

만성 특발성 두드러기 환자에서 high-affinity
IgE 수용체에 대한 자가항체의 의의

연세대학교 대학원

의과학사업단

이 훈

만성 특발성 두드러기 환자에서 high-affinity
IgE 수용체에 대한 자가항체의 의의

지도 이 승 현 교수

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

2000년 6월 일

연세대학교 대학원

의과학사업단

이 훈

이 훈의 석사 학위논문을 인준함

심사위원 이 용 권 인

심사위원 李 光 勳 인

심사위원 洪 川 淳 인

연세대학교 대학원

2000년 6월 일

감사의 글

먼저 학위의 모든 과정에 함께 하여 주신 하나님께 감사드립니다. 피부과 의사로서, 의학을 연구하는 학자로서의 많은 점을 가르쳐 주시고, 본 논문을 완성하기까지 모든 방면에 끊임 없는 격려와 세심한 배려로 지도해 주신 이승현 교수님께 깊이 감사드립니다. 또한 많은 관심과 조언을 아끼지 않으신 이광훈 교수님, 홍천수 교수님께 진심으로 감사드립니다. 또한 연구 진행에 많은 도움을 주신 피부과학교실원 여러분에게도 감사의 마음을 전합니다.

끝으로 지금까지 저를 키워주시고 항상 사랑과 격려로 이끌어 주시는 부모님과 아내, 민, 정에게 감사의 마음을 전하고 싶습니다.

저 자 씬

차 례

국문 요약	1
I. 서 론	3
II. 재료 및 방법	6
1. 대상환자	6
2. 자가혈청 피부반응검사	6
3. $Fc\epsilon RI\alpha$ 에 대한 자가항체의 검출	7
가. 재조합 사람 $Fc\epsilon RI\alpha$ 의 제조	7
(1) 서브클로닝(Subcloning)	7
(2) 트랜스펙션(Transfection)과 클론의 선택	7
(3) 수용성 $Fc\epsilon RI\alpha$ 의 검출	8
나. 항 $Fc\epsilon RI\alpha$ 항체의 검출	8
(1) 환자선택	8
(2) 항 $Fc\epsilon RI\alpha$ 항체의 검출	8
4. 통계학적 분석	9
III. 결 과	10
1. 자가혈청 피부반응검사	10
2. $Fc\epsilon RI\alpha$ 에 대한 자가항체의 검출	10
3. 항 $Fc\epsilon RI\alpha$ 항체 양성군과 음성군의 비교	10

IV. 고찰	18
V. 결론	21
참고 문헌	23
영문 요약	26

그림 차례

그림 1. 사람 수용성 $Fc \epsilon RI \alpha$ 의 Western blot 소견	12
그림 2. ELISA를 이용한 항 $Fc \epsilon RI \alpha$ 항체 검출율	13

표 차례

표 1. 피부반응검사 양성군과 음성군의 임상적 특징	14
표 2. $Fc \epsilon RI \alpha$ 에 대한 자가항체 양성율	15
표 3. 피부반응검사와 항 $Fc \epsilon RI \alpha$ 항체 검출율의 비교	16
표 4. 항 $Fc \epsilon RI \alpha$ 항체 양성군과 음성군의 임상적 특징	17

국문요약

만성 특발성 두드러기 환자에서 high-affinity IgE 수용체에 대한 자가항체의 의의

만성 특발성 두드러기의 발병기전에 Ig E에 대한 high-affinity 수용체인 $Fc\epsilon RI$ 에 대한 자가항체가 매우 중요한 역할을 할 것으로 생각되나 항체의 특성이나 기능에 대해서는 구체적으로 밝혀진 바 없으며 자가항체 보유군의 임상적 특성도 알려져 있지 않다. 만성 특발성 두드러기 환자 중 이러한 순환 자가항체를 가진 환자의 적격검사로 환자혈청의 피내주사를 이용한 자가혈청 피부반응 검사법이 적절한 것으로 보고된 바 있다.

최근의 연구들에 의하면 만성 특발성 두드러기 환자의 약 3분의 1에서 $Fc\epsilon RI$ 이나 IgE에 대한 순환자가항체가 발견된다.

따라서 본 연구에서는 자가혈청 피부반응검사와 혈청 항 $Fc\epsilon RI\alpha$ 항체의 상관성을 알아보기 위하여 만성 특발성 두드러기 환자에서 자가혈청 피부반응검사를 시행하여 양성율을 조사하고, 사람 $Fc\epsilon RI\alpha$ 를 제조한 다음, 제조한 $Fc\epsilon RI\alpha$ 를 이용한 효소면역표지법을 시행하여 만성 두드러기 환자의 혈청으로부터 $Fc\epsilon RI\alpha$ 에 대한 자가항체의 검출빈도를 관찰하였으며, 항 $Fc\epsilon RI\alpha$ 항체 양성인 환자군과 음성인 환자군 간에 임상적 소견을 비교 관찰하여 아래와 같은 결과를 얻었다.

1. 모두 41명의 대상환자군에서 자가혈청을 이용한 피부반응검사 결과 24명(58.5%)에서 양성반응을, 17명(41.5%)에서 음성반응을 보였다. 피부반응검사 양성

군과 음성군의 임상적 특성을 비교한 결과 유의한 차이를 보이지 않았다. 그 외 일반혈액검사와 항핵항체검사, 보체검사 모두에서 두 군간에 유의한 차이를 보이지 않았으며 다른 자가면역질환의 증상도 나타나지 않았다.

