

개들의 아토피 진단 : 개념적 및 진단학적 순화의 필요성 검토 II (Diagnosis of Atopy in Dogs : A Review of the Need for Conceptual and Diagnostic Refinement) II

저자 Jacqueline Perkins
School of Veterinary Science
The University of Queensland 4072

역자 조영웅
Dr.Jo & Associates, Inc.
CEO/대표컨설턴트 겸 (주) 동도바이오텍 고문

피내 시험법 : 생체내 기법

(Intradermal Testing : An *In Vitro* Technique)

IDT이전에, 모든 스테로이드, 면역억제제, 항히스타민제, 및 진정제들의 투여는 그들의 약리학적 영향들을 조장하는 것을 중지하도록 그 약제들에 대해 충분한 시간동안 중지해야만 한다. 검사용으로 선발된 알려진들은 계절성인 항원(꽃가루와 같은 것) 뿐만 아니라 연중 계속되는 항원들, 예를 들면 집 먼지 진드기(House dust mite), 담배, 및 고양이 인설(dander) 들을 반드시 포함하여야 한다(Sousa, 1988).

개의 흉강 또는 복부의 측면은 짧게 깎아주고 깨끗하게 닦아줘야만 한다. 주사부위들은 2~2.5cm 떨어지게 하고 영구형 펠트-꼭지형 펜(Permanent felt-tipped pen)으로 표시해주어야만 한다. 대조 용액(Control solutions)들과 선발된 항원(Selected antigens)들은 각 주사부위별로 동량(Equal volumes; 0.03 ~ 0.1ml)으로 피내주사한다. 시험결과는 주사 후 15분에서 30분내에 판독하며 자국(Wheal)과 발적(Flare)에 따라 등급을 매겨준다. 0의 점수는 음성 대조 용액; 대개

식염수(Negative control solution; usually Saline)로 예증되어야 하며 최대점수 4는 양성 대조군 부위; 히스타민(Positive control site; Histamine)에 나타나야 한다(Sousa, 1988).

IDT는 감수성을 70% 갖고 있고, 특이성을 100% 갖는다(Griffin *et al.*, 1993).

해석에 나타나는 오류(Errors)들과 불일치(Inconsistency)는 IDT가 갖고 있는 해석상의 주관적 본질에 기인하는 수가 있다(Blakemore, 1993; Codner & Griffin, 1996).

반복되는 IDT는 시험용 알려진에 대한 대상자의 감수성을 갖게 해주기도 한다.

동일한 개에서 어떤 알려진이 음성으로 나타난 것은 반복시키는 IDT용으로는 절대 포함시켜서는 안된다(Sousa & Norton, 1990; Codner & Griffin, 1996).

ELISA 혈청 테스트 : 시험관내 기법

(ELISA Serum Test: An *In Vitro* Technique)

미국 Greer Laboratories에 의해 생산되는 ELISA를 최근 호주에 적합하고 특수조건에 적응시킨 제품으로 만드는 데 성공하였다. 그것은 다양한

토종수목들과 풀들을 포함한 35개의 일반 알러진들에 대해 개별적으로 테스트할 수 있다. 테스트가 가능한 ELISA중, Greer-ELISA가 아토피성 개들에게서 얻은 복수 혈청 샘플 (Paired serum samples)의 91%에서 테스트 결과들에서 일치성을 가진 가장 높은 재현성을 가진 것으로 보고된바 있다(Plant, 1994). ELISA의 효능과 역할은 Greer-ELISA가 가능한 곳에서 특별 참고사항으로 고려되어질 것이다.

ELISA에 대한 주요 지침(Major indication)은 이미 아토피성으로 진단된바 있는 개들을 치료하는 데 사용되는 저감작 백신을 처방할 때 알러진을 선택할 수 있게 안내해주는 것이다. 이것은 어떤 상황에서 IDT의 대신으로 제시될 수 있다. 예를 들면, 준비가 되지 않은 개, 또는 IDT에 대한 자제, 또는 전신적 피부병, 또는 피부묘기증(Dermatographism)등이다. 특별관리 (Extra care)는 ELISA를 이용할 때 위양성(False positive)의 높은 위험으로 인한 환경에서의 불필요한 감별진단들을 제거해줄 수 있도록 조치를 해 주어야 한다(Griffin *et al.*, 1993).

