

알레르기 환자에서 ImmunoCAP 시스템을 이용한 환삼덩굴 및 점박이응애 항원에 대한 특이 IgE 치 측정: 피부반응도 및 ELISA 결과와의 비교

아주대학교병 의과대학 알레르기-류마티스내과학교실

김현아 · 예영민 · 허규영 · 김승현 · 서창희 · 남동호 · 박해심

Comparative Study of ImmunoCAP and ELISA for Detecting Allergen Specific IgE to Japanese Hop Pollen and Two Spotted Spider Mite

Hyoun-Ah Kim, Young-Min Ye, Gyu-Young Hur, Seung-Hyun Kim, Chang-Hee Suh, Dong-Ho Nahm and Hae-Sim Park

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

Background and Objective: Japanese hop pollen (Hop J) and two spotted spider mite (TSM) are common allergens in this country. The aim of this study was to validate a new immunoCAP test for detecting allergen-specific IgE to Hop J and TSM compared to skin reactivity and ELISA results. **Method:** Ninety-five allergy patients showing more than 2+ response on skin prick test to Hop J, 131 allergy patients showing more than 2+ response on skin prick test to TSM and 60 non-atopic healthy controls were enrolled. Skin prick testing was performed using homemade Hop J pollen and TSM extracts. The specific IgE levels to both homemade allergens were measured by ELISA, which were compared to those of the immunoCAP system.

Result: The positive rates of serum specific IgE to Hop J were 57% by ELISA and 51% by Pharmacia immunoCAP

system among 95 patients tested. The positive rates of serum specific IgE to TSM were 28% by ELISA and 50% by immunoCAP system among 131 patients tested. A significant correlation was found in specific IgE level between ELISA and the immunoCAP system ($r=0.63$ for Hop J and $r=0.61$ for TSM, $P<0.05$).

Conclusion: The new immunoCAP system for detecting serum specific IgE antibodies to Hop J pollen was comparable to the results of other *in vivo* and *in vitro* test and can be applied for the diagnosis of Hop J-allergic patients. New immunoCAP system to TSM was superior to the ELISA test, and can be used for screening TSM-sensitive patients. (Korean J Asthma Allergy Clin Immunol 2006; 26:129-135)

Key words: Japanese Hop pollen, Two spotted spider mite, ImmunoCAP system

서 론

알레르기 질환은 병력 청취와 이학적 검사, 관련 알레르겐의 생체 내(*in vivo*) 또는 시험관 내(*in vitro*) 검사를 이용하여 진단한다. 알레르기 피부시험은 유용한 진단 방법이지만 일부 환자들에서 피부 묘기증, 심한 피부 습진, 약제 복용력이 있는 경우 시행할 수 없다.^{1,2)} 이러한 환자들의 경우 시험관내 검사인 혈청 내 알레르겐 특이 IgE 항체를 측정하는 방법이 널리 사용되어 왔다. Radioallergosorbent test (RAST)는

1967년 개발된 이래 가장 널리 사용되고 있지만 반정량적인 방법이며 방사선 동위원소를 취급해야 하는 단점이 있어 사용이 제한되고 있다.³⁾ 최근 도입된 Pharmacia CAP system (CAP, Pharmacia, Sweden)은 3차원적인 cellulose 중합체에 항원이 공유 결합되어 있어 많은 양의 알레르겐이 결합될 뿐 아니라 특이 항체와의 결합도 용이하여 진단의 예민도가 향상되었으며, 혈청 총 IgE가 높은 경우에도 위양성 반응이 없는 것으로 보고되고 있다.⁴⁾ 또한 분석과정이 표준화, 자동화되어 있어 사용하기에 용이하며 측정된 특이 IgE는 WHO 공인 표준 IgE 값으로 교정되어 International Unit로 산출됨에 따라 기존의 검사법에 비해 정량적인 분석 능력이 탁월한 것으로 보고되고 있다.^{5,6)}

원인 알레르겐의 분포는 지역과 기후에 따라 달라, 그 지역에 중요한 알레르겐에 대한 특이 IgE 항체를 검출하기 위한 검사법의 도입이 필수적이다. 환삼덩굴(hop Japanese: 학명: *Humulus Japonicus*) 화분은 잡초 화분(weed pollen)인 쑥

본 연구는 보건복지부 보건의료기술 연구개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것임(A050571).

