

## 집먼지진드기에 감작된 천식 환자에서의 항원에 의한 말초혈액 호산구 활성화

충북대학교 의과대학 내과학교실

김 미 경

### 서 론

천식은 기도내 염증반응에 의한 기도과민성을 특징으로 하는 호흡기질환이다<sup>1)</sup>. 이러한 기도내 염증반응은 비만세포, 임파구, 단핵구, 호염기구 및 호산구 등의 염증세포들에 의해 발생하며, 이들 중 호산구는 천식반응시 기도 내로 유입되어 활성화됨으로써 세포막의 인지질로부터 혈소판활성인자(platelet activating factor, PAF), leukotriene 등을 생성, 분비하여 기도수축을 유발하고 이들의 화학주성(chemotaxis)에 의해 여러 염증세포들의 침윤을 초래하여 기도의 지속적 염증반응 및 기도과민성을 초래한다. 또한 세포질내에 존재하는 세포독성 단백질(cytotoxic protein)인 major basic protein (MBP), eosinophil cationic protein(ECP), eosinophil derived neurotoxin(END), eosinophil peroxidase(EPO), eosinophil protein X(EPX) 등을 분비함으로써 기도점막 박탈등의 조직 변화를 일으킨다<sup>2-3)</sup>.

이와 같이 천식에서의 호산구의 역할은 비교적 잘 밝혀져 있으나, 활성화 과정에 관하여는

천식반응시 유리되는 몇몇 화학매체가 관여한다고 알려져 있을 뿐 확실히 규명되지 않고 있다.

호산구의 세포 표면에는 C3b 수용체, IgG 수용체가 부착되어 있어, 알레르기질환을 제외한 각종 염증반응이나 기생충감염에서는 활성화된 보체나 IgG 항체가 호산구 표면의 각각의 수용체들과 결합함으로써 활성화되나<sup>4)</sup>, 천식은 IgE에 의해 매개되는 제 1형 과민반응이므로 위의 질환과는 달리 보체나 IgG에 의해 활성화되지는 않는다. 또한 호산구 표면에 존재하는 IgE 수용체는 비만세포나 호염기구 표면의 IgE 수용체(FcεRI)가 감작된 알레르겐으로 자극시 화학매개체를 분비하는 고 친화도(high affinity) 수용체인 것과는 달리, 저 친화도(low affinity) 수용체인 FcεRII가 부착되어 있고<sup>5)</sup> 알레르겐으로 자극시 탈과립이 일어나는지에 관한 보고는 없으나, 최근 호산구 표면에도 FcεRI의 불완전 아형이 존재할 것이라는 보고가 있다<sup>6)</sup>.

이에 저자는 호산구 표면에 FcεRI이 존재한다면, 비만세포와 같이 감작된 알레르겐에 의해 활성화될 것이라는 가설 하에, 외인성 천식 환자에서 감작된 알레르겐이 호산구 활성화에 관여하는지를 알아보고자, 집먼지진드기(house

\*본 연구는 1995년 충북대병원 지정진료연구비에 의해 일부 지원되었음

통신저자 : 충북의대 내과 김미경

dust mite, HDM)에 감염된 외인성 천식 환자의 말초혈액으로부터 호산구를 분리하여 HDM으로 자극한 후 활성화 여부는 탈과립의 정도를 전자현미경으로 확인하고, 함께 세포막으로부터 생성된 LTC<sub>4</sub>와 세포질로부터 유리된 ECP (eosinophil cationic protein)를 측정하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상

충북대학교 병원 내과 알레르기 클리닉에서 NAEPEPR(National Asthma Education Pro-

gram Expert Panel Report) 진단 기준에 의해 천식으로 진단받은 환자들<sup>1)</sup> 중 55종의 흡입 항원을 이용한 피부단자검사 및 RAST(radioallergosorbent test)로 HDM에 강하게 감염된 중등증(moderate) 환자들중 경구 및 흡입 스테로이드제제를 사용하지 않았던 환자를 대상으로 하였다. 이들 중, 문진, 진찰, 대변의 총란 검사와 간디스토마, 폐흡충 항원을 이용한 피내반응검사 및 효소면역형광법(Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)으로 측정된 혈청 IgG 항체 검사 등의 결과가 음성반응으로, 기생충감염의 가능성을 배제한 경우를 포함시켰다. 그의 악성종양등의 호산구과다증을

