

노란털갈다구 항원에 대한 아토피 환아의 면역반응에 관한 연구*

연세대학교 의과대학 소아과학교실, 기생충학교실*

이기영 · 김혜영 · 김동수 · 정병주 · 이한일*

서 론

갈다구 (non-biting midges)는 곤충강 중 파리목, 갈다구과에 속하는 곤충으로 모기와 마찬가지로 두 쌍의 날개가 있는데 뒷날개 한 쌍은 퇴화되고 앞날개 한 쌍만이 발달하여 날아다니는 구실을 하지만 모기와 달리 사람의 피를 빨지는 않는 곤충이다¹⁾.

이 곤충이 기관지천식이나 알레르기성 비염을 일으킨다는 사실은 이미 1950년대 Freedman²⁾과 Lewis³⁾가 갈다구에 대한 천식을 보고하면서 알려지게 되었다. 1950년 아프리카의 나일강에 아스완댐이 준공되면서 그 주위에 만들어진 많은 인공 호수에서 갈다구의 서식이 크게 증가하였는데 이 때 인접한 수단에서 수많은 알레르기성 천식 및 비염 환자가 발생하였고 그 원인이 갈다구라는 사실이 밝혀져 갈다구에 의한 알레르기성 질환이 주목받기 시작했다. 당시 이 지역에서는 주로 *Cladotanytarus lewisi*라는 갈다구에 의한 알레르기가 주종을 이루었으며 이에 대한 알레르기 피부 검사

및 특이 IgE 항체의 측정 등에 관한 많은 연구가 이루어졌다⁴⁾. 그 뒤 서독에서는 갈다구로 봉어나 관상용 어류의 먹이 또는 낚시밥을 만드는 사람들에서 알레르기성 질환이 발생되어 이 곤충이 직업성 천식의 원인 항원으로도 알려지게 되었고 스웨덴, 미국, 일본 등지에서도 갈다구 특이 IgE 매개 반응에 의한 천식 및 비염의 환자 발생에 대한 보고가 많이 있다⁵⁻⁹⁾.

갈다구의 생태는 알, 유충, 고치 그리고 성충의 네 시기를 경과하는 완전 변태를 하는데 전세계적으로 약 1,000여종이 있으며 우리나라에도 많은 종류의 갈다구가 서식하는 것으로 알려져 있다. 이들은 물이 있는 곳이면 어디나 잘 서식하는데 도시의 개천, 오염된 하수, 농촌의 논, 저수지, 연못 등에서 서식한다. 이들의 생태계는 수질이나 토양의 비옥도에 영향을 받는데 도시 주변의 강이나 하천으로 유입되는 오염 물질이 증가함에 따라 수질의 부영양화 (eutrophication)가 진행되고 따라서 이들의 먹이도 증가하여 번식하는데 우리나라에서는 노란털갈다구 (*Chironomus flaviplumus*)와 안개무늬갈다구 (*Chironomus kiensis*)가 가장 중요한 우점종으로서 전자는 오염된 물에서 발생하므로 주로 도시에서, 후자는 논에서 발생하므로 주로 농촌에서 채집되었고 이들이 알레르기성 질

* 본 연구는 1994년도 연세대학교 의과대학 교수 연구비의 보조로 이루어진 것임.

통신연락처 : 연세의대 소아과 김동수

환의 원인 항원으로 작용할 것으로 추측되었다.

우리나라와 환경이 유사하다고 볼수 있는 일본의 동경 지역에서는 성인 천식 환자의 약 38%가 알레르기 피부검사상 갈다구 항원에 양성 반응을 보여 집먼지 진드기에 이어 두번째로 높은 양성율을 나타내어 중요한 알레르겐의 하나로 취급되고 있다⁸⁾. 갈다구가 많이 서식하고 있는 우리나라에서도 이에 의한 알레르기 환자가 상당수 있을 것으로 추측되던 중¹⁰⁾, 박 과 김 등¹¹⁾이 성인 천식 환자를 대상으로 일본에 흔한 갈다구 항원을 이용하여 피부반응도 및 특이 항체를 측정하여 약 20%의 양성율을 보고함으로써 갈다구가 우리나라에서도 중요한 흡입 알레르겐으로 작용할 수 있음을 시사하였지만 아직까지 소아에서는 갈다구 알레르기에 대한 피부시험도 시행되지 않은 상태이다.

이에 저자들은 아토피성 환자를 대상으로 우리나라 도시에서 가장 흔하게 발견되는 갈다구인 노란갈다구(*Chironomus flaviplumus*)에 대한 알레르기 피부시험을 시행하여 우리나라에도 있을 것으로 추측되는 갈다구 알레르기 환자의 감작율과 임상적 특성에 대해 알아보고 또한 갈다구 항원의 특성에 대해 알아보고자 본 연구를 실시하였다.