Greer-ELISA는 아토피성 비아토피성 개들 사이에서 감별용으로 감수성 100%와 특이성 0%를 가지고 있다는 것이 본드 등(Bond *et al.*, 1994)에 의해 보고된 바 있다³.

아토피에서 ELISA의 역할은 진단에서 보다는 오히려 알러진 감별에 국한하여 널리 받아지고 있다. 아토피성 개들의 아집단에서 ELISA의 감수성과 특이성을 측정하는 조사연구는 알러진들을 동정하기 위한 결정적인 표준이 되는 기준의 부재로 지장을 받고 있다.

본드의 조사연구(1994) 이래 Greer-ELISA방법론은 개량되었으며 알러진들은 군집에서 보다는 오히려 개별적으로 시험되어 진다(Griffin, 1993; Mason, 1996⁴ pers. com.). 호주에서 메이슨의 검사 방법들의 결과들은 호주의 조건에 적응시킨 Greer-ELISA방법으로 수행하였으며 발간되지는 않았다. 따라서 개선되고 특이성을 가진 Greer-ELISA측의 주장은 확정되거나 정량화되지 않았다.

표4. ELISA가 IDT에 대해 갖고 있는 고유한 이점

ELISA는 IDT에 대해 다음의 고유한 이점을 갖고 있다

1. 알러진에 노출되어도 쇼크의 위험이 없다.
2. 결과들이 정량적이다.
3. 대개 좀더 편리하다.
4. 결과들이 약물에 영향을 받지 않는다.
5. 흥분된 개들, 피부묘기증 이환견들, 그리고 미만성 피부질병에 이환된 동물들에서 IDT보다 ELISA가 더 권장되고 있다(Sousa, 1988).

³특이성은 알러진들의 분류상 광범위하고 다양하다(예; 곰팡이, 꽃가루, 집먼지들). 본드의 조사연구에서는 만일 한 패널(Panel)의 알러진들에서 단 하나의 알러진에 대해 양성반응을 갖는다면 아토피성으로써 분류되어 졌다. 이 논문에서의 초점은 특수하게 분류된 알러진들에서 적용한 것에 대하여 반대가 되는 것으로 모든 분류된 알러진들에서 ELISA의 적용에 관한 것이었다.

⁴K. Mason, Albert Animal Hospital, Springwood, QLD.

⁵Grier, Greer Laboratories, North Cardina, USA.

ELISA의 낮은 특이성은 순환중에 있는 IgE의 높은 배경 수준들에 기인된 것으로 생각되고 있는 일반적인 개 집단내에서 매우 높은 위양성들을 가르킨다. 이것은 개들에서 높은 수준의 내(외부 기생충증에 기인된 것으로 사료되어 지나 이와같은 요점은 조사연구 소견들에서 다양하게 나타나고 있다(Griffin *et al.*, 1989; Griffin, 1993; Esch, 1994).

순환중에 있는 알려진-특이성 IgE의 존재는 아마도 아토피를 유발시키는 원인이 되기에는 충분하지 않을 것이다. ELISA는 그렇기 때문에 아토피를 양성인 것으로 진단하는데 있어 충분하게 특이성을 갖고 있지 않으나 “배제” 테스트 (“Rule out” test)로서는 사용될 수 있다. 어떤 양성 결과는 진단학적으로 유효하지는 않지만, 여하튼 음성 결과는 아토피의 어떤 진단을 배제시킬 수 있다(Codner & Lessard, 1993).

ELISA에 대해 권장되고 있는 적용은 치료를 인도해주는 알려진 판별장치(Allergen discriminator)로서의 역할이다. 알려진-특이성 IgE에 대한 ELISA혈청학적 시험들은 알려진들을 분리하도록 수행되어 질 수있다. 알려진들을 공격한바가 있었던 것으로 판명되었다면 그것들은 피하여야 하며 그렇지 않으면 그 개는 저감작되어(Hyposensitised) 진다. 회피방법은 대부분의 공기유래 알려진들에 대해 실천적으로 불가능하기 때문에 일반적으로 나타난다(Scott *et al.*, 1995; Mason & Burton, 1996).