Table 1. Characteristics of study subjects

| Patient   | Age/Sex | Allergen | Eos./mm <sup>3</sup> | %FEV <sub>1.0</sub> (%) | PC <sub>20</sub> -Meth.<br>(mg/ml) |
|-----------|---------|----------|----------------------|-------------------------|------------------------------------|
| Control 1 | 33/M    |          | 280                  | 89                      |                                    |
| 2         | 35/M    |          | 120                  | 97                      |                                    |
| 3         | 35/M    |          | 290                  | 110                     |                                    |
| 4         | 35/F    |          | 125                  | 90                      |                                    |
| 5         | 37/F    |          | 150                  | 95                      |                                    |
| Mean      | 35      |          | 193                  | 94.2                    |                                    |
| ±SD       | 1.4     |          | 84.2                 | 8.4                     |                                    |
| E B A 6   | 32/M    | HDM      | 560                  | 68                      | 2.1                                |
| 7         | 35/M    | HDM      | 690                  | 75                      | 3.4                                |
| 8         | 40/M    | HDM      | 1180                 | 69                      | 1.8                                |
| 9         | 45/M    | HDM      | 510                  | 72                      | 2.9                                |
| 10        | 45/M    | HDM      | 580                  | 55                      | 0.8                                |
| 11        | 34/F    | HDM      | 920                  | 77                      | 2.1                                |
| 12        | 36/F    | HDM      | 670                  | 52                      | 0.2                                |
| 13        | 38/F    | HDM      | 510                  | 44                      | 0.09                               |
| 14        | 41/F    | HDM      | 550                  | 71                      | 2.8                                |
| Mean      | 34      |          | 674.4                | 64.8                    | 1.8                                |
| ±SD       | 4.6     |          | 225.5                | 11.5                    | 1.2                                |

EBA : Extrinsic bronchial asthmatics

HDM : house dust mite

PC<sub>20</sub>-Meth. : provocative concentration of methacholine producing 20% fall of FEV<sub>1.0</sub>

동반할 수 있는 여타의 질환을 경험한 바 없고, 말초혈액 호산구가  $500/\text{mm}^3$  이상인 9명의 환자를 대상으로 하였다. 정상 대조군은 5명으로 하였다. 환자의 평균 연령은 38세(32-45), 남녀비는 5:4, 메타콜린기관지유발검사상 PC<sub>20</sub>는  $1.8 \pm 1.2\text{mg}/\text{ml}$ (0.09-3.4)이었고, 대조군의 평균 연령은 35세(33-37), 남녀비는 3:2였다(Table 1).

## 2. 연구 방법

### 1) 말초혈액으로 부티의 호산구 분리

비연속 Percoll(discontinuous percoll gradient)법을 이용하여 분리하였다<sup>7)</sup>.

방법을 요약하면, 환자의 전주와 정맥에서 오전 9시에 해파린 처리하여 채혈한 전혈 50cc를 6% Dextran T<sub>70</sub>와 6:1 용적비로 혼합하여 37°C 수탕보온기에서 1시간 항온시켜 적혈구를 침강시킨후 상층액을 2회 세척하고 1.077 percoll 2ml 당 세포수를  $5 \times 10^7$ 개로 조절시켰다. 이를 1.107, 1.097, 1.092, 1.080이 담긴 15cc cornical 관의 최상층에 부유시킨 후 slow acceleration으로 1600g에서 20분간 원심 분리하였다. 분리후 13개의 분획을 만들고 각 분획에서의 호산구 순수 분리도를 측정된 후 percoll 비중 1.090 이상에서 회수된 호산구를 순수 분리도 95% 이상으로 하여 실험에 사용하였으며 실험당 호산구 수는 임의로  $2 \times 10^5$ 개를 사용하였다.

### 2) HDM을 이용한 호산구 활성화

한국산 집먼지진드기(연세대학교 의과대학 내과학교실)를 호산구 수  $2 \times 10^5$ 개/ml에 전층체(whole body extract) 항원을  $200\mu\text{g}/\text{ml}$ 부터 시작하여 10배씩 계단 희석하여  $0.2\mu\text{g}/\text{ml}$ 까지 37°C에서 30분간 반응시켰다<sup>8)</sup>.

#### (1) LTC<sub>4</sub> 측정

분리한 상층액을 -20°C에 보관하였다가,

Du Pont Leukotriene C<sub>4</sub>[<sup>3</sup>H] RIA KIT로 측정하였다. 측정법은 저자의 저번 연구와 동일한 방법으로, 모든 과정은 이중으로 시행하여 비교 분석하였다<sup>9)</sup>.

#### (2) ECP 측정

ECP-RIA kit(Pharmacia, Sweden)를 사용하여 저자등이 사용한 기존의 방법대로 측정하였으며, 상층액은 영하 20°C에 보관한 후 일괄해서 측정하였다<sup>9)</sup>.

