

취장 추출물 흡입에 의한  
병원근무자의 직업성 알레르기에서  
주요 알레르겐 규명

연세대학교 대학원  
의 학 과  
김 상 하

취장 추출물 흡입에 의한  
병원근무자의 직업성 알레르기에서  
주요 알레르겐 규명

지도교수 용 석 중

이 논문을 박사 학위논문으로 제출함

2005년 7월 일

연세대학교 대학원

의 학 과

김 상 하

# 김상하의 박사 학위논문을 인준함

심사위원\_\_\_\_\_인

심사위원\_\_\_\_\_인

심사위원\_\_\_\_\_인

심사위원\_\_\_\_\_인

심사위원\_\_\_\_\_인

연세대학교 대학원

2005년 7월 일

## 감사의 글

더 넓은 배움의 기회로 도전하게 하시고 박사 과정을 마칠 수 있기까지 기도해 주시고 사랑으로 지도해주신 용석중 교수님께 감사드립니다. 알레르기에 대해 공부할 수 있도록 기회를 열어주시고 아낌없는 지원과 격려를 해주신 신계철 교수님과 늘 마음 가까이서 어려움을 나눠주시는 리원연 교수님께도 깊은 감사를 드립니다. 논문 심사를 위해 바쁜 시간을 할애해 주신 박주영 교수님과 정순희 교수님, 조언의 말씀을 아끼지 않으신 박동준 교수님, 고상백 교수님께도 감사를 드립니다.

연구자의 본을 보이신 아주의대 박해심 교수님께 감사드리며 지난 한해는 느슨해지려할 때 돌아가야 할 지표가 되었습니다. 피펫을 처음 잡던 날부터 단백질 정량에서 SDS-PAGE 및 immunoblot에 이르기까지 차근차근 가르쳐 주며 수고해주신 김현미 선생님께 은혜를 입었습니다. 대상 환자들에 대한 검사와 설문지 작성 등을 꼼꼼히 챙겨주신 장선녀, 이현준 선생님과 그 외에 늘 열심인 실험실 및 외래 식구들께 감사를 전합니다. 진지한 열정으로 가르침을 베푸신 남동호 교수님과 서창희 교수님께도 감사를 드리며, 홀로 보낸 수원에서의 생활에 좋은 벗이 되어준 예영민, 김정은 선생과 여러 전공의 선생님들께 고마움을 전하며 함께 좋은 의사의 뜻을 이뤄가길 기도합니다.

중요한 시기를 함께 보내고 있음을 새삼 느끼게 하는 오랜 친구들, 모세, 재우, 유식, 성욱이와, 멀리 있지만 늘 가까운 이봉기, 이향아 선생의 가족과도 기쁨을 나누고 싶습니다.

늘 든든한 지지자이신 장인, 장모님의 사랑에 감사드립니다. 부족한 아들을 기도의 큰 사랑으로 늘 가르치시는 어머니께 깊은 감사를 드리며 일년간 수고 많이 한 아내와 주말마다 아빠를 잘 기다려준 유영이와도 기쁨을 나눕니다. 하나님 감사합니다.

저 자 씬

# 차 례

차 례 .....	i
그림차례 .....	iii
표 차례 .....	iv
국문요약 .....	1
I. 서 론 .....	3
II. 대상 및 방법 .....	5
1. 대상 .....	5
2. 방법 .....	5
가. 작업관련 호흡기 알레르기 증상 유무를 관찰하기 위한 설문지 조사 .....	5
나. 알레르기 피부단자시험 .....	5
다. 약제에 대한 혈청 특이 IgE 항체 측정 .....	6
라. 면역효소역제시험 .....	7
마. $\alpha$ -amylase에 대한 혈청 특이 IgG <sub>1</sub> , IgG <sub>4</sub> 항체 측정 .....	7
바. $\alpha$ -amylase에 대한 혈청 특이 IgE, IgG <sub>4</sub> immunoblotting ..	8
사. 통계 분석 .....	9
III. 결 과 .....	10
1. 대상 환자의 임상적 특성 .....	10
2. 작업관련 증상 유무에 따른 대상 환자들의 임상적 특성 .....	11
3. 작업관련 증상 유무에 따른 대상 환자들의 소화제에 대한 피부단자시험 결과 .....	12
4. 소화제에 대한 혈청 특이 IgE 항체 측정과 피부반응도와의 관련성 .....	13

5. 면역효소억제시험 .....	17
6. $\alpha$ -amylase에 대한 특이 IgE 및 IgG <sub>4</sub> immunoblotting .....	19
7. 작업관련 증상 유무에 따른 immunoblotting에서의 특이 항체 결합 양상의 비교 .....	20
IV. 고찰 .....	22
V. 결론 .....	28
참고문헌 .....	29
영문요약 .....	33

## 그림 차례

그림 1. 작업관련 증상 유무에 따른 $\alpha$ -amylase에 대한 특이 IgE 항체치	15
그림 2. Pancreatin 항원에 대한 면역효소억제시험	17
그림 3. Barse <sup>®</sup> 항원에 대한 면역효소억제시험	18
그림 4. Biodiastase 항원에 대한 면역효소억제시험	18
그림 5. $\alpha$ -amylase에 대한 IgE immunoblotting	19
그림 6. $\alpha$ -amylase에 대한 IgG <sub>4</sub> immunoblotting	20
그림 7. 작업관련 증상 유무에 따른 immunoblotting에서의 특이 항체 결합 양상의 비교	21

## 표 차 례

표 1 대상 환자의 임상적 특성 .....	10
표 2 작업관련 증상 유무에 따른 대상 환자의 임상적 특성 .....	12
표 3 작업관련 증상 유무에 따른 대상 환자들의 소화제에 대한 피부단자시험 결과 .....	13
표 4 소화제에 대한 피부단자시험의 반응도에 따른 혈청 특이 IgE의 양성률 ..	14
표 5 대상 환자군에 따른 소화제에 대한 피부단자시험의 양성률 .....	16
표 6 대상 환자군에 따른 소화제에 대한 혈청 특이 IgE의 양성률 .....	16



## 국 문 요 약

### 채장 추출물 흡입에 의한 병원근무자의 직업성 알레르기에서 주요 알레르겐 규명

채장 추출물이 포함된 소화제는 국내에서 널리 사용되는 약제 중에 하나로 이들 분말의 흡입에 의한 직업성 알레르기는 제약회사 직원이나 실험실의 연구원을 대상으로 한 증례 보고들이 있었다. 병원에서는 이들 약제들을 필요에 따라 분말로 제조하거나 투약하는 과정에서 약제의 분말을 흡입함으로써 호흡기 알레르기 질환이 발생할 수 있다. 이에 본 연구자는 병원근무자에서 소화제의 주성분인 채장 추출물의 분말 흡입에 의한 직업성 알레르기의 유병률 및 감각률을 조사하고 그 병인기전을 규명하고자 하였으며, 소화제 분말 흡입에 의한 알레르기 증상 유발군과 무증상군 간의 면역학적 특성을 비교하고 이에 관여하는 주요 알레르겐을 규명하고자 하였다.

대학병원 약제실 근무자(1군) 18명, 병동 간호사(2군) 135명, 비노출 정상 대조군(3군) 123명을 대상으로 하였으며, 설문지를 이용하여 천식, 비염 등의 호흡기 알레르기 증상 유무를 조사하였다. 흔한 흡입성 항원과 병원에서 흔히 처방되는 소화제 4종의 분말 조항원 및  $\alpha$ -amylase로 피부단자시험을 시행하였으며, 각 약제에 대한 혈청 특이 IgE 항체를 면역효소법으로 측정하였다. 호흡기 알레르기 증상과 관련이 높은 것으로 판단된  $\alpha$ -amylase에 대하여 혈청 특이 IgE, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>4</sub> 항체 측정과 IgE 및 IgG<sub>4</sub> immunoblotting을 시행하였다.

작업관련 호흡기 증상은 1군이 5명(27.8%), 2군에서 36명(26.7%)이었으며,  $\alpha$ -amylase를 포함한 4종의 약제에 대한 피부단자시험 양성률과 혈청 특

이 IgE 항체 양성률은 작업관련 호흡기 증상을 보였던 군에서 유의하게 높았다. 4종의 약제에 대한 면역효소억제시험에서는 각각 해당 약제뿐 아니라  $\alpha$ -amylase에도 용량반응곡선 양상으로 강한 억제반응이 관찰되었다.  $\alpha$ -amylase에 대한 IgE immunoblotting을 시행하였을 때 대상 환자의 50% 이상에서 19, 24 kDa의 단백대에 결합을 보였으며, 이는 작업관련 증상이 있었던 환자에서 주로 관찰되었다. IgG<sub>4</sub> immunoblotting에서는 대상 환자의 50% 이상에서 19 kDa의 단백대에 결합이 관찰되었으며, 작업관련 증상이 없었던 모든 환자에서 관찰되었다.

