

Chironomus plumosus(CP)에 감염된 환자들에게 CP-특이 IgG 아형의 측정

국립의료원 내과

박해심 · 박 원 · 유수웅

서 론

갈따구(non-biting midge)는 파리목, 갈따구(Chironomidae)과에 속하는 곤충으로서 그 유충은 호수나 강, 연못 등의 습한 장소에서 주로 생활하며, 우리주위에도 흔히 관찰된다. 1950년 Freeman¹⁾과 1956년 Lewis²⁾가 갈따구에 의한 기관지천식을 보고한 이래, Sudan 지역의 나일강을 따라 많은 댐들이 건설되면서 갈따구에 의한 알레르기성 비염 및 기관지천식의 증가가 보고되었다³⁾. 그 이후 독일⁴⁾과 일본^{5,6)}, 스웨덴⁷⁾, 미국⁸⁾ 등지에서도 갈따구 특이-IgE 매개반응에 의한 환자 발생에 대한 보고가 있으며, 우리나라와 환경이 유사한 일본 동경 지방의 경우, 피부단자시험상 천식 환자의 38%에서 양성반응을 관찰하여 집먼지진드기에 이어 두번째로 중요한 기인 항원으로 보고되어 있다⁶⁾. 우리나라에서도 이⁹⁾에 의하면 여름철과 가을철 서울의 공기중에 약 30여종의 Chironomidae가 채집되고 있으며, 저자들¹⁰⁾도 1991년 두가지, Chironomus plumosus(이하 CP라 약함)와 Tokunagayusurika akamusi(이하 TA라 약함)에 의한 기관지천식 환자 2례를 보고한 바 있다. 1992년 김과 박¹¹⁾이 475명의

호흡기 알레르기 환자들을 대상으로 CP 및 TA 항원(1 : 40 w/v)에 대한 피부단자시험을 시행하여 각각 20.4%, 20.6%의 양성율(2+ 이상의 반응)을 관찰하고, 이들에서 면역효소법으로 혈중 특이 IgE 항체를 측정하여, CP와 TA에 의한 IgE 반응을 보고하였다. 또한 조 등¹²⁾에 의하면 CP에 의한 천식 유발시험 양성인 환자 8명중 7례에서 특이 IgE 항체가 검출되었고 1례에서 검출되지 않아, 이들에서 다른 면역학적 기전의 가능성도 추측되었다. 한편 지금까지 집먼지진드기를 비롯한 다른 흡입성 알레르겐에 의한 호흡기 알레르기 환자들에서 특이 IgG 및 IgG 아형의 역할에 대해서는 다양한 보고들이 있으나¹³⁻¹⁵⁾ 아직 명확히 밝혀져 있지 않다.

이에 저자들은 우리나라 호흡기 알레르기 환자들에서 주요 흡입성 알레르겐 중의 하나로 여겨지는 CP에 대한 특이 IgG 항체의 의의를 관찰하기 위해 다음과 같은 연구를 시행하였다.

연구대상 및 방법

1. 연구대상

김과 박¹¹⁾이 보고한 대로 1 : 40 w/v의 CP 추출액으로 시행한 피부단자시험상 2+ 이상의 양성 반응을 나타낸 호흡기 알레르기 환자들에서 채혈이

본 논문은 1993년 국립의료원 임상연구비의 보조로 이루어진 것임

가능했던 97명의 환자들을 대상으로 하였으며, 대조군으로는 CP 및 TA를 포함한 80종의 흡입성 알레르겐을 이용한 피부단자시험상 전부 음성 반응을 나타낸 환자 27명을 대상으로 하였다. 환자들의 혈청은 원심분리하여 영하 20℃에 보관한 후 동일한 시간에 실험하였다.

2. CP 항원

특이 항체의 측정에는 일본 Toyama 대학의 Murakami 교수가 기증한 순수 동결 건조된 항원을 사용하였다.