책임저자 : 박해심, 경기도 수원시 영통구 원천동 산 5번지
아주대학교 의과대학 알레르기-류마티스내과, 우: 442-749
Tel: 031) 219-5196, Fax) 031) 219-5154

E-mail: hspark@ajou.ac.kr

접수: 2006년 3월 22일, 통과: 2006년 6월 5일

(mugwort), 돼지풀(ragweed)과 함께 가을철의 주요 원인 알레르겐으로 알려져 있고^{7,8)} 감작된 환자수가 급증하는 것으로 추정되고 있다. 점박이응애(*Tetranychus urticae*)의 경우, 국내에서 1999년에 배 과수원 주위 거주민에서 관찰된 천식과 알레르기비염 증상이 점박이응애 항원에 의한 천식으로 보고된 후,⁹⁾ 배 과수원이 많은 중부 지역에 거주하는 일반 천식 환자에서도 직업과 상관없이 광범위한 감작률을 보여 여름철에 악화되는 주요 알레르겐 중의 하나로 여겨지게 되었다.¹⁰⁾ 그러나 환삼덩굴 화분이나 점박이응애에 대한 알레르기 환자에게 대해서 국내외적으로 규격화된 진단법은 거의 없고 필요에 따라 각 실험실에서 ELISA로 특이 IgE를 측정하여 접근성이나 재현성에 문제가 있었다. 이러한 이유로 우리나라에서 중요한 알레르겐으로 알려지게 된 환삼덩굴과 점박이응애에 대하여 Pharmacia immunoCAP 시스템이 최근 개발되었다.

이에 저자 등은 환삼덩굴 화분 및 점박이응애에 감작된 알레르기비염 또는 천식 환자군과 비아토피성 건강 대조군을 대상으로, Pharmacia immunoCAP 시스템에 의한 특이 IgE를 측정하였다. 그 결과를 알레르기 피부단자시험 및 국내 조항원을 이용하여 시행한 ELISA 결과와 비교하여, Pharmacia immunoCAP 시스템에 의한 특이 IgE 측정법의 예민도, 특이도 등을 조사하고 본 검사법의 환삼덩굴 화분 및 점박이응애에 감작된 환자들의 진단 적용 가능성에 대해 관찰해 보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상환자

2005년 1월부터 2006년 1월까지 아주대학교병원 알레르기 클리닉을 내원하여 알레르기비염 또는 천식으로 진단받고 피부단자시험에서 환삼덩굴 화분 항원에 양성 반응을 보였던 95명, 점박이응애 항원에 양성 반응을 보였던 131명과 대조군으로 아토피 질환의 과거력이 없으며 국내 환경에서 주요 알레르겐으로 알려진 항원(집먼지진드기 항원 2종, 쑥, 돼지풀, 오리나무, 곰팡이 항원, 고양이 등)과 환삼덩굴 및 점박이응애 항원에 대한 피부단자시험에서 음성반응을 보인 60명을 대상으로 하였고, 대상군의 혈청을 -20°C에 보관 후 ELISA 및 immunoCAP 검사에 이용하였다. 연구에 참여한 모든 환자는 아주대학교병원의 임상시험심의위원회(IRB)에서 승인 후 동의서를 작성하였다.

2. 연구방법

1) 환삼덩굴 화분 및 점박이응애 항원 추출 및 제조: 환삼덩굴 화분은 수원 지역에서 개화기인 9월 중순에 개화된 꽃

을 꺾어서 그늘에 말린 후 꽃가루를 털어서 보관하였다. 그늘에 말린 화분을 ethyl ether로 탈지방화시킨 후에 말려서 PBS (phosphate buffer saline)을 1 : 10 w/v으로 혼합한 후 초음파 분쇄(sonication) 하고 이틀 동안 4°C에서 흔들어 주었다. 이 용액을 4°C, 12,000~15,000 rpm에서 20분 동안 원심 분리한 후 세균 및 다른 오염 물질을 제거하기 위하여 상층액에서 3 mm 여과지를 이용하여 부유물질을 제거하여 추출 용액을 만들었다. 그런 다음, 추출 용액을 투석막(dialysis membrane)을 이용하여 3일 동안 투석하였다. 투석과정이 끝나면, 4°C에서 12,000~15,000 rpm 속도로 20분 동안 다시 원심분리한 후 여과시켰다. 여과된 추출 용액을 동결 건조시키고 사용하기 전까지 -20°C에서 보관하였다. 동결건조시킨 후 면역효소법에 사용하였으며, 피부단자시험에 사용될 추출 용액은 syringe filter를 사용해서 무균처리한 후 동량의 글리세린(Sigma Co., St. Louis, MO, USA)과 혼합하여 사용하였다.

점박이응애는 농촌진흥청 사과연구소에서 제공받은 항원 재료를 사용하여 탈지방화시킨 후, 변형시킨 Coccia 용액과 실온에서 24시간 반응 후 원심 분리하였다. 얻어진 상층액을 4°C에서 인산 완충액으로 2일간 투석하였다. 이를 동량의 글리세린과 혼합하여 피부단자시험에 사용하였다. 또한 동결 건조시킨 후 사용하였다.

