

식품 알레르기의 동물모델

아주대학교 의과대학 소아과

이 수 영

서 론

식품 알레르기(이하 food allergy)는 식품단백에 대한 IgE-매개성 혹은 non-IgE 매개성 과민 반응으로, 소화기, 피부 및 호흡기 등의 표적 장기에 다양한 증상을 나타내며 심한 경우에는 아나필락시 쇼크를 초래할 수도 있는 비교적 흔한 알레르기 질환이다. 발생 빈도는 3세 이하의 소아에서는 약 8%에 이르고 성인의 경우는 2% 내외로 특히 소아연령에서 빈발하는 알레르기 질환이다. 한 사람이 일생동안 섭취하는 식품의 양은 약 2-3톤에 달하고 매우 다양한 종류의 식품에 노출되지만, 극히 제한된 종류의 식품만이 원인 알레르겐으로서 임상적 의의가 있다¹⁾. 알레르기 질환의 면역병인(immunopathogenesis), 임상, 그리고 해당 질환의 면역치료와 약제 개발을 위한 연구를 시행함에 있어서 침습적인 방법과 명확한 양성 및 음성 대조군의 설정이 필수적인 점을 고려할 때, 인체를 대상으로 하는 실험은 실제적, 윤리적으로 절대적인 한계점이 있다. 이를 극복하기 위하여 외국에서는 오래전부터 동물모델을 이용한 알레르기 질환(특히 천식)의 연구가 활발하였으며, 알레르기 질환의 면역학적 기전과 분자 생물학적 변화를 이해하고, 면역조절치료나 약물치료제 등의 개발에도 많은 도움을 주고 있다.

이에 본문에서는 주로 IgE-매개형 식품알레르기를 중심으로 면역병인에 대하여 약술하여 보고, mouse와 rat model을 중심으로한 비교적 완전한 동물모델들을 소개하여 보고자 한다.

Food Allergy의 면역병인

통신저자 : 아주의대 소아과 이수영
수원시 팔달구 원천동 산 5번지
e-mail : jsjs87@madang.ajou.ac.kr

사람의 경우 출생 후 수시간이면, 신생아의 위장관계의 점막 상피세포와 gut-associated lymphoid tissue(이하 GALT)는 세균이나 식품단백에 노출되게 되며, 장내의 면역계는 병원체에 대하여는 면역반응을 작동하고, 영양소는 흡수하며, 나머지 다량의 섭취된 단백질에 대하여는 면역관용(immune tolerance)이 유도된다^{1, 2)}. 이러한 정상 장내 면역계를 유지하기 위하여는 다양한 종류의 "gut barrier"가 존재하는데 이를 요약하면 Table 1과 같다³⁾. 신생아나 영아의 경우 위액의 산도저하, 점막 상피의 미숙, 단백질 소화 효소의 부족, 분비형 IgA의 부족 등 다양한 gut barrier의 미숙으로 인하여 GALT로의 식품항원 노출이 증가되므로, 유전적 소인을 타고난 영아의 경우 식품항원은 IgE-매개성 혹은 non-IgE-매개성 면역반응을 자극하게 된다⁴⁻⁹⁾. Gut barrier가 성숙된 후에도 약 2%의 식이단백은 완벽한 항원성을 유지한 채 흡수되지만, 대부분의 사람은 이미 면역관용이 유도되어 있으므로 문제가 되지 않으며, 단지 감작된 개체에서는 극소량의 식품항원에 의하여도 과민반응이 유발된다¹⁰⁻¹²⁾.

이와 같이 식품 알레르기의 발생 여부는 개별 식품항원에 대한 면역관용이 성공적으로 확립되었는지 여부에 기인하며, 일단 감작된 환자의 경우 면역관용이 성공적으로 유도된다면 food allergy의 치료가 가능할 수 있다.

정상적으로는 GALT에서의 주된 면역반응은 억제(suppression) 혹은 관용(tolerance)이며, 이러한 장점막 면역계가 어떤 기전에 의하여 식이단백에 대한 관용을 획득하는지는 명확히 밝혀지지 않

있다. 초기의 연구¹³⁾에 의하면 Peyer's patch를 덮고 있는 특수 상피세포인 'M cells'이 장점막의 주된 항원 sampling 기능을 한다고 알려졌으나, 최근에는 장점막 상피(enterocytes, intestinal epithelial cells, 이하 IECs)가 antigen presenting cell(이하 APC)의 기능을 하고 면역억제를 유도하는데 기여한다고 알려져 있다¹⁴⁾. 즉 Non-professional APC인 IECs는 MHC class II molecule을 표현하며, soluble protein을 sampling 한 후 주변의 CD8+suppressor cell을 선택적으로 활성화시키며, 이에 반하여 bacteria, parasite, 및 particulated antigens은 M cells에 의하여 sampling 되어 IgA등의 항체를 생성하는 면역활성을 유도한다. Mouse model이나 사람에서 면역관용을 연구한 보고들에 의하면 T cell 면역관용에 비하여 B cell 관용을 유발하려면 많은 양의 항원이 요구되며, Th1-type cell이 Th2-type cell에 비하여 더욱 용이하게 면역관용이 유도된다고 하며, 동일 개체에서 동일 항원에 대하여 T cell 면역관용과 B cell 면역활성이 동시에

나타남을 보고한 경우도 있어 면역관용의 기전을 확립적으로 간단히 설명하기는 어렵다^{15, 16)}.