3. CP-특이 IgE 항체 측정

김과 박¹¹⁾이 보고한 바와 동일한 방법으로 시행하였다. 즉 예비실험에서 결정된 적정 항원 농도(CP 용액의 경우 10ug/ml)를 carbonate buffer(pH 9.6)에 녹여 1 well당 100 ul씩 ELISA plate(Immuno Dynatech, USA)에 4℃에서 24시간 작용시켰다. 0.5 % Tween이 포함된 phosphate buffered saline(PBS-T)으로 세차례 씻은 후 10% 신생우 혈청(newborn calf serum)을 250ul씩 넣어 1시간 작용시켜 불필요한 단백질 결합을 차단시켰다. 여기에 각 환자의 혈청을 100ul씩 넣고 실온에서 2시간 작용시켰다. 이를 PBS-T로 3회 씻은후 biotin이 부착된 anti-IgE 항체(Sigma Co. USA) 1 : 1000 w/v 희석액을 100 ul씩 넣고 2시간 반응시켰다. PBS-T로 다시 3회 씻은 후 streptavidin-peroxidase(Sigma Chemical Co.) 1 : 500 w.v 희석액을 30분간 실온에서 작용시킨 후 다시 PBS-T로 3회 씻었다. 여기에 substrate로 H₂O₂를 넣은 ABTS(55mg of 2,2'-azido-di-3 ethylbenzthiazoline sulfonic acid in 100ml of 70 mM citrate phosphate buffer : Sigma Chemical Co.)를 100ul씩 넣고 10분 작용시킨 후 2N NaN₃로 차단시켰다. 이를 405nm에서 흡광도를 읽었다.

4. CP-특이 IgG 항체(IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄) 아형 측정

특이 IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄ 항체는 특이 IgG 측정 방법과 유사하게 면역효소법으로 측정하였다. 특이 IgE 측정시와 동일한 농도의 항원(10ug/ml)을 부

착시켰으며, IgG₁ 항체의 경우 환자의 혈청을 10% 신생우 혈청으로 1 : 10 w/v으로 희석하여 시행하였다. 특이 IgG₂, IgG₃, IgG₄ 항체의 경우 혈청을 희석하지 않고 시행하였다. 혈청을 작용시킨 후 세척하고, anti-IgE 항체 대신에 biotin이 부착된 anti-IgG₁, anti-IgG₂, anti-IgG₃, anti-IgG₄ 항체(Sigma Chemical Co. USA) 1 : 1000 w/v 희석액을 작용시켰으며 그 이후 과정은 동일하였다.

결 과

1. CP-특이 IgE 항체

1) CP-특이 IgE 항체

CP 및 TA에 대한 피부단자시험상 양성 반응(>2+)을 나타낸 환자와 대조군으로 피부단자시험상 전부 음성 반응을 나타낸 30명의 환자들에서 김과 박¹¹⁾이 보고한 대로 면역효소법을 이용한 결과 CP-특이 IgE 항체치는 그림 1과 같다. 양성 반응의 cut-

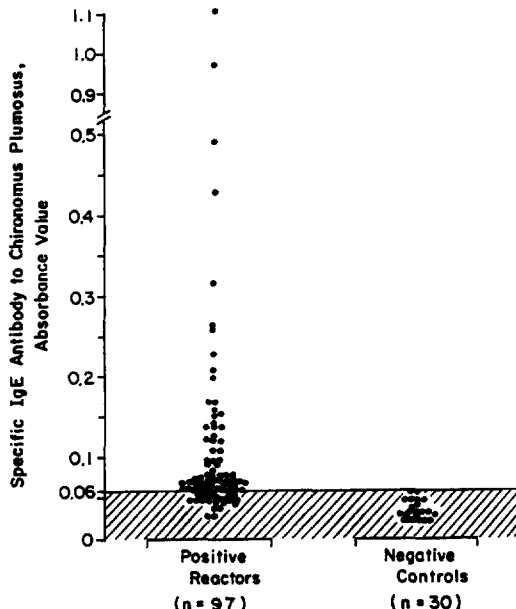


Fig. 1. The serum levels of specific IgE antibodies to Chironomus plumosus(CP) by enzyme-linked immunosorbent assay in CP-sensitive patients and negative controls.

