

성인 호흡기 알레르기 환자에서 집먼지 진드기(*D. farinae*)의 주 알레르겐 두종(*Der FI*과 *Der FII*)에 대한 특이 IgE의 측정

연세대학교 내과
박중원 · 남동호 · 홍천수

서 론

집먼지 진드기와 기관지 천식과의 관계는 Ancona¹⁾에 의해서 처음으로 제시되었으며 그는 집먼지 진드기로 심하게 오염된 밀가루에 의한 직업성 기관지 천식환자를 보고하였다. 한편 Decker²⁾도 집먼지에 의한 알레르기의 실제적인 원인은 집먼지속에 서식하는 진드기 때문일 것이라고 주장하였으나 다른 사람들의 관심을 받지 못하고 있다가 1967년 Voorhost 등³⁾ 이 집먼지속에 많은 수의 진드기가 서식하고 있음을 조사하고 이것이 집먼지 알레르기의 주요 원인임을 보고한 후 세계적인 관심을 불러 일으키게 되었으며 현재는 호흡기 알레르기 질환의 가장 중요한 원인 알레르겐으로 인정되고 있다^{4,7)}. 집먼지 진드기 내에는 51개의 항원 성분이 있으며 이중 32개의 단백질이 알레르겐으로 밝혀져 있다⁸⁾. 최근에는 단백 분해 효소를 이용한 chromatography 방법으로 집먼지 진드기의 항원 성분이 분리되어 집먼지 알레르기 질환 연구에 큰 도움이 되고 있으며⁹⁻¹²⁾ 현재까지 3가지의 성분이 순수 분리되어 화학적 성질과 분자 구조등이 밝혀져 있다. 이들중 group I과 group II 알레르겐이 주 알레르겐으로 밝혀져

있으며 electroblotting 법에 의한 정성 분석 연구에 의하면 group II 알레르겐이 더 강한 반응을 보이는 것으로 알려져 있다¹³⁻¹⁵⁾. 우리나라 집먼지는 지역적인 차이가 있지만 *D. farinae*가 *D. pteronissinus*보다 더 널리 서식하는 것으로 조사되었으며¹⁶⁻¹⁹⁾ 알레르기 피부 반응 검사 결과 또한 *D. farinae*가 일반적으로 더 중요한 원인 집먼지 진드기로 알려져 있다²⁰⁾. 그러므로 저자는 집먼지 진드기 *D. farinae*의 두가지 주 알레르겐(*Der fI*) 및 (*Der fII*)과 전층제 항원(WBE로 약함)에 대한 특이 IgE를 정량 및 정성 분석이 가능한 ELISA법으로 성인 호흡기 알레르기 환자의 혈청에서 측정하여 우리나라 환자들에 있어 알레르기의 원인으로 가장 중요한 집먼지 진드기 알레르겐 성분을 규명하고자 한다.

연구 방법

1. 대상혈청

연구에 사용한 환자의 혈청은 연세대학교 의과대학 세브란스 병원 특수진료소 알레르기 클리닉에 내원하여 호흡기 알레르기 질환으로 진단받고 집먼지 진드기 알레르기 피부 반응검사를 시행한 성인환자 134명에서 채혈한 혈액의 혈청을 분리하여 영하 20℃에서 냉동 보관하였다가 실험에 사용하였다.

“이 논문은 1992년도 교육부지원 한국학술진흥재단의 자유공모(지방대학육성)과제 학술연구조성비에 의하여 연구되었음.”

-박충원들: 성인호흡기 알레르기 환자에서 집먼지 진드기(*D. farinae*)의 주 알레르겐 두종(*Der FI*과 *Der FII*)에 대한 특이 IgE의 측정-

1. 항 원

Dermatophagoides farinae 전충체 항원은 저자 등이 순수 배양한 집먼지 진드기(*D. farinae*)의 배지에서 진드기 충체만을 순수하게 채집하여 냉동 건조시키고 이것을 PBS(phosphate buffered saline)로 냉장실에서 72시간 추출한 후 증류수에 투석하여 탈염후 냉동 건조하여 조항원으로 만들어 사용하였다.

순수 분리한 *Der fI* 및 *Der fII*는 동경대학교 의과대학 물료내과의 Okudaira교수가 기증한 시료를 이용하였다.

2. 특이 IgE 측정

집먼지 진드기 전충체 항원과 *Der fI* 및 *Der fII*에 대한 특이 IgE는 ELISA법으로 측정하였다. 0.05M carbonate buffer(pH 9.6)에 항원을 희석시켜 50 μ l(WBE 2 μ g/well, *Der fI*과 *Der fII*는 10ng/well)씩 microtiterplate에 넣은 후 영상 4 $^{\circ}$ C의 냉장실에서 18시간 동안 방치하였다. PBS-T로 3회 세척한 후 단백질의 비특이적 결합을 방지하기 위하여 1% BSA(bovine serum albumin)-PBS-T(phosphate buffered saline-tween) 250 μ l로 2시간 실온에서 반응시켜 plate의 well을 모두 차단하였다. 희석하지 않는 혈청을 각 well 당 50 μ l 씩 넣고 실온에서 1시간 반응시킨 후 PBS-T로 3회 씻고 biotinylated antihuman IgE를 1:1,000 w/v 희석한 용액을 100 μ l 씩 넣고 1시간 실온에서 반응시켰다. PBS-T로 3회 씻은 후 avidin conjugated peroxidase(SIGMA, USA) 1:1,000w/v 희석액을 100 μ l씩 넣고 30분간 실온에서 반응시킨 후 PBS-T로 5회 세척하고 ABTS [2,2-azio-di-(3-ethylbethiazolin sulfonic acid)(Sigma A1888) 55mg을 70mM citrate phosphate buffer(pH 4.2) 100ml에 녹이고 사용시 이 용액 1ml당 30% H₂O₂ 1 μ l씩 혼합하여 사용함] 100 μ l로 5분간 발색시킨 후 2mM sodium azide 100 μ l로 반응을 중단시켰다. 이것을 microtiterplate reader 600(Dynatec lab. Alexandria, Virginia, USA)로 410nm에서 흡광도를 측정하였다. 본 실험을 위한 최적의 항원 희석농도를 결정하기 위하여 RAST

class 4 혈청 pool을 만들어 예비 실험을 시행하였다.

