

산낙지(*Octopus variabilis*)에 의한 아나필락시스 1예

아주대학교 의과대학 알레르기-류마티스내과

김정은·최정희·서유진·윤성호·예영민·신유섭·서창희·남동호·박해심

A Case of Anaphylaxis Due to Raw *Octopus variabilis*

Jeong-Eun Kim, Jeong-Hee Choi, Yu-Jin Suh, Sung-Ho Yoon, Young-Min Ye, Yu-Sub Shin, Chang-Hee Suh, Dong-Ho Nahm and Hae-Sim Park

Department of Allergy and Rheumatology, Ajou University School of Medicine, Suwon, Korea

Shellfish, crustacea and mollusca are the common causes of food allergy and *Octopus variabilis*, a kind of mollusca is a favorite food in Oriental countries. There have been some reports of allergy to mollusca, but case reports of anaphylaxis due to octopus are rare. We report a case of anaphylaxis after eating raw octopus. A 52-year-old man visited the emergency department with complaints of generalized urticaria, dizziness, and loss of consciousness at one hour after eating one piece of raw octopus leg. The allergy skin test with octopus extract showed weakly

positive response (A/H ratio 2+). When serum specific IgE, IgG1 and IgG4 antibodies to octopus extract were measured by ELISA, increased level of specific IgG4 was noted compared to normal healthy controls, and specific IgE and IgG1 antibodies were undetectable. Serum tryptase level by CAP system showed markedly elevated level (146 IU/ml). These findings suggest that octopus could induce an anaphylaxis as a manifestation of food allergy probably due to non-IgE mediated mast cell activation. (**Korean J Asthma, Allergy Clin Immunol 2004;24:257-260**)

Key words: Octopus, Anaphylaxis, Mast cell

서론

어패류(shellfish)는 절지동물(Arthropoda)에 속하는 갑각류(Crustacea)와 연체동물(Mollusca)을 통합하여 부르는 인위적인 분류명으로, 음식물 알레르기의 흔한 원인 물질이다(Table 1).^{1,2)} 낙지(*Octopus variabilis*)는 분류학적으로 연체동물문, 두족강(Cephalopoda), 팔완목(Octopoda), 문어과(Octopodidae)에 속하고,³⁾ 한국, 중국, 일본 등지에 서식하며, 우리나라에서는 산낙지(raw octopus)로도 많이 먹는다. 현재까지 갑각류에 대한 음식물 알레르기의 보고는 많으나, 연체동물에 대한 음식물 알레르기의 보고는 많지 않으며,^{1,2,4-11)} 특히 낙지에 의한 음식물 알레르기의 보고는 국내외적으로 드물다. 이에 저자들은 산낙지 섭취 후 발생한 아나필락시스 1예를 경험하였고, 산낙지로 조항원(crude extract)을 제조하여

이를 이용한 알레르기 피부단자시험을 시행하였으며, 산낙지에 대한 특이 IgE, IgG1 및 IgG4 항체를 측정하였기에 이를 문헌 고찰과 함께 보고하는 바이다.

증례

환 자: 문○근, 52세, 남자

주 소: 전신 두드러기, 어지러움

Table 1. Classification of seafood groups causing allergic reactions

Phylum	Class	
Mollusca	Gastropoda	Abalone, snail, limpet
	Bivalvia	Clam, mussel, oyster, scallop
	Cephalopoda	Octopus, squid
Arthropoda	Crustacea	Lobster, crayfish, shrimp, crab
Chordata	Chondrichthyes	Sharks, rays
	Osteichthyes	Cod, salmon, sardine, mackerel, yellowtail, tuna

본 연구는 KISTEP(M10124010008)의 지원으로 이루어진 것임.
책임저자 : 박해심, 경기도 수원시 영통구 원천동 산5번지
아주대학교 의과대학 알레르기-류마티스내과, 우: 442-721
Tel: 031) 219-5150, Fax: 031) 219-5154

E-mail : hspark@ajou.ac.kr

접수: 2003년 12월 31일, 통과: 2004년 4월 15일

현병력: 2002년 11월, 환자는 산낙지 다리 한 쪽 섭취 1시간 후 전신의 두드러기와 어지러움을 호소하며 의식이 소실되어 인근 병원 응급실로 옮겨졌다. 혈압이 측정되지 않고 무호흡증이 있어 에피네프린 주사 및 기관삽관 등의 응급처치 후 혈압이 60/40 mmHg인 상태로 본원 응급실로 전원되었다.