대상 및 방법

1. 항원제조

노란털갈다구의 유충을 수집하여 항온실에서 사육한 후 깨어난 성충을 실험에 사용하였다. 출현한지 1-2일이 경과된 노란털갈다구의 성충을 수집하여 영하 20도에 냉동 보관하였다가 해동후 potassium phosphate buffer(pH 7.4)를 첨가하여 homogenizer를 이용, 균질액을 만들었다. 이것을 3시간동안 천천히 저어준후 15,000xg로 섭씨 4도에서 15분동안 원심분리하여 상층액을 취하여 조항원(crude extracts)

으로 하였으며 사용하기 전까지 영하 70도에 보관하였다. 조항원의 단백질 농도는 Lowry¹²⁾의 방법으로 측정된 결과 11mg/ml였다.

이렇게 제조한 조항원을 50% modified CoCa용액으로 1:40의 상태로 희석하여 알레르기 피부시험에 사용하였다.

2. 알레르기 피부시험

1994년 4월부터 1995년 1월까지 연세대학교 의과대학 소아 알레르기 클리닉에 내원하여 알레르기 피부시험을 시행받은 환자를 대상으로 하였다. 기존의 실시하는 63가지 항원(일본 Torii)과 함께 노란털갈다구 항원을 사용하여 동시에 시행하였으며, 양성 대조액으로는 1% histamine을 이용하여 이 항원들을 모두 피부시험을 시행하기 3일전부터 항히스타민제등의 약물 복용을 중단시키고 검사 후 15분이 경과 하였을때 팽진의 크기를 측정하여 반응 정도를 판독하였다. 양성 판독은 팽진의 크기가 히스타민의 1/2내지 1배인 경우를 2+, 히스타민과 같은 경우를 3+, 두배 이상인 경우를 4+로 하였다.

3. 면역효소법(ELISA)에 의한 갈다구 특이-IgG 및 IgG 아형의 측정

항원과 항체의 최적 반응 농도를 알아보기 위한 예비 실험에서 결정된 적정 농도인 갈다구 항원 10ug/ml를 well당 50ul씩 ELISA plate(Costar, Cambridge, MA)에 넣고 섭씨 37도에서 16시간 반응시킨 후 1% BSA(bovine serum albumin)가 포함된 phosphate buffered saline-Tween(PBS-T)으로 1시간 차단시켰다. 먼저 갈다구 특이 IgG 항체의 측정을 위해 각 환자의 혈청을 1:100으로 희석하여 50ul/well씩 넣고 1시간 반응시킨 후 biotin-ated anti-human IgG(Vector Laboratories, Inc, Burlingane, CA)를 1:500으로 희석하여 반응

시킨 다음 streptavidin peroxidase(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO)를 1 : 500으로 희석하여 50ul/well씩 넣고 30분간 반응시켰다. 이것을 PBS-T로 5회 세척 후 H₂O₂를 넣은 ABTS substrate(Sigma Chemical, Co., Louis, MO)를 100ul/well씩 첨가하여 5분간 반응시킨 다음 2mM NaN₃로 반응을 차단시키고 ELISA reader를 이용하여 410nm에서 흡광도(Optic density, O. D)를 측정하였다. 여기서 얻어진 O. D값에 1000을 곱하고 이의 로그값을 얻어 혈청 특이 IgG의 상대적인 농도로 하였다. 특이-IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄도 동일한 방법으로 측정하였으며 IgG₁은 혈청을 1 : 10으로 희석하였고 IgG₂, IgG₃, IgG₄는 원액을 사용하였다.

4. 면역효소법(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)에 의한 갈다구 특이-IgE 항체의 측정

앞의 방법과 마찬가지로 10ug/ml의 갈다구 항원을 well당 50ul씩 ELISA plate(Costar, Cambridge, MA)에 넣고 섭씨 37도에서 16시간 보관한 뒤 PTN(0.01M인산완충용액, 0.05% Twe-en 20)으로 3회 세척하고 1%의 bovine serum albumin(BSA)이 함유된 PTNB(0.01M 인산완충용액, 0.05% Tw- een 20, 1% bovine serum albumin)로 1시간 처리하여 불필요한 단백질의 결합을 차단시켰다. 여기에 환아의 혈청을 PTNB로 1 : 2부터 1 : 32까지 희석하여 50ul/well씩 첨가한 뒤 1시간동안 반응시켰다. 이를 다시 세척한 후 peroxidase가 부착된 goat anti-human IgE(Sigma Chemical Co., St., Louis, MO)를 1 : 500으로 희석하여 1시간 동안 반응시킨 후 세척하였다. 여기에 다시 POD substrate를 첨가하여 20-40분간 반응시킨 후 490nm에서 흡광도를 측정하여 혈청 특이 IgE의 상대적인 농도를 구하였다.

5. SDS-PAGE(Sodium-dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis)

Laemmli¹³⁾의 방법을 변형하여 SDS-PAGE를 시행하였다. 4%의 stacking gel과 12%의 separating gel을 사용하였으며 항원을 2%(wt/vol) SDS, 5%(vol/vol) 2-mercaptoethanol, 0.02%(wt/vol) bromophenol blue가 함유된 0.06M/L Tris HCl(pH 6.8)에 녹여 lane당 50ug씩 넣고 30mA로 4시간 동안 전기영동을 시행하였다. 전기영동을 끝낸 gel은 0.01% Coomassie Brilliant Blue(Sigma, Chemical CO., St. Louis, MO)로 염색하여 항원을 분석하였고 이때 분자량은 저분자량의 표준단백(Bio Rad. Lab. Richmond, CA)에 의거하여 계산하였다.

