

Liczba i dystrybucja epidermalnych komórek CD1a+ w miejscu wywołania reakcji nadwrażliwości kontaktowej

Number and distribution of CD1a+ epidermal cells at the site of elicitation of contact hypersensitivity reaction

ALEKSANDRA LESIAK^{1/}, ANNA SYSA-JĘDRZEJOWSKA^{1/}, JÓZEF KOBOS^{2/}, JANUSZ ŚMIGIELSKI^{3/}, ANNA WOŹNIACKA^{1/}, JOANNA NARBUTT^{1/}

^{1/}Katedra i Klinika Dermatologii i Wenerologii w Łodzi

^{2/}Zakład Patomorfologii UM w Łodzi

^{3/}Zakład Informatyki i Statystyki Medycznej UM w Łodzi

Streszczenie

Wprowadzenie. Reakcja nadwrażliwości kontaktowej (*contact hypersensitivity response* – CHS) zachodzi dzięki aktywności komórek dendrytycznych, prowadząc do powstania zmian o charakterze wyprysku kontaktowego. Doświadczalnie reakcję CHS u ludzi wywołuje się stosując różnorodne hapteny, najczęściej difenylocyklopropenon (DPCP), a jej wystąpienie świadczy o zachowanej aktywności komórek prezentujących antygen i limfocytów T. W stanie zapalnym w skórze występują co najmniej trzy populacje komórek dendrytycznych (w tym komórki Langerhansa), których wspólnym markerem immunohistochemicznym jest cząsteczka CD1a.

Cel pracy. Celem pracy była ocena udziału komórek dendrytycznych naskórka w rozwoju reakcji nadwrażliwości kontaktowej.

Materiał i metody. Badania przeprowadzono u 50 zdrowych wolontariuszy. 40 osób uczulano DPCP, a następnie po 3 tygodniach wywoływano u nich reakcję CHS. Nasilenie reakcji CHS oceniano po 48. godzinach, a następnie z miejsca aplikacji DPCP pobierano biopsje skóry. 10 osób stanowiło grupę kontrolną. Wycinki skórne poddane były badaniu histopatologicznemu oraz immunohistochemicznemu z zastosowaniem monoklonalnych przeciwciał anti-CD1a. Oceniano grubość naskórka, nasilenie zjawiska spongiozy oraz liczbę i dystrybucję epidermalnych komórek CD1a+.

Wyniki. Średnia grubość naskórka w grupie kontrolnej była istotnie niższa (0,061 mm) niż w grupie uczulonej (0,207mm) ($p < 0,05$). W grupie kontrolnej nie stwierdzono cech spongiozy, natomiast zjawisko to obserwowano u 85% osób uczulonych. Komórki CD1a+ w grupie kontrolnej (420,84/mm²) były zlokalizowane nad warstwą podstawną naskórka, podczas gdy w wycinkach pobranych z miejsca wywołania CHS były one rozproszone w całym naskórku a ich liczba istotnie większa (1174,38/mm²; $p < 0,00001$).

Wnioski. Zwiększona liczba komórek CD1a+ w miejscu wywołania reakcji CHS świadczy o wzmożonym procesie prezentacji antygeny oraz wskazuje na rolę komórek dendrytycznych w rozwoju reakcji nadwrażliwości kontaktowej.

Słowa kluczowe: komórki dendrytyczne, CD1a, reakcja nadwrażliwości kontaktowej, alergia kontaktowa

Summary

Introduction. Contact hypersensitivity response (CHS) occurs as a result of dendritic cell (DC) and lymphocyte T activity, resulting in contact dermatitis. Experimental CHS is induced by epicutaneous application of various haptens, such as diphenylcyclopropenone (DPCP), and its presence indicates that the antigen-presenting cells and lymphocytes T have retained their activity. In the course of inflammatory processes, three populations of DCs (including Langerhans cells) can be detected in the skin. Their common immunohistochemical marker is the CD1a molecule.

Aim of the study. The aim of our study was to evaluate the role of epidermal dendritic cells in the development of contact hypersensitivity response.

Material and methods. The study group consisted of 50 healthy volunteers. Ten individuals served as the controls. Forty subjects were sensitized with DPCP to be subjected three weeks later to elicitation. The intensity of the CHS response was determined 48 h later. Subsequently, the challenged sites were biopsied and then histological and immunohistochemical examinations (with anti-CD1a monoclonal antibodies) were performed. Epidermal thickness, spongiosis intensity and the number and distribution of epidermal CD1a+ cells were assessed.

