

호흡기 알레르기 환자의 버섯포자 항원 감작률

연세대학교 의과대학 내과학교실, 농촌진흥청*

김성철·김칠우·이원기·박중원·홍천수·김양섭*

서 론

을 평가하였기에 보고하는 바이다.

최근 버섯포자와 일부 유행성 천식 발작과의 관련이 보고되고 있으며, 호흡기 알레르기 환자의 1/3에서 버섯포자 추출물에 대한 피부단자 시험에 양성소견을 보였음이 보고된 바 있다¹⁾. 또한 대기 중 포자수 측정에 대한 연구에 의하면, 전세계의 많은 지역에서 대기중 버섯포자 농도가 높게 측정되고 있으며²⁻⁶⁾, 대기중 버섯포자 농도와 급성 천식으로 인한 입원율 증가와의 상관관계를 보고하고 있다⁴⁾. 그리고 최근의 연구에 의하면 *in vitro*상 배양된 버섯균류(higer fungi)로부터 추출된 물질에 대한 피부단자시험상 특이 IgE 항체가 증명되어, 흡입성 알레르겐으로서 버섯포자에 대한 관심이 높아지고 있다^{7,8)}. 국내에서도 지역별 대기중 곰팡이 포자수 측정 등의 보고가 있으나⁹⁾, 흡입성 알레르겐으로서 버섯포자에 대한 임상적 연구는 없는바, 이에 저자 등은 호흡기 알레르기 환자에게 14종의 버섯포자에서 추출한 항원으로 피부단자시험을 시행하여, 우리나라의 알레르기 질환에 있어서 알레르겐으로의 역할

대상 및 방법

1. 대상

1994년 4월부터 1994년 12월까지 세브란스 병원 알레르기 내과에 내원한 200명의 호흡기 알레르기 환자를 대상으로 하였다. 천식환자가 106명(53%), 알레르기성 비염환자는 42명(21%), 그리고 두 질환을 모두 갖는 환자는 52명(26%)이었다.

2. 재료

1) 버섯 채집

총 14종의 버섯포자 중 13종은 1993년 7월 서울 관악산에서 채집한 야생버섯의 포자였으며, 1종은 양식버섯포자였다. 야생버섯으로는 *Collybia confluens*(밀버섯), *Hebeloma sp.*(자갈버섯속), *Inocybe sp.*(땀버섯속), *Laccaria laccata*(졸각버섯), *Lactarius sp.*(젖버섯속), *Oudemansiella platyphylla*(넓은 솔버섯), *Pholiota sp.*(비늘버섯), *Psathyrella candolleana*(죽제비눈물버섯), *Russula cyanoxantha*, *Russula sp.*(무당버섯속),

*통신저자 : 연세의대 내과 홍천수

Fig. 1. Photograph of mushrooms(taken in Jul. 1993).

- ① *Collybia confluens*(밀버섯), ② *Hebeloma sp.* (자갈버섯속), ③ *Inocybe sp.* (땀버섯속), ④ *Laccaria laccata* (풀각버섯), ⑤ *Lactarius sp.* (젖버섯속), ⑥ *Oudemansiella platyphylla* (넓은 솔버섯), ⑦ *Pholiota sp.* (비늘버섯), ⑧ *Psathyrella candolleana* (즉제비눈물버섯), ⑨ *Russula cyanoxantha* (무당버섯), ⑩ *Russula sp.* (무당버섯속), ⑪ *Suillus bovinus* (황소비단그물버섯), ⑫ *Lycoperdon pelatum* (말불버섯), ⑬ *Scleroderma areolata* (점박이 어리알버섯), ⑭ *Ganoderma lucidum* (영지버섯)

Suillus bovinus(황소비단그물버섯), *Lycoperdon perlatum*(말불버섯), *Scleroderma areolata*(점박이 어리알버섯), 그리고 인공재배버섯은 *Ganoderma lucidum*(영지버섯)이었다(Fig. 1).

2) 피부단자시험 및 특이 IgE 검사용 항원

제조

버섯포자 채집 후 4~6시간내에 버섯cap을 기름종이 위에 놓은 후, 바람이 통하지 않는 실내에서 방치하여, 24~48시간 후 spore printer를 얻어 면도날로 긁어 포자를 얻었다. 채집된 포자는 탈지방화시키지 않고 Cocca's solution으로 72시간 extraction시킨 후 원심분리하여 상층액을 다시 Cocca's solution으로 투석하여, 일부는 glycerine과 1:1로 혼합하여 피부 단자시험용(1:100w/v)으로 이용하였으며, 일부는 ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay)시험에 이용하였다.