약술하면, 시험관에 ECP 표준액(ECP-St로 약함)들과 활성화 전 후의 상층액을 각각 50ul, ECP항체 50ul, 2차 항체인 I<sup>25</sup>-Anti-ECP 50ul씩을 각각 넣고 상온에서 3시간 혼합시킨 후, 여기에 decanting 현탁액 2ml씩을 넣고 상온에서 30분간 반응시킨 후 원심분리하여 상층액을 완전히 제거시키고 Gamma-counter(Cobra LKB, Hewlett packard, USA)로 결합방사능을 측정하여 ECP-St 0ug에 대한 백분율로 표시하였다. ECP-St로 용량반응 곡선을 얻고 검체의 결합방사능 백분율을 농도로 환산 비교하였다.

#### (3) 전자현미경적 관찰

활성화 전후의 호산구 압착결정(pellet)을 0.1M phosphate buffer saline(PBS)으로 3회 세척한 후 1% osmium tetroxide 용액에 1시간 고정하고, 0.1M PBS로 15분간 3회 세척하였다. 탈수를 위하여 30%, 50%, 70%, 80%, 100% I, II, III의 ethyl alcohol 용액에 각 20분씩 반응시키고 propylene oxide용액을 각 20분씩 3회 침투시켰다. Epon과 propylene oxide가 1:2로 혼합된 용액을 40분간 침투시킨 후 Epon과 propylene oxide가 1:1로 혼합된 용액을 2시간 동안 침투시켰고, 마지막으로 Epon과 propylene oxide가 2:1로 혼합된 용액을 12시간 침투시켰다. 이후 순수 Epon을 2시간 동안 침투시킨 다음 60°C에서 3일간 중합반응시키고 semithin section후 50-60nm로 초박절편을 만

들어 전자현미경(Hitachi 60, Japan)으로 20개의 호산구를 무작위로 선택, 관찰하여 세포질 내의 과립이 유리되고 남아 있는 공포의 수를 각각 계측, 비교 분석하였다<sup>10)</sup>.

### 3) 통계처리

paired t 와 student t 검정을 이용하여  $p < 0.05$ 를 유의하다고 판정하였다.

## 결 과

집먼지진드기( $0.2 \sim 200 \mu\text{g/ml}$ )로 자극한 호산구( $10^5$ 개) 세포막으로부터 생성된  $\text{LTC}_4$ 는 집

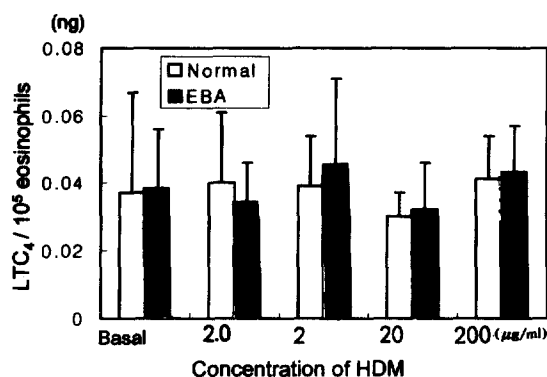


Fig. 1. Generation of  $\text{LTC}_4$  from peripheral blood eosinophils stimulated with house dust mite

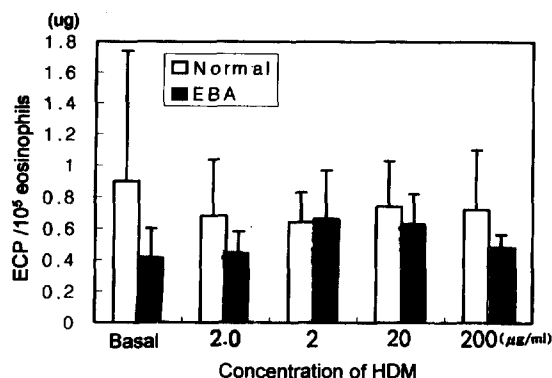
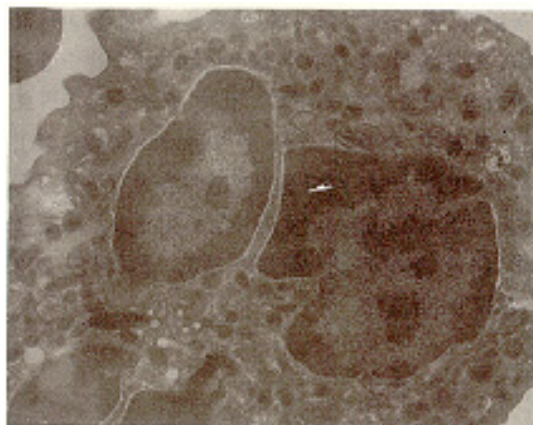
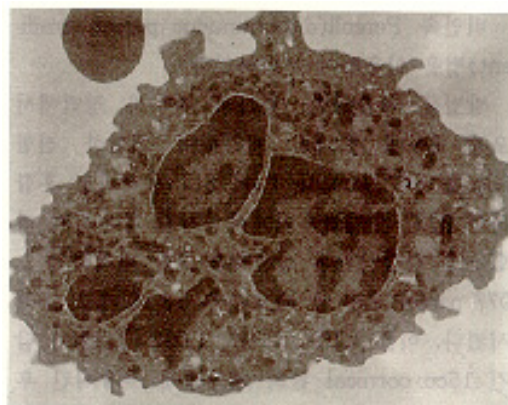