Results. In the control group, the mean epidermal thickness was statistically lower (0.061 mm) than in the sensitized subjects (0.207mm) ($p < 0.05$). While in the controls no spongiosis was noted, in the challenged volunteers it was detected in 85% of the analysed samples. Epidermal CD1a+ cells in the control group (420.84/mm²) were located in the suprabasal layer, whereas in the challenged site their number was significantly higher (1174.38/mm²; $p < 0.00001$) and they were scattered throughout the whole epidermis.

Conclusions. An increased number of CD1a+ cells at challenged sites suggests enhanced activity of the antigen presenting cells and points to their role in contact hypersensitivity response development.

Key words: dendritic cells, CD1a, contact hypersensitivity response, contact allergy

Wykaz skrótów:

CHS – reakcja nadwrażliwości kontaktowej (*contact hypersensitivity response*)

KL – komórki Langerhansa

DPCP – difenylocyklopropenon

Reakcja nadwrażliwości kontaktowej (*contact hypersensitivity response* – CHS) jest to reakcja alergiczna typu komórkowego, w której objawy kliniczne wyprysku kontaktowego występują po ekspozycji na alergen, który powstaje po wnikięciu haptenu i jego związaniu się z białkiem. Po kontakcie alergenu z komórkami Langerhansa (KL) zostaje on przez nie pochłonięty i przetworzony [1], a powstające małe peptydy łączą się z antygenami zgodności tkankowej HLA-DR. Kompleks taki jest następnie przemieszczany na powierzchnię komórki Langerhansa i prezentowany naiwnym limfocytom T w regionalnych węzłach chłonnych. Po prezentacji antygeny dochodzi do pobudzenia małej populacji limfocytów T pomocniczych i powstania populacji limfocytów T pamięci, rozpoznających dany alergen [2]. Badania nadwrażliwości kontaktowej u ludzi przeprowadzane są z użyciem różnorodnych haptenu, najczęściej: 1-chloro-2,4-dwunitrobenzenu (DNCB) i difenylocyklopropenonu (DPCP) [3,4]. Wystąpienie reakcji CHS świadczy o aktywności komórek prezentujących antygen i limfocytów T. Zahamowanie reakcji CHS następuje pod wpływem ekspozycji na UVR [3,5-6] lub w stanach przebiegających ze zmniejszoną odpornością np. w zakażeniu wirusem HIV [7].

Migracja i dojrzewanie komórek dendrytycznych w naskórku są uważane za kluczowy mechanizm w zapoczątkowaniu skórnej odpowiedzi immunologicznej. Przechodzenie KL do węzłów chłonnych jest niezbędnym procesem prowadzącym do wywołania wczesnej antygenowo-specyficznej fazy uczulenia [8,9], natomiast ich znaczenie w fazie wywołania reakcji CHS nie jest w pełni poznane [10,11]. Stąd też celem pracy była ocena udziału komórek dendrytycznych naskórka w rozwoju reakcji nadwrażliwości kontaktowej.

MATERIAŁ I METODY**Pacjenci**

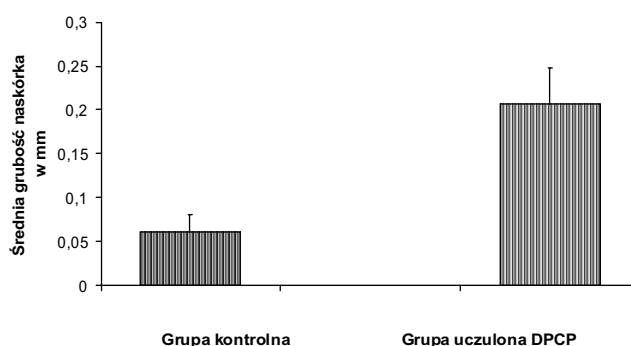
Do badań zakwalifikowano 50 ogólnie zdrowych i nie przyjmujących żadnych leków wolontariuszy: 23 mężczyzn w wieku 21-45 lat, 27 kobiet w wieku 22-48 lat. Ochotnicy wyraził pisemną zgodę na udział w badaniu, na które wcześniej uzyskano akceptację lokalnej Komisji Bioetyki UM w Łodzi. Przed rozpoczęciem eksperymentu każdy z uczestników poddany był badaniu lekarskiemu i miał wy-

konane podstawowe badania laboratoryjne (morfologia krwi, badanie ogólne moczu).

U czterdziestu osób wywoływano reakcję CHS z zastosowaniem DPCP, 10 zaś stanowiło nieuczuloną grupę kontrolną.

