

첩포시험을 이용한 유전자 변형 들잔디의 접촉피부염 인체위해성 검정

이재천¹, 선현진², 이효연²¹제주대학교 의학전문대학원, ²제주대학교 아열대원예산업연구소

Biohazard surveillance of allergic contact dermatitis in genetically-modified *Zoysia* grasses using patch testing

Jaechun Lee¹, Hyeon-Jin Sun², Hyo-Yeon Lee²¹Jeju National University School of Medicine, Jeju; ²Faculty of Biotechnology and Subtropical Horticulture Research Institute, Jeju National University, Jeju, Korea

Purpose: Genetic modification technique is widely used in plants for improving crop yields and qualities, and reducing pesticide use. *Zoysia japonica* is one of the widely planted grasses for lawning. Pollenless herbicide-tolerant genetically modified (GM) grasses (JG21-MS1 and JG21-MS2) were developed under surveillance for possible biohazard. Grasses may cause allergic contact dermatitis with direct contact on human skin. Patch testing with allergens was adopted to compare the incidences of allergic contact dermatitis to GM grass leaves with those of wild-type grass.

Methods: Patch testing with controls and leaves of wild-type and GM grasses was performed in individuals with informed consent.

Results: Ninety-seven individuals (mean age, 32 ± 8 years; 48% males) were enrolled. For nickel sulfate as a positive control, 38 subjects (39.2%) were positive. For GM grasses, 10 (10.3%) showed positive patch test results and 11 (11.3%), for wild-type grass, the proportions of which were similar among the tested grasses.

Conclusion: JG21-MS1 and JG21-MS2 are not more biohazardous than wild-type grass in the risk of allergic contact dermatitis. (*Allergy Asthma Respir Dis* 2015;3:134-138)

Keywords: Genetically modified plants, Contact dermatitis, Patch tests, Hypersensitivity, Allergens

서 론

알레르기접촉피부염(allergic contact dermatitis)은 피부 혹은 점막에 접촉한 후 수일 내 가려움증, 발진 등이 나타나는 질환으로 주로 니켈 같은 금속류, 향수, 화장품, 염색약 등에 접촉되었을 때 지연형 과민반응으로 발생할 수 있으며,¹⁾ 소아 및 성인의 약 21%~60%에서 한가지 이상 물질에 대해 나타나는 비교적 흔한 현상이다.²⁾ 의심되는 물질을 이용한 첩포검사로 접촉피부염을 확인할 수 있다. 첩포검사는 접촉피부염을 진단하기 위하여 의료기관은 물론 장신구, 화

장품, 염색약 업계에서 제품 출시 전에 일반인에 대한 제품의 안전성을 증명하기 위해 널리 사용되고 있다.

들잔디(*Zoysia japonica*)는 정원, 공원, 산, 골프장, 묘지 등 우리 주변에 흔한 여러해살이 식물이다. 인위적으로 지표면에 치밀하게 생육시킨 잔디밭을 조성하여 운동 및 휴양 목적으로 이용되기 때문에 이를 유지하기 위한 적절한 손질과 관리가 필요하다. 잔디는 식용으로 재배하는 작물이 아니므로 이로 인한 직접적인 인체위해성은 없지만 꽃가루에 의한 항원성 및 잔디 항원 접촉에 의해 과민반응이 나타날 수 있다. 잔디 꽃가루는 주로 늦봄, 여름철 실외항원

Correspondence to: Hyo-Yeon Lee

Faculty of Biotechnology and Subtropical Horticulture Research Institute, Jeju National University, 102 Jejudaehak-ro, Jeju 690-756, Korea

Tel: +82-64-754-3347, Fax: +82-64-754-3980, E-mail: hyoyeon@jejunu.ac.kr

•This work was supported by grants from the Next-Generation BioGreen 21 Program (PJ009499032014),

Rural Development Administration, Republic of Korea and the Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Ministry of Education (2009-0094059).

Received: August 8, 2014 Revised: October 31, 2014 Accepted: December 30, 2014

© 2015 The Korean Academy of Pediatric Allergy and Respiratory Disease
The Korean Academy of Asthma, Allergy and Clinical Immunology
This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>).