2) 피부단자시험: 직접 제조한 환삼덩굴 및 점박이응애 항원에 대해 피부단자시험을 시행하였다. 판독은 Scandinavian Society of Allergy의 방법에 준하여 히스타민에 의한 팽진의 크기(면적)에 대한 알레르겐에 의한 팽진의 크기비(A/H ratio)가 1 미만이면서 홍반의 크기가 21 mm 미만인 경우는 1+, 면적비가 1 미만이면서 홍반의 크기가 21 mm 이상인 경우는 2+, 면적 비가 1 이상이면서 2 미만인 경우는 3+, 면적비가 2 이상이면서 3 미만인 경우는 4+로 판정하였고, 2+ 이상일 경우에 양성 반응으로 판정하였다.

3) Pharmacia immunoCAP을 이용한 특이 IgE 항체의 측정: 검사 혈청 50μL를 실온에서 30분 동안 ImmunoCAP (capsulated hydrophilic carrier polymer)과 반응시키고 세척 후 50μL β-galactosidase로 표지된 단일클론과 다클론성의 항인(anti-human) IgE 항체 50μL씩을 각각 첨가한 다음, 실온에서 150분간 반응시킨 후 ImmunoCAP을 세척하고 형광기질(4-methylumbelliferyl-β-D-galactoside) 50μL와 반응시켰다. 10분 후 fluorometer (Fluorocount, Pharmacia, Sweden)로 수행하였다. 측정된 특이 IgE 농도는 0.35~100 kU/L 범위 내에서 WHO 표준 IgE 농도 값으로 보정되어 산출되었다.

4) ELISA를 이용한 혈청 특이 IgE 항체의 측정: 10μg/mL 농도의 항원을 96-well microplate (Corning, New York, NY, USA)에 well당 100μL씩 넣고 4°C에서 12시간 이상 작용시

킨 후 이를 0.05% PBS-T (phosphate buffered saline-Tween)로 3회 세척하였다. 비특이적 결합을 방지하기 위해 10% FBS-PBS (fetal bovine serum-phosphate buffered saline)를 각 well당 350μL씩 넣어 1시간 작용시켰다. 3회 세척 후 환자의 혈청을 well당 50μL씩 넣어 상온에서 1시간 작용시켰다. 다시 3회 세척 후 biotin labeled goat anti-human IgE 항체(Vector Lab. Burlingame, CA, USA) 1 : 1000 v/v를 well당 100μL씩 넣고 1시간 작용시킨 후 3회 세척하였다. 여기에 strepta-vidine-peroxidase (Sigma Co. St. Louis, MO, USA) 1 : 1000 v/v를 well당 100μL씩 투여하여 30분간 작용시킨 후 3회 세척하였다. 발색제(TMB: 3 3' 5 5'-tetraethyl-benzidine one tablet, phosphate citrate buffer 10ml, 30% H₂O₂ 2μl)를 well당 100μL씩 넣고 상온에서 15분간 발색 후 2N H₂SO₄로 발색을 중지시키고 plate reader를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때 음성 대조군의 평균 흡광도에 3배의 표준편차치를 더하여 cut-off치를 산출하여, 그 이상인 경우를 양성 반응으로 간주하였다.

5) 면역효소억제시험: 환삼덩굴 및 점박이응애 항원의 특이성 및 항원성을 조사하기 위하여 면역효소억제시험을 시행하였다. 환삼덩굴 알레르겐에 강하게 반응한 4명의 혈청 pool에 억제제로서 환삼덩굴 화분 추출액 뿐 아니라 쭉, 돼지풀 항원을 1, 5, 10, 50, 100μg/mL씩 가하여 4°C에서 12시간 반응시킨 후 이를 10μg/mL 농도의 환삼덩굴 항원이 부착된 microplate에 well당 100μL씩 넣고 3시간 작용시킨 후 상기 기술한 동일한 방법으로 ELISA 및 immunoCAP을 시행하였다. 억제제 대신 동량의 PBS를 대조군으로 하였다. 특이 IgE 항체 결합의 억제정도(%)는 [(대조군의 흡광도-억제제가 포함된 sample의 흡광도)/대조군의 흡광도]에 100을 곱한 값으로 정하였다. 점박이응애 알레르겐은 역시 같은 방법으로 점박이응애 및 세로무늬먼지진드기 항원으로 시행하였다.

6) 통계분석: 피부단자시험 결과에 대한 특이 IgE 측정 검사의 민감도(sensitivity)는 (피부단자시험에 양성이며 대상 시험관내 검사에서도 양성인 개체수/피부단자시험에 양성인 개체수)×100으로 정의하였고 특이도(specificity)는 (피부단자시험에 음성이며 대상 시험관내 검사에서도 음성인 개체수/피부단자시험에 음성인 개체수)×100으로 정의하였다. 피부단자시험의 피부반응 정도에 따른 ELISA 특이 IgE와 Pharmacia immunoCAP 시스템에서의 특이 IgE에 대하여 Pearson 상관계수를 구하여 상관관계를 파악하고자 하였다. 모든 통계적 차이의 유의 수준은 P값이 0.05 이하로 정하였다.

