

## T 림프구의 림포카인 생성에 미치는 Bacterial Lipopolysaccharide의 영향

원광대학교 의과대학 병리학교실, 전북대학교 수의과대학\*,  
원광대학교 자연과학대학 분자생물과\*\*

문 형 배 · 윤 기 중 · 한 원 철  
입 채 웅\* · 권 혁 년\*\* · 박 영 순\*\*

### The Effect of Bacterial Lipopolysaccharide on the Lymphokine Production of the T Lymphocytes

Hyung Bae Moon, M.D., Ki Jung Yun, M.D., Won Chul Han, M.D.  
Chae Woong Lim, Ph.D.\*, Hyuk Nyun Kwon, M.S.\*\*  
and Young Soon Park, Ph.D.\*\*

Department of Pathology, School of Medicine, Wonkwang University, College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University\*, Department of Molecular Biology, College of Natural Science, Wonkwang University\*\*

It is well known that the murine T helper cell clones are divided by their lymphokine secretory activities. One is the Th-1 cell, producing IL-2 and IFN  $\gamma$  after stimulation and the other is the Th-2 cell, producing the IL-4 and IL-5. This study was undertaken to evaluate the immunomodulatory properties of the bacterial lipopolysaccharide(LPS) on the lymphokine production in vivo and in vitro.

The results were as follows:

There were no effects on the lymphokine secretion by the in vitro treatment of the LPS. The in vivo treatment of the LPS decreases the capability of the production of IL-2 and IFN  $\gamma$ , whereas it increases the capability of IL-4 production. The altered capacity of the lymphokine production was recovered about 2 weeks after the treatment of the LPS. There were no differences on the lymphokine production between E-coli LPS and salmonella LPS. The capacity of the lymphokine production was the same in the treatment of a non-heated LPS or heated-LPS. The lymphokine production of the mice which were desensitized by the long term treatment of the LPS was not different from the control mice. The in vitro treatment of RU486 can block the alterations of the lymphokine production after the treatment of the LPS.

In summary, one can tell that the LPS increases the secretion of the IL-4 through the endogenous secretion of the glucocorticoids. (Korean J Pathol 1997; 31: 244~251)

**Key Words:** LPS, Lymphokine, T lymphocyte

접 수: 1996년 3월 28일, 게재승인: 1997년 1월 11일

주 소: 전북 익산시 신용동 344-2, 우편번호 570-749

원광대학교 의과대학 병리학교실, 문형배

† 본 연구는 1997년도 원광대학교 연구비의 지원에 의해 이루어졌음.

## 서 론

척추 동물에서 외부 물질에 대한 면역반응은 세포학적, 분자생물학적, 유전학적 측면에서 많은 연구가 수행되고 있으며, 이들의 대부분은 시험관내 반응에 대한 연구로서 항원의 인지, 림프구 간의 상호관계 및 림포카인이나 싸이토카인의 역할 등에 대해 많은 연구진전이 있었다. 이들 면역반응에 대한 생체내 변화에 대해서도 여러가지 측면에서 많은 연구가 시도되고 있으나, 싸이토카인 및 림포카인의 생체 내 변화에 대해서는 환자 또는 실험동물에서 채취 한 검체에서 각종 싸이토카인의 증감 여부를 관찰하는 정도이다. 한편 싸이토카인의 작용을 살펴보면 싸이토카인을 분비하는 세포 자체에 대해 성장 및 분열을 촉진시키는 autocrine작용, 분비 세포가 아닌 주위 세포에 대해 영향을 미치는 paracrine 작용 및 분비된 싸이토카인이 호르몬 작용을 하는 endocrine 효과 등을 가지고 있으며, 이들 싸이토카인은 염증, 종양 및 면역반응에 중요한 역할을 하고 있다<sup>1-7</sup>.

면역반응에 관여하는 T세포는 기능에 따라 보조, 억제 T세포로 분류되나, 이들은 각각 다른 표면분자를 가지고 있어, CD4+ helper/inducer세포, CD8+ suppressor/cytotoxic세포 등으로 불리우고 있다. 이중 CD4+ 세포는 주로 지연성 과민 반응에 관여하는 세포로 알려져 왔으나, 1986년 Mosmann등<sup>8</sup>에 의하여 보조 T세포클론은 림포카인의 분비양태에 따라 Th1세포 및 Th2세포로 세분되고 이들의 면역학적 기능은 서로 상이하다고 밝혀졌다<sup>9-10</sup>. 림포카인 분비능에 있어서 Th1세포와 Th2세포의 차이는 Th1세포는 자극 후 interleukin-2(IL-2) 및 gamma interferon(IFN  $\gamma$ )을 분비하며, Th2세포는 interleukin-4(IL-4) 및 interleukin-5(IL-5)를 분비하며, 면역학적 기능도 서로달라 Th1세포는 지연성 과민반응의 효과세포로 작용하며, 항바이러스 작용, 항종양 작용 및 세포 내에서 살아가는 기생체에 대한 숙주 보호작용을 가진다<sup>8-11</sup>. 반면 Th2세포는 soluble항원에 대한 B세포의 반응을 증진시키며, IL-4 및 IL-5의 분비를 통해서 호산구나 비만세포의 성장 및 분화를 촉진시키는 작용을 갖는다<sup>5,8,12-14</sup>.

Bacterial lipopolysaccharide(LPS)는 세균에서 분비하는 내독소의 주요 성분이라고 알려져 있으며, LPS가 생체에 미치는 영향에 대해서는 많은 연구가 이루어지고 있다. 특히 LPS가 면역능에 미치는 영향에

대해서 내독소는 항원표지세포에서 IL-1을 분비하게 하여 시상하부-뇌하수체-부신피질 축을 통해 glucocorticosteroid 호르몬을 분비시켜 지연성 과민반응 및 접촉성 과민반응을 억제시킨다고 알려져 있다<sup>15</sup>. 따라서 지연성 과민반응의 효과세포인 CD4+세포의 림포카인 분비능에 미치는 LPS의 생체 및 시험관내 효과를 측정함은 LPS의 면역억제반응의 작용 기작을 이해하는데 도움이 될 것으로 사료되어 본 실험을 시행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험 동물

C3H/HeN과 C3H/HeN  $\times$  BL/6 F1 마우스를 원광대학교 의과대학 동물사육실에서 자용 구분없이 사용 하였으며, 실험에 사용된 마우스의 연령은 12~24주 이었다.

