

메밀의 알레르기 항원성에 관한 면역학적 연구

연세대학교 의과대학 소아과학 교실

이수영 · 정병주 · 김규언 · 김동수 · 이기영

서 론

식품에 의한 알레르기 질환은 전체 인구의 0.1% 내지 7%로 비교적 흔하다. 알레르기를 일으킬 수 있는 식품에는 많은 종류가 있는데 이중 메밀에 의한 알레르기는 1909년 Smith¹⁾에 의해 처음 보고된 이래 여러 연구자들이 유사한 임상 보고를 하였다^{2~6)}. 우리나라에서도 강동⁷⁾은 3례의 임상 보고를 하였고 권동⁸⁾은 경구 유발시험으로 확진된 소아 메밀 알레르기 2례를 보고 한 바있다.

메밀 알레르기는 소량을 먹거나 혹은 흡입한 경우에도 나타날 수 있는데, 임상 증상은 기관지 천식, 비염, 두드러기, 결막염 및 위장증상이 단독 혹은 복합적으로 나타나며 심한 전신반응으로 아나필락시 속을 일으킬 수 있다^{1~8)}. 메밀 알레르기의 발생기전은 과거에는 메밀에 다량 포함된 콜린 성분에 의한 것으로 알고 있었으나 현재는 전형적인 제1형 알레르기 반응으로 알려져 있다^{9~10)}.

또한 최근의 한 보고에서는 1명의 메밀 알레르기 환자를 대상으로 연구한 결과 분자량 9,000-40,000daltons의 저분자량을 가진 Periodate-sensitive한 단백질이 원인항원이 될 수 있다고 하여 메밀항원의 분리 및 특성 규명을 위한 노력이 시도 되었다¹²⁾.

메밀을 식품으로 하는 우리나라에서는 외국에 비하여 메밀 알레르기의 발생율이 높아 이등¹³⁾의 보고에 의하면 502명의 소아 알레르기 환자를 대상으로 피부 시험을 시행한 결과 5%에서 강양성 반응을 보여 전체 60여 항원중에 13위, 식품항원중에 5위를 차지하여 중요한 식품항원임을 시사하였다. 이처럼 메밀이 중요한 식품항원임에도 불구하고 메밀항원의 면역학적 특성에 관한 연구는 우리나라 뿐 아니라 외국에서도 아직 활발하게 진행되고 있지 않으므로 저자들은 우리나라의 메밀가루를 이용하여 메밀의 알레르기 항원성을 알아보고 우리나라 환자에서 중요하게 작용하는 항원이 어떤 단백질인지를 알아보기 위하여 본 연구를 실시 하였다.

대상 및 방법

1. 대상환자 및 임상검사

1990년 12월부터 1991년 7월까지 연세대학교 의과대학 소아 알레르기 클리닉에 내원하여 알레르기 피부 시험을 시행한 결과 메밀항원에 양성반응을 보였던 24명의 환자중 메밀로 RAST를 시행하였던 13명의 아토피성 천식 환자를 대상으로 하였다. 대상 환자의 연령분포는 4세부터 13세였고 남아가 11명, 여아가 2명이었다. 13명 모두 기관지 천식이 있었으며 그외에도 비염, 습진, 두드러기, 결막염 등의 알레르기 질환이 동반되어 있었다. 이들 환아들에게 Torii사의

※ 본 연구는 연세대학교 의과대학 연구장사 연구비의 보조로 이루어진 것임.

알레르겐 63종으로 소피법에 의한 피부시험을 시행하였고, 혈중 총호산구치, 총IgE(PRIST) 및 메밀항원에 대한 RAST(Phadebas RAST disc, Pharmacia diagnostics)를 시행하였다. 13명중 10명에서 경구유발시험을 실시하였는데 순수메밀가루로 떡을 만들어 소량씩 섭취해본 후 20gm씩 증량하여 총 100gm까지 섭취하게 하였다(Table 1, 2).

2. 항원제조(Antigen preparation)

우리나라에서 시판되고 있는 순수 메밀가루 100gm을 Bernton과 Brown¹⁴⁾의 방법에 따라 Coca용액으로 조항원(Crude extract)을 만들었다. 방법을 간단히 요약하면 다음과 같다. 먼저 메밀가루를 Ether로 탈지방화시킨 후 Coca solution(NaCl 5gm, NaHCO₃ 2.75gm, Phenol 5gm per H₂O 1L)에 담구어 4℃의 냉장실에 7일간 보관한 후 원심분리(18,000g로 30분)하였다.