ELISA결과들은 조심스러운 해석, 개의 병력을 고려하는 것과 임상적인 발현(Clinical presentation)을 요구하고 있다. ELISA에 관한 알려진

테스트양성은 개의 노출 기회들과 임상징후의 계절성들과의 연관에 대해 일관성을 가져야만 한다. 만일 시험 결과들과 개의 병력은 본질적으로 다르며, 저감작은 해당 알려진에 대해 징후를 나타내는 것은 아니다(Miller *et al.*, 1993).

개가 알레르성이 아닌데도 해당 알려진에 대해 감작으로 나타나는 결과에 대해 어떤 알려진에 대하여서는 저감작적인 것이다(Sousa & Norton, 1990; Codner & Griffin, 1996). 이것은 매우 바람직하지 않은 결과다. 저감작시킨 백신내에도 포함된 알려진들은 조심스럽게 선택되어지게 할 필요가 있다. ELISA에서 높은 수의 위양성들은 개별 동물들에서와 특이성 알려진들에 대해서 저감작시킨 백신에서 부적절한 알려진들의 함유물에 대한 가능성을 야기한다.

임상 징후들과 병력을 활용한 ELISA결과들을 반영시킨 평가는 저감작시킨 백신내에 있는 부적절한 알려진들의 포함물에 대한 가능성을 감소시켜준다.

피내 및 ELISA시험의 비교

(Comparison of Intradermal and ELISA Tests)

알려진 판별장치로서의 IDT와 ELISA의 유효성 비교 실험에서 저감작 백신들은 IDT 또는 ELISA의 기초위에 조제(또는 처방)되었다.

그룹-I 개들은 상기 2가지 테스트들에서 양성으로 나타났으며, 한편, IDT결과들은 그 백신을 처방하도록 이용하였다. 이 개들의 76%는 저감작을 시킨 뒤에 우수(Excellent)/양호(Good)로 나타났다. 그룹-II 개들은 역시 2가지 시험에서 양성으로 났으며, ELISA결과들은 처방하는데 사용되어졌다. 이 개들의 43%에서 우수/양호

결과를 나타냈다.

그립-III 개들에서는 IDT가 음성으로 그리고 ELISA시험에서는 양성으로 나타났다.

이 개들의 22%에서는 우수/양호의 결과를 나타냈다(Griffin *et al.*, 1993).

그리핀 등(Griffin *et al.*, 1993)은 ELISA결과들을 가지고 해당 백신을 처방하는데 사용했을 때 IDT결과들 보다 오히려 그 차이가 통계적으로 유의한 차이가 없음에도 불구하고 저감작 (34%)에 대해 양호/우수한 반응이 보다 낮은 율로 나타났다.

앤더슨과 소사(Anderson and Sousa, 1992)는 엄격하게 평가된 ELISA결과들을 해당 백신을 명확하게 밝히는데 사용되어졌을 때 63%의 개들에서 저감작에 대해 양호/우수 반응을 보였다.

ELISA 결과들은 백신 처방(Vaccine formulation) 전에 판단(Interpretation)을 요구한다. 그리고 이것은 이런 과정에 대해 바람직하지 않은 주관적 구성요소를 추가해야 한다. IDT의 절차(Administration)와 해독(Reading)은 정밀성을 보장하는데 경험을 요구하는 주관적 평가에 기초하여야 한다(Codner & Griffin, 1996). 어떤 백신 처방의 방법도 완벽한 대상(목적)은 아니다.

IDT와 ELISA는 개별적인 알려진 선택에 대해서는 낮은 연관성을 가지고 있다.

클라인벡 등(Kleinbeck *et al.*, 1989)은 64%와 43%사이로 평균 52%의 상관성이 있는 것으로 밝힌바 있다. 2가지의 테스트가 낮은 상관성을 갖고 있는 것은 그것들의

고감작이라는 2가지의 면(Facets)들이 검출됨으로 놀랄 일은 아니다. IDT는 피부 비만 세포들

과 결합되어있는 피부(Skin)내에 있는 알려진-특이성 IgE를 검출하는 데, 그것에 반해 ELISA는 혈청내에서 알러지-특이성 IgE를 검출한다(Miller *et al.*, 1993; Bond *et al.*, 1994; Grier, 1996^s pers. com.).

IDT는 자국(Wheal)과 발적(Flare)들이 아토피의 초기 징후가 아닌 것과 같이 자연발생 아토피성 반응과 흡사하지는 않은 경향이 있다(Scott *et al.*, 1995). 흔히 양성 IDT는 초기 징후의 소양증도 역시 분명하지는 않다(Scott *et al.*, 1995).