Specific IgG₁ Antibody

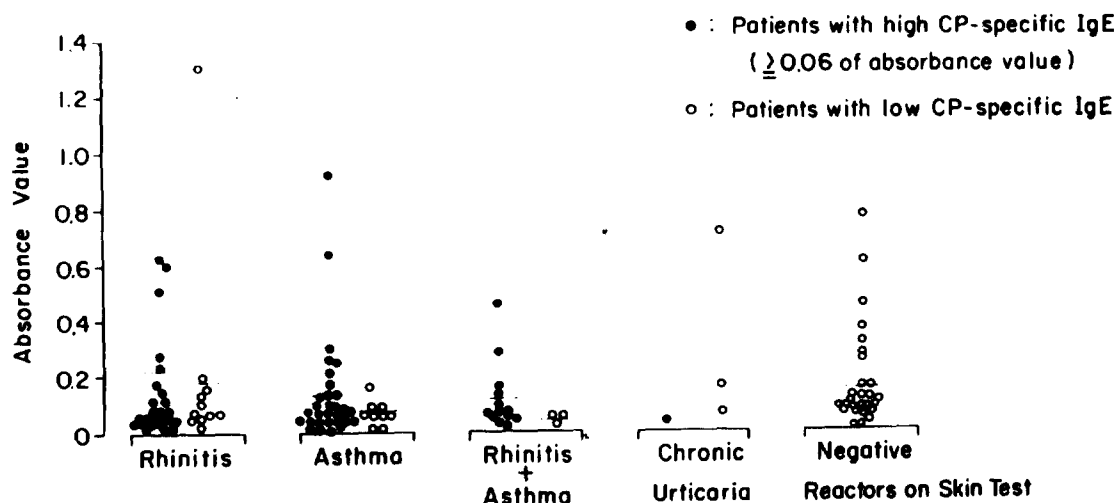


Fig. 2. The serum levels of specific IgG₁ antibodies to *Chironomus plumosus*(CP) by enzyme-linked immunosorbent assay in CP-sensitive patients with various allergic diseases and negative controls.

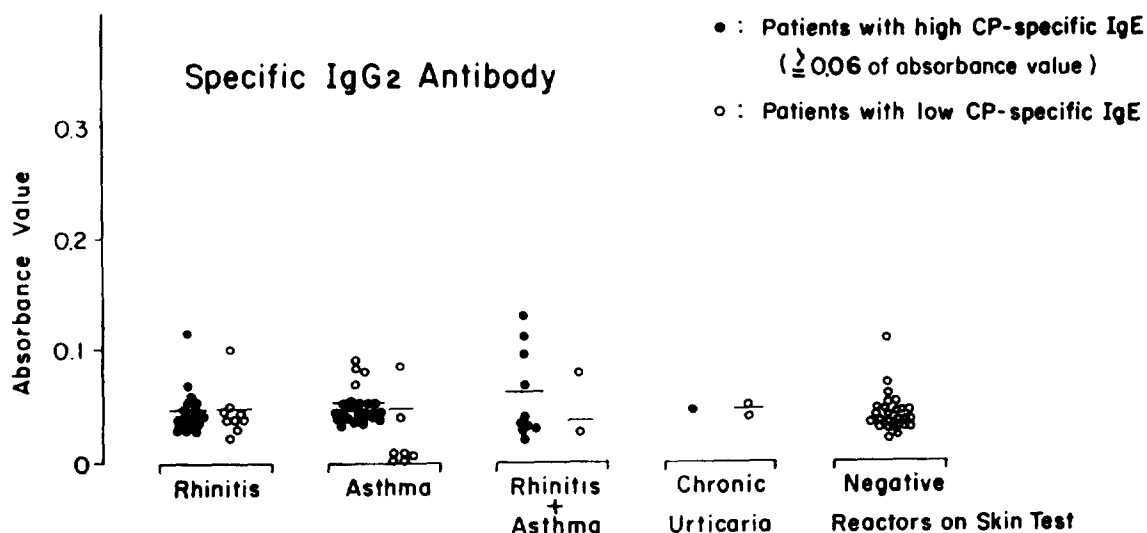


Fig. 3. The serum levels of specific IgG₂ antibodies to *Chironomus plumosus*(CP) by enzyme-linked immunosorbent assay in CP-sensitive patients with various allergic diseases and negative controls.