6. Immunoblotting 및 Autoradiography

Towbin등¹⁴⁾의 방법에 의하여 전기영동이 끝난 항원을 0.45um의 니트로셀룰로오스막(nitrocellulose membrane)에 70V로 3시간동안 이행시켰다. 항원이 전위된 막을 8mm 간격으로 절단한 후 각각을 10% methanol이 함유된 PBS에 1시간동안 세척한 후 3% bovine serum albumin이 함유된 10mM Tris buffer에 4시간 담구어 비특이적인 단백질 결합을 차단시킨 후 이를 다시 0.9% NaCl로 세척한 뒤 실온에서 건조시켰다. 환아의 혈청을 0.1% Tween 20이 함유된 PBS에 1 : 5로 희석한 후 절단된 각각의 니트로셀룰로오스막 분절에 담근 후 실온에서 16시간 반응시켰다. 이를 다시 0.1% PBS, Tween 20으로 3시간 세척 하였다. 여기에 ¹²⁵I-labelled anti-human IgE(15,000 cpm/strip, Pharmacia)에 16시간 담근 후에 0.05% PBS, Tween 20으로 1시간 동안 3번 세척하여 건조시켰다. 이를 X-OMATX-선 필름 (Eastman Kodak, Rochester, N.Y.)에 놓고 빛이 차단된 카세트에 넣어 -70°C에 6일간 보관한 후 현상하여 그 영상을 얻었다.

Table 1. Clinical characteristics of subjects sensitized to *C. flaviplumus*

Patients	Age/ Sex	Diagnosis	Total IgE (IU/ml)	TEC	Skin test	Residence
A	8/F	A,R	2,722	6,740	HD(SP), DF(SP) DP(SP), CF(SP)	Seoul
B	8/F	A,R,C AD, EIA	2,153	1,020	HD(SP), DF(SP) DP(SP), CF(SP) Cockroach(P), Dog hair(SP)	Inchon
C	10/M	A, R, C EIA	836	470	HD(SP), DF(SP) DP(SP), CF(SP) Cockroach(SP)	Seoul
D	8/F	A, U	99	80	HD(SP), DF(SP) DP(SP), CF(P)	Seoul
E	4/M	C	17	120	DF(SP) CF(P)	Jechon
F	8/M	A, R, C	257	1,070	HD(SP), DF(SP), DP(SP), CF(SP) Shrimp(SP) Sagebrush(SP)	Buchon
G	13/F	A, R, C	1,855	640	DF(SP), DP(SP) CF(SP) Cockroach(SP) Crab(SP), Shrimp(SP)	Pajoo
H	9/M	A, R, C	187	490	DF(SP), DP(SP) CF(P)	Seoul

A : Asthma, R : Rhinitis, C : Conjunctivitis, AD : Atopic dermatitis

EIA : Exercise - induced asthma, U : Urticaria

TEC : Total eosinophil count

HD : House dust, DF : Dermatophagoides farinae, DP : Dermatophagoides pteronyssinus

SP : Strong positive, P : Positive

결 과

1. 알레르기 피부시험 결과 및 임상적 특성

1994년 4월부터 1995년 1월까지 연세대학교 의과대학 소아 알레르기 클리닉에 내원하여 노란털갈다구의 조항원으로 알레르기 피부시험을 받은 456명 중 35명이 양성 반응을 나타내어 7.8%의 양성율을 나타내었으며 이 중 남아

는 21명, 여아는 14명이었고 평균 연령은 8.1 ± 2.6(4.3 - 12.5)세 였다. 피부시험상 양성 반응을 나타낸 환자 중 8명에서 혈청을 채취하여 본 연구의 대상으로 하였는데 이들의 특성은 Table 1과 같다. 양성 반응을 나타낸 환자들은 천식, 비염 및 결막염이 동반된 경우가 대부분이었으며 천식이나 비염 등의 호흡기 증상이 없이 심한 결막염 증상만을 호소한 환자도 1례

있었다. 증상의 계절적 변화는 전례가 통년성으로 계절에 따라 변화하는 추이는 볼 수 없었다. 깔다구 항원에 대한 피부시험 결과는 19명은 강양성 반응을, 16명은 양성 반응을 나타내었다. 이들 중 깔다구 항원에 단독으로 감각되어 있는 경우는 없었으며 전례가 집먼지진드기 항원에 감각되었고 기타 집먼지, 바퀴 등에 감각되어 있었다(Table 2).