3. 억제시험

호흡기 알레르기 환자 혈청에서 측정된 WBE, *Der fI*, *Der fII* 특이 IgE의 특이성을 알아보기 위하여 억제 시험을 실시하였다. WBE 항원 억제 시험은 본 항원 20 μ g과 환자의 혈청 100 μ l과 혼합한 후 4 $^{\circ}$ C 냉장고에서 18시간 반응시켰다. 대조군으로 환자 혈청 100 μ l를 0.1M carbonate buffer(pH 9.6)와 혼합하여 동일한 환경에서 반응시켰다. 그후 대조혈청과 WBE 항원으로 처리한 환자 혈청에서 특이 IgE는 앞서 기술한 ELISA 법으로 측정하였다. *Der fI*과 *Der fII* 억제시험은 각 항원 20ng과 환자 혈청 100 μ l을 같은 방법으로 혼합시켜 반응시킨 후 특이 IgE를 측정하였다.

4. 통계처리

통계처리는 Linear regression 분석, paired test, X²-test 및 one-way 분석을 시행하였다.

결 과

1. 정상대조군에서의 집먼지 진드기 WBE, *Der fI* 그리고 *Der fII* 알레르겐에 대한 특이 IgE 측정

정상 대조군 18례를 대상으로 집먼지 진드기 WBE, *Der fI*, *Der fII* 알레르겐에 대한 특이 IgE를 ELISA 방법에 의해 410nm에서 흡광도를 측정한 바 WBE 특이 IgE는 0.011 $\pm$ 0.004(평균 $\pm$ 표준편차)로 평균값에 표준편차를 2배 더해준 값인 0.020를 양성 판정기준으로 설정하였다. *Der fI*과 *Der fII* 특이 IgE의 흡광도는 각각 0.004 $\pm$ 0.002, 0.007 $\pm$ 0.002로 양성 반응 판정기준을 0.015로 정하였다.

2. 집먼지 진드기 항원에 대한 피부 반응도에 따른 집먼지 전충체 항원 *Der fI* 및 *Der fII*의 특이 IgE 양성률

호흡기 알레르기 환자 134례를 대상으로 집먼지 진드기 항원에 대한 피부 반응도에 따른 WBE,

Der fI 및 *Der fII*의 특이 IgE 양성율을 조사하였다. 피부 반응검사서 음성 반응을 보인 31예중 WBE 특이 IgE가 검출된 환자는 5례(16%)였으며, *Der fI*과 *Der fII* 특이 IgE는 각각 1례(3%)에서 검출되었다. 반면에 집먼지 진드기 전총체 추출물 피부 반응도가 양성인 103례 중 WBE 특이 IgE는 86례(83%)에서, *Der fI*과 *Der fII* 특이 IgE는 62례(60%), 63례(61%)에서 검출되었다. 이들 집먼지 진드기 피부 반응도(알레르겐/히스타민 비)에 따른 WBE, *Der fI* 및 *Der fII* 특이 IgE 양성율을 X² 분석을 시행한 바 유의한 상관관계가 있음을 확인하였다.

Table 1. Detection cases of specific IgE to WBE, *Der fI* and *Der fII* according to skin reactivity of *D. farinae*

Skin reactivity	-	1+	2+	3+	4+	5+	Total
	(31)	(13)	(19)	(16)	(12)	(43)	(134)*
WBE	5 (16%)	6 (46%)	14 (74%)	13 (81%)	11 (92%)	42 (98%)	91 (68%)
<i>Der fI</i>	1 (3%)	0 (0%)	5 (26%)	5 (38%)	10 (83%)	42 (98%)	63 (47%)
<i>Der fII</i>	1 (3%)	1 (8%)	3 (16%)	7 (44%)	10 (83%)	42 (98%)	64 (48%)

X²<0.05, ()*:No. of patients

3. 집먼지 진드기 항원에 대한 피부 반응도에 따른 WBE, *Der fI* 및 *Der fII* 특이 IgE의 분포

집먼지 진드기 피부 반응도에 따른 WBE/*Der fI*/*Der fII* 특이 IgE의 값을 조사하였다. 피부 반응 검사서 음성반응을 보인 군에서의 WBE/*Der fI*/*Der fII* 특이 IgE 값은 각각 0.014/0.005/0.005이었고 피부 반응도가 1+군은 0.022/0.009/0.013, 2+군은 0.069/0.009/0.013, 3+군은 0.212/0.013/0.172, 4+군은 0.780/0.110/0.687, 5+군은 0.712/0.150/0.845이였으며 피부 반응도가 높을수록 *Der fII* 특이 IgE가 *Der fI* 특이 IgE에 비하여 현저하게 증가됨을 관찰할 수 있었다.

4. *Der fI* 특이 IgE와 *Der fII* 특이 IgE 간의 연관성

호흡기 환자 134례의 혈청에서 *Der fI*과 *Der fII* 특이 IgE의 연관성을 알아보기 위해 Linear re-

gression 분석을 시행한 바 상관계수가 0.4591이며 통계학적으로 유의한 연관성이 있음을 확인할 수 있었다. 그러나 6례의 혈청은 *Der fI* 특이 IgE가 검출되지 않고 *Der fII*만 양성이었고 또 다른 5례에서는 반대로 *Der fI*만 검출되었다(Fig. 1).