병원근무자들의 췌장 추출물을 성분으로 하는 소화제 분말 흡입에 의한 직업성 알레르기의 주된 원인물질은  $\alpha$ -amylase이고 그 병인기전은 IgE 매개 반응에 의하며,  $\alpha$ -amylase에 대한 19, 24 kDa의 두 개의 주요 알레르겐 성분을 규명하였으며 19 kDa에 대한 특이 IgG<sub>4</sub> 항체는 증상 발생에 대한 차단 항체로 작용할 수 있을 것으로 생각된다.

---

핵심되는 말 : 췌장 추출물, 소화제, 직업성 알레르기,  $\alpha$ -amylase, 병원근무자, 주요 알레르겐

# 채장 추출물 흡입에 의한 병원근무자의 직업성 알레르기에서 주요 알레르겐 규명

<지도 용 석 중 교수>

연세대학교 대학원 의학과

김 상 하

## I. 서 론

직업성 알레르기는 그 직업에 관련되는 특정물질에 노출된 후 나타나는 질환으로 직업성천식과 비염, 과민성폐장염 등이 있다. 특정한 직장에 종사하면서 작업과 관련된 기침과 가래, 호흡곤란과 같은 천식 증상이나 콧물, 재채기, 코간지럼증과 같은 비염 증상이 발생 혹은 악화되다가 직장을 쉬거나 그만두면 증상이 소실되거나 현저한 개선을 보이는 것이 특징이다.

이러한 직업성 알레르기 질환의 원인이 되는 물질은 지금까지 세계적으로 약 300가지 이상이 보고되어 있다. 이들 가운데 생물학적 효소제에 의한 직업성 알레르기 질환에 대한 보고가 있었으며 이들의 대부분에서 IgE 매개 반응에 의한 기전임이 밝혀졌다<sup>1-4</sup>. 본 연구에서 다루고자 하는 돼지 채장 추출물은  $\alpha$ -amylase와 lipase 등이 포함된 효소 복합제로 주로 소화제의 원료로 사용되는 물질이다. 소화제는 특히 국내에서 흔히 처방되어 복용되거나 필요에 따라 직접 약국에서 쉽게 구매하여 복용될 수 있는 약제로, 소화제 분말 흡입에 의한 직업성천식이 보고된 것은 국내 보고인 제약회사에서 biodiastase 분말을 다루는 일에 종사하는 근로자에서 발생한

직업성천식과<sup>5</sup> 대학병원에 근무하는 간호사에서 소화제 성분인 돼지 췌장 추출물 분말에 의해 발생한 직업성천식의 예<sup>6</sup>를 제외하고는 국내외 보고가 없는 실정이며, 이에 대한 역학 및 병인기전에 대한 연구가 부족하다.

이에 본 연구자는 병원에서 흔히 처방 되는 소화제를 가루로 조제하고 이를 다루는 과정에서 약제의 분말에 노출될 수 있는 병원 약제실 근무자 및 병동 간호사에 대하여 소화제 분말 흡입에 의한 감작률과 이로 인한 직업성 알레르기의 유병률을 조사하고 그 병인기전을 규명하고자 하였으며, 소화제 분말 흡입에 의한 알레르기 증상 유발군과 무증상군 간의 면역학적 특성을 비교하고 이에 관여하는 주요 알레르겐을 규명하고자 하였다.

## II. 대상 및 방법

### 1. 대상

대학병원의 약제실에 근무하고 있는 보조원을 포함한 약사 18명(1군), 병동에 근무하는 간호사 135명(2군)과 알레르기 질환의 과거력이 없고 알레르기 피부단자시험상 음성 반응을 보인 정상 대조군 123명(3군)을 대상으로 하였다. 1군과 2군 모두 여자였으며, 비흡연자였다.

### 2. 방법

#### 가. 작업관련 호흡기 알레르기 증상 유무를 관찰하기 위한 설문지 조사

설문지는 알레르기 질환의 역학 조사를 위하여 ISACC에서 제안한 설문지<sup>7</sup>를 변형하여 시행하였으며, 천식, 비염 등의 호흡기 알레르기 증상의 유무와 작업관련성 여부, 노출기간과 증상 발현까지의 기간, 흡연력과 다른 알레르기 질환의 동반여부 등을 조사하였고, 대상 환자들의 증상 유발과 관련이 있는 소화제 약물을 설문하였다. 설문지에서 직업성천식이 의심될 때 환자의 동의를 얻어 추가 정밀검사를 시행하였다.

#### 나. 알레르기 피부단자시험

알레르기 피부단자시험은 우리나라의 흔한 여덟 가지 흡입 항원, *Dermatophagoides pteronyssinus*, *D. farinae*, tree mixture, grass mixture, mugwort, ragweed, cat fur, dog fur와 호흡기 알레르기 증상 발현과 관련이 있는 것으로 설문된 네 가지 소화제, Pancron<sup>®</sup>, Beszyme<sup>®</sup>, Bearse<sup>®</sup>, Festal<sup>®</sup> 및 이들 소화제의 공통성분인 pancreatin의 주성분인  $\alpha$ -amylase (Sigma Co., St. Louis, MO)에 대하여 피부단자시험을

시행하였다. 네 가지 약제는 각각 phosphate buffered saline (PBS)에 녹인 후 원심분리하여 얻은 상층액에 동량의 glycerine (Sigma Co., St. Louis, MO)을 첨가하여 피부단자시험을 시행하였고 양성 대조액으로 0.1% 히스타민을, 음성 대조액으로 생리식염수를 사용하였다. 판독은 검사시작 15분 후 팽진과 발적의 크기를 측정하여 히스타민의 팽진과 비교하여 항원의 반응 정도를 알레르겐/히스타민 팽진비(A/H비)에 따라 판독하였으며, A/H비가 1 미만이면서 홍반의 크기가 21 mm 미만인 경우를 1+로, A/H비가 1 미만이면서 홍반의 크기가 21 mm 이상인 경우를 2+로, A/H비가 1 이상인 경우를 3+로, A/H비가 2 이상인 경우를 4+로 판정하였다<sup>8</sup>.

#### 다. 약제에 대한 혈청 특이 IgE 항체 측정

혈청내 존재하는 각 소화제 약물과 이들의 주요 성분에 대한 특이 IgE 항체를 측정하기 위하여 면역효소법을 시행하였다. 네 가지 소화제의 공통성분인 pancreatin (Sigma Co., St. Louis, MO)과 그 주요성분인  $\alpha$ -amylase, 그리고 biodiastase (Sigma Co., St. Louis, MO)와 이를 구성성분으로 하는 소화제인 Barse<sup>®</sup>를 각각 항원으로 하여 예비 실험을 통해 항원의 적정 농도를 결정하였다. 각각의 항원을 0.05 M carbonate-bicarbonate buffer에 녹여 96-well microplate (Corning, NY)에 각 well 당 100  $\mu$ L씩 넣고 4°C에서 12시간 이상 작용시킨 후 이를 0.05% PBS-Tween 20으로 3회 세척하였다. 비특이적 결합을 방지하기 위하여 10% fetal bovine serum-PBS를 각 well당 200  $\mu$ L씩 넣고 상온에서 1시간 작용시켰다. 3회 세척 후, 1군 및 2군 대상 환자의 혈청과 대조군의 혈청을 각각 1/2로 희석하여 50  $\mu$ L씩 넣고 30°C에서 1시간 작용시켰다. 다시 3회 세척 후 1:1000 v/v biotin labeled goat anti-human IgE (Vector Lab, Burlingame, CA) 항체를 well당 100  $\mu$ L씩 넣고 1시간 작용시킨 후 3회

세척하였다. 여기에 1:1000 v/v streptavidine-peroxidase (Sigma Co., St. Louis, MO)를 well당 100  $\mu$ L씩 투여하고 30분간 작용시킨 후 3회 세척하였다. 발색제(3,3',5,5'-tetraethylbenzidine one tablet, phosphate citrate buffer 10 mL, 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 2  $\mu$ L)를 well당 100  $\mu$ L씩 넣어 상온에서 10분간 발색 후 2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 발색을 중지시키고 plate reader를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 정상 대조군의 평균 흡광도에 3배의 표준편차치를 더하여 cut-off치를 산출하여, 그 이상인 경우를 증가된 것으로 간주하였다.