### 2. LPS 처치

LPS 처치는 E-coli lipopolysaccharide 또는 salmonella lipopoly-saccharide를 멸균된 PBS에 50 ug/ml 농도로 녹인 후 0.1 ml씩 복강내 1일 1회, 3일 동안 처치하였으며, 처치 종료 24시간 후 실험 동물을 도살하여 림프절 또는 비장을 채취하였다.

### 3. 항원 및 시약

1) 항 원: 면역을 위해 사용한 ovalbumin(Sigma 제)은 등장액 식염수에 20 mg/ml농도로 녹여 3 ml씩 분주하여  $-20^{\circ}\text{C}$ 에서 필요 할 때까지 보관하여 사용하였다.

2) 항 체: anti INF  $\gamma$ (XMG1.2) 및 anti IL-2(S4B6)는 T. Mosmann으로부터 분양 받아 본 실험에 이용하였으며 hamster anti-murine CD3 monoclonal antibody를 분비하는 세포는 J. Bluestone으로부터 분양 받았으며, murine T cell IL-2R(7D4)와 murine IL-4(11B11)를 생성하는 hybridoma은 American type culture collection에서 구입하여 사용하였다. 모든 monoclonal hybridoma 세포는 본 실험실에서 24~48시간 배양한 후 상층액을 얻어 이를  $-20^{\circ}\text{C}$ 에 보관한 후 필요에 따라 소량씩 녹여서 사용하였다.

3) 생리활성 물질: 본 실험에 사용한 생리활성 물질인 murine recombinant INF  $\gamma$ , murine recombinant IL-2, murine recombinant IL-4 등은 Genzyme사로 부터 구입하여 검사 시 표준검체로 사용하였다. E-coli LPS, salmonella LPS 및 3-[4,5-dimethylthiazole-2-yl]-2,5

diphenyl tetrazolium bromide(MTT)은 Sigma제를 이용하였다.

#### 4. 면역

Complete Freund's adjuvant(Sigma제)로 유화시킨 ovalbumin(OVA) 100 mg을 마우스 뒷다리에 주사하여 면역 시켰으며, 면역 후 7~14일에 실험동물을 도살한 후 슬와 림프절과 서혜부 림프절을 채취하여 본 실험에 이용하였다.

#### 5. 림프구 배양

정상 또는 면역된 마우스의 비장 또는 림프절을 채취하여 단세포화 한 후 balanced salt solution(BSS)으로 2회 수세하여  $1 \times 10^7$ /ml농도의 림프구에  $5 \times 10^{-5}$ M 2-mercaptoethanol 및 적정량의 항생제를 첨가하였다. 배양세포는 OVA 100 mg/ml 혹은 anti-CD3로 자극 하였으며, anti-CD3양은 hamster-anti-murine CD3 antibody를 분비하는 세포를  $1 \times 10^7$  cell/ml 농도로 48시간 배양한 후 채취한 상층액을 희석하지 않고 사용하였으며, 용량은 사전실험에 의해 림프구를 충분히 활성화시킬 수 있는 양으로 10 mg/ml을 사용하였다. OVA 혹은 anti-CD3를 첨가한 림프구는 37, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 24시간 배양한 후 원심 분리하여 배양 상층액을 채취하여 -20°C에서 림포카인을 검사할 때까지 저장하였다.

#### 6. 림포카인 검사

1) **INF  $\gamma$ :** INF  $\gamma$ 검사는 각 well에 함유된 INF  $\gamma$ 가 배양된 L929세포를 죽이는 murine encephalo myocarditis(EMC)바이러스의 독성을 방어하는 역할을 이용한 검사법으로 Greene등<sup>16</sup>의 micro culture방법을 이용하였다. 이 방법을 간단히 서술하면 L929세포를 96 well culture plate에  $3 \times 10^4$ /well 농도로 넣은 후 단층형성을 확인하고 여기에 시료를 첨가한 후 연속적으로 2배씩 희석하여 6시간 배양한 후 상층액을 버리고 각 well에 30 plaque-forming unit/ml의 EMC 바이러스를 첨가하고 40시간 배양한 후 crystal violet으로 살아 있는 세포를 염색하였다. 바이러스 감염으로 부터 방어진 L929세포는 well의 바닥에 자주색으로 염색되지만 EMC 바이러스에 의해 죽은 L929세포는 탈락되어 염색되지 않는다.

2) **IL-2 및 IL-4 검사:** IL-2 및 IL-4 검사는 HT-2 세포가 IL-2 및 IL-4 의존성 세포로서 이들 사이토카인이 없으면 사망하게 되는 원리를 이용한 방법으로서 Mosmann등의 방법에 의해 시행하였다<sup>17</sup>. IL-2

및 IL-4 검사 방법을 간략히 설명하면 96 well culture plate의 첫 줄에 test sample을 첨가한 후 연속적으로 2배씩 희석하고 나서  $5 \times 10^3$ cell/well의 HT-2 세포를 첨가하였다. IL-2를 측정하기 위한 plate에는 일정농도의 anti-IL-4 Ab(11B11)을 첨가하였으며, IL-4를 측정하기 위해서는 일정농도의 anti-IL-2 Ab(S4B6)와 anti-IL-2R Ab(7D4)를 첨가하였다. 그 후 20시간 동안 5% CO<sub>2</sub> 농도의 37°C 배양기에서 24시간 배양한 후 5 mg/ml의 MTT를 50  $\mu$ 씩 각 well에 첨가하여 HT-2 세포가 50% 살아있는 상태를 판정하여 IL-2 및 IL-4의 양을 산출하였다.