Table 2. The mean value of specific IgE to WBE, *Der fI* and *Der fII* according to skin reactivity of *D. farinae*

Specific IgE to	Skin reactivity of <i>D. farinae</i>					
	-	1+	2+	3+	4+	5+
WBE	0.014 ± 0.009	0.022 ± 0.010	0.069 ± 0.009	0.212 ± 0.013	0.780 ± 0.110	0.712 ± 0.150
<i>Der fI</i>	0.005 ± 0.004	0.009 ± 0.004	0.009 ± 0.006	0.013 ± 0.010	0.110 ± 0.089	0.150 ± 0.232
<i>Der fII</i>	0.005 ± 0.038	0.013 ± 0.011	0.013 ± 0.016	0.172 ± 0.414	0.687 ± 0.752	0.845 ± 0.603

O.D. value at 410nm

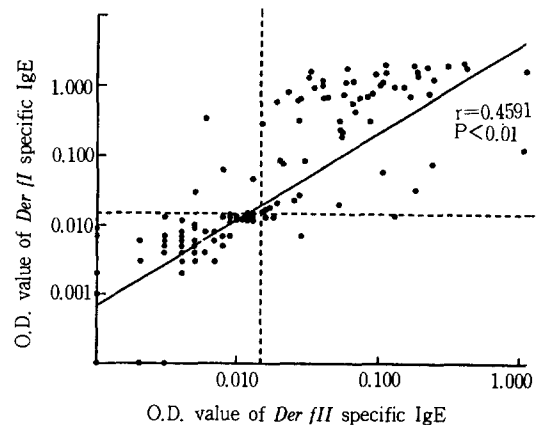


Fig. 1 Correlation between the *Der fI* specific IgE and *Der fII* specific IgE

5. 집먼지 진드기 전총체 항원에 의한 억제실험

호흡기 알레르기 환자 7례를 대상으로 각각의 혈청 100μl를 WBE 항원 20μg과 혼합하여 억제시킨 환자 혈청과 carbonate buffer(pH 9.6) 50μl로 전처리한 대조 혈청간에 WBE, *Der fI* 및 *Der fII* 특이 IgE 값을 측정후 이를 paired T-test로

분석하였다. WBE 특이 IgE가 양성인 7례의 특이 IgE O.D.의 기하 평균값은 0.456였으며 이들 모두 WBE항원에 의해 현저하게 억제되어 기하 평균값이 0.022로 의미있게 저하되었다. *Der fI* 특이 IgE의 경우에도 대조 혈청의 *Der fI* 특이 IgE의 기하 평균값 O.D. 값 0.075이 WBE 항원에 의한 억제 반응후 0.012로 그리고 *Der fII* 특이 IgE가 양성인 7례도 대조 혈청의 *Der fII* 특이 IgE의 기하 평균 O.D. 값이 0.682에서 억제 반응 후 0.029로 모두 의미있게 저하되었다(Fig. 2).

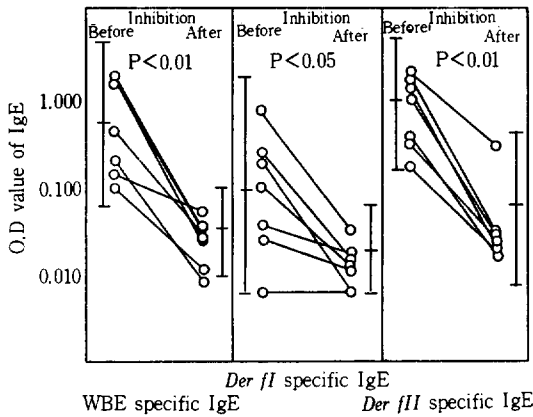


Fig. 2 Inhibition of WBE, *Der fI* and *Der fII* specific IgE with whole body extract of *D. farinae*

6. 집먼지 진드기의 주 알레르겐의 *Der fI* 항원에 의한 억제 실험

호흡기 알레르기 환자 7례의 혈청 100 μ l를 집먼지 진드기 *Der fI* 항원 20ng과 혼합하여 억제된 환자 혈청과 대조 혈청간에 WBE, *Der fI*, *Der fII* 특이 IgE 측정값을 비교하였다. *Der fI* 특이 IgE가 검출된 4례는 *Der fI* 항원과 반응 후 현저하게 억제되어 대조 혈청의 특이 IgE 기하 평균값이 0.039에서 0.007로 의미있게 저하되었다. 그러나 WBE 특이 IgE는 *Der fI* 항원에 의해 기하 평균 O.D. 값이 0.497에서 0.447로 저하되었으나 통계학적 의미는 없었으며 *Der fII* 특이 IgE도 또한 대조 혈청의 기하 평균값이 0.094에서 억제후 0.066로 소량 저하되었으나 통계학적 의미는 없었다(Fig. 3).

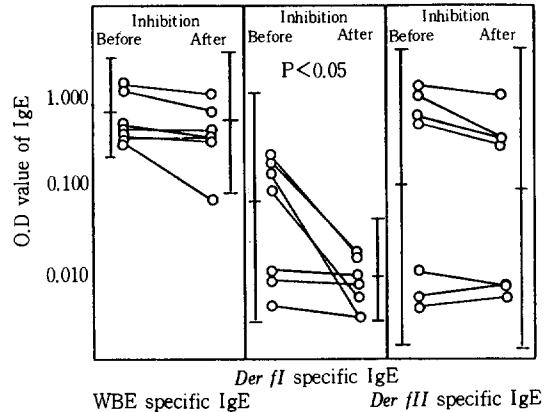


Fig. 3 Inhibition of WBE, *Der fI* and *Der fII* specific IgE with *Der fI*

7. 집먼지 진드기의 주 알레르겐인 *Der fII* 항원에 의한 억제 실험

위에서와 같은 방법으로 호흡기 알레르기 환자 7례의 혈청 100 μ l를 집먼지 진드기 *Der fII* 항원 20ng과 혼합하여 억제된 환자 혈청과 대조 혈청간에 WBE, *Der fI*, *Der fII* 특이 IgE 측정값을 비교하였다. *Der fII* 특이 IgE가 양성인 4례의 혈청은 *Der fII* 항원에 의해 현저하게 억제되어 대조 혈청의 기하 평균 O.D. 값 0.094이 반응 후에는 0.008로 의미있게 저하되었고 WBE 특이 IgE도 또한 대조혈청의 기하 평균값이 0.497에서 0.3516로 의미있게 억제되었다. 반면에 *Der fI* 특이 IgE의