Table 2. Associated positive allergens on skin test

Allergens	No. of cases	%
<i>D. farinae</i>	35	100
<i>D. pteronyssinus</i>	33	94.3
House dust	18	51.4
Cockroach	11	31.4
Silk	9	25.7
Shrimp	4	11.4
Sagebrush	4	11.4
Crab	4	11.5
Chicken feather	2	5.7
Alternalia	1	2.9
Cotton	1	2.9
Dog hair	1	2.9
Cat hair & dander	1	2.9

2. 노란털깔다구에 대한 특이 IgG 및 IgG 아형 항체의 검출

8명의 환아에서 면역효소법을 이용하여 깔다구 특이 IgG 및 IgG 아형 항체를 검출한 결과는 Fig 1과 같다. 깔다구 특이 IgG는 8명 전례에서 매우 낮은 흡광도를 보였으며 이는 특이 IgE 항체의 유무와 관계가 없었다. 특이 IgG 아형 항체의 경우도 IgG₂를 제외하고는 낮은 흡광도를 보였고, 흥미있는 것은 특이 IgG₂가 다른 IgG 아형 항체의 경우보다 높은 흡광도를 나타낸 것이다. 특이 IgG 아형 항체의 흡광도도 특이 IgE 항체의 유무와 관계가 없었다.

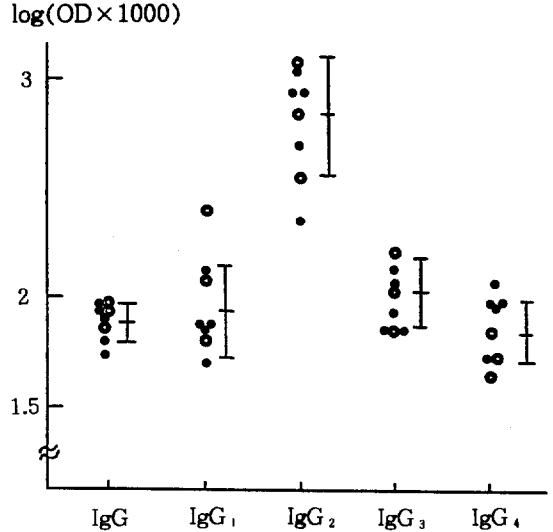


Fig. 1. Relative concentration of specific IgG and IgG subclasses to *Choronomus flaviplumus* antigen by ELISA.
 (Mean \pm SD : IgG, 1.88 ± 0.08 , IgG₁, 1.95 ± 0.22 , IgG₂, 2.79 ± 0.23 , IgG₃, 2.01 ± 0.12 , IgG₄, 1.8 ± 0.15)
 ○ indicates patients who have high specific IgE antibody.

3. 노란털깔다구에 대한 특이 IgE 항체의 검출
 면역효소법을 이용하여 8명에서 깔다구-특이 IgE를 검출한 결과 3명에서 특이 IgE 항체가 검출되었으며 나머지 5명에서는 검출되지 않았다. 이들 3명의 혈청을 단계적으로 희석하여 특이 IgE 항체가의 변동을 본 결과는 Fig 2와 같다. 특이 IgE가 검출된 3명의 피부시험 결과는 강양성 반응이 2명, 양성 반응이 1명이었으며 검출되지 않은 5명은 강양성 반응이 3명, 양성 반응이 2명으로 피부시험 결과와 특이 IgE 항체의 검출 여부와는 일치하지 않는 듯한 경향을 보였다.

4. SDS-PAGE

노란털깔다구의 조항원을 SDS-PAGE로 분석한 결과도 16개의 항원띠를 관찰할 수 있었

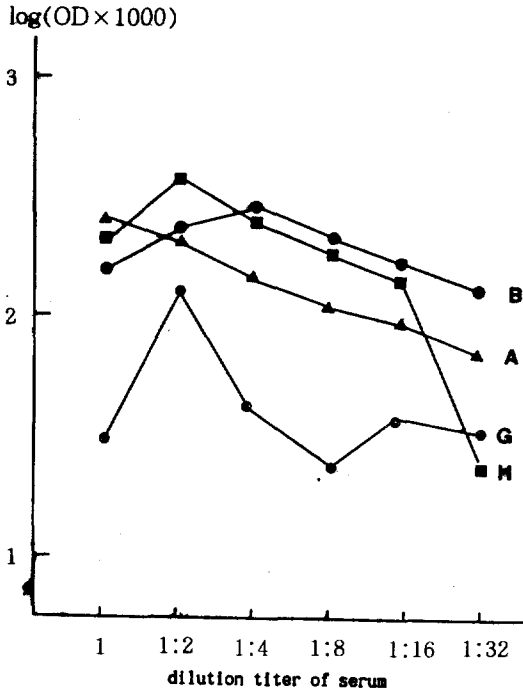


Fig 2. Effect of serum dilution on specific IgE to *Chironomus flaviplumus* antigens by ELISA.
A, B, H : Patients whth specific IgE,
G : patient without specific IgE

다(Fig. 3). 이 중 86,000, 34,000, 29,800, 20,500, 18,000, 15,600 dalton인 항원이 가장 뚜렷하게 관찰되었다.