## 결 과

### 1. In vitro LPS 투여가 림포카인 생성에 미치는 영향

정상 마우스의 비장 및 림프절을 채취하여 단세포 현탁액을 만든 후 LPS 농도별로  $10^{-3}$ M에서  $10^{-10}$ M까지 처리한 후 24시간 배양하여 상층액에 포함된 림포카인을 측정하고 결과 각 농도에서 정상 대조군과 차이를 보이지 않았다. 따라서 생체 내 LPS 처리는 비장세포 및 임파절 림프구의 림포카인 분비능에 변화를 주지 않음을 알 수 있었다(Fig. 1).

### 2. In vivo LPS 투여가 림포카인 생성에 미치는 영향

LPS의 생체 내 처리에 따른 림포카인 생성능의 변화를 알기 위하여 LPS를 용량별로 마우스에 1일 1회, 3일간 처리한 후 비장 세포 및 임파절 림프구의 IL-2, IL-4 및 IFN- $\gamma$  생성을 측정하고, LPS 투여군에서는 정상군에 비해 IL-2 및 IFN  $\gamma$ 는 감소한 반면 IL-4는 증가하였다. 한편 투여한 LPS 양에 따른 변화는 5~100 mg 투여군 모두에서 IL-2, IFN  $\gamma$  및 IL-4의 생성능 변조는 비슷한 양상을 보였다(Fig. 2).

### 3. Ovalbumin 감작 마우스 및 정상 마우스에서 LPS의 림포카인 분비능에 관한 영향

Ovalbumin으로 면역시킨 마우스에서 채취한 lymphocyte에 대해 생체 내에서 ovalbumin으로 자극하여 검사한 림포카인 분비능의 변화는 정상 마우스 in vitro 실험에서 anti-CD3로 자극한 실험성적에 비해 림포카인의 총분비량은 적었다. 그러나 anti-CD3 및 ovalbumin으로 자극한 실험군 모두에서 정상 대조군에 비해 LPS를 처리한 군에서는 IL-2 및 IFN  $\gamma$ 의 감소가 관찰되었으며 IL-4의 증가가 관찰되었다. 따

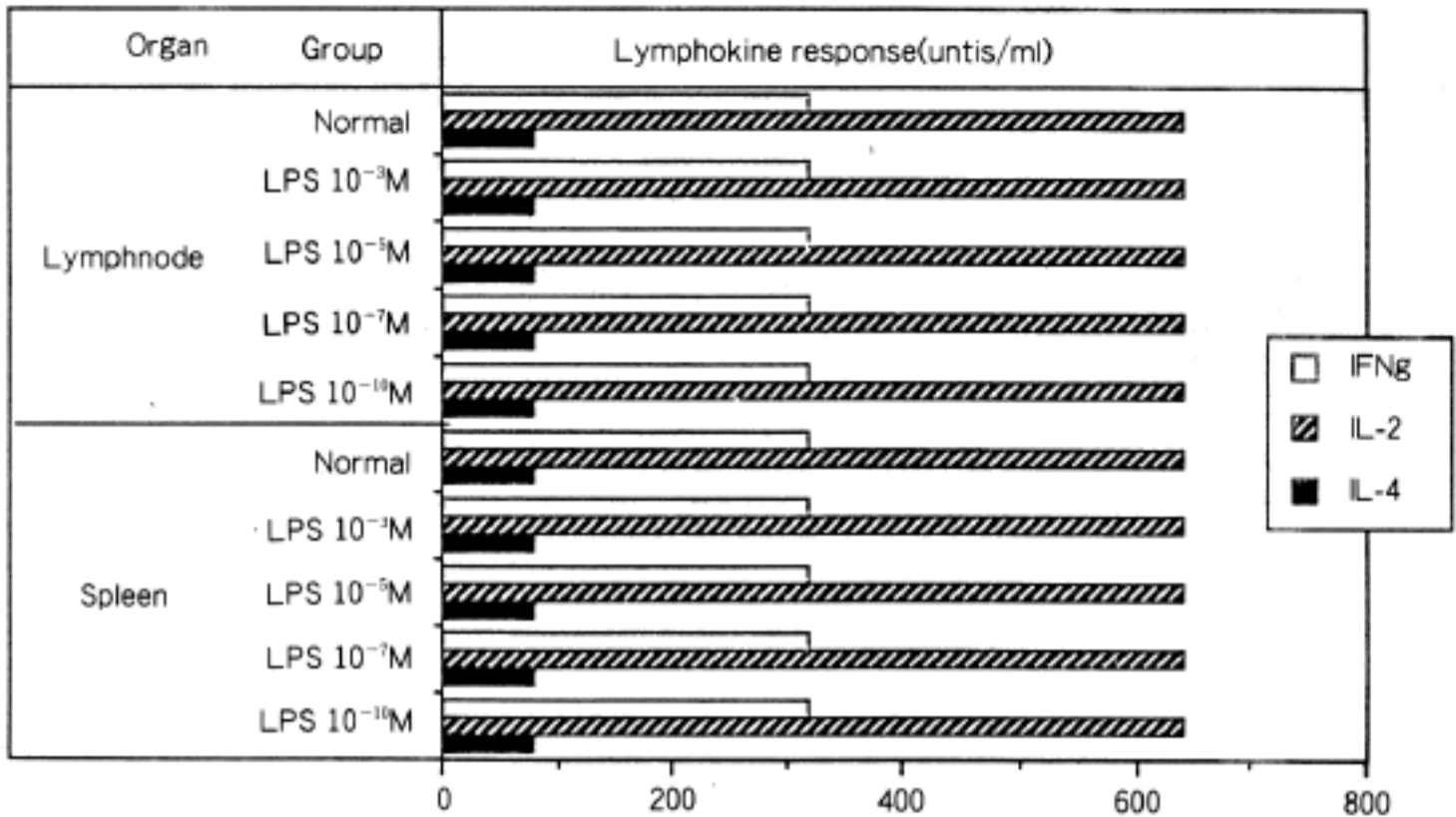


Fig. 1. Effects of LPS to the lymphokine response in vitro.