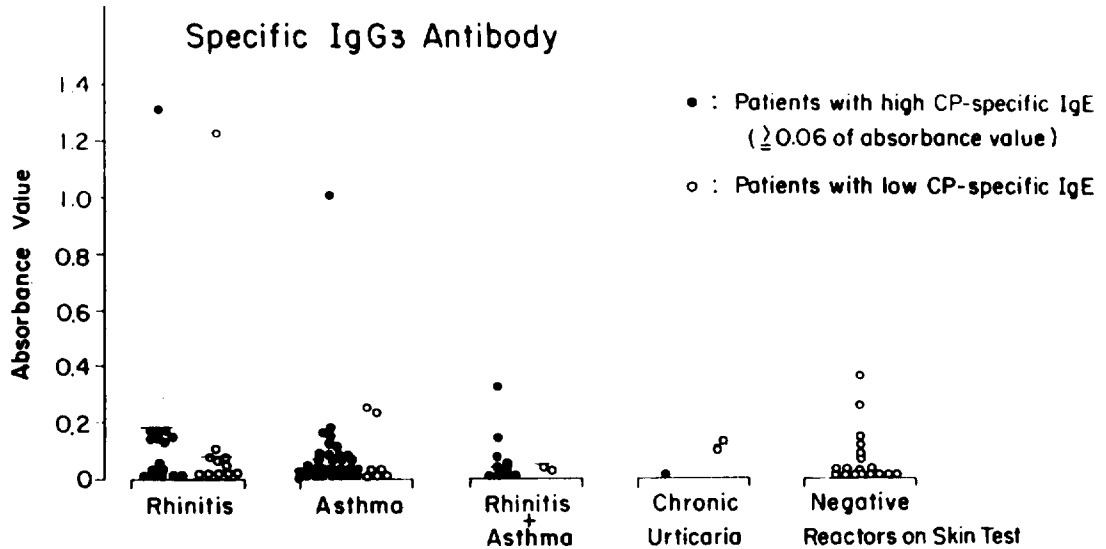


Fig. 4. The serum levels of specific IgG₃ antibodies to Chironomus plumosus(CP) by enzyme-linked immunosorbent assay in CP-sensitive patients with various allergic diseases and negative controls.

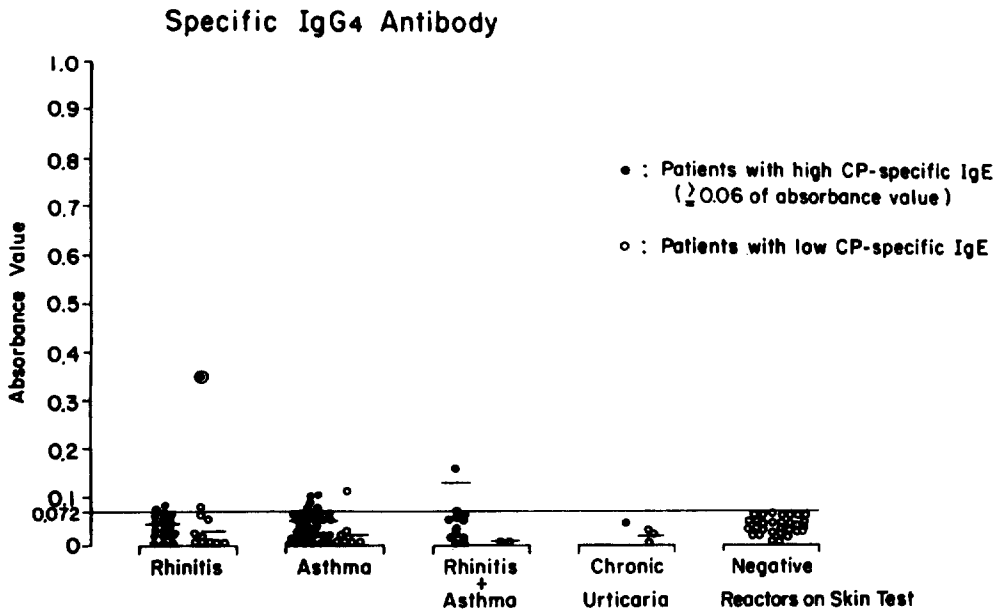


Fig. 5. The serum levels of specific IgG₄ antibodies to Chironomus plumosus(CP) by enzyme linked immunosorbent assay in CP-sensitive patients with various allergic diseases and negative controls.

● Indicates one case who had very high specific IgG₄ antibody without specific IgE antibody.

off치는 대조군 30명의 평균 흡광도에 두배의 표준편차치를 더하여 0.06으로 정하였다.

2. CP-특이 IgG₁ 항체

그림 2와 같이 대조군의 상당수에도 높은 흡광도를 지닌 경우가 관찰되었으며, 평균 흡광도는 특이 IgE 항체 유무와 질환에 따라서 차이는 없었다.

