

## 소아에서 연령군에 따른 집먼지진드기 주항원 (*Der f I*과 *Der f II*)에 대한 특이 IgE 항체의 변화

연세대학교 의과대학 내과학교실, 소아과학교실\*

남동호 · 박중원 · 홍천수 · 이기영†

아주대학교 의과대학 소아과학교실

이수영

### 서 론

집먼지진드기는 세계적으로 호흡기 알레르기 질환에서 가장 중요한 알레르겐으로 알려져 있으며<sup>1,2)</sup> 국내에서도 소아 및 성인 호흡기 알레르기 환자의 약 50-80%가 집먼지진드기에 대한 알레르기 피부반응 검사에 양성을 보이고, 이들 중 약 2/3가 특이 IgE 항체 반응을 가지고 있다<sup>3,4)</sup>. 집먼지진드기에 대한 IgE immunoblot 분석들은 140KD에서 6KD까지 최소한 32개의 IgE 반응 단백들이 존재함을 보고하였으며 이들 중 30% 이상의 혈청에서 반응을 보이는 단백이 11개 존재한다고 하였다<sup>5-7)</sup>.

*Dermatophagoides farinae*(*D. farinae*)의 경우 이 중 알레르기 환자 혈청의 반응 빈도가 높은 주 알레르겐으로는 약 25KD의 Group I

알레르겐(*Der f I*) 및 약 15KD의 Group II 알레르겐(*Der f II*), 약 30KD의 Group III(*Der f III*)알레르겐이 알려져 있다<sup>8)</sup>. 그러나 현재까지의 연구들은 주로 성인 알레르기 환자를 대상으로한 조사 결과들로서 특히 연령 변화에 따른 집먼지 진드기 주 알레르겐에 대한 IgE 면역반응의 변화는 잘 알려져 있지 않다. 이에 저자 등은 연령에 따른 집먼지 진드기(*D. farinae*) 전충체 항원 및 두가지 주 알레르겐(*Der f I* 및 *Der f II*)에 대한 특이 IgE 항체 반응의 변화를 알아 보고자 본 연구를 시행하였다.

### 대상 및 방법

#### 1. 대상 혈청

연구에 사용한 환자의 혈청은 알레르기 질

\* 통신연락처 : 연세의대 알레르기내과 홍천수

환아 의심되어 연세대학교 의과대학 세브란스 병원 특수진료소 알레르기 크리닉에 내원한 16 세 미만의 소아 173명의 혈청을 분리하여 영하 20°C에 냉동 보관하였다가 실험에 사용하였다.

## 2. 항원

*D. farinae* 전충체 항원(WBE)은 본교실에서 순수 배양한 집먼지진드기 배지에서 진드기 충체만 순수하게 채집하여 냉동 건조한 후 ethylether로 탈지후에 phosphate buffered saline(PBS)으로 추출 하였다. 추출액을 다시 충분한 양의 중류수로 투석하여 냉동건조시켜 조항원으로 만들어 사용하였다. 순수 분리한 주항원인 *Der f I* 및 *Der f II*는 동경대학교 물리내과의 Okudaira교수가 기증한 시료를 이용하였다.

## 3. ELISA에 의한 집먼지 진드기 항원 특이 IgE 항체 측정

96well flat bottomed polystyrene ELISA plate(Costar, USA)에 집먼지 진드기 항원을 0.05M carbonate buffer(pH 9.6)로 회석한 집먼지 진드기 항원을 WBE 2 $\mu$ g/well, *Der f I*과 *Der f II*는 10ng/well의 농도로 well당 50 $\mu$ l씩 넣은 후 4°C에서 18시간 동안 보관하여 반응시켰다. 0.05% Tween20이 포함된 인산염 완충식염수(PBST)로 3회 세척후 단백질의 비특이적 결합을 방지하기위하여 1% bovine serum albumin이 포함된 PBST(1%BSA-PBST)를 well당 350 $\mu$ l씩 넣어 1시간 실온에서 반응 시켰다. 혈청을 well당 50 $\mu$ l씩 넣고 실온에서 1시간 반응시키고 PBST로 3회 세척한 다음 biotin이 부착된 항 IgE 항체(1mg/ml, Vector Laboratories Inc, Burlingame, CA)를 0.01% BSA-PBST에 1:500(v/v)으로 회석하여 well