Faza uczulenia i wywołania reakcji CHS

W eksperymencie uczulenie przeprowadzono przy zastosowaniu roztworu DPCP w acetonie (20mg DPCP/20ml acetonu) (Fluka Chemie GmbH, Buchs, Szwajcaria), aplikowanego na 48 godzin na skórę pośladka w dwóch komorach Finnchambers (średnica jednej komory 8 mm) (Epitest Ltd, Tussula, Finlandia), przymocowanych hypoalergicznym plastrem. Po trzech tygodniach od aplikacji, w celu wywołania reakcji CHS, u wszystkich wolontariuszy zakładano plastry z komorami (średnica 8 mm) wypełnionymi DPCP rozpuszczonym w acetonie na wewnętrzną część ramienia lewego w 4 zwiększających się dawkach: 0,4 µg, 0,8 µg, 1,6 µg, 3,2 µg. W szóstej komorze był aceton, stanowiący kontrolę. Roztwór DPCP pozostawał na skórze przez 6 godzin. Reakcję CHS oceniano po 48 godzinach od aplikacji [3,4] kierując się skalą kliniczną: (0) – brak reakcji, (1) – wyczuwalny rumień, (2) – rumień i naciek, (3) – rumień, naciek, grudki i/lub pęcherzyki, (4) – odczyn pęcherzowy (6), (ryc. 1).



Ryc. 1. Średnia grubość naskórka w grupie kontrolnej i uczulonej

Badania tkankowe

W tym samym czasie pobierano od wolontariuszy biopsję skóry przy zastosowaniu sztancy o średnicy 3 mm, z miejsca wywołania reakcji CHS. Ze względów etycznych pobierano ją tylko z miejsca aplikacji jednej dawki DPCP (3,2µg). Wycinki skóry z tej samej okolicy zostały pobrane od osób z grupy kontrolnej.

Pobrane tkanki umieszczane były w 10% roztworze formaldehydu i zatapiane w parafinie, a następnie krojone na skrawki grubości 3-4 µm oraz barwione hematoksyliną i eozyną. Każdy preparat oceniano dwukrotnie w 10 polach widzenia, w powiększeniu x100, x200 i x400 w mikroskopie (Nicon Microfob FXA, Japonia). W każdym preparacie oceniano: grubość naskórka (średnia wartość

z pomiarów wykonanych w 10 polach widzenia), nasilenie spongiozy (określenie patomorfologiczne opisujące obrzęk międzykomórkowy naskórka z następowym tworzeniem się pęcherzyków śródskórnymi- cechy charakterystyczne dla wyprysku kontaktowego), gdzie 0 oznaczało jej brak, 1 – niewielki obrzęk naskórka, brak pęcherzyków śródskórnymi, 2 – obrzęk naskórka i pojedyncze pęcherzyki śródskórnymi, 3 – duży obrzęk naskórka, liczne pęcherzyki śródskórnymi.

Odczyny immunohistochemiczne przeprowadzono na skrawkach parafinowych o grubości 3-4 μm . Po odparafinowaniu w szeregu ksylenów i odwodnieniu w szeregu alkoholi skrawki płukano w kilku zmianach wody destylowanej. Skrawki inkubowano przez 5 minut w 3% roztworze nadtlenu wodoru (H_2O_2) celem zablokowania aktywności endogennej peroksydazy. Następnie skrawki płukano w buforze TBS (Dako Cytomation, Dania) i poddawano 30-minutowej inkubacji z pierwotnym przeciwciałem mysim antyludzkim skierowanym przeciwko cząsteczce CD1a, w rozcieńczeniu 1:200 (Novocastra Laboratories Ltd, Wielka Brytania). Inkubację przeprowadzono w komorze wilgotnej w temperaturze pokojowej. Po inkubacji, skrawki dwukrotnie płukano w buforze TBS, a następnie, aby uwidocznić reakcje antygen-przeciwciała zastosowano system wizualizacyjny EnVision/HRP/DAB+ firmy DAKO Cytomation (Dania). Po 30 minutowej inkubacji skrawków z użyciem wtórnego przeciwciała znakowanego peroksydazą chrzanową, przeprowadzano reakcję enzymatyczną stosując substrat dla peroksydazy – tetrachlorek 3,3 diaminobenzydyny (DAB). Po zakończeniu reakcji immunohistochemicznej jądra komórkowe podbarwiano hematoksyliną wg. Meyera (2min), a następnie odwadniano w szeregu alkoholi o rosnących stężeniach, przeprowadzono przez szereg ksylenów i zaklejało balsamem kanadyjskim. Kontrolę negatywną stanowiły skrawki, w których pierwotne przeciwciała zastąpiono buforem TBS.

