

성인 알레르기 환자에서 자연산과 유전자 재조합 옥수수에 대한 특이 IgE 항체 측정 및 알레르기 성상 비교

아주대학교 의과대학 알레르기·류마티스내과학교실

윤성호·김현미·김상하·서창희·남동호·박해심

IgE Sensitization and Identification of IgE Binding Components of the Corn Allergen in Adult Allergy Patients: Comparison between the Wild and the Genetically Modified Corn

Sung-Ho Yoon, Hyun-Mi Kim, Sang-Ha Kim, Chang-Hee Suh, Dong-Ho Nahm and Hae-Sim Park

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

Background: Recently, genetically modified (GM) food consumption is increasing. Corn is one of the commonly exposed genetically modified foods in Korea. However, there have been no published data to observe the IgE-sensitization rate to GM foods in adult allergy patients in this country.

Objective: The aim of this study was to evaluate IgE sensitization and to compare allergenicity of the wild and GM corns in adult allergy patients (>15 years) visited our University hospital.

Method: The 1,716 allergy patients and 40 healthy controls were enrolled. Skin prick tests were performed with the wild and GM corn extracts. Serum specific IgE level to the two kinds of corn extracts was measured by ELISA and their binding specificities were confirmed by ELISA inhibition test. IgE binding components within the two corn extracts were identified using SDS-PAGE followed by IgE-immunoblot.

Result: Sixty-four patients (3.7%) showed positive responses ($A/H \geq 2+$) on skin prick test to wild corn and

sixty-five patients showed to GM corn. Serum specific IgE was detectable in 66~100% among the positive reactors on skin prick test. ELISA inhibition tests showed significant inhibitions with addition of each corn extracts with similar intensities. IgE-immunoblot analysis demonstrated 21 IgE binding components within the wild corn and 20 IgE binding components within the GM corn with similar binding patterns, in which the 5 major allergenic bands of the each extract were noted in wild (33, 58, 67, 97, 104 kDa) and GM corn (33, 58, 83, 97, 104, kDa). Among them, 33, 58, 97 kDa were common and the most frequently bound one (70%) for both corn extracts.

Conclusion: The sensitization rates to wild and GM corn extracts were 3.7% and 3.8% in adult allergy patients respectively, and three common major allergens (33, 58, 97 kDa) were identified. Corn can be considered as one of the causative food allergens in this country. Genetic manipulation of the corn could not increase allergenic risk in this country. (Korean J Asthma Allergy Clin Immunol 2005; 25:52-8)

Key words: Genetically modified, Corn, Food allergy, Allergen

서 론

음식물 알레르기는 성인에서 1~2%, 소아에서 6~8%로 나이가 어릴수록 유병률이 높다.¹⁾ 전 세계적으로 IgE 매개성 음식물 알레르기와 관련이 있는 주요 음식물 및 음식물

군은 땅콩, 콩, 우유, 달걀, 생선, 갑각류, 밀, 견과류 등이 있으며,²⁾ 최근 국내에서도 새우, 전복, 골뱅이 등의 해산물에 대한 감작률을 보고하였고,³⁻⁵⁾ 농산물 중에는 메밀, 콩에 대한 보고가 있었다.^{6,7)}

옥수수는 우리나라와 아시아, 유럽에서 널리 재배되어 섭취되며, 한국인의 식생활에서도 많은 비중을 차지한다. 구성성분은 탄수화물이 많이 함유되어 있어, 그 자체 또는 우유나 치즈 등의 단백질 함유 식품에 곁들여 섭취된다. 또한 영아에서 이유식에 포함되어 있어 이른 나이부터 노출될 수 있는 음식물이지만 옥수수 알레르기에 대한 국내의 연구 보고는 매우 드물었다. Lehrer 등⁸⁾은 옥수수에서 혈청 특이 IgE와 결합하는 물질에 대해 보고하였지만, 임상적인

본 연구는 KISTEP (M10124010008)의 지원으로 이루어진 것임.

책임저자 : 박해심, 경기도 수원시 영통구 원천동 산 5번지
아주대학교 의과대학 알레르기·류마티스내과학교실
우: 443-721

Tel: 031) 219-5196, Fax: 031) 219-5154

E-mail: hspark@ajou.ac.kr

접수: 2004년 12월 9일, 통과: 2005년 2월 3일

결과에 대한 보고는 거의 없었다.

한편 분자생물학적 기술의 발달로 유전자 재조합 식품(genetically modified food)의 생산과 섭취가 증가하는 추세이다. 유전자 재조합 농산물은 소출량의 증가와 각종 병충해로부터의 저항성을 높이기 위해 유전자를 변이시켜 만든 것이다. 하지만 유전자 재조합 식품이 장기적으로 사람에게 무해하다는 것을 검증할 연구들이 아직 부족하고, 생태계 파괴 가능성 때문에 많은 논란이 되고 있다. 우리나라에서도 유전자 재조합 식품, 특히 콩, 옥수수, 감자 등의 섭취가 증가하고 있지만, 이에 대한 알레르기 위해성에 관한 연구 결과는 미미하다.