당 50 $\mu$ l씩 넣고 실온에서 1시간 반응시켰다. PBST로 3회 세척후 PBST에 1:500(v/v)으로 회석한 streptavidin-peroxidase(1mg/ml, Sigma Chemical Co, Saint Louis, MO, USA)를 well 당 50 $\mu$ l씩 넣고 실온에서 30분간 반응시킨 후 PBST로 5회 세척하고, ABTS[2,2-azio-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)](Sigma Chemical Co, Saint Louis, MO, USA) 55 mg 를 70 mM citrate phosphate buffer(pH 4.2) 100ml에 녹이고, 이 용액 1 $\mu$ l당 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1 $\mu$ l씩 혼합한 발색용액을 각 well당 100 $\mu$ l씩 넣어 5분간 발색시킨 후 2mM sodium azide 100 $\mu$ l 으로 반응을 중단시켰다. 이것을 microplate reader(Dynatec lab, Alexandria, Virginia, USA)로 410 nm에서 흡광도를 측정하였다.

## 결 과

### 1. 연령군에 따른 WBE에 대한 특이 IgE 항체가의 변화

대상군을 연령에 따라 0-2세, 2-4세, 4-6세, 6-8세, 8-10세 그리고 10-16세로 나누어 보았을 때 연령군이 증가함에 따라 WBE에 대한 특이 IgE 항체가(O.D. at 410nm, mean $\pm$ S.D.) 가 서서히 증가하는 경향을 보였으며 4세 이전 군(0.062 $\pm$ 0.129)에 비해 4세 이후군(0.500 $\pm$ 0.361)에서 유의하게 증가하였다(t-test, p<0.05). 그러나 4세 이후의 연령군들에서는 각 군간에 특이 항체가의 유의한 차이가 없었다(Fig.1, Table 1).

### 2. 연령군에 따른 *Der f I*에 대한 특이 IgE 항체가의 변화

*Der f I*에 대한 특이 IgE 항체가 역시 연령군이 증가함에 따라 서서히 증가하는 경향을 보였으며 4세 이전군( $0.027 \pm 0.030$ )에 비해 4세 후군( $0.082 \pm 0.076$ )에서 유의하게 증가하였다 (*t*-test,  $p < 0.05$ ). 또한 4-8세군( $0.063 \pm 0.047$ )에 대한 특이 IgE 항체가에 비해 8-16세군( $0.096 \pm 0.089$ )에서 특이 항체가가 유의하게 증가하였다(*t*-test,  $p < 0.05$ ; Fig.2, Table 1).

Table 1. Specific IgE Antibodies(sIgE) to *D. farinae* Whole Body Extract (WBE), *Der f I* and *Der f II* in Each Age Groups.

Age (years)	Number	sIgE		
		WBE	<i>Der f I</i>	<i>Der f II</i>
0-2	22	$0.030 \pm 0.039^{**}$	$0.020 \pm 0.004$	$0.021 \pm 0.050$
2-4	16	$0.106 \pm 0.189$	$0.035 \pm 0.045$	$0.086 \pm 0.178$
4-6	28	$0.457 \pm 0.364$	$0.059 \pm 0.035$	$0.314 \pm 0.266$
6-8	29	$0.541 \pm 0.358$	$0.067 \pm 0.056$	$0.365 \pm 0.253$
8-10	36	$0.437 \pm 0.325$	$0.093 \pm 0.085$	$0.309 \pm 0.259$
10-16	42	$0.556 \pm 0.389$	$0.098 \pm 0.093$	$0.347 \pm 0.289$

\* specific IgE(sIgE) antibody was expressed as a Optical Density at 410nm.