Table 1. Clinical profiles of patients

Case No.	Age	Sex	Associated * allergic diseases	Allergens detected ** by allergic skin test
1	13	M	A	BWF HD DF DP GR Sp Pe
2	6 3/12	M	A R D U C	BWF HD DF DP Ch Sp
3	4 7/12	M	A R U C	BWF HD DF DP
4	5 8/12	F	A R D C	BWF HD DF DP RT Mu
5	4 8/12	M	A R C	BWF DF DP
6	4	M	A R	BWF DF DP
7	9 5/12	M	A R D U	BWF HD DF DP GR OG
8	5	F	A R	BWF HD DF DP Ye Rh Al
9	5 7/12	M	A	BWF HD DF DP Ch GR Ri
10	9 1/12	M	A D	BWF DF DP CR Al RT To
11	4 3/12	M	A R	BWF HD DF DP CR
12	5 6/12	M	A R D C	BWF HD DF DP
13	5	M	A	BWF DF DP Bi Rw

* A: Bronchial asthma, R: Allergic rhinitis, D: Atopic dermatitis, U: Urticaria, C: Allergic conjunctivitis

** BWF: Buckwheat flour, HD: House dust, DF: D. farinae, DP: D. pteronissynus, GR: Golden red, Sp: Spinach, Pe: Peach, Ch: Chrysanthemum, RT: Red top, Mu: Mucor, OG: Orchard grass, Ye: Yeast, Rh: Rhizopus, Al: Alternaria, Ri: Rice, CR: Cockroach, To: Tomato, Sh: Shrimp, Cb: Crab, Rw: Ragweed

Table 2. Laboratory characteristics and oral provocation test in patients

Case	TEC* (/ml)	T.IgE** (/ml)	Skin reaction for BWF	RAST class for BWF	Oral provocation test with BWF
1	490	363	3+	1+	Positive***
2	600	1816	4+	2+	Positive
3	1670	224	4+	3+	ND
4	620	1000	4+	1+	Negative
5	1020	729	4+	0	Negative
6	1010	1575	4+	3+	Positive
7	1020	648	4+	3+	Positive
8	230	189	4+	4+	ND
9	1180	2326	3+	0	Negative
10	240	2000	3+	2+	Positive
11	340	788	3+	4+	Positive
12	800	873	3+	3+	ND
13	60	233	3+	0	Negative

* Total eosinophil count

** Serum total IgE count by PRIST Method

*** More than one of these symptoms: Urticaria, Cough, Wheezing, dyspnea, eczema

이의 상층액을 얻어 증류수에 3일간 투석한 후 -70℃로 냉동건조하여 메밀가루의 조항원(Crude extract, BWF-Cr)을 얻었다. 이렇게 제조된 조항원의 단백질 농도를 알아보기 위하여 Lowry¹⁵⁾의 방법을 이용하였는데 건조 조항원 1mg당 405 μ g의 단백질이 포함되어 있었다.

3. Column chromatography 및 생물학적 활성도 측정

조항원 10mg(405 μ g protein/1 mg dry weight)을 0.01 M/L PBS, pH7.4에 녹여 4℃에서 12ml/hour의 속도로 column chromatography를 시행하여 2ml씩 분획을 수집하였다. 여기서 겔투과법은 Sephacryl S-200(Pharmacia, Piscataway, NJ)을 사용하였고, column의 크기는 2.5×50cm를 사용하였다. 조항원 및 얻어진 각 분획을 이용하여 대상환아들에게 피부시험을 시행하였고 양성 대조시약으로는 0.1%의 Histamine-glycerol 용액을, 음성 대조시약으로 PBS-glycerol 용액을 이용하였다. 양성판독은 팽진의 크기가 음성 대조시약보다 3mm이상 더 큰 경우로 하

였고, 히스타민의 1/2-1배인 경우를 2+, 히스타민과 같은 경우를 3+, 두배 이상인 경우를 4+로 하였다.

4. SDS-PAGE(Sodium-dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis)

Laemmli¹⁶⁾의 방법을 변형한 SDS-PAGE를 시행하였다. Stacking겔의 농도는 4%, separating겔의 농도는 12%를 사용하였고, 추출한 항원을 2% SDS, 5% 2-mercaptoethanol, 0.02% bromophenol blue가 함유된 0.06 M/L Tris HCl, pH 6.8에 녹여 100℃에서 4분간 처리한 후 24mA로 전기영동을 시행하였고 항원이 separating 겔에 도달하였을 때 34mA로 올려 4시간 동안 전기영동 하였다. 전기영동을 끝낸 gel은 Silver nitrate로 염색하여 항원을 분석하였는데 이때 분자량은 저분자량의 표준단백(Bio Rad. Lab. Richmond, CA)에 의거하여 계산하였다.