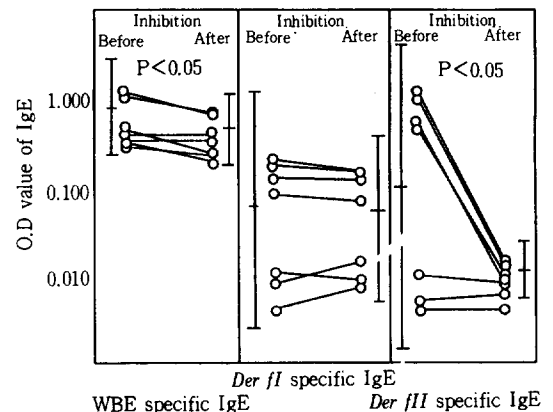


Fig. 4 Inhibition of WBE, *Der fI* and *Der fII* specific IgE with *Der fII*

기하 평균값은 0.039에서 0.040로 *Der fII* 항원에 의해 억제되지 않았다.

고 찰

집먼지 진드기의 알레르겐에 대한 연구는 초기에는 cross immuno electrophoresis법으로 조사되어 33개부터 최고 51개의 항원이 있다고 알려져 있고^{8,21)}, electroblotting 검사를 시행한 바 95kD, 56kD, 54kD, 32kD, 30kD, 26kD, 25kD, 16kD, 15kD가 중요 알레르겐으로 규명되었다^{12,13,15)}. 이 알레르겐들 중 순수하게 정제되어 그 화학적 성질과 분자 구조가 밝혀진 것은 3가지로 분리된 순서에 따라 분류하며 group I에는 *Der pI*, *Der fI*, *Der mI*이 있으며 분자량이 25,000 dalton으로 밝혀졌다. Group I 알레르겐은 각각에 대하여 단클론 항체가 만들어졌으며 이를 이용하여 집먼지 또는 항원 추출액내의 항원량(group I)을 정확히 측정하는데 이용되고 있다²²⁾. Group II 알레르겐은 *Der pII*, *Der fII*로 분자량은 14,000-15,000 dalton이며 진드기 몸체에서 추출할 수 있으며 서로 분자 구성이 매우 유사하여 아직 각각에 대한 단클론 항체는 만들지 못한 실정이다¹²⁾. Group III 알레르겐은 *Der pIII*, *Der fIII*이 있으며 분자량은 29,000 dalton으로 조사되었고 단백질 분해 효소이며 다른 성질에 대해서는 아직 보고되지 않았으며 이들 알레르겐 중 group I과 group II 알레르겐이 가장 중요한 원인 항원으로 알려져 있다^{8,23-25)}. 국내에서도 집먼지 진드기가 여러가지 알레르기 질환에서 가장 중요한 원인 알레르겐으로 관여한다고 하며 성인 뿐 아니라 소아에서도 가장 중요하다고 보고되었다^{4,26-28)}. 그러므로 저자들은 이 연구를 통하여 집먼지 진드기에 대한 피부 감작정도와 두 가지 주 알레르겐에 대한 특이 IgE의 검출율 및 그 농도를 비교하여 보고저 하였다.

일반적으로 group II 알레르겐이 group I 보다 더 중요한 알레르겐으로 알려져 있다. Baldo 등¹³⁾에 의하면 집먼지 알레르기 환자 혈청중 50% 이상에서 반응을 보인 것은 32, 30, 26, 16, 15kD 등 5개의 단백 분획으로 group II 알레르겐으로 사료되