과거력: 천식, 비염, 아토피피부염의 과거력은 없었으며, 다른 특별한 질환의 과거력도 없었다.

가족력: 천식, 비염, 아토피피부염의 가족력 없음. 어머니가 당뇨를 앓고 있다.

이학적 소견: 본원 응급실 내원 시 기도삽관된 상태로 의식은 명료하였고 혈압은 90/60 mmHg, 맥박은 88회/분, 체온은 37°C, 호흡수는 18회/분이었다. 급성 병색을 보였고 청진상 천명은 없었다. 전신에 두드러기는 없었고, 입과 눈 주위의 혈관부종도 없었다.

검사실 소견: 내원 당시 시행한 말초혈액 검사상 혈색소 13.1 mg/dl, 백혈구 20,510/ μ l (호산구 1%)였고, 혈청 화학 검사상 간기능검사 및 크레아티닌 등은 정상이었다. C_3 는 74 mg/dl (65~125)이었고, C_4 는 21 mg/dl (9~37)이었다. RIA (Diagnostic product Co., CA)로 측정한 혈청 총 IgE 항체치는 63 IU/ml (1~183)이었다. CAP system (Pharmacia & Upjohn, Uppsala, Sweden)으로 측정한 혈중 tryptase치는 146 IU/ml (0~13.5)로 현저히 증가되었고, ECP도 29.6 IU/ml (0~11.3)로 증가되어 있었다. 특이 IgE 항체치는 집먼지진드기와 새우는 모두 0.30 kU/L (0.00~0.35)로 정상이었고, 독보리(ryegrass)는 2.30 kU/L (0.00~0.35)로 증가되어 있었다. 50여 종의 흡입항원(Bencard Co., UK)과 국내에서 주로 섭취하는 음식물로 직접 제조한 62종의 조항원을 이용한 알레르기 피부단자시험상 A/H비(Allergen/Histamine Ratio)는 집먼지진드기 2+, 독보리 3+, 굴 2+, 새우 2+, 골뱅이 3+, 번데기 3+, 소라 2+이었으나, 문어와 오징어에는 음성반응을 보였다. 흉부 방사선 촬영과 뇌 전산화단층촬영상 특이 소견은 없었다.

낙지 조항원(crude extract)의 제조: 산낙지의 다리를 액체 질소에서 급속 냉동한 후 믹서기로 잘게 갈아 가루로 만들고, 낙지 가루와 PBS (phosphate buffered saline, pH 7.4)를 1 : 10의 비율로 혼합하여 4°C에서 24시간 동안 추출하였다. 추출 단백질을 이외의 오염물과 세균을 제거하기 위하여 추출 용액을 12,000 rpm, 20분간 원심 분리한 후 상층액을 따로 분리하여 6,000~8,000 Da의 단백질이 빠져 나갈 수 있는 cellophane tube에 추출 용액을 넣은 뒤 PBS에서 48시간 동안 투석을 실시하였다. 투석이 끝나면 다시 한번 12,000 rpm에서 20분간 원심분리를 하고, 0.2 μ m syringe filter를 사용하여 무균처리한 후 동량의 글리세린(Sigma Co., St. Louis, MO)과

혼합하여 피부단자시험에 사용하였고, 동결 건조시킨 조항원으로 낙지에 대한 항체 측정 및 면역효소역제시험을 하였다.

낙지 추출물을 이용한 피부단자시험: 위와 같이 만든 낙지 조항원(항원 농도: 3.8 mg/ml)을 이용한 피부단자시험에서는 약양성 반응(A/H비 : 2+, 낙지 조항원 2×2/4×4 mm, 0.1% 히스타민 2×4/5×6 mm)을 보였다.

