

알레르기 질환 환자에서 고양이털 항원에 대한 감작율 및 고양이털의 항원성에 관한 연구

연세대학교 의과대학 내과학교실

라선영 · 남동호 · 김범수 · 안중배 · 원옥희
송현용 · 조홍근 · 전동운 · 흥천수

서 론

동물의 털이나 상피가 여러 알레르기 질환에서 원인 항원으로 관여하는 것이 알려져 있으며 최근 애완동물로나 실험실에서 개, 고양이 및 쥐 등과의 접촉이 많아져 그 중요성이 강조되고¹⁾ 그 중 고양이가 항원성이 가장 강한 것으로 보고되며 이들에 대한 연구도 비교적 많이 되고 있다.

고양이 항원은 털과 상피, 소변, 침에 널리 포함되어 있으며 주요 항원으로 사료되는 cat allergen I (Fel d 1)은 고양이의 침샘에 존재한다고 하나 몸치장시 침을 통해서 전신으로 이동할 수 있어 고양이 털과 상피에 다양 존재한다. 고양이털에 대한 알레르기는 가까이 접촉할 경우 뿐 아니라 고양이털 항원이 공중에 부유하여 과민성 환자에서 증상을 일으킬 수 있다²⁾. 그러므로 회피요법이 가장 좋은 치료방법이며 효과가 없을 때는 면역 치료가 도움이 되기도 한다^{3~6)}.

최근 우리나라 알레르기 환자들에서 피부단자시험상 고양이털 항원에 대해 19~31%의 높은 양성율이 관찰되었고⁷⁾, 외국에서의 고양이털 항원에 대한 피부단자시험상 양성율은 9~26%이며 이중 42.6~77.9%에서 유발시험 양성으로 보고되고 있다^{8,9)}.

이와 같이 알레르기 환자에서 고양이털 항원에 대한 중요성이 높을 것으로 추측되나, 저자들이 이제까지 피부단자시험에 사용한 Bencard사의 고양이털 항원은 집먼지진드기 항원등에 오염되어 있음이 밝혀져¹⁰⁾ 실제 한국인 알레르기 환자에서의 고양이털 항원에 대한 감작률은 정확히 평가되어 있다고 할 수 없고, 또

한 우리나라 환자들이 접할 수 있는 고양이털의 항원성에 대한 연구도 되어 있지 않다.

이에 연구자는 우리나라 호흡기 알레르기 환자에서 고양이털에 대한 감작률을 조사하고자 고양이털 항원에 대한 피부반응 양성률과 IgE 항체치를 관찰하였으며 또한 항원 성분을 규명하고자 하였다.

연구자는 비교적 순수하다고 알려진¹⁰⁾ 일본 Torii사의 고양이털 항원을 이용하여 피부단자시험을 시행한 387예를 분석하고 특이 IgE를 측정하였다. 또한 고양이털이 원인 항원으로 작용하는 정도와 항원성을 연구하기 위해 1993년 1월부터 세브란스 병원 알레르기 특수 크리닉을 내원한 89명의 환자를 대상으로, 연구자가 제조한 고양이털 항원(이하, 자가 고양이털 항원이라 명기함)을 이용하여 피부단자시험과 특이 IgE를 측정하였고, 고양이털 항원에 대한 특이 IgE가 검출된 혈청 16개와 양성 대조혈청 pool 1개, 음성 대조혈청 3개에서 SDS-PAGE후 Western blotting으로 IgE Immunoblot의 반응 양상을 관찰하였다.

대상 및 방법

1. 대상

1) 고양이털 항원에 대한 특이 IgE 측정에 이용한 혈청

기관지 천식, 알레르기성 비염 및 알레르기성 피부질환을 주소로 1991년 3월 1일부터 1992년 2월 28일까지와, 1993년 1월 1일부터 1993년 7월 31일까지 연세의대 세브란스병원 내과 알레르기 특수 크리닉을 내원한 환자 476명의 혈청을 섭씨 영하 20도의 냉동실에서 보관 후 사용하였다.