ELISA는 아토피의 발병 시 보다 충분히 이해될 때 좀더 정확하게 될 것이다.

윌렘스와 노오르찌(Willemse and Noordzij, 1985)에 의해 수행된 IgGd에 대한 혈청 분석은 IgE에 대한 분석보다 더 유용하게 될 것으로 증명될 수도 있으며; 정상개들에서 위양성으로 나타난 것은 없었다. IgGd를 분석하는 ELISA는 따라서 IgE를 분석하는 ELISA보다 더 특이성이 있다. 알려진-특이성IgGd에 대한 ELISA는 이 ELISA에 대해 IDT양성으로 나타난 것에 대한 55%의 개들에서 음성반응으로 나타났기 때문에 IDT보다 더 순수하게 감수성이 있는 것으로 사료된다(Codner & Griffin, 1996).

IgE-ELISA 위양성들의 분포율(A proportion of IgE-ELISA false positives)은 IDT보다는 큰 감수성을 가지며 임상적으로 제시되고 있는 개들의 18% 이상에서 아토피의 진단을 확정하는데 실패하였다(Griffin, 1993). 또한 조사된 시험관내 시험에서 발견된 결정적인 참고사항처럼 웨스턴 블롯 분석(Western Blot Analysis)을 활용한 소연구에서는 IDT보다 높은 감수성을 갖고 있는

것으로 나타났다(Griffin, 1993).

아토피의 아형(Subtypes of atopy)에 대한 앞으로의 가능성은 인식될 것이다(Griffin, 1993). 예를 들면, ELISA에 대한 명백한 위양성은 예로 흡입성 아토피같은 비피부학적 증상발현(Non-dermatologic manifestations)을 가진 아토피의 증례가 되는 것으로 증명되어질 수가 있다(Halliwel, 1989; Griffin, 1993).

아토피의 아형(Subtypes of Atopy)

그리핀 등(Griffin *et al.*, 1993)과 스코트 등(Scott *et al.*, 1995)은 알려진들의 경피흡수(Percutaneous absorption of allergens)가 아토피의 발병에서 일차적으로 중요하다. 전형적인 아토피성 개의 병변분포는 앞서 보통 포함되고 있는 보다 더 노출된 피부 부위가 있었을 경우 이러한 견해에 적합한 것이다. 또한 빈번히 몸을 씻는 개들에서 임상 징후들이 개선되는 것이 관찰되었다. 이것은 피부 표면으로부터 항원을 닦아내는 것 때문에 일어나는 것으로 생각된다(Griffin *et al.*, 1993; Scott *et al.*, 1995).

스코트 등(Scott *et al.*, 1995)은 인체 조사연구에서 알러지 반점 시험법을 이용하는 것을 논의하였다. 이 방법은 (만일 이 방법이 흡수 방법의 하나라면) 피부를 통해 흡수된 알러진들에 대해 도전시험(Challenge test)으로 유효한 것이라면, 반대로 IDT의 그 같은 방법에 대해 어떤 비실용적 유사성을 갖는다는 어려움이 있다. 이것은 개들에서 아직까지 상세하게 조사된 적이 없었으며(Scott *et al.*, 1995), 따라서 인체 조사연구에서 반점-시험법을 통해 유도된 결론은

개에 적용될 때 타당하지 않을 수도 있다.

피부병변들을 일으킨 반점 시험은 인체들에 나타난 아토피성 피부염에서 자연발생한 것과 유사하게 나온 것으로 보고되었다(Scott *et al.*, 1995). 만일 이러한 소견이 외삽(Extrapolated)되어진 것이라면 1차 및 2차병변들에 관한 현재 가지고 있는 견해들과는 갈등관계가 성립된다. 모든 피부병변들은 아토피를 앓고 있는 개들에서 2차소양증과 자가창상이 되는 것으로 생각된다. 개에서 활용된 반점 시험은 단지 소양증을 생성시키도록 예상되어진 것과 아토피의 임상 징후에 관한 현재의 견해와 일치되고 있다.