결 과

1. 환삼덩굴 화분 및 점박이응애 항원에 대한 피부단자시험 결과 및 그에 따른 ELISA 및 immunoCAP을 이용한 혈청 특이 IgE 항체의 측정

환삼덩굴 화분 항원으로 시행한 알레르기 피부단자시험에서 양성 반응을 보였던 95명 중 43명(45%)이 2+, 22명(23%)이 3+, 30명(32%)이 4+ 이상이였다. 점박이응애 항원으로 시행한 알레르기 피부단자시험에서 양성 반응을 보였던 131명 중 40명(31%)이 2+, 45명(34%)이 3+, 46명(35%)이 4+ 이상이였다.

환삼덩굴 화분 항원으로 시행한 알레르기 피부단자시험 피부반응도에 따른 환삼덩굴 화분 항원의 ELISA 특이 IgE 양성률은 음성 반응을 나타낸 60예 중 2예(3%)에서 ELISA 특이 IgE가 검출되었고, 피부단자시험상 2+인 43명 중 양성률은 37%, 3+인 경우 59%, 4+인 경우 83%로 피부반응도에 따라 양성률도 증가하였다. 피부반응도에 따른 ImmunoCAP상 특이 IgE 양성률은, 음성 반응인 23예 중 1예(4%)에서 특이 IgE가 검출되었고, 2+인 43명 중 21%, 3+인 22명 중 55%, 4+를 나타낸 30명 중에서 90% 검출되어, 피부반응도에 따라 증가하였다(Table 1). 피부단자시험 결과를 기준으로 볼 때, 환삼덩굴 화분에 대한 Pharmacia immunoCAP 시스템의 결과는 민감도 56.8%, 특이도 95.6%, 양성 예측률(positive predictive value) 99.7%, 음성 예측률(negative predictive value)이 31.7%였다.

점박이응애 항원으로 시행한 알레르기 피부단자시험 피부반응도에 따른 점박이응애 항원에 대한 ELISA상 특이 IgE

Table 1. The positive rate of Japanese Hop pollen (Hop J) - ELISA and - ImmunoCAP according to skin reactivity to Hop J in 95 sensitive patients and non-atopic normal healthy controls

Antigen		NC	Skin prick test (A/H)		
			2+	3+	4+
Hop J	ELISA	2/60 (3%)	16/43 (37%)	13/22 (59%)	25/30 (83%)
	Immuno CAP	1/23 (4%)	9/43 (21%)	12/22 (55%)	27/30 (90%)

The positive rate of Hop J-ELISA in positive responders on skin prick test: ≥2+: 57% (54/95), ≥3+: 73% (38/52). The positive rate of Hop J-immunoCAP in positive responders on skin prick test: ≥2+: 51% (48/95), ≥3+: 75% (39/52). Hop J = Japanese Hop pollen; NC = non-atopic normal healthy controls.

Table 2. The positive rate of two spotted spider mite (TSM) - ELISA and - ImmunoCAP according to skin reactivity to TSM in 131 sensitive patients and non-atopic normal healthy controls

Antigen		NC	Skin prick test (A/H)		
			2+	3+	4+
TSM	ELISA	3/60 (5%)	6/40 (15%)	13/45 (29%)	17/46 (37%)
	ImmunoCAP	0/23 (0%)	10/40 (25%)	24/45 (53%)	32/46 (70%)

The positive rate of TSM-ELISA in positive responders on skin prick test: $\geq 2+$: 28% (36/131), $\geq 3+$: 33% (30/91). The positive rate of TSM-immunoCAP in positive responders on skin prick test: $\geq 2+$: 50% (66/131), $\geq 3+$: 62% (56/91). TSM = two spotted spider mite; NC = non-atopic normal healthy controls.

양성률은, 음성 반응을 나타낸 60예 중 3예(5%)에서 특이 IgE가 검출되었고 피부단자시험상 2+인 40명 중 양성률은 15%, 3+인 경우 29%, 4+인 경우 37%로 피부반응도에 따라 양성률도 증가하였다. 피부반응도에 따른 ImmunoCAP상 특이 IgE 양성률은, 음성 반응을 나타낸 23예의 경우에는 특이 IgE가 검출되지 않았으며, 2+인 40명 중 25%, 3+을 나타낸 40명 중 55%, 4+인 32명 중에서 70%에서 검출되어, 피부반응도에 따라 증가하였다(Table 2). 피부단자시험 결과를 기준으로 볼 때, 점박이응애 Pharmacia immunoCAP 시스템의 결과는 민감도 50%, 특이도 100%, 양성 예측률 100%, 음성 예측률이 31.7%였다.