는 16kD 분획이 88% 혈청과 결합한 반면에 group I 알레르겐인 25kD의 단백은 42%에서 반응을 보여 group II 알레르겐이 더 중요한 것으로 보고하였으며 Heymann 등¹²⁾은 *Der fI*과 *Der fII* 특이 IgE 검출율을 각각 78% 대 92%로 *Der fII* 특이 IgE 검출률이 높은 것으로 보고하였다. 국내에서도 Hong 등¹⁵⁾이 electroblotting 방법으로 집먼지 진드기 알레르기 환자 47례의 혈청을 대상으로 *D.farinae*의 각 항원 성분에 대한 양성률을 조사한 것에 의하면 *Der fII*로 생각되는 14-15kD 단백 분획에 검사한 47례의 혈청(RAST class 4) 중 46혈청(95.7%)이 반응하였으며 *Der fI*으로 사료되는 24-25kD는 27.7%, *Der fIII*은 19.1%에서 검출되었다 하며 이 등¹⁴⁾도 이와 유사한 결과를 보고하였다. 그러나 이러한 연구 결과는 immunoelectroblotting법에 의한 것으로 방법의 특성상 정성적인 연구에 국한될 수 밖에 없으며 알레르겐의 중요성을 확실하게 비교 검토하기 위해서는 좀 더 예민한 방법을 이용하여 자세한 연구가 필요하다. 이에 대해 본 연구는 ELISA 방법으로 특이 IgE를 측정하여 정량 및 정성 분석이 가능하였다. 본 연구에서는 집먼지 진드기 항원으로 시행한 피부 단자 검사에 음성 반응을 보인 군의 *Der fI*과 *Der fII* 특이 IgE 양성률이 각각 3%인 반면에 양성 피부 반응군에서는 각각 60%, 61%로 *Der fI*, *Der fII* 모두 집먼지 진드기 알레르기 질환의 주요 원인 알레르겐임을 알 수 있었으며 특히 피부 반응도가 4+ 이상인 55례중 53례에서 *Der fI*, *Der fII*가 검출되어 앞서 연구자의 보고와는 달리 집먼지 진드기 알레르기 질환에서 이들 알레르겐의 양성 빈도에서 차이가 없었다. 그러나 집먼지 진드기 전총체 추출물 피부 반응도가 높은 환자군에서 비록 두 주 알레르겐의 양성률에서는 차이가 없었지만 *Der fII* 특이 IgE 측정값이 *Der fI* 특이 IgE 값보다 월등히 높았다. 앞서 보고한 연구자들은 저자들이 사용한 ELISA법에 의한 특이 IgE 측정보다 민감도가 낮고 정성 분석만 가능한 immunoelectroblotting 검사법으로 집먼지 알레르기 환자의 혈청에서 *Der fI*과 *Der fII* 특이 IgE 양성률을 측정한 바 혈중 농도가 *Der fII*에 비교하여 현저하게 낮은 *Der fI*

특이 IgE의 양성률이 실제보다 낮게 측정되었으리라 생각되었다.

집먼지 진드기 특이 IgE가 검출된 환자들은 대부분 *Der fI*과 *Der fII* 모두에 대해서 양성 반응을 보였고 특이 IgE 검출률도 차이가 없어서 집먼지 알레르기 질환의 원인 알레르겐으로 *Der fI*, *Der fII* 항원이 전부 관여하는 것을 알 수 있었다. 그러나 *Der fI*과 *Der fII* 특이 IgE 양성률은 비록 차이가 없지만 피부 반응도가 높은 환자군에서 *Der fII* 특이 IgE값이 *Der fI* 값에 비해 월등히 높았다. 따라서 집먼지 진드기 알레르기 증상을 유발하는데 *Der fI*과 *Der fII* 모두 관여하지만 특히 *Der fII*가 보다 더 중요하리라 생각되었다. 그러나 집먼지 진드기에 대한 피부 반응검사에 양성인 5례의 혈청은 *Der fI*에만 양성이었으며 또다른 6례는 *Der fII*에만 양성이었다. 따라서 집먼지 진드기 알레르기 환자 모두 *Der fII*가 원인 알레르겐으로 작용하지는 않지만 일부에서는 *Der fI*이 *Der fII* 보다 더 중요한 알레르겐으로 작용하는 것을 알 수 있었다. 이러한 이유로 WBE 특이 IgE가 양성인 7례를 대상으로 시행한 *Der fI* 억제 시험에서 6례는 WBE 특이 IgE가 억제되지 않았지만 1례는 현저하게 저하되어 이 환자의 경우에는 *Der fI*가 주 원인 항원임을 확인할 수 있었다. Arlian 등²¹⁾에 의하면 집먼지 진드기 알레르기 환자 개인에 따라서 원인되는 진드기 주 알레르겐에 큰 차이가 있음을 보고하였으며 이는 저자들의 결과와도 일치하는 것으로 사료되었다.

이들 group I과 group II 알레르겐의 중요성은 소아 환자의 연구에서 더욱 강조되고 있다. Thompson 등²⁴⁾의 연구에 의하면 성인들은 집먼지 진드기(*D. pteronyssinus*)의 많은 항원에 대해서 항체를 형성하나 소아 환자 혈청의 경우에는 Western blotting 검사상 *Der fI*과 *Der fII*에 대해서만 반응하며 이들이 커감에 따라 점차적으로 group I, II 이외의 집먼지 항원에 감작되는 것으로 보고하였다.

*Der fI*은 분자량이 24-5kD이며 집먼지 진드기의 분변내에서 주로 발견되고 주로 10-40 μ 크기의 입자와 결합하여 공기중에 비산된다^{31, 32)}. 이에 반해 *Der fII*는 분자량이 14-15kD이며 진드기의 충체에서 주로 발견되는 것으로 보고되고 있다³³⁾. 최근에

는 Group I 및 II 항원에 대한 아미노산 배열 순서 및 분자 구조까지 규명되었으며 그 결과에 의하면 Group I과 Group II 항원간에는 교차항원이 존재하지 않으나 *D. fairnae*와 *D. pteronyssinus*의 같은 Group 항원간에는 아미노산 배열 순서 및 분자 구조가 유사하여 고도의 교차 항원성이 존재한다^{12, 33, 34)}. 실제로 *Der PII*과 *Der fII* 간에는 N-terminal에서의 아미노산 배열이 서로 유사하여 처음 34 아미노산 배열 중 4개의 아미노산만 차이가 있는 것으로 보고되고 있다^{12, 35)}.

본 연구에서 집먼지 진드기 WBE로 시행한 억제 실험에서도 WBE, *Der fI* 그리고 *Der fII* 특이 IgE 모두 현저하게 억제되어 연구에서 사용한 *Der fI*과 *Der fII* 모두 집먼지 진드기 알레르기 질환의 원인 알레르겐임을 확인할 수 있었고 저자들이 제조하여 사용한 WBE는 배양 배지에서 진드기만을 순수하게 추출하여 사용하였으나 충체 항원인 *Der fII* 뿐만 아니라 분변내 항원인 *Der fI*도 충분히 함유하고 있음을 알 수 있었다.