만일 호흡기도가 통로의 주요 입구일 경우일 때, 흡입된 알러진들을 사용하는 도전 시험은 반드시 소양증을 생성시켜야 만 된다. 가장 일반적인 임상 징후들을 나타내는 기화된 항원(Aerosolised antigen)을 가지고 도전시킨 개들에서 피부 증상 발현 또는 소양증보다는 오히려 비루(Nasal discharge), 낙루(Lachrymation), 및 호흡기 이상 증세들이다(Griffin *et al.*, 1993).

이러한 초기 소견들은 아토피의 아형들이라고 제시한다. 아마도 개들에서 아토피성 피부염과 흡입성 아토피일 경우와 그렇지 않으면 그것들은 병발한다(그러나 필수적이진 않다). 인체의 많은 아토피증상들은 주관적(Subjective), 잠재성(Subtle), 특히 경한 증례(Mild cases)들로 나타난다. 아토피성 피부염의 생생한 임상 징후들은 주의를 끌어들이는 데 적합한 컨디션(Condition)이 된다. 여하튼, 개 소유자는 쉽게 비루, 낙루, 또는 호흡기의 변화 등과 같은 가벼운

증가를 눈치 채지 못하는 경우가 많다(예를 들면 경증의 기관지 협착). 개들에서 이러한 매우 주관적인 임상 징후를 가진 증후군들을 인식하기는 곤란하다. 이러한 비피부학적 임상 징후들은 ELISA에 분명히 다수의 위양성 비율을 점유하는 개 아토피의 다른 형태(예; 흡입성 아토피)의 검증-각인(Hallmark)이 될 수가 있다.

결론(Conclusion)

많은 아토피성 개들은 복수의 알러지들을 가지고 있으며 이것이 임상 양상과 진단을 모호하게 해 주는 수가 있다. 이것은 소모성인 진단 접근에는 좋지만, 하나의 알러지가 확진될 때 똑같은 양상을 갖게 해준다.


아토피의 확정진단은 소사와 노턴(Sousa and Norton, 1990)에 의해 기술된 감별진단을 제외시킨 것을 합친 대 및 소범주(Major and Minor Criteria)를 활용하는 임상적 기반들 위에 순수하게 정해질 수가 있다. IDT와 혹은 ELISA는 회피를 촉진시키는 실행 또는 저감작 처방(Hyposensitisation formulation)을 인도하여 준다. ELISA는 IDT가 실행될 수 없을 때나 또는 너무 비실용적일 때, 그리고 강하게 제시되는 임상 징후들을 가지고 있는 증례에서 음성으로 나타날 때 제시되어질 수가 있다. IDT와 ELISA에 기초한 저감작에 대한 반응은 만일 고유한 치료 프로토콜들이 뒤따를 경우 유사한 성공률을 보여준다.

IDT는 수년 동안 개 아토피 진단에 대해 황금 표준(Gold standard)으로써 받아들여왔다(Miller

et al., 1993; Esch, 1994). ELISA는 일반적으로 IDT와는 낮은 일치(Low agreement with IDT)를 가지고 있으며(Miller *et al.*, 1993; Codner & Griffin, 1996), IDT의 수행 능력을 재평가하는 것과 아토피의 발병과 임상 징후들을 재 정립 시키는 기준을 제공한다(Codner & Lessard, 1993).

이상적인 시험들은 아무것도 없다. IDT는 너무 엄격하고, 어떤 증례들은 놓치고, 그리고 ELISA는 분명하고, 높은 위양성비율을 갖고, 그리고 너무 포괄적이다. 음성적인 ELISA는 아토피를 제외시키며, 그러나 양성 결과들이 위양성으로 되는 수도 있다. ELISA는 정상적인 개 집단내에서 높은 위양성 비율을 가지고 있다; 아토피성 개들의 집단내에서 그것의 감수성과 특이성은 알려지지 않았다.

여러 조건들을 이해하는 것이 높아질 때, 진단 기법은 아마도 개선될 것이다. 인체에서 이용된 알려진 반점 시험은 미래에 수의피부학자의 활용 가능성이 있는 도구가 될것이다.

만일 알러진들이 아토피성 피부염의 원인론에서 1차 통로로서 경피 흡수될 때, 그리핀 등(Griffin *et al.*, 1993)과 스코트 등(Scott *et al.*, 1995)은 이것은 흡입성 아토피에 구분되는 어떤 증후군이 될 수 있다고 제시하고 있다. 여하튼, 그들의 주장들은 의학적 조사연구에 기반을 두고 있다. 그 증거는 따라서, 정황적이다. 그럼에도 불구하고 이것이 개들에서 좀더 조사연구를 수행하여야 한다고 요구한다. 