2. 사람 $Fc\epsilon RI\alpha$ 의 truncated α chain에 대한 cDNA를 중합효소 연쇄 반응으로 증폭한 후 pMT 매개체에 서브클로닝한 다음 pMT를 CP 세포주에 전환시킨 후 균 배양을 통해 증폭시킨 뒤, insect cell에 트랜스펙션시켜 수용성 사람 $Fc\epsilon RI\alpha$ 를 제조하였다.

3. 만성 특발성 두드러기 환자 41명 중 14명(34%)에서 혈청 항 $Fc\epsilon RI\alpha$ 항체를 관찰할 수 있었다.

4. 피부반응검사 양성군에서는 24명중 8명(33%), 음성군에서는 17명중 6명(35%)에서 항 $Fc\epsilon RI\alpha$ 항체를 검출하였다.

5. 항 $Fc\epsilon RI\alpha$ 항체 양성군에서 여자환자가 많았고 유병기간이 긴 것 외에 항체 양성군과 음성군 간에 임상적 소견에서 유의한 차이를 관찰할 수 없었다.

이상의 결과로 만성 특발성 두드러기 환자의 혈청내에 항 $Fc\epsilon RI\alpha$ 항체가 존재함을 확인하였으나, 자가항체 양성군과 음성군 간에 뚜렷한 임상적 특성의 차이를 관찰할 수 없었다. 또한, 자가혈청 피부반응검사와 항 $Fc\epsilon RI\alpha$ 항체의 실제 검출율과의 상관성을 관찰할 수 없었다.

핵심되는말: 만성 특발성 두드러기, 항 $Fc\epsilon RI\alpha$ 항체, 자가혈청 피부반응검사

만성 특발성 두드러기 환자에서 high-affinity IgE 수용체에 대한 자가항체의 의의

<지도 이승현 교수>

연세대학교 대학원 의과학사업단

이 훈

I. 서 론

두드러기는 전 인구의 약 15-25%에서 일생동안 한번 이상 이환을 경험하는 흔한 질환이며,¹⁻³ 만성 두드러기는 매일 재발되는 팽진이 6주 이상 지속되는 경우를 말한다.⁴⁻⁶

만성 두드러기의 발병기전은 어떤 원인 항원이 피부의 비반세포 혹은 호염기구 표면에 부착되어 있는 항원 특이성 IgE에 부착하여 교차 감작되면 이들 세포로부터 히스타민 등의 염증 매개체들이 유리되어 주변혈관과 신경을 활성화시켜 팽진과 발적이 유발되는 것으로 알려져 있다. 히스타민은 두드러기에서 주된 염증매개체이며 두드러기환자의 혈청이나 조직 내에서 증가되어 있다.⁷ 따라서 항히스타민제가 만성 두드러기의 1차적인 치료제로 사용된다. 음식물, 약물, 곤충자상, 감염, 흡인성 물질, 류마치스 질환 등의 전신질환이 원인으로 밝혀지는 경우도 있으나, 대부분의 환자에서 혈청 총 IgE치는 정상이며, 만성 두드러기 환자에서 항원 특이성 IgE에 부착되어 비반세포나 호염기구를 활성화시키는 특정원인 인자가 밝혀지는 경우는 드물고, 기존의 항히스타민제 만으로는 치료되지 않을 때가 흔하

다.^{6,8} 이러한 경우를 만성 특발성 두드러기(chronic idiopathic urticaria : CIU)라고 하는데, 두드러기성 혈관염이나 물리적 두드러기는 제외된다.⁴ 만성 특발성 두드러기 환자는 인구의 0.1 %를 차지하며 전체 환자의 20%이상이 10년 이상 지속되는 증상을 호소한다.^{1,4}

근래 혈장분리법에 의해 혈장 IgG를 제거한 후 난치성 만성 두드러기의 증상이 소실되었다는 보고를 근거로 IgE가 아닌 다른 면역 글로불린이 만성 두드러기의 발병에 관여할 것이라는 가설이 제시되었다.⁹ 만성 두드러기 환자에서 자가혈청을 피내주사하면 약 60%에서 팽진과 발적반응이 유발됨이 관찰되었는데, 이것은 만성 두드러기 환자의 혈청내에 히스타민 유리인자가 존재함을 시사하는 것이다.¹⁰⁻¹² 최근 연구들에서 만성 두드러기 환자의 혈청 내에 high affinity IgE 수용체인 $Fc\epsilon RI$ 의 α unit에 대한 순환 자가항체가 검출됨이 보고되었다. $Fc\epsilon RI$ 의 α unit에 대한 자가항체 양성인 만성 두드러기 환자의 혈청을 피내 주사하면 두드러기의 특징인 팽진이 발생되고, 시험관내 실험상 호염기구로부터 히스타민 유리를 촉진시키며, 혈청내 자가항체의 농도는 두드러기의 질병 활성도와 비례하고, 면역글로불린의 정맥주사나 혈장분리법으로 자가항체를 제거하면 임상증상이 호전된다. 이러한 점으로 미루어 원인불명의 만성 두드러기의 발병기전에 $Fc\epsilon RI$ 에 대한 자가항체가 매우 중요한 역할을 할 것으로 생각되고 있다.^{9,10,13 15} 그러나, 이 자가항체의 특성이나 기능에 대해서는 구체적으로 밝혀진 바가 없으며 자가항체 보유군의 임상적 특성도 알려져 있지 않다. 그렇지만 만성 두드러기 환자 중 이러한 순환 자가항체를 가진 환자의 적격검사로 환자혈청을 이용한 자가혈청 피내반응 검사법이 적절한 것으로 보고된 바 있다.¹⁶