동물 실험을 통한 food allergy 연구의 흐름

PubMed search를 통한 food allergy의 동물 모델에 대한 2000-1980년 사이의 검색 건수는 60여건에 달하는데, 이중 80% 가량이 mouse와 rat를 이용한 연구이며, 특히 mouse model은 1996년 이후에 급격히 증가하였는데 주로 food allergy의 면역병인을 연구하는데 많은 공헌을 하였다 (PubMed Mediline Query, 검색단어 "food allergy and animal model"). Mouse와 rat 외에도 guinea pig, dog, cat, rabbit 등도 food allergy의 임상 및 기전을 연구하는 동물모델로 이용되어 왔으나 최근에는 이용도가 감소추세에 있다.

Gut hypersensitivity에 대한 연구는 이미 1980년대 초부터 활발하였는데, 능동감작(active sensitization)과 수동감작(passive sensitization)에 대한 *in vivo* 및 *in vitro* 연구가 진행되었고, 주

Table 1. Components of the gut barrier

Physiologic barriers

Block penetration of ingested antigens:

Epithelial cells - one cell layer of columnar epithelium

Glycocalyx -coating of complex glycoprotein and mucins that trap particles

Intestinal micro villus membrane structure-prevents penetration

Tight junctions joining adjacent enterocytes-prevents penetration, even of small peptide

Intestinal peristalsis-flushes "trapped" particles out in the stool

Break down ingested antigens:

Salivary amylases and mastication

Gastric acid and pepsins

Pancreatic enzymes

Intestinal enzymes

Intestinal epithelial cell lysozyme activity

Immunologic barriers

Block penetration of ingested antigens:

Antigen-specific s-IgA in gut lumen

Clear antigens penetrating gastrointestinal barrier:

Serum antigen-specific IgA and IgG

Reticuloendothelial system

로 이용된 항원은 beta-lactoglobulin(이하 BLG)과 ovalbumin(이하 OVA)이다. 초기의 동물 실험에서는 항원 특이 IgG 항체(사람의 IgG4, rat의 IgG2a, guinea pig의 IgG1)도 비반세포 표면에 부착되어 활성화 시킬 수 있으므로 food allergy model에서 IgE의 생성 유도가 필수적으로 요구되지는 않았으나, OVA를 이용한 rat model에서 passive cutaneous anaphylaxis(이하 PCA) 반응과 생리반응이 항원 특이 IgE의 생성 정도와 비례한다는 연구가 있는 후 IgE 생성을 유도하는 동물 모델을 확립하려는 시도가 활발해 졌다¹⁷⁾. 1990년대 초반 이전의 연구들은 주로 rat, guinea pig에서 식품항원 특이-IgE, IgG, 및 IgA 항체의 생성 유도에 관한 연구와 항원유발시험에 의한 생체반응, 항원 운반, 장점막의 분비능 및 투과성, 장운동, 조직학적 변화 등에 초점을 둔 연구들이며, 1990년대 후반부터는 주로 rat과 mouse model을 이용한 본격적인 면역병리에 대한 연구가 시작되었다(PubMed 검색 자료).

Food allergy의 연구에 있어서 murine model의 개발이 활성화된 이유는 mouse 조직이나 세포 및 이와 관련한 면역물질의 개발이 급속히 발전하고 있어 시약이나 kit의 구입이 용이하며, 사육과 회생시 조작이 쉬워 다량의 동물을 여러 군으로 나누어 실험하기에 적절하다는 것이다. 더욱이 다양한 transgenic mice(cytokine knockout mice, IgE deficient mice, enzyme deficient mice 등)의 획득에 힘입어 면역 및 분자생물학적 연구에 박차를 가하고 있다는 점이다. 그러나 사람의 food allergy와 유사한 만족할 만한 mouse model의 확립에는 아직도 많은 어려움이 있는데, 가장 중요한 방해 요소는 경구 투여된 항원에 대한 타고난 면역관용 경향이 있다는 것이다¹⁸⁻²³⁾. 이러한 경구 면역관용은 mouse의 strain^{24, 25)}, 식이단백에 처음 노출된 시기²⁶⁻²⁸⁾, 투여된 항원의 종류와 양^{29, 30)}, 그리고 항원과 함께 사용된 adjuvants³¹⁻³³⁾에 의하여 강력히 영향을 받으므로 이러한 요소들을 적절히 선택하여 감작방법, 유발

시험 방법, 생체반응, 항체 면역 반응, 세포 면역반응, 조직 반응 등이 사람의 food allergy와 유사한 동물 모델을 만들려는 노력들이 이루어지고 있다. 이에 본문에서는 비교적 완전한 동물 모델로 여겨지는 우유알레르기, 난백알레르기, 땅콩알레르기에 대한 몇 가지 동물모델을 소개하고자 한다.