2. ELISA와 Pharmacia immunoCAP 시스템을 이용한 특이 IgE 항체의 상관관계

피부단자시험에서 환삼덩굴 화분 항원에 피부반응도가 2+ 이상인 경우를 대상으로 하여 ELISA 검사 결과치와 Pharmacia immunoCAP 특이 IgE치를 비교하였을 때 $r=0.63$ 으로 양의 상관관계를 보였으며 이는 통계적으로 유의하였다($P<0.05$, Fig. 1). 점박이응애의 경우 ELISA 검사 결과치와 Pharmacia immunoCAP 특이 IgE치 간에 양의 상관관계를 보였다($r=0.61$, $P<0.05$, Fig. 2).

3. 환삼덩굴 및 점박이응애 항원에 대한 면역효소억제시험

두 가지 방법의 특이 IgE 항체 결합력의 특이도와 다른 화분 항원과의 교차 항원성 여부를 관찰하기 위하여 면역효소억제시험을 시행하였다. 환삼덩굴 면역효소억제시험에서는 환삼덩굴, 쭉, 돼지풀 화분 항원을 억제제로 이용하

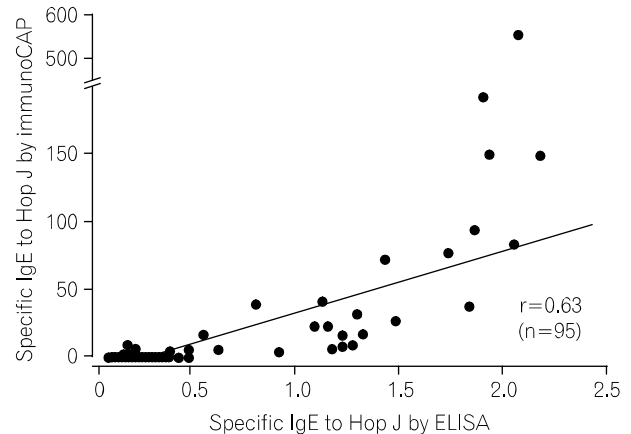


Fig. 1. Correlation of serum specific IgE levels to Japanese hop (Hop J) between ELISA and ImmunoCAP systems in 95 sensitized patients.

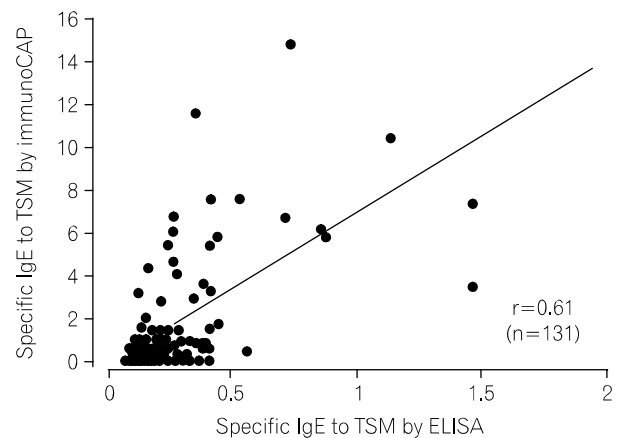


Fig. 2. Correlation of serum specific IgE levels to two spotted spider mite (TSM) between ELISA and ImmunoCAP in 131 sensitized patients.

여 각각 면역효소억제법 및 immunoCAP억제시험을 시행하였고, 점박이응애에 대해서는 점박이응애, 세로무늬먼지진드기를 억제제로 사용하였다. 환삼덩굴 항원에 대한 면역효소억제시험에서는 환삼덩굴 항원으로 전처치한 경우에만 용량 반응 양상으로 유의한 억제 반응이 관찰되었고, 다른 항원에 의해서는 유의한 억제 반응은 관찰되지 않았다. 억제 양상은 두 가지 방법이 유사하였다. 점박이응애 항원에 대한 면역효소억제법 및 immunoCAP억제시험에서는 점박이응애에 의해 용량반응 양상으로 유의한 억제가 관찰되었으나, 세로무늬먼지진드기에 의해서는 부분적 억제 반응이 보였으며 억제 양상은 두 가지 방법이 유사하였다(Fig. 3, 4).