이에 저자들은 본 알레르기 클리닉을 방문한 성인 환자에서 자연산 옥수수와 유전자 재조합 옥수수에 대한 감작률과 이에 대한 특이 IgE 항체치 및 알레르겐 성분을 규명하고, 자연산 옥수수에 비해 유전자 재조합 과정에 따른 알레르기 위해성을 평가하는 연구를 수행하였다.

대상 및 방법

1. 대상 환자

2002년 8월 1일부터 2003년 7월 1일까지 다양한 알레르기 질환을 주소로 아주대학병원 알레르기 클리닉을 방문한 15세 이상의 성인 환자 1,716명을 대상으로 국내 자연산 옥수수와 유전자 재조합 옥수수 추출액으로 피부단자시험을 시행하고, 이에 각각 양성 반응을 보인 64명, 65명의 환자에서 혈청 특이 IgE 항체를 측정하였다. 대조군으로 알레르기 질환의 과거력이 없고 알레르기 피부단자시험상 50가지의 흔한 흡입 및 음식 항원 알레르겐에 대해 음성 반응을 보인 정상인을 대상으로 하였다. 피부단자시험상 A/H 비가 2+ 이상인 경우를 양성 반응으로 간주하였으며, 이들 환자의 평균 나이는 자연산 옥수수 환자는 28.7 ± 11.4 세, 유전자 재조합 옥수수 환자는 29.2 ± 11.9 세였고, 성비는 자연산 옥수수 환자가 남성 46명, 여성 18명이었고, 유전자 재조합 옥수수 환자가 남성 46명, 여성 19명이었다. 정상 대조군 40명의 평균 나이는 38.8 ± 12.5 세였다.

2. 자연산 옥수수와 유전자 재조합 옥수수의 알레르겐의 추출 및 제조

자연산 옥수수(수원 19호)와 유전자 재조합 옥수수(Yield-Gard® <Mon810>, <Bt11>, NatureGard® <Event176>, Roundup ready® <GA21> 포함)를 구입하여 액체질소를 이용하여 분쇄한 후, phosphate buffered saline (PBS)을 1 : 10 w/v로 혼합하여 24시간 동안 4°C에서 agitator로 흔들어 추출하

였다. 이 용액을 4°C, 12,000~15,000 rpm으로 20분 동안 원심분리한 후 세균 및 다른 오염물질을 제거하기 위하여 상층액에서 3 mm 여과지를 이용해 부유물질을 제거하여 추출액을 만들었다. 추출액을 투석막(dialysis membrane)을 이용하여 72시간 동안 투석하였다. 투석 과정 후 4°C에서 12,000~15,000 rpm으로 20분간 다시 원심분리한 후 여과시켰다. 여과된 추출 용액을 동결건조시키고 사용하기 전까지 -20°C에서 보관하였다. 동결건조시킨 후 효소면역측정법, SDS-PAGE 및 IgE-immunoblot에 사용하였으며, 피부단자 시험에 사용될 추출 용액은 syringe filter를 사용해서 무균처리한 후 동량의 글리세린(Sigma Co., St. Louis, MO, USA)과 혼합하여 사용하였다.

3. 자연산과 유전자 재조합 옥수수 항원을 이용한 혈청 특이 IgE 항체의 측정

자연산과 유전자 재조합 옥수수로 직접 제조한 추출물을 항원으로 사용하였다. 10µg/mL 농도의 항원을 96-well microplate (Corning, NY, USA)에 well당 100µL씩 넣고 4°C에서 12시간 이상 작용시킨 후 이를 0.05% PBS-Tween20으로 3회 세척하였다. 비특이적 결합을 방지하기 위해 10% fetal bovine serum-phosphate buffered saline (FBS-PBS)을 각 well당 350µL씩 넣어 1시간 작용시켰다. 3회 세척 후 1 : 1 희석한 환자의 혈청을 well당 50µL씩 넣어 상온에서 2시간 작용시켰다. 다시 3회 세척 후 biotin labeled goat anti-human IgE 항체(Vector Lab, Burlingame, CA, USA) 1 : 1,000 v/v를 well당 100µL씩 넣고 1시간 작용시킨 후 3회 세척하였다. 여기에 streptavidine-peroxidase (Sigma Co., St. Louis, MO, USA) 1 : 1,000 v/v를 well당 100µL씩 투여하여 30분간 작용시킨 후 3회 세척하였다. 발색제(TMB: 3 3' 5 5'-tetraethylbenzidine one tablet, phosphate citrate buffer 10 mL, 30% H₂O₂ 2µL)를 well당 100µL씩 넣고 상온에서 15분간 발색 후 2N H₂SO₄로 발색을 중지시키고 plate reader를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때 정상 대조군의 평균값에 3배의 표준편차치를 더하여 cut-off치를 산출하여 그 이상인 경우를 양성 반응으로 간주하였다. 특이 IgE 항체치는 고역가의 항체치를 보인 환자들의 혈청 pool을 단계적으로 희석하여 측정한 흡광도로 표준곡선을 만들어 arbitrary unit (A.U.)로 나타냈다.