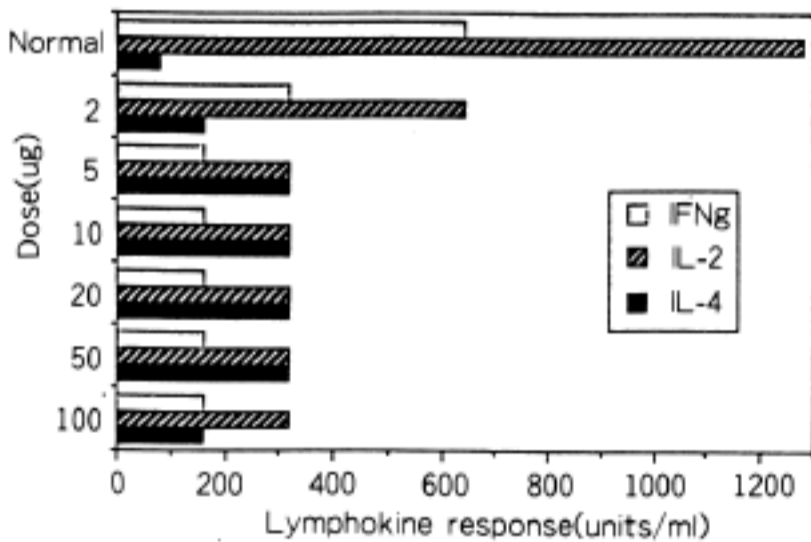


Fig. 2. Dose response of the LPS to the lymphokine response in the spleen.

라서 림프구의 LPS에 대한 반응으로 림포카인 분비능의 항원 특이성과 항원 비 특이성을 모두 관찰할 수 있었으며, LPS에 의해 IL-2 및 INF  $\gamma$ 의 생성은 감소되고 IL-4의 생성은 증가됨을 알 수 있었다(Fig. 3).

4. LPS투여에 의해 변조된 림포카인 분비능의 회복에 관한 실험 결과

LPS를 투여한 마우스 비장 림프구의 림포카인 생성능은 정상 대조군에 비해 IL-2 및 INF  $\gamma$ 의 감소를 보이며 IL-4의 증가를 보였는데 이들 변화는 INF  $\gamma$

및 IL-2는 13일에 정상 수준에 도달하였으며 IL-4는 9일에 정상 수준에 도달하였다. 따라서 LPS에 의한 림포카인 분비능의 변화는 LPS 자극이 없어진 후 일정기간이 경과하면 정상화됨을 알 수 있었다(Fig. 4).

5. 다른 균주로부터 분리한 LPS 처치 후 림포카인의 분비능 변화에 관한 연구

LPS의 종류에 따라 림포카인의 분비능이 서로 다른가의 여부를 관찰하기 위하여 E-coli 및 salmonella 균에서 분리한 LPS를 마우스에 처치한 후 비교 관찰한 결과 E-coli 및 salmonella LPS 처치군 모두에서 정상 대조군에 비해 IL-2 및 INF  $\gamma$ 의 양은 현저히 감소함을 알 수 있었고, IL-4는 오히려 증가함을 알 수 있었으며 이들의 변화정도는 매우 유사함을 알 수 있었다(Fig. 5).

6. 가열한 LPS의 림포카인 분비능에 관한 영향

LPS의 림포카인 분비능에 대한 효과가 LPS 자체에 의한 것인가 또는 그의 LPS에 함유된 다른 물질에 의한 것인가를 알기 위해 LPS를 100°C에서 10분간 가열한 후 실험한 결과 가열하지 않은 LPS와 가열한 LPS의 효과는 IL-2 및 INF  $\gamma$ 는 감소하고, IL-4는 증가함을 관찰 할 수 있었다. 따라서 가열하지 않은 LPS와 가열한 LPS의 림포카인 분비능에 대한 효과가 동일함을 알 수 있어서 이는 열에 안정한