2. 방법

1) 고양이털 조항원 제조

한국산 고양이 5마리의 털을 잘라 ethylether로 털지방화 시킨후 phosphate buffered saline(PBS, pH 7.5) 용액으로 1:50w/v되게 하고 섭씨 4도에서 72시간 추출하였다. 이를 섭씨 4도에서 원심분리(10,000g에서 1시간)하여 그 상층액을 48시간 동안 중류수로 투석시킨 다음 동결 건조시켜 얻은 분말을 이용하였다. 상기방법에 의하여 얻어 낸 건조 조항원 1mg을 1ml의 중류수에 녹인 용액내에는 Lowry법¹⁾으로 측정한 단백질 양이 366ug/ml이었다. 상기 방법으로 제조한 고양이털 조항원을 50% glycerine-0.4% phenol-0.9% NaCl 용액에 1mg/ml 되게 녹여서 피부단자시험에 이용하였다.

2) 알레르기 피부단자시험

영국 Bencard사의 항원 추출액, 일본 Torii사의 고양이털 항원과 본원에서 제조한 자가 고양이털 항원을 이용하여 피부단자시험을 시행하였다. 양성 대조액으로 히스타민 1mg/ml, 음성 대조액으로 생리식염수를 사용하였고 15분 후에 각각에 대한 팽진 및 발적의 크기를 관찰하였으며 평균 팽진크기를 히스타민(1mg/ml) 용액에 대한 팽진크기에 대한 비율로 나타내었다(A/H ratio : wheal size of allergen/wheal size of histamin). 결과는 A/H<1은 약양성으로, A/H≥1은 강양성으로 판독하였다.

3) 고양이털 특이 IgE 측정

(1) RAST(Radio allergo sorbent test)

3M FAST-plus test로 회사에서 소개하는 방법에 준해서 측정하였다.

(2) ELISA(Enzyme linked immunosorbent assay)

Micro ELISA-titer plate well당 자가 고양이털 조항원 2ug을 0.1M carbonate buffer(pH 9.6) 50ul와 같이 넣어 저온실(섭씨 4도)에서 18시간동안 반응시켰다. 1% BSA-PBS-T 350ul씩을 plate well에 넣은 후 상온에서 1시간 동안 반응시켜 단백질 결합력을 차단시켰다. 검사하고자 하는 혈청을 50ul씩 넣고 실온에서 1시간 동안 반응시킨 후 PBS-T 용액으로 3회 세척하였다. Biotin anti-IgE(1:500회석액) 50ul를 넣고 실온에서 1시간 동안 반응시킨 후 PBS-T 용액으로 3회 세척하였다. 각 well당 avidin peroxidase(1:500회석액)를 50ul씩 넣고 실온에서 30분동안 반응시킨 후 PBS-T용액으로 5회 세척하였다. 발색용액 [ABTS(2,2-azino-di(3 ethylbenzthiazoline sulfonic acid) 56mg을 citrate buffer, pH 4.2, 100ml에 녹이고 H₂O₂ 100ul를 혼합한 용액]을 각 well당 100ul씩 넣고 5분 후에 2mM NaN₃ 용액 100ul를 넣어 반응을 중단시켰다. 이후 ELISA autoreader 410nm에서 O.D.을 측정하였다.

액으로 3회 세척하였다. 각 well당 avidin peroxidase(1:500회석액)를 50ul씩 넣고 실온에서 30분동안 반응시킨 후 PBS-T용액으로 5회 세척하였다. 발색용액 [ABTS(2,2-azino-di(3 ethylbenzthiazoline sulfonic acid) 56mg을 citrate buffer, pH 4.2, 100ml에 녹이고 H₂O₂ 100ul를 혼합한 용액]을 각 well당 100ul씩 넣고 5분 후에 2mM NaN₃ 용액 100ul를 넣어 반응을 중단시켰다. 이후 ELISA autoreader 410nm에서 O.D.을 측정하였다.

(3) ELISA 억제시험

ELISA의 특이성을 조사하기 위하여 억제시험을 시행하였다. Cat ELISA에 강양성 반응을 보인 혈청 3개를 동량씩 혼합하여 혈청 pool을 만들어 억제시험에 이용하였고 ELISA의 양성 대조혈청으로 이용하였다. 양성 대조혈청 50u/l당 고양이털, 사슴털, 짚먼지진드기(D.fariniae) 항원을 각각 20ug씩 넣어서 실온에서 1시간 동안 반응시킨 후 ELISA를 시행하였고 항원 용해액(carbonate buffer)만 넣은 대조혈청과 억제정도를 비교하였다. 고양이털 항원을 양성 대조혈청 50ul당 0.05ug, 0.05ug, 0.2ug, 0.5ug, 2ug, 10ug을 넣은 후 실온에서 1시간 동안 반응시킨 후 이 억제 혈청으로 ELISA를 시행하였다.