3. 연구방법

1) 알레르기 피부단자시험

저자 등이 제조한 버섯포자 항원과 기타 주요 흡입성 및 식품 알레르겐을 이용하여 피부 단자시험(prick test)를 시행하여, 15분 후에 각각에 대한 팽진 및 홍반의 크기를 측정하였다. 피부반응의 정도는 팽진 및 홍반의 크기에 따라 나누었는데, histamine 양성대조액에 정상적인 양성반응을 보이지만 알레르겐에 무반응을 보일때는(-), A/H(allergen/histamine)비가 1미만이면서 홍반의 크기가 2mm미만일때 1⁺, 2mm이상일때는 2⁺, A/H비가 1이상이며 2미만일때 3⁺, 2이상일때 4⁺로 분류하였다¹⁰⁾.

2) 버섯포자 특이 IgE 항체의 측정

추출한 항원과 피부단자 검사상 버섯포자에 양성으로 나타난 환자의 혈청을 이용하여 ELISA를 시행하여 버섯포자 특이 IgE항체를 검출하였다.

Fig. 2. Scanning electron micrograph of basidiospore. ($\times 2000$, $\times 2.5$)
Upper: Scleroderma. Lower: Hebeloma

결 과

1. 대상환자의 특징

환자의 평균연령은 36(14-69)세였으며, 남자가 101예(50.1%), 여자가 99예(49.9%)였고, 말초 혈액 호산구수는 $331 \pm 2.4/\mu\text{l}$ 였으며, 혈청 IgE는 $295 \pm 4.3\text{IU}/\text{ml}$ 이었다(Table 1).

2. 버섯포자 추출액에 대한 피부단자시험

결과

총 환자의 40예(20%)에서 최소한 한개이상의 버섯포자 추출액에 대해 양성반응을 보였으며, 16예에서는 단지 1개의 버섯포자 추출액에 대해서만 양성반응을 보였고, 9예에서는 2개 혹은 3개의 버섯포자 추출액에 대해 양성반응을 보였다. 11예에서 5개이상의 버섯포자 추출액에 대해 양성반응을 보였다(Table 2). 버섯포자 추출액에 대한 피부단자시험상 대상자의 1.5% (*Scleroderma areolata*, *Ganoderma lucidum*)에서부터 9.5% (*Suillus bovinus*)가

Table 1. Characteristics of study patients according to diagnosis

	Bronchial asthma(Ba)	Allergic rhinitis(AR)	BA+AR	Total
Subjects	106	42	52	200
Age(mean:yr)	41(± 14.5)	35(± 11.7)	35(± 12.1)	38(± 13.6)
M/F	58/48	19/23	24/28	101/99
TEC(mean:/ μl)	331	257	407	331
Total IgE (mean $\log_{10} \pm \text{S.D.} : \text{IU}/\mu\text{l}$)	2.6(± 0.6) (363)*	2.2(± 0.5) (363)*	2.5(± 0.6) (338)*	2.5(± 0.6) (355)*

cf) TEC:total eosinophil counts

(*):geometric mean

Table 2. Prevalence of positive skin reactors to basidiospore extracts according to numbers of basidiospore reacting

No. of sensitized basidiospores	No. of positive skin reactors	% in total reactors	% in total patients
1	16	40.0	8.0
2	5	12.5	2.5
3	4	10.0	2.0
4	4	10.0	2.0
5	5	12.5	2.5
6	2	5.0	1.0
7	1	2.5	0.5
8	1	2.5	0.5
9	1	2.5	0.5
10	1	2.5	0.5
Total	40	100	20

Table 3. Results of basidiospore skin test in respiratory allergic patients(n=200)

Basidiospore	1(+)	2(+)	3(+)	Total
Collybia confluens	4	8	3	15(7.5%)
Hebeloma sp.	6	10	2	18(9.0%)
Inocybe sp.	2	5	1	8(4.0%)
Laccaria laccata	3	3	1	7(3.5%)
Lactarius sp.	4	3	0	7(3.5%)
Oudemansiella platyphylla	4	5	1	10(5.0%)
Pholiota sp.	1	4	1	6(3.0%)
Psathyrella candelleana	4	5	0	9(4.5%)
Russula cyanoxantha	0	3	4	7(3.5%)
Russula sp.	3	2	1	6(3.0%)
Suillus bovinus	9	6	4	19(9.5%)
Lycoperdon perlatum	2	4	1	7(3.5%)
Scleroderma areolata	1	1	1	3(1.5%)
Ganoderma lucidum	0	3	0	3(1.5%)