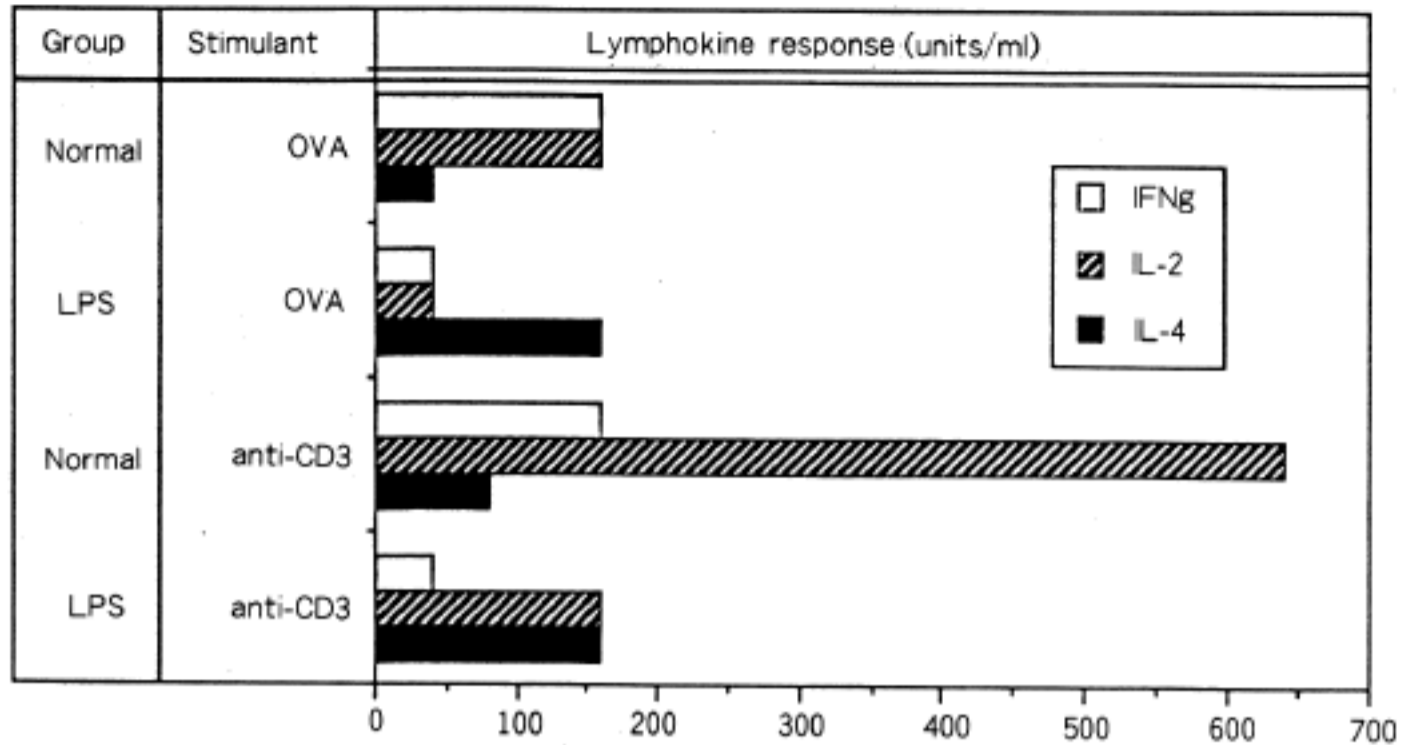


Fig. 3. The effect LPS(5 ug/mice) on the lymphokine response in the ovalbumin(OVA) primed or normal mice.

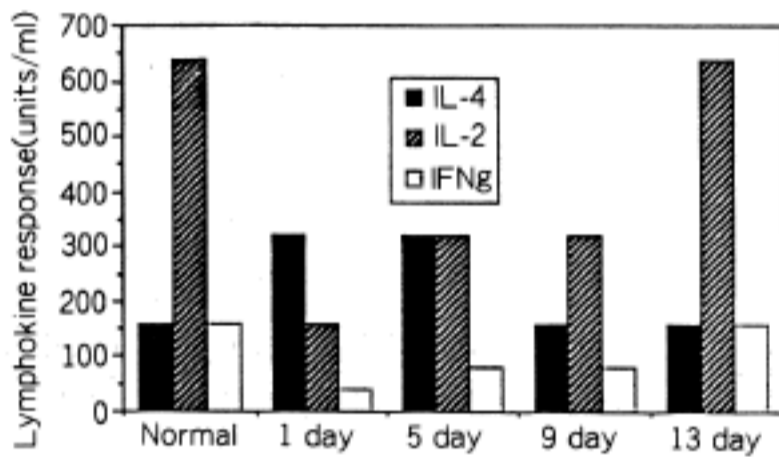


Fig. 4. Recovery of LPS effects to the lymphokine response in the spleen.

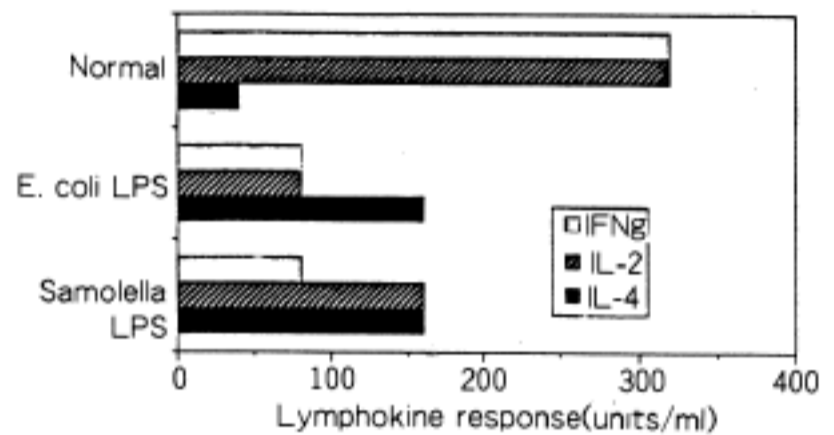


Fig. 5. Effects of salmonella LPS and E. coli LPS to the lymphokine response.

LPS에 의해 림포카인 분비능의 변화가 일으며 짐을 추측할 수 있었다(Fig. 6).

7. LPS 장기 투여로 인해 탈감작화된 마우스의 림포카인 분비능에 관한 관찰

LPS는 실험동물에 장기간 투여한 경우 LPS에 대해 탈감작작용을 일으켜 LPS 고유의 효과가 나타나지 않는다는 사실이 밝혀져 있어, LPS를 장기 투여한 후 LPS에 대해 탈감작시킨 동물에서 림포카인 생성능의 변화를 알기 위해 LPS를 14일 동안 처치한 군과 3일 동안 처치한 군으로 나누어 이들의 림포카인 분비능을 측정하고 결과 LPS를 3일 동안 처치한 군에서는 정상 대조군에 비해서 IL-2 및 INF  $\gamma$ 는

감소되었고, IL-4는 증가됨을 관찰할 수 있었는데 비하여, LPS를 14일 동안 투여하여 LPS에 대해 탈감작을 일으킨 실험군에서는 IL-2, INF  $\gamma$  및 IL-4의 분비능이 정상군과 동일한 결과를 나타내어 LPS 장기 투여로 인한 탈감작 후에도 림포카인의 분비능은 정상과 동일함을 알 수 있었다(Fig. 7).