4) Sodium Dodecyl Sulfate-polyacrylamide Gel Electrophoresis(SDS-PAGE)

Laemmli법¹¹⁾(Hoefer Scientific Co.,C.A., USA)을 이용하였다. Well에 고양이털 조항원 200ul(10mg/ml)과 70ul의 sample buffer(10% SDS 2ml, 2-mercaptoethanol 0.5ml, glycine 1.5ml, 0.25M Tris-chloride 2.0ml, 0.16% bromophenol blue 1.5ml, 중류수 0.5ml)을 혼합하여 2분간 100°C에서 중탕한 후 투여하였고, 12% running gel(30% acrylamide-0.8% N.N methyl bis-acrylamide 16ml, 1.5M Tris-chloride buffer 10ml, 10% SDS 400ul, 20% ammonium-persulfate 40ul, tetramethyl-ethylene-diamine : TEMED 80ul, 중류수 13ml)과 4% stacking gel(30% acrylamide-0.8% N.N methyl bis-acrylamide 2ml, 10% SDS 200ul, 0.5M Tris-chloride buffer 5ml, 20% ammonium persulfate 20ul, 중류수 12ml, TEMED 60ul)을 사용하였으며 stacking gel은 40V에서 45분간 전기영동을 시행하였고 running gel은 80V에서 3시간 동안 전기영동을

시행하였다. SDS-PAGE가 끝난 gel은 0.01% Coomassie Brilliant Blue R-250용액으로 염색한 후 10% acetic acid와 30% 메타놀이 포함된 용액으로 48시간 동안 탈색시킨 후 관찰하였다.

5) Immunoblotting

전기영동한 젤을 Towbin등의 방법에 따라 nitrocellulose paper(Millipore HAHY 304 FO millipore Co. : 0.45um)로 전이시켰다. 먼저 젤과 nitrocellulose paper를 수포가 생기지 않도록 밀착시켜서 paper가 양극으로 향하도록 electrophoretic transfer apparatus(Hoefer Scientific Instruments, San Francisco, C.A., USA)에 넣고 2mV로 18시간 동안 blotting시켰으며 이때 transfer apparatus내에 20% 메타놀, 25mM Tris-Glycine 완충액(pH 8.3) 5L를 넣었다. 전이된 nitrocellulose paper를 말린 후 폭 3mm 크기로 잘라서 well에 담고 1% BSA-PBS-T에 2시간 담구어 단백질이 결합하지 않은 부분의 단백질 흡착력

을 차단시킨 후 공기 중에 말려 4°C에서 보관한 후 사용하였다. 환자 혈청을 넣은 후 18시간 반응시키고 PBS-T로 세척하였다. Biotin labeled anti-IgE(1 : 1000w/v)용액을 넣어 3시간 동안 반응시킨 후 PBS-T용액으로 3회 세척하였다. Avidin conjugated peroxidase(1 : 1000w/v 회색액)를 넣은 후 1시간 동안 반응시키고 PBS-T용액으로 5회 세척하였다. TBS(50M Tris/HCl in 200mM NaCl, pH 7.4)로 한번 더 씻은 후 발색용액(TBS : Chloronaphthol : H₂O₂ = 5ml : 0.3ml : 2ul)으로 15분간 발색시킨 후 중류수로 씻어서 말렸다.

결 과

1. Bencard사 및 Torii사의 고양이털 항원을 이용한 알레르기 피부단자 시험

가. 기관지 천식환자군에서 각종 항원에 대한 피부

Table 1. Positive Rates of Skin Test to Various Groups of Allergen according to Allergic Diseases