*Der fI*으로 억제시에는 *Der fI* 특이 IgE는 저화된 반면에 WBE, *Der fII* 특이 IgE는 억제되지 않았고 역으로 *Der fII* 으로 억제시에는 *Der fII* 특이 IgE만 현저하게 억제되어 두 주 알레르겐 사이에 교차 항원이 존재하지 않음을 알 수 있었다. 또한 WBE 특이 IgE는 *Der fI*으로 억제시에는 통계학적으로 의미있는 차이가 없었으나 *Der fII* 로 억제시에는 약하지만 그러나 의미있게 저하되었다. 이러한 결과는 저자들이 사용한 집먼지 진드기 WBE 항원이 분변 항원이 많은 배양 배지에서 집먼지 충체만을 추출하여 사용한 관계로 충체항원인 *Der fII*가 분변 항원인 *Der fI*에 비해 상대적으로 많이 포함되어 상기 결과가 초래했을 가능성을 배제할 수 없었지만 그보다는 *Der fII*가 원인 알레르겐으로서 *Der fI*보다 더 중요한 역할을 담당하는 것으로 생각되었다. 그러나 van der Zee 등³⁶⁾에 의하면 집먼지 전충체 항원과 group I 또는 II 항원을 제거한 집먼지 항원간에 호염구의 히스타민 유리능과 피부 반응도를 비교한 바 두 항원간에 유의한 차이를 발견할 수 없으며 집먼지 알레르기의 원인으로 group I과 II 항원이외에도 여러 항원이 관여

하는 것으로 보고한 바 있다. 본 연구에서도 전반적으로 *Der fI*과 *Der fII* 항원에 의한 WBE 특이 IgE 억제 정도가 미약하여 집먼지 알레르기 질환의 원인 항원으로 *Der fI*과 *Der fII* 이외에도 여러 항원들이 중요한 역할을 담당함을 알 수 있었으며 앞으로 이들 항원에 대한 연구가 필요하리라 생각되었다.

이상의 결과로 보아 집먼지 진드기의 주 알레르겐인 *Der fI*과 *Der fII* 모두 집먼지 알레르기의 중요한 원인 항원임을 알 수 있었으며 특히 *Der fII*의 역할이 더 중요하리라 생각되었다. 집먼지 진드기에는 이들 group I, II 항원 이외에도 20여가지의 알레르겐이 존재하는 것으로 알려져 있으며 현재 이들 항원이 속속 순수 분리되고 있으며 앞으로 이들 항원에 대한 연구가 뒤따라야 하리라 생각되었다.

결 론

집먼지 진드기(*Dermatophagoides farinae*)는 알레르기성 호흡기질환의 제일 중요한 실내 알레르겐으로 알려져 있다. 집먼지 진드기 전충체(WBE) 추출액중 알레르겐으로 규명된 것은 30여가지가 넘으며 이중 *Der fI*과 *Der fII*가 주 알레르겐으로 알려져 있다. 이에 연세대학교 의과대학 세브란스 병원에 내원한 호흡기 알레르기 환자중 134례의 성인을 대상으로 혈청내 WBE, *Der fI*, *Der fII* 각각에 대한 특이 IgE를 ELISA 방법으로 측정하고 이를 피부 반응 정도와 비교 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 정상 대조군 18례를 대상으로 WBE, *Der fI* 그리고 *Der fII*에 대한 특이 IgE를 측정한 바 410nm에서 O.D. 값이 각각 0.011 ± 0.004 , 0.004 ± 0.002 , 0.007 ± 0.002 이었으므로 본 연구에서는 WBE는 O.D.가 0.020, 그리고 *Der fI*과 *Der fII*는 각각 0.015 이상일 경우를 특이 IgE 양성반응으로 판정하였다.
2. *D. farinae* 피부반응 음성군 31례 중 WBE, *Der fI*, *Der fII* 특이 IgE 측정에 양성반응을 보인 예는 각각 5례(16%), 1례(3%), 1례(3%)

인 반면에 피부반응 양성군 103례에서는 각각 86례(83%), 62례(60%), 63례(61%)에서 양성 반응을 보였고 이는 통계학적($p < 0.001$) 유의성을 관찰할 수 있었다. 피부반응검사 양성 반응의 정도(allergen/histamine 비)와 각각의 WBE, *Der fI*, *Der fII* 특이 IgE 양성율과의 상관관계를 X^2 분석을 시행한 바 양성반응의 정도와 WBE, *Der fI*, *Der fII* 특이 IgE의 양성율이 서로 밀접한 상관관계가 있음을 관찰할 수 있었다.

3. *D. farinae* 피부반응 정도(A/H 비)에 따른 WBE/*Der fI*/*Der fII*에 대한 O.D. 값을 비교하면 음성군이 0.014/0.005/0.005, +군이 0.022/0.009/0.013, ++군 0.069/0.009/0.013, +++군 0.212/0.013/0.172, ++++군 0.780/0.110/0.687, 그리고 +++++군은 0.712/0.150/0.845로 피부반응 정도가 높을수록 *Der fII*가 *Der fI*에 비해 현저하게 증가됨을 관찰할 수 있었다.
 4. 혈청 7례를 WBE로 억제시킨 후 WBE, *Der fI* 그리고 *Der fII* ELISA의 O.D. 값은 현저하게 억제되었으며 *Der fI*로 억제시킨 경우에는 혈청내 *Der fI* ELISA의 O.D. 값은 특이적으로 억제된 반면에 WBE, *Der fII* O.D. 값은 억제되지 않았다. *Der fII*로 억제시에는 *Der fII* 특이 IgE O.D. 값은 특이하게 억제되었고 WBE ELISA O.D. 값은 미약하나 의미있게 억제되었으나 *Der fI* ELISA O.D. 값은 억제되지 않았다.
- 이상의 결과로 보아 집먼지 진드기의 주 알레르겐인 *Der fI* 및 *Der fII*는 호흡기 알레르기 질환의 병태생리에 관여하는 것으로 생각되며 특히 *Der fII*의 역할이 중요하다고 사료되는 바이다.