낙지에 대한 혈청 특이 IgE, IgG1, IgG4 항체 측정: 산낙지로 위와 같이 직접 제조한 단백 추출물(항원 농도: 2.87 mg/ml)을 항원으로 사용하였다. 5 μ g/ml, 10 μ g/ml 농도의 항원을 96-well microplate (Corning, NY)에 각 well당 100 μ 씩 넣고 4°C에서 12시간 이상 작용시킨 후 이를 PBS-0.05% Tween 20으로 3회 세척하였다. 비특이적 결합을 방지하기 위하여 10% FBS-PBS (fetal bovine serum-phosphate buffered saline)를 각 well당 350 μ 씩 넣고 상온에서 2시간 작용시켰다. 환자의 혈청을 1/2, 1/5, 1/10로 희석하여 50 μ 씩 넣고, 다시 3회 세척 후 biotin labeled goat anti-human IgE, IgG1, IgG4 항체(Vector Lab, Burlingame, CA, 1 : 1000 v/v)를 well당 100 μ 씩 넣고 1시간 작용시킨 후 3회 세척하였다. 여기에 streptavidine-peroxidase (Sigma Co., St. Louis, MO, 1 : 1000 v/v)를 well당 100 μ 씩 투여하고 30분간 작용시킨 후 3회 세척하였다. 발색제(TMB: 3' 3' 5'-tetramethylbenzidine one tablet, phosphate citrate buffer 10 ml, 30% H₂O₂ 2 μ l)를 well당 100 μ 씩 넣어 상온에서 10분간 발색 후 2N H₂SO₄로 발색을 중지시키고 plate reader를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 정상 대조군 1명의 혈청을 이용하여 위와 같이 실험하였고 비교 결과 IgE와 IgG1은 정상 대조군과 비슷하였으나 IgG4치만 증가되어 있어, 추가적으로 항원 농도 5 μ g/ml, 10 μ g/ml, 20 μ g/ml에서 정상 대조군 3명과 함께 같은 방법으로 IgE 항체를 측정하였고, 항원 농도 10 μ g/ml에서 정상 대조군 51명과 함께 같은 방법으로 IgG4 항체를 측정하였다. 이 때 정상 대조군의 평균 흡광도에 3배의 표준편차치를 더하여 cut-off치를 산출하여, 그 이상인 경우를 증가된 것으로 간주하였다.

면역효소역제시험: 환자의 혈청과 억제제로 1, 5, 10, 50, 100 μ g/ml의 유럽 집먼지진드기(house dust mite, *Dermatophagoides pteronyssinus*), 수염고둥(turban shell, *Monoplex australasia*), 전복(abalone, *Haliotis midae*), 국내산 새우 중하(shrimp, *Metapenaeus joyneri*), 메밀(buckwheat, *Fagopyrum esculentum* Moench) 등의 항원을 4°C에서 12시간 이상 반응시킨 후, 이를 10 μ g/ml 농도의 낙지 항원이 부착된 microplate에 well당 100 μ 씩 넣고 3시간 작용시킨 후 항체 측정시와 같은 방법으로 IgG4에 대해 면역효소법을 시행하였다. 억제제 대신 동량의 PBS를 작용시킨 경우를 대조군으로 하였다. 특이 항체 결합의

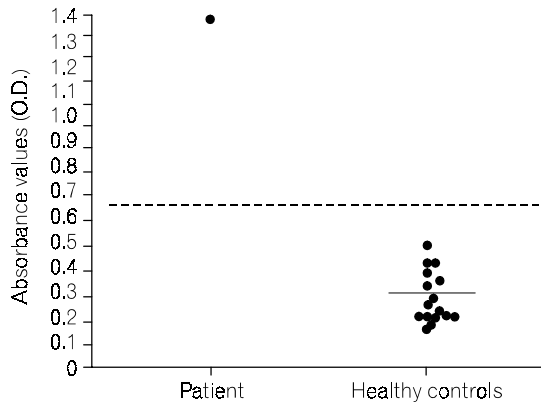


Fig. 1. Specific IgG4 bindings to octopus extract in the patient and healthy controls. Horizontal dotted line indicates positive cut-off value (mean $\pm$ 3SD). Horizontal bar represents mean values.