4. 면역효소억제시험

각 옥수수의 항원성을 조사하기 위하여 면역효소억제시험을 시행하였다. ELISA 실험에서 특이 IgE 항체치가 높았던 4명의 혈청을 혼합하고, 그 혈청에 억제제로서 자연산 옥수수 및 콩과 유전자 재조합 옥수수 및 콩 항원을 각각

1, 5, 10, 50, 100 μ g/mL씩 가하여 4°C에서 12시간 이상 반응시킨 후 이를 10 μ g/mL 농도의 자연산 및 유전자 재조합 옥수수 항원이 각각 부착된 microplate에 well당 50 μ L씩 넣고 3시간 작용시킨 후 상기 기술한 동일한 방법으로 효소면역측정법을 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.

5. SDS-PAGE 및 IgE-immunoblot

효소면역측정법에 의한 혈청 특이 IgE 항체 측정에서 고역가를 보인 7명과 정상 대조군과 buffer 대조군을 대상으로 하였다. 자연산과 유전자 재조합 옥수수 항원 각각을 25 μ g/mL의 농도로 하여 sample buffer (0.5M Tris-pH 6.8, glycerol, 10% SDS, 0.5% bromophenol blue, 2.5% β -mercaptoethanol)에 희석하여 5분 동안 가열하였다. 표지자(4-250 kDa, Invitrogen, San Diego, CA, USA)와 각 옥수수 항원을 4~20% Tris-glycine gel (Novex, Invitrogen, San Diego, CA, USA)에서 125 V, 2시간 동안 전기영동하였다. 전기영동한 후 PVDF membrane (Millipore Co., Bedford, MA, USA)에 200 mA로 2시간 전이시켰다. 비특이적 결합을 방지하기 위하여 5% BSA-TBST (Tris buffered saline-Tween20)를 이용하여 1시간 동안 처리한 후 환자 및 대조군의 혈청으로 15시간 동안 4°C에서 작용시켰다. TBST로 3회 세척하고 alkaline phosphatase conjugated goat anti-human IgE 항체(Sigma Co., St. Louis, MO, USA)를 3% BSA-TBST를 이용하여 1 : 1,000 v/v로 희석하여 상온에서 1시간 작용시켰다. 이후 TBST로 3회 세척한 후 각각의 membrane을 BCIP/NBT alkaline phosphatase substrate (Sigma Co., St. Louis, MO, USA) 용액에 넣은 후 단백대가 나올 때까지 반응시켰다.

6. 통계 분석

연구 결과의 통계학적 분석은 SPSS v 11.0 for window

(ZDNet Korea)를 이용하였고, *P*값이 0.05 미만인 경우, 통계적으로 유의한 것으로 하였다. 환자군과 대조군 사이의 옥수수 각각에 대한 혈청 특이 IgE 항체치의 비교는 student *t*-test로 분석하였다. 환자군 및 대조군의 평균연령과 특이 IgE 항체치의 평균값은 평균값 $\pm$ 표준편차치로 나타났다.

결 과

1. 자연산과 유전자 재조합 옥수수에 대한 감작률과 피부반응도에 따른 ELISA 상에서의 혈청 특이 IgE 항체치의 비교

자연산 옥수수에 대한 피부단자시험에서 양성 반응을 보인 환자가 1,716명 중 64명(3.7%), 유전자 재조합 옥수수에 1,716명 중 65명(3.8%)으로 유의한 차이가 없었으며, 1명을 제외하고 모두 동일한 환자였다. 각각의 옥수수에 대한 피부반응도에 따른 특이 IgE 항체치의 양성률은 자연산 옥수수가 2+일 때 66% (16/24명), 3+일 때 80% (17/21명), 4+일 때 75% (3/4명), 5+일 때 100% (2/2명)였고, 유전자 재조합 옥수수의 경우 2+일 때 69% (16/23명), 3+일 때 62% (15/24명), 4+일 때 75% (3/4명), 5+일 때 50% (1/2명)였다 (Table 1). 자연산과 유전자 재조합 옥수수간의 IgE 항체치의 상관관계를 보았을 때 서로 유의한 상관관계가 있었으며, 또한 콩과 옥수수 간에도 유의한 상관관계가 있음을 알 수 있었다 (Table 2). 각각의 특이 IgE 항체치의 평균값은 자연산 옥수수에서 2+인 경우 3.8 $\pm$ 4.7 A.U., 3+인 경우 12.7 $\pm$ 35.8 A.U., 4+인 경우 73.8 $\pm$ 138.7 A.U., 5+인 경우 6.4 $\pm$ 4.3 A.U.였고, 유전자 재조합 옥수수는 2+인 경우 4.4 $\pm$ 6.0 A.U., 3+인 경우 27.4 $\pm$ 63.3 A.U., 4+인 경우 81.2 $\pm$ 153.7 A.U., 5+인 경우 10.6 $\pm$ 5.9 A.U.로 자연산과 유전자 재조합 옥수수 간에 혈청 특이 IgE 항체치에는 유의한 차이가 없었다 (Fig. 1). 각 군별로 자연산 및 유전자 재조합 옥수수 모두에 피부단자시험상 양성인 환자는 2+에서 23명, 3+에서 18명, 4+에서 1명, 5+에서 1명이었다. 자연산 옥수수에 대