8. LPS 처치 후 변조된 림포카인 분비능에 미치는 RU486의 영향

RU486은 시험관 내 glucocorticosteroid 길항제로 알려져 있는 바 LPS투여 후 실험동물에서 채취한 비장세포의 림포카인 분비능에 대한 RU486의 시험관 내 효과를 알아보기 위해 본 실험을 시도한 결

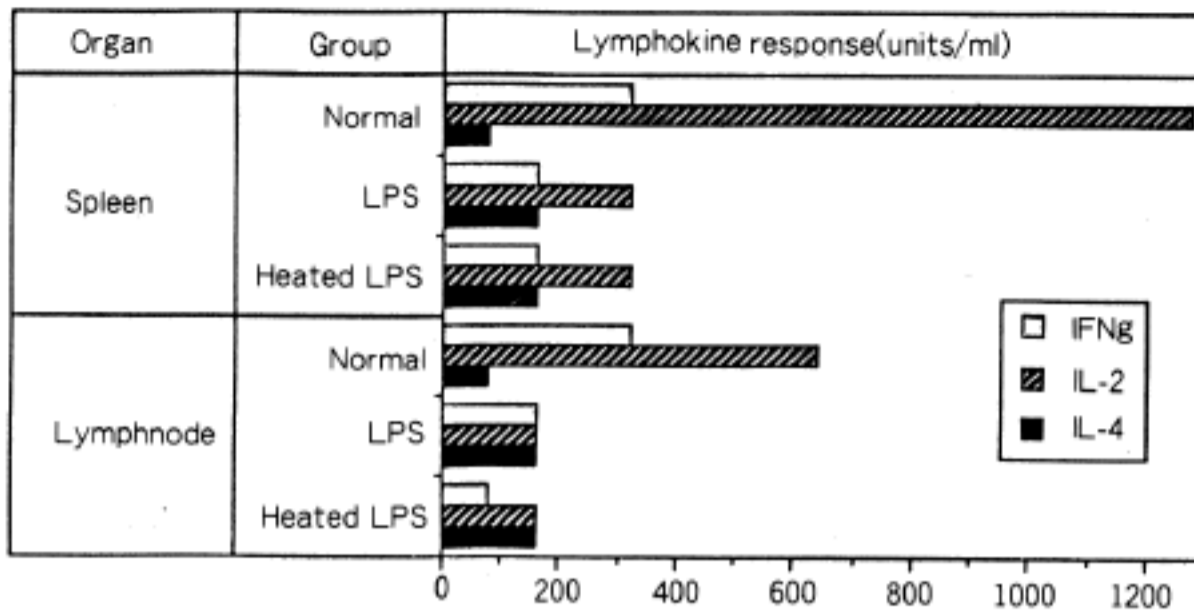


Fig. 6. Effect of heated or non-heated LPS to the lymphokine in the spleen and lymph node.

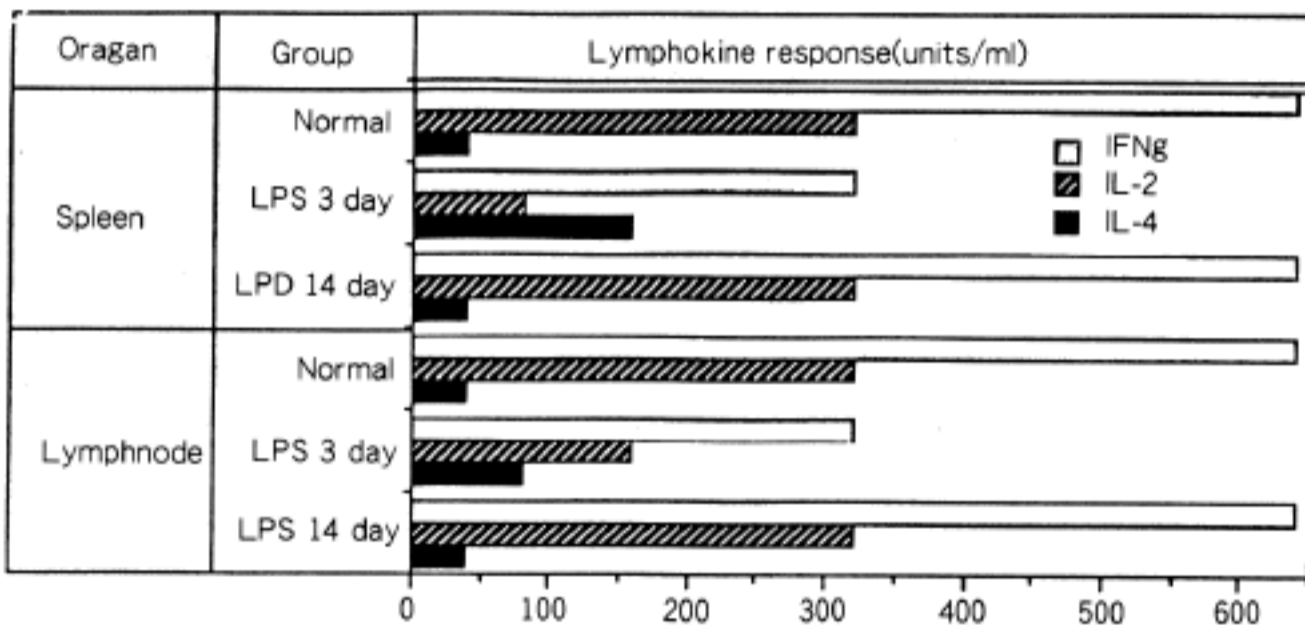


Fig. 7. Effects of desensitization by the LPS to the lymphokine response.