Diseases No. of cases	BA*	AR**	BA + AR	SKIN***
Tree pollen	13.6	16.1	19.6	14.1
Alder	8.2	8.2	13.0	9.4
Oak	11.4	16.1	17.4	10.9
Grass Pollen	21.0	25.0	21.1	19.4
Bermuda	7.6	9.7	13.0	10.9
Rye grass	6.5	8.1	17.4	12.5
Timothy	7.6	12.9	26.1	12.5
Weed Pollen	22.8	25.8	37.0	29.7
Ragweed	15.2	12.9	23.9	18.8
Wormwood	19.2	24.2	32.6	28.1
Mold	14.1	16.1	23.9	10.9
Aspergillus	8.7	11.3	15.2	7.8
Alternaria	19.2	24.2	32.6	28.1
House dust mite	71.2	69.4	80.4	67.2
D. pteronyssinus	57.6	64.5	71.7	64.1
D. farinae	68.5	61.3	80.4	64.1
Household insect	43.5	54.8	69.5	46.9
Cockroach	13.0	17.7	28.3	15.6
Cat fur(Torii)	20.2	20.0	28.3	24.3
Negative	20.7	19.4	10.9	17.2

positive : ≥ 1+ on skin prick test

*BA : Bronchial asthma

**AR : Allergic rhinitis

***Skin : Allergic skin diseases including chronic urticaria

Table 2. Results of Skin Prick Test to Cat Fur in Allergic Patients

	Skin Prick Test		
	Negative	A/H<1	A/H≥1
Case(%)	310(80.1)	47(12.1)	30(7.8)
Age*			
mean(range)	38.8(12-76)	31.6(13-66)	25.4(18-43)
Sex			
M/F	45.8/54.2	55.3/44.7	56.7/43.3
Disease(%)			
BA (n=178)	79.8	13.5	6.7
AR (n=62)	80.1	10.0	10.0
BA + AR (n=46)	71.7	17.4	10.9
Skin dis. (n=64)	79.7	14.9	9.4
Others (n=37)	91.9	5.4	3.3

* : p<0.05 significant

Cat fur allergen : Torii Co.

A/H : Ratio of wheal of cat fur allergen and histamine

Table 3. Detection of Cat Fur IgE according to Skin Sensitivity of Bencard Cat Antigen

Skin test (Bencard Co.)	3M FAST-plus Specific IgE(Class)					Total
	0	1	2	3	4	
Negative	0	0	0	0	0	0
A/H<1	7	0	4	0	0	11
A/H≥1	23	15	10	10	1	59
Total	30	15	14	10	1	70

단자시험 결과 housedust mite 71.2%, weed pollen 22.8%, alternaria 19.2%, grass pollen 21.0%의 양 성율을 보였으며 Torii사의 고양이털 항원에 대해서는 20.2%의 양성을 보였다(Table 1).

나. 알레르기 피부시험을 시행한 전체 환자(387예) 중 Torii사의 고양이털 항원에 대한 피부단자시험 양 성율은 77예로 19.9%이었고 이중 3+ 이상의 강양성은 30예로 7.8%이었다. 이들 고양이털 항원 강양성 환자군은 평균연령 25.4세로 음성군의 38.8세에 비해 의의있게 낮았으며 남녀비, 질병의 분포에는 통계적으로 의의있는 차이는 없었다(Table 2).

2. 고양이털 항원 피부단자시험 결과와 3M-FAST-plus를 이용한 혈청특이 IgE 치와의 관계

가. Bencard사의 고양이털 항원에 대한 피부시험상

Table 4. Detection of Cat Fur IgE according to Skin Sensitivity of Torii Cat Antigen

Skin test (Torii Co.)	3M FAST-plus Specific IgE(Class)					Total
	0	1	2	3	4	
Negative	10	6	3	1	0	20
A/H<1	12	2	5	3	0	22
A/H≥1	8	7	6	6	1	28
Total	30	15	14	10	1	70

양성 반응을 보인 70예중 40예(57%)에서 특이 IgE 가 검출되었고 피부시험 양성도가 높을수록 특이 IgE 가 높게 검출됨을 알 수 있었다(Table 3).

나. Bencard사의 고양이털 항원에 대한 피부시험상 양성반응을 보였던 70예중 50예에서 Torii사의 항원에 대한 피부시험 양성반응을 보였고 이들중 60%(30 예)에서 고양이 상피에 대한 특이 IgE가 검출되었다. 이는 통계적 의의는 없었으나 피부시험 양성도가 높을수록 특이 IgE가 높게 검출됨을 알 수 있었으며 10예에서 위양성이 관찰되었다(Table 4).

3. ELISA를 이용한 고양이털 특이 혈청 IgE 측정

가. ELISA 시험

알레르기 피부 시험상 Bencard사, Torii사 및 자가 고양이털 항원에 모두 음성반응을 보인 환자의 혈청

16개를 ELISA를 시행한 결과 O.D. 값이 0.016 ± 0.011이었으므로 cut off가 0.04이상일 때 ELISA 양성으로 판정하였다.