Table 4. Characteristics of subjects according to the results of basidiospore skin test

	(+)group*	(-)group	p value
No.	40	160	
Age(mean:yr)	33.2(±12.4)	39.4(±13.6)	0.01
Diagnosis			0.57
BA	19	87	
AR	8	34	
BA+AR	13	39	
TEC(mean:/μl)	350	332	0.20
Total IgE (mean log ₁₀ ±S.D.:IU/μl)	2.7(±0.6) (524)***	2.4(±0.6) (251)***	0.01
(+)rate of other allergen**			
D. fariniae	37/40(92.5)	87/160(54.4)	0.001
Sagebrush	19/40(47.5)	35/160(21.9)	0.001
Ragweed	12/40(30.0)	30/160(18.8)	0.07
Mold			
Alternaria	6/40(15.0)	7/160(4.4)	0.02
Aspergillus	13/40(32.5)	20/160(12.5)	0.002
Cladosporium	8/40(20.0)	11/160(6.9)	0.02
Mucor, Rhizop	7/40(17.5)	10/160(6.3)	0.03
Penicilium	9/40(22.5)	17/160(10.6)	0.04
Mushroom	3/40(7.5)	2/160(1.3)	0.06

*:SPT(skin prick test)≥1+, **:SPT≥2+

()***:geometric mean

양성을 보였으며, 대상환자의 5%이상에서 양성을 보인 것은 *Collybia confluens*(7.5%), *Hebeloma sp.*(9.0%), *Oudemansiella platyphylla* (5.0%), *Suillus bovinus*(9.5%)였다(Table 3).

3. 버섯포자 추출액과 주요 알레르겐의 피부 단자시험 성적의 비교

버섯포자 추출액에 대해 양성을 보이는 군(1⁺ 이상)과 음성군을 비교해 보았을 때, 진단별로 양성을의 차이는 없었으나(기관지 천식 18%, 알레르기성 비염 19%, 두 질환을 모두 갖는 경우 25%), 양성군에서 음성군보다 유의하게 혈중 총 IgE 농도가 높았다. 또한 양성군에서 주요 흡입성 알레르겐에 대한 양성을(2⁺ 이상) 이 음성군보다 유의하게 높았으며(Table 4), 실제로 버섯포자 추출액에 대해 양성을 보이는 군에서 버섯포자 추출액에 대한 피부반응점수(A/H ratio총합)와 9개의 주요 흡입성 알레르겐(집먼지 진드기(*D. farinae*, *D. pteronyssinus*), 고양이털, 돼지풀, 바퀴, 참나무, 쑥, 호밀풀, 아스페르길루스)에 대한 피부반응점수(아토피점수)¹¹⁾ 사이에 유의한 상관관계를 보였다($r=0.45$, $p=0.003$)(Fig. 3).

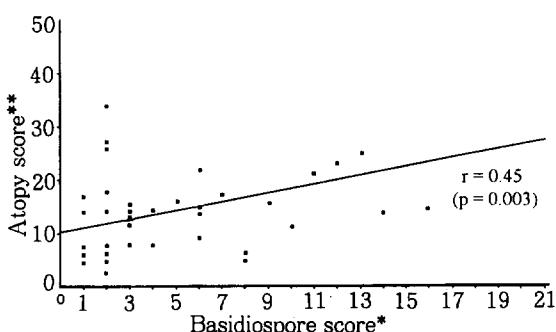


Fig. 3. Relationship between basidiospore score and atopy score

* Basidiospore score:cumulative sum of basidiospore skin prick test(SPT)

** Atopy score:cumulative sum of 9 common inhalant allergens SPT

4. 버섯포자 특이 IgE 항체의 측정

추출한 항원과 피부단자검사상 버섯포자에 양성으로 나타난 환자의 혈청을 이용하여 ELISA를 시행하였으나 버섯포자 특이 IgE 항체를 검출하는데 성공하지 못하였다.