우유알레르기의 Dog, Guinea Pig 및 Rat Model

비교적 초기의 모델인 guinea pig model은 cow's milk allergy(이하 CMA)의 연구에 있어서 유용하다고 여겨지고 있지만, 실험의 유지가 경제적으로 어렵고 면역 물질에 대한 시약의 개발이 미흡하며, PCA 반응을 시행하기 곤란한 것 등의 제한점이 있다. 그러나 1995년 이후에도 guinea pig를 이용한 food allergy 연구가 간헐적으로 이루어지고 있는데 주로 우유단백의 항원성 연구와 gut barrier에 관한 연구들이며 항원에 감작된 동물의 장조직에 대한 *in vitro* 실험도 있다³⁴⁻³⁷⁾. 한편 dog model을 이용한 BLG의 항원성에 관한 연구가 있는데, 이 경우는 큰 동물의 장점을 살려 항원의 유발시험시 직접 내시경을 시행하여 장점막의 변화를 관찰하였으며, thioredoxin 처리에 의한 BLG-환원물의 알레르기 항원성 감소정도를 유발시험을 통하여 검증하였고, 알레르기 피부시험도 시행하였다³⁸⁾.

식이단백에 대한 항체반응, 특히 IgE 항체 생성이 용이로운 strain의 하나인 Brown Norway Rat(이하 BN rat)은 food allergy 연구의 좋은 동물모델로 인정되고 있다. 최근에는 주로 OVA를 이용한 달걀 알레르기의 동물모델의 개발과 치료법 연구에 많이 이용되고 있으며, CMA에 대한 연구도 소개되어 있다^{39, 40)}. Atkinson과 Miller³³⁾는 사람의 경우와 유사한 우유단백의 주알레르겐에 대한 레아진 항체(IgG와 IgE)를 생성하는 CMA model을 제시하였는데, semi-skimmed milk(0.5 mg/mouse)를 day0 과 day7에 adjuvant와 함께 복강내 주사하여 감작시킨 경우이다. 따라서 경구 감작에 의한 연구가 아니며, IgG 항체의 역

할이 강조되었다는 제한점이 있다.

우유알레르기의 Mouse Model

Mouse model은 asthma를 비롯한 여러 알레르기 질환의 연구에 많이 이용되어 왔지만, CMA에 대한 유용한 모델은 거의 없는 실정이다. 이는 앞서 언급한 바와 같이 mouse의 타고난 경구 면역관용 경향 때문이며, strain이나 동물의 나이, 항원의 양과 종류, adjuvant 선택 등 연구 조건의 확립에 영향을 주는 다양한 요소가 많기 때문이다. 그러나 최근 사람의 CMA와 유사한 감각 방법과 임상 증상 및 면역 반응을 보여주는 CMA의 mouse model들이 보고되었기에 소개하고자 한다.

그 하나는 1997년 Ito 등⁴¹⁾이 보고한 casein(이하 CN)에 대한 mouse model로서, adjuvant 없이 항원 경구 투여에 의하여 감각에 성공한 경우이다. 이들은 6주된 DBA/2, Balb/c 그리고 B10 mice를 이용하여 63일간 매일 항원을 식수에 섞어 투여한 CN 식이군(25%의 CN 용액)과 OVA 식이군(25% OVA 용액)으로 나누어 연구하였다. 매주 채취한 혈청과, 63일째 얻은 분변을 이용하여 CN-특이 IgE와 fecal IgA 항체를 측정하였고, 63일째 mice를 희생시켜 장점막 조직으로부터 intraepithelial lymphocytes(이하, IELs)를 얻고, Peyer's patch, spleen, mesenteric lymph node(이하 MLN) 및 liver로부터 single cell suspension을 얻었다. 이를 이용하여 다양한 종류의 T cell 표면항원들에 대한 flowcytometry를 시행하였고, mRNA를 얻어 IL-4, TGF- β 1, IFN- γ 에 대한 RT-PCR을 시행하였다. 또한 이들 세포에서 항원 혹은 CD3 mAb 자극에 의한 cell proliferation assays를 시행하였고 IL-5, IFN- γ 의 분비능을 비교하였다. 이들의 연구에 의하면 DBA/2 mouse의 경우 CN 식이군에서는 CN-특이 IgE 항체가 10마리 중 7마리에서 CN 식이 7일째부터 측정되었고 28일째에는 10마리 모두에서 양성이었다. 반면에 OVA 식이군에서는