나. ELISA 억제시험

(1) 여러 항원을 이용한 억제시험에서 사슴털 항원에 9.2%, 집먼지진드기 2.7%, 자가고양이털 항원에 97.5%의 억제를 보여 연구자가 이용한 ELISA가 고양이털에 특이반응을 보임을 확인하였다.

(2) 여러 농도의 고양이털 항원에 ELISA 억제시험 결과, 항원 용량 의존형 억제반응을 나타내었다 (Table 5).

다. 피부반응시험 결과와 자가 고양이털 항원을 이용한 특이 IgE 측정치와의 관계

1991년 3월부터 1992년 2월 사이에 시판용 (Bencard사 및 Torii사) 고양이털 항원으로 알레르기 피부단자검사를 시행한 환자의 혈청 105예를 대상으로 ELISA를 시행하였다.

Torii사 및 Bencard사의 항원에 대한 알레르기 피부시험 결과와 ELISA 결과를 비교하여 볼 때, Bencard사의 고양이털 항원에 대한 피부시험상 강양성 반응을 보인 63예중 22예(34.9%)에서 특이 IgE

Table 5. ELISA Inhibition Test according to the Various doses of Cat Fur Allergen Made in This Class

Allergen Conc.(ug/ml)	0.02	0.05	0.2	0.5	2	10
%						
Inhibition	8.3	30.3	71.7	73.3	91.0	97.5

Table 6. Detection of Cat Fur IgE using ELISA according to Skin Sensitivity of Bencard Cat Antigen

Skin test (Bencard Co.)	Cat-ELISA Specific IgE(Class)					Total
	0	1	2	3	4	
Negative	25	1	0	0	0	26
A/H<1	16	0	0	0	0	16
A/H≥1	41	11	6	3	2	63
Total	82	12	6	3	2	105

*Classes were defined according to O.D. value ($\times 1000$).

0.04 ≤ class 1 < 0.1, 0.1 ≤ class 2 < 0.2,

0.2 ≤ class 3 < 0.5, class 4 ≥ 0.5

가 검출되었고 Torii사 항원에 강양성 피부시험결과를 보인 31예 중 21예(67.7%)에서 특이 IgE가 검출되었다. Torii사의 항원에 비해 Bencard사의 항원을 이용한 알레르기 피부시험에서 양성을과 강양성을이 높았으나 ELISA 결과를 비교하여 볼 때 위양성이 많음을 알 수 있었다(Table 6,7).

4. 연령군에 따른 고양이털 항원에 대한 피부시험 반응도

가. 연령군에 따른 Torii사의 고양이털 항원에 대한 피부시험반응도는 30세 미만의 젊은 연령군에서 피부시험반응 양성도가 높았으며 연령이 증가함에 따라 감소함을 관찰할 수 있었다(Table 8).

나. 기관지천식과 알레르기성 비염을 포함하는 호흡

Table 7. Detection of Cat Fur Specific IgE using ELISA according to Skin Sensitivity of Torii Cat Antigen

Skin test (Torii Co.)	Cat-ELISA Specific IgE(Class)					Total
	0	1	2	3	4	
Negative	42	1	0	0	0	43
A/H<1	30	0	1	0	0	31
A/H≥1	10	11	5	3	2	31
Total	82	12	6	3	2	105

Table 8. Skin Reactivity to Cat Fur in Age Groups

Cat fur skin test	Age<30	30≤Age<50	50≤Age
Negative	91(65.5)	137(85.6)	82(93.2)
A/H<1	25(18.0)	16(10.0)	6(6.8)
A/H≥1	23(16.5)	7(4.4)	0(0.0)
Total	139	160	88

p<0.001

Table 9. Comparison of Allergic Skin Reactivity to Cat Fur, D. Farinae and Weed Pollen in Respiratory Allergic Patients according to Age Groups(%)

Age(years)	<30	30~50	≥50	p value
No. of cases	139	160	88	
Cat fur	36(37.9)	20(16.5)	5(6.6)	<0.005
D. farinae	78(82.0)	79(65.3)	44(57.9)	<0.005
Weed pollen	43(45.3)	25(20.7)	7(9.2)	<0.005

positive : ≥ 1+ in prick test

기 알레르기 환자중 고양이털 항원에 대한 피부시험 양성도는 30세 미만군이 37.9%, 30-50세군에서 16.5%, 50세 이상군에서 6.6%로 연령이 증가함에 따라 양성율이 감소함을 알 수 있었고, 이는 집먼지진드기와 잡초 꽃가루(weed pollen)에서도 같은 양상을 관찰할 수 있었다(Table 9).