5. 환아 혈청에 의한 특이 항원의 검출

Fig 4와 같이 노란털갈다구의 조항원에 8명의 혈청을 반응시켜 특이 IgE와 결합하는 항원 띠를 관찰하였다. 8명 중 특이 IgE 항체가 검출되었던 3명에서만 갈다구 항원과 반응하는 단백질띠가 관찰되었는데 lane A의 환아의 경우 86,000, 32,000 dalton의 두가지 위치에 강하게 결합하는 양상을 보였고 lane B의 경우 3개의 위치(61,000, 29,000, 26,000 dalton)에 결합하는 반응띠를 볼 수 있었지만 반응 정도는 약하

Fig 3. SDS-PAGE analysis of crude extracts of *Chironomus flaviplumus* antigens. MWs were determined from a standard mixture of proteins of known MW.
Lane A : Crude extracts of *Chironomus flaviplumus* antigens.
Lane B : Standard low MW markers: phosphorylase-b(97.4KD), bovine serum albumin(66.2KD), ovalbumin(45KD), carbonic anhydrase(31KD), soybean trypsin inhibitor(21.5KD) and lysozyme(14.4KD).

였다. Lane H의 환아에서는 15개 정도의 반응 띠를 관찰할 수 있었는데 이 중 61,000, 37,000, 32,000, 25,000, 21,800, 19,000, 17,600 dalton

의 8개 위치에 강한 반응을 관찰 할 수 있었다. 나머지 5명에서는 깔다구 항원과 결합하는 IgE의 반응은 관찰되지 않았다.

Fig. 4. Autoradiographic findings of patients sera reacted with antigens of *Chironomus flaviplumus*.

Lane A-G: different patients who showed positive skin reaction with crude extracts of *Chironomus flaviplumus* antigens.

고 찰

깔다구(non-biting midge)는 도시의 오염된 하천이나 하수, 농촌 등에서 흔하게 서식하는 곤충으로 모기와는 달리 사람을 물거나 질병을 옮기지는 않지만 한꺼번에 많은 수가 서식하면서 무리를 지어 날아다니며 이 곤충에 노출된 가능성이 많아 호흡기 알레르겐으로 작용함으로써 문제가 되고 있다¹⁰⁾. 이 곤충에 의해 감작(sensitization)되는 기전은 충체가 날아다니

가 직접 눈, 코, 입으로 들어가서 감작되는 경우, 죽은 충체가 지면에 떨어져서 퇴적, 건조된 후 바람에 날려서 부유 항원이 되어 이를 흡입하여 감작되는 경우, 흙 속에 들어 있던 항원이 지나가는 사람의 호흡기를 통해 감작되는 경우 등 다양하므로 환자에게 증상이 나타나게 된 경위를 자세히 물어보아 의심할 수 있지만 문진과 임상적인 증상만으로는 이 항원이 알레르기 질환의 원인이 된다는 사실을 알아내기 어려울 때가 많다¹⁾. 더구나 이 곤충이 밝은 곳으로 모여드는 습성이 있기 때문에 창문을 통해 들어온 깔다구가 실내의 전등 주위로 모여 들었다가 죽은 충체가 집먼지에 섞여 감작되는 경로도 배제할 수 없어 실내 알레르겐으로서도 작용할 가능성이 있다고 생각된다.

최근 깔다구 항원의 중요성이 대두되면서 Gad 등¹⁵⁾은 나일강 유역에서 *Cladotanytarsus lewisi*라는 깔다구가 대량 발생하면서 이 지역 주민에게 심한 호흡기 질환을 유발하였음을 보고하였고, Igarashi 등¹⁶⁾은 Toyama 지역의 119명의 소아 천식환자에서 5종의 깔다구로 피부시험을 시행한 결과 종에 따라 7.6%에서 23.5%까지 양성률을 나타내어 깔다구가 그 지역의 중요한 흡입성 항원임을 보고하였다. 저자들의 본 연구에서는 456명중 35명만이 양성률을 나타내어 7.8%의 양성률을 나타냄으로써 다른 보고에 비해 낮은 양성률은 나타내었다. 여러 보고에 의하면 깔다구의 피부시험 양성률은 깔다구의 종(species)에 따라서 다르게 나타나며 또 대상 환자의 연령에 따라서도 다르게 나타날 수 있는데 주로 4세 이하의 어린 연령층에서는 잘 나타나지 않고 연령이 증가할수록 양성률이 증가하는 것으로 되어 있다¹⁶⁾. 본 연구에서는 Ree¹⁰⁾에 의해 서울, 원당, 포천 등의 오염된 하수에서 절대 우점종으로 나타난 노란털깔다구 (*Chironomus flaviplumus*)의 성충을 이용하여 피부시험을 시행하였으나 일본

등의 보고보다 낮게 나타났는데 이는 근래 하천이나 하수가 대부분 복개되었고 주변에 연못이나 호수 등이 적은 것과 어린이들이 실내에서 지내는 시간이 많은 것이 한 요인이 될 수 있을 것으로 생각되었다. 또한 가정마다 창문에 방충망 시설이 잘 되어 있어 갈다구등의 곤충이 실내로 날아들어가지 못하여 노출된 기회가 적은 것으로 추측되었다. 또 양성 반응을 나타낸 환자들의 연령도 평균 8.1 ± 2.6 세 였고 35명중 5세 이하는 7명으로 주로 학동기 아동에서 양성율이 높은 것으로 생각되었다.