5. Autoradiography

Towbin¹⁷⁾등의 방법에 의하여 전기영동이 끝난 항원을 0.45 μ m의 Nitrocellulose membrane에 70V로 3시간 동안 이행시켰다. 이 막을 10% methanol, PBS, 3% Bovine serum albumin(Sigma, St. Louis, Mo)이 함유된 10mM Tris buffer, 0.9% NaCl에 4시간 담구었다. 이를 다시 0.9% NaCl로 세척후, 환자의 혈청을 RAST class별로 모아서(RAST 4+ 환자는 각각 실시) 0.1% Tween 20 이 함유된 PBS에 1:5로 희석한 용액에 16시간 담근 후 이를 다시 0.1% PBS, Tween 20으로 세척하였다. 여기에 ¹²⁵I-labelled antihuman IgE(64,000 cpm/strip, Pharmacia)에 16시간 담근후에 세척하여 건조시켰다. 이를 X-OMAT X-선 필름(Eastman Kodak, Rochester, N.Y.)에 놓고 빛이 차단된 카세트에 넣어 -70℃에 6일간 보관한 후 현상하여 그 영상을 얻었다.

결 과

1. 임상검사 소견

혈중 총호산구치와 총IgE치는 임상증상, 피부반응 정도, RAST class 및 경구유발검사와 상관관계가 없

었다. 메밀항원으로 경구유발시험을 시행하였던 10명의 환자중 6명에서 양성반응을 보였는데 두드러기가 6례로 가장 흔했고 복통 등의 위장증상(3례), 호흡곤란(2례), 기침과 천명(2례) 및 아토피성 피부염(1례)등이 유발되었다. 경구유발시험에서 음성반응을 보였던 4명의 환자들의 RAST class는 3명은 0, 1명은 1+였고 RAST class가 2+ 이상인 경우는 모두 경구유발시험에 양성반응을 나타내었다(Table 2).

2. 항원의 정제 및 생물학적 활성도 검사

Coca 용액으로 1차 분리해낸 조항원을 Sephacryl S-200으로 분리한 결과 3개의 분획으로 나눌 수 있었는데 이들을 각각 BWF-I, BWF-II, BWF-III로 명명하였다(Fig 1). 제조한 조항원으로 피부시험을 시행한 결과 100%에서 3+ - 4+의 반응을 보였고 각 분획의 경우도 1명을 제외하고는 모두에서 2+ - 4+의 반응을 보였다. Case 13의 경우는 BWF-I에는 2+, BWF-II와 BWF-III에는 음성 반응을 보였다(Table 3).

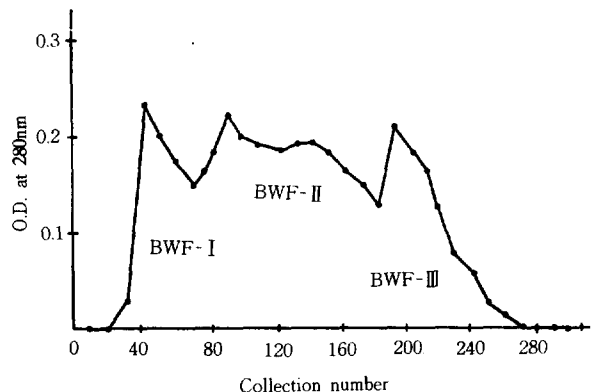


Fig 1. Sephacryl S-200 elution profile of 40mg of crude buckwheat flour extract. BWF-I; buckwheat flour antigen fraction I, BWF-II; buckwheat flour antigen fraction II, BWF-III; buckwheat flour antigen fraction III.