따라서 본 연구에서는 첫째, 만성 두드러기 환자에서 자가혈청 피부반응 검사를 시행하여 양성율을 알아보고, 둘째, 유전자 클로닝을 통해 사람의 수용성 $Fc\epsilon RI$ 를 제조하여 만성 두드러기 환자의 혈청으로부터 $Fc\epsilon RI\alpha$ 에 대한 자가항체의 검출빈도를 관찰함으로써 자가혈청 피부반응검사와 항 $Fc\epsilon RI\alpha$ 항체검사간의 상

관성을 규명하고, 셋째, 항FcεRIα 항체 양성인 환자군과 음성인 환자군 간에 임상적 소견을 비교 관찰하여 만성 두드러기 환자에서 FcεRIα에 대한 자가항체의 역할을 알아보려고 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 대상환자

만성 두드러기 환자 중 일주일에 2회 이상 반복적으로 발생하는 팽진이 적어도 8주 이상 계속되며 발생 후 24시간 내에 사라지는 양상을 보이는 환자 중 과거력 상 약물이나 음식, 물리적 인자 등의 유발인자를 찾을 수 없는 환자를 대상으로 하였다. 두드러기성 혈관염, 콜린성 두드러기 및 피부묘기증 증상을 보이는 환자는 제외하였다.

환자 개개인에 대한 문진 및 혈액검사를 실시하였다. 문진 내용은 소양증, 통증, 압통 등 자각증상 유무, 유병기간, 과거력 및 가족력, 병변 지속시간, 맥관부종 동반 여부, 악화 및 유발 인자 등이었으며, 검사항목은 일반 혈액검사, 적혈구 침강속도, 일반 화학검사, 소변검사, 항핵항체 검사, 매독검사 및 총 IgE 정량검사 등이었다.

2. 자가혈청 피부반응검사

환자는 검사시작 최소 48시간 전에 항히스타민제 복용을 중단하였으며 최소 1주전에 부신피질호르몬제 복용을 중단토록 하였다. 환자의 정맥혈을 채취 후 30분간 실온에서 응고시킨 다음 10,000 rpm으로 2분간 원심분리하고 오염방지를 위해 acrodisk syringe filter (pore size : $0.2\mu\text{m}$)(MFS, Tokyo, Japan)로 여과하여, 그중 50 μl 를 환자의 전박부에 피내주사한 후 대조군으로 동량의 생리적 식염수를 반대편 전박부에 피내 주사한 다음, 30분 후에 팽진의 크기를 측정하였다.¹⁴ 히스타민 대조액에 대한 정상반응을 확인하고 환자혈청에 대한 반응으로 팽진의 장축과 단축 직경의 평균을 구하여 생리식염수 주사 후 발생한 대조군의 팽진의 평

균 값보다 2 mm 이상 큰 경우를 양성 반응으로 판정하였다.¹⁰

3. Fc ϵ RI α 에 대한 자가항체의 검출

가. 재조합 사람 Fc ϵ RI α 의 제조

(1) 서브클로닝(subcloning)

사람 Fc ϵ RI의 truncated α chain에 대한 cDNA(Dr. Jouvin MH 제공, Harvard University, Boston, Massachusetts, USA)를 중합효소 연쇄반응으로 증폭한 후 EcoRI, XbaI 제한효소(Stratagene, La Jolla, California, USA)로 자른 후 pMT 매개체(Invitrogen, Co., Carlsbad, California, USA)에 서브클로닝하였다. pMT를 CP 세포주(Clontech, Palo Alto, California, USA)에 전환시킨 후 균 배양을 통해 증폭시켰다.

(2) 트랜스펙션(transfection)과 클론의 선택

배양한 CP 세포로부터 Qiagen midi kit(Qiagen, Hilden, Germany)를 이용하여 pMT 매개체를 다시 분리하였다. 상기 방법으로 얻은 pMT 매개체를 Insect cell(Drosophila expression system, Schneider 2 cells, Invitrogen, Co., Carlsbad, California, USA)에 트랜스펙션시켰다. 트랜스펙션된 insect cell은 20% fetal bovine serum, 100 unit/ml penicillin-streptomycin이 첨가된 Schneider's drosophila 배지(Life Technologies, Inc., Rockville, Maryland, USA)로 배양하였고, hygromycin(Invitrogen, Co., Carlsbad, California, USA)을 3mg/ml를 첨가하

여 트랜스펙션된 클론을 선택하였다.

(3) 수용성 $Fc\epsilon RI\alpha$ 의 검출

트랜스펙션된 insect cell line에 혈청이 첨가되지 않은 배지(PAA Laboratories, Linz, Austria)를 주고 $CuSO_4$ 를 넣어 수용성 $Fc\epsilon RI\alpha$ 의 생산을 자극하였다. $CuSO_4$ 로 자극한 배양배지와 자극하지 않은 배양배지를 각각 원심분리하였고, 침전물은 chloroform을 이용하여 용해시켰다. 각각의 상청액과 세포용해액에서 Western blot을 시행하여 수용성 $Fc\epsilon RI\alpha$ 의 존재를 확인하였다.

나. 항 $Fc\epsilon RI\alpha$ 항체의 검출

(1) 환자 선택

두드러기 및 다른 알레르기성 질환의 병력이 없는 21명을 정상 대조군으로 사용하였고 만성 특발성 두드러기 환자 41명을 대상으로 하였다.