\*\* mean  $\pm$  standard deviation

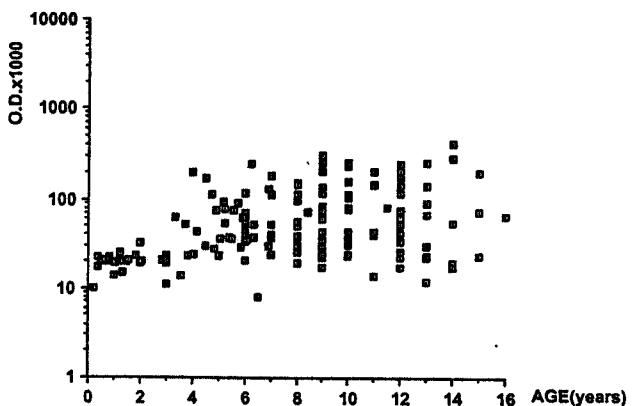


Fig. 2. Specific IgE antibody to *Der f I* in children.

### 3. 연령군에 따른 *Der f II*에 대한 특이 IgE 항체가의 변화

*Der f II*에 대한 특이 IgE 항체가 역시 연령군이 증가함에 따라 서서히 증가하는 경향을 보였으며 4세 이전군( $0.048 \pm 0.124$ )에 비해 4세 이후군( $0.334 \pm 0.267$ )에서 유의하게 증가하였다 (*t*-test,  $p < 0.05$ ). 그러나 4세 이후의 연령군들에서는 각 군간에 특이 항체가의 유의한 차이가 없었다(Fig.3, Table 1).

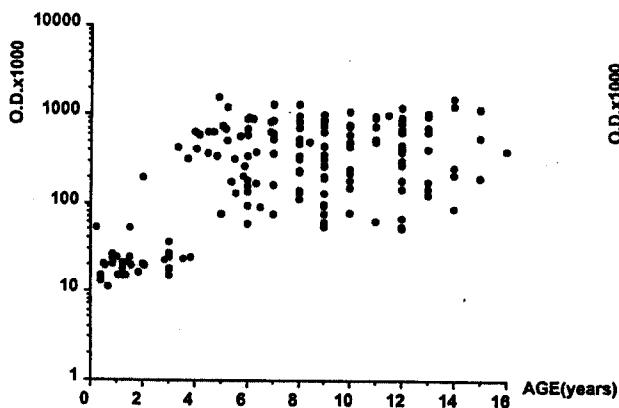


Fig. 1. Specific IgE antibody to *D. farinae* whole body extract in children.

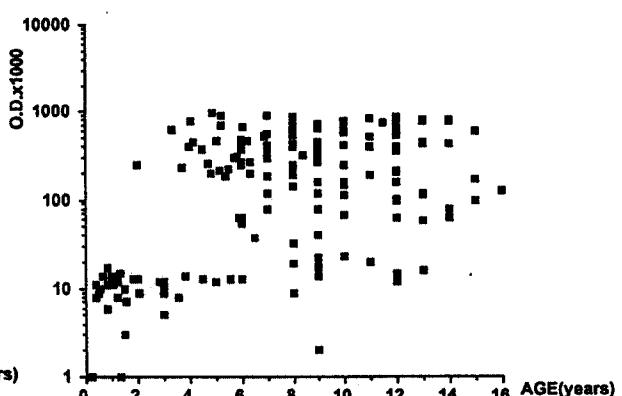


Fig. 3. Specific IgE antibody to *Der f II* in children.