#### 라. 면역효소억제시험

소화제 및 구성성분에 대한 항원 특이성을 확인하기 위하여 pancreatin, biodiastase, Bearnse<sup>®</sup>에 대하여 면역효소억제시험을 시행하였다. Pancreatin에 대하여는 pancreatin,  $\alpha$ -amylase, biodiastase, *D. pteronyssinus*를 억제제로, biodiastase에 대하여는 biodiastase, Bearnse<sup>®</sup>,  $\alpha$ -amylase, *D. pteronyssinus*를 억제제로, Bearnse<sup>®</sup>에 대하여는 Bearnse<sup>®</sup>, biodiastase,  $\alpha$ -amylase, *D. pteronyssinus*를 억제제로 사용하였으며, 각각의 억제제는 0, 1, 10, 100  $\mu$ g/ml 농도로 환자의 혈청과 4°C에서 12시간 이상 반응시켰다. 이를 각각의 항원이 부착된 microplate에 well당 50  $\mu$ L씩 넣고 1시간 작용시킨 후 항체 측정시와 같은 방법으로 IgE 항체에 대해 면역효소법을 시행하였다. 억제제 대신 동량의 PBS를 작용시킨 경우를 대조군으로 하였다. 특히 항체 결합의 억제 정도(%)는 [(대조군의 흡광도-억제제가 포함된 sample의 흡광도)/대조군의 흡광도]에 100을 곱한 값으로 정의하였다.

#### 마. $\alpha$ -amylase에 대한 혈청 특이 IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>4</sub> 항체 측정

혈청내 존재하는  $\alpha$ -amylase에 대한 특이 IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>4</sub> 항체를 측정하기

위하여 면역효소법을 시행하였으며, 예비 실험을 통해 항원의 적정 농도를 결정하였다. 1군 및 2군 대상 환자의 혈청과 대조군의 혈청을 각각 1/2로 희석하여 사용하였고, 혈청 특이 IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>4</sub> 항체를 측정을 위하여 각각 1:2000 v/v biotin labeled goat anti-human IgG<sub>1</sub>와 IgG<sub>4</sub> 항체를 사용하였으며, 1:1000 v/v streptavidine-peroxidase를 작용시켜 관찰하였고 나머지 방법은 혈청 특이 IgE 항체 측정 방법과 동일한 방법으로 하였다.

#### 바. $\alpha$ -amylase에 대한 혈청 특이 IgE 및 IgG<sub>4</sub> immunoblotting

$\alpha$ -amylase를 non-reducing sample buffer (0.5 M tris-HCl, 25% glycerol, 10% wt/vol sodium dodecyl sulfate, 0.1% bromophenol blue)에 녹이고 5분간 가열시킨 후, 4% stacking gel 및 12% SDS gel에 well당 30  $\mu$ g의 농도로 loading하여 120 V로 1시간 30분간 전기영동하였다. 표지자(4~250 kDa, Invitrogen, San Diego, CA)는 6  $\mu$ l를 넣었다. 전기영동을 한 후, PVDF membrane (Millipore Co., Bedford, MA)에 250 mA로 2시간 전이시키고 4 mm 간격으로 절단한 후, 비특이적 결합을 방지하기 위하여 5% skim milk TBST (Tween-20 Tris-buffered saline)를 첨가하여 2시간가량 반응시켰다.  $\alpha$ -amylase에 대한 혈청 특이 IgE 및 IgG<sub>4</sub> immunoblotting을 위해서 1/2 희석한 대조군을 포함한 환자의 혈청을 4°C에서 12시간 이상 작용시켰다. 다시 TBST로 세척한 다음 각각 1:1000 biotinylated anti-human IgE 및 IgG<sub>4</sub>를 상온에서 1시간 작용시킨 후 TBST로 세척하였다. 그 후 alkaline phosphatase가 결합된 goat anti-human IgE 및 IgG<sub>4</sub> (Sigma, St. Louis, MO)를 1:1000 희석 후 상온에서 30분 반응시켰다. TBST로 10분간 4회, TBS로 10분간 1회 세척 후 nitroblue tetrazolium/bromochloro-indolyl phosphate (NBT/BCIP; Promega, Madison, WI)를 이용하여 약 10분간 발색시켰다.



#### 사. 통계 분석

연구 결과의 통계학적 분석은 SPSS v11.0을 이용하였고, 서로 다른 군간의 비교는 Chi-square test를 사용하였고, 수치간의 연관성은 Pearson' s correlation을 시행하였다. 측정치는 평균값±표준편차로 나타내었으며, *p*값이 0.05 미만인 경우 통계적으로 유의한 것으로 하였다.

### III. 결 과

#### 1. 대상 환자의 임상적 특성

대학병원 약제실 근무자 18명(1군), 병동 근무하는 간호사 135명(2군)과 비아토피성 정상 대조군 123명(3군)을 대상으로 하였으며, 아토피의 유무를 확인하기 위하여 시행한 알레르기 피부단자시험에서 1군은 8명(44.4%), 2군은 43명(31.9%)이 아토피가 있었으며, 두 군간의 유의한 차이를 보이지 않았다(표 1). 평균 나이는 1군이  $25.8 \pm 3.6$ 세, 2군이  $27.5 \pm 3.1$ 세, 3군이  $37.3 \pm 15.2$ 세로 세 군간의 유의한 차이는 없었다.

표 1. 대상 환자의 임상적 특성

	1군 (환자수=18)	2군 (환자수=135)	3군 (환자수=123)
나 이(세)*	$26.1 \pm 3.2$	$27.5 \pm 3.1$	$37.3 \pm 15.2$
성 별(남/여)	0 / 18	0 / 135	66 / 57
아토피(%)	8 (44.4)	43 (31.9)	—
알레르기비염의 과거력(%)	2 (11.1)	19 (14.1)	—
기관지천식의 과거력(%)	0 (0)	8 (5.9)	—
노출기간(개월)*	$37.3 \pm 35.7$	$43.8 \pm 26.9$	—
작업관련 호흡기계 증상(%)	5 (27.8)	37 (27.4)	—

\* 평균±표준편차.

알레르기 질환의 과거력을 조사하였을 때, 알레르기비염의 빈도가 가장 높아서 1군에서 2명(11.1%), 2군에서 19명(14.1%)이었고, 기관지천식의 경우는 1군에서 0명(0%), 2군에서 8명(5.9%)으로 관찰되었으나 두 질환에서 모두 두 군간의 빈도상 유의한 차이는 없었다. 직업력상 대상 환자들의 약제분말에 대한 폭로기간이 되는 약제실 및 병동에서의 근무기간이 1군은  $37.3 \pm 35.7$ 개월, 2군은  $43.8 \pm 26.9$ 개월로 두 군간의 유의한 차이는 없었다.

대상 환자에서 소화제를 가루로 조제하거나 분말을 다루는 작업과 관련하여 발생하는 비염 또는 천식 증상을 호소한 경우는 1군은 5명(27.8%), 2군은 37명(27.4%)이었다.

## 2. 작업관련 증상 유무에 따른 대상 환자들의 임상적 특성

1군과 2군 대상 환자 총 153명 중 42명(27.5%)이 소화제 분말을 다루는 작업과 관련된 비염 또는 천식 증상을 호소하였다. 대상 환자를 작업관련 증상 유무에 따라 분류하였을 때, 나이와 아토피 등은 두 군간에 유의한 차이가 없었으며 대상 환자 전원 모두 비흡연자 여성이었다. 하지만, 작업관련 증상이 있었던 환자군은 무증상군에 비해 과거력상 알레르기 질환으로 알레르기성비염( $p=0.026$ ,  $OR=2.8$ )과 기관지천식( $p=0.036$ ,  $OR=4.9$ )이 있는 경우가 유의하게 더 높았다(표 2). 또한 소화제 분말에 대한 노출기간을 비교하였을 때, 작업관련 증상을 호소하였던 환자군( $54.6 \pm 27.2$ 개월)이 무증상군( $38.6 \pm 27.2$ 개월)보다 노출기간이 유의하게 증가되어 있었다. 또한 소화제 분말 흡입에 의한 작업관련 호흡기 알레르기 증상의 잠복기간은  $16.8 \pm 15.1$ 개월이었다.

표 2. 작업관련 증상 유무에 따른 대상 환자의 임상적 특성

	작업관련 증상		p값
	있음 (환자수=42)	없음 (환자수=111)	
나이(세)*	27.9±3.0	27.1±3.2	NS
아토피(%)	16 (38.1)	35 (31.5)	NS
알레르기비염의 과거력(%)	10 (23.8)	11 (9.9)	0.026 <sup>†</sup>
기관지천식의 과거력(%)	5 (11.9)	3 (2.7)	0.036 <sup>†</sup>
노출기간(개월)*	54.6±27.2	38.6±27.2	0.001 <sup>†</sup>
잠복기간(개월)*	16.8±15.1	—	—

\* 평균±표준편차, NS: not significant, <sup>†</sup>  $p < 0.05$ .

### 3. 작업관련 증상 유무에 따른 대상 환자들의 소화제에 대한 피부단자시험 결과

피부단자시험을 시행하였던 Pancron<sup>®</sup>, Beszyme<sup>®</sup>, Bearse<sup>®</sup>, Festal<sup>®</sup> 및  $\alpha$ -amylase 각각에 대한 피부단자시험의 양성률을 비교하였을 때, 작업관련 증상을 호소하였던 환자군(28.6~31.0%)이 무증상군(10.8~14.4%)보다 양성률이 모두 유의하게 높았다(표 3).