3. CP-특이 IgG₂ 항체

그림 3과 같이 대조군에서도 높은 흡광도를 나타낸 경우가 관찰되었으며, 특이 IgE 항체 유무나 질환에 따라서 차이는 없었다.

4. CP-특이 IgG₃ 항체

그림 4와 같이 대조군에서도 높은 흡광도를 지닌 경우가 관찰되었으며, 질환이나 특이 IgE 항체 유무에 따른 차이는 없었다.

5. CP-특이 IgG₄ 항체

그림 5와 같이 대조군은 전례에서 흡광도가 낮았으므로 양성 반응의 cut off치를 이들의 평균흡광도에 2배의 표준 편차치를 더하여 0.072로 정하였다. 환자군에서 특이 IgG₄ 항체는 대부분 특이 IgE 항체가 검출된 환자에서 검출되었으나, 비염 환자 2례와 천식 환자 1례에서는 특이 IgE 항체없이 특이 IgG₄ 항체만 검출된 예가 있었다.

6. CP-특이 IgE 및 IgG 항체 아형간의 관계

총 IgE치 및 특이 IgE치와 IgG 아형간의 상관계수를 구해 보았을 때 그 결과는 표 1과 같았다. 총

IgE치와 CP-특이 IgG₁간의 상관계수는 0.24이었으며, CP-특이 IgE치와 IgG₄치간에는 0.17이었다.

고 찰

우리나라 호흡기 알레르기 환자들에게 기인 항원으로서 CP와 TA의 의미에 대한 연구로, 김과 박¹¹⁾에 의하면, 호흡기 알레르기 환자들에서 CP와 TA(1 : 10 w/v)로 알레르기 피부단자시험을 시행하여 allergen to histamine(A/H) 비가 2+ 이상을 나타낸 환자는 각각 CP의 경우 20.4%, TA의 경우 20.6%로 높아 우리나라에서 기인 항원을 찾는 피부단자시험에 반드시 포함시켜야 할 항원으로 고려해야 할 것이다.

집먼지진드기에 감염된 환자들은 특이 IgE 항체 뿐만 아니라 IgG 항체도 가지고 있는데¹⁶⁻¹⁹⁾, Okahata 등¹⁷⁾, 홍 등¹⁸⁾은 호흡기 알레르기 환자들에서 특이 IgG, IgG₁, IgG₄ 항체의 의미있는 증가를 보고하였으며, 그중에서 IgE와 IgG₄항체간에는 연관성이 관찰되었다. IgG 항체는 제대 혈청에도 발견되었으며, IgG 아형중에는 특이 IgG₁ 항체가 생후 1년내에 생성되는 것으로 보고되어 있다²⁰⁾. 남과 홍²¹⁾은 집먼지진드기에 대한 특이 IgE 항체가 음성인 환자(1세 미만~10세)들의 상당수에도 IgG 아형(특히 IgG₁ 항체)이 양성으로 나타난 것을 보고하면서, 특이 IgE 반응이 성립되기전에 특이 IgG 반응이 선행될 가능성을 시사하였다. 또한 Freudenberger 등²²⁾은 만성 비염-부비동염의 병인 기전에 특이 IgG 항체가 관여함을 보고하였다. 이와 같이 집먼지진드기에 대한 IgG 항체가 호흡기 알레르기 질환의 병인기전에 관여할 것으로 추측하고 있으나 결론은 없는 상태이다.

최근 갈따구 항원의 중요성이 부각되면서 특이 IgE 측정에 관한 보고는 있으나 특이 IgG 항체의 역할에 대한 보고는 미비하다. Yamashita 등²³⁾에 따르면 TA, Chironomus yoshimatsui에 대한 특이-IgG, IgG₁, IgG₄ 항체를 104명의 천식환자에서 면역효소법으로 측정하였을 때, 대조군의 상당수에서도 높은 흡광도를 관찰하였고, 특이 IgG, IgG₁, IgG₄ 항체 유무와 무관하다고 보고하였다. 본 연

Table 1. The correlation coefficient between specific IgE and specific IgG subclass to Chironomus plumosus(CP)

Specific IgE subclass	Total IgE	Specific IgE
		CP
CP-IgG ₁	0.24	-0.01
CP-IgG ₂	-0.08	-0.07
CP-IgG ₃	0.16	-0.07
CP-IgG ₄	0.06	0.17