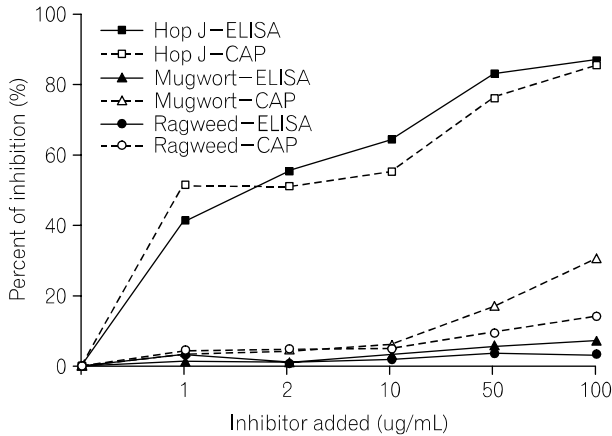


Fig. 3. Specific IgE inhibition results of Japanese hop coated wells (ImmunoCAP - □△○, ELISA - ■▲●) with serial additions of Japanese hop, mugwort and ragweed pollens extracts.

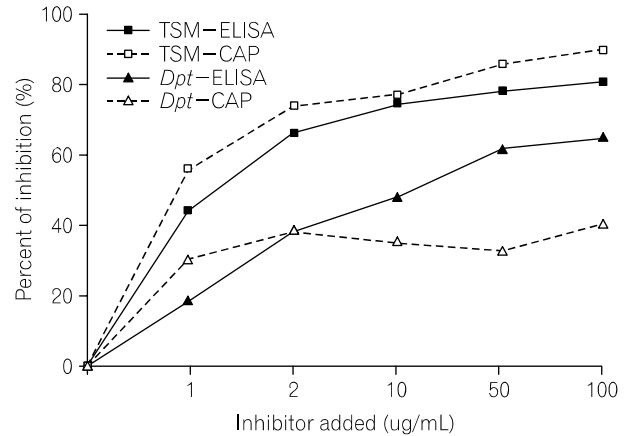


Fig. 4. Specific IgE inhibition results of two spotted spider mite coated wells (ImmunoCAP - □△, ELISA - ■▲) with serial additions of two spotted spider mite and *D. pteronyssinus* extracts.

고 찰

흡입 알레르겐은 크게 실내 항원과 실외 항원으로 나뉘며, 실내 항원은 대표적으로 집먼지 진드기, 고양이 항원, 개털 항원 등이 있고 실외 항원은 목초, 잡초, 수목 등에서 생성되는 화분 및 여러 종류의 진균 등이 있다. 2003년 Kim 등¹¹⁾은 호흡기 알레르기 환자를 대상으로 하는 다기관 알레르기 피부단자시험 연구 결과, 실외 항원 중 높은 양성률을 보인 알레르겐은 점박이응애, 굴응애, 돼지풀, 쭉, 환삼덩굴, 국화 화분 등이었다. 이 중 환삼덩굴 화분은 가을철, 주로 9월에 화분이 대기 중에 비산하는 잡초 화분으로, 일본에서 가을철 잡초 화분으로 쭉, 돼지 풀과 함께 3대 원인 화분중의 하나로 알려져 있고, 우리나라에서는 1987년 Nam 등¹²⁾이 서울 지역 환자들을 대상으로 환삼덩굴 화분에 대하여 알레르기 피부시험과 혈중 특이 IgE 항체를 ELISA로 최초 측정하였으며, 이후 1998년 Park 등¹³⁾이 수원지역에서 환삼덩굴 화분으로 피부시험 및 천식유발시험을 시행하여 감작된 천식 환자들의 임상적 특성을 보고한 바 있다. 당시 연구에서 1,287명 환자를 대상으로 시행한 환삼덩굴 화분에 대한 피부반응도가 2+ 이상을 나타낸 환자가 6.1%였으며, 가을철에 방문한 환자들 중 양성률은 14.4%였다. 또한 환삼덩굴 화분을 이용한 천식 유발시험에서 양성 반응을 나타낸 환자들의 임상적 특성이 확인된 10명 중 4명에서 다른 항원에는 전혀 감작되지 않고 환삼덩굴 화분에만 감작되었음을 보고하여, 국내 환경에서 환삼덩굴 화분의 중요성을 나타내었다.

점박이응애의 경우, 국내 환경에서 많은 연구가 보고되었으며, 사과 과수원이 많은 경북 지역 농부들을 조사한 결

과, 감작률이 16.6%로 집먼지진드기보다 높으며, 과수원에 종사하는 농부들에서 감작률이 높아 과수원 작업에 따른 노출과 밀접한 관련이 있음을 증명하였다.¹⁴⁾ 그러나 Kim 등¹¹⁾은 점박이응애, 굴응애의 감작률이 농촌 지역에서뿐 아니라 서울과 수원 등 도시 지역에서도 높아, 도시 지역에 거주하는 사람에게도 중요한 원인 알레르겐이 될 수 있음을 시사하였다. 이는 집먼지진드기와 교차 반응성을 고려하더라도 점박이응애가 과수뿐 아니라 장미, 채소, 화훼류, 잡초에 광범위하게 존재하면서 실내 항원으로도 작용할 가능성을 제시한다.¹⁵⁾ 이러한 연구들은 국내 환경에서 새로운 항원을 발굴하는 연구가 중요함을 나타내었고, 발굴 후 진단법과 치료법 개발이 다음 과제이다.