고 찰

흡입성 알레르겐으로서 화분에 대해서는 광범위하게 연구가 되어 있으나, 곰팡이 포자는 대기중에 고농도로 존재함에도 불구하고 아직 까지 잘 알려져 있지 않은데, 그 이유는 첫째, 화분의 대기 중 농도는 계절적 변화가 뚜렷하여 화분과 관련된 알레르기 증상은 쉽게 확인되지만, 곰팡이 포자는 계절적 변화가 뚜렷치 않아 알레르기 질환의 원인 항원으로 연관성을 유추하는데 어려움이 있으며, 둘째, 많은 종류의 곰팡이가 대기중으로 포자를 분출하지만 알레르기 증상을 야기하는 특정 포자를 검출하는 것은 거의 불가능하며, 세째로, 알레르기 질환 환자를 검사하는데 필요한 추출물을 제조하는데 있어서, 화분은 다량을 쉽게 얻을 수 있으나, 충분한 양의 정제된 곰팡이 포자를 얻는 것은 매우 어렵기 때문이다¹²⁾.

버섯균류(higer fungi)는 형태학적으로 가장 복잡한 곰팡이로, 지금까지 약 8,000여 종이 알려져 있으며, mushroom, brakets, puff-ball 등이 이에 해당된다^{13, 14)}. 버섯포자는 4개가 한 군으로 성장하여 분출되며, 대기중 버섯포자 농도는 전세계적으로 높게 측정되고 있다. 직업적으로 버섯포자에 노출되는 버섯 재배자를 대상으로 한 보고에 의하면, 재배자의 30~40%에서 호흡기 알레르기 증상이 유발되었다고 하며^{15~17)}, 여러 연구에서 아토피환자를 대상으로 버섯포자 추출액으로 피부단자검사를 시행하였을 때 의미있는 피부반응도를 보고하

고 있어¹⁸⁻²¹⁾, 버섯포자는 중요한 흡입성 알레르겐으로 주목을 받고 있다. 버섯포자 과민성을 증명키 위한 피부단자시험용 항원으로 과거에는 버섯균류 자체의 추출물을 많이 이용하였으나, 환자들이 실제로 노출되는 곰팡이 성분은 일차적으로 포자이기 때문에 임상적 연구에서는 버섯균류 추출물보다는 버섯포자 추출물이 더 적절한 알레르겐으로 여겨지고 있다^{22, 23)}. 본 연구에서는 spore print를 얻어 포자 추출물에 대해서 피부단자시험을 시행하였는데, 양성율에 있어서 1.5%부터 9.5%까지의 다양한 결과를 나타내었다. 이는 단자시험 결과의 해석에 차이는 있지만, 외국의 연구와 비교해 보았을 때(5-17% 양성율), 약간 낮은 반응도를 보여주고 있다. 이러한 다양한 피부반응도 대해서는 여러가지 해석이 있을 수 있는데, 먼저, 각 버섯포자 별 대기중 포자 농도의 차이가 하나의 원인으로, 실제로 puffballs과 같은 버섯균류는 다수의 포자를 방출하여 다른 버섯균류보다 포자량이 많은 것으로 알려져 있다. 둘째로, 각 버섯균류의 성장계절이 다양하여, 피부단자시험을 시행한 시점에 따라 피부 반응도의 차이가 나타날 수 있을 것으로 생각되며, 마지막으로, 버섯포자별 알레르겐 강도의 차이가 있을 것으로 생각되며¹²⁾, 이는 버섯포자의 일반적인 특징인 포자벽 두께의 차이로 인한 알레르겐 분비의 차이가 그 원인으로 간주되고 있다²⁴⁾. 그러므로 추후 대기 중의 포자농도를 정확히 측정하는 방법의 개발 및 각각의 알레르겐 강도의 표준화가 이뤄진 후에야 더욱 정확한 피부반응도에 대한 결과를 얻을 수 있을 것으로 사료된다.

또한 본 연구에서는 버섯포자 추출액에 양성반응을 보인 군이 음성군보다 유의하게 다른 주요 흡입성 알레르겐에 대한 양성율이 높았으며, 또한 둘다 양성인 군에서 버섯포자에 대한 피부반응 점수와 9개의 주요 흡입성 알레르겐

에 대한 피부반응점수 사이에 유의한 상관관계를 나타내었는데, 이는 주요 흡입성 알레르겐과 마찬가지로 중요한 역할을 할 것으로 해석할 수 있다. 한편 양성군의 혈청에서 버섯포자 특이 IgE 항체가 검출되지 않았는데, 앞으로 양질의 버섯포자 항원액의 제조에 많은 관심을 기울여야 할 것으로 생각한다.