3. SDS-PAGE

Coca 용액으로 1차 분리해낸 항원으로 SDS-PAGE를 시행하여 분자량을 측정 한 결과 메밀항원은 적어도 33개 이상의 항원 띠를 관찰할 수 있었고 각 분획의 경우도 유사하였다. 이들 항원중 분자량

Table 3. Skin test with own made buckwheat flour extracts

Case	Extracts			
	BWF-Cr	BWF-I	BWF-II	BWF-III
1	3+*	3+	3+	3+
2	3+	3+	3+	3+
3	4+	3+	3+	3+
4	3+	3+	3+	3+
5	3+	3+	3+	3+
6	4+	4+	4+	4+
7	4+	3+	3+	3+
8	4+	4+	4+	3+
9	3+	2+	2+	2+
10	4+	3+	3+	2+
11	4+	3+	3+	3+
12	3+	3+	3+	4+
13	3+	2+	negative	negative

* Skin test responses : 2+ ; wheal size between half and same size of the histamine control, 3+ ; same size of the histamine control, 4+ ; more than double size of the histamine control and negative ; wheal size not more than 3mm of the negative control

66.2kd, 36kd, 25kd, 16.5kd의 단백질이 강하게 관찰되었다(Fig 2).

4. Autoradiography

대상환자 13명의 혈청을 이용하여 항원 결합 특이 IgE 면역검출을 시행하였다(Fig 3). Lane A는 정상 소아 2명의 혈청을 동량 섞어 음성 대조군으로 사용한 것이고, Lane B는 RAST class 0인 3명의 혈청을 섞은 것이며 Lane C는 RAST class 1⁺인 2명의 혈청을 섞은 것인데 이들의 경우에는 IgE와 결합하는 항원의 띠를 관찰할 수 없었다. Lane D는 RAST class 2⁺인 2명의 혈청을 사용한 것으로 21개의 띠(65, 63, 60, 53, 47, 45, 43, 41.5, 39, 37.5, 36, 34.5, 32, 30, 29.5, 26.5, 23.5, 22, 20.5, 18, 12.5kd)를 관찰할 수 있었는데 이중 63kd, 29.5kd, 22kd, 20.5kd, 18kd의 항원이 강하게 결합하였다. Lane E는 RAST class 3⁺인 4명의 혈청을 사용한 것으로 17개의 띠(50, 41, 38.5, 37, 34.5, 32.5, 31.5, 30, 28.5, 27, 26.5, 22, 19, 16.5, 15.5, 13.5, 12.5kd)를 관찰할 수 있었는데 32.5kd의 항원이 강하게 결합하

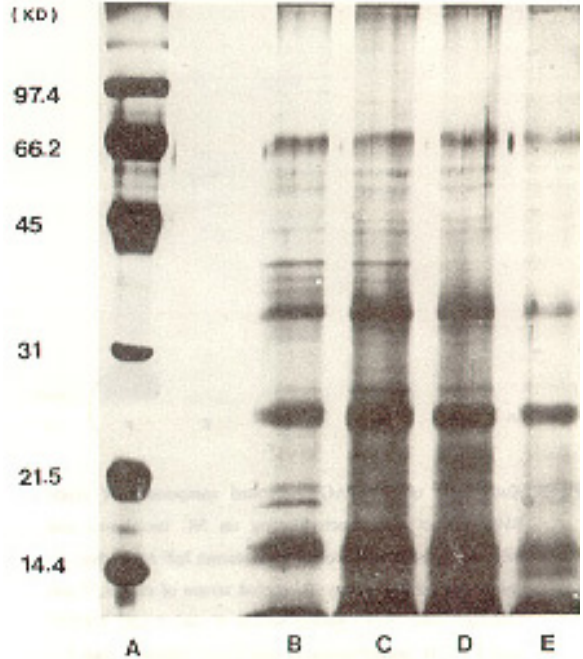


Fig 2. SDS-PAGE analysis of crude BWF extract and pooled extraction. MWs were determined from a standard mixture of proteins of known MW ; A, low Mw markers : phosphorylase-b(97.4kD), bovine serum albumin(66.2kD), ovalbumin(45kD), carbonic anhydrase(31kD), soybean trypsin inhibitor(21.5kD) and lysozyme(14.4kD) ; B, crude BWF extract ; C, BWF-I ; D, BWF-II ; E, BWF-III

였다. Lane F와 G는 RAST class 4⁺인 2명의 혈청을 각각 시행한 결과로 F(Case 8)의 경우 19개의 항원 띠를 관찰할 수 있었는데 130kd, 32.5kd, 12.5kd의 항원이 강하게 결합하였고 G(Case 11)의 경우는 7개의 띠를 관찰할 수 있었는데 이들은 모두 매우 약하게 결합하였다. 강약의 차이는 있으나 상기의 결과를 종합해 보면 분자량 43kd, 41kd, 37kd, 34.5kd, 32.5kd, 30kd, 22kd, 12.5kd의 항원이 공통 항원으로 관찰되었다.