OVA-특이 IgE 및 CN-특이 IgE가 전 실험 기간을 통하여 음성이었다. 즉 DBA/2 mouse system에서는 CN 식이에 의하여 IgE 항체가 생성되는 반면 OVA 식이에 의하여는 항체 반응이 유도되지 않음을 알 수 있었다. 한편 Balb/c와 B10A mouse를 이용한 동일한 실험에 의하여는 OVA 뿐 아니라 CN에 의하여도 항원 특이 IgE가 생성되지 않음을 알 수 있었는데, 이러한 결과로 미루어보아 경구 항원 감각은 투여된 항원의 종류와 mouse의 strain에 따라 많은 영향을 받음을 알 수 있다. 따라서 한 종류의 식품항원에 대한 mouse model을 확립하기 위하여는 최적의 조건을 발견하기 위한 광범위한 실험계획이 필요함을 짐작할 수 있다. Ito 등의 연구결과 CN 식이군의 경우 혈청내 항원 특이 IgE의 증가와 함께 IELs에서의 $\alpha\beta$ -TCR의 발현이 증가하였고 각 조직으로부터 얻은 세포의 RT-PCR 결과 Th2-type cytokine의 우세가 동반되었다. 또한 여러 기관의 세포(IELs, Peyer's patch, MLN, spleen 및 liver cells) 배양 결과 CN 식이군에서 OVA 식이군에 비하여 CD3 mAb 자극에 의한 Th2-type cytokine 생성이 증가함을 알 수 있었다. 또한 CN 식이군에서 CN 자극에 의한 spleen cell의 proliferation의 증가가 관찰되었고, IL-4의 생성이 의미 있게 증가되었으며(10.3 ± 2.2 pg/ml) 이에 반하여 IFN- γ 는 측정되지 않았다. 상기의 일련의 결과들은 Ito 등의 모델이 사람의 IgE-매개성 CMA에서 관찰되는 항원 특이 IgE의 생성 및 Th2-type cytokine의 우세와 유사한 면역 반응을 보이는 모델임을 시사하며, 특히 사람의 경우와 동일한 감각방법(즉, adjuvant의 사용 없이 CN을 매일 식이하게 함)에 의한 모델이라는 점에서 가치가 있다. 이어서 Ito 등은 이 모델을 이용하여 heat-killed *Lactobacillus plantarum* L-137이 알레르기 면역반응을 하향 조절함을 보고하였다⁴²⁾. 즉 *L. plantarum* L-137이 in vivo에서 IL-12의 생성을 증가시키고, 이에 의하여 IFN- γ 의 생성이 강력히 유도되며, 항원 특

이 IgE의 생성이 저하됨을 알 수 있었고, 이러한 면역조절 효과는 예방 및 치료적 측면 모두에서 유효함을 보고하였다.

한편 1999년 Li 등⁴³⁾은 C3H/HeJ mouse를 이용한 CMA 모델을 보고하였는데, 이 경우는 Ito 등⁴¹⁾의 DBA/2 system과 몇 가지 차이점이 있다. 즉 3주된 어린 동물을 사용하였고, 항원 감작의 방법에 있어서 수주간 매일 항원을 식이한 것이 아니고 첫 3일간 연속으로 경구 감작 시킨 후 1주간격으로 6주간 경구 투여를 하였고, CN이나 OVA와 같은 정제된 단백질이 아닌 homogenized milk를 adjuvant(non-toxic cholera toxin, 이하 CT)와 함께 직접 gavage feeding하였다는 점이다. 또한 흥미로운 점은 실험 시작 6주째 경구유발시험을 시행하여 Table 2와 같은 systemic anaphylaxis score(이하 증상점수)를 이용하여 반응의 중증도를 관찰하였다는 점이다. 또한 매주 혈청을 채취하여 항원 특이 IgE와 IgG1(Th2-dependent), 및 IgG2a(Th1-dependent)를 측정하였고, 항원 자극에 의한 spleen cell의 proliferation 증가 및 Th2-type cytokine의 생성 증가를 확인하였다. 한편 이 모델에서는 적절한 감작 항원의 양을 확인하기 위하여 very low dose(0.01 mg/g mouse), low dose(0.1 mg/g mouse), medium dose(1 mg/g mouse), 및 high dose(2 mg/g mouse)의 다양한 양의 항원을 경구 투여하였고, 두 종류의 음성 대조실험군(CT only 투여군 및 naive 군)을 추가하여 결과