으로 작용해 비염, 결막염, 천식 등을 악화시킬 수 있으며, 주로 제1형 과민반응이 관여하며 피부단자시험으로 진단한다.³⁾ 야외 활동 중 혹은 잔디 작업 중 잔디 향원에 직접 접촉을 통해 알레르기 접촉 피부염을 일으킬 수 있고, 기존 아토피피부염을 악화시킬 수 있으며, 잔디 향원을 이용하여 첩포시험으로 진단한다.^{4,5)}

최근 식물의 상품성을 높이기 위한 목적으로 유전자 변형(genetically modified, GM) 식물의 개발이 활발하게 진행되고 있다. 들잔디의 경우도 그늘진 곳에서도 잘 생존할 수 있는 음지내성(shade-tolerant) 잔디⁶⁾와 제초제에 내성을 갖는 제초제 저항성(herbicide-tolerant) 잔디⁷⁾ 등이 개발되었다. 제초제 저항성 들잔디는 잔디에 제초제 저항성 유전자(*bar gene*)를 도입시켜 비선택성 제초제인 Basta에 저항성을 가지게 함으로써 잔디 관리를 용이하게 하기 위해 개발된 GM 잔디(이하 JG21)⁷⁾이며, 본 연구자들에 의해 각종 환경위해성평가가 선행되었다.⁸⁾ GM 잔디가 상품화되어 널리 보급될 경우, 꽃가루의 비산을 통해 도입 유전자가 일반 잔디 혹은 생태계로의 확산될 가능성이 있으므로 꽃가루의 비산에 따른 유전자의 이동성 유무는 매우 중요한 환경위해성평가 항목이다.⁸⁾ 이러한 우려를 종식시키기 위해 제초제 저항성 GM 들잔디(JG21)에 방사선(⁶⁰Co)을 조사하여 양성불임 GM 들잔디(JG21-MS2)와 꽃대를 형성하지 않는 GM 들잔디(JG21-MS1)가 최근 개발되었다.^{9,10)}

들잔디는 비식용작물이며, 본 연구에 사용된 GM 잔디 중 양성불임 잔디와 꽃대를 형성하지 않는 잔디는 꽃가루를 생산하지 않으므로 잔디 잎에 직접 접촉에 의한 알레르기 접촉피부염이 발생할 수 있다. 잔디 잎을 이용한 첩포시험으로 야생형 잔디와 비교를 통해 GM 잔디의 인체위해 가능성을 밝히고자 본 연구를 계획하였다.

대상 및 방법

본 연구는 제주대학교병원 의학연구윤리심의위원회 승인(Institutional Review Board 2014-01-001)을 받아 전향적으로 시행되었다.

1. 연구 대상

피험자는 연구 방법에 대해 설명을 듣고 자발적 동의를 한 18세 이상의 남녀를 대상으로 하였다. 상완에 피부질환이 있거나 첩포 시험 1주 이내 약물 복용력이 있는 경우, 니켈 및 잔디 접촉 후 치명적인 알레르기반응 병력이 있는 경우는 제외하였다. 피험자의 성별, 나이, 니켈 혹은 잔디에 대한 접촉피부염 과거력 등의 정보를 얻었다.

2. 시험시약의 제조

들잔디향원은 다음과 같은 방법으로 자체 제작하였다. 제주대학교 아열대원예산업연구소(Subtropical Horticulture Research Institute, <http://shri.jejunu.ac.kr>)의 환경위해성평가 격리포장(농촌

진흥청 재배승인)에서 직접 재배한 야생형 들잔디(*Z. japonica*, Wild type), *bar* 유전자가 도입되고 꽃가루가 정상적인 제초제 저항성 GM 들잔디(JG21),⁸⁾ JG21에 방사선 조사로 양성불임의 특성을 보이는 꽃가루가 비정상적인 GM 들잔디(JG21-MS2)¹⁰⁾와 꽃대를 형성하지 않는 GM 들잔디(JG21-MS1)⁹⁾ 등 네 종류를 사용하였다. 각 잔디 잎을 시험 당일 채취하여 액체질소를 이용하여 막자사발에서 분쇄한 후 4°C에 보관하였다. 시험직전 약 1 mg의 분쇄된 잔디에 10-μL phosphate buffered saline 용액을 떨어뜨려 떡 상태(100 mg/mL)를 만들어 첩포시험에 사용하였다.