표 3. 작업관련 증상 유무에 따른 대상 환자들의 소화제에 대한 피부단자시험 결과

소화제에 대한 피부단자시험 양성률	작업관련 증상		<i>p</i> 값 (OR)
	있음 (환자수=42)	없음 (환자수=111)	
Pancron <sup>®</sup> (%)	13 (31.0)	12 (10.8)	0.003* (3.7)
Beszyme <sup>®</sup> (%)	12 (28.6)	16 (14.4)	0.043* (2.4)
Bearse <sup>®</sup> (%)	12 (28.6)	13 (11.7)	0.012* (3.0)
Festal <sup>®</sup> (%)	13 (31.0)	13 (11.7)	0.005* (3.4)
$\alpha$ -amylase (%)	12 (28.6)	12 (10.8)	0.007* (3.3)

OR: odd ratio, \*  $p < 0.05$ .

#### 4. 소화제에 대한 혈청 특이 IgE 항체 측정과 피부반응도와와의 관련성

소화제에 대한 피부단자시험상 약제에 대한 피부반응도에 따른 혈청 특이 IgE 항체의 양성률을 확인하였을 때, Bearse<sup>®</sup>,  $\alpha$ -amylase, pancreatin에 대하여 피부반응도가 증가할수록 특이 IgE 항체의 양성률이 증가되는 양상을 보였으며(표 4), 세 가지 약제 각각에 대한 특이 IgE 항체치도 피부반응도가 증가할수록 모두 증가되는 양적 상관관계를 보였다( $r=0.612$ ,  $p < 0.001$ ;  $r=0.782$ ,  $p < 0.001$ ;  $r=0.717$ ,  $p < 0.001$ ).

표 4. 소화제에 대한 피부단자시험의 반응도에 따른 혈청 특이 IgE 의 양성률

소화제에 대한 혈청 특이 IgE의 양성률	피부단자시험의 반응도		
	2+	3+	4+ 이상
Bearse <sup>®</sup> (%)	1/9 (11.1)	4/10 (40.0)	6/6 (100.0)
$\alpha$ -amylase (%)	1/10 (10.0)	4/5 (80.0)	9/9 (100.0)
Pancreatin (%)	1/11 (9.1)	6/8 (75.0)	8/9 (88.9)

또한 작업관련 증상 유무에 따른 대상 환자의 혈청 특이 IgE 항체치를 비교하였을 때, 그 평균값이 작업관련 증상을 호소하였던 환자에서 무증상군 및 정상 대조군보다 모두 유의하게 높았다(그림 1).

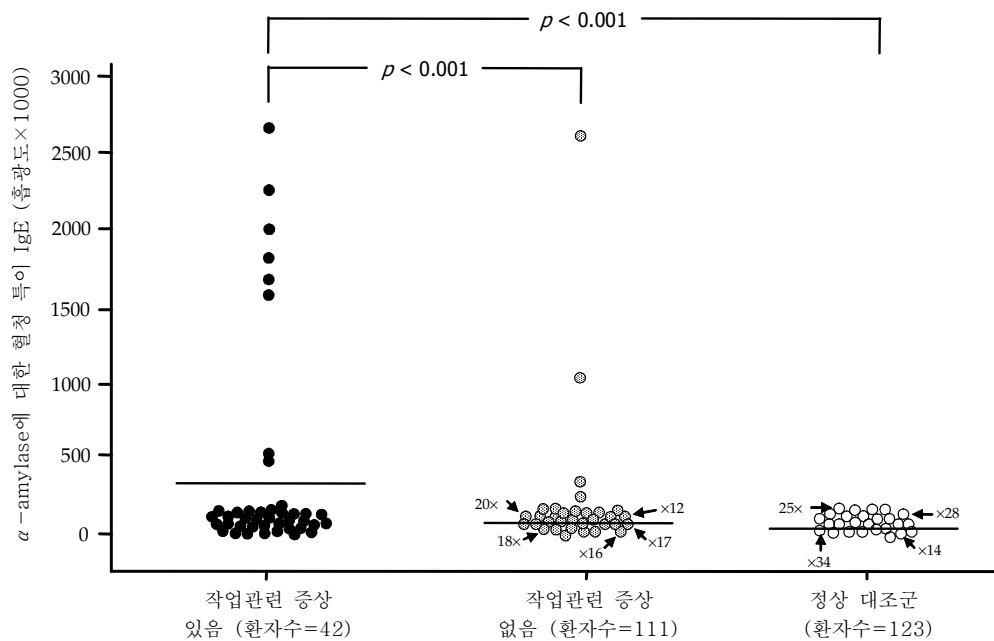


그림 1. 작업관련 증상 유무에 따른  $\alpha$ -amylase에 대한 특이 IgE 항체치.

한편, 소화제에 대한 피부단자시험의 양성률을 대상 환자군에 따라 비교하면, 1군이 2군보다 각각의 약제에 대한 피부단자시험 양성률이 모두 증가된 경향을 보였으나, 통계적으로 유의한 차이는 없었다(표 5). 또한 pancreatin,  $\alpha$ -amylase, biodiastase, Bearse<sup>®</sup>에 대하여 측정한 혈청 특이 IgE 항체의 양성률을 대상 환자군에 따라 비교하였을 때(표 6), pancreatin의 경우는 1군이 3명(16.7%), 2군이 12명(8.9%), 대조군이 1명(0.8%)이었으며,  $\alpha$ -amylase의 경우는 1군이 3명(16.7%), 2군이 12명(8.9%), 대조군이 2명(1.6%)이었고, Bearse<sup>®</sup>의 경우는 1군이 2명(11.1%), 2군이 12명(8.9%), 대조군이 0명(0%)이었다. 이들 약제들에

대해서는 1군, 2군, 대조군의 순으로 약제에 대한 특이 IgE 항체의 양성률이 높은 경향을 보였으며, 통계적으로도 유의하였다( $p<0.05$ ). 반면 bodiastase는 세 군간의 유의한 차이를 보이지 않았다.

표 5. 대상 환자군에 따른 소화제에 대한 피부단자시험의 양성률

소화제에 대한 피부단자시험의 양성률	1군 (환자수=18)	2군 (환자수=135)	3군 (환자수=123)
Pancron <sup>®</sup> (%)	4 (22.2)	21 (15.6)	—
Beszyme <sup>®</sup> (%)	4 (22.2)	24 (17.8)	—
Bearse <sup>®</sup> (%)	6 (33.3)	19 (14.1)	—
Festal <sup>®</sup> (%)	5 (27.8)	21 (15.6)	—
$\alpha$ -amylase (%)	4 (22.2)	20 (14.8)	—

표 6. 대상 환자군에 따른 소화제에 대한 혈청 특이 IgE의 양성률

소화제에 대한 특이 IgE의 양성률	1군 (환자수=18)	2군 (환자수=135)	3군 (환자수=123)
Pancreatin (%)	3 (16.7)	12 (8.9)	1 (0.8)
$\alpha$ -amylase (%)	3 (16.7)	12 (8.9)	2 (1.6)
Bodiastase (%)	0 (0.0)	3 (2.2)	0 (0.0)
Bearse <sup>®</sup> (%)	2 (11.1)	12 (8.9)	0 (0.0)



## 5. 면역효소억제시험

소화제 및 구성성분에 대한 IgE 면역 반응의 특이성을 확인하기 위하여 시행한 면역효소억제시험에서, pancreatin의 경우 pancreatin과  $\alpha$ -amylase를 억제제로 사용했을 때에만 용량반응곡선 양상으로 강한 억제 반응을 보였다(그림 2). Bearse<sup>®</sup>의 경우 Bearse<sup>®</sup>와  $\alpha$ -amylase를 억제제로 사용했을 때 강한 억제 반응을 보였고(그림 3), biodiastase의 경우 biodiastase와 Bearse<sup>®</sup>를 억제제로 사용했을 때에만 마찬가지로 강한 억제 반응을 보였으며(그림 4), 그 외의 약제 및 집먼지진드기에 대한 억제 반응은 미미하였다.

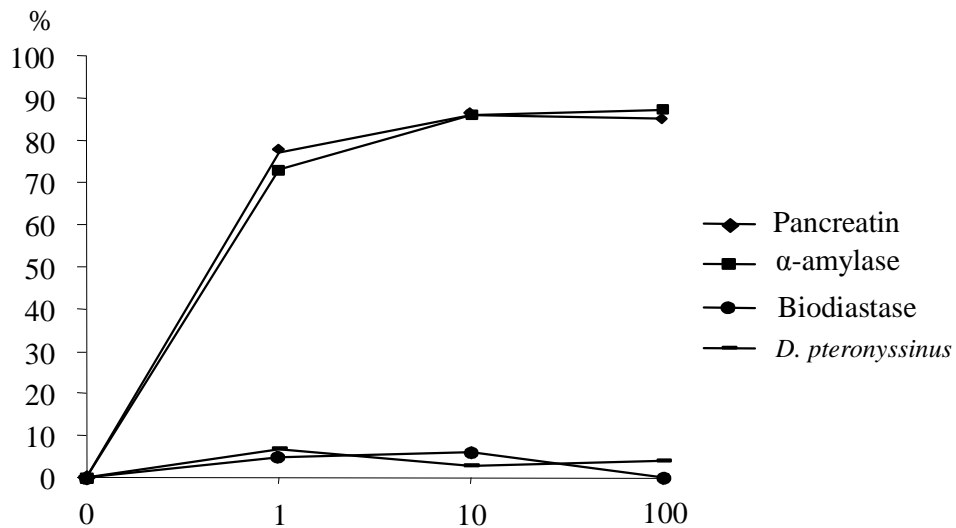


그림 2. Pancreatin 항원에 대한 면역효소억제시험.