억제 정도(%)는 [(대조군의 흡광도-억제제가 포함된 sample의 흡광도)/대조군의 흡광도]에 100을 곱한 값으로 정의하였다.

결 과: 면역효소법 시행 결과 혈청 특이 IgE 항체는 측정되지 않았으나, IgG4 항체는 정상대조군과 비교하여 유의하게 높게 측정되었다(Fig. 1). IgG4 항체에 대해 시행한 면역효소억제시험상 낙지 항원농도 1 μ g/ml부터 유의한 억제 반응이 관찰되었고, 5 μ g/ml 농도에서부터 약 80% 이상 억제되었다. 전복에서도 낙지보다는 억제 정도가 약하기는 하지만 항원 농도 10 μ g/ml부터 유의한 억제 반응이 관찰되었으며, 용량 반응곡선의 양상을 보였다. 반면, 유럽 집먼지진드기, 수염고둥, 국내산 새우 중하, 메밀 등을 억제제로 사용하였을 때 그 반응은 미미하였다(Fig. 2).

임상경과 및 치료: 특징적인 환자의 병력과 검사실 소견으로 산낙지에 대한 아나필락시스로 진단하였다. 보존적인 치료 후 회복되어 현재는 후유증 없이 외래에서 추적 관찰 중이다.

고 찰

해산물에 의한 음식물 알레르기의 유병률은 정확히 예측하기는 어려우나 6세 이하 소아에서는 약 2~4%, 성인에서는 2% 정도까지 이를 것으로 추정된다.¹⁾ Daul 등은 미국에서만 약 250,000명 이상이 갑각류나 연체동물에 대한 알레르기가 있다고 보고하였다.²⁾ 미국이나 국내 보고에 의하면 연체동물보다는 갑각류 알레르기의 빈도가 높은 것으로 알려져 있으며,^{12,13)} 갑각류에 대한 연구가 더 활발히 진행된 상태이다. 그러나, Castillo 등의 연구에 의하면 스페인에서는 연체동물이나 갑각류에 대한 알레르기의 원인 중 오징

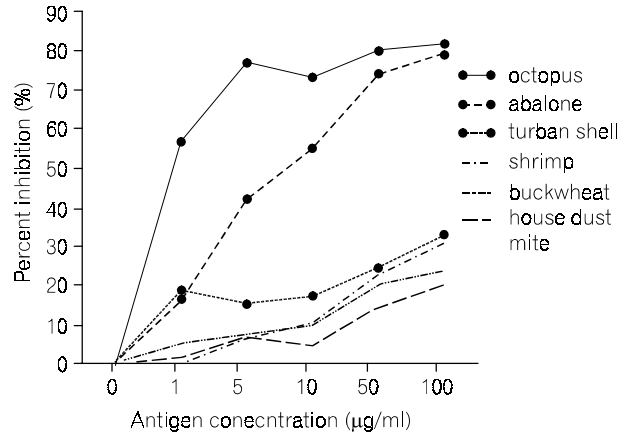


Fig. 2. Percent inhibition of specific IgG4 with serial additions of octopus, abalone, turban shell, shrimp, buckwheat, and house dust mite.

어가 50%로 새우 다음으로 흔하였다.⁴⁾ 국내 보고에서도 김 등¹³⁾은 다양한 알레르기 증상이 있는 환자에서, 음식물 알레르겐에 대한 감작률은 어패류 중 전복(1.4%)이 새우(5.8%) 다음으로 높았고, 수염고둥(1.1%), 굴(oyster, 0.8%) 등의 감작률도 게(crab, 1.3%) 다음으로 높아¹³⁾ 연체동물도 갑각류 못지 않게 음식물 알레르기의 중요한 원인으로 생각한다. 굴,⁵⁾ 오징어(squid),⁶⁾ 삿갓조개(limpet),⁷⁾ 전복,⁸⁾ 달팽이(snail)^{10,11)} 등에 대한 음식물 알레르기가 보고되었고 몇 가지 연체동물에 대한 알레르겐도 증명되었으나,^{11,14)} 낙지(*Octopus variabilis*)에 대한 음식물 알레르기의 보고는 아직 드물며, 낙지와 같은 팔완목에 속하는 문어(blue-ringed octopus, *Octopus apollyon*)에 의한 자상(bite) 후 생긴 알레르기의 보고^{15,16)}가 있을 뿐이다. 김 등¹³⁾의 보고에 의하면 알레르기 증상으로 병원을 찾은 환자 중 0.4%가 낙지(octopus)에 감작되었다고 하지만, 낙지에 의한 알레르기 증상의 유무는 알려져 있지 않다.