Fig. 2. ECP release from peripheral blood eosinophils stimulated with house dust mite



(a) Unstimulated peripher blood eosinophil (X 8400)



(b) Stimulated eosinophils with HDM (x 7800)



(c) Stimulated eosinophils with Ca (x 9600)

Fig. 3. Electron microscopic morphologic changes of eosinophils with or without stimulation with HDM( $10^{-3}$  w/v) or Ca ionophore( $10^{-7}$ M)

먼지에 감작된 천식 환자군에서는 각각  $0.043 \pm 0.014$ ,  $0.032 \pm 0.014$ ,  $0.045 \pm 0.026$ ,  $0.034 \pm 0.013 \mu\text{g}$ 으로 기저치인  $0.037 \pm 0.029 \mu\text{g}$ 에 비해 유의한 증가를 관찰할 수 없었고(Table 2, Fig. 1,  $p > 0.05$ ) 대조군에서의  $0.041 \pm 0.013$ ,  $0.029 \pm 0.008$ ,  $0.039 \pm 0.015$ ,  $0.04 \pm 0.022 \text{ng}$ 과도 유의한 차이가 없었다(Table 2, Fig. 1,  $p > 0.05$ ). 세포질로부터의 ECP 유리치는 환자군에서는 집먼지진드기 농도( $0.2 \sim 200 \mu\text{g/ml}$ )에 따라  $0.68 \pm 0.36$ ,  $0.64 \pm 0.19$ ,  $0.74 \pm 0.29$ ,  $0.72 \pm 0.38 \mu\text{g}$ 으로 기저치  $0.9 \pm 0.86 \mu\text{g}$ 에 비해 유의하게 증가하지 않았으며(Table 2, Fig. 2,  $p > 0.05$ ), 대조군에서 유리된 값과도 유의한 차이가 없었다(Table 2, Fig. 2,  $p > 0.05$ ). 전자현미경

으로 탈과립과 형태의 변화를 관찰한 결과 기저의 호산구는 환자군과 대조군 사이에 차이가 없었고, 집먼지진드기로 자극한 후에도  $\text{Ca}^{++}$  inophore로 자극한 후와는 달리 두 군 모두 형태적 차이를 관찰할 수 없었다(Fig. 3).

## 고 찰

호산구는 1846년 Wharton Jones에 의해 발견되었으며, 이후 Paul Ehrlich는 산성 염료인 eosin에 의해 염색된다고 하여 호산구라 명명하였다<sup>11)</sup>. 호산구는 백혈구중 가장 비중이 높고, 정상인의 말초혈액내에는 백혈구의 1-3%