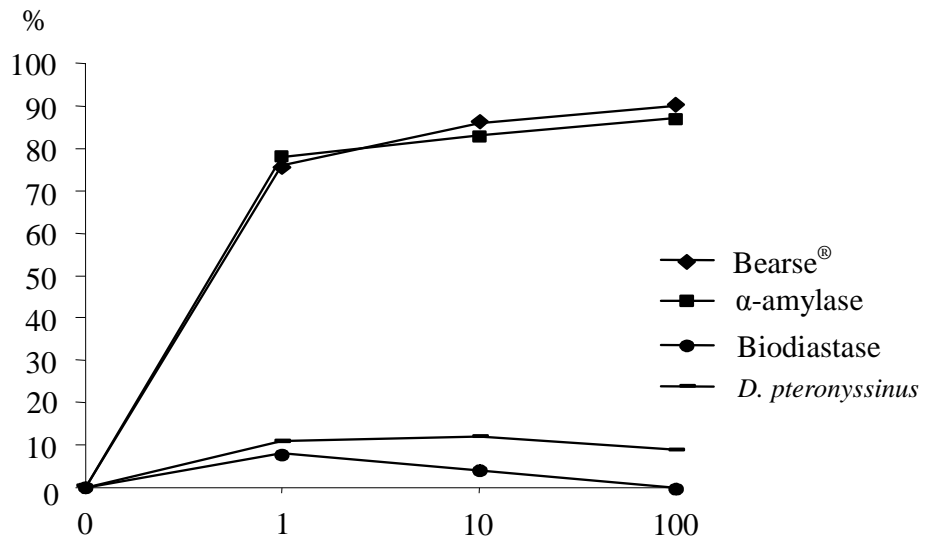


그림 3. Barse® 항원에 대한 면역효소억제시험.

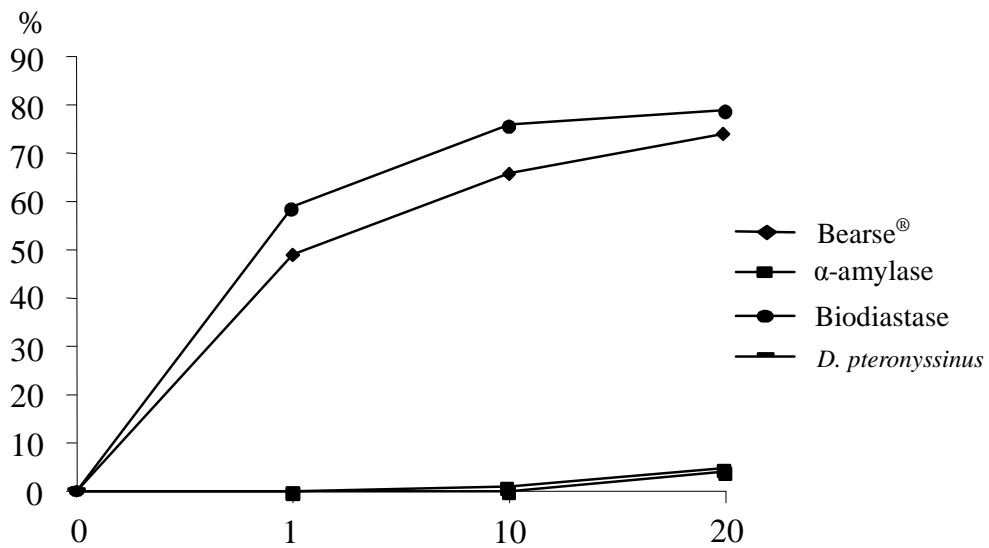


그림 4. Biodiastase 항원에 대한 면역효소억제시험.

## 6. $\alpha$ -amylase에 대한 특이 IgE 및 IgG<sub>4</sub> immunoblotting

연구에 사용된 소화제 약물 및 구성성분에 대하여 시행한 면역효소역제시험 결과를 통해 이들에 의한 알레르기 반응은 주로 그 성분을 이루고 있는  $\alpha$ -amylase에 의한 것임을 알 수 있었으며,  $\alpha$ -amylase에 대한 특이 IgE 및 IgG<sub>4</sub> immunoblotting을 시행하였다.

$\alpha$ -amylase 항원에 대해 SDS-PAGE를 시행한 후 이를 감작된 혈청으로 IgE immunoblotting을 하였을 때, 3개(19, 24, 30 kDa)의 특이 IgE 항체에 반응하는 단백질이 관찰되었다(그림 5). 이 단백질들 중에서 19, 24 kDa의 단백질은 대상 환자의 50% 이상에서 관찰되었다. 또한  $\alpha$ -amylase 항원에 대한 IgG<sub>4</sub> immunoblotting을 하였을 때, 2개(19, 30 kDa)의 특이 IgG<sub>4</sub> 항체에 반응하는 단백질이 관찰되었으며(그림 6), 19 kDa의 단백질이 대상 환자의 50% 이상에서 관찰되었다.

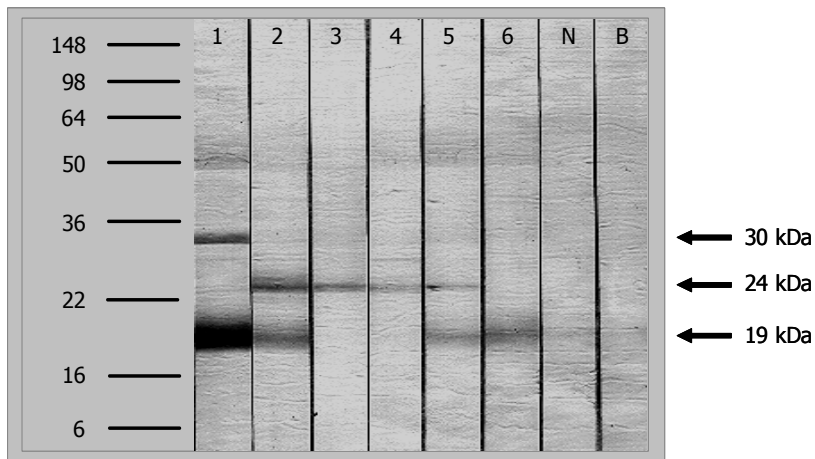


그림 5.  $\alpha$ -amylase에 대한 IgE immunoblotting. N: normal control, B: buffer control.

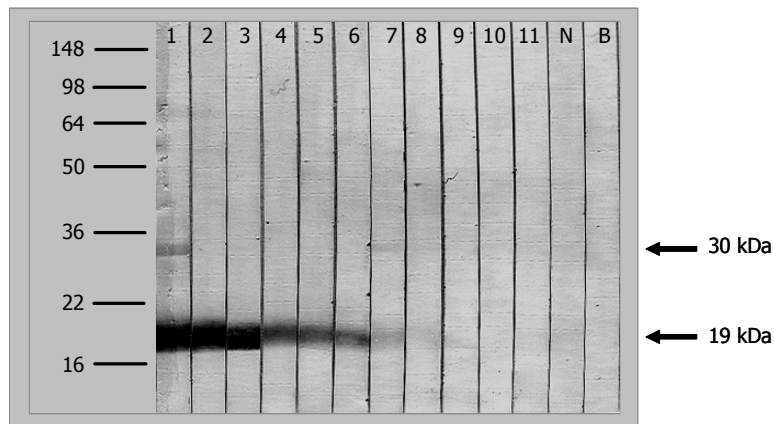


그림 6.  $\alpha$ -amylase에 대한 IgG<sub>4</sub> immunoblotting. N: normal control, B: buffer control.

#### 7. 작업관련 증상 유무에 따른 immunoblotting에서의 특이 항체 결합 양상의 비교

$\alpha$ -amylase에 대한 IgE immunoblotting을 시행한 대상 환자들 중에서 작업관련 증상이 있었던 환자의 80%에서 19 kDa의 단백대의 결합이 관찰되었다(그림 7). 또한  $\alpha$ -amylase에 대한 IgG<sub>4</sub> immunoblotting을 시행한 대상 환자들 중에서 작업관련 증상이 없었던 모든 환자에서(100%) 19 kDa의 단백대의 결합이 관찰되었다.