양성대조군으로 일반적으로 가장 흔한 양성반응을 보이는 첩포 시험용 니켈(Nickel sulfate hexahydrate 5% Petrolatum, allergEAZE, brial allergen GmbH, Greven, Germany)을 사용하고, 음성대조군으로 빈 chamber를 사용하였다.²⁾

3. 첩포시험 및 판독 기준

양성대조군, 음성대조군, 네 종류의 잔디 등 총 6종을 Finn chambers on Scanpor (SmartPractice, Phoenix, AZ, USA)를 이용하여 배치하였다(Fig. 1). 기존 첩포시험 방법을 일부 변형하여 각 피험자의 상완 내측에 시험시약이 배치된 Finn chambers 조각을 붙이고 약 24시간 후에 제거하였다. 이후 24시간 및 48시간 후에 시험시약과 접촉된 피부를 관찰하였다.^{4,5,11)}

첩포시험 결과는 ± (only macular reaction), 1+ (erythema and edema), 2+ (papules), 3+ (vesicles or bullae) 등¹²⁾으로 한 명의 숙련된 전문의가 판독하였고, 음성대조군에서 ± 이상으로 판독된 경우 분석에서 제외하였다. 음성대조군 외 1+ 이상을 '첩포시험 양성'으로 정의하고 야생형 잔디와 GM 잔디들 간의 양성률을 비교하였다.



Fig. 1. Patch testing with Finn chambers: an actual preparation. Nickel, Nickel sulfate as a positive control; NC, blanked as a negative control; WT, wild type of *Zoysia japonica*; 1, JG21 (genetically modified *Z. japonica* for herbicide tolerance); 2, JG21-MS2 (genetically modified *Z. japonica* for herbicide tolerance and male sterility); 3, JG21-MS1 (genetically modified *Z. japonica* for herbicide tolerance and unbolting).

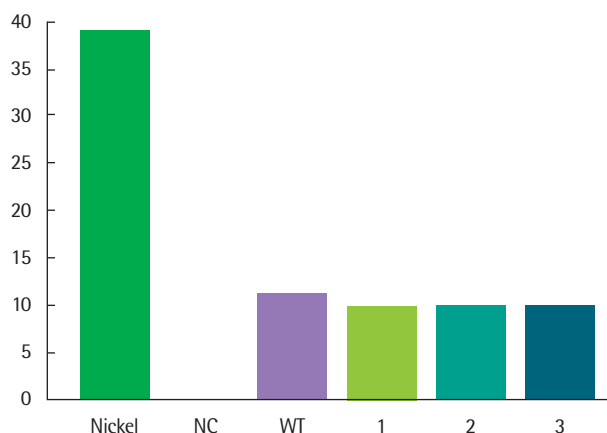


Fig. 2. Positive rates in the patch testing. Nickel, Nickel sulfate as a positive control; NC, blanked as a negative control; WT, wild type of *Zoysia japonica*; 1, JG21 (genetically modified *Z. japonica* for herbicide tolerance); 2, JG21-MS2 (genetically modified *Z. japonica* for herbicide tolerance and male sterility); 3, JG21-MS1 (genetically modified *Z. japonica* for herbicide tolerance and unbolting).

결 과

2014년 4월부터 8월까지 총 97명(평균 나이 32세[범위: 20–64세], 표준편차 8세, 48% 남성)의 피험자가 본 연구에 동의하고 참여하였다. 피험자 중 접촉피부염 과거 병력은 니켈에 대해서 8명 있었으며, 잔디에 대한 접촉피부염 과거병력은 없었다.

음성대조군에 철폍시험 양성을 보인 피험자는 없었다. 97명의 피험자 중 38명(39.2%; 남성, 42%)이 니켈에 양성(1+, 19명; 2+, 14명; 3+, 5명)을 나타냈다. 니켈에 접촉피부염 과거병력이 있었던 피험자 8명 중 6명(75.0%)에서 양성을 보였다. 잔디는 wild type 11명(11.3%; 남성, 63.6%; 1+, 8명; 2+, 3명), JG21 10명(10.3%; 남성, 60%; 1+, 8명; 2+, 2명), JG21-MS2 10명(10.3%; 남성, 60%; 1+, 8명; 2+, 2명), JG21-MS1 10명(10%; 남성, 60%; 1+, 8명; 2+, 2명) 등이 양성반응을 보였다(Fig. 2). 니켈 양성피험자 중에는 5명(13.2%)에서 강양성(3+) 반응을 보였으나 wild type과 GM 잔디에 대한 강양성반응은 없었으며 주로 약 양성(1+) 및 경미한 반응(±)이 나타났다(Table 1). 니켈에 대한 강 양성반응을 보인 피험자들도 별도의 치료 없이 수일 내 정상 피부로 회복되었다. 니켈과 잔디 모두에서 양성을 나타낸 피험자는 5명(5.2%; 남성, 80%)으로 니켈 양성 피험자의 13.2%, 한 가지 이상 잔디에 양성인 피험자의 45.0%였다.