고 안

메밀은 Polygonaceae과에 속하는 식물로 학명은 Fagopyrum esculentum이다. 동일과에 속하는 식물로는 Dock, Rhubarb, Sea grape등이 있고, 밀, 쌀,

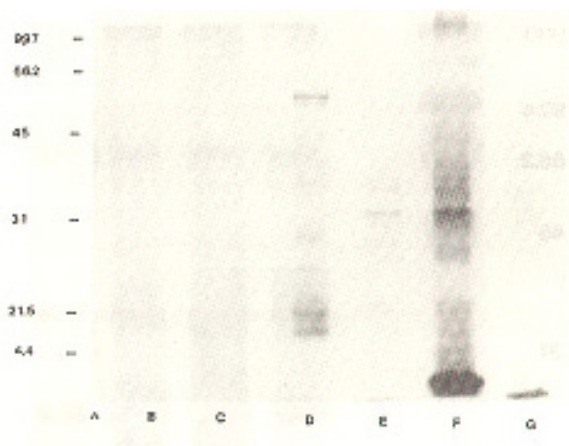


Fig 3. Autographs of SDS-PAGE-separated components of crude BWF extract after electroblotting on NC membrane and followed by immunodetection with human IgE antibodies; A, non-atopic control serum; B, pooled serum of case 5, 9 and 13(RAST class 0); C, pooled serum of case 1 and 4(RAST class 1+); D, pooled serum of case 2 and 10(RAST class 2+); E, pooled serum of case 3, 6, 7 and 12(RAST class 3+); F and G, serum of case 8 and 11(RAST class 4+)

보리, 귀리 등과 는 전혀 다른과로 분류된다¹⁸⁾. 그러나 메밀은 이들 곡류들과 함께 섭취할 기회가 많을 뿐 아니라 메밀에 의한 알레르기 증상은 기타 곡물에 비하여 매우 흔하고 심하게 나타난다^{1~6)}. 메밀에 의한 알레르기는 1909년 Smith(1)가 처음으로 보고한 이래 여러 학자들에 의하여 유사한 증례들이 보고되었는데 메밀항원의 감작은 가루를 흡입하거나 직접 섭취함으로써 이루어지며 보고자에 따라 차이는 있으나 피부시험상 1~7%의 양성율을 나타내었다^{2~6)}. 메밀 알레르기의 임상 증상중 가장 흔한것은 기관지 천식과 알레르기성 비염이며 그외에도 두드러기, 위장증세, 심하게는 전신적 속을 일으킬 수도 있는데^{1~8)}, 본 연구의 대상환아들도 13명 모두가 기관지 천식 환아였고 9명(69.2%)이 알레르기성 비염을 동반하였으며 그외에 아토피성 피부염(38.5%), 알레르기성 결막염(38.5%), 두드러기(23.1%)를 동반하였다.

이와 같은 메밀 알레르기의 발생기전은 확실하게 밝혀져 있지는 않지만 현재까지는 식품에 다량 함유되어 있는 choline에 의한것이 아니고 레아진 항체가

관여하는 전형적인 제1형 알레르기 반응에 의한 것으로 알려져 있다^{19,20)}. 따라서 진단적 검사로는 항원에 의한 알레르기 피부시험을 기본으로하며, 혈청 특이 IgE항체를 검출하는 RAST, 자세한 병력의 청취, 식품제거 및 식품유발시험이 이용되는데^{19~21)} 본 연구의 대상환아들에서도 이들 방법을 이용하여 메밀알레르기가 있음을 진단하였다. 상기의 문헌들에서와 같이 메밀항원에 대한 알레르기 피부시험은 100%의 환아에서 양성을 나타내었으나 RAST class는 61.5%의 환아에서만 2⁺ 이상의 의미있는 수치를 보여 피부시험보다는 예민도가 떨어지는 방법으로 생각되었다. 그러나 RAST class score는 경구유발시험의 결과와는 밀접한 상관관계를 보여 실제적인 임상증상을 나타내는 알레르기 항원성에 관한 지표로는 신뢰도가 높다고 여겨진다.