알레르기 질환의 진단을 위해, 대부분은 피부단자시험을 1차적으로 시행하나 환자가 피부질환이 있거나 항히스타민제 같은 약제를 복용한 경우 시행하기에 부적절한 경우가 많고, 검사의 재현성에도 문제가 있다. 그러한 경우 시험관내 검사인 혈청 알레르겐 특이 IgE 항체를 측정하는 방법이 널리 사용되고 있다.¹⁶⁾ ELISA에 의한 특이 IgE의 측정은 과거부터 많은 실험실에서 이용되고 있으나 이는 재현성이 떨어지며, 검사 과정이 자동화되어 있지 않아 분석 과정에 많은 시간이 요구되고, 대량으로 검사가 이루어지기에는 한계가 있다. 또한 혈청내 총 IgE 농도가 높을 경우에 위양성 반응도 관찰될 수 있다.

반면 RAST는 1967년 Wide 등¹⁷⁾이 개발한 이래 최근까지 널리 이용되고 있으나 방사선 동위원소를 취급해야 하며 피부단자시험에 비하여 민감도가 상대적으로 낮은 단점을 가지고 있다. 또한 ELISA와 같이 검사 과정이 자동화되어 있지 않아 분석에 많은 시간과 인력이 요구되며, 혈청 내 총 IgE 농도가 높을 경우에는 특이 IgE 측정 시에 위양성

반응이 관찰되기도 한다.¹⁸⁾ 이러한 단점을 개선시킨 것이 Pharmacia CAP 시스템이며 진단의 민감도가 RAST에 비해 높고 분석과정이 표준화, 자동화되어 있어 사용하기에 편리하고 수동조작에서 생길 수 있는 실험실 오차를 줄일 수 있는 등 여러 가지 장점을 가지고 있다.¹⁹⁾

환삼덩굴 및 점박이용애의 경우 새롭게 중요한 알레르겐으로 강조되어, 최근 Pharmacia사가 immunoCAP 시스템 항원 목록에 포함시키고자, 최근 immunoCAP 시스템을 개발하였으며, 본 연구에서는 국내 환자들을 대상으로 진단적 유용성을 평가하였다. 환삼덩굴 및 점박이용애 항원을 이용하여 ELISA로 혈청 특이 IgE 항체를 측정했을 때, 환삼덩굴 항원에서 피부단자시험에서 양성 반응을 보인 95명 중 54명(57%)에서 검출되었으며, 점박이용애 항원에서는 피부단자시험에서 양성반응을 보인 131명 중 36명(27%)에서 검출되었다. ImmunoCAP 시스템을 이용하여 측정한 혈청 특이 IgE 항체는 환삼덩굴에서 95명 중 48명(51%), 점박이용애에서 131명 중 66명(50%)에서 검출되어 환삼덩굴 화분의 경우 ELISA와 immunoCAP 시스템에서 피부단자시험에 따른 양성률이 유사하였고, 점박이용애의 경우에는 immunoCAP 시스템이 ELISA에 비해 높은 양성률이 관찰되었다.

또한 각각의 ELISA 결과치와 Pharmacia immunoCAP 특이 IgE치가 각각 $r=0.63$, $r=0.61$ 로 통계적으로 유의한 결과를 보여, 두 검사법 간에 특이 IgE 항체 검출 결과는 일치하였다. 또한 면역효소억제법에서 각각의 항원은 환삼덩굴 및 점박이용애에 의해 용량 반응 곡선 양상으로 각각 유의하게 억제되는 것으로 미루어 본 연구에서 시행한 immunoCAP 시스템으로 검출된 IgE 항체는 특이적 반응임을 나타내었다.

이상의 결과로 immunoCAP 시스템은 지금까지 보고되지 않은 두 가지 새로운 항원에 대한 생체적 방법인 피부반응도와 비례하였고, 실험실 방법인 ELISA와 유사하거나 우수한 결과를 보였다. 또한 immunoCAP 시스템은 ELISA에 비하여 검사법이 간단하고 자동화되어 있어 검사자의 오류가 개입되지 않아 수동 조작에서 생길 수 있는 실험실 오차를 줄일 수 있으며, 빠른 시간 안에 다량의 검사가 동시에 가능하다는 장점이 있다. 또한 ELISA 시행 시 검사항원의 보존 상태, 제조 방법 등에 따라 항원성이 영향을 받을 수 있으나 immunoCAP 시스템은 표준화된 항원을 사용하므로 항원성에 따른 오차를 줄일 수 있어 환삼덩굴 및 점박이용애에 알레르기에 대한 특이 IgE 검출법으로 임상에서 유용하게 이용할 수 있다.