**Table 2. Results of LTC<sub>4</sub> generation and ECP release from eosinophils**

| Patient |    | LTC <sub>4</sub> (ng) |            |       |       |       | ECP(ug) |            |      |      |      |
|---------|----|-----------------------|------------|-------|-------|-------|---------|------------|------|------|------|
|         |    | Basal                 | HDM(ug/ml) |       |       |       | Basal   | HDM(ug/ml) |      |      |      |
|         |    |                       | 0.2        | 2     | 20    | 200   |         | 0.2        | 2    | 20   | 200  |
| Control | 1  | 0.09                  | 0.06       | 0.054 | 0.041 | 0.027 | 0.8     | 0.8        | 0.5  | 1.2  | 1.4  |
|         | 2  | 0.021                 | 0.015      | 0.024 | 0.023 | 0.042 | 0.9     | 0.2        | 0.8  | 0.7  | 0.5  |
|         | 3  | 0.032                 | 0.025      | 0.026 | 0.024 | 0.06  | 0.4     | 1.2        | 0.9  | 0.5  | 0.5  |
|         | 4  | 0.023                 | 0.064      | 0.054 | 0.032 | 0.032 | 2.3     | 0.6        | 0.5  | 0.8  | 0.6  |
|         | 5  | 0.021                 | 0.035      | 0.035 | 0.025 | 0.046 | 0.1     | 0.6        | 0.5  | 0.5  | 0.6  |
| Mean    |    | 0.037                 | 0.04       | 0.039 | 0.029 | 0.041 | 0.9     | 0.68       | 0.64 | 0.74 | 0.72 |
| ±SD     |    | 0.029                 | 0.022      | 0.015 | 0.008 | 0.013 | 0.86    | 0.36       | 0.19 | 0.29 | 0.38 |
| E B A   | 6  | 0.04                  | 0.051      | 0.055 | 0.026 | 0.054 | 0.5     | 0.6        | 0.5  | 0.4  | 0.5  |
|         | 7  | 0.052                 | 0.022      | 0.052 | 0.035 | 0.041 | 0.3     | 0.5        | 1.2  | 0.8  | 0.5  |
|         | 8  | 0.021                 | 0.025      | 0.014 | 0.025 | 0.036 | 0.2     | 0.5        | 1.1  | 0.5  | 0.6  |
|         | 9  | 0.035                 | 0.034      | 0.021 | 0.023 | 0.065 | 0.4     | 0.3        | 0.5  | 0.6  | 0.5  |
|         | 10 | 0.071                 | 0.025      | 0.035 | 0.021 | 0.041 | 0.5     | 0.3        | 0.5  | 0.5  | 0.3  |
|         | 11 | 0.036                 | 0.058      | 0.1   | 0.065 | 0.054 | 0.8     | 0.5        | 0.5  | 0.6  | 0.5  |
|         | 12 | 0.028                 | 0.032      | 0.021 | 0.036 | 0.025 | 0.5     | 0.6        | 0.8  | 0.5  | 0.4  |
|         | 13 | 0.051                 | 0.032      | 0.056 | 0.024 | 0.051 | 0.2     | 0.2        | 0.3  | 1.0  | 0.5  |
|         | 14 | 0.012                 | 0.023      | 0.054 | 0.035 | 0.024 | 0.3     | 0.5        | 0.5  | 0.8  | 0.5  |
| Mean    |    | 0.038                 | 0.034      | 0.045 | 0.032 | 0.043 | 0.4     | 0.44       | 0.66 | 0.63 | 0.48 |
| ±SD     |    | 0.018                 | 0.013      | 0.026 | 0.014 | 0.014 | 0.19    | 0.14       | 0.31 | 0.19 | 0.08 |

만이 존재하므로, 천식을 비롯한 호산구과다증을 동반하지 않는 경우 이들을 순수 분리하는 것은 쉽지 않다. 이들의 분리는 저자와 같이 인체와 삼투압이 같은 percoll을 사용하거나<sup>7)</sup>, 혹은 삼투압이 500mOsm 정도인 metrizamide를 사용하는<sup>12)</sup> 비중에 따른 분리법이 있으며 metrizamide를 이용한 경우 순수 분리도는 조금 더 높은 편이긴 하지만 삼투압이 호산구에 어떤 영향을 미치는지는 알 수 없다. 최근에는 CD16을 이용한 immunomagnetic bead에 의한 negative selection을 하면 순수분리도가 95% 이상일 뿐 아니라 분리 과정에서 활성화도 일어나지 않으므로 가장 바람직하기는 하나 분리 비용이 많이 든다<sup>13)</sup>.

호산구의 활성화는 질환에 따라 인체에 상반된 기능을 나타내는데 즉 기생충 질환에서는 기생충을 살상하는 유익한 세포로<sup>14)</sup>, 천식에서는 기도내 만성염증질환을 주도하는 유해한 세포로 작용을 한다<sup>2)</sup>. 이러한 활성화 과정은 대개 항원과 호산구 표면의 각각의 수용체와의 결합에 의해 이루어지기는 하나, 천식을 포함하여 몇몇 질환에서는 아직 명확히 규명되지 않고 있다. 이와 같이 단지 천식에서는 호산구가 활성화될 것이라는 점과 활성화된 호산구의 역할만이 규명되었을 뿐이다. 호산구는 활성화되면 세포막에서는 인지질로부터 프로스타글란딘이나 leukotriene, PAF 등의 화학매체가 생성 유리되며, 세포질로부터는 여러가지 세포독성단백들이 유리된다. 익히 알려진 바와 같이 천식에서의 이들의 역할은 후기기도수축, 객담의 생성에서부터 기도 상피세포 박탈에 이르기까지 천식의 전형적인 증상 및 증후에 관련한다<sup>2, 3)</sup>.