Komórki wykazujące ekspresję cząsteczki CD1a (dodatni odczyn immunohistochemiczny typu błonowego: komórki Langerhansa, komórki dendrytyczne) liczono w mikroskopie (Nicon Microfob FXA, Japonia) przy powiększeniu 400x. Liczbę komórek odnoszono do powierzchni naskórka wyrażonej w mm^2 . W każdym przypadku dokonywano od 3 do 6 pomiarów. Oceniano dwa skrawki od każdego pacjenta, a następnie obliczano średnią liczbę tych komórek w mm^2 .

Analiza statystyczna

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej, biorąc pod uwagę wartości minimalne i maksymalne, średnią wartość arytmetyczną, odchylenie standardowe oraz medianę. Obliczenia wykonano w oparciu o test Manna-Witneya, za znamienne statystycznie uznawano wyniki w przypadku $p < 0,05$.

WYNIKI

W grupie uczulanej stwierdzono wystąpienie reakcji CHS u 36 osób (78,5%) w najniższym stężeniu DPCP (0,4 mg), w tym u 1 ochotnika (2,5%) wystąpiła reakcja pęcherzowa. W miejscu przyłożenia największej dawki DPCP reakcję CHS obserwowano u 90% osób i u 6 (15%) z nich wystąpił odczyn pęcherzowy. Szczegółową kliniczną ocenę reakcji CHS przedstawia tabela I.

Tabela I. Obecność reakcji CHS w grupie uczulonej difenylcyklopropenonem (DPCP)

Skala	Dawka DPCP			
	0,4 μg	0,8 μg	1,6 μg	3,2 μg
0	9/40 (22,5%)	5/40 (12,5%)	4/40 (10%)	4/40 (10%)
1	20/40 (50%)	10/40 (25%)	3/40 (7,5%)	2/40 (5%)
2	5/40 (12,5%)	19/40 (47,5%)	16/40 (40%)	10/40 (25%)
3	5/40 (12,5%)	5/40 (12,5%)	12/40 (30%)	18/40 (45%)
4	1/40 (2,5%)	1/40 (2,5%)	5/40 (12,5%)	6/40 (15%)

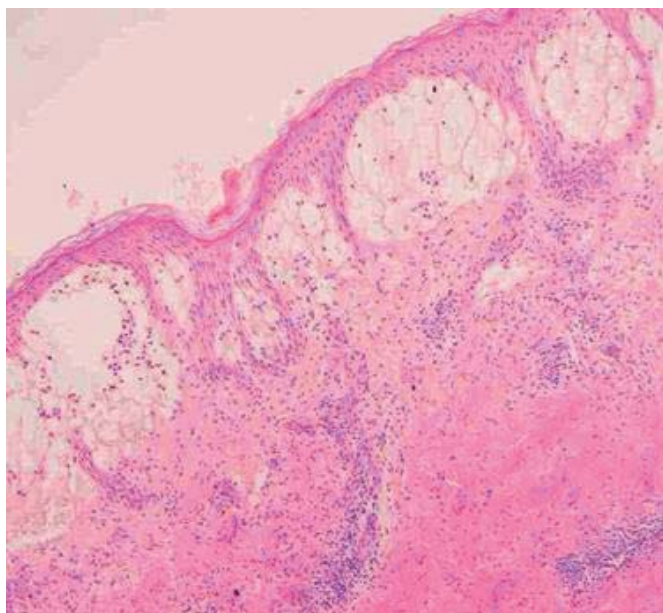
CHS – reakcja nadwrażliwości kontaktowej

Skala CHS – wg ICDRG (*International Contact Dermatitis Research Group*) (0) – brak reakcji, (1) – wyczuwalny rumień, (2) – rumień i naciek, (3) – rumień, naciek, grudki i/lub pęcherzyki, (4) – odczyn pęcherzowy

Średnia grubość naskórka pobranego z wewnętrznej powierzchni ramienia u 10 osób z grupy kontrolnej wynosiła 0,061 mm ($\text{SD} \pm 0,0019$; min-max: 0,031 – 0,085 mm) i była istotnie niższa ($p < 0,05$) niż w grupie uczulanej (0,207 mm; $\text{SD} \pm 0,041$; min-max: 0,015 – 0,305 mm) (ryc. 1). W grupie uczulanej obecność spongiozy stwierdzono u 85% ochotników, natomiast w grupie kontrolnej tego zjawiska nie obserwowano. W grupie uczulanej w 30% przypadkach spongiozę oceniono jako nieznaczną (1 punkt); w kolejnych 30% przypadków jako umiarkowaną, natomiast w 37,5% jako nasiloną (3 punkty) (ryc. 2 i ryc. 3).