를 비교하였다. 결과적으로 medium dose 경구 투여가 항원 특이 IgE 항체반응을 가장 잘 유도하였으며, 증상점수도 의의 있게 높음을 알 수 있었다. 이 모델에서는 이 외에도 IgE-매개성 food allergy의 반응을 다양한 각도에서 관찰하였는데, 6주째 항원 경구유발시험을 시행한 후 혈장을 얻어 histamine의 농도를 측정하였고, mice를 희생시켜 ear skin과 장조직의 mast cell 수 및 degranulation 정도를 관찰하였고, Evan's blue 시약 투여를 통하여 장점막과 footped의 혈관투과성 증가 여부를 관찰하였다. 또한 양성혈청의 열처리 유무에 의한 PCA 반응과 피내시험을 통하여 이 모델에서는 IgG1 항체가 아닌 IgE 항체가 레아진 항체로서 작용함을 증명하였고, 항원 자극에 의한 spleen cell의 Th2-type cytokine의 생성 증가를 확인하였다. 따라서 Li 등⁴³⁾의 모델은 adjuvant(CT)를 사용하였다는 약점이 있지만 사람이 섭취하는 우유를 직접 식이하여 감작시킬 수 있었다는 점과 임상 증상, mast cell 및 histamine의 기능, 생리학적 및 면역학적 측면 등 다양한 in vivo와 in vitro 실험을 통한 완전한 CMA 동물모델이라고 여겨진다. 또한 Li 등의 model을 이용한 atopic dermatitis의 food allergy model⁴⁴⁾도 보고된 바 있으나, 이에 대한 연구는 아직 시작 단계이다.

난알부민 알레르기의 rat model

Brown norway rat(BN rat)은 T cell의 조절

Table 2. Systemic anaphylaxis symptom score

Score	Clinical symptoms
0	no symptom
1	scratching and rubbing around the nose, ear and head
2	puffiness around the eyes and mouth, pilar erecti, reduced activity, and/or increased respiratory rate
3	wheezing, labored respiration, cyanosis around the mouth and tail
4	no activity after prodding, or tremor and convulsion
5	death

(Ref. 43 : Li X-M et al, J Allergy Clin Immunol, 1999)

하에 다량의 면역글로불린을 생산하는 strain으로서 특히 IgE 항체의 생성이 용이롭다고 알려져 있는데⁴⁵⁾, 이는 알레르기 질환을 지닌 사람에서 항원에 대한 IgE 생성이 증가된 경향이 있는 아토피 소인을 지닌 것과 흡사하다. 1996년 Atkinson 등³³⁾은 CMA의 model과 함께 OVA allergy model을 소개하였는데, 이 경우는 adjuvant와 함께 OVA를 복강주사를 통하여 감작시킨 후 경구유발시험을 시행한 경우여서 실제적인 food allergy 모델로서 약점이 있다. 1998년 Knippels 등⁴⁶⁾은 OVA의 enteral model을 소개하였는데, 이는 adjuvant를 사용하지 않음과 동시에, OVA를 경구 투여하여 감작에 성공한 완전한 모델이다. 즉 생후 4-6주의 BN rat을 이용하여 OVA를 횡수를 달리하여 gavage feeding(6주간 매일 1회, 주 2회, 주 1회 및 2주에 1회)하는 방법과 다양한 농도의 OVA 용액(0.002 - 20 mg/ml 농도)을 6주간 연속 투여하는 방법을 비교하였는데, 알레르기 면역 반응은 혈청내 항원 특이 IgE와 IgG의 측정, PCA 검사 및 delayed type hypersensitivity(이하 DTH) 검사를 통하여 조사하였다. 결과적으로 OVA를 식수에 타서 연속 투여한 경우는 항원 특이 IgG의 생성과 DTH는 유도할 수 있었으나 IgE는 생성되지 않음을 알 수 있었고, 6주간 매일 gavage 투여한 경우에는 항원 특이 IgE, IgG의 생성 및 항원 특이 DHT 반응이 유도됨을 알 수 있었다. 또한 항원 특이 IgE 항체는 OVA 투여 28일에 100%의 실험 동물에서 관찰할 수 있었으며, IgE 항체 유무와 PCA 반응 유무가 일치함을 관찰하였다. 따라서 이들은 adjuvant를 사용하지 않고 매일 OVA(1mg/rat)를 경구 투여함으로써 성공적인 food allergy 모델을 확립하였다. 이어서 1999년 Knippels 등^{47,48)}은 동일한 model을 이용하여 장점막 투과성 검사와 꼬리 정맥의 혈류 측정, 혈압, 체온, 및 호흡수 등의 변화를 추가한 보완된 모델을 소개하였다.