한편 우리나라의 성인을 대상으로한 조 등¹⁷⁾의 보고에 의하면 천식 유발시험상 양성을 나타낸 환자 15명중 다른 흡입 항원에 동시에 감작된 예는 53%였고 갈다구에 단독으로 감작된 예가 47%였으나 소아를 대상으로 한 본 연구에서는 피부반응 양성자 35명중 단독으로 갈다구에만 감작된 예는 없었고 전례가 다른 흡입항원 특히 집먼지 진드기에 동시에 감작되어 있었으며 그의 바퀴벌레, silk, shrimp, crab 등에 동시에 감작되어 있었다. Yamashita 등¹⁸⁾에 의하면 집먼지 진드기는 갈다구 항원과 80%의 높은 동시 감작률을 보였지만 RAST 억제법으로 측정된 결과 교차항원성이 없었고 기타 silk, shrimp, mosquito 등과도 교차항원성이 없다고 하였고 Igarashi 등¹⁶⁾도 집먼지 진드기와 갈다구와는 교차항원성이 없다고 하였다. 따라서 본 연구에서와 같이 전례가 두 항원에 동시에 감작되어 있고 단독으로 감작된 예가 없는 결과의 해석에 대하여는 추후 여러 지역의 더 많은 환자를 대상으로 한 연구간 있어야 할 것으로 생각된다.

지금까지 알려진 바에 의하면 갈다구 항원은 주로 혈색소에 있다고 알려져 있는데 Mazur 등¹⁹⁾은 *Chironomus thummi thummi*의 혈색소내의 중요 항원인 CTT III의 단클론성 항체를 만들어 이에 대한 epitope mapping을 보고하였

다. Matsuoka 등²⁰⁾에 의하면 갈다구의 항원 성분은 갈다구가 변태하는 과정에 따라 보고하는 혈색소는 갈다구가 성장하면서 점차 없어지고 암컷체부, 알에 분자량이 500,000 dalton 이상의 고분자량을 가진 어떤 물질이 강한 항원성을 갖는 것으로 추측하였다. 하지만 갈다구 항원에 대한 분석 결과는 저자에 따라 차이가 있는데 Prelicz 등²¹⁾은 혈색소이외의 고분자량의 성분은 항원성이 없으며 혈색소가 유충뿐 아니라 성충에도 지속됨을 보고하였고 Tee 등²²⁾은 17,000 dalton의 acidic polypeptide가 *Chironomus lewisi*의 주요항원이라 보고하였다. Kawai 등²³⁾은 노란털 갈다구를 포함하여 4종의 갈다구의 성충으로 column chromatography를 시행하여 항원을 분석하였는데 45 nm에서 가장 높은 흡광도를 보인 15,000~18,000 dalton의 항원이 가장 항원성이 강하나 이는 유충의 혈색소에 해당하기 때문에 변태과정중 소실되어 완전히 성숙한 성충이 되면 거의 없어진다고 하였고 이것외에 374,000 dalton의 항원이 높은 항원성을 나타내어 혈색소 이외의 성분도 항원성을 나타낸다고 보고하였다. 또 갓 깨어난 성충의 태변도 항원성이 있음을 보고하였는데 이는 태변내에 남아있는 유충 혈색소의 대사산물 때문이며 따라서 자연상태에서 태변이 다 배설되고 완전히 성숙한 다음 죽은 충체를 이용한 항원성의 연구가 필요하다고 하였다. 본 연구에는 SDS-PAGE를 이용하여 갈다구 항원을 분석하여 적어도 16개의 항원띠를 관찰할 수 있었는데 이중 86,000, 34,000, 29,800, 20,500, 18,000, 15,600 dalton 인 항원이 가장 뚜렷하게 관찰되었다. 이 항원띠들은 8명의 피부시험양성자의 혈청과 반응시켜 특이 IgE와 결합하는 항원을 찾아본 결과 3명의 환아에서 15개 정도의 위치에 반응띠가 나타났는데 3명의 환아에서 공통적으로 나타나는 반응띠는 없었고 86,000, 61,000, 32,000, 27,000, 21,

800, 19,000, 19,000, 17,000 dalton 인 위치에 비교적 강한 반응띠를 나타내었고 이중 32,000, 27,000, 19,000 dalton의 반응이 가장 강하여 이들의 항원성이 가장 강한 것으로 생각되었다.

갈다구에 의한 기관지 천식은 피부 반응시험이나 특히 항체의 검출 등을 통해 주로 IgE에 의해 매개되는 것으로 널리 보고되고 있다. Yamashita 등²³⁾은 갈다구 항원에 의한 히스타민의 유리화 유리된 히스타민의 농도가 특이 IgE치와 비례함을 보고하여 갈다구 알레르기가 IgE에 의한다고 하였으며 또한 Yamashita 등²⁴⁾은 갈다구에 의한 천식환자에서 특이 IgE와 함께 IgG도 병인기전에 기여함을 시사하였다. 우리나라에서도 김 등¹¹⁾에 의하면 피부시험상 양성을 나타낸 환자의 68% 이상에서 특이 IgE가 검출됨을 보고하였고 특히 과거에 비아토피성으로 생각되었던 환자에서 갈다구의 종류에 따라 18.8%에서 34%까지 양성률을 나타낸다고 하였다. 하지만 IgG 아형의 측정치는 박등²⁵⁾에 의하면 대조군 에서도 높은 흡광도를 보여 환자군과 별 차이가 없다고 하였다.