Table 1. Skin reactivity and specific IgE bindings to the wild and GM corn

Specific IgE (%)	Wild corn				GM corn			
	2+ (n=32, 50%)	3+ (n=26, 40.1%)	4+ (n=4, 6.3%)	5+ (n=2, 3.1%)	2+ (n=30, 46.2%)	3+ (n=30, 46.2%)	4+ (n=4, 6.2%)	5+ (n=1, 1.5%)
Wild corn	16/24 (66)	17/21 (80)	3/4 (75)	2/2 (100)	18/23 (78)	17/24 (70)	3/4 (75)	1/2 (50)
GM corn	14/24 (60)	3/21 (14)	3/4 (75)	2/2 (100)	16/23 (69)	15/24 (62)	3/4 (75)	1/2 (50)
Sera tested	24	21	4	2	23	24	4	2

Positive skin test response ($\geq$ 2+), 64/1,716 (3.7%) for wild-corn: 65/1,716 (3.8%) for GM-corn.

해 양성 반응을 보인 환자군의 혈청 특이 IgE 항체치(17.3 ± 50.6 A.U.)와 유전자 재조합 옥수수에 대해 양성 반응을 보인 환자군의 혈청 특이 IgE 항체치(19.8 ± 58.5 A.U.)는 정상 대조군의 자연산(0.8 ± 0.5 A.U.)과 유전자 재조합 옥수수(0.7 ± 1.2 A.U.)에 대한 특이 IgE 항체치에 비해 특이 IgE 항체치의 평균값이 통계적으로 유의하게 높았다($P < 0.05$).

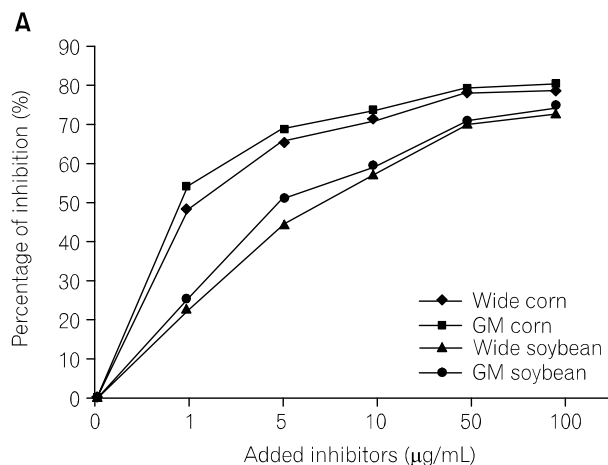
2. 자연산과 유전자 재조합 옥수수 항원에 대한 면역효소억제시험(Fig. 2)

본 저자들이 관찰한 혈청 특이 IgE 항체의 특이성을 확인하기 위하여 시행한 면역효소억제시험에서 각각의 옥수수 항원을 반응시켰을 때, 자연산 옥수수를 항원으로 한 경우(Fig. 2A), $1\mu\text{g/mL}$ 의 억제제를 반응시킨 경우 50% 이상의 억제를 보이고, $50\mu\text{g/mL}$ 의 억제제를 반응시킨 경우 80% 이상의 억제를 보이며 유의한 용량반응 곡선이 관찰되었고, 또한 유전자 재조합 옥수수를 항원으로 한 경우, $5\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 50% 이상의 억제를 보이고, $50\mu\text{g/mL}$ 의 억제제를 반응시킨 경우 80% 이상의 억제를 보이며 용량 반

Table 2. Correlation of specific IgE level between the wild and GM soybean and corn

	Soybean		Corn	
	Wild	GM	Wild	GM
Wild soybean	1.0	0.94*	0.73*	0.68*
GM soybean	0.94*	1.0	0.61*	0.56*
Wild corn	0.73*	0.61*	1.0	0.99*
GM corn	0.68*	0.56*	0.99*	1.0

* $P < 0.05$, statistical significances were noted.



응 곡선의 양상을 보였으며, 자연산과 유전자 재조합 옥수수 간에 유사한 억제정도를 보였다(Fig. 2B).

3. 자연산과 유전자 재조합 옥수수 항원에 대한 SDS-PAGE 및 IgE-immunoblot

각각의 옥수수 항원에 대해 SDS-PAGE를 이용한 IgE-immunoblot을 하였을 때, 자연산 옥수수의 경우 21개(21, 25, 27, 28, 30, 32, 33, 40, 42, 47, 49, 58, 61, 67, 73, 78, 83, 97, 104, 115, 128 kDa)의 단백질대, 유전자 재조합 옥수수의 경우 20개(21, 25, 27, 28, 30, 33, 40, 42, 47, 49, 58, 61, 67, 73, 78, 83, 97, 104, 115, 128 kDa)의 특이 IgE 항체와 반응하는 단백질대 관찰되었다(Fig. 3). 이 단백질대들 중에서 자연산 옥수수에서 33, 58, 67, 97, 104 kDa의 총 5개의 단백질대와 유전자 재조합 옥수수에서 33, 58, 83, 97, 104 kDa의 총 5개의