핵심되는 말 : 집먼지 진드기, *Der fI*, *Der fII*

-Abstract-

Determination of specific IgE to two major allergens(Der fI and Der fII) of house dust mite(D. farinae) in Korean adult respiratory allergy patients

Jung-Won Park, M.D., Dong-Ho Nahm, M.D., and
Chein-Soo Hong, M.D.

Department of Internal Medicine, College of Medicine, Yonsei University, Seoul, Korea

House dust mite has been known as a most important allergen in allergic respiratory diseases. More than 30 allergenic components were confirmed in the whole body extract of D. farinae. But among these allergens, Der fI and Der fII were recognized as major allergens. In this study, we measured the specific IgE to WBE, Der fI and Der fII on ELISA in 134 adults with history of allergic respiratory diseases and the results were as followed.

1. In the 18 cases of control group, mean O.D. value of specific IgE to WBE, Der fI and Der fII were 0.011 ± 0.004 / 0.004 ± 0.002 / 0.007 ± 0.002 respectively. So the O.D. value 0.020 was chosen as the cut-off value of specific IgE to WBE, and 0.015 for the cut-off value of Der fI and Der fII.
2. Among the 31 cases with negative skin responsiveness to D. farinae allergen, specific IgE to WBE was detected in 5 cases(16%) and specific IgE to Der fI and Der fII was detected in 1 case each. But in 103 cases with positive skin responsiveness to D. farinae allergen, specific IgE to WBE, Der fI and Der fII were found in 86(83%), 62(60%) and 63(61%) cases respectively. Further more, we could find significant re-

lationship between the skin responsiveness and the detection rate of specific IgE to WBE, Der fI and Der fII in 134 respiratory allergy patients.

3. The O.D. value of specific IgE to WBE / Der fI / Der fII were 0.014 / 0.005 / 0.005 in 31 cases of negative group to skin prick test of D. farinae, 0.022 / 0.009 / 0.013 for 1+ group, 0.069 / 0.009 / 0.013 for 2+ group, 0.212 / 0.013 / 0.172 for 3+ group, 0.780 / 0.110 / 0.687 for 4+ group, and 0.712 / 0.150 / 0.845 for 5+ group. Therefore, the O.D. value of specific IgE to Der fII was much higher than that of Der fI in strong skin reactive groups.
4. With the 20 μ g of WBE, the specific IgE to WBE, Der fI and Der fII were inhibited. In case of inhibition by 20ng of Der fI, the specific IgE to Der fI was specifically inhibited but the specific IgE to WBE and Der fII were not inhibited. With the inhibition by 20ng of Der fII, we could find significant inhibition of specific IgE to Der fII and WBE but the specific IgE to Der fI was not inhibited.

In conclusion, both of Der fI and Der fII were recognized as important major allergenic components of D. farinae in Korean adult allergic respiratory diseases. And we could suggest that the role of Der fII was more important in pathophysiology of allergic respiratory diseases.

참 고 문 헌

- 1) Ancona G: Asma epidemico da "Pediculoides ventricosus", Policlinico(Sez Med) 30:45-70, 1923:cited by Platts-Mills TAE and Chapman MD, J Allergy Clin Immunol 80:755-775, 1987
- 2) Decker H: Asthma and milben, Munch Med Wschr 75:515-516, 1928:citrd by Platts-Mills and Chapman MD, J Allergy Clin Immunol 80:755-775, 1987.
- 3) Voorhost R, Spieksma FThM, varekamp H, Leupen MJ, Lykleman AW: The house dust mite(*Dermatophagoides pteronyssinus*) and the allergens it produces. identity with the house-dust allergen, J Allergy 39:325-339, 1967
- 4) 강석영: 한국에 있어서의 알레르기성 호흡기 질환의 기인성 항원에 관한 연구. 대한내과학회 잡지 16:373-378, 1973.
- 5) Pepys J, Chan M, Hargreave FE: Mites and house dust allergy. Lancet 1:270, 1968.
- 6) Bullock JD, Frick OL: Mite sensitivity in house dust allergic children. Evaluation by clinical and laboratory methods. Am J Dis Child 123:222, 1972.
- 7) Romagnani S, Boccaccini P, Amador A, Ricci M: Studies on alleergeens of *Dermatophagoides pteronyssinus* by direct and indirect RAST. Int Arch Allergy Appl Immunol 50:525-535, 1976.
- 8) Krilis S, Baldo BA, Basten A: Antigen and allergens from the common house dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus*. Part II. Identification of the major IgE-binding antigens by crossed radio immuno electrophoresis. J Allergy Clin Immunol 74:142-146, 1984.
- 9) Nakagawa T, Kudo K, Okudaira H, Miyamoto T, Horiuchi Y: Characterization of the allergenic components of the house dust mite *Dermatophagoides farinae*. Int Archs Allergy appl Immun 55:47-53, 1977.
- 10) Haida M, Okudaira H, Ogita T, Ito T, Nakajima T, hongo O: Allergens of the house dust mite *Dermatophagides farinae*-immuno chemical studies of four allergenic fractions. J Allergy Clin Immunol 75:686-69, 1985.
- 11) Yasueda H, Mita H, Y Shida T: Isolation and characterization of two allergens from *Dernatophagides farinae*. Int Archs Allergy Appl Immunol 81:214-223, 1986.
- 12) Heymann PW, Chapman MD, Aalberse RC, Fox JW. Platts-Mills TAE: Antigenic and structural analysis of Group II allergens(*Der f II* and *Der pII*) from house dust mites (*Dermatophagoides* spp.) J. Allergy Clin Immunol 83:1055-1067, 1989.
- 13) Baldo BA, Ford SA, Tover ER: Toward a definition of the 'complete' spectrum and rank order of importance of the allergens from the house dust mite: *Dermatophagoides pteronyssinus*. Advances in the Biosciences 74:13-31, 1989.
- 14) 이미경, 박해심, 홍천수: 국내 호흡기 알레르기 환자에서 집먼지 진드기 (*D. farinae*) 알레르겐 성분에 대한 감각상태에 관한 연구. 알레르기 9:460-491, 1989.
- 15) Hong C-S, Lee MK, OH SH: Identification of major allergens from the house dust mites, *Dermatophagoides farinae* and *Dermatophagoides pteronyssinus*, by electroblotting. Yonsei Med J 32:24-32, 1991.
- 16) 조백기, 허원: 한국의 집먼지 진드기에 관한 연구(1). 대한피부과학회지 15:133-138, 1977.
- 17) 이원구, 조백기: 집먼지 진드기류의 생태학적 연구. 대한피부과학회잡지 22:286-294, 1984.
- 18) 김세규, 박해심, 오승현, 홍천수: RAST inhibi-