고 찰

유전자 변형을 이용한 다양한 생물의 상품화는 이미 우리 일상생활에 직간접적으로 영향을 미치고 있다. 특히 GM 작물(GM crops)은 음식물의 질과 수확량을 높이고, 특정 살충제 사용을 줄이는데 큰 기여를 하고 있다. 최근 여러 나라에서 GM 작물의 재배면적

Table 1. Incidences of skin reaction to test objects among 97 participants

Test objects	±	1+	2+	3+
Nickel sulfate	1	19	14	5
Blanked	0	0	0	0
Leaves of <i>Z. japonica</i>				
Wild type	5	8	3	0
JG21	5	8	2	0
JG21-MS2	5	8	2	0
JG21-MS1	4	8	2	0

Z. japonica, *Zoysia japonica*.

이 급증하는 것을 보면 GM 작물의 인체 직접 섭취 혹은 이를 이용한 2차 농수산물의 섭취 등도 급증하고 있는 것으로 추정된다.¹³⁾ GM 작물에 대한 근거 없는 거부감을 해소하고 안전성 근거들을 확보하기 위하여 도입 유전자에 의해 발현되는 단백질의 성상 및 인체반응에 대한 충분한 연구가 필요하다. 안전성 평가 방법은 Codex Alimentarius Commission에서 표준화된 방법을 제시하고 있다.¹⁴⁾ 기존 작물과 GM 작물 간의 비교연구에서 현재까지 기존 작물보다 식품알레르기에 위험도가 높은 GM 작물은 알려지지 않았다.¹⁵⁾ 오히려 유전자 변형을 통한 기존 알레르기 원인 항원의 발현을 감소시켜 식품알레르기 발생을 줄일 수도 있다.¹⁶⁾ 본 연구 대상인 잔디의 경우, 식용 작물들과는 다른 방법으로 안전성을 검정해야 하나 표준화된 방법은 알려져 있지 않다. 본 연구에서는 철폍시험을 이용하여 잔디 잎과 사람 피부 간의 직접 접촉을 통한 위해반응(알레르기접촉피부염) 가능성을 예상하여 시험을 진행하였고 야생형과 GM 잔디 간의 차이를 보이지 않았다.

과민반응은 생체 내 면역반응의 일종으로 정상적인 반응보다 과장되어 나타나거나 면역반응이 필요 없는 상황에서도 발생하여 인체에 해가 되는 반응을 말한다. 전통적인 분류에서 지연형 과민반응(delayed type hypersensitivity) 혹은 제4형 과민반응(type IV hypersensitivity)은 알레르기접촉피부염(allergic contact dermatitis), 인슐린의존형 당뇨병과 같은 일부 자가면역질환, 약물에 의한 간손상, 바이러스성 감염질환 등의 기전으로 주로 활성화된 T 세포(cytotoxic T lymphocyte)가 관여한다.¹⁷⁾

철폍시험은 지연형 과민반응 혹은 제4형 과민반응이 주기적인 알레르기접촉피부염 진단에 표준 진단법으로 시험 방법이 표준화되어 있으며 다양한 물질에 대한 표준시험농도가 제시되어 있다.^{18,19)} 하지만, 들잔디 잎의 철폍시험 농도가 제시되어 있지 않아 사람의 피부가 수시간 이상 잔디 잎에 접촉한다는 가정하에 인체위해성 여부를 검정하고자 잔디 잎 자체를 이용하여 철폍시험을 시행하였다. 잔디에 직접 접촉 이외에 잎 추출물의 섭취, 혹은 농축액의 피부 도포 등으로 잔디를 이용할 경우 이에 따른 별도의 방법으로 인체위해성을 검정해야 한다. 또한 본 연구와 같이 시험하고자 하는 물질에 대한 이전 연구가 없는 경우, 철폍시험은 피부단자시험(skin prick