세포질로부터 만들어지는 화학매체들 중 5-LO(lipoxygenase)에 의해 생성되는 LT는 호중구에 비해 호산구에서 주로 만들어지며<sup>15)</sup> 정상인의 호산구에 비해 천식 환자의 호산구에

서 더 많이 생성되는데<sup>16)</sup>, 비교적 안정적(stable)이고 상품화된 kit가 있어 호산구의 세포막 활성화를 측정하기에는 적당한 지표라 할 수 있다. 세포질로부터 유리되는 세포독성단백은 MBP, ECP, END, EPO, EPX 등의 여러 가지가 있고, 호산구의 자극원에 따라 분비되는 단백질의 종류가 다르다는 주장도 있으나<sup>17)</sup>, 현재 정량적으로 측정 가능한 것은 MBP, ECP뿐이며, 이 중 MBP는 특정 실험실에서만 측정 가능하고, ECP만이 상품화된 kit가 있다. 천식반응시 혈중 뿐 아니라 기관지폐포세척액내에서도 ECP가 증가되었다는 보고 등이 있어 천식반응시 호산구 활성화 여부를 알아보는데 저자와 같이 ECP를 측정하는 것은 타당하다고 생각된다<sup>17)</sup>. 또한 전지현미경으로 호산구를 관찰하면 세포질 내에 고유의 과립 즉 중심부에 진하게 염색되는(electron-dense) internum과 주변부는 연하게 염색되는 matrix로 둘러싸인 crystalloid 과립을 함유하고 있으며, 이외에도 세포질 내에 소과립을 함유하고 있다. 호산구가 활성화되면 탈과립 현상이 일어나므로 과립이 존재하던 위치는 공포가 남게 되므로 저자와 같이 이러한 공포의 수를 계측함으로써 호산구 활성화를 직접 확인할 수도 있다<sup>9)</sup>.

천식 특히 외인성(알레르기성) 천식은 감염된 알레르겐과 세포표면에 부착된 IgE 수용체와의 교각에 의해 이루어지는 제1형 과민반응이다. 그러므로 체내뿐 아니라 체외에서도 IgE 수용체가 부착된 비반세포를 감염된 알레르겐으로 자극하면 활성화되어 이들로부터 히스타민 등의 화학매체가 유리되는 것을 볼 수 있다. 한편 비반세포 표면의 IgE 수용체가 고친화성(high affinity)인 반면 호산구 표면에는 저친화성(low affinity)인 FcεRII가 부착되어 있다<sup>5)</sup>.

본 연구에서는 집먼지진드기에 감염된 천식 환자의 말초혈액으로부터 분리한 정상밀도 호

산구를 집먼지진드기로 자극한 결과 세포막으로부터  $LTC_4$  뿐 아니라 세포질로부터 ECP도 유리되지 않았으며, 전자현미경으로 관찰한 결과도 자극 전후의 형태 변화를 찾을 수 없어 집먼지진드기에 의해 정상밀도 호산구는 활성화되지 않는 것을 확인하였다. 외인성(알레르기성) 천식은 감각된 알레르겐과 세포 표면에 부착된 IgE 수용체와의 교각에 의해 이루어지는 제 1형 과민반응이므로 체내 뿐 아니라 체외에서도 IgE 수용체가 부착된 비만세포를 감각된 알레르겐으로 자극하면 활성화되어 이들로부터 히스타민등의 화학매체가 유리된다<sup>18)</sup>. 이렇게 비만세포 표면의 IgE 수용체가 고 친화성(high affinity)인 반면 호산구 표면에는 저 친화성(low affinity)인 FcεRII가 부착되어 있기 때문에 알레르겐과의 결합력이 낮고 알레르겐에 의한 화학매체 유리 없는 것으로 생각해 볼 수 있겠다. 그러나 *Shistosoma* 감염시 호산구는 IgE 수용체를 통해 활성화되어 세포질로부터 유리된 세포독성단백에 의해 *Shistosoma*에 독성을 나타낸다고 하는 보고를 보면<sup>20, 21)</sup>에 따라 호산구 표면의 IgE 수용체를 통해 호산구가 활성화되기도 하는 것을 보면 항원의 종류에 따른 차이일 가능성도 있다.

한편, 활성화 전의 정상밀도 호산구에 비해 활성화된 저밀도 호산구가 대사율이 높을 뿐 아니라  $LTC_4$ 나, superoxide 등의 형성을 더 많이 하였다는 보고를 보면<sup>22-24)</sup> 호산구의 활성화는 priming이 된 저밀도 호산구 표면의 수용체와 자극원이 결합함으로써 이루어지는 것이 아닌가 생각된다. 본 연구에서 사용된 것이 정상밀도 호산구이기 때문에 활성화되지 않았을 가능성도 배제할 수는 없는데, 이는 향후 집먼지진드기에 감각된 천식 환자에게 BAL을 시행하여 얻은 저밀도 호산구를 집먼지진드기로 자극하여, 보면 확인할 수 있을 것으로 생각된다.