저자들이 특이 항체 측정치는 무작위로 추출된 8명의 혈청을 이용한 결과 3명에서만 갈다구 특이 IgE가 측정되어 다른 보고들보다 양성률이 낮았고 특이 IgG 및 IgG 아형은 그 흡광도가 매우 낮아 특별한 의미가 없을 것으로 생각되었고 특이 IgE 항체의 유무와도 상관관계가 없었다. 다만 특이 IgG 항체의 아형중 IgG₂ 항체의 흡광도가 다른 아형의 흡광도보다 비교적 높았지만 이의 해석도 8명의 결과만으로는 결론을 내리기는 어렵고 향후 더 많은 환자를 대상으로 한 결과가 있어야 할 것으로 생각된다.

따라서 저자들의 이번 연구 결과를 종합해보면 우리나라 소아 아토피 환자들의 갈다구 항원에 대한 감작률은 7.8%로 일본 등지보다 낮고, 32,000, 27,000, 19,000 dalton의 항원이

항원성이 강한 것으로 생각되었으며 특이 IgE와 특이 IgG 및 IgG 아형 항체의 양성율도 낮아 갈다구 알레르기의 병인 기전에 대해서도 향후 더 많은 연구가 있어야 할 것으로 생각되었다.

결론

소아 아토피 환자에서 갈다구 알레르기에 대한 실태를 알아보기 위해 우리나라에 흔한 노란털갈다구의 조항원을 이용, 알레르기 피부시험을 실시하여 감작율 및 그 임상적 특성에 대해 살펴 보았다. 또한 면역효소법으로 피부시험을 실시하여 감작율 및 그 임상적 특성에 대해 살펴 보았다. 또한 면역효소법으로 피부 반응 양성자의 혈청에서 특이 IgE, IgG 및 IgG 아형 항체를 측정하였으며 SDS-PAGE와 Immunoblotting을 통해 갈다구의 조항원을 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 1) 알레르기 피부시험을 시행받은 456명 중 35명이 양성 반응을 보여 7.8%의 감작율을 나타내었으며 이들의 평균 연령은 8.1 ± 2.6 세 였다.
- 2) 갈다구에 단독으로 감작된 예는 없었고 전례가 집먼지 진드기에 동시에 감작되어 있었다.
- 3) 갈다구-특이 IgE 항체는 8명중 3명에서 검출되었고 갈다구-특이 IgG 및 IgG 아형 항체는 검출되지 않았다.
- 4) SDS-PAGE에 의한 항원 분리 결과 16개의 항원을 관찰할 수 있었다.
- 5) 환자 혈청내의 특이 IgE 항체와 조항원과는 15개의 항원이 결합하는 것을 볼 수 있었는데 이중 32,000, 27,000, 19,000 dalton의 항원이 가장 강하게 결합하였다.

- Abstract -

Immunological Responses to *Chironomus flaviplumus* in Atopic Children

Ki Young Lee, M.D., Hye Young Kang, M.D.,
Dong Soo Kim, M.D., Kyu Earn Kim, M.D.,
Byung Ju Jeong, M.D., and Han Il Ree,* M.D.

Department of Pediatrics,

*Department of Parasitology, College of Medicine,
Yonsei University, Seoul, Korea*

Hypersensitivity to chironomidas(non-biting midge) has been commonly found in many countries. To evaluate the role of chironomidae as an inhalant allergen in childhood atopic patients, we performed allergy skin test to crude extracts of *Chironomidae flaviplumus*(CF) in 456 patients. Positive skin reactions were noted in 35 out of 456(7.8%) atopic patients. All of the positive reactors also showed positive responses to other inhalant allergens, especially *Dermatophagoides farinae*.

Specific IgE to CF antigens by ELISA were detected in 3 out of 8 patients and specific IgG and IgG subclasses were noted in 8 patients with very low absorbance value.

SDS-PAGE analysis of CF extracts contains at least 16 antigenic components and 15 IgE-binding components were noted by immunoblotting analysis. Among these allergenic components, three components of 32,000, 27,000, 19,000 dalton are bound strongly with the sera of atopic patients tested.

In conclusion, there was a low sensitization

rates of CF antigen and low detection rate of CF-specific IgE and IgG. Further studies are needed to investigate its importance as an inhalant allergen in childhood patients and the pathogenic role of specific IgE and IgG antibodies to CF antigens.