Ryc. 2. Reakcja CHS z odczynem pęcherzowym

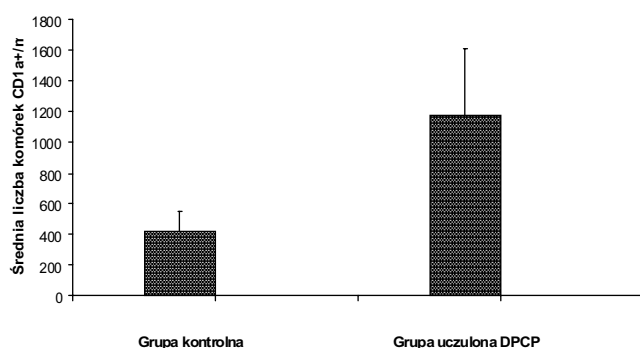


Ryc. 3. Obraz histopatologiczny skóry w fazie wywołania reakcji CHS. Widoczny nasilony obrzęk śródkomórkowy w naskórku, liczne pęcherzyki śródskórkowe oraz nacieki limfoidalne w skórze właściwej (H+E, pow. x100)

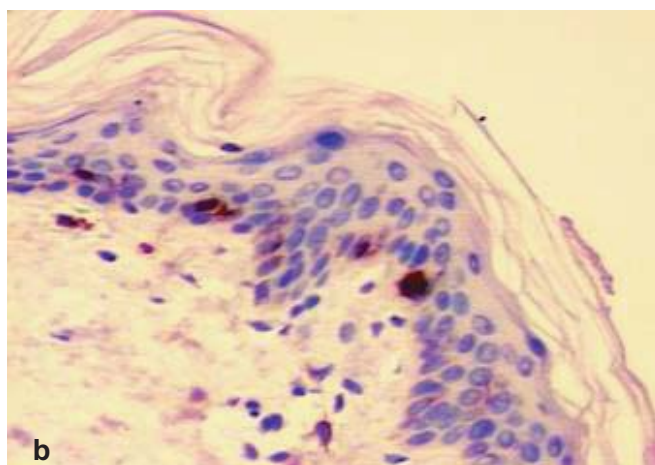
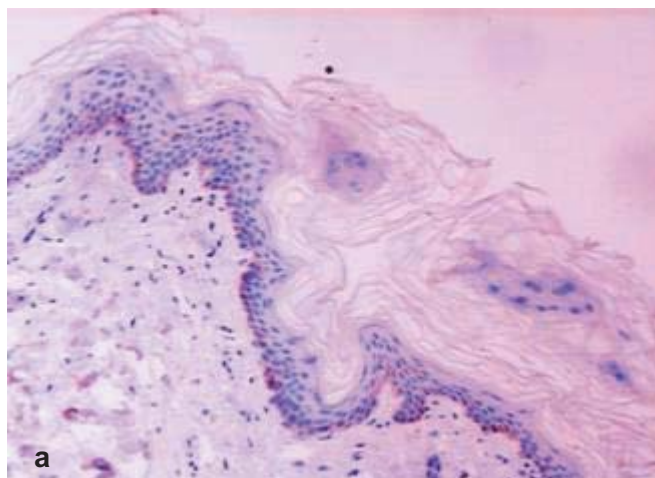
Komórki CD1a+ w grupie kontrolnej zlokalizowane były głównie nad warstwą podstawną naskórka (ryc. 4 i ryc. 5 a, b), a ich średnia liczba wynosiła 420,84 komórek/mm² (SD±127,17 komórek/mm²; min-max: 221 -630 komórek/mm²), podczas gdy w wycinkach pobranych z miejsca wywołania reakcji CHS przy aplikacji stężenia DPCP (3,2μg) były one rozproszone w całym naskórku (ryc. 4 i ryc. 6 a, b) a ich liczba była istotnie większa (1174,38 komórek/mm²; SD±436,38 komórek/mm²; min-max: 535 – 2433,4 komórek/mm²; p<0,00001).