#### 4. 연령군에 따른 *Der f I* 및 *Der f II*에 대한 특이 IgE 항체가의 비교

4세 이전군에도 *Der f II*에 대한 IgE 항체가 ( $0.048 \pm 0.124$ )가 *Der f I*에 대한 IgE 항체가 ( $0.027 \pm 0.030$ )에 비해 높은 경향을 보였으나 통계적으로 유의한 차이는 보이지 않았다. 그러나 4세 이후의 모든 연령군들에서는 *Der f II*에 대한 IgE 항체가 ( $0.334 \pm 0.267$ )가 *Der f I*에 대한 IgE 항체가 ( $0.082 \pm 0.076$ )에 비해 유의하게 높았다(paired t-test,  $p < 0.05$ ; Fig.4).

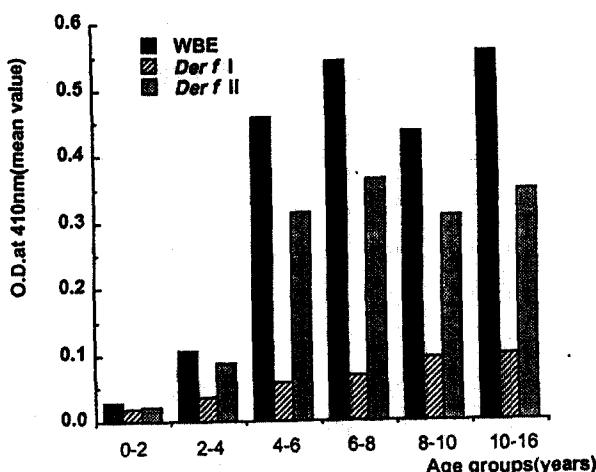


Fig. 4. Specific IgE antibodies to WBE, *Der f I* and *Der f II* in child age groups.

#### 고 찰

집먼지진드기에 대한 IgE immunoblot 분석들은 140KD에서 6KD까지 최소한 32개의 IgE 반응 단백들이 존재하며 이들 중 30% 이상의 혈청에서 반응을 보이는 단백이 11개 존재한다고 보고되었다<sup>5-7</sup>. *D. farinae*의 경우 이중 알레르기 환자 혈청의 반응 빈도가 높은 주 알레르

겐으로는 집먼지진드기의 분변으로 알려진 약 25KD의 Group I 알레르겐(*Der f I*) 및 충체 항원인 약 15KD의 Group II 알레르겐(*Der f II*), 단백분해 효소인 약 30KD의 Group III(*Der f III*) 알레르겐이 알려져 있다<sup>8</sup>.

IgE 항체는 태반을 통과할 수가 없기 때문에 제대혈 중에는 거의 존재하지 않거나 극히 미량만이 존재하며 출생 후 그 치가 점차로 증가하여 6-15세에 거의 성인치에 도달한다고 알려져 있다<sup>9</sup>. 또한 집먼지진드기에 대한 항체는 2세 이후에야 형성되기 시작한다고 알려져 있다<sup>10</sup>. 집먼지진드기 항원이 소아에서 초기에 감작이 일어나고 유아때의 집먼지진드기 항원에 대한 노출이 많을수록 소아시 천식이 발병할 가능성이 높다고 알려져 있다<sup>11</sup>. 따라서 유아기에 감작을 일으키는 집먼지진드기 항원이 무엇인지 알아내는 것이 알레르기 질환의 병태생리를 이해하는데 도움이 된다고 생각된다. 성인의 경우 약 60% 이상의 환자에서 Group I과 Group II 집먼지진드기 항원에 대해서 특이 IgE 항체 반응을 보인다고 알려져 있다<sup>12</sup>. 일부에서는 소아에서 초기에 감작되는 집먼지진드기 항원이 Group I이나 Group II 항원이 아닌 다른 항원일 것이라는 보고도 있으나<sup>13</sup> 소아에서 집먼지진드기 주 알레르겐에 대한 IgE 항체 반응이나 초기에 감작되는 항원이 무엇인지에 대해서는 잘 알려져있지 않다. 본 연구에서 소아 연령군에서 집먼지진드기 주 알레르겐에 대한 특이 IgE 항체를 ELISA를 이용 반정량적으로 측정한 결과 소아에서 집먼지진드기 전충체 항원 및 *Der f I* 및 *Der f II* 항원에 대한 IgE 항체 반응은 2세 이후군에서야 주로 나타나기 시작하며 4세를 전후로 해서 현저한 증가를 보이며 전충체 항원 및 *Der f II*에 대한