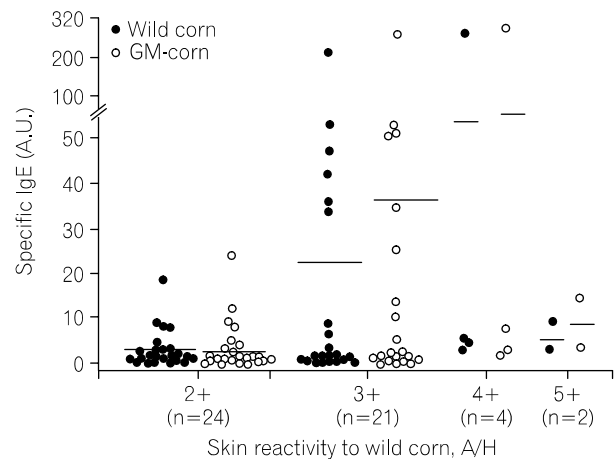


Fig. 1. Serum specific IgE to both wild (●) and GM (○) corn by ELISA according to skin reactivity.

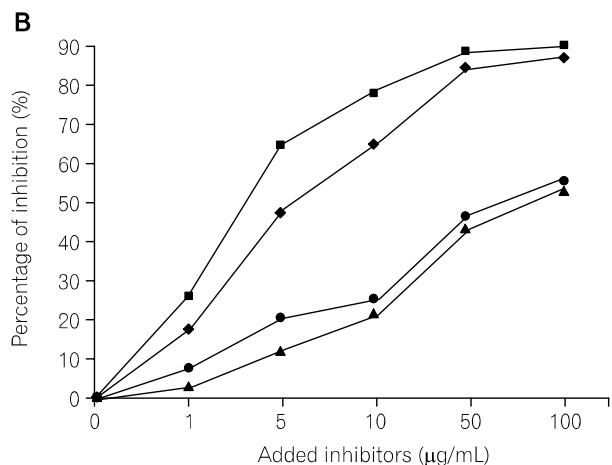


Fig. 2. IgE-ELISA inhibition results of wild (A) and GM corn (B) coated wells with serial additions of corn and soybean extracts.

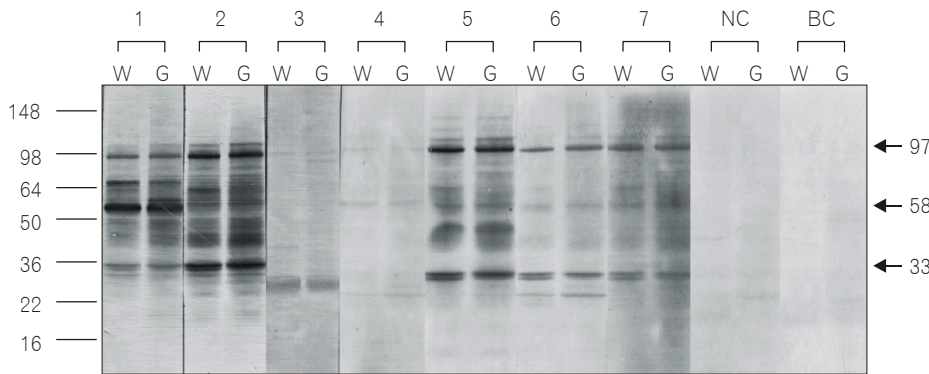


Fig. 3. IgE-immunoblot analysis of the wild (W) and GM corn (G) extracts using sera from the sensitized patients (1~7), non-atopic (NC) and buffer control (BC). Wild corn = Suwon 19, GM corn = YieldGard[®] (Mon810, Bt11), NatureGard[®] (Event 176), Roundup Ready[®] (GA21).