결 론

이상의 결과로 환삼덩굴과 점박이용애의 Pharmacia im-

munoCAP 시스템은 알레르기 환자에서 특이 IgE 항체 측정 결과를 비교한 결과 신뢰성 있는 검사법으로 판단되며, 진단에 적용이 가능하다.

참 고 문 헌

- 1) Bousquet J. *In vivo* methods for study of allergy, In Middleton E, Reed CE, Ellis EF, Adkinson NF, Yunginger J(ed.): Allergy: principles and practice. 3rd ed. p 419-36, Mosby, St. Louis, 1988
- 2) Pipkorn U. Pharmacological influence of anti-allergic medication on *in vitro* allergen testing. Allergy 1988;43:81-6
- 3) Lee HP, Yoon DH, Kim TY, Kim HO, Kim CW. A comparison study of Pharmacia CAP system, fluoroallergosorbent test and radioimmunoassay for serum IgE and eosinophil cationic protein measurement. Korean J Asthma Allergy Clin Immunol 1997;17: 58-66
- 4) Axen R, Drevin H, Kober A, Yaman L. A new laboratory diagnostic system applied to allergy testing, In Johansson SGO (ed.): Proceedings of a clinical workshop IgE antibodies and the Pharmacia CAP system in allergy diagnosis. p 3-5, Sweden, Upsala, Pharmacia Publication, 1988
- 5) Williams PB, Dolen WK, Koepke JW, Selner JC. Comparison of skin testing and three *in vitro* assays for specific IgE in the clinical evaluation of immediate hypersensitivity. Ann Allergy 1992;68:35-45
- 6) Bousquet J, Chanez P, Chanal I, Michel FB. Comparison between RAST and Pharmacia CAP system: A new automated specific IgE assay. J Allergy Clin Immunol 1990;85: 1039-43
- 7) Park HS, Chung DH, Joo YJ. Survey of airborne pollens in Seoul Korea. J Kor Med Sci 1994;9:42-6
- 8) Kim HS, Lee MK, Park HS, Kim HJ, Hong CS. Pollen counts in the air of Seoul during 88 Seoul Olympics. Korean J Asthma Allergy Clin Immunol 1989;9:564-70
- 9) Jee YK, Hwang EC, Park HS, Lee HY, Kim KY, Park HS. A case of *Tetranychus urticae*-induced asthma in a inhabitant around pear orchard. Korean J Asthma Allergy Clin Immuno 1999;19: 606-9
- 10) Jee YK. *Tetranychus urticae* induced allergy: prevalence and clinical characteristics. Korean J Int Med 1999;57:517-20
- 11) Kim TB, Kim KM, Kim SH, Kang HR, Chang YS, Kim CW et al. Sensitization rates for inhalant allergens in Korea; a multi-center study. Korean J Asthma Allergy Clin Immunol 2003;23: 483-93
- 12) Nam DK, Park HS, Oh SH, Hong CS. Skin reactivity and the detection of specific IgE to the pollen of *Humulus Japonicus*. Korean J Int Med 1988;35:213-27
- 13) Park HS, Coi SY, Nahm DH, Kim HY. Revival of Hop Japanese pollinosis in asthmatic subjects in Kyounki area. Korean J Asthma Allergy Clin Immunol 1998;18:52-60
- 14) Kim YK, Lee MH, Jee YK, Hong SC, Bae JM, Chang YS, et al. Spider mite allergy in apple-cultivating farmers: European red

- mite (*Panonychus ulmi*) and two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) may be important allergens in the development of work-related asthma and rhinitis symptoms. J Allergy Clin Immunol 1999;104:1285-92
- 15) The Korean Academy of Asthma, Allergy and Clinical Immunology. Inhalant allergen, In Park HS, Oh JW(ed.): Asthma and Allergic diseases. 1st ed. p 117-24, Koonja, Seoul, 2002
- 16) Sampson HA. Food allergy. Part 1: Immunopathogenesis and clinical disorders. J Allergy Clin Immunol 1999;103:717-28
- 17) Wide L, Bennich H, Johansson SG. Diagnosis of allergy by an *in-vitro* test for allergen antibodies. Lancet 1967;2:1105-7
- 18) Hoffman DR. Comparison of methods of performing the radio-allergosorbent test: Phadebas, Fadal-Nalebuff and Hoffman protocols. Ann Allergy 1980;45:343-6
- 19) Kam KL, Hsieh KH. Comparison of three *in vitro* assays for serum IgE with skin testing in asthmatic children. Ann Allergy 1994;73:329-36
-