최근에  $\alpha$  - chain의 호산구 표면에 존재한다고

알려진 FcεRII와는 달리 비만세포나 호염기구에 존재하는 FcεRI이 존재하며 이를 통해 호산구가 활성화된다는 보고도 있다. 그러나,  $\alpha$  - chain에 대한 단세포항체를 이용한 flow cytometry 결과 특발성 호산구과다증 환자의 13~73%의 호산구에서  $\alpha$  - chain만이 존재하는 것을 밝혀, 비만세포나 호염기구 표면의  $\alpha$  - chain 한개,  $\beta$  - chain 한개,  $\gamma$  - chain 두개의 완전한 tetramer 형태의 FcεRI과는 달리 불완정 형으로, 불특정 다수의 세포에만 존재함을 시사하였다<sup>6)</sup>. 이와 같이 FcεRI이 존재한다면 이는 알레르겐에 의해 호산구가 직접 활성화되지 않는 본 연구와는 서로 상반된 결과이다. 본 연구에서는 천식에서의 호산구가 IgE에 의해 매개된 알레르겐에 의해 활성화되지는 않는 것 같으나 이 문제는 향후 앞서의 문제점등을 포함하여 다각적으로 연구하여 명확히 밝혀져야 할 과제인 것 같다.

## 결 론

외인성 천식 환자에서 감각된 항원이 천식의 주된 염증세포인 호산구를 직접 활성화시키는 지를 알아보고 이를 통해 호산구 표면의 FcεRI의 존재 가능성 여부를 추정해 보고자 집먼지진드기에 강하게 감각된 천식 환자의 말초혈액 호산구를 Percoll을 이용하여 순수 분리한 후 체외에서 집먼지진드기로 자극하여 상층액 내의  $LTC_4$ 와 ECP를 측정하고, 전자현미경으로 탈과립 등의 형태 변화를 관찰하였다. 집먼지진드기에 감각된 천식 환자군에서 집먼지진드기( $0.2 \sim 200 \mu\text{g/ml}$ )로 자극한 호산구로부터 생성된  $LTC_4$ 치는 자극전의 기저 호산구로부터 생성된  $LTC_4$ 치에 비해 유의하게 증가하지 않았으며( $p > 0.05$ ), 각각의 대조군과도 차이가 없었다( $p > 0.05$ ). 또한 호산구 세포질로부터

유리된 ECP치도 차이가 없었으며( $p>0.05$ ), 형태적 변화도 관찰할 수 없었다. 이상의 결과를 종합해 보면 집먼지진드기는 이에 감작된 천식 환자에서 정상밀도 호산구를 직접 활성화시키지 않는 것을 알 수 있었다 이로써 잠정적으로 호산구표면에는 FcεRI이 존재하지는 않을 것으로 생각되나 이 문제는 향후 분자생물학기법 등을 이용하여 보다 직접적인 방법을 통해 명확히 밝혀야 할 것 같다.

**감사의 글:** 본 연구에 사용한 집먼지진드기 전충제 항원을 제공해 주신 연세대학교 의과대학 내과학교실 홍천수 교수님께 지면을 통해 감사드립니다.

**-Abstract-**

**House dust mite dose not directly activate the human peripheral blood eosinophils in house dust mite-sensitized asthmatics**

Mi-Kyeong Kim M.D., Ph.D.

*Department of internal medicine,  
Choongbuk National University  
School of Medicine, Cheongju, Korea*

In asthma, eosinophil roles as main end inflammatory effector cell, but neither the activation

process nor the stimuli of that is known clearly, yet. Even though allergic asthma is IgE-mediated type I hypersensitivity disease, it is not clear whether there is FcεRI on the surface of eosinophil like mast cell or basophil which is activated through the FcεRI bridging with sensitized allergens.

In this study, we speculate if there's FcεRI on the eosinophil, sensitized allergen activates it like mast cell in allergic asthmatics, and with this result we can find out one of the stimuli of eosinophil in asthma and can suggest the possibility of the existence of FcεRI on the eosinophil. We did direct stimulation of the house dust mite-sensitized asthmatics' purified peripheral blood normodense eosinophils with *Dermatophagoides pteronyssinus*. Then we measured the LTC<sub>4</sub> and ECP from the supernatant by RIA kit and observed the morphological changes with electron microscopy.

There was neither increase in LTC<sub>4</sub> and ECP level nor the morphological changes in asthmatics. And there were no significant differences in both LTC<sub>4</sub> and ECP level, and morphologic changes between asthmatics and controls. We would summarize that house dust mite dose not directly activate eosinophil from house dust mite-sensitized asthmatics and couldn't find out the possibility that there's FcεRI on the surface of eosinophils. But no existence of FcεRI on the eosinophil is the indirect evidence, so from now on we try to find more direct evidence of that by blotting.