IgE 항체 반응은 4세 이후군에서는 plateau를 형성하는데 비해서 *Der f I*에 대한 IgE 항체 반응은 8세 이후군에서야 plateau를 형성하였으며 또한 동일인에서 *Der f I*에 비해 *Der f II*에 대한 IgE 항체가가 유의하게 높았다. 이러한 결과는 소아에서 조기에 나타나는 집먼지진드기에 대한 IgE 항체 반응에서 *Der f I* 및 *Der f II*에 대한 면역반응이 중요하며 *Der f II*에 대한 반응이 *Der f I*에 대한 반응에 비해 먼저 나타나고 강한 반응일 가능성을 보여 준다고 생각된다. 최근 Shibasaki 등<sup>14)</sup>이 소아에서 연령군에 따른 집먼지진드기에 대한 IgE 항체 반응을 Immunoblot을 이용 정성적으로 측정한 결과 3세에서 4세 사이의 집먼지진드기에 특이 IgE 항체 양성인 천식 환아들에서 *Der f II*에 대해 약 88%, *Der f I*에 대해 약 40%가 반응을 보이며 *Der f II*에 대한 반응이 *Der f I*에 비해 더 진한 반응띠를 나타낸다고 보고하여 본 실험결과와 일치하였다. 또한 연구자 등이 아토피성 무증상 정상인(집먼지진드기에 피부반응은 양성이나 알레르기 질환은 없는)의 혈청으로 집먼지진드기에 대해 IgE Immunoblot을 시행한 결과 IgE 반응이 주로 *Der f II* 부위에만 국한되어 나타난다고 보고한 바 있다<sup>15)</sup>. *Der f II* 항원이 다른 집먼지진드기 항원에 비해 강한 IgE 반응을 유도하는 이유는 잘 알려져있지 않지만 아마도 분자량이 15KD으로 작은 분자량을 지니므로 고분자 항원들에 비해 더 잘 기도벽을 통과할 가능성과 더 많은 T 임파구에 대한 immunogenic한 반응부위를 가질 가능성 등이 제시되고 있다<sup>14)</sup>. 대부분의 알레르겐에서 IgE 항체를 만들기 위해서는 T 임파구의 성숙에 따른 활성화가 필요하다고 알려져있다<sup>16)</sup>. 따라서 연령에 따른 집먼지진드기

항원에 대한 IgE 항체 반응의 다양화는 집먼지진드기 항원과의 접촉의 빈도가 늘어나면서 집먼지진드기의 다른 항원에 대한 T 임파구반응의 성숙과 더불어서 이에 대한 IgE 반응들이 생겨날 가능성을 시사한다 하겠다.

## 결 론

연령에 따른 집먼지진드기(*D. farinae*)항원에 대한 IgE 항체의 변화를 알아보고자 알레르기 질환이 의심되어 내원한 16세 미만의 소아 173명의 혈청 대상으로 집먼지 진드기 전총체 항원(WBE) 및 두가지 주 알레르겐(*Der f I* 및 *Der f II*)에 대한 특이 IgE를 ELISA 방법으로 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. WBE에 대한 특이 IgE 항체가(O.D. at 410 nm, mean±S.D.)는 대상군을 연령에 따라 0-2세, 2-4세, 4-6세, 6-8세, 8-10세 그리고 10-16세로 나누어 보았을 때 연령군이 증가함에 따라 서서히 증가하는 경향을 보였으며 4세 이전군( $0.062 \pm 0.129$ )에 비해 4세 이후군( $0.500 \pm 0.361$ )에서 유의하게 증가하였다(t-test,  $p<0.05$ ). 그러나 4세 이후의 연령군들에서는 각 군간에 특이 항체가의 유의한 차이가 없었다.