(2) 항 $Fc\epsilon RI\alpha$ 항체의 검출

환자군과 정상인 대조군에서 항 $Fc\epsilon RI\alpha$ 항체 검출을 위해 효소면역표지법을 시행하였다. 위에서 얻은 $CuSO_4$ 로 자극한 insect cell의 배양상청액($Fc\epsilon RI\alpha$ 가 함유된 용액)을 바닥이 평평한 96 well 배양판에 well당 $2\mu g$ 씩 첨가한 후 각 well에 $200\mu l$ 씩 1% BSA(Sigma, St. Louis, Missouri, USA)를 넣고 $37^\circ C$ 에서 2시간 항온배양한 후에 환자와 대조군의 혈청을 1:10으로 희석해서 $37^\circ C$ 에서 1시간 반응시켰다. T-PBS로 3회 세척 후에 peroxidase-conjugated anti-human IgG

를 1% 정상 가토혈청이 함유된 T-PBS로 1:1000으로 희석시킨 용액을 37℃에서 1시간 반응시키고, T-PBS로 3회 세척한 후에 상온의 암실에서 기질과 반응시켰다. 8N H₂SO₄ 을 각 well에 25 μ l씩 넣어 반응을 중지시키고 ELISA판독기 (Dynatech Laboratories, Inc., Alexandria, Virginia, USA)로 광학밀도(optical density)값을 측정하였다. cut-off값은 평균 + 2표준편차로 하였다.

4. 통계학적 분석

통계 프로그램 (Statistical Package for the Social Science, SPSS, Inc., Chicago, Illinois, USA)을 이용하여 independent samples t-test를 실시하였다. 통계적 유의수준은 p값 0.05 미만으로 하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 자가혈청 피부반응검사

모두 41명의 대상환자군에서 자가혈청을 이용한 피부반응검사 결과 24명(59%)에서 양성반응을, 17명(31%)에서 음성반응을 보였다. 피부반응검사 양성군과 음성군의 임상적 특성을 비교한 결과 성비, 평균연령, 총 유병기간, 팽진의 지속시간 등에서 유의한 차이를 보이지 않았다. 그 외 일반혈액검사와 항핵항체검사, 보체검사 모두에서 두 군간에 유의한 차이를 보이지 않았으며 다른 자가면역질환의 증상도 나타나지 않았다(표 1).

2. $Fc\epsilon RI\alpha$ 에 대한 자가항체의 검출

제조합 사람 $Fc\epsilon RI\alpha$ 의 검출을 위해 Western blot을 시행한 결과, $Fc\epsilon RI\alpha$ 의 분자량인 46kDa에서 명확한 띠가 관찰되었다(그림 1).^{17,18}

제조한 $Fc\epsilon RI\alpha$ 를 이용한 효소면역표지법을 시행한 결과 21명의 정상인 대조군에서는 항체가 검출되지 않았으나 만성 특발성 두드러기 환자 41명중 14명(34%)의 혈청에서 항 $Fc\epsilon RI\alpha$ 항체가 검출되었다. 이 중 자가혈청 피부반응 검사 음성군 17명 중 6명(35%)에서, 자가혈청 피부반응검사 음성군 24명 중 8명(33%)에서 자가항체가 검출되어 두 군간에 유의한 차이를 관찰할 수 없었다(그림 2, 표 2, 표 3).

3. 항 $Fc\epsilon RI\alpha$ 항체 양성군과 음성군의 비교

항 $Fc\epsilon RI\alpha$ 항체 양성군에서 음성군에 비해 여자환자가 많았고, 평균 유병기간이 약간 길었다. 그러나 평균연령, 팽진 지속기간, 혈청 IgE치 등에서는 유의한 차이를 관찰할 수 없었다(표 4).

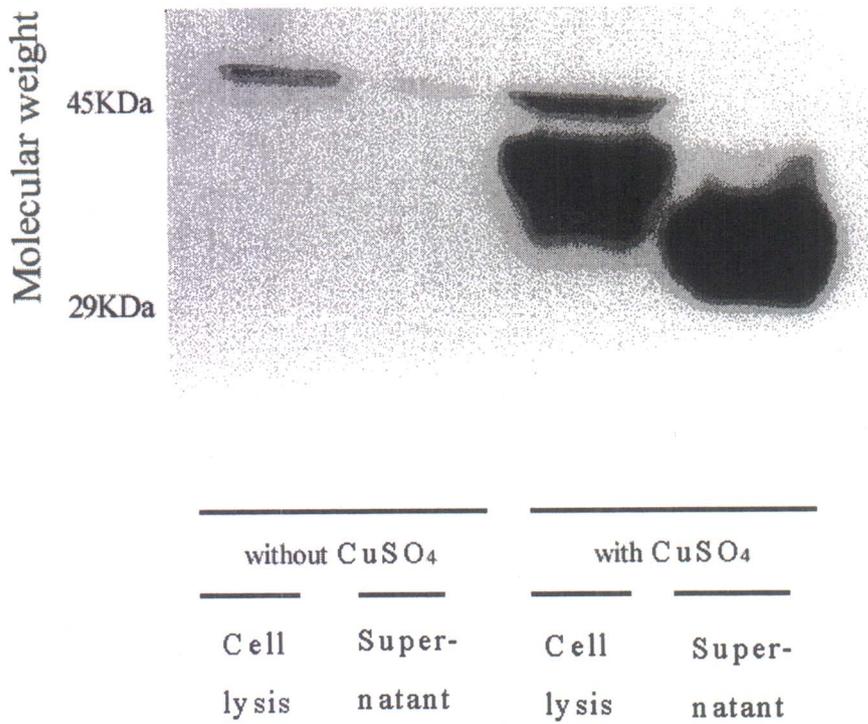


그림 1. 사람 수용성 $Fc\epsilon RI\alpha$ 의 Western blot 소견. $Fc\epsilon RI\alpha$ 의 분자량인 46kDa에서 명확한 띠가 관찰된다.