**key words:** asthma, eosinophil activation, house dust mite

## 참 고 문 헌

- 1) National asthma education program. Expert Panel Report: Guidelines for the diagnosis and management of asthma. J Allergy Clin Immunol 88:425-44, 1988
- 2) Gleich GJ: The eosinophil and bronchial asthma: current understanding. J Allergy Clin Immunol 85:422, 1990
- 3) Durham SR, Loegering DA, Dunnette S, Gleich GJ, Kay AB: Blood eosinophils and eosinophil-derived proteins in allergic asthma. J Allergy Clin Immunol 84:931-6, 1989
- 4) Anwar ARE, Kay AB: Membrane receptor for IgG and complement (C4, C3b and C3d) on human eosinophils and neutrophils and their relation to eosinophilia. J Immunol. 119:976-82, 1977
- 5) Capron M, Kusnierz JP, Prin L: Cytophilic IgE on human blood and tissue eosinophils: detection by flow microflowmetry. J Immunol 134:3013-8, 1985
- 6) Goumami AS, Lamkhieoued B, Delaporte E, Dubost A, Kinet JP, Capron A, Capron M: The high-affinity IgE receptor on eosinophils: From allergy to parasites or from parasites to allergy? J Allergy Clin Immunol 94:1214-6, 1994
- 7) Fukuda T, Dunnette SL, Reed CE: Increased numbers of hypodense eosinophils in the blood of patients with bronchial asthma. Am Rev Respir Dis 132:981-3, 1985
- 8) 박중원, 남동호, 홍천수: 성인 호흡기 알레르기 환자에서의 집먼지진드기 (*D. farinae*) 의 주 알레르겐 두 종 (Der fI, Der fII) 에 대한 특이 IgE 의 측정. 알레르기 13:476-86, 1993
- 9) 김미경, 김유영: 기관지 천식에서 호산구 활성화 및 화학주성에 미치는 혈소판활성인자의 역할. 알레르기 12:270-84, 1992
- 10) Milller F, DeHarven E, Palade GE: The structure of the eosinophil leukocyte granules in rodents and in man. J Cell Biol 31:349-52, 1966
- 11) Gleich GJ, Adolphson CR: The eosinophilic leukocyte: structure and function. Adv Immunol 39:177, 1986
- 12) Joseph EP, Fauci AS: Human eosinophils, purification and cytotoxic capability of eosinophils from patients with the hypereosinophilic syndrome. Blood 51:457-63, 1978
- 13) Hansel TT, Pound JD, Pilling D: Purification of human blood eosinophils by negative selection using immunomagnetic beads. J Immunol Meth 122:97-101, 1989
- 14) Jong EC, Mahmoud AAF, Klebanoff SJ: Peroxidase-mediated toxicity to schistosomula of *Schistosoma mansoni*. J Immunol 126:468-74, 1981
- 15) Weller PF, Lee CW, Foster DW: Generation and metabolism of 5-lipoxygenase pathway leukotriene by human eosinophils: predominant production of leukotriene subscript Proc Natl Acad Sci USA 80:7626-700, 1983
- 16) Taniguchi N, Mita H, Saito H: Increased generation of leukotriene subscript from eosinophils in asthmatics patients. Allergy 40:571-6, 1985
- 17) Capron M, Leprevst C, Prin L: Immunoglobulin mediated activation of eosinophil, In Morley J, Colditz I (ed): Eosin-

- ophil in Asthma. p 49—60, Academic Press, London, NY, Tokyo, 1989
- 18) Rak S, Lowhagen O, Venge P: The effect of immunotherapy on bronchial hyperresponsiveness and eosinophil cationic protein in pollen—allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 82:470—8, 1988
- 19) 최병휘, 민경업, 김유영 : 기관지천식 환자의 호염기구로부터의 항원매개성 히스타민 유리능. *알레르기* 8:215, 1988
- 20) Capron M, Spiegelberg HL, Prin L: Role of IgE receptors in effector function of human eosinophils. *J Immunol* 132:462—70, 1984
- 21) Kojima S, Yamamoto N, Kanazawa T: Monoclonal IgE—dependent eosinophil cytotoxicity to haptenated schistosomula of *Schistosoma japonicum*: enhancement of cytotoxicity and expression of Fc receptors for IgE by *Nippostrongylus brasiliensis* infection. *J Immunol* 134:2719—923, 1985
- 22) Shaw RJ, Walsh GM, Cromwell O: Activated human eosinophils generate SRS—A leukotrienes following IgG—dependent stimulation. *Nature* 316:150—3, 1985
- 23) Pincus SH, Schooley WR, DiNapoli AM: Metabolic heterogeneity of eosinophils from normal and hyperesoinophilic patients. *Blood* 58:1175—81, 1981
- 24) Lopez AF, Williamson DJ, Gamble JR: Recombinant human granulocyte—macrophage colony—stimulating factor stimulates in vitro mature human neutrophil and eosinophil function, surface receptor expression, and survival. *J Clin Invest* 78:1220—5, 1986