참고 문헌 (References)

- ANDERSON, R.K. & SOUSA, C.A.(1992). Advances in Veterinary Dermatology vol. 2. 2nd World Congress, Eds.Ihrke, P.J., Mason, I.S., White, S.D. Pergamon Press, Oxford.
- BLAKEMORE, J.C.(1993). When an itch means an allergy. *J.Am.Vet.Med.Assoc.* 203:16.
- BOND, R., THOROGOOD, S.C. & LLOYD, D.H.(1994). Evaluation of two enzyme-linked immunosorbent assays for the diagnosis of canine atopy. *Vet. Rec.* 135:130.
- CODNER, E.C. & LESSARD, P.(1993). Comparison of intradermal allergy test and enzyme-linked immunosorbent assay in dogs with allergic skin disease. *J.Am.Vet.Med.Assoc.* 202:739.
- CODNER, E.C. & GRIFFIN, C.E.(1996). Serologic Allergy Testing for Dogs. *Compen. Cont. Educ.* 18:237.
- ESCH, R.E.(1994). Allergen Specific Canine IgE. *Vet. Allergy Rev.* 1:1.
- FRICK, O.L. & BROOKS, D.L.(1983). Immunoglobulin E antibodies to pollens augmented in dogs by virus vaccine. *Am. J. Vet. Res.* 44:440.
- GRIFFIN, C.E.(1993). Manual of Small Animal Dermatology. Eds. Locke, P.H., Harvey, R.G. & Mason, I.S. Br. Small Anim. Vet. Assoc., Gloucestershire.
- GRIFFIN, C.E., KWOCKKA, K.W. & MACDONALD, J.M.(1993). Current Veterinary Dermatology, The Science and Art of Therapy. Mosby Year Book, Sydney.
- GRIFFIN, C.E., MORIELLO, K.A. & DEBOER, D.J.(1989). Advances in Veterinary Dermatology Vol. 1, Eds. Von Tschamer, C. V. & Halliwell, R.E.W. Baillier Tindall, Sydney.
- GROSS, T.L., IHRKE, P.J. & WALDER, E.J.(1992). Veterinar Dermatopathology. Mosby Year Book, Sydney.
- HALLIWELL, R.E.W. (1989). Advanced in Veterinary Dermatology Vol. 1. Eds. TSCHARNER, C. & Halliwell, R.E.W., Bailliere Tindall, Sydney.
- KLEINBECK, M.L., HITES, H.J., LOKER, J.L., HALLIWELL, R.E. & LEE, K.W.(1989). Enzyme-linked immunosorbent assay for measurement of allergen specific IgE antibodies in canine serum. *Am. J. Vet. Rec.* 50: 1831.
- MASON, K. & BURTON, G.(1996). Canine Atopic Disease. *Information sheet, Animal Allergy and Dermatology Service.*
- MILLER, W.H.JR., SCOTT, D.W. & SCARLETT, J.M.(1992). Evaluation of an allergy screening test for use in atopic dogs. *J.Am. Vet. Med. Assoc.* 200:931.
- MILLER, W.H.JR., SCOTT, D.W., WELLINGTON, J.R., SCARLETT, J.M. & PANIC, R.(1993). Evaluation of the Performance of a Serologic Allergy System in Atopic Dogs. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 29:545.
- SCOTT, D.W., MILLER, W.H. & GRIFFIN, C.E.(1995). Muller & Kirk' s Small Animal Dermatology 5th Edition. Saunders, Sydney.
- SOUSA, C.A. (1988). Atopic Dermatitis. *Vet. Clin Nth. Am.* 18: 1049.
- SOUSA, C.A. & NORTON, A.L.(1990). Advances in Methodology for Diagnosis of Allergic Skin Disease. *Vet. Clin Nth. Am.* 20:1419.
- WILLEMSE, A. & NOORDZIJ, A.(1985).Allergen specific IgGd antibodies in dogs with atopic dermatitis as determined by the enzyme linked immunosorbent assay. *Clin. Exp. Immunol.* 59:359.