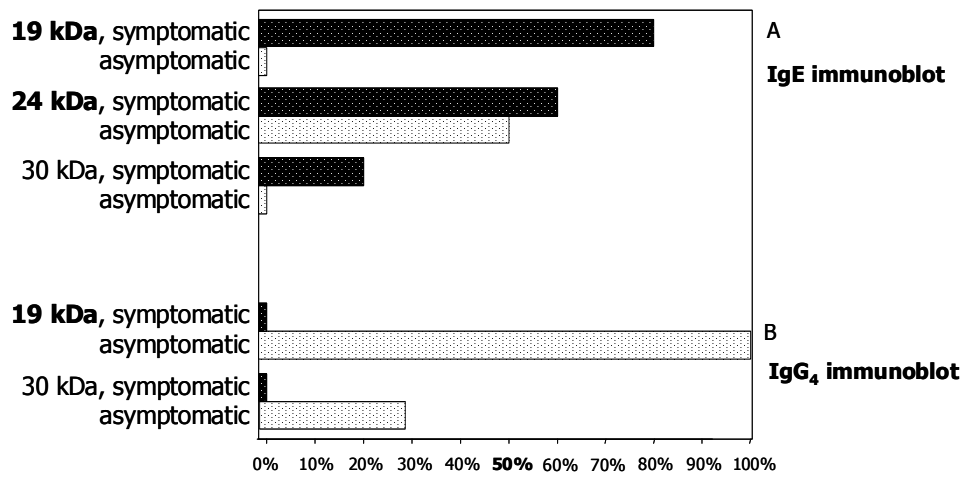


그림 7. 작업관련 증상 유무에 따른 immunoblotting에서의 특이 항체 결합 양상의 비교.

## IV. 고 찰

췌장 추출물은 췌장의 효소 분비장애가 있는 췌장 낭포성 섬유증 환자에서 보충 치료제로 사용되어 왔으며, 췌장 낭포성 섬유증 환아와 이들의 어머니에서 췌장 추출물 복용 과정에 이들 분말의 흡입으로 인한 알레르기 질환의 발생이 보고된 바 있다<sup>9</sup>. 췌장 추출물에 의한 직업성 알레르기 질환은 췌장 추출물 분말에 장기간 노출되었던 제약회사 직원 및 실험실 연구원에서 확인되었으며<sup>10-12</sup>, 그 병인기전에 대해서는 아직 완전히 규명되지 못한 상태이다. 1995년 Wiessmann 등이 제약회사 근로자에서 췌장 추출물에 장기간 노출된 이후 운동시 호흡곤란 등의 천식 증상이 발생하였던 14명의 근로자를 보고한 내용에 따르면, 췌장 추출물에 대한 피부단자시험과 기관지유발시험에서 양성 반응을 일으키는 것은 췌장 추출물 내에 포함된  $\alpha$ -amylase에 의한 IgE 매개 면역반응이 주된 기전임을 주장하였다<sup>13</sup>. 또한 췌장 추출물에 의한 직업성 폐 질환의 기전으로, (1) 기관지천식을 유발하는 제 I 형 과민반응, (2) 폐포염과 폐 섬유화를 유발하는 제 III형 과민 반응, (3) 단백 분해효소에 의한 비특이적인 기도과민성 들을 제안하였다<sup>13</sup>.

제 I 형 과민반응으로 유발되는  $\alpha$ -amylase에 의한 기관지천식은 제빵공 천식에서 잘 알려져 있는데<sup>14-16</sup>, Renata 등이 125명의 제빵공을 대상으로 작업 관련 호흡기 알레르기 증상의 조사와  $\alpha$ -amylase에 대한 피부단자시험을 시행한 전향적인 연구에서, 조사기간 30개월째에 대상 환자의 9.0%에서 작업 관련 증상을 나타내었으며,  $\alpha$ -amylase에 대한 피부단자시험에서 10.1%의 감작률을 나타내었다<sup>17</sup>. 또한 알레르기 질환의 과거력이 있는 군에서 작업 관련 증상의 발생이 유의하게 높았다(odd ratio=5.8)<sup>17</sup>. 본 연구에서는  $\alpha$ -amylase를 구성성분으로 하는 소화제 분말에 노출되었던 대상 환자의 27.5%(42/153명)에서 작업 관련 호흡기 알레르기 증상이 관찰되었으며, 약제를 가루로 조제하는 작업을 주로 하는 약제실 근무자에서 이들 약제에 대한 노출 강도가 보다

높을 것으로 판단하여 병실 간호사 군(2군)과 비교하였을 때 작업관련 증상 빈도에는 유의한 차이는 없었다. 소화제 분말 노출 대상 환자 153명의 평균 노출기간은  $43.0 \pm 28.0$ 개월이었으며, 본 연구에서 작업관련 증상의 빈도가 보다 높게 관찰된 것은 제빵공을 대상으로 한 연구보다 원인 물질에 대한 노출기간이 길었으며 노출된 분말에 포함된  $\alpha$ -amylase의 농도의 차이가 관여하였을 것으로 추측되나 이에 대한 추가 연구가 더 필요하리라 생각된다. 또한 알레르기비염의 과거력이 있는 경우( $p=0.026$ )와, 기관지천식의 과거력이 있는 경우( $p=0.036$ )에 작업관련 증상의 빈도가 유의하게 높았으며 기관지천식의 경우는 odd ratio가 4.9로 관찰되어, 알레르기 질환의 과거력이 있는 환자가 소화제 분말에 노출되었을 때 호흡기 알레르기 증상의 발생률이 더 높을 것이다. 작업관련 증상이 있었던 군에서 소화제 분말에 대한 노출기간이 유의하게 증가되어 있었는데, Renata 등의 연구<sup>17</sup>에서도 노출기간이 증가할수록 작업관련 증상의 발생 빈도가 증가됨을 보고하며 노출기간 6개월에 3.4%의 빈도를 보이던 것이 18개월에 4.8%, 30개월 9.0%의 빈도를 보여, 소화제 분말에 대한 노출기간이 길수록 이로 인한 호흡기 알레르기 증상의 발생이 증가할 것으로 판단된다.

$\alpha$ -amylase 분말에 노출된 제약회사 근로자 83명을 대상으로 조사한 연구에서는 26명(31.3%)에서  $\alpha$ -amylase에 대한 피부단자시험에서 양성 반응을 보였으며, 혈청 특이 IgE 항체치를 측정하였을 때 피부단자시험에서 양성 반응을 보였던 환자에서 보다 높은 값으로 관찰되었다<sup>18</sup>. 89명의 제빵공을 대상으로 한 연구에서도 작업관련 증상이 있었던 43명중에서 14명(32%)이  $\alpha$ -amylase에 감작된 것을 보고하였다<sup>19</sup>. 본 연구에서  $\alpha$ -amylase를 포함하는 소화제 분말에 대한 피부단자시험을 시행하였을 때, 작업관련 증상이 있었던 환자군에서 28.6~31.0%, 무증상군에서 10.8~14.4%에서 양성 반응을 보였다(표 3). 이처럼 작업관련 증상 환자군에서 감작률이 유의하게 증가되어 있으면서 면역효소법을 통해 혈청 특이 IgE 항체를 측정할 수 있었고, 피부반응

도가 증가할수록 특이 IgE 항체의 양성률도 증가하는 양상을 보이면서(표 4) 작업관련 증상이 있었던 환자군에서의 특이 IgE 항체치가 무증상군보다 유의하게 높은 것으로 관찰된 사실(그림 1)로 미루어, 소화제분말 흡입에 의한 알레르기 질환은 IgE 매개반응에 의한 반응임을 알 수 있었다.

1군과 2군으로 나누어 약물에 대한 피부단자시험 및 혈청 특이 IgE의 양성률을 비교하였을 때,  $\alpha$ -amylase를 포함한 소화제 약물에 대한 피부단자시험에서는 통계학적으로 유의한 수준은 아니었으나 1군에서 증가된 양상을 보였고, 혈청 특이 IgE 양성률은 biodiastase를 제외하고는 나머지 약물에서 모두 1군에서 유의하게 높은 빈도를 보였다. 소화제 약물을 분말로 조제하는 과정이 진행되는 약제실에서 근무할 때 더 강한 강도로 노출될 것으로 생각한다면 원인 약제의 분말의 노출강도가 강할수록 이에 대한 감작률도 증가한다고 할 수 있을 것이다. 원인 물질에 대한 노출은 직업성 알레르기의 가장 중요한 위험요소 중에 하나로 이 원인 물질의 노출정도와 감작률 혹은 천식 발생률과의 용량-반응 관계를 보고한 연구에서,  $\alpha$ -amylase의 노출용량과 제빵공에서 이에 대한 감작률간에 용량-반응 관계가 있음을 보고하였다<sup>20</sup>. 이러한 연구들로 작업장에서 허용할 수 있는 원인 물질에 대한 최소한의 용량을 제시하여 작업환경의 개선을 유도할 수도 있겠으나 원인 물질의 양에 대한 정량적인 측정방법이 서로 다른 작업공정과 개별 노출정도 차이에 대한 고려의 어려움으로 인해 표준화되어 있지 못한 것이 제한점이다.