1979년 Yanagihara와 Koda^{11~23)}는 메밀항원 추출액을 투석하여 BWD(buckwheat dialysate)와 BWND(buckwheat non-dialysate)로 나누어 면역화학적 연구를 시행하였다. Rat model에서 BWD는 메밀항원 특이 IgE항체를 중화시키는 hapten으로 작용하여 BWND에 의하여 유발되는 비반세포로부터의 히스타민 유리를 억제함을 밝혔다. 이러한 결과는 BWD가 메밀 알레르기 환자에서 감작약효법에 이용될 수 있음을 시사해 주었으나 실제적인 임상시험은 아직 이루어지지 않는 상태이다. 이러한 연구 외에도 꽃가루 또는 곤충 등의 대기중 항원 외에 식품 알레르기 영역에서도 다양한 면역학적 방법을 이용하여 항원을 정제하여 그의 생화학적 및 면역학적 특성을 규명하는 연구들이 진행되고 있는데^{12,24~28)}, 여기에는 땅콩²⁴⁾, 메주콩²⁷⁾, 과일²⁶⁾ 등의 식물항원, 계, 새우를 포함하는 crustacea^{24,28)} 항원에 관한 연구 등이 있다. 이러한 방법에 의한 식품항원의 정제는 꽃가루 등을 정제하는데 비하여 어려운점이 많으나 부분적이거나 정제된 항원으로 RAST를 시행하면 임상적인 알레르기 병력과 일치율이 매우 높다. 또한 조항원으로 RAST를 시행한 경우는 피부시험에 비하여 감작여부를 판단하는데 정확도가 떨어지므로 정제된 항원 분획을 이용하여 RAST나 피부시험을 시행하면 진단적으로 보다 정확을 기할 수 있다²⁴⁾. 항원에 대한 면역학적 연구의 또다른 측면은 원인이 되는 항원

의 특성을 규명하는 것이다. 즉 column chromatography나 sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis를 이용하여 항원을 분리하고 분자량을 측정하고 immunoblotting 및 autoradiography를 이용하여 혈청 IgE와 결합하는 단백을 검출하고, electrofocussing에 의하여 각 단백질의 isoelectric point를 밝히고, 열이나 화학처리에 의한 항원의 붕괴나 알레르겐으로서의 특성 변화와 약화 정도를 알아보고, 여러 음식항원들간의 교차항원성을 규명하는 것 등이다^{12, 24~28)}. 메밀항원에 대한 이러한 연구로는 1990년 Muthiah등¹²⁾에 의한 보고가 있다. 이 보고에 의하면 병력 및 피부시험과 ELISA 방법에 의하여 진단된 1명의 메밀알레르기 환자와 혈청을 이용하여 면역검출을 시행한 결과 분자량 9,000daltons에서 40,000daltons의 단백질이 환자의 혈청 특이 IgE와 결합한다고 하였다.

저자들의 연구에서는 SDS-PAGE를 시행하였을 때 적어도 33개 이상의 항원 띠를 관찰할 수 있었는데 면역검출을 시행한 결과 이들 항원의 대부분이 환자 혈청의 메밀 특이 IgE와 결합하는 것을 알 수 있었다. 레아진 항체와 결합하는 단백질은 RAST class별로 다소의 차이를 보였는데 2명의 비아토피 대조군의 혈청과 대상환자중 RAST class 0 및 RAST class 1⁺의 경우는 IgE와 결합하는 단백을 관찰할 수가 없었다. 이러한 결과는 경구유발시험 성적과 일치하는 소견이었다. 그러나 RAST class 1⁺인 환자중 1명(case 1)은 경구유발시험시 두드러기 증상이 유발되었으나 면역검출 결과는 음성 소견을 보였는데 이것은 아마도 RAST class 1⁺인 환자2명의 혈청을 1:1로 섞어서 시행하였으므로 희석 효과가 나타났기 때문이 아닌가 생각되었다. 30여개의 단백질중 강하게 결합한 단백질은 각 환자군마다 차이를 보여 RAST class 1⁺의 환자들의 혈청을 섞어 시행한 경우는 분자량 63kd, 29.5kd, 22kd, 19.5kd, 16.5kd의 단백질이 IgE와 강하게 결합하였고, RAST class 3⁺인 환자들의 경우에는 분자량 32.5kd인 단백질이 가장 강하게 결합하였다. RAST class 4⁺의 경우는 각각의 환자를 따로 시행하였는데 case 8의 경우는 분자량이 32.5kd, 12.5kd인 단백질이 강하게 결합하였고 다른 1명(case 11)은 7개의 단백질이 모두 매우 약하게 결합하