test)과 달리 양성대조군이 없기 때문에 특히 적은 양성률을 보이는 철폐시험에서는 시험 시약 자체의 항원성이 떨어지거나 양성률이 낮게 나타날 수 있는 대상만을 피험자로 시험하는 등 검사의 신뢰성이 떨어질 수 있다. 이를 보완하기 위하여 기존 연구들에서 가장 높은 빈도로 양성률을 보였던 니켈을 양성대조군으로 본 연구에 사용하였다. 기존 철폐시험들과 달리 양성대조군의 도입으로 다빈도 혹은 강한 양성반응이 나타날 것을 우려하여 표준화된 검사 방법을 일부 변형(철폐시간을 48시간에서 24시간으로)하였음에도 본 연구에서 니켈에 대한 철폐시험 양성률은 접촉피부염 병력이 있는 한국인을 대상으로 시행한 연구 및 미국, 노르웨이 등에서의 연구^{12,20,21)}와 유사한 양성률을 보였다. 니켈은 장신구 및 시계 등에 흔히 사용되는 금속으로 철폐시험을 통하여 알레르기접촉피부염 발병을 예측할 수 있는데 본 연구에서 접촉피부염 과거 병력이 없는 피험자의 1/3 가량에서 양성을 보여 실제 니켈에 대한 접촉피부염 유병률은 상당히 높을 것으로 추정할 수 있다. 니켈에 대한 철폐시험 양성률은 여성에서 높았던 반면 잔디는 남성에서 높게 나타났다.

들잔디는 인공적인 조경용 재배로 인해 실생활에 비교적 흔히 접하는 식물이나 식용작물이 아니므로 인체에 대한 잠재적 유해성은 꽃가루에 의한 화분증, 직접 접촉에 의한 접촉피부염 등이다. 잔디 꽃가루에 의한 화분증은 잔디 꽃가루 항원에 대한 감작(sensitization)이 선행되어야 발생할 수 있다. 본 연구와 같은 지역에서 재배한 같은 종의 잔디 꽃가루 항원을 이용한 연구에서 4.7%의 감작률을 보였으며,⁸⁾ 다양한 잔디류(Kentucky blue grass, meadow fescue, orchard grass, rye grass, timothy grass, velvet grass)가 혼합된 잔디혼합항원(grass pollen mixture, Allergopharma, Reinbek, Germany)에 대한 감작률은 1.1%–3.3%였다.³⁾ 잔디혼합항원에 비해 들잔디 단독 항원에 높은 양성률을 보인 것은 두 꽃가루 항원 시약 간의 농도 차이에 기인한다고 여겨진다.

들잔디는 교외는 물론 도시 내에서도 비교적 흔히 접하는 식물이지만 잔디 잎에 대한 알레르기접촉피부염의 빈도는 연구된 바가 없다. 한국표준화 철폐시험패널에 포함되어 있는 유일한 식물성 물질인 식물성 방향제(balsam of Peru)는 접촉피부염 병력이 있는 국내 환자들을 대상으로 시행한 철폐시험에서 4.7%–5.1% 가량 양성을 보였다.²⁰⁾ 이로 미루어 연구 전 잔디 잎에 대한 알레르기접촉피부염 발생 확률은 매우 낮을 것으로 추정하여 시험군 간의 비교를 위해서는 많은 수의 피험자가 필요할 것으로 예측하였으나 실제 연구 중 중간 분석에서 약 10% 가량의 철폐시험 양성률을 보여 많은 피험자를 대상으로 임상시험을 시행할 필요가 없다고 판단하였다. 들잔디 이외의 다양한 야생 잔디류(*Axonopus compressus*, *Ischaemum muticum*, *Imperata cylindrica*, *Panicum maximum*, and *Pennisetum purpureum*) 추출물을 이용한 철폐시험에서 야생 잔디류에 접촉피부염 병력이 있었던 환자의 11%에서 양성을 보여⁴⁾ 실제로 잔디류가 알레르기접촉피부염을 일으키는 주요 원인이 될 가

능성이 있으므로 향후 후속 연구가 필요하다.

본 연구로 알레르기접촉피부염의 원인으로 새로 개발된 GM 잔디(JG21-MS2, JG21-MS1)가 기존 들잔디보다 더 인체에 위해하지 않다는 것을 증명하였다.