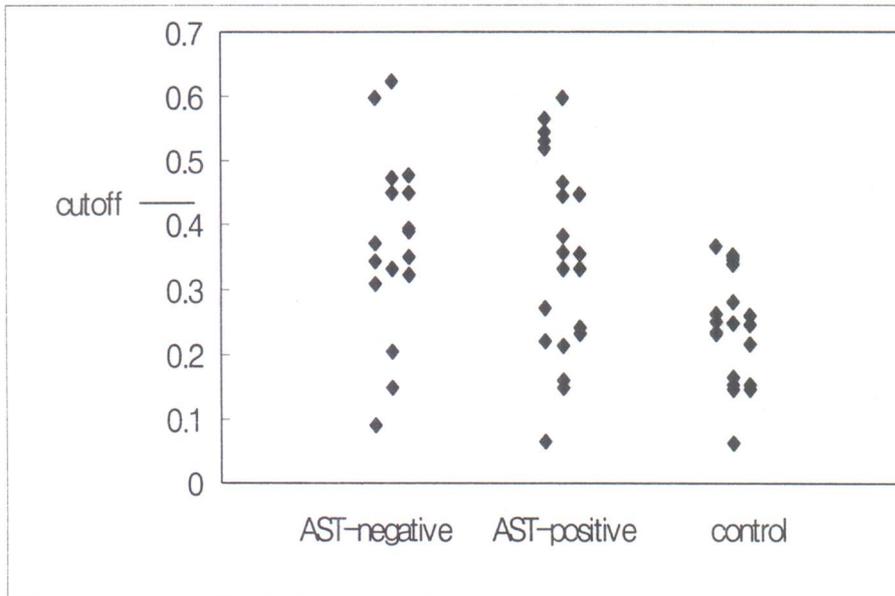


그림 2. ELISA를 이용한 항 $Fc\epsilon RI\alpha$ 항체 검출율. 대조군에서는 자가 항체가 나타나지 않았으나 두드러기 환자에서는 평균 34%에서 자가항체가 검출되었다.

표 1. 피부반응검사 양성군과 음성군의 임상적 특징

	양성군	음성군
전체비율	24/41(58.5%)	17/41(41.5%)
성비(male:female)	6:18	5:12
평균연령(years)	35.3	36.9
평균유병기간(months)	32	28
평균팽진지속시간(hours)	8.6	8.2
총혈청IgE: 평균(IU/ml)	71.5	137.6

표 2. $Fc\epsilon RI\alpha$ 에 대한 자가항체 양성율

대 상	항 $Fc\epsilon RI\alpha$ 항체 양성율 (%)
정상대조군	0/21(0)
자가혈청피부반응검사 음성인 만성 특발성 두드러기 환자	6/17(35)
자가혈청피부반응검사 양성인 만성 특발성 두드러기 환자	8/24(33)

표 3. 피부반응검사와 항 $Fc \epsilon RI \alpha$ 항체 검출율의 비교

		자가혈청 피부 반응 검사	
		양성군	음성군
항 $Fc \epsilon RI \alpha$ 항체	양성군	8	6
	음성군	16	11

표 4. 항 FcεRIα 항체 양성군과 음성군의 임상적 특징

	양성군	음성군
전체비율	14/41(34%)	27/41(66%)
성비(male:female)	2:12	9:18
평균연령(years)	34.6	37.3
평균유병기간(months)	34	29
평균팽진지속시간(hours)	8.6	8.3
총혈청IgE: 평균(IU/ml)	73.9	112.5

IV. 고 찰

CIU의 병인은 확실히 밝혀져 있지 않으나, 비반세포에서의 히스타민 등 염증매개체의 유리가 주 기전으로 생각되고 있다.⁷ 1988년 Gruber 등이 CIU환자의 혈청에서 항 IgE항체가 높아진 소견을 발견하여 처음 자가면역 병인에 대한 증거를 찾았다.¹⁹ 이후 Hide 등이 자가혈청 피부반응검사 양성인 환자군에서 Fc ϵ RI α 에 대한 IgG항체를 발견하였다.¹³ 이들의 실험에 의하면, 26명의 환자 중 17명이 기능성 검사인 호염기구 히스타민 유리검사에 양성을 보였으며 그중 12명은 항 Fc ϵ RI α IgG를 가졌고 5명은 항 IgE IgG나 혹은 이 두 가지 항체를 모두 가지고 있었다. 이 실험의 연구자들은 항 Fc ϵ RI α 항체가 CIU의 병인에 중요한 역할을 할 것으로 예상되는 증거로서 첫째, in vivo상에서는 환자의 혈청을 피내주사하여 팽진-발적 반응을 유발하는 자가혈청 피부반응검사로 나타났고, 호염기구 히스타민 유리검사 등의 기능성 검사 등 in vitro에서도 밝혀졌으며, 둘째, 건강한 대조군에서는 생물학적으로 활성화된 자가항체가 발견되지 않았고, 셋째, CIU환자의 말초혈액에서 호염기구가 감소되었는데, 이것은 Fc ϵ RI α 항체에 대한 만성적인 노출로 인해 호염기구가 Fc ϵ RI에 의한 히스타민 분비에 대해 탈감작현상이 일어난 것으로 추측되며,²⁰ 넷째, CIU환자들에서 혈장분리법을 시행한 경우 임상적 호전을 가져온다는 점등을 제시하였다. Fiebiger 등은 이후 면역블롯팅을 이용하여 CIU환자의 37%에서 항 Fc ϵ RI α IgG의 존재를 확인하였다.²¹ 또한 이들은 Fc ϵ RI α 에 대한 항체는 CIU환자에서 특이적으로 나타나나 항 IgE 항체는 정상인이나 아토피 피부염환자에서도 나타나는 것을 발견하였다.