였다. 이러한 결합정도의 차이는 13명의 대상환자를 모두 각각 면역검출을 시행하였다면 좀더 자세한 결과를 얻을 수 있었으리라 생각되었다. 그러나 분명한 것은 RAST class가 낮은 경우에는 혈청 특이 IgE와 결합하는 단백질이 면역검출법에 의하여 대부분 발견되지 않았으며 이는 경구유발시험 성적과 일치한다는 점이다. 또한 이들 30여 항원중 분자량이 43kd, 41kd, 37kd, 34.5kd, 32.5kd, 30kd, 22kd, 19kd, 16.5kd, 12.5kd 인단백은 4개의 lane 중에 3-4개의 lane에서 특이 IgE와 결합하여 우리나라 메밀 알레르기 환자들에서 공통 항원이 되는 것으로 생각되었다. 다른 식품 알레르기의 경우에서도 대부분 혈청 특이 IgE와 결합하는 항원은 분자량이 40kd 이하의 단백질로 알려져 있는데^{24~27)} 저자들의 연구 결과와도 일치하는 소견이다. 또한 흥미로운 것은 혈청 총 IgE치가 매우 낮은 경우에도 면역검출법에 의하여 항원-IgE 결합을 관찰할 수 있는데 이는 혈청 특이 IgE의 존재를 의미한다²⁶⁾. 본 연구에서도 대상환자 모두가 피부시험에서 위축을 형성하는 강양성 반응을 보였으나 혈청 IgE는 189-2326U/ml로 차이가 많았고 이것은 RAST class score와도 상관관계가 없었다.

위에서 말한 바와 같이 저자들은 본연구를 통하여 메밀알레르기 환자에서 메밀의 알레르기 항원성을 피부시험, RAST, 경구유발시험 및 면역검출법을 이용하여 비교해 보았고, 우리나라 환자에서의 공통 알레르겐을 규명해 보려는 노력을 하였다. 이러한 연구 결과를 토대로 메밀항원의 면역학적 특성에 대한 보다 광범위하고 발전된 연구와, 쌀이나 밀가루 등 흔히 섭취하는 곡류와의 교차 항원성 등에 관한 추가적 연구가 이루어질 수 있을 것으로 기대된다.

결 론

아토피성 천식 환자에서 메밀의 항원성을 연구하기 위하여 Coca용액으로 조항원을 분리하고 Sephacryl S-200겔 분리법을 이용하여 3개의 항원 분획을 나누었고 조항원과 각 분획으로 피부시험, SDS-PAGE 및 면역검출법을 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 조항원 및 겔 분리법에 의하여 분리된 BWF-I,

BWF-Ⅱ 그리고 BWF-Ⅲ 항원으로 실시한 피부 시험 결과 각각 100%, 100%, 92.3% 및 92.3%의 양성율을 나타내었다.

2. 조항원 SDS-PAGE에 의한 항원의 분리 결과 적어도 33개 이상의 항원을 관찰할 수 있었고 각 분획의 경우도 유사한 결과를 나타내었다. 이들 항원중 분자량 66.2kd, 36kd, 25kd 및 16.5kd의 단백질이 가장 강하게 반응함을 관찰할 수 있었다.
3. 조항원을 이용하여 면역검출을 시행한 결과 대상 환자의 IgE와 결합하는 30여 항원이 관찰되었다. RAST class 별로 혈청을 섞어서 시행하였는데 각 경우마다 IgE와 결합하는 항원에 차이가 있었다. 이들 항원중 강약의 차이는 있었으나 우리나라 메밀 알레르기 환자에서는 분자량 43kd, 41kd, 37kd, 34.5kd, 32.5kd, 22kd, 12.5kd의 단백질이 공통 항원인 것으로 생각되었다.

- Abstract -

An Immunological Study on Allergic Antigenicity of Buckwheat Flour in Atopic Children

Soo Young Lee, M.D., Byung Joo Jeaung, M.D., Kyu Earn Kim, M.D., Dong Soo Kim, M.D. and Ki Young Lee, M.D.

Department of pediatrics, Yonsei University, College of Medicine

To evaluate the allergenic antigenicity of buckwheat flour in korean atopic children, we isolated and partially characterized the buckwheat flour antigens. Three allergenic fractions in crude buckwheat flour extract(BWF-Cr) have been isolated with sephacryl S-200 gel filtration. Crude extract and partially purified fractions of BWF-I, BWF-II and BWF-III elicited positive skin responses in 100%, 100%, 92.3% and 92.3% of atopic children sensitive to the commercial crude buckwheat flour extract, respectively.