지금까지 음식물 알레르기에 있어 특이 IgG4 항체의 중요성에 대해서는 잘 알려져 있지 않다. 어패류에 대한 IgG4 항체의 보고로는 Bird 등⁸⁾이 삿갓조개 일종(keyhole limpet)의 헤모시아닌에 대한 특이 IgG4 항체를 증명한 바 있다. 또, Yeoh 등¹⁷⁾이 알레르기비염 환자에서 새우와 게 알레르기와 관련하여 특이 IgE 항체와 함께 특이 IgG4 항체가 증가된 경우를 보고한 바가 있으나 특이 IgE 항체가 함께 증가되어 있어 특이 IgG4 항체의 진단적 가치에 대해서는 아직 결론이 없다. 본 연구에서는 면역효소법으로 시행한 낙지에 대한 특이 항체 측정에서, 특이 IgE 항체는 측정되지 않았고 반면 특이 IgG4 항체가 의미있게 증가되어 있는 것으로 보아, 비IgE 매개반응에 의한 음식물 알레르기로 생각되며, IgG4 항체가 감작항체로서 병인기전에 관여하는 것을 증명

하기 위해서는 추후 호염기구 유리능 검사를 이용한 확인 과정이 필요할 것으로 생각한다.

1987년 Lehrer 등¹⁸⁾은 방사면역억제법과 면역확산법을 이용하여 연체동물인 굴과 갑각류인 새우, 게, 바다가재, 대하 등의 사이에 상당한 교차항원성이 있음을 처음 보고하였고, 이후 근육단백의 일종인 tropomyosin이 절지동물과 연체동물에서 교차항원성의 주 요인으로 보고되었다.^{11,14,19)} 본 연구에서 시행한 면역효소억제시험에서 전복에 대해서는 교차항원성이 의심되었으나 조개나 새우, 집먼지진드기 등에 대해서는 교차항원성의 가능성이 거의 없었다. 낙지와 같은 두족류인 오징어는 새우 등의 갑각류나 집먼지진드기와는 교차항원성이 있으나, 낙지 및 다른 연체동물과의 교차 항원성은 없었다고 한다⁶⁾. 저자들은 오징어에 대한 면역효소억제시험을 하지 않아 오징어와 낙지와 교차 항원성에 대한 결과는 얻지 못했다. 이와 같이 연체동물 뿐만 아니라 어패류 알레르기의 교차항원성에 대한 여러 보고들^{6,7,11,14,18,19)}에서 알레르겐의 교차항원성은 분류학적인 관계와는 일관적이지 않은 것을 관찰할 수 있는데, 이는 각 종별 tropomyosin 간의 epitope의 차이나 tropomyosin 외의 다른 알레르겐에 의한 것으로 생각된다. 그리고, 열이나 위산, 소화효소에 의한 음식물 알레르겐의 변성²⁰⁾ 또한 교차 항원성 변화의 원인이 될 수 있겠다. 본 연구에서 알레르겐 규명은 시행하지 못하였으나 추후 SDS-PAGE 및 Immunoblot 등의 방법을 이용한 낙지 알레르겐의 규명과 열, 위산, 소화효소 등에 의한 알레르겐의 변화 여부를 증명하는 것이 위와 같은 교차항원성을 이해하는 데 도움이 될 것으로 생각된다.

결 론

저자들은 알레르기 질환의 과거력이나 가족력이 없는 환자에서 산낙지 섭취 후 발생한 아나필락시스 1예를 경험하였기에 보고하는 바이며, 병인기전은 비IgE 항체 매개 반응에 의한 비반 세포 활성화라고 생각한다. 본 증례의 연구결과는 향후 낙지 알레르기의 발병기전, 진단, 치료를 위한 연구의 기초 자료가 될 것이다.