Key words : *Chironomus flaviplumus*, Atopic Children

참 고 문 헌

- 1) 이기영 : 알레르기의 진료. p560-570, 한국 의학사, 1993
- 2) Freedom P : A species of Chironomid(Diptera) from Sudan suspected of causing asthma. Proc Royal Entomol Soci London (B). 19 : 59, 1950
- 3) Lewis DI : Chironomidae as a pest in the Northern Sudan. Acta Trop 13 : 142- 58, 1956
- 4) Kay AB, Gad EL, Rab MD, Stewart J : Wide spread IgE-mediated hypersensitivity in Northern Sudan to the Chironomid, *Cladoltanytarsus lewisi* ("green midge"). Clin Exp Immunol 34 : 106- 10, 1978
- 5) Baur X, DeWair M, Fruhmann G, Aschauer H, Peletschinger J, Braunitzer G : Hypersensitivity to chironomids (non-biting midges) : localization of the antigenic determinants within certain polypeptide sequences of hemoglobin (erythrocytins) of *Chironomus thummi thummi* (Diptera). J Allergy Clin Immunol 68 : 66-76, 1982

- 6) Eriksson N, Johnsson P, Ryden B : Cross-sensitization between Chironomids and Curstaces Allergy 44 : 305- 15, 1989
- 7) Kagen SL, Yunginger JW, Johnson R : Lake fly allergy. J Allergy Clin Immunol 73 : 187, 1984(abstract)
- 8) Ito K, Miyamoto T, Shibuya T, Kamei K, Mano K, Taniai T, Sasa M : Skin test and radioallergosorbent test with extract of larval and adult midges of Tokunagayusurika akamusi(Diptera : Chironomidae) in asthmatic patients of the Metropolitan area of Tokyo. Ann Allergy 57 : 199-204, 1986
- 9) Yamashita N, Morita Y, Ito K, Miyamoto T, Shibuya T, Kamei K, Sasa M : Chironomidae as a cause of IgE-mediated histamine release in patients with asthma. Ann Allergy 63 : 154- 58, 1989
- 10) Ree HI : Breeding places of non-biting midges(Chironomus, Diptera) in Korea. Korean J Entomol. 23 : 169- 76, 1993
- 11) 김용재, 박해심 : 호흡기 알레르기 환자들에서 두가지 깔다구에 대한 피부반응도 및 특이 IgE 항체 측정, 알레르기 2 : 412, 1992 (초록)
- 12) Lowry OH, Rosennbrough NJ, Farr AL, Randall RJ : Protein measurement with the phenol reagent. J Biol Chem 193 : 265 - 75, 1951
- 13) Laemmli UK : Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227 : 680- 85, 1970
- 14) Towbin H, Staehelin T, Gordon J : Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets : procedure and some applications. Proc Natn Acad Sci 76 : 4350- 54, 1979
- 15) Gad EL M. O. Rab, Kay AB : Widespread immunoglobulin E-mediated hypersensitivity in the Sudan to the "green nimitti" midge, *Cladotanytarsus lewisi*(diptera : chironomidae). J Allergy Clin Immunol 66 : 190- 7, 1980
- 16) Igarashi T, Murakami G, Adachi Y, Matsuno M, Saeki Y, Okada T, Kawai K, Kumagai A, Sasa M : Common occurrence in Toyama of bronchial asthma induced by chironomus midge. Japan J Exp Med 57 : 1-9, 1987
- 17) 조영수, 이명선, 박해심 : 두가지 깔다구에 감각된 기관지 천식 환자에서 천식유발 시험 결과 및 이에 대한 특이항체 측정. 알레르기 13 : 204- 14, 1993
- 18) Yamasita N, Ito K, Miyamoto T, Mano K, Shibuya T, Kamei K, Sasa M : Allergenicity of chironomidae in asthmatic patients. Ann Allergy 63 : 423- 25, 1989
- 19) Mazur G, Becker WM, Baur X : Epitope mapping of major insect allergens(chironomid hemoglobins) with monoclonal antibodies. J Allergy Clin Immunol 80 : 876, 1987
- 20) Matsuoka H, Ishi A, Kimura Y, Noono S : Developmental changes of chironomid allergen during metamorphosis. Allergy 45 : 115- 20, 1990
- 21) Pelicz H, Baur X, Dewair M, Ticky H, Kay AB, Tee RD, Cranston PS : Persistence of hemoglobin allergenicity and antigenicity during metamorphosis of chironomidae (Insecta : Diptera). Int Allergy Appl Immunol 79 : 72- 6, 1986
- 22) Tae RD, Cromwell O, Cranton PS, DeWair

- M, Prelicz H, Baur X, Kay AB : Evidence for haemoglobins as common allergic determination in IgE-mediated hypersensitivity to chironomids(non-biting midge). Clin Allergy 14 : 117- 27, 1985
- 23) Kawai K, Konoshi K : Fundamental studies of chironomid allergy III. Allergen analysis of some adult Japanese midges (Chironomidae, Diptera). Jpn J Allergy 37 : 922- 51, 1988
- 24) Yamashita N, Ito K, Nakagawa T, Haida M, Okudaira H, Naskada S, Miyamoto T, Shibuya T, Kamei K, Sasa M : IgE and IgG antibodies to chironomidae in asthmatic patients. Clin Exp Immunol 68 : 93- 9, 1987
- 25) 박해심, 박원, 유수웅 : Chironomus Plumosus(CP)에 감작된 환자들에게 CP-특이 IgG 아형의 측정, 알레르기 13 : 238- 45, 1993