구에서도 대조군의 상당수에서 CP-특이 IgG₁, IgG₂, IgG₃ 항체가 관찰되었고 흡광도치는 환자군에 비해 별다른 차이가 없었다. 또한 면역효소법상 검출된 특이 IgE 항체 유무와 특이 IgG₁, IgG₂, IgG₃, 항체의 흡광도치는 의미있는 관계가 없었다. 반면 특이 IgG₄ 항체는 3배를 제외하고는 CP-특이 IgE 항체를 지닌 환자에서 검출되었다. 향후 이러한 환자들에서 특이 IgG₄ 항체의 단기감작(short-term sensitizing) 항체로서의 역할 가능성을 관찰하기 위해서는, 특이 IgE 항체없이 특이 IgG₄가 증가된 환자의 혈청에서, 환자의 호염기구를 분리하여 CP 항원 첨가에 따른 히스타민 유리능을 측정하여, 특이 IgG₄ 매개 반응에 대한 화학매체 유리 가능성을 관찰하는 추후 연구가 필요한 것으로 여겨진다.

현재로서는 갈따구에 감작된 환자들에서 특이 IgG 항체의 역할에 대한 결론을 내릴 수 없으나, 대조군에서 관찰되는 IgG 항체는 갈따구 항원의 노출에 따른 면역 반응으로 여겨진다. 향후 갈따구 알레르기 환자들의 병인 기전에 IgG항체와의 연관성을 관찰하기 위해서는, 알레르기 질환을 지니지 않은 정상 대조군과의 비교 실험도 필요하며, 연령에 따른 CP-특이 IgG 아형의 변화와 특이 IgE 항체와의 연관성에 대한 연구도 필요할 것으로 여겨진다.

결 론

이상의 결과로 갈따구에 대한 특이 IgG₁, IgG₂, IgG₃ 항체 반응은 감작되지 않은 환자들에서도 나타날 수 있으며, 호흡기 알레르기 환자들의 병인 기전에 있어서 CP-특이 IgG 아형의 역할에 대한 추후 연구가 필요할 것으로 여겨진다.

- Abstract -

The Significance of Specific IgG Subclass to Chironomus plumosus(CP) in CP-sensitive Patients

Hae Sim Park, Won Park,
Soo Woong Yoo

Department of Internal Medicine,
National Medical Center

CP has been considered as one of the significant respiratory allergens in this country. To evaluate the significance of specific IgG subclass to CP in CP-sensitive patients(>2+ responders on skin prick test), we measured specific IgE and IgG subclass(IgG₁, IgG₂, IgG₃ and IgG₄) to CP by enzyme-linked immunosorbent assay in 97 CP-sensitive patients' sera, and control sera who showed all negative responses on skin prick test. There were no significant differences in absorbance values between patients' and control sera. No differences were noted according to allergic disease or the existence of CP-specific IgE antibody. High specific IgG₄ bindings were noted in two cases of rhinitis and one case of asthma who had no specific IgE binding. It is suggested that CP-specific IgG₁, IgG₂ and IgG₃ antibody might be an immune response to exposure to CP. Further studies are needed to investigate the pathogenic role of specific IgG subclass to CP.