OMÓWIENIE

Komórki dendrytyczne zidentyfikowane i opisane przez Steinmanna i wsp. w 1972 roku są profesjonalnymi komórkami prezentującymi antygen i odgrywają niezwykle ważną rolę w indukcji odpowiedzi komórkowej [12]. Jest to heterogenna populacja komórek, pochodząca ze



Ryc. 4. Średnia liczba komórek CD1a+ w grupie kontrolnej i uczulonej

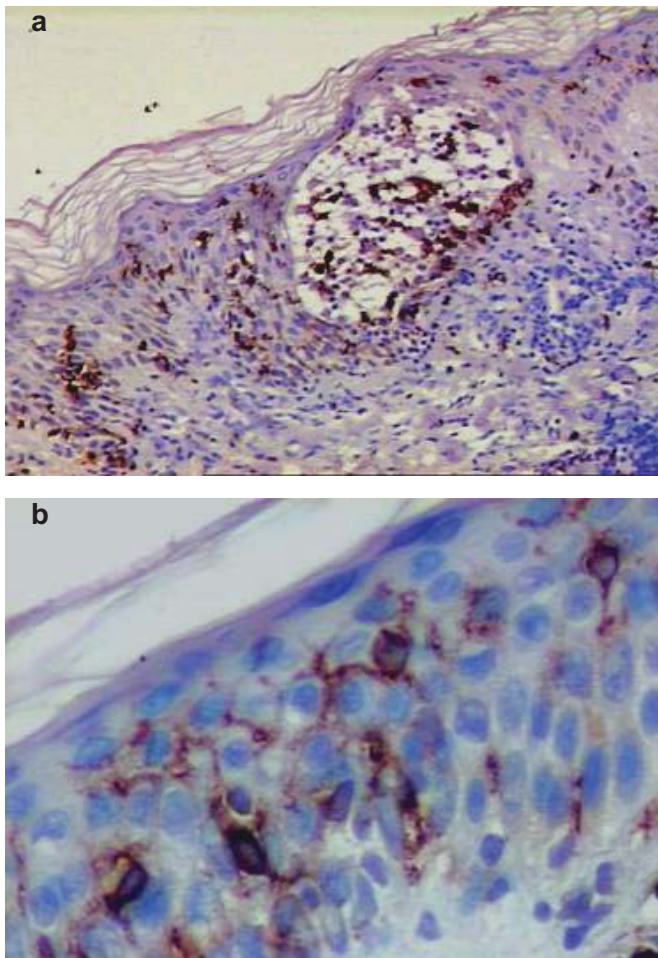


Ryc. 5. Komórki wykazujące ekspresję cząsteczki CD1a (reprezentatywny odczyn immunohistochemiczny) w naskórku grupy kontrolnej, pow. 100x (a) i pow. 400x (b)

szpiku kostnego, z komórek pnia CD34+ [12,13]. Badania ostatnich lat wskazują na istotną rolę komórek dendrytycznych nie tylko w procesie prezentacji antygenów, ale również w utrzymaniu równowagi pomiędzy miejscową i ogólną odpowiedzią immunologiczną [14].

Komórki Langerhansa są populacją komórek dendrytycznych występującą głównie w naskórku i stanowią od 3 do 8% całkowitej liczby komórek epidermalnych. Ich rolą jest transportowanie antygeny z naskórka do regionalnych węzłów chłonnych i jego prezentacja limfocytom T. Pobudzone przez antygeny KL syntetyzują ATPazę i ADPazę. Cechuje je wzmożony metabolizm, co wyrażone jest również nasiloną ekspresją ich antygenów powierzchniowych, cząsteczek adhezyjnych i cząsteczek kostymulujących.

Jedną z cząsteczek występujących na powierzchni komórek Langerhansa i komórek dendrytycznych zwanych niekiedy „nieokreślonymi” (nie posiadających ziaren Birbecka), a także na tymocytach części rdzeniowej grasicy jest cząsteczka błonowa - CD1a, czyli białko o ciężarze 43-49 KD [15,16]. Pod wpływem ekspozycji na UVR bądź w trakcie stanu zapalnego, zarówno w naskórku, jak



Ryc. 6. Komórki wykazujące ekspresję cząsteczki CD1a (reprezentatywny odczyn immunohistochemiczny) w naskórku grupy uczulonej DPCP pow. 100x (a) i pow. 400x (b)

i w skórze właściwej, poza komórkami Langerhansa, stwierdza się dwie inne populacje komórek dendrytycznych, różniące się ekspresją antygenów powierzchniowych. Są to komórki CD1a⁺⁺, HLA-DR⁺⁺, CD11b⁻ oraz tzw. komórki „zapalne” (CD1a⁺, HLA-DR⁺⁺⁺, CD11b⁺⁺⁺) [12,17].