땅콩 알레르기의 mouse model

Peanut allergy(PNA)는 연장아나 성인에서 주로 문제가 되며, 매우 심한 임상 증상을 나타내는 food allergy로서, 최근 구미에서는 그 발생 빈도가 증가 추세에 있어 면역병리의 연구와 치료법 개발에 대한 연구가 늘고 있다^{49, 50)}. 그러나 PNA에 대한 동물모델은 기타의 food allergy에 비하면 전무한 실정이다. 최근 Li 등⁵¹⁾은 C3H/HeJ mouse를 이용한 PNA model을 소개하였다. 이 모델은 이전에 확립한 CMA model과 유사한 방법으로 5주된 C3H/HeJ mice에게 시판되는 땅콩을 갈아서 adjuvant(CT)와 함께 gavage feeding 하였으며 low dose(5 mg/mouse)+CT, high dose(25 mg/mouse)+CT, CT 단독, 및 Naive 군으로 나누어 실험하였다. 투여 횟수는 day 0, 1, 2에 연속 3일간 경구 감작 시킨 후 day 7과 21에 추가 투여하였으며, 실험 5주째 경구유발시험을 시행하였다. CMA 모델과 동일한 검증을 거쳐 땅콩 경구 감작에 의한 IgE-매개성 및 Th2-type 유도성 면역반응을 관찰하였는데, 결론적으로 low dose PN의 경구투여에 의하여 사람의 PNA와 유사한 증상과, mast cell degranulation, histamine release, Th2-type 세포면역 반응을 보이는 IgE-매개형 PNA의 mouse model이 확립되었다. 추가적으로 본 PNA 모델에서는 PNA mouse와 PNA를 앓고 있는 환자의 혈청을 이용하여 땅콩의 주알레르겐인 Ara h 2의 isomers에 대한 immunoblot과 epitope mapping을 시행하여 사람과 mouse에서의 항체 특이성을 비교하여 보았는데, mouse와 사람의 혈청을 이용한 IgE immunoblot 결과 동일한양상의 결합이 확인되었다. 이와 동일한 모델을 이용하여 Lee 등⁵²⁾은 땅콩의 조항원(5mg/mouse/dose)을 경구 감작시키는 과정에서 recombinant murine IL-12(rmIL-12)를 감작 초기 및 중기에 경구투여(500ng/dose 씩, liposome과 conjugation 하여 gavage 투여) 함으로서 IgE-매개성 PNA가 예방 및 치료됨을 관찰할 수 있었는데 5주째 시행한 경구유발시험 결과 및 IgE 항체 생

성 정도를 비교한 결과 PNA의 억제 정도는 rmIL-12를 초기에 투여한 경우 현저함을 알 수 있었다.

이외에도 Roy⁵³⁾ 등은 AKR/J mice에서 땅콩의 조항원을 CT와 함께 경구 투여하고 동시에 복강내 감작(adjuvant 사용)을 병행한 PNA model을 확립하였고, 이를 이용하여 Chitosan-DNA nanoparticle과 함께 투여된 plasmid-Ara h 2 에 의하여 PNA가 예방될 수 있음을 보고하였다.

결 론

이상에서와 같이 본 고에서는 food allergy에 대한 간단한 소개와 함께 문헌 고찰을 통한 food allergy의 동물모델을 통한 연구의 흐름을 알아보고, 최근에 확립된 비교적 완벽한 몇몇 동물 모델에 대한 소개와 특징을 살펴보았다. 이러한 동물 모델들은 대부분 항원 특이 IgE 항체의 생성, PCA 반응의 양성, 장점막 투과성의 증가, mast cell의 degranulation과 혈장 histamine의 증가, 전신성 아나필락시 반응, Th2-type cytokine의 활성화 등으로 대변되는 사람의 IgE-매개성 food allergy와 유사한 면역병리 및 임상적 특성을 재현하는데 성공하였다. 따라서 이러한 모델들을 이용한 면역 조절제(cytokine, anticytokine, CpGs, receptor blockers 등) 및 면역치료용 백신(wild peptide, mutant peptide, plasmid-peptide 등)의 개발과 유효성 검증 등 식품알레르기의 치료법 개발 연구에 많은 도움을 주고 있으며, 더 나아가 food engineering이나, 미생물을 이용한 알레르겐의 항원성 제거 등에 의해 개발된 저알레르기 식품의 안정성 검증을 위한 유용한 도구로 활용되고 있다.

참 고 문 헌

- 1) Sampson HA : Food allergy. Part 1: Immunopathogenesis and clinical disorders. J Allergy Clin Immunol 103: 717-28, 1999
- 2) Sampson HA : Food Allergy. JAMA. 278: 1888-94, 1997
- 3) Sampson HA : Food Allergy. In: Kay AB, editor. Allergy and allergic diseases. London: Blacwell Science, Ltd 1517-49, 1997
- 4) Hyman PE, Clarke DD, Everett SL, Sonne B, Stewart D, Harada T et al : Gastric acid secretory function in preterm infants. J Pediatr 106: 467-71, 1985
- 5) Leventhal E, Lee PC : Development of functional responses in human exocrine pancreas. Pediatrics 66: 556-60, 1980
- 6) Bresson JL, Pang KY, Walker WA : Microvillus membrane differentiation : quantitative difference in cholera toxin binding to the intestinal surface of newborn and adult rabbits. Pediatr Res 18: 984-7, 1984
- 7) Burgio GR, Lansavecchia A, Plebani A, Jayakar S, Ugazio AG : Ontogeny of secretory immunity : levels of secretory IgA and natural antibodies in saliva. Pediatr Res 14: 1111-4, 1980
- 8) Soothill JF, Stokes CR, Turner MW, Norman AP, Taylor B : Predisposing factors and the development of reaginic allergy in infancy. Clin Allergy 6: 305-19, 1976
- 9) Gleeson M, Cripps AW, Clancy RL, Hensley MJ, Henry RJ, Wlodarczyk JH : The significance of transient mucosal IgA deficiency on the development of asthma and atopy in children. Adv Exp Med Biol 371B: 861-4, 1995
- 10) Wilson SJ, Walzer M : Absorption of undigested proteins in human beings. IV. Absorption of unaltered egg protein in infants. Am J Dis Child 50: 49-54, 1935
- 11) Husby S, Jensenius J, Svehag S : Passage of undigested dietary antigen into