2. *Der f I*에 대한 특이 IgE 항체가 역시 연령군이 증가함에 따라 서서히 증가하는 경향을 보였으며 4세 이전군( $0.027 \pm 0.030$ )에 비해 4세 후군( $0.082 \pm 0.076$ )에서 유의하게 증가하였다(t-test,  $p<0.05$ ). 또한 4-8세군( $0.063 \pm 0.047$ )에 대한 특이 IgE 항체가에 비해 8-16세군( $0.096 \pm 0.089$ )에서 특이 항체가가 유의하게 증가하였

다(t-test, p<0.05).

3. *Der f II*에 대한 특이 IgE 항체가 역시 연령군이 증가함에 따라 서서히 증가하는 경향을 보였으며 4세 이전군( $0.048 \pm 0.124$ )에 비해 4세 이후군( $0.334 \pm 0.267$ )에서 유의하게 증가하였다 (t-test, p<0.05). 그러나 4세 이후의 연령군들에서는 각 군간에 특이 항체가의 유의한 차이가 없었다.

4. 4세 이전군에도 *Der f II*에 대한 IgE 항체가( $0.048 \pm 0.124$ )가 *Der f I*에 대한 IgE 항체가( $0.027 \pm 0.030$ )에 비해 높은 경향을 보였으나 통계적으로 유의한 차이는 보이지 않았다. 그러나 4세 이후의 모든 연령군들에서는 *Der f II*에 대한 IgE 항체가( $0.334 \pm 0.267$ )가 *Der f I*에 대한 IgE 항체가( $0.082 \pm 0.076$ )에 비해 유의하게 높았다(paired t-test, p<0.05).

이상으로 본 연구의 결과는 소아에서 집먼지 진드기에 대한 IgE 항체 반응은 주로 4세 이후에 뚜렷한 증가를 보이며, group II 주 알레르겐이 group I 주 알레르겐에 비해 집먼지 진드기 항원에 대한 초기 IgE 항체 반응의 발달에 중요한 역할을 할 것을 시사한다고 생각한다.

## 참고 문헌

- problem. *J Allergy Clin Immunol* 83: 416-27, 1989
- 3) 강석영, 최병희, 문희범, 민경업, 김유영 : 한국인 호흡기 알레르기 환자에 있어서의 피부 시험 성적에 관한 연구. *알레르기* 4: 49-56, 1984
  - 4) 윤여운, 이미경, 박해심, 박성삼, 홍천수 : 알레르기 환자에서 시행한 피부단자 시험과 혈청 IgE 검사성적. *알레르기* 9: 385-398, 1989
  - 5) Baldo BA, Ford SA, Tovey ER : Toward a definition of the complete spectrum and rank order of importance of the allergens from the house dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Advances in the Biosciences* 74: 13-31, 1989
  - 6) Baldo BA, Donovan GR : House dust mite(*Dermatophagoides spp.*) allergens: research directions and priorities in the 1990s. *Monogr Allergy* 28: 138-158, 1990
  - 7) Tovey ER, Baldo BA : Comparison by electroblotting of IgE-binding components in extracts of house dust mite bodies and spent mite culture. *J Allergy Clin Immunol* 79: 93-102, 1987
  - 8) Dust Mite Allergens and Asthma : Report of A Second International Workshop. *J Allergy Clin Immunol* 80: 1046-1060, 1992
  - 9) Cline MG, Burrows B. Distribution of allergy in a population sample residing in Tucson, Arizona. *Thorax* 44: 425-431, 1989
  - 10) Rowntree S, Cogswell JJ, Platts-Mills TAE, Mitchell EB : Development of IgE