Inną populacją komórek dendrytycznych, które mogą być obecne w naskórku w różnych stanach chorobowych są komórki dendrytyczne krwi (KDK), a zwłaszcza jedna z ich subpopulacji, tj. plazmocytoidalne komórki dendrytyczne. Wykazano ich obecność w naskórku pacjentów z łuszczycą, kontaktowym zapaleniem skóry [18], a także z toczniem rumieniowatym [19,20].

Powszechnie uznany jest udział komórek dendrytycznych (głównie komórek Langerhansa) w zapoczątkowa-

niu i kontroli odpowiedzi immunologicznej skóry oraz w rozwoju alergii [21]. Potwierdzeniem tej hipotezy są wyniki badań Bennet i wsp. [22], którzy wykazali, że u myszy pozbawionych epidermalnych komórek dendrytycznych dochodzi do istotnego spadku nasilenia reakcji CHS.

Wykazano również zwiększoną ekspresję antygeny HLA-DR na powierzchni komórek dendrytycznych w wycinkach skóry pobranych z miejsc wywołania reakcji CHS co potwierdza ich bezpośredni udział w fazie wywołania kontaktowego zapalenia skóry [23].

Inni badacze [24] analizując skład komórkowy nacieku w obrębie regionalnych węzłów chłonnych w fazie efektnej reakcji CHS również wykazali zwiększoną liczbę komórek prezentujących antygen (CD1a⁺) a także limfocytów T CD4⁺ i gamma/delta.

Bangert i wsp. [25] uzyskali podobne wyniki, badając wycinki skóry pobrane z miejsca wywołania reakcji CHS, stwierdzili ponadto zwiększoną liczbę plazmocytoidalnej subpopulacji komórek dendrytycznych krwi.

W sprzeczności z przytoczonymi danymi pozostają wyniki prac Grabbe i wsp. [10] oraz Larsson i wsp. [26]. W badaniach przeprowadzonych na modelu zwierzęcym wykazano, że usunięcie z naskórka komórek Langerhansa nie powoduje zahamowania efektorowej fazy reakcji CHS [10]. Morfologiczna analiza wycinków skóry pobranych ze zmian wypryskowych w fazie zaostrzeń choroby wykazała obecność nacieków limfocytarnych, licznych makrofagów (CD68⁺) oraz mastocytów, przy zmniejszonej liczbie komórek dendrytycznych CD1a⁺, co wskazuje na udział głównie limfocytów T pamięci oraz makrofagów w rozwoju alergii kontaktowej [26].

W badaniach własnych oceniających histopatologicznie biopsje skóry pobrane z miejsca wywołania reakcji CHS, stwierdzono morfologiczne cechy wyprysku kontaktowego pod postacią: pogrubienia naskórka, obrzęku międzykomórkowego, obecności pęcherzyków śródna-skórkowych. Wystąpieniu spongiozy obserwowanej w badaniu mikroskopowym towarzyszyła zwiększona liczba komórek CD1a⁺. Zależność ta może wskazywać na przydatność określania liczby komórek dendrytycznych w fazie wywołania reakcji CHS w celu oceny indywidualnej aktywności komórek prezentujących antygen. Zwiększona liczba komórek CD1a⁺ w miejscu wywołania reakcji CHS świadczy bowiem o wzmożonym procesie prezentacji antygeny oraz potwierdza rolę komórek dendrytycznych w rozwoju reakcji nadwrażliwości komórkowej.