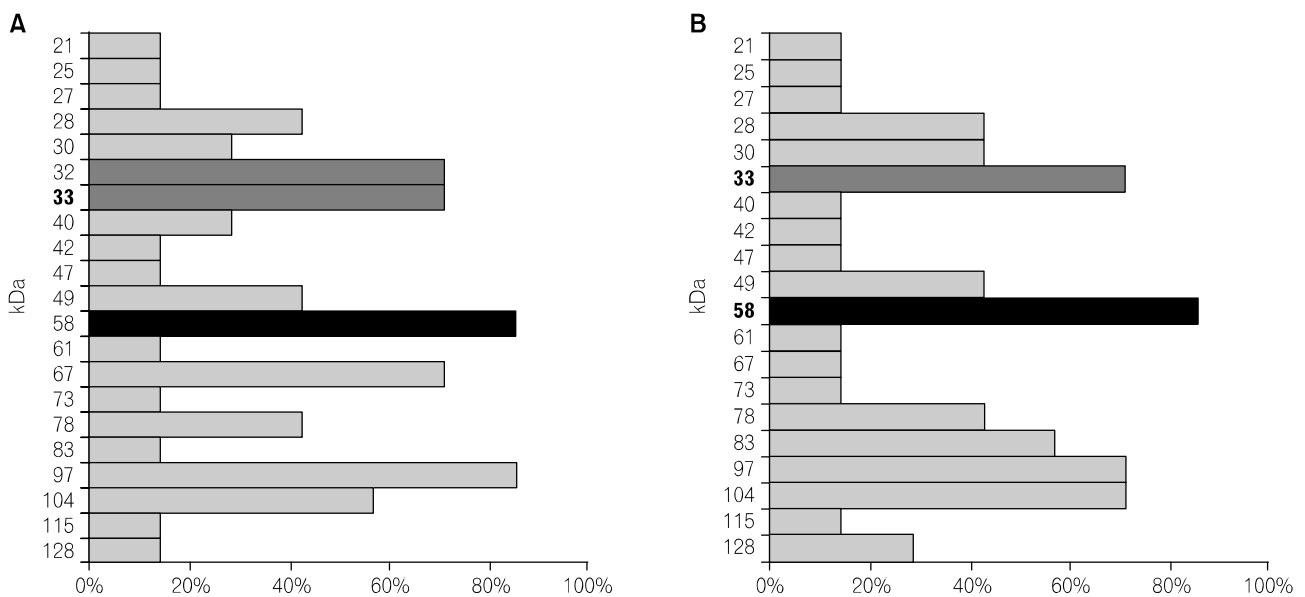


Fig. 4. Result of IgE-immunoblot analysis of the wild (A) and GM corn (B) extracts using the sensitized sera.

단백대가 50% 이상에서 관찰되었으며, 그 중 33, 58, 97 kDa의 총 3개의 단백질이 자연산과 유전자 재조합 옥수수 모두에서 대상 환자의 70% 이상에서 관찰되었다(Fig. 4).

4. 콩과 옥수수의 면역억제시험과 관련성

자연산과 유전자 재조합 옥수수를 항원으로 하여 자연산 및 유전자 재조합 콩을 억제제로 사용하였을 때, 자연산 옥수수 항원에서 자연산과 유전자 재조합 콩을 5 μ g/mL의 농도에서 억제제로 반응시킬 경우 50% 이상의 억제를 보였고, 50 μ g/mL의 농도에서 70% 이상의 억제를 보였다. 유전자 재조합 옥수수 항원에서 각각의 콩을 100 μ g/mL의 농도로 반응시켰을 때 50% 이상의 억제 양상을 보였으며(Fig. 2), 자연산과 유전자 재조합 옥수수와 콩 사이에 유의한 억제양상을 보여 옥수수와의 교차반응, 특히 자연산 옥수수와 더 교차반응이 있음을 시사하였다(Table 2).

고 찰

본 연구에서는 국내에서 소비가 많은 농산물 중 유전자 재조합 품종이 많이 생산되는 옥수수를 택하여 자연산과 비교하여 알레르기 성상과 그 위해성을 평가하고자 하였다. 옥수수는 실제로 한국 사람의 식생활에서 소비가 많은 농산물 중의 하나로, 음식을 알레르기의 원인이 되는 식품 중의 하나이다. 음식물 알레르기는 비교적 흔히 나타나는 질환으로, 미국의 경우 땅콩과 같은 견과류나 우유, 달걀, 갑각류 등이 주요 음식물 알레르기 원인 물질로 알려져 있으며,⁹⁾ 국내에서도 땅콩이나 새우, 게 등의 갑각류가 흔한 원인으로 알려져 있다.¹⁰⁾ 음식물 알레르겐 성분은 대부분 단백질로 알려져 있으며, 열이나 효소, 가공방식에 의해 알레르기의 원인이 될 수도 있다. Helbling 등¹¹⁾은 소화 효소에

내성을 지닌 알레르겐이 음식물 알레르기와 연관이 있을 것이라고 보고하였고, Takeshi 등¹²⁾은 식물에서 여러 야채들과 교차반응을 보이는 rubber latex 알레르겐이 소화 효소에 대한 저항성이 있다고 보고하였으며, Fernandez 등¹³⁾은 과일과 야채에서 교차반응을 일으키는 알레르겐 중 하나인 lipid transfer protein이 열과 효소에 내성이 있음을 보고하였다. 음식물 알레르기의 빈도는 성인에서 1.5%, 3세 미만에서는 5~6%로 알려져 있으나 아토피 질환이 있는 소아의 경우 질환에 따라서 10~30%의 높은 빈도를 보일 수 있다.¹⁴⁾ 또한 서로 다른 나라와 종족 간에도 다양한 빈도를 보여 성인의 경우, 스페인 4.6%, 오스트레일리아 19.1%의 빈도를 보였다.¹⁵⁾ 국내에서는 6~15세의 어린이를 대상으로 하여 ISAAC (International Study of Asthma and Allergies in Childhood)에서 제안한 설문지조사로 38,955명을 분석한 결과 음식물 알레르기의 유병률은 6.5%로 관찰되었지만,¹⁶⁾ 옥수수 알레르기의 유병률에 대한 연구 보고는 없었다. 본 연구에서는 성인 알레르기 환자에서 자연산 옥수수에 대한 피부단자시험을 통해 감작률을 조사하였을 때 대상환자의 3.7%가 감작된 것으로 나타났다. 국외 연구로는 1978년 Bock 등¹⁷⁾이 영아와 어린이들에게서 음식물 과민 반응에 대한 보고에서, 옥수수에 반응을 보인 병력이 있는 영아에 대하여 보고하였으며, Pastorello 등¹⁸⁾은 옥수수 내 알레르겐 성분으로 9 kDa와 16 kDa의 lipid transfer protein이 환자들 중 각각 86%와 36%의 비율로 특이 IgE 항체와 결합한 것을 관찰하여, 이 단백질들이 옥수수 알레르겐이라고 보고하였고, Pasini 등¹⁹⁾은 옥수수 내 50 kDa의 단백질이 주 알레르겐이라고 보고하였다. 본 연구에서 자연산 옥수수의 주 알레르겐이 33, 58, 67, 97, 104 kDa 등 5개로 관찰되어 향후 비교 연구가 필요하다.