IgE에 대한 수용체인 Fc ϵ RI은 비반세포나 호염기구에서 알레르기 반응을 일으키는데 관여하는 핵심물질이다. 단량체 IgE가 항원투여를 받으면 IgE-수용체 복합체가 세포표면에 재분포되며 탈과립되어 세포매개물질들을 유리하게 되는데, 이 중에는 interleukin-3, interleukin-4, interferon- γ 등의 사이토카인이 포함되어

있다.¹⁷ Fc ϵ RI은 46 kDa의 α , 33 kDa의 β 와 7-9 kDa의 2개의 γ 아단위로 이루어진 사량체구조로, 이중 α 아단위에 IgE 고흡착 결합부위가 있다.^{17,22}

현재는 자가항체 검출에 히스타민 유리검사, Western blot검사, 효소면역표지법 등을 사용하고 있으며, 임상적인 적격검사로 자가혈청 피부반응검사가 유용한 것으로 알려져 있다.¹⁶ 그러나 Sabroe 등의 연구에 의하면 피부반응검사 실행시 본 연구에서처럼 팽진의 장축과 단축 직경의 평균이 대조군보다 2 mm 이상 큰 경우를 양성 반응으로 판정하였을 때 호염기구 히스타민 유리검사와의 상관성은 감수성 56%, 특이성이 76%로 나타났다.¹⁹ 본 연구에서는 Fc ϵ RI α 를 제조하여 ELISA를 시행하였는데, 피부반응검사 양성인 환자군의 33%에서만 항체가 검출되었다. Tong 등도 히스타민 유리검사 양성인 환자의 38%에서만 ELISA로 항 Fc ϵ RI α 항체를 검출하였다는 결과를 보고한 바 있다.¹⁸

이와 같이 피부반응검사와 항체검출율에 차이가 있는 이유를 살펴보면, 먼저 피부반응검사 양성일 때 항체가 검출되지 않는 경우는 통상의 검사로 검출되지 않는 낮은 수준의 항체의 작용으로 인한 팽진반응이 일어날 경우를 생각할 수 있으며, 또한 Fc ϵ RI에 대한 항체가 IgG 만이 아닌 다른 면역글로불린, 즉 IgM이나 IgA 일 경우, α 아단위가 아닌 β 나 γ 에 대한 항체의 존재도 고려할 수 있다. 또, 자가항체 이외의 비반세포 특이 히스타민 유리인자, 보체유도 단백질이나 chemokine의 작용을 추측할 수 있다.^{16,17} 또한 피부반응 검사 음성 시에 항체가 검출되는 경우는 피부반응 검사가 적절히 시행되지 않았을 때, 즉 환자의 혈청이 최근의 팽진에 의해 피부 비반세포가 반응을 하지 않는 부위에 투여되었을 경우에 위음성반응이 일어날 수 있음을 고려해야 한다. 자가항체 음성군에서 비반세포의 탈과립이 일어나는 원인은 명확하지 않으나, 이 환자군의 일부는 자가항체 역가가 매우 낮거나, 비자가항체 히스타민 유리인자, 즉 새로운 비반세포 특이인자의 존재를 의심할 수 있다.²³

항체 양성군과 음성군의 임상적 비교에서는 평균연령, 총유병기간, 팽진의 지속

시간에서 유의한 차이를 보이지 않았다. 또한 혈액검사상에서 일반혈액검사, 일반 화학검사, 항핵항체검사, 보체검사 등에서 유의한 차이가 없었다. 다만 각군의 평균혈청 IgE 수준은 통계학적 유의성은 없으나 양성군 73.9 IU/ml과 음성군 112.5 IU/ml로 양성군에서 낮은 결과를 보였고 이는 피부반응검사 양성군에서도 비슷한 양상을 보였다. 이는 이전의 연구결과에 부합되는 것으로 이와 같이 항체양성군에서 IgE가 낮게 나타나는 것은 IgE-항-IgE 면역복합체형성으로 인해 혈청내 유리 IgE의 양이 감소되기 때문으로 생각되고있다.²³ 또한 자가항체 양성인 CIU환자군에서 호염기구의 유리능(releasability)과 수가 감소한다는 보고가 있었는데, 이는 자가항체에 대한 만성적 노출이 호염기구의 Fc ϵ RI을 탈감작시키고 순환혈액에서 호염기구의 제거를 촉진시키기 때문인 것으로 본다.²² 피부반응검사와 항체가 모두 양성인 군과 모두 음성인 군의 비교에서는 모두 양성인 군에서 유병기간이 길었으나 통계학적 유의성은 없었고, IgE 치는 통계학적으로 유의하게 낮았다.