Piśmiennictwo

1. Larregina AT, Falo LD. Changing paradigms in cutaneous immunology: adapting with dendritic cells. *J Invest Dermatol.* 2005; 124: 1-12.
2. Jackob T, Ring J, Udey M. Multistep navigation of Langerhans/dendritic cells in and out of the skin. *J Allergy Clin Immunol.* 2001; 108: 688-696.
3. Kelly DA, Walker SL, McGregor JM i wsp. A single exposure of solar simulated radiation suppresses contact hypersensitivity responses both locally and systemically in humans: quantitative studies with high-frequency ultrasound. *Photochem Photobiol B.* 1998; 44: 130-142.
4. Kelly DA, Young AR, McGregor JM i wsp. Sensitivity to sunburn is associated with susceptibility to ultraviolet radiation-induced suppression of cutaneous cell-mediated immunity. *J Exp Med.* 2000; 191: 561-566.
5. Cooper KD, Oberhelman L, Hamilton TA i wsp. UV exposure reduces immunization rates and promotes tolerance to epicutaneous antigens in humans: relationship to dose, CD1a-DR+ epidermal macrophage induction and Langerhans cells depletion. *Proc Natl Acad Sci. USA* 1992; 89: 8497-8501.
6. Narbutt J, Lesiak A, Skibińska M i wsp. Suppression of contact hypersensitivity after repeated exposures of humans to low doses of solar simulated radiation *Photochem Photobiol Sci.* 2005; 4: 517-522.
7. Levis WR, Holzer AM, Leonard LK. Topical diphenylcyclopropanone as a measure of immune competence in HIV-seropositive subjects. *J Drugs Dermatol.* 2006; 5: 853-858.
8. Staquet MJ, Piccardi N, Piccirilli A i wsp. Novel protein kinase C and matrix metalloproteinase inhibitors of vegetable origin as potential modulators of Langerhans cell migration following hapten-induced sensitization *Int Arch Allergy Immunol.* 2004; 133: 348-356.
9. Hunger RE, Yawalkar N, Braathen LR i wsp. CD1a-positive dendritic cells transport the antigen DNCB intracellularly from the skin to the regional lymph nodes in the induction phase of allergic contact dermatitis. *Arch Dermatol Res.* 2001; 293: 420-426.
10. Grabbe S, Steinbrink K, Steinert M i wsp. Removal of majority of epidermal Langerhans cells by topical or systemic steroid application enhances the effector phase of murine contact hypersensitivity. *J Immunol.* 1995; 155: 4207-4217.
11. Enk AH, Katz SI. Early molecular events in the induction phase of contact sensitivity. *Natl Acad Sci. USA* 1992; 89: 1389-1402.
12. Hart DNJ. Dendritic cells: unique leukocyte populations which control the primary immune response. *Blood.* 1997; 90: 3245-3287.
13. Shortman K, Caux C. Dendritic cell development: multiple pathways to nature's adjuvants. *Stem Cells.* 1997; 15: 409-419.
14. Steinman RM, Nussenzweig MC. Avoiding horror autotoxicus: the importance of dendritic cells in peripheral T cell tolerance. *Proc Natl Acad Sci. USA* 2002; 99: 351-358.
15. Blumberg RS, Geres D, Chott A i wsp. Structure and function of the CD1 Family of MHC-like cell surface protein. *Immunol Rev.* 1995; 147: 5-29
16. Melian A, Beckman EM, Porcelli SA i wsp. Antigen presentation by CD1 and MHC-encoded class I-like molecules. *Curr Opin Immunol.* 1996; 8: 82-88.
17. Ito T, Inaba M, Inaba K i wsp. A CD1a⁺/CD11c⁺ subset of human dendritic cells is a direct precursor of Langerhans cells. *J Immunol.* 1999; 163: 1409-1419.
18. Wollenberg A, Wagner M, Gunther S i wsp. Plasmacytoid dendritic cells: a new cutaneous dendritic cell subset with distinct role in inflammatory skin diseases. *J Invest Dermatol.* 2002; 119: 1096-1102.
19. Blomberg S, Eloranta ML, Magmusson M i wsp. Expression of the markers BDCA-2 and BDC A-4 and production of interferon alpha by plasmacytoid dendritic cells in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2003; 48: 2524-2532.
20. Farkas L, Beiske K, Lund-Johansen F i wsp. Plasmacytoid dendritic cells (natural interferon- α/β -producing cells) accumulate in cutaneous lupus erythematosus lesions. *Am J Pathol* 2001; 159: 237-243.
21. Cumberbatch M, Dearman RJ, Griffiths CE i wsp. Epidermal Langerhans cell migration and sensitization to chemical allergens. *APMIS* 2003; 111: 797-804.
22. Bennet CL, van Rinn E, Jung S i wsp. Inducible ablation of mouse Langerhans cells diminishes but fails to abrogate contact hypersensitivity. *JCB* 2005; 169: 569-576.
23. Mommaas AM, Wijsman MC, Mulder AA i wsp. HLA class II expression on human epidermal Langerhans cells in situ: upregulation during the elicitation of allergic contact dermatitis. *Hum Immunol* 1992; 34: 99-106.
24. Gunnes G, Jorundsson E, Press CM i wsp. Accessory cell populations in draining lymph nodes of lambs in the elicitation phase of DNCB-induced contact hypersensitivity. *Vet Immunol Immunopathol* 2000; 76: 75-88.
25. Bangert C, Friedl J, Stary G i wsp. Immunopathologic features of allergic contact dermatitis in humans: participation of plasmacytoid dendritic cells in the pathogenesis of the disease? *J Invest Dermatol.* 2003 Dec; 121(6): 1409-1418
26. Larsson A, Moller H, Bjorkner B i wsp. Morphology of endogenous flare-up reactions in contact allergy to gold. *Acta Derm Venereol.* 1997; 77: 474-479.