- bition법으로 측정한 집먼지 진드기 항원 성분의 가옥내 분포상. 대한내과학회지 35:65-75, 1988.
- 19) 조백기: 한국의 집먼지 진드기 1. 집먼지 진드기의 생태 및 분류. 알레르기 11:1-8, 1991.
 - 20) 홍천수: 집먼지 진드기에 대한 환자의 감각 상태와 환자 집먼지내 집먼지 진드기의 생태에 관한 조사. 알레르기 11:457-465, 1991.
 - 21) Arlian LG, Bernstein IL, Geis DP, Vyszynski-Moher DL, Gallagher JS, Martin B: Investigations of culture medium-free house dust mites III. antigens and allergens in body and fecal extract of *Dermatophagoides farinae*. J allergy Clin Immunol 79:457-466, 1987.
 - 22) Chapman MD, Heymann PW, Wilkins SR, Brown MJ, Platt-Mills TAE: Monoclonal immunoassays for major dust mite (*Dermatophagoides*) allergens, *Der pI* and *Der fI* and quantitative analysis of the allergen content of mite and house dust extracts. J Allergy Clin Immunol 80:184-194, 1987.
 - 23) Lind P, Lowenstein H: Identification of allergens in *Dermatophagoides pteronyssinus* mite body extract by crossed radioimmunoelectrophoresis with two different rabbit antibody pools. Scan J Immunol 17:263-273, 1983.
 - 24) Tovey ER, Baldo BA: Comparison by electrophoresis of IgE-binding components in extracts of house dust mite bodies and spent mite culture. J Allergy Clin Immunol 79:93-102, 1987.
 - 25) Plattis-Mills TAE, Chapman MD: Dust mites: Immunology, allergic disease and environmental control. J allergy Clin Immunol 80:755-775, 1987.
 - 26) 황영남, 허갑범, 이상용: 기관지 천식환자에 대한 임상 및 피부반응에 관한 고찰. 대한내과학회잡지 17:426-437, 1974.
 - 27) 윤여운, 이미경, 박해심, 박성삼, 홍천수: 알레르기 환자에서 시행한 피부단자 시험과 혈청 IgE 검사 성적. 알레르기 9:386-398, 1989.
 - 28) 이기영, 김규언: 면역요법용 백신을 처방할 때 불필요한 항원을 배제하는 방법에 관한 연구. 알레르기 8:150-164, 1987.
 - 29) Thompson SJ, Whitley HJ, Naysmith JD, Carswell F: IgE antibodies to *D. Pteronyssinus* in atopic patients. Immunology 64:311-314, 1988.
 - 30) Tovey ER, Chapman MD, Wells CW, Plattis-Mills TAE: The distribution of dust mite allergen in the houses of patients with asthma. Am Rev Respir Dis 124:630-635, 1981.
 - 31) Tovey ER, Chapman MD, Wells CW, Plattis-Mills TAE: Mite feces are a major source of house dust allergens. Nature 289:592-593, 1981.
 - 32) Chapman MD, Plattis-Mills TAE: Purification and characterization of the major allergen from *Dermatophagoides pteronyssinus* antigen P₁. J Immunol. 125:587-592, 1980.
 - 33) Chua KY, Stewart GA, Thoma WR, Simpson RJ, Dilworth RJ, Plozza JM, Turner KJ: Sequence analysis of cDNA coding for a major house dust mite allergen *Der pI*. Homology with cysteine proteases. J Exp Med 167:175-182, 1988.
 - 34) Heymann PW, Chapman MD, Plattis-Mills TAE: Antigen *Der fI* form the dust mite *Dermatophagoides farinae*: structural comparison with *Der pI* from *D. pteronyssinus* and epitope specificity of murine IgG and human IgE antibodies. J Immunol 137:2841-2847, 1986.
 - 35) Yasueda H, Mita H, Yui Y, Shida T: Comparative analysis of physico chemi-

—J.W.Park, et al. : Determination of specific IgE to two major allergens(*Der fI* and *Der fII*) of house dust mite(*D. farinae*) in Korean adult respiratory allergy patients —

cal and immunological properties of the two major allergens from *Dermatophagoides pteronyssinus* and the corresponding allergens from *Dermatophagoides farinae*. *Int Arch Allergy appl Immunol* 88:402-407, 1989.

36) van der Zee JS, van Swieten P, Jansen HM, Aalberse RC: Skin tests and histamine release with P₁-depleted *Dermatophagoides pteronyssinus* body extracts and purified P₁. *J Allergy Clin Immunol* 81:884-896, 1988.