결론적으로 우리나라의 호흡기 알레르기 질환에서 버섯포자의 알레르겐으로의 역할은 뚜렷하지 않는 것처럼 보이나, 추후 보다 좋은 버섯포자 항원액을 이용한 연구가 필요할 것으로 생각하며, 대기중의 포자의 농도를 정확히 측정하는 방법의 개발과 알레르겐의 농도가 표준화된 버섯포자 항원액의 개발, 그리고 분획화된 양질의 버섯포자 항원에 대해서도 적극적인 연구 검토가 있어야 할 것이다.

결 롬

1994년 4월 1994년 12월까지 세브란스병원 알레르기 내과에 내원한 200명의 호흡기 알레르기환자를 대상으로 14종의 버섯포자에서 추출한 항원으로 피부단자시험과 ELISA를 이용한 혈청 특이 IgE 검사를 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 총 환자의 40예(20%)에서 최소한 한 개 이상의 버섯포자 추출액에 대해 양성반응을 보였고, 11(5.5%)예에서는 5개이상의 버섯포자 추출액에 대해 양성반응을 보였다. 버섯포자 추출액에 대한 피부단자시험상 1.5%부터 9.5% (*Suillus Bovinus*)까지의 양성율을 보였으며, 5% 이상 양성율을 보인것은 *Collybia confluens*, *Hebeloma sp.*, *Oudemansiella platyphylla*, *Suillus bovinus*였다.

2. 각 질환별 버섯포자 추출액에 대해 양성을(1⁺이상)에는 차이가 없었으나, 양성군에서 음성군보다 유의하게 주요 흡입성 알레르겐에 대한 양성을(2⁺이상)이 높았으며, 피부반응점수에 있어서도 서로 상관관계를 보였다.

3. 추출한 항원과 피부단자 검사상 버섯포자에 양성으로 나타난 환자의 혈청을 이용하여 ELISA를 시행하였으나, 버섯포자 특이 IgE 항체를 검출할 수 없었다.

이상의 결과로 우리나라의 호흡기 알레르기 질환에서 버섯포자의 알레르겐으로의 역할은 뚜렷하지 않는 것처럼 보이나, 추후 보다 양질의 버섯포자 항원 추출액을 이용한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

—Abstract—

Sensitization by basidiospores in respiratory allergic patients

Seong Cheol Kim, M.D., Cheol Woo Kim M.D.

Joong Won Park, M.D.,

and Chein-Soo Hong, M.D.

Department of Internal Medicine,
Yonsei University, College of Medicine

For evaluation of sensitization of basidiospores in respiratory allergic diseases, we tested skin prick tests of 14 extracts of basidiospores

which were made from spore prints of 13 wild mushrooms and one cultivated mushroom, *Ganoderma lucidum*. Final concentration of spore extracts for skin test was 1:100 w/v in 0.4% phenolized-50% glycerinized saline solution.

The following results were obtained:

1) Skin reactivity of study subjects to basidiospore extracts ranged 1.5% to 9.5%, and the basidiospore extracts inducing skin test reactivity in ≥5% of patients include extracts of spore *Collybia confluens*(7.5%), *Hebeloma sp.*(9.0%), *Oudemansiella platyphylla*(5.0%), *Suillus bovinus*(9.5%). Forty subjects(20%) in 200 patients had positive skin reaction to one or more basidiospores, and 11 patients showed positive results to five or more basidiospores.

2) The positive group to basidiospore extracts showed significantly higher reactivity to common inhalant allergens than negative group. In subjects reacting to both, there appears to be relationship between skin reactivity scores of basidiospores and 9 common inhalant allergens.

3) Specific IgE of basidiospore extracts was not able be detected on ELISA in the patient's sera.