- the blood of healthy adults. Quantification, estimation of size distribution and relation of uptake to levels of specific antibodies. *Scand J Immunol* 22: 83-92, 1985
- 12) Host A : Cow's milk protein allergy and intolerance in infancy. *Pediatr Allergy Immunol* 5: 5-36, 1994
- 13) Wolf JL, Bye WA : The membranous epithelial (M) cell and the mucosal immune system. *Ann Rev Med* 35: 95-112, 1984
- 14) Mayer L, Shlien R : Evidence for function of Ia molecules on gut epithelium in man. *J Exp Med* 166: 1471-3, 1987
- 15) Hanson DG, Vaz N, Maia L, Horn brook M, Lynch J, Roy C : Inhibition of specific immune responses by feeding protein antigen. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 55: 1518-24, 1977
- 16) Husby S, Mestecky J, Moldoveanu Z, Holland S, Elson CO : Oral tolerance in humans. T cell but not B cell tolerance after antigen feeding. *J Immunol* 152: 4663-70, 1994
- 17) Crowe SE, Perdue MH : Gastrointestinal food hypersensitivity : basic mechanisms of pathology. *Gastroenterology* 103: 1075-95, 1992
- 18) Strobel S, Ferguson A : Modulation of intestinal and systemic immune responses to a fed protein antigen in mice. *Gut* 27: 829-37, 1986
- 19) Ngan J, Kind LS : Suppressor T cells for IgE in Peyer's patches of mice made tolerant by the oral administration of ovalbumin. *J Immunol* 120: 861-5, 1978
- 20) Mowat AM : The regulation of the immune responses to dietary protein antigens. *Immunol Today* 8: 93-8, 1987
- 21) Stokes CR, Newby TL, Bourne FJ : The influence of oral immunization on local and systemic immune responses to heterologous antigens. *Clin Exp Immunol* 52: 399-406, 1987
- 22) Melamad D, Friedman A : In vivo tolerization of Th1 lymphocytes following a single feeding with ovalbumin: anergy in the absence of suppression. *Eur J Immunol* 24: 1974-81, 1994
- 23) Friedman A, al-Sabbagh A, Santos LM, Fishman-Lobell J, Polanski M, Das MP et al : Oral tolerance : a biologically relevant pathway to generate peripheral tolerance against external and self antigens. *Chem Immunol* 58: 259-90, 1994
- 24) Strobel S : Neonatal oral tolerance. *Ann N Y Acad Sci* 778: 88-102, 1996
- 25) Mowat AM : The regulation of immune responses to dietary protein antigens. *Immunology Today* 8: 93-8, 1987
- 26) Lamont AG, Mowat AM, Parrott DM : Priming of systemic and local delayed-type hypersensitivity responses by feeding low doses of ovalbumin to mice. *Immunology* 66: 595-9, 1989
- 27) Pierce NF, Cray WCJ : Determinants of the localization magnitude, and duration of a specific mucosal IgA plasma cell response in enterically immunized rats. *J Immunol* 128: 1311-5, 1982
- 28) Lycke N, Severinson E, Strober W : Cholera toxin acts synergistically with IL-4 to promote IgG1 switch differentiation. *J Immunol* 145: 3316-24, 1990
- 29) Lycke N, Holmgren H : Strong adjuvant properties of cholera toxin on gut mucosal immune responses to orally presented antigens. *Immunology* 59: 301-8, 1986
- 30) McCaskill AC, Hosking CS, Hill DJ : Anaphylaxis following intranasal challenge of mice sensitized with ovalbumin. *Immunology* 51: 669-77, 1984