참 고 문 헌

- 1) Lopata AL, Potter PC. Allergy and other adverse reactions to seafood. *Allergy Clin Immunol Int* 2000;12:271-81
- 2) Daul CB, Morgan JE, Lehrer SB. Hypersensitivity reactions to crustacea and mollusks. *Clin Rev Allergy* 1993;11:201-22
- 3) Kim HS, Lee CU, Noh BC. Lee Chang Uhn: Phylum Mollusca, Animal taxonomy, p194-213, Jibhyun publisher, Seoul, 1984
- 4) Castillo R, Carrilo T, Blanco C, Quiralte J, Cuevas M. Shellfish hypersensitivity: Clinical and immunological characteristics. *Allergol Immunopathol* 1994;22:83-7
- 5) Gonzalez GI, Garcia MJM, Jimenez FG, Gonzalez MG. Anaphylactic shock to oysters and white fish with generalized urticaria to prawns and white fish. *Allergol Immunopathol* 2002;30:300-3
- 6) Carrillo T, Castillo R, Caminero J, Cuevas M, Rodriguez JC, Acosta O, et al. Squid hypersensitivity: a clinical and immunologic study. *Ann Allergy* 1992;68:483-7.
- 7) Azofra J, Lombardero M. Limpet anaphylaxis. Cross-reactivity between limpet and house-dust mite dermatophagoides pteronyssinus. *Allergy* 2003;58:146-9
- 8) Bird P, Calvert JE, Amlot PL. Distinctive development of IgG4 subclass antibodies in the primary and secondary responses to key hole limpet haemocyanin in man. *Immunology* 1990;69:355-60
- 9) Lopata AL, Zinn C, Potter PC. Characteristics of hypersensitivity reactions and identification of a unique 49 kd IgE-binding protein (Hal-m-1) in abalone (*Haliotis midae*). *J Allergy Clin Immunol* 1997;100:642
- 10) de la Cuesta CG, Garcia BE, Cordoba H, Dieguez I, Oehling A. Food allergy to *Helix terrestris* (snail). *Allergol Immunopathol* 1989;17:337-9
- 11) Asturias JA, Eraso E, Arilla MC, Gomez-Bayon N, Inacio F, Martinez A. Cloning, isolation and IgE-binding properties of *Helix aspersa* (brown garden snail) tropomyosin. *Int Arch Allergy Immunol* 2002;128:90-6
- 12) Ditto Am, Grammer LC. Food allergy, in Grammer LC(ed.): *Patterson's allergic disease* 2002;6th ed. p 257-77
- 13) Kim SH, Kang HR, Kim KM, Kim TB, Kim SS, Chang YS, et al. The sensitization rates of food allergens in a Korean population: a multi-center study. *Korean J Asthma, Allergy Clin Immunol* 2003;23:502-14
- 14) Chu KH, Wong SH, Leung PS. Tropomyosin is the major mollusk allergen. Reverse transcriptase chain reaction, expression and IgE reactivity. *Mar Biotechnol* 2000;2:499-509
- 15) Edmonds C. A non-fatal case of blue-ringed octopus bite. *Med J Aust* 1969;20:601
- 16) Brazzelli V, Baldini F, Nalli G, Borghini F, Borroni G. Octopus apollyon bite. *Contact Dermatitis* 1999;40:169-70
- 17) Yeoh SM, Sam CK. The relevance of specific serum IgG, IgG4 and IgE in the determination of shrimp and crab allergies in Malaysian allergic rhinitis patients. *Asian Pac J Allergy Immunol* 2001;19:7-10
- 18) Lehrer SB, McCants ML. Reactivity of IgE antibodies with crustacea and oyster allergens: Evidence for common antigenic structures. *J Allergy Clin Immunol* 1987;80:133-9
- 19) Ayuso R, Reese G, Leong-Kee S, Plante M, Lehrer SB. Molecular basis of arthropod cross-reactivity: IgE-binding cross-reactive epitopes of shrimp, house dust mite and cockroach tropomyosins. *Int Arch Allergy Immunol* 2002;129:38-48
- 20) Burks W, Helm R, Stanly S, Bannon GA. Food allergens. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2001;1:243-8