이처럼 일부 CIU환자에서 자가면역의 병인이 발견됨에 따라 고식적인 항히스타민제 치료에 반응하지 않는 환자들에 대해 면역치료를 사용하는 시도가 있으나 효과는 일정치 않았다.^{9,16} 그러나 이러한 발견은 항매개체 약물, 즉 항히스타민제에 듣지 않는 환자가 세포의 모집(recruitment)에 작용하는 약물, 즉 steroid에 반응하는 예를 설명할 수 있을 것이다. 또한 CIU의 새로운 치료방법, 즉 Fc ϵ RI α 에 대한 경쟁 항원결정기(epitope)나 다른 항염증제, 혈장분리법, 염증반응을 가라앉히는 사이토카인이나 항 사이토카인 등의 개발에 도움이 될 것으로 사료된다.

V. 결 론

원인불명의 만성 두드러기 환자의 혈청을 환자 자신에게 피내주사하면 팽진이 발생하고 만성 특발성 두드러기 환자의 혈청내에서는 $Fc\epsilon RI$ 에 대한 자가항체가 관찰될 수 있다.

본 연구에서는 원인을 찾을 수 없는 만성 특발성 두드러기 환자 41명을 대상으로 자가혈청 피부반응 검사를 시행하여 양성율을 알아보고, 유전자 클로닝을 통해 사람의 수용성 $Fc\epsilon RI$ 를 제조하여 만성 두드러기 환자의 혈청에서 $Fc\epsilon RI\alpha$ 에 대한 자가항체의 검출빈도를 관찰하였으며, 항 $Fc\epsilon RI\alpha$ 항체 양성인 환자군과 음성인 환자군 간에 임상적 소견을 비교 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 모두 41명의 대상환자군에서 자가혈청을 이용한 피부반응검사 결과 24명(58.5%)에서 양성반응을, 17명(41.5%)에서 음성반응을 보였다. 피부반응검사 양성군과 음성군의 임상적 특성을 비교한 결과 유의한 차이를 보이지 않았다. 그 외 일반혈액검사와 항핵항체검사, 보체검사 모두에서 두 군간에 유의한 차이를 보이지 않았으며 다른 자가면역질환의 증상도 나타나지 않았다.
2. 사람 $Fc\epsilon RI$ 의 truncated α chain에 대한 cDNA를 증합효소 연쇄 반응으로 증폭한 후 pMT 매개체에 서브클로닝한 다음 pMT를 CP 세포주에 전환시킨 후 균 배양을 통해 증폭시킨 뒤, insect cell에 트랜스펙션시켜 수용성 사람 $Fc\epsilon RI\alpha$ 를 제조하였다.
3. 만성 특발성 두드러기 환자 41명 중 14명(34%)에서 혈청 항 $Fc\epsilon RI\alpha$ 항체를 관찰할 수 있었다.
4. 피부반응검사 양성군에서는 24명중 8명(33%), 음성군에서는 17명중 6명(35%)에서 항 $Fc\epsilon RI\alpha$ 항체를 검출하였다.

5. 항 $Fc\epsilon RI\alpha$ 항체 양성군에서 여자환자가 많았고 유병기간이 긴 것 외에 항체 양성군과 음성군 간에 임상적 소견에서 유의한 차이를 관찰할 수 없었다.

이상의 결과로 만성 특발성 두드러기 환자의 혈청내에 항 $Fc\epsilon RI\alpha$ 항체가 존재함을 확인하였으나, 자가항체 양성군과 음성군 간에 뚜렷한 임상적 특성의 차이를 관찰할 수 없었다. 또한, 자가혈청 피부반응검사와 항 $Fc\epsilon RI\alpha$ 항체의 실제 검출율과의 상관성을 관찰할 수 없었다.

참 고 문 헌

1. Champion RH, Roberts SOB, Carpenter RG, Roger JH. Urticaria and angioedema: a review of 554 patients. *Br J Dermatol* 1969;81:588-97.
2. Charlesworth EN. Urticaria and angioedema: a clinical spectrum. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1996;76:484-96.
3. Thiers BH. Urticaria and angioedema. *Dermatol Clin* 1996;14:171-98.
4. Greaves MW. Chronic urticaria. *N Engl J Med* 1995;332:1767-72.
5. Sibbald RG, Cheema AS, Lozinski A, Tarlo S. Chronic urticaria: evaluation of the role of physical, immunological and other contributory factors. *Int J Dermatol* 1991;30:381-6.
6. Sabroe RA, Greaves MW. The pathogenesis of chronic idiopathic urticaria. *Arch Dermatol* 1997;133:1003-8.
7. Maxwell DL, Atkinson BA, Spur BW, Lessof MH, Lee TH. Skin responses to intradermal histamine and leukotrienes C4, D4 and E4 in patients with chronic idiopathic urticaria and in normal subjects. *J Allergy Clin Immunol* 1990;86:759-65.
8. Tharp MD. Chronic urticaria: pathophysiology and treatment approaches. *J Allergy Clin Immunol* 1996;98:S325-30.
9. Grattan CEH, Francis DM, Slater NG, Barlow RJ, Greaves MW. Plasmapheresis for severe unremitting, chronic urticaria. *Lancet* 1992;339:1078-80.
10. Niimi N, Francis DM, Kermani F, O'Donnell BF, Hide M, Kobza-Black A, et al. Dermal mast cell activation by autoantibodies against the high affinity IgE receptor in chronic urticaria. *J Invest Dermatol* 1996;106:1001-6.