- and IgG antibodies to foods and inhalant allergens in children at risk of allergic disease. *Arch Dis Child* 60: 727-735, 1985
- 11) Sporik R, Holgate S, Patts-Mills TAE : Exposure to house dust mite allergen (*Der p I*) and the development of asthma in childhood. *N Engl J Med* 323: 502-507, 1990
- 12) 박중원, 남동호, 홍천수 : 성인 호흡기 알레르기 환자에서 집먼지진드기(*D. farinae*)의 주 알레르겐 두 종(*Der f I*과 *Der f II*)에 대한 특이 IgE의 측정. 알레르기 13: 476-486, 1993
- 13) Calkhoven PG, Aalbers M, Schilte PPM, Yntema BJJ, Griffioen RW, van Nierop JC, Oranje AP, Aalberse RC : Newly generated IgE antibodies to *Dermatophagoides pteronyssinus* in children are directed against components distinct from *Der p I* and *Der p II*. *J Allergy Clin Immunol* 88: 265-271, 1991
- 14) Shibasaki M, Isoyama S, Takita H : Influence of age on IgE responsiveness to *Dermatophagoides farinae* : An Immunoblot study. *Int Arch Allergy Immunol* 103: 53-58, 1994
- 15) 남동호, 박중원, 홍천수 : 특이 IgE 항체 양성자와 음성자간 집먼지진드기(*D. farinae*) 항원에 대한 IgG 항체 반응의 비교 : Immunoblot analysis. 알레르기 14: 647-657, 1994
- 16) Ishizaka K : Cellular events in the IgE antibody response. *Adv Immunol* 23: 1-70, 1976

- 남동호들 : 소아에서 연령군에 따른 집먼지진드기 주항원(*Der f I*과 *Der f II*)에 대한 특이 IgE 항체의 변화 -

- Abstract -

## Specific IgE Antibodies to *D. farinae* Whole Body Extract, *Der f I* and *Der f II* in Child Age Groups

Dong-Ho Nahm, M.D., Jung-Won Park, M.D., Chein-Soo Hong, M.D.

Department of Internal Medicine, College of Medicine, Yonsei University, Seoul, Korea

Soo-Young Lee, M.D.

Department of Pediatrics, Ajou University School of Medicine, Suwon, Korea

Ki Young Lee, M.D.

Department of Pediatrics, College of Medicine, Yonsei University, Seoul, Korea

To evaluate the early IgE antibody response to house dust mite in child, we measured the specific IgE antibodies to whole body extract(WBE), of *D. farinae*, and two major allergens, *Der f I* and *Der f II* by ELISA(enzyme-linked immunosorbentassay) in sera from 173 children less than 16 years old who visited Allergy Clinic in Severance Hospital with the chief complains of respiratory and/or dermatologic allergic disease.

1. The levels of WBE specific IgE antibody were steadily increased accoding to the increase of age groups, and there was the significant difference between less than four years of age groups.( $0.062 \pm 0.129$  vs  $0.500 \pm 0.361$ ; t-test,  $p < 0.05$ ).
2. The levels of *Der f I* and *Der f II* specific IgE antibodies were also steadily increased by age, and there were noted significant differences between before and after years of age groups(in *Der f I* :  $0.027 \pm 0.030$  vs  $0.082 \pm 0.076$ , in *Der f II* ;  $0.334 \pm 0.267$  vs respectively, t-test,  $p < 0.05$ ).
3. In all age groups over 4 year, the responses of specific IgE antibody to *Der f II* were significantly higher than the responses to *Der f I*.

In conclusion, these results suggest that IgE antibody response to house dust mite significantly rise after 4 year of age and *Der f II* may be more important than *Der f I* in the development of early IgE response to house dust mite antigen in Korean children.

---

Key Words : Child age groups, *D. farinae*, Eraly IgE response