Crude extract contains at least 33 antigenic components as demonstrated by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. Electroblotting analysis with SDS-PAGE reveals more than 30 allergenic components of molecular weight between 65kd and 12.5kd that are to bind specific IgE. Among these allergens, seven components of molecular weight with 43kd, 41kd, 37kd, 34.5kd, 32.5kd, 22kd and 12.5kd bound commonly the sera of atopic children tested. These are undoubtedly the major allergens of buckwheat flour extract in korean atopic children.

REFERENCE

- 1) Smith HL : Buckwheat poisoning. Arch Int Med 3 : 350, 1909
- 2) Highman WJ and Michael JC : Protein sensitization in skin disease. Arch Dermat Syph 2 : 544, 1920
- 3) Blumstein GJ : Buckwheat sensitivity. J Allerg 7 : 74, 1935
- 4) Ordman D : Buckwheat allergy-an investigation of asthma associated with flour substitutes used in the baking industry. South Afri Med J 11 : 737, 1947
- 5) Matsumura T, Tateno K, Yugami S and Kuroume T : Six cases of buckwheat asthma. J Asthma Res 1 : 219, 1964
- 6) Arthur JH : Buckwheat sensitivity in children. Ann Allergy 30 : 685, 1972
- 7) 강석영, 민경엽 : 메밀 알레르기 3례. 대한의학협회지 27 : 765, 1984
- 8) 권용백, 이기영 : 경구 유발시험으로 확진된 소아 메밀 알레르기 2례. 소아과 28 : 82, 1985
- 9) Namura S, Yamaguchi MY : Studies on the buckwheat allergose report 2 : clinical investigation of 169 cases with the buckwheat allergose gathered from whole country of Japan. Allerg Immunol(Leipz) 4 : 20, 1974-1975
- 10) Gohte CJ, Wieslander G, Ancker K and Forsbeck M : Buckwheat allergy : health food, an inhalation health risk. Allergy 38(3) : 155, 1983
- 11) Yanagihara Y, Koda A : Immunopharmacological study of buckwheat hypersensitivity II. Effect of dialysate on antibody formation. Nippon Yakurigaku Zasshi 75(7) : 721, 1979
- 12) R. Muthiah, S Kagen and Appleton WI : Isolation and characterization of major buckwheat carbohydrate dependent allergens(Abstract). J All Clin Immunol Jan 151, 1990
- 13) 이기영, 김규언 : 면역요법용 백신을 처방할 때 불필요한 항원을 배제하는 방법에 관한연구. 알레르기 8(2) : 150, 1988
- 14) Berton HS and Brown H : Insect allergy : Preliminary studies of the cockroach. J All Clin Immunol 35 : 506, 1964
- 15) Lowry OH, NJ Rosebrouugh, AL Farr and RJ Randal : Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem 193 : 265, 1951
- 16) Laemmli UK : Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 277 : 680, 1970
- 17) Towbin H, Staehelin T and Gordon J : Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets : procedure and some applications : Pro Nath Acad Sci. USA 76 : 4350, 1979
- 18) Speer F : Biological classification : In food allergy. PSG Pub. Co. Inc., Littleton, 1979, P40-48
- 19) 三澤敬義 : アレルギー生疾患に於ける食餌性アレルゲンの化學分析的 研究. アレルギー, 1 : 9-22, 1952.
- 20) 中村晋, 室久敏三部 : 氣管支喘息の研究, 第5補そばアレルギーについて. アレルギー, 19 : 702-719, 1970.
- 21) Berman BA, and McDonnell KF : Differential diagnosis and treatment of pediatric allergy. Boston, Little, Brown & Co., 1981, P459-475
- 22) Rowe AH : Food Allergy. Philadelphia : Lea and Feiger, 1931
- 23) Yanagihara Y, Koda A : Immunopharmacological study of buckwheat byper sensitivity(Author's trans 1) : Nippon

- Yakurigaku Zasshi; 75(5) : 495, 1979
- 24) MI Sachs, RT Jones, BS and JW Yung-
ginger : Isolation and partial chracteriza-
tion of a major peanut allergen. J All
Clin Immunol 67(1) : 27, 1981
- 25) Sunil Nagpal, Lekha Rajappa, Dean D
Metcalf and Pillarisetti V Subba Rao :
Isolation and partial characterization of
heat-stable allergens from shrimp. J All
Clin Immunol 83 : 26, 1989
- 26) Ahmed A Wadee, Lee-Ann Boting and
Arthur R Rabson : Fruit allergy : Demon-
stration of IgE antibodies to a 30 kd pro-
tein present in several fruit. J All Clin
Immunol 85 : 801, 1990