아토피는 직업성천식의 발생에 중요한 역할을 하는데 특히 고분자물질에 의한 직업성천식과의 관련성이 보고되어 있으며<sup>15,21</sup>, 제빵공에서  $\alpha$ -amylase에 의한 작업관련 증상의 발생과 이에 대한 감작률은 아토피 환자에서 높게 관찰된다는 보고가 있다<sup>22</sup>. 하지만 본 연구에서는 작업관련 증상의 유무와 관련하여 아토피의 양상에는 유의한 차이는 없었다. 또 다른 연구에서도 아토피와 작업관련 증상의 발생과는 연관성이 적은 것으로(odd ratio=1.1) 보고되기도 하여 본 연구의 결과만으로 아토피와의 연관성을 규정하기는 어렵지만



비아토피 환자에서도 충분한 기간의 소화제 분말에 노출될 경우 IgE 매개 반응을 일으킬 수 있는 것으로 생각된다.

대부분의 면역반응을 기전으로 하는 직업성 알레르기의 원인물질들은 일정 기간의 잠복기간을 갖게 되는데  $\alpha$ -amylase를 포함하는 고분자물질에 의한 경우에는 아이소시아네이트와 같은 저분자물질보다 잠복기간이 길어서 1년 이내에 저분자물질은 대상환자의 40%에서 증상이 발생하는 반면, 고분자물질의 경우 20%에서 증상이 발생한다는 보고가 있다<sup>23</sup>. 본 연구에서 작업관련 증상이 발생할 때까지의 잠복기간은  $16.8 \pm 15.1$ 개월이었으며, 1년 이내에 증상이 발생한 경우는 42.8%로 잠복기간이 짧은 경우가 보다 많았다.

Pancreatin을 이용한 면역효소억제시험에서 pancreatin과  $\alpha$ -amylase에 의해 용량반응곡선 양상으로 강하게 억제되는 결과로 미루어 췌장 추출물(pancreatin)에 포함된  $\alpha$ -amylase에 의한 IgE 매개 반응이 췌장 추출물에 의한 면역반응의 주된 기전으로 여겨진다. 또한 췌장 추출물 외에 복합소화제제의 구성성분으로 사용되는 biodiastase에 대한 반응의 특이성과 교차항원성을 확인하기 위하여 시행한 Bearse<sup>®</sup>를 이용한 면역효소억제시험에서 Bearse<sup>®</sup>와  $\alpha$ -amylase에 의해 용량반응곡선 양상으로 강하게 억제되는 결과를 보인 반면 biodiastase에 대하여는 억제 양상을 보이지 않았다. 따라서 Bearse<sup>®</sup>와 같은 췌장 추출물 외에 biodiastase를 포함하는 복합소화제제에 의한 면역반응도 그 성분 중에 하나인  $\alpha$ -amylase에 의한 반응임을 알 수 있다.

췌장 추출물에 포함된  $\alpha$ -amylase와 이로 인한 직업성 호흡기 알레르기 질환에서 특이 IgG 및 IgG 아형에 대한 연구는 없는 상태이다. 벌독 알레르기에 대한 특이 IgG 아형에 대한 연구에서 면역치료요법후 혈청 특이 IgG<sub>4</sub> 항체가 증가하여 특이 IgE와 길항작용을 하여 알레르기 반응을 억제하는 차단항체로 작용할 수 있다<sup>24</sup>. 한편, 직업성천식에서는 직업성 물질에 대한 IgG 항체의 역할에 대해 다양한 연구가 많지만, 원인물질에 대한 노출정도를 나타내는 지표로 알려져 있다<sup>25</sup>. 몇몇 연구에서 이러한 특이 IgG 및 IgG 아형 항체 반응은

환자와 정상대조군 사이에 서로 다른 항원결정기를 보이는 등 다양한 반응양상을 나타내는 것으로 보고하였다<sup>26,27</sup>. 이러한 특이 항체 반응의 다양성이 환자 사이에서도 나타날 수 있으며 특이 IgG<sub>4</sub>가 차단항체로 작용할 수 있다는 점을 생각하면 직업성 알레르기 질환을 유발할 수 있는 원인물질에 노출된 환자의 일부에서는 원인물질에 대한 IgG<sub>4</sub> 반응으로 감작은 되어 있어도 증상의 유발은 발생하지 않을 수도 있을 것이라는 가정으로  $\alpha$ -amylase에 대한 혈청 특이 IgG 아형 항체를 측정하였다. 한편 성인에서의 IgG 아형 항체 반응은 주로 IgG<sub>1</sub> 및 IgG<sub>4</sub> 항체 반응으로 나타나며 IgG<sub>2</sub> 및 IgG<sub>3</sub> 항체 반응은 강력한 면역보강제에 의한 자극이 있어야만 나타난다<sup>28</sup>. 이러한 이유로 본 연구에서  $\alpha$ -amylase에 대한 혈청 특이 IgG<sub>1</sub> 및 IgG<sub>4</sub> 항체를 측정하였으며, 혈청 특이 IgG<sub>1</sub> 항체치는 1군, 2군 및 3군, 세 군간의 유의한 차이를 보이지 않고 흡광도 값이 고르게 분포하는 양상으로 관찰되어  $\alpha$ -amylase에 의한 직업성 알레르기 질환과의 관련성은 관찰되지 않았다.  $\alpha$ -amylase에 대한 특이 IgE immunoblotting을 시행하였을 때 관찰된 세 개의 단백질, 즉 19, 24, 30 kDa의 비교적 저분자량의 단백질이 중요한 것으로 관찰되었고 이 중에서 대상 환자의 50% 이상에서 관찰된 19, 24 kDa의 단백질이  $\alpha$ -amylase와 반응하는 주요 단백질로 관찰되었다. Immunoblotting을 시행하였던  $\alpha$ -amylase에 대한 혈청 특이 IgE 항체치가 높았던 대상 환자중에서 작업관련 증상이 있었던 환자에서 19 kDa의 단백대를 가지고 있는 경우가 80%로 가장 높았다. IgG<sub>4</sub> immunoblotting을 시행하였을 때 두 개의 단백질 19, 30 kDa의 단백질이 관찰되었고 19 kDa의 단백질은 대상환자의 50% 이상에서 관찰되었다. 작업관련 증상이 없었던 환자 모두에서 19 kDa의 단백질이 관찰되었다. 즉 19 kDa 부위에 대한 혈청 특이 IgG<sub>4</sub> 항체가  $\alpha$ -amylase에 노출되었음에도 불구하고 이로 인한 호흡기 알레르기 증상의 유발은 억제하였을 것이라고 추정할 수 있다. 또한 동일한 항원결정기에 대한 혈청 특이 IgE 항체 및 IgG<sub>4</sub> 항체 반응의 차이로 인해 증상의 발현이 조절 될 수 있을 것이라는 가정도 가능하

다. 하지만 이것은 immunoblotting에 나타난 결합 양상의 차이만을 가지고 추정된 것이므로 개별 단백질의 성분에 대한 기능적인 역할에 대한 평가가 필요할 것으로 판단되며, 추후 19 kDa 단백질의 순수분리 및 유전자재조합 항원을 제조하여 각각의 단백질 항원과 특이 항체의 반응을 살펴보고 이런 성분을 이용한 유발시험 등을 시행하여 원인이 될 것으로 판단되는 주요 알레르겐 성분에 대한 기능적인 연구가 필요하다.

## V. 결 론

본 연구는 병원근무자에서 소화제의 주성분인 췌장 추출물의 분말 흡입에 의한 직업성 알레르기의 유병률 및 감작률을 조사하고 그 병인기전을 규명하고자 하였으며, 소화제 분말 흡입에 의한 알레르기 증상 유발군과 무증상군 간의 면역학적 특성을 비교하고 이에 관여하는 주요 알레르겐을 규명하고자 연구를 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 병원근무자에서 췌장 추출물을 성분으로 하는 소화제 분말 흡입에 의한 직업성 알레르기는 IgE 매개 반응에 의한다.
2. 소화제 분말 흡입에 의한 직업성 알레르기 유발의 주요 원인물질은  $\alpha$ -amylase이다.
3. 소화제 분말 흡입으로 인한 직업성 알레르기에서  $\alpha$ -amylase의 19, 24 kDa의 분획이 혈청 특이 IgE 항체와 결합하는 주요 분획임을 규명하였으며, 19 kDa은 특이 IgG<sub>4</sub> 항체와의 결합을 보이기도 하는 주요 분획임을 규명하였다.
4.  $\alpha$ -amylase의 19 kDa에 대한 특이 IgG<sub>4</sub> 항체는  $\alpha$ -amylase에 의한 직업성 알레르기 질환의 증상 유발을 억제하는 차단항체이다.