REFERENCES

1. Rajan TV. The Gell-Coombs classification of hypersensitivity reactions: a re-interpretation. *Trends Immunol* 2003;24:376-9.
2. Mortz CG, Andersen KE. Allergic contact dermatitis in children and adolescents. *Contact Dermatitis* 1999;41:121-30.
3. Jeon BH, Lee J, Kim JH, Kim JW, Lee HS, Lee KH. Atopy and sensitization rates to aeroallergens in children and teenagers in Jeju, Korea. *Korean J Asthma Allergy Clin Immunol* 2010;30:14-20.
4. Koh D, Goh CL, Tan HT, Ng SK, Wong WK. Allergic contact dermatitis from grasses. *Contact Dermatitis* 1997;37:32-4.
5. Clark RA, Adinoff AD. Aeroallergen contact can exacerbate atopic dermatitis: patch tests as a diagnostic tool. *J Am Acad Dermatol* 1989;21(4 Pt 2):863-9.
6. Ganesan M, Han YJ, Bae TW, Hwang OJ, Chandrasekhar T, Shin AY, et al. Overexpression of phytochrome A and its hyperactive mutant improves shade tolerance and turf quality in creeping bentgrass and zoysiagrass. *Planta* 2012;236:1135-50.
7. Toyama K, Bae CH, Kang JG, Lim YP, Adachi T, Riu KZ, et al. Production of herbicide-tolerant zoysiagrass by Agrobacterium-mediated transformation. *Mol Cells* 2003;16:19-27.
8. Bae TW, Vanjildorj E, Song SY, Nishiguchi S, Yang SS, Song IJ, et al. Environmental risk assessment of genetically engineered herbicide-tolerant *Zoysia japonica*. *J Environ Qual* 2008;37:207-18.
9. Bae TW, Song IJ, Kang HG, Jeong OC, Sun HJ, Ko SM, et al. Selection of male-sterile and dwarfism genetically modified *Zoysia japonica* through gamma irradiation. *J Radiat Ind* 2010;4:239-46.
10. Bae TW, Kim J, Song IJ, Song SY, Lim PO, Song PS, et al. Production of unbolting lines through gamma-ray irradiation mutagenesis in genetically modified herbicide-tolerant *Zoysia japonica*. *Breed Sci* 2009;59:103-5.
11. Fullerton A, Fischer T, Lahti A, Wilhelm KP, Takiwaki H, Serup J. Guidelines for measurement of skin colour and erythema. A report from the Standardization Group of the European Society of Contact Dermatitis. *Contact Dermatitis* 1996;35:1-10.
12. Zug KA, Warshaw EM, Fowler JF Jr, Maibach HI, Belsito DL, Pratt MD, et al. Patch-test results of the North American Contact Dermatitis Group 2005-2006. *Dermatitis* 2009;20:149-60.
13. International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications. ISAAA brief 43-2011: executive summary. Global status of commercialized biotech/GM crops: 2011 [Internet]. International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications; 2015 [cited 2015 Jan 8]. Available from: <http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/43/executivesummary>.
14. Goodman RE, Vieths S, Sampson HA, Hill D, Ebisawa M, Taylor SL, et al. Allergenicity assessment of genetically modified crops: what makes sense? *Nat Biotechnol* 2008;26:73-81.
15. Taylor SL, Hefle SL. Will genetically modified foods be allergenic? *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:765-71.
16. Herman EM, Helm RM, Jung R, Kinney AJ. Genetic modification removes an immunodominant allergen from soybean. *Plant Physiol* 2003;132:36-43.

17. The Korean Academy Asthma, Allergy, and Clinical Immunology, editor. Types and mechanisms of hypersensitivity. In: The Korean Academy Asthma, Allergy, and Clinical Immunology, editor. Asthma and allergic diseases. 2nd ed. Seoul: Ryo Moon Gak; 2012:53-8.
18. de Groot AC. Patch test concentrations and vehicles for testing contact allergens. In: Rustemeyer T, Elsner P, John SM, Maibach HI, editors. Kanerva's occupational dermatology. 2nd ed. New York: Springer; 2012:1849-93.
19. Nixon LR, Diepgen T. Contact dermatitis. In: Adkinson Jr NF, Bochner BS, Burks AW, editors. Middleton's Allergy: principles and practice. 8th ed. Philadelphia: Elsevier Health Sciences; 2013:565-74.
20. Lee GY, Kim JK, Kim KJ. A study of the results of patch test in patients with contact dermatitis. Korean J Dermatol 2007;45:908-14.
21. Hansen SR, Kroon S. Patch testing and nickel allergy. Tidsskr Nor Lægeforen 2008;128:433-5.