11. Kermani F, Niimi N, Francis DM, O'Donnell B, Black AK, Hafizi S, et al. Characterization of a novel mast cell-specific histamine releasing activity in chronic urticaria. *J Invest Dermatol* 1995;105:452.
12. Hide M, Francis DM, Grattan CEH, Barr RM, Winkelmann RK, Greaves MW. The pathogenesis of chronic idiopathic urticaria: new evidence suggests an autoimmune basis and implication for treatment. *Clin Exp Allergy* 1994;24:624-7.
13. Hide M, Francis DM, Grattan CEH, Hakimi J, Kochan JP, Greaves MW. Autoantibodies against the high-affinity IgE receptor as a cause of histamine release in chronic urticaria. *N Engl J Med* 1993;328:1599-604.
14. Grattan CEH, Francis DM, Hide M, Greaves MW. Detection of circulating histamine releasing autoantibodies with functional properties of anti-IgE in chronic urticaria. *Clin Exp Allergy* 1991;21:695-704.
15. Fiebiger E, Wichlas S, Stingl G, Maurer D. Autoantibodies directed against Fc ϵ RI α : IgG subtype composition, prevalence and disease specificity. *J Invest Dermatol* 1996;107:492.
16. Sabroe RA, Grattan CEH, Francis DM, Barr RM, Kobza-Black A, Greaves MW. The autologous serum skin test: a screening test for autoantibodies in chronic idiopathic urticaria. *Br J Dermatol* 1999;140:446-52.
17. Blank U, Ra C, Kinet JP. Characterization of truncated α chain products from human, rat, and mouse high affinity receptor for IgE. *J Biol Chem* 1991; 266:2639-46.
18. Tong LJ, Balakrishnan G, Kochan JP, Kinet JP, Kaplan AP. Assessment of autoimmunity in patients with chronic urticaria. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99:461-65.

19. Gruber BL, Baeza M, Machese M, Agnella V, Kaplan AP. Prevalence and functional role of anti-IgE autoantibodies in urticarial syndromes. *J Invest Dermatol* 1988;90:213-7.
20. Riske F, Hakimi J, Mallamaci M, Griffin M, Pilson B, Tookes N, et al. High affinity human IgE receptor: analysis of functional domains of the α subunit with monoclonal antibodies. *J Biol Chem* 1991;266:11245-51.
21. Fiebiger E, Maurer D, Holub H, Reininger B, Hartmann G, Woisetschlager M, et al. Serum **IgG autoantibodies** directed against the α chain of Fc ϵ RI: a selective marker and pathogenetic factor for a distinct subset of chronic urticaria patients? *J Clin Invest* 1995;96:2606-12.
22. Sabroe RA, Francis DM, Barr RB, Black AK, Greaves MW. Anti-Fc ϵ RI autoantibodies and basophil histamine releasability in chronic idiopathic urticaria. *J Allergy Clin Immunol* 1998;102:651-8.
23. Sabroe RA, Seed PT, Francis DM, Barr RM, Kobza-Black A, Greaves MW. Chronic idiopathic urticaria: Comparison of the clinical features of patients with and without anti-Fc ϵ RI or anti-IgE autoantibodies. *J Am Acad Dermatol* 1999;40:443-50.

Abstract

**Autoantibody against high affinity Ig E receptor in
chronic idiopathic urticaria**

Hoon Lee

*Division of Medical Sciences
The Graduate School, Yonsei University*

(Directed by Professor Seung Hun Lee)

The pathogenesis of chronic idiopathic urticaria is not completely understood, but mast cell degranulation and histamine release are thought to be of central importance. It is now established that circulating autoantibodies against the high-affinity Ig E receptor($Fc \epsilon RI \alpha$) can be found approximately one third of patients with chronic idiopathic urticaria.

These autoantibodies can be detected by in vivo autologous serum skin test and by in vitro basophil and mast cell histamine release assays as functional tests, and also can be confirmed by in vitro enzyme-linked immunosorbent assay to $Fc \epsilon RI \alpha$ and Western blot analysis.

Our purpose was to determine the proportion of patients with positive autologous serum skin test and anti- $Fc \epsilon RI \alpha$ antibody in chronic idiopathic urticaria and whether there are differences between patients with and those without autoantibodies in the clinical features.

Results are as follows:

1. Positive result to autologous serum skin test was 58.5% in 41 patients of chronic idiopathic urticaria. There was no significant difference of clinical features and laboratory tests between patients with positive skin test and those with negative results.

2. cDNA to truncated α chain of human $\text{Fc}\epsilon\text{RI}$ was amplified by polymerase chain reaction, then subcloned to pMT vector. pMT vector was transformed to CP cell line and amplified, then soluble human $\text{Fc}\epsilon\text{RI}\alpha$ was produced by transfection to insect cell.

3. By enzyme-linked immunosorbent assay, anti- $\text{Fc}\epsilon\text{RI}\alpha$ antibody was detected in sera from 34% of patients with chronic idiopathic urticaria.

4. In sera from 33% of patients with positive skin test and 35% of those with negative result, we could demonstrate anti- $\text{Fc}\epsilon\text{RI}\alpha$ antibody by enzyme-linked immunosorbent assay.

5. There was no differences of clinical features and laboratory tests between the patients with autoantibodies to $\text{Fc}\epsilon\text{RI}\alpha$ and those without, except female predominance and longer urticaria history in those with autoantibodies.

Our results demonstrated anti- $\text{Fc}\epsilon\text{RI}\alpha$ antibody in the sera of chronic idiopathic urticaria patients, but there was no differences of clinical features and laboratory tests between the patients with autoantibodies to $\text{Fc}\epsilon\text{RI}\alpha$ and those without. And we could not demonstrate the correlation between autologous serum skin test and the occurrence of anti- $\text{Fc}\epsilon\text{RI}\alpha$ antibody.

Key Words : chronic idiopathic urticaria, anti-Fc ϵ RI α antibody, autologous serum skin test