과 RU486만을 단독 처치한 경우 정상 마우스의 림포카인 분비능과 동일하였으나, LPS 만을 투여한 군에서는 정상대조군에 비해 IL-2는 감소한 반면 IL-4는 증가된 소견을 보였다. 그러나 LPS 투여군의 비장세포에 RU486을 시험관 내 처치한 군에는 LPS에 의한 IL-2 분비능의 감소효과는 소실되었으나, LPS에 의한 IL-4 분비능의 증가효과는 RU486 처치에 의해 대부분 억제되는 소견을 관찰 할 수 있었다. 따라서 LPS에 의해 변조된 림포카인 생성능은 RU486의 시험관 내 처치로 정상화된다는 점을 관찰 할 수 있어, LPS에 의한 림포카인 분비능의 변조는 glucocorticosteroid에 의해 매개됨을 추측케 하였다(Fig. 8).

### 고 찰

세균에서 분비하는 독소 중에는 내독소 및 외독소가 있으며 내독소의 주성분이라고 알려진 LPS는 인체에 많은 영향을 주고 있다. 한편 세균 내독소와 면역능과의 관계는 B cell의 초기 활성화, 면역글로부린 형성, 림프구 형성에 영향을 주며, 특히 지연성 과민반응을 감소시킨다고 알려져 있다<sup>18</sup>. LPS처리 후 지연성 과민반응에 미치는 영향은 자외선조사 후 지연성 과민반응에 미치는 영향과 비슷하여 항원인지세포에서 IL-1을 분비하게하여 시상하부-뇌하수체-부신피질 축을 통해 glucocorticosteroid 분비

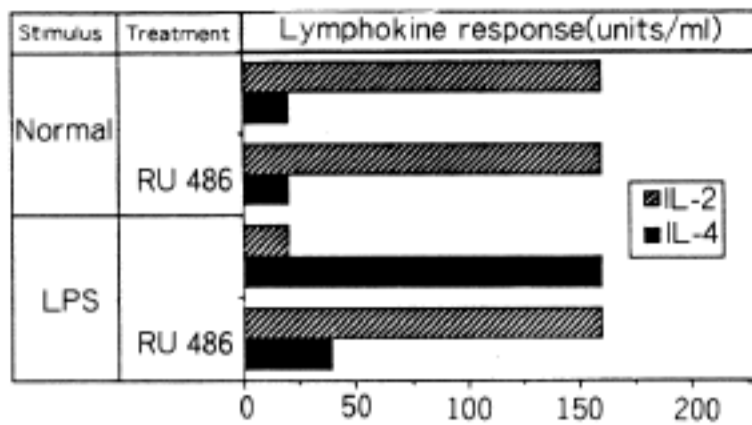


Fig. 8. Effects of RU 486 in lymphokine production after LPS treated or normal mice.

를 증가시켜 지연성 과민반응을 감소 시킨다고 알려져 있으나, 이들의 기작은 확실히 알려지지 않고 있다<sup>19-22</sup>. 따라서 LPS와 림포카인 분비능과의 관계를 살펴본 결과 시험관 내 LPS처치에 의해서는 IL-2, IL-4 및 INF  $\gamma$  분비능이 변화하지 않았고, 생체내 LPS 처치에 의해서는 IL-2 및 INF  $\gamma$ 의 분비능은 감소되고 IL-4의 분비능은 증가하였다. 이러한 소견은 자외선 조사 및 IL-1 처치 후 CD4+ T 림프구의 IL-2 및 INF  $\gamma$ 의 분비능은 감소하고 IL-4의 분비능은 증가하였다는 Araneo등<sup>23</sup>의 결과와 유사하였다.

LPS에 의한 면역계의 탈감작화는 Golub등<sup>24</sup>에 의해서 실험모델이 이루어졌으며, 그 후 여러 사람에게 의해 확인되었고, LPS에 의해 탈감작화된 마우스는 deaggregated human gamma globulin에 의한 anti-human gamma globulin 생성 증가를 억제시키는 작용을 하고, 복강세포에 의한 IL-1 생성의 증가를 억제시키는 소견을 관찰하여 LPS 장기 투여에 의해 탈감작됨을 주장하였다<sup>25</sup>. 따라서 LPS 장기투여로 인해 탈감작된 마우스는 다른 자극에 대해서 면역학적 반응이 이루어지지 않음을 알 수 있었는데, 본 실험 결과 LPS 장기 투여로 탈감작화된 마우스의 림포카인 분비능은 정상 마우스와 같았으나, LPS를 단기간 투여한 실험군과는 림포카인 분비능이 다를 수 있어, LPS장기 투여로 인해 탈감작화된 마우스는 림포카인 분비능에서도 탈감작화되어 있음을 알 수 있었다.

Th1세포는 IL-2와 INF  $\gamma$ 를 분비하고 Th2세포는 IL-4 및 IL-5를 분비하는데, 생체 내에 LPS를 투여한 후에는 T림프구의 IL-2 및 INF  $\gamma$  생성능은 감소되고, IL-4 생성능은 증가됨으로 미루어 보아, LPS 투여가 Th1세포는 억제시키고 Th2세포는 활성화시

킴을 추측할 수 있었으며, 이러한 현상은 시험관 내 glucocorticosteroid 길항제인 RU486의 처치로 인해 억제되는 현상을 관찰할 수 있어 LPS투여로 인한 림포카인 분비능의 변조는 내인성 glucocorticosteroid 분비로 인해 야기됨을 시사해 주는 소견이었다.

## 결 론

Bacterial lipopolysaccharide(LPS)가 T림프구의 림포카인 분비능에 미치는 영향을 연구한 결과 다음과 같은 성적을 얻었다.