5. 말초혈액 호산구 수 및 혈청 총IgE

가. 총 호산구 수는 고양이털 항원에 대한 피부 반응의 양성군이나 음성군, 또는 질병군 간에도 의의 있는 차이는 없었다(Table 10).

나. 혈청 총 IgE치는 천식을 포함하는 환자군에서 다른 군에 비해 의의 있게 높았으며, 비염 환자군의 경우 Torri사의 고양이털 항원에 대한 피부반응 양성군이 음성군에 비해 의의 있게 높음을 알 수 있었다(Table 11).

6. 자가 고양이털 항원을 이용한 피부반응 검사와 ELISA 결과

가. 연세의대 내과 알레르기 크리닉에서 만든 자가 고양이털 항원에 대한 피부시험 결과, 대상환자는 기관지천식 52예, 천식과 비염 6예, 알레르기성 비염 9

예, 만성 폐쇄성 폐질환 18예, 두드러기 1예, 기타 3 예로 총 89예였고, 자가 고양이털 항원에 대한 양성 피부반응은 12.6%이었고, 피부반응의 정도는 1+ 5.7%, 2+ 2.3%, 3+ 2.3%, 4+ 2.3%이었다. 이들 중 기관지 천식환자 56예에서는 17.5%의 양성율을 보였고, 반응 정도에 따라서는 1+ 4예(7.0%), 2+, 3+, 4+가 각각 2예로 3.5%의 양성율을 보였다. 이들 기관지 천식환자에서, Bencard사의 항원을 이용한 피부시험 검사에는 1+ 10.7%, 2+ 10.7%, 3+ 1.8%, 4+ 1.8%로 25%의 양성율을 보였고, Torri사의 항원을 이용한 경우 1+ 7.0%, 2+ 3.5%, 3+ 5.3%의 15.8%의 양성율을 보였다(Table 12).

나. 자가 고양이털 항원으로 ELISA방법을 이용하여 혈청내 특이 IgE를 측정하고 cut-off value를 O. D. 0.04이상으로 하였을 때, 특이 IgE가 기관지 천식 6예 및 천식과 비염환자 1예 등 7예(7.87%)에서 검출되었으나 피부시험결과와는 상관성이 없었다.

7. 자가 고양이털 항원의 SDS-PAGE 및 IgE Immunoblotting 결과

가. 자가 고양이털 항원을 12% running gel에서

Table 10. Total Eosinophil Count in Disease Groups according to Skin Sensitivity of Cat Fur

Disease	Skin prick test to cat fur		p value
	Negative	Positive	
BA	287.2±431.9	641.5±139.1	NS
AR	208.7±186.5	158.4±108.0	NS
BA + AR	261.0±230.7	373.0±221.0	NS
Skin dis.	112.0±187.0	194.7±235.0	NS
Others	104.5±132.0	7.3± 28.3	<0.01

mean±S.D.

Table 12. Skin Reactivity to Various Cat Fur Antigen according to Diseases(%)

Skin reactivity No. of cases	Home-made		Bencard		Torii	
	BA 56	AR 9	BA 56	AR 9	BA 57	AR 9
0	49(87.5)	8(89)	42(75)	6(67)	48(84)	8(89)
1+	4(7.0)	1(11.1)	6(10.7)	2(22)	4(7)	1(11.1)
2+	2(3.5)	0	6(10.7)	0	2(3.5)	0
3+	2(3.5)	0	1(1.8)	1(11.1)	3(5.3)	0
4+	2(3.5)	0	1(1.8)	0	0	0
Total	10(17.5)	0	14(25.0)	3(33.3)	9(15.8)	0