이상의 결과를 통하여 병원근무자에서 췌장 추출물을 성분으로 하는 소화제 분말의 흡입에 의한 직업성 알레르기는  $\alpha$ -amylase에 대한 IgE 매개 반응에 의하며, 19 kDa에 대한 특이 IgG<sub>4</sub> 항체 반응이  $\alpha$ -amylase 노출 후에 나타날 수 있는 알레르기 증상의 발생을 억제할 수 있을 것으로 판단된다.

## 참 고 문 헌

1. Cartier A, Malo JL, Pineau L, Dolovich J. Occupational asthma due to pepsin. *J Allergy Clin Immunol* 1984;73:574-7.
2. Forsbeck M, Ekenvall L. Respiratory hazards from proteolytic enzymes. *Lancet* 1978;2:524-5.
3. Bernstein JA, Kraut A, Bernstein DI, Warrington R, Bolin T, et al. Occupational asthma induced by inhaled egg lysozyme. *Chest* 1993;103:532-5.
4. Park HS, Nahm DH. New occupational allergen in a pharmaceutical industry: serratial peptidase and lysozyme chloride. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1997;78:225-9.
5. 조영주, 김미경, 김유영. Biodiastase에 의한 직업성 천식 1례. *알레르기* 1989;9:181-5.
6. Park HS, Kim HY, Suh YJ, Lee SJ, Lee SK, et al. Alpha amylase is a major allergenic component in occupational asthma patients caused by porcine pancreatic extract. *J Asthma* 2002;39:511-6.
7. Pearce N, Weiland S, Keil U, Langridge P, Anderson HR, et al. Self-reported prevalence of asthma symptoms in children in Australia, England, Germany and New Zealand: an international comparison using the ISAAC protocol. *Eur Respir J* 1993;6:1455-61.
8. Skin tests used in type I allergy testing Position paper. Subcommittee on Skin Tests of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy* 1989;44:1-59.

9. Sakula A. Bronchial asthma due to allergy to pancreatic extract a hazard in the treatment of cystic fibrosis. *Br J Dis Chest* 1977;71:295-9.
10. Dolan TF Jr, Meyers A. Bronchial asthma and allergic rhinitis associated with inhalation of pancreatic extracts. *Am Rev Respir Dis* 1974;110:812-3.
11. Nakamura S. Studies on asthma bronchiale. 6. On the occupational allergy caused by pancreatin among pharmacists. *Arerugi* 1971;20:361-4.
12. Aiken TC, Ward R, Peel ET, Hendrick DJ. Occupational asthma due to porcine pancreatic amylase. *Occup Environ Med* 1997;54:762-4.
13. Wiessmann KJ, Baur X. Occupational lung disease following long-term inhalation of pancreatic extracts. *Eur J Respir Dis* 1985;66:13-20.
14. Baur X, Sauer W, Weiss W. Baking additives as new allergens in baker's asthma. *Respiration* 1988;54:70-2.
15. Blanco Carmona JG, Juste Picon S, Garces Sotillos M. Occupational asthma in bakeries caused by sensitivity to alpha-amylase. *Allergy* 1991;46:274-6.
16. Valdivieso R, Subiza J, Subiza JL, Hinojosa M, de Carlos E, et al. Bakers' asthma caused by alpha amylase. *Ann Allergy* 1994;73:337-42.
17. De Zotti R, Bovenzi M. Prospective study of work related respiratory symptoms in trainee bakers. *Occup Environ Med* 2000;57:58-61.

18. Losada E, Hinojosa M, Quirce S, Sanchez-Cano M, Moneo I. Occupational asthma caused by alpha-amylase inhalation: clinical and immunologic findings and bronchial response patterns. *J Allergy Clin Immunol* 1992;89:118–25.
19. Baur X, Chen Z, Sander I. Isolation and denomination of an important allergen in baking additives: alpha-amylase from *Aspergillus oryzae* (Asp o II). *Clin Exp Allergy* 1994;24:465–70.
20. Baur X, Chen Z, Liebers V. Exposure–response relationships of occupational inhalative allergens. *Clin Exp Allergy* 1998;28:537–44.
21. Sandiford CP, Tee RD, Taylor AJ. The role of cereal and fungal amylases in cereal flour hypersensitivity. *Clin Exp Allergy* 1994;24:549–57.
22. Houba R, Heederik DJ, Doekes G, van Run PE. Exposure-sensitization relationship for alpha-amylase allergens in the baking industry. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:130–6.
23. Malo JL, Ghezzi H, D'A quino C, L'Archeveque J, Cartier A, et al. Natural history of occupational asthma: relevance of type of agent and other factors in the rate of development of symptoms in affected subjects. *J Allergy Clin Immunol* 1992;90:937–44.
24. Urbanek R, Kemeny DM, Richards D. Sub-class of IgG anti-bee venom antibody produced during bee venom immunotherapy and its relationship to long-term protection from bee stings and following termination of venom immunotherapy. *Clin Allergy* 1986;16:317–22.

25. Platts-Mills TA, Longbottom J, Edwards J, Cockcroft A, Wilkins S. Occupational asthma and rhinitis related to laboratory rats: serum IgG and IgE antibodies to the rat urinary allergen. *J Allergy Clin Immunol* 1987;79:505–15.
26. Duchateau J, Michils A, Michel O, Baras L. Mite allergy is associated with a specific profile of IgG epitopes recognized on antigen p1 of *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Clin Exp Allergy* 1997;27:296–305.
27. Michils A, Vervier I, Choufani G, Gossart B, Duchateau J. Relationship between allergic status and specificity of IgG antibody to inhaled allergens: the grass pollen model. *Clin Exp Allergy* 1999;29:832–9.
28. Lucas AH. IgG subclass-restricted immune responses to allergens. *Springer Semin Immunopathol* 1990;12:385–400.



## ABSTRACT

Occupational allergy caused by inhalation of pancreatic extracts in medical personnel and identification of the major allergens

Sang Ha Kim

*Department of Medicine*  
*The Graduate School, Yonsei University*  
(Directed by Professor Suk Joong Yong)

Digestive drugs, including pancreatic extracts, have been widely prescribed in this country. There have been several reports of occupational asthma and rhinitis caused by digestive enzymes in workers in pharmaceutical industries, however there has been no epidemiologic study among the medical personnel.

The aim of this study was to observe prevalence of occupational allergy and sensitization rate to digestive drugs in exposed nurses and pharmacists in a University Hospital and to understand the pathogenic mechanism. The role of specific antibody response to digestive drugs were evaluated and their major allergenic components were identified.

Eighteen pharmacists, 135 nurses working in a University Hospital, and 123 non-atopic normal controls were enrolled. A questionnaire survey and skin prick test with 12 common aeroallergens and 5 commonly exposed

drugs and its ingredients (4 pancreatic enzymes,  $\alpha$ -amylase) were performed. The serum specific IgE antibody to each drug was detected by ELISA. Serum specific IgE, IgG<sub>1</sub> and IgG<sub>4</sub> to  $\alpha$ -amylase were measured by ELISA. ELISA inhibition tests were performed to evaluate binding specificities and cross reactivity between the drugs tested. In order to characterize allergenic components within  $\alpha$ -amylase, SDS-PAGE followed by IgE and IgG<sub>4</sub> immunoblot analysis was done.

Five (27.8%) out of 18 pharmacists and 37 (27.4%) out of 135 nurses had work-related respiratory allergy symptoms. The prevalence of the history of allergic rhinitis and bronchial asthma was significantly higher in symptomatic workers (23.8%, 11.9%) than in asymptomatic workers (9.9%, 2.7%,  $p < 0.05$ , respectively). The exposure period to digestive powders was significantly longer in symptomatic workers ( $54.6 \pm 27.2$  months) than in asymptomatic workers ( $38.6 \pm 27.2$  months,  $p < 0.05$ ). ELISA inhibition tests demonstrated significant inhibition by  $\alpha$ -amylase within digestive drugs. IgE immunoblot analysis demonstrated 3 IgE binding components in which 19 and 24 kDa were the more frequently bound ones (more than 50%) in sera from symptomatic subjects, especially. IgG<sub>4</sub> immunoblot analysis demonstrated 2 IgG<sub>4</sub> binding components in which 19 kDa was the most frequently bound one in sera from asymptomatic subjects.

Digestive drug powders, including pancreatic extracts, could induce IgE-mediated respiratory allergy symptoms in nurses and pharmacists working in a hospital. Two major allergenic components of  $\alpha$ -amylase (19, 24 kDa) were identified. Specific IgG<sub>4</sub> response to 19 kDa might have a role for preventing the development of work-related allergy symptoms

after the exposure to  $\alpha$ -amylase powder.

---

Key Words : pancreatic extracts, digestive drug, occupational allergy,  $\alpha$ -amylase, medical personnel, major allergen