- 31) Institute of Laboratory Animal Resources Commission on Life Sciences, National Research Council : Guide for the care and use of laboratory animals. Washington(DC) : National Academy Press: 1996
- 32) Saloga J, Renz H, Lack G, Bradley KL, Greestein JL, Larsen G, et al : Development and transfer of immediate cutaneous hypersensitivity in mice exposed to aerosolized antigen. *J Clin Invest* 91: 133-40, 1993
- 33) Sampson HA, Bernhisel-Broadbent J, Yang E, Scanlon SM : Safety of casein hydrolysate formula in children with cow milk allergy. *J Pediatr* 118: 520-5, 1991
- 34) Kitagawa S, Zhang S, Harai Y, Castro GA : Relative allergenicity of cow's milk and cow's milk based formulas in an animal model. *Am J Med Sci* 310: 183-7, 1995
- 35) Fargeas MJ, Theodorou V, Weirich B, Fioramonti J, Bueno L : Decreased in sensitisation rate and intestinal anaphylactic response after nitric oxide synthase inhibition in a food hypersensitivity model. *Gut* 38: 598-602, 1996
- 36) Atwood L, James C, Morris GP, Vanner S : Cellular pathways of mast cell- and capsaicin-sensitive nerve-evoked ileal submucosal arteriolar dilations. *Am J Physiol* 275: G1063-72, 1998
- 37) Terpend K, Blaton MA, Candalh C, Wal JM, Pochart P, Heyman M : Intestinal barrier function and cow's milk sensitization in guinea pigs fed milk or fermented milk. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 28: 191-8, 1999
- 38) del Val G, Yee BC, Lozano RM, Buchanan BB, Eermel RW, Lee YM et al : Thioredoxin treatment increases digestibility and lowers allergenicity of milk. *J Allergy Clin Immunol* 103: 690-7, 1999
- 39) Atkinson HA, Miller K : Assessment [correction of Assessment] of the brown Norway rat as a suitable model for the investigation of food allergy. *Toxicology* 91: 282-8, 1994
- 40) Ju HR, Matsuura I, Yamada K, Sugano M, Imaizumi K : Systemic release of mucosal mast-cell protease in primed brown Norway rats after feeding with beta-lactoglobulin. *Biosci Biotechnol Biochem* 59: 771-5, 1995
- 41) Ito K, Inagaki-Ohara K, Murosaki S, Nishimura H, Shimokata T, Torii S et al : Murine model of IgE production with a predominant Th2-response by feeding protein antigen without adjuvant. *Eur J Immunol* 23: 3427-37, 1997
- 42) Murosaki S, Yamamoto Y, Ito K, Inokuchi T, Kusaka H, Ikeda H et al : Heat killed *Lactobacillus plantarum* L-137 suppresses naturally fed antigen-specific IgE production by stimulation of IL-12 production in mice. *J Allergy Clin Immunol* 102: 57-64, 1998
- 43) Li X-M, Schofield BH, Huang C-K, Kleiner GI, Sampson HA : A murine model of IgE mediated cow's milk hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 103:206-14, 1999
- 44) Kleiner GI, Li X-M, Schofield BH, Huang C-K, Lee S-Y, Grishina G et al : Atopic dermatitis induced by food allergens in mice. *J Allergy Clin Immunol* 105: S166, 2000
- 45) Holt P, Turner KJ : Persistence of IgE secreting cells that are refractory to T-cell control. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 77: 45-56, 1985
- 46) Knippels LMJ, Penninks AH, Spanhaak S, Houben GF : Oral sensitization to food proteins : a brown Norway rat

- model. Clin Exp Allergy 28: 368-75, 1998
- 47) Knippels LMJ, Houben GF, Spanhaak S, Penninks AH : An oral sensitization model in brown Norway rats to screen for potential allergenicity of food proteins. Methods 19: 78-82, 1999
- 48) Knippels LMJ, Penninks AH, Smit JJ, Houben GF : Immune-mediated effects upon oral challenge of ovalbumin-sensitized brown Norway rats : further characterization of rat food allergy model. Toxicology Appl Pharmacol 156: 161-9, 1999
- 49) Sampson HA, Mendelson L, Rosen JP : Fatal and near-fatal anaphylactic reactions to food in children and adolescents. N Eng J Med 327: 380-4, 1992
- 50) Kemp AS, Mellis CM, Barnett D, Sharolta E, Simpson J : Skin test, RAST and clinical reactions to peanut allergens in children. Clin Allergy 15: 73-8, 1985
- 51) Li X-M, Serebrisky D, Lee S-Y, Huang C-K, Bardina L, Schofield BH et al : A murine model of Peanut anaphylaxis : T and B cell responses to a major peanut allergen. J Allergy Clin Immunol (In press)
- 52) Lee S-Y, Huang C-K, Zhang T-F, Schofield BH, Burks AW, Bannon GA et al : Effects of oral administration of IL-12 on peanut hypersensitivity in a murine model of peanut allergy. J Allergy Clin Immunol 105: S187, 2000
- 53) Roy K, Mao H-Q, Huang S-K, Leong KW : Oral gene delivery with chitosan-DNA nanoparticles generates immunologic protection in a murine model of peanut allergy. Nature Med 5: 387-91, 1999