According to above results, basidiospores seem to be potentially important aeroallergens in respiratory allergic diseases in Korea. Therefore, we believe that further studies using highly qualified basidiospore extracts shoud be warranted.

key words : Basidiospore, Respiratory allergy

참 고 문 헌

- 1) Horner WE, Lopez M, Salvaggio JE, Lehrer SB: Basidiomycetes allergy: Identification and characterization of an important allergen from *Calvatia cyathiformis*. *J Allergy Appl Immunol* 94:359–66, 1991
- 2) Gregory P, Hirst J: The summer air spora at Rothamsted. *J Gen Microbiol* 17:135, 1957
- 3) Hyde HA, Adams KF: Airborne allergens at Cardiff 1942–1959. *Acta Allergol* 15 (Suppl 7):159, 1960.
- 4) Salvaggio J, Seabury JJ, Schoenhardt E: New Orleans asthma. V. Relationship between Charity Hospital asthma admissions rates, semiquantitative pollens and fungal spore counts, and total particulate aerometric sampling data. *J Allergy Clin Immunol* 57:480 –87, 1976
- 5) Hasnain SM, Wilson JD, Newbold FJ: Fungal allergy and respiratory disease. *Nz Med J* 98:342–46, 1985
- 6) Pady SM, Kramer Cl, Clary R: Diurnal periodicity in airborne fungi in an orchard. *J Allergy* 39:302–08, 1967
- 7) Lopez M, Salvaggio JE, Butcher BT: Allergenicity and immunogenicity of basidiomycetes. *J Allergy Clin Immunol* 57:480–89, 1976
- 8) Lopez M, Butcher BT, Salvaggio JE, Olson JA: Basidiomycetes allergy: what is the best source of antigen? *Int Arch Allergy Appl Immunol* 77:169–78, 1985
- 9) 박홍준, 박해심: 서울 지역 대기 중의 곰팡이 포자수 측정. *알레르기* 15(2):216–23, 1995
- 10) 홍천수: 알레르기 피부반응 검사와 판독방법. *알레르기* 13(suppl 1):23–35, 1993
- 11) 김철우, 박종언, 홍천수: 성인에서 아토피결정을 위한 단자시험용 알레르겐 종류. *알레르기* 15:499, 1995
- 12) Lehrer SB, Lopez M, Butcher BT, Olson J, Reed M, Salvaggio JE: Basidiomycetes mycelia and spore-allergen extracts: Skin test reactivity in adults with symptoms of respiratory allergy. *J Allergy Clin Immunol* 78:478 –89, 1986
- 13) Salvaggio JE, Aukrust L: Mold-induced asthma. *J Allergy Clin Immunol* 68:327–34, 1981
- 14) Horner WE, Ibanez MD, Lehre SB: Immunoprint analysis of *Calvatia cyathiformis* allergens. *J Allergy Clin Immunol* 83:784–98, 1989
- 15) Sprenger JO, Altman D, O'Neil LE: Prevalence of basidiospore allergy in the Pacific Northwest. *J Allergy Clin Immunol* 82: 1076–88, 1986
- 16) Burge HA: Airborne allergenic fungi: classification, nomenclature and distribution. *Immunol Allergy Clin North Am* 9:307–16, 1989
- 17) Giannini EH, Northey WT, Leathers CR: The allergenic significance of certain fungi rarely reported as allergens. *Ann Allergy* 35:372–78, 1975
- 18) O'Brien IM, Bull J, Creamer B, Sepulveda R, Harries M, Burge Ps, Pepys J: Asthma and extrinsic allergic alveolitis due to *Merulius lacrymans*. *Clin Allergy* 8:535–40, 1978
- 19) Santilli J, Marsh DG, Collins RP, Alexander JF, Norman Ps: Basidiospore Sensi-

- tivity and asthma. J Allergy Clin Immunol 69:98–104, 1982
- 20) Hasnain SM, Wilson JD, Newhook Fj, Segedin BP; Allergy to basidiospores:immunologic studies. Nz Med J 98:393–405, 1985
- 21) Santilli J Jr, Rockwell WJ, Collins RP: The significance of the spores of the Basidiomycetes (mushrooms and their allies) in bronchial asthma and allergic rhinitis. Ann Allergy 55:469–75, 1985
- 22) Lehrer SB, Salvaggio JE: Diagnosis of Basidiomycete allergy:the first steep. Mold allergy workshop Upsala, Sweden, Pharmacia, 81–92, 1984
- 23) Hebling A, Horner E, Lehrer SB: Comparison of *Psilocybe cubensis* spore and mycelium allergens. J Alleuy Clin Immunol 91:1059–67, 1993
- 24) Horner WE, Levetin E, Lehrer SB: Basidiospore allergen release: Elution from intact spores J Allergy Clin Immunol 92:302 –17, 1993