reciprocally regulate acute graft versus host disease. *J Exp Med* 189;1073-1081, 1999
15. Laloux V, Beaudoin L, Jeske D, Carnaud C, Lehuen A: NK T cell-induced protection against diabetes in V alpha 14-J alpha 281 transgenic nonobese diabetic mice is associated with

- a Th2 shift circumscribed regionally to the islets and functionally to islet autoantigen. *J Immunol* 166;3749-3756, 2001
16. Hammond KJ, Poulton LD, Palmisano LJ, Silveira PA, Godfrey DI, Baxter AG: Alpha/beta-T cell receptor (TCR)+ CD4-CD8- (NKT) thymocytes prevent insulin-dependent diabetes mellitus in nonobese diabetic (NOD)/Lt mice by the influence of interleukin (IL)-4 and/or IL-10. *J Exp Med* 187;1047-1056, 1998
  17. Hong S, Wilson MT, Serizawa I, Wu L, Singh N, Naidenko OV, Miura T, Haba T, Scherer DC, Wei J, Kronenberg M, Koezuka Y, Van Kaer L: The natural killer T-cell ligand alpha-galactosylceramide prevents autoimmune diabetes in non-obese diabetic mice. *Nat Med* 7;1052-1056, 2001
  18. Mendiratta SK, Martin WD, Hong S, Boesteanu A, Joyce S, Van Kaer L: CD1d1 mutant mice are deficient in natural T cells that promptly produce IL-4. *Immunity* 6;469-477, 1997
  19. Makowska A, Faizunnessa NN, Anderson P, Midtvedt T, Cardell S: CD1<sup>high</sup> B cells: a population of mixed origin. *Eur J Immunol* 29;3285-3294, 1999
  20. Martin F, Kearney JF: Marginal-zone B cells. *Nat Rev Immunol* 2;323-335, 2002
  21. Olobo JO, Reid GD, Githure JI, Anjili CO: IFN-gamma and delayed-type hypersensitivity are associated with cutaneous leishmaniasis in vervet monkeys following secondary rechallenge with *Leishmania major*. *Scand J Immunol Suppl* 11; 48-52, 1992
  22. Taniguchi M, Seino K, Nakayama T: The NKT cell system: bridging innate and acquired immunity. *Nat Immunol* 4;1164-1165, 2003
  23. Brossay L, Jullien D, Cardell S, Sydora BC, Burdin N, Modlin RL, Kronenberg M: Mouse CD1 is mainly expressed on hemopoietic-derived cells. *J Immunol* 159;1216-1224, 1997
  24. Porcelli SA, Modlin RL: The CD1 system: antigen-presenting molecules for T cell recognition of lipids and glycolipids. *Annu Rev Immunol* 17;297-329, 1999
  25. Liu YJ: IPC: professional type 1 interferon-producing cells and plasmacytoid dendritic cell precursors. *Annu Rev Immunol* 23;275-306, 2005
  26. Nikolic T, Dingjan GM, Leenen PJ, Hendriks RW: A subfraction of B220(+) cells in murine bone marrow and spleen does not belong to the B cell lineage but has dendritic cell characteristics. *Eur J Immunol* 32;686-692, 2002
  27. Nakano H, Yanagita M, Gunn MD: CD11c(+)B220(+)Gr-1(+) cells in mouse lymph nodes and spleen display characteristics of plasmacytoid dendritic cells. *J Exp Med* 194; 1171-1178, 2001
  28. Shiohara T, Hayakawa J, Mizukawa Y: Animal models for atopic dermatitis: are they relevant to human disease? *J Dermatol Sci* 36;1-9, 2004
  29. Hashizume H, Horibe T, Yagi H, Seo N, Takigawa M: Compartmental imbalance and aberrant immune function of blood CD123+ (plasmacytoid) and CD11c+ (myeloid) dendritic cells in atopic dermatitis. *J Immunol* 174;2396-2403, 2005
  30. Takahashi T, Nakamura K, Chiba S, Kanda Y, Tamaki K, Hirai H: V alpha 24+ natural killer T cells are markedly decreased in atopic dermatitis patients. *Hum Immunol* 64;586-592, 2003
  31. Wither JE, Roy V, Brennan LA: Activated B cells express increased levels of costimulatory molecules in young autoimmune NZB and (NZB x NZW)F(1) mice. *Clin Immunol* 94;51-63, 2000