REFERENCES

- 1) Freeman P : A species of Chironomid(Diptera) from Sudan suspected of causing asthma. Proc Royal Entomol Soci London(B) 19 : 58, 1950
- 2) Lewis DI : Chironomidae as a pest in the Northern Sudan. Acta Trop 13 : 142, 1956
- 3) Kay AB, Una MacLean CM, Wilkinson AH : The prevalence of asthma and rhinitis in a Sudanese community seasonally exposed to a potent airborne allergen(the "green nimitti midge, Cladotanytarsus lewisi). J Allergy Clin Immunol 71 : 345, 1983
- 4) Kay AB, Gad EI Rab MD, Stewart J : Widespread IgE-mediated hypersensitivity in northern Sudan to the Chironomid, Cladotanytarsus lewisi("green nimitti"). Clin Exp Immunol 34 : 106, 1978
- 5) Baur X : Hamoglobine Von Chronomidae (Zuckermuiken) : bisher unbekannte, aggressive inhalations-Antigene fur den Menschen. Klin Wochenschr 58 : 1163, 1980
- 6) Ito K, Miyamoto T, Shibuya T, Kamei K, Mano K, Taniai T, Sasa M : Skin test and radioallergosorbent test with extract of larval and adult midges of Tokunagayusurika akamusi(Diptera : Chironomidae) in asthmatic patients of the metropolitan area of Tokyo. Ann Allergy 57 : 199, 1986
- 7) Yamashita N, Morita Y, Ito K, Miyamoto T, Shibuya T, Kamei K, Sasa M : Chironomidae as a cause of IgE-mediated histamine release in patients with asthma. Ann Allergy 63 : 154, 1989
- 8) Eriksson N, Johnsson P, Ryden B : Cross-sensitization between chironomids and crustacea. Eur Congr Allergy 1989(abstract)
- 9) 이한일 : 한국산 깔따구와(파리목)에 관한 연구 IV.(I. 신종 및 한국 미기록 2종). 한국곤충학회지 3 : 91, 1987
- 10) 박해심 · 유남수 · 조동일 · 김재원 : 두가지 깔따구(Chironomidae)에 의한 기관지천식 2례. 알레르기 21 : 362, 1991
- 11) 김용재 · 박해심 : 호흡기 알레르기 환자들에서 두가지 깔따구에 대한 피부반응도 및 특이 IgE 항체 측정. 알레르기 12 : 412, 1992(초록)
- 12) 조영수 · 이명선 · 박해심 : 두가지 깔따구에 의한 기관지천식 환자에서 이에 대한 특이 항체 측정. 알레르기 12 : 411, 1992(초록)
- 13) Hong CS, Park HS : The significance of specific IgE and IgG to Dermatophagoides farinae according to the types of asthmatic reaction in house dust asthmatics. Yonsei Med J 30 : 186, 1989
- 14) Gwyun CM, Ingram J, Almousaw T, Stanworth DR : Bronchial provocation tests in atopic patients with allergen specific IgG₄ antibodies. Lancet 1 : 254, 1982
- 15) Ito K, Kudo K, Okudaira H, Yoshinoya S, Morita K, Nakagawa T, Akiyama K, Urata C, Hagakawa T, Ohta K, Nakada S, Horosuchi T, Takizawa M, Shoji S, Ighii A, Kitani S, Haida M, Yamashita N, Honda Z, Miyamoto T : IgG₁ antibodies to house dust mite(Dermatophagoides farinae) and late asthmatic response. Int Archs Allergy app Immunol 81 : 69, 1984
- 16) Kemeny DM, Urbanek R, Ewan P, Mchugh S, Richards D, Patel S, Lessof MH : The subclass of IgG antibody in allergic diseases II. The IgG subclass of antibodies produced following natural exposure to dust mite and grass pollen in atopic and nonatopic individuals. Clin Exp Allergy 19 : 545, 1989
- 17) Okahata H, Nishi Y, Mizoguchi N, Yumiba C, Fujii H, Ueda K : Development of serum Dermatophagoides farinae, ovalbumin and lactalbumin-specific IgG, IgG₁, IgG₄, IgA and IgM in children with bronchial asthma, allergic rhinitis or atopic dermatitis. Clin Exp Allergy 20 : 39, 1990

- 18) 홍천수 : 알레르기 환자에서(D.farinae)-특이 IgG subclass 측정에 관한 연구. 알레르기 10 : 313, 1990(초록)
- 19) 홍천수 · 박중원 : 정상인 및 호흡기 알레르기 환자에서 D.farinae의 주 알레르겐(Der f I & Der f II)에 대한 특이 IgG 아형 측정에 관한 연구. 알레르기 11 : 579, 1991(초록)
- 20) Mariani F, Price JF, Kemeny DM : The IgG subclass antibody response to an inhalant antigen(Dermatophagoides pteronyssinus) during the first year of life, evidence for early stimulation of the immune system following natural exposure. Clin Exp Allergy 22 : 29, 1992
- 21) 남동호 · 홍천수 : 집먼지진드기(D.farinae) 특이 IgE 음성 소아에서 특이 IgG 아형의 측정. 알레르기 12 : 436, 1992(초록)
- 22) Freudenberg T, Grizzanti JN, Rosenstreich DL : Natural immunity to dust mites in patients with chronic rhinosinusitis. J Allergy Clin Immunol 82 : 855, 1988
- 23) Yamashita N, Ito K, Nagakawa T, Haida M, Okudaira H, Nakada S, Miyamoto T, Shibuya T, Kamei K, Sasa M : IgG and IgE antibodies to Chironomidae in asthmatic patient. Clin Exp Immunol 68 : 93, 1987