최근에는 유전자 조작 기술의 발달로 소출량의 증가와 병충해에 대한 저항성을 높인 유전자 재조합 식품의 소비가 증가하고 있다. 옥수수는 주로 phosphinothricin acetyltransferase, *Bacillus thuringiensis* delta endotoxin 등의 유전자가 삽입된 재조합 식품이 생산된다.²⁰⁾ 본 연자들이 재료로 사용한 유전자 재조합 옥수수는 YieldGard® <Mon810>, <Bt11>, Nature Gard® <Event176>, Roundup ready® <GA21>를 사용하였다. Sutton 등²¹⁾이 double-blind, placebo-controlled food challenge (DBPCFC) 진단 방법으로, 병충해에 저항성이 있는 Starlink의 Cry9C 유전자 재조합 옥수수를 섭취하고 3명의 환자가 알레르기 반응을 보였다는 보고를 하였지만, 이에 대하여 Siruguri 등²²⁾은 DBPCFC 방법이 환자의 혈청의 특이 IgE 항체를 이용한 면역효소법을 시행하였을 때와 다른 결과를 보여, 유전자 재조합 식품의 알레르기 위해성을 측정하는데 무리가 있다고 보고, Cry9C 유전자가 증상 유발에

관여할 가능성에 대한 부정적 결과를 보고하였다. 본 연구에서는 피부단자시험상 감작률이 거의 동일하며, 동일한 혈청에서 시행한 특이 IgE 항체치가 자연산과 유전자 재조합 옥수수 간에 밀접한 상관관계를 보여 음식물 알레르기로 관여할 수 있으나 자연산과 유전자 재조합 옥수수 간에 알레르기 위해성은 동일할 것으로 생각한다.

또한 자연산과 유전자 재조합 옥수수 항원을 억제제로 사용하여 각 항원에 대한 면역효소억제시험을 시행하였을 때 용량반응곡선의 양상을 보이면서 높은 억제 양상이 관찰되어, 각각의 옥수수 항원에 대한 IgE 항체의 반응이 특이적인 결합에 의한 것임을 확인할 수 있었고, 유전자 재조합 옥수수라도 자연산 옥수수와 알레르기 성상이 거의 동일할 것이라고 예측할 수 있었다. 또한 면역효소억제시험에서 콩을 억제제로 사용하였을 때, 비슷한 억제양상을 보여 콩과도 교차 반응이 있음을 예측할 수 있었다. 또한 Kim 등⁶⁾은 콩의 주 알레르겐이 33 kDa의 단백질이 주 알레르겐이라고 보고하였는데, 본 실험에서 같은 종류의 콩으로 피부단자시험을 한 결과 콩에 양성반응을 나타낸 환자의 대부분이 옥수수에서도 반응을 나타내었으며, 면역효소억제시험 결과에서도 유의한 억제 양상을 보였고, IgE-immunoblot에서 33 kDa에서 높은 결합을 보여, 옥수수의 주 알레르겐으로 나타난 33 kDa의 단백질이 콩과 동일한 알레르겐일 가능성이 있다고 판단된다. 따라서 자연산과 유전자 재조합 옥수수에서 33 kDa의 단백질이 주요 알레르겐으로 작용할 수 있으며, 콩 알레르겐과도 발현 양상이 동일한 물질일 가능성이 높다.

음식물 알레르기 반응 중 상당 부분이 특이 IgE 항체 매개 반응으로 알려져 있으며, 본 연구에서도 자연산과 유전자 재조합 옥수수에서 피부 반응도에 따른 혈청 특이 IgE 항체 측정과 면역효소억제시험, IgE-immunoblot의 실험의 결과에서 서로 유의한 차이가 없는 것으로 보아 유전자 재조합 옥수수의 특이 IgE 항체 매개로 인한 알레르기 위해성은 더 높지 않을 것이라는 점을 예측할 수 있었다. 본 실험에서 IgE-immunoblot의 결과 두 종류의 옥수수에서 공통으로 3개의 주요 알레르겐(33, 58, 97 kDa)이 관찰되었다. 하지만 67, 104 kDa의 단백질대가 자연산과 유전자 재조합 옥수수간에 다른 차이를 보여(Fig. 4), 지속적인 연구가 필요할 것으로 본다. 추후 연구는 더 많은 환자군을 모집하여 증상에 따른 차이를 관찰하기 위한 연구가 필요하다.