시험관 내 LPS투여에 의해서는 T림프구의 림포카인 분비능은 변화하지 않았으며, 생체 내에 LPS를 투여한 후에는 T림프구의 IL-2 및 INF  $\gamma$  분비능은 감소되었으며 IL-4 분비능은 증가되었고, LPS 투여 후 변조된 림포카인 분비능은 2주 정도에서 정상화되었다. E-coli LPS 및 salmonella LPS 투여에 의한 림포카인 생성능의 변화는 동일하였으며, 가열한 LPS 및 가열하지 않은 LPS의 림포카인 생성에 대한 효과는 동일하였다. LPS 장기 투여로 탈감작화된 마우스의 림포카인 분비능은 정상 마우스와 동일하였으며, 림포카인 생성능에 미치는 LPS의 영향은 시험관 내 RU486처치에 의하여 억제되었다.

이상의 결과를 종합하면 LPS는 IL-2 및 INF  $\gamma$ 의 생성능을 감소시킨 반면 IL-4의 생성능은 증가시켰으며, 이러한 소견들은 glucocorticosteroid 분비에 의해 중재됨을 추측할 수 있었다.

## 참 고 문 헌

- Harding CV, Unanue ER. Antigen processing and intracellular Ia: Possible roles of endocytosis and protein synthesis in Ia function. *J Immunol* 1989; 142: 12-9.
- Germain RN. Immunology. The ins and outs of antigen processing and presentation. *Nature* 1986; 322: 687-9.
- Kupfer A, Singer SJ, Dannert G. On the mechanism of unidirectional killing in mixtures of two cytotoxic T lymphocytes: unidirectional polarization of cytoplasmic organelle and the membrane-associated cytoskeleton in the effector cell. *J Exp Med* 1986; 163: 489-96.
- Kupfer A, Swain SL, Janeway CA Jr, Singer SJ. The specific direct interaction of helper T cells and antigen-presenting B cells. *Proc Natl Acad Sci USA*.

- 1986; 83: 6080-3.
5. Bottomly KA. Functional dichotomy in CD4+ T lymphocytes. *Immunol Today* 1988; 9: 268-74.
  6. Gajewski FT, Fitch FW. Anti-proliferative effect of INF  $\gamma$  in immune regulation. I. INF  $\gamma$  inhibits the proliferation of Th2 but not Th1 murine helper T lymphocytes clones. *J Immunol* 1988; 140: 4245-52.
  7. Ghezzi P, Dinarello CA. IL-1 induces IL-1. III. Specific inhibition of IL-1 production by INF  $\gamma$ . *J Immunol* 1988; 140: 4238-44.
  8. Mosmann TR, Cherwinksin HK, Bond MW, Glealin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol* 1986; 136: 2348-57.
  9. Mosmann TR, Coffman RL. Two types of mouse helper T cell clone: implication for immune regulation. *Immunol Today* 1987; 8: 233-8.
  10. Umetsu DT, Jabara HT, DeKruyff RH, Abbas AK, Abrams S, Geha RS. Functional heterogeneity among human inducer T cell clones. *J Immunol* 1988; 140: 4211-6.
  11. Scott P, Natoutz P, Coffman RL, Pearce E, Sher A. Immunoregulation of cutaneous-leishmaniasis: T cell lines that transfer protective immunity or exacerbation belong to different T helper subsets and response to distinct parasite antigen. *J Exp Med* 1988; 168: 1675-84.
  12. Coffman RL, Ohara J, Bond MW, Carty J, Zlotnick E, Paul WE. B cell stimulatory factor-1 enhances the IgE response of lipopolysaccharide-activated B cells. *J Immunol* 1986; 136: 4538-41.
  13. Lebman DA, Coffman RL. Interleukin-4 causes isotype switching to IgE in T cell-stimulated clonal B cell clusters. *J Exp Med* 1988; 168: 853-62.
  14. Mosmann TR, Bond MW, Coffman RL, Ohara J, Paul WE. T cell and mast cell lines respond to B cell stimulatory factor-1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 5654-8.
  15. Daynes RA, Robertson BA, Cho BH, Kim B, Newton R. Alpha-Melanocyte-stimulating hormone exhibits target cell selectivity in its capacity to affect interleukin 1-inducible response in vivo and in vitro. *J Immunol* 1987; 139: 103-9.
  16. Green JA, Yen TJ, Overall JC, Rapid Jr. Quantitative semiautomated assay for virus-induced and immune human interferons. *J Clin Microbiol* 1980; 12: 433-8.
  17. Mosmann TR. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferative and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 1983; 65: 55-9.
  18. Paul WE. *Fundamental Immunology*. 2nd ed., New York: Raven press. 1989: 46-54.
  19. Bergstresser PR, Streilein JW. Ultraviolet radiation produces selective immune incompetence. *J Invest Dermatol* 1983; 81: 85-6.
  20. Noonan FP, DeFabo EC, Kripke ML. Suppression of contact hypersensitivity by UV radiation and its relationship to UV-induced suppression of tumor immunity. *Photochem Photobiol* 1981; 34: 683-9.
  21. Noonan WL, Pike RA. Suppression of graft-versus-host reactivity in the mouse popliteal node by UVB radiation. *J Invest Dermatol* 1985; 84: 483-6.
  22. Spellman CW, Daynes RA. Modification of immunological potential by ultraviolet radiation. II. Generation of suppressor cells in short-term UV-irradiated mice. *Transplantation* 1977; 24: 112-9.
  23. Araneo BA, Dowell TA, Moon HB, Daynes RA. Regulation of murine lymphokine production in vivo: UVR exposure depresses IL-2 and enhances IL-4 production by T cells through an IL-1-dependent mechanism. *J Immunol* 1989; 143: 1737-44.
  24. Golub ES, Weigle WO. Studies on the induction of immunologic unresponsiveness. I. Effects of endotoxin and phytohemagglutinin. *J Immunol*. 1967; 98: 1241-7.
  25. Willian OW, Gahring LC, Romball CG, Goodman MG. The effect of lipopolysaccharide desensitization on the regulation of in vivo induction of immunologic tolerance and antibody production and in vitro release of IL-1. *J Immunol* 1989; 142: 1107-13.