결론

본 연구에서 국내 성인에서 관찰되는 자연산과 유전자 재조합 옥수수에 대한 감작률은 각각 3.7%와 3.8%였으며,

특이 IgE 항체를 효소면역측정법으로 측정하였고 이것은 면역효소억제시험에서 강한 억제 양상을 보여 특이 IgE매개 반응에 의한 것임을 확인하였다. 각각의 옥수수에서 3개의 공통적인 주요 알레르겐(33, 58, 97 kDa) 성분을 규명하였으며, 추후 성분 규명과 타 농산물과의 교차 항원성에 대한 연구가 필요할 것으로 생각한다. 또한 본 연구결과로 옥수수의 경우 유전자 재조합 공정에 의한 알레르기 위해성의 증가는 없을 것으로 생각한다.

참 고 문 헌

- 1) Sampson HA. Food allergy. Part 1: immunopathogenesis and clinical disorders. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103:717-28
- 2) Food and Agriculture Organization of the United Nations. Report of the FAO technical consultation on food allergies. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1995
- 3) Yoon SH, Choi JH, Suh YJ, Suh CH, Nahm DH, Kim YK, et al. Specific IgE determination to shrimp (*Metapenaeus joyneri*) and identification of its allergen. *Korean J Asthma Allergy Clin Immunol* 2003;65:231-8
- 4) Choi JH, Yoon SH, Suh YJ, Suh CH, Nahm DH, Kim YK, et al. Measurement of specific IgE to abalone (*Haliotis discus hannai*) and identification of IgE binding components. *Korean J Asthma Allergy Clin Immunol* 2003;23:349-57
- 5) Lee JY, Yoon SH, Suh YJ, Choi JH, Suh CH, Nahm DH, et al. Common whelk (*Buccinum undatum*) allergy: Sensitization rate and its relationship with other food allergens. *Korean J Asthma Allergy Clin Immunol* 2004;24:77-84
- 6) Kim SH, Kim HM, Nahm DH, Suh CH, Park HS. IgE sensitization and identification of IgE binding components of soybean allergen in adult allergy patients. *Korean J Asthma Allergy Clin Immunol* 2004;24:331-6
- 7) Suh YJ, Yoon SH, Sin YS, Choi JH, Suh CH, Nahm DH, et al. Buckwheat allergy in adults: comparison of specific IgE between homemade ELISA and CAP system and identification of IgE-binding components. *Korean J Asthma Allergy Clin Immunol* 2003;23:474-82
- 8) Lehrer SB, Reese G. Recombinant proteins in newly developed foods: identification of allergenic activity. *Int Arch Allergy Immunol* 1997;113:122-4
- 9) Burks W, Helm R, Stanley S, Bannon GA. Food allergens. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2001;1:243-8
- 10) Kim SH, Kang HR, Kim KM, Kim TB, Kim SS, Jang 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
- 11) Helbling A, Bonadies N, Brander KA, Pichler WJ. *Boletus edulis*: a digestion-resistant allergen may be relevant for food allergy. *Clin Exp Allergy* 2002;32:771-5
- 12) Yagami T, Haishima Y, Nakamura A, Osuna H, Ikezawa Z. Digestibility of allergens extracted from natural rubber latex and vegetable foods. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106:752-62
- 13) Fernandez RM. Cross-reactivity between fruit and vegetables. *Allergol Immunopathol* 2003;31:141-6
- 14) Sampson HA. Food allergy. *JAMA* 1997;278:1888-94
- 15) Crespo JF, Rodriguez J. Food allergy in adulthood. *Allergy* 2003;58:98-113
- 16) Lee SI, Shin MH, Lee HB, Lee JS, Son BK, Koh YY, et al. Prevalences of symptoms of asthma and other allergic diseases in Korean children: a nationwide questionnaire survey. *J Korean Med Sci* 2001;16:155-64
- 17) Bock SA, Lee WY, Remigio LK, May CD. Studies of hypersensitivity reactions to foods in infants and children. *J Allergy Clin Immunol* 1978;62:327-34
- 18) Pastorello EA, Farioli L, Pravettoni V, Ispano M, Scibola E, Trambaioli C, et al. The maize major allergen, which is responsible for food-induced allergic reactions, is a lipid transfer protein. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106:744-51
- 19) Pasini G, Simonato B, Curioni A, Vincenzi S, Cristaudo A, Santucci B, et al. IgE-mediated allergy to corn: a 50 kDa protein, belonging to the Reduced Soluble Proteins, is a major allergen. *Allergy* 2002;57:98-106
- 20) Kessler DA, Taylor MR, Maryanski JH, Flamm EL, Kahl LS. The safety of foods developed by biotechnology. *Science* 1992;256:1747-9
- 21) Sutton SA, Assa'ad AH, Steinmetz C, Rothenberg ME. A negative, double-blind, placebo-controlled challenge to genetically modified corn. *J Allergy Clin Immunol* 2003;112:1011-2
- 22) Siruguri V, Sesikeran B, Bhat RV. Starlink genetically modified corn and allergenicity in an individual. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:1003-4