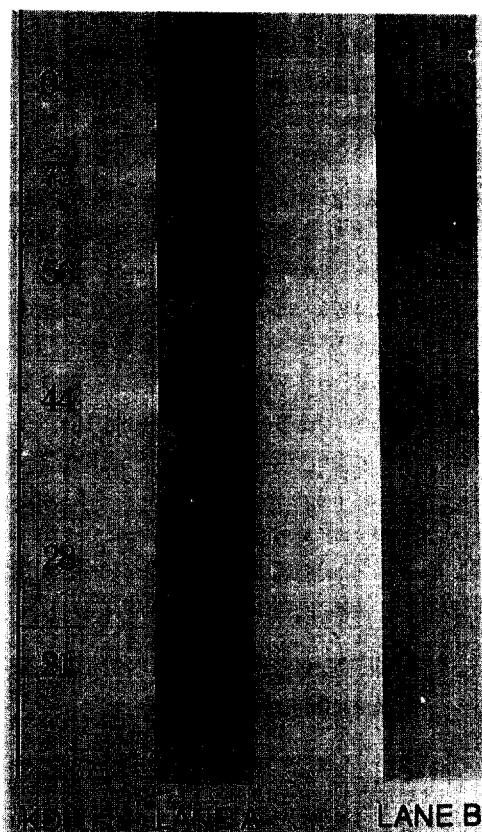


Fig. 1. The pattern of SDS-PAGE of cat fur extract (Lane B), and the marker proteins(Lane A) using 12% gradient gel.

Table 13. Identification of the Allergenic Components of Cat Fur Extracts in Cat Fur Sensitive Patients

MW of protein band(KD)	Positive sera pool	Cat ELISA n=6	3M FAST-plus n=10
94	+	0	3
73	+	1	3
56	+	2	3
44		1	3
28	+	1	0
21		4	1

SDS-PAGE한 결과(Fig. 1)에서와 같이 14에서 94KD(kilodalton) 사이에 15개의 단백띠가 관찰되었으며 67KD에 가장 강한 단백띠가 관찰되었고 이는 알부민으로 사료되었다.

나. 고양이털 항원에 대한 3M FAST-plus 양성 및

IgE ELISA에 양성인 환자의 혈청 16개, 양성 혈청 pool 1개와 대조혈청 3개를 이용한 IgE immunoblotting을 시행한 바(Fig. 2-1, 2-2), 6개의 단백띠가 반응하는 것을 관찰할 수 있었고 반응 단백의 종류는 분자량 94KD에 18.8%(3/16), 73KD 25%(4/16), 56KD 31.3%(5/16), 44KD 25%(4/16), 28KD 6.3%(1/16)이었으며 31.3%(5/16)에서 주요 항원인 Fel d 1으로 사료되는 21KD에 반응 단백띠를 관찰할 수 있었다.

양성 혈청 pool(16번)에서는 94, 73, 56, 21KD 각각 1개씩의 단백 반응띠가 관찰되었고 자가 고양이 털 항원에 대해 특이 IgE(Cat ELISA) 양성인 환자(1-6번) 혈청은 73KD 1예, 56KD 2예, 44KD 1예, 28KD 1예, 21KD 4예로 저분자량의 단백띠가 관찰되었다. 반면 3M FAST-plus상 양성 반응을 보인 환자 혈청(7-15, 17번)에서는 94, 73, 56, 44KD에서 각각 3예, 21KD에는 1예에서만 단백띠 반응을 관찰할 수 있었다(Fig. 2-1, 2-2, Table 13).

고 찰

알레르기 질환에서 원인 항원을 찾아내는 것은 그 치료에 매우 중요한 역할을 하고 있다¹²⁾. 많은 알레르기 항원에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있으며 그 중 비교적 항원성이 높고 점차 접촉의 기회가 늘어나는 고양이털과 상피에 대한 중요성이 높이 평가되고 있다.

알레르기 질환에서 원인 항원을 찾는데는 환자의 병력, 알레르기 피부단자시험, 각종 유발시험, 특이 IgE 측정과 배혈구 히스타민 유리시험 등이 이용된다. 이 중 임상에서 가장 흔히 이용되는 방법으로 간편하고 특이도가 높은 피부단자 시험을 들 수 있다^{7,13-15)}. 이 피부단자시험은 피부 비반세포막의 수용체에 결합되어 있는 항원 특이 IgE의 존재를 검사하는 방법으로 피부 비반세포에서 히스타민을 분비하여 유발되는 피부 흥반과 팽진을 히스타민 양성 대조액에 대한 반응과 비교하여 검사 판정하며¹⁶⁻¹⁹⁾ 고양이 상피항원에 대한 알레르기 반응의 진단도 이에 준하여 하게 된다.

고양이 알레르기의 진단은 피부단자 시험상 고양이 털에 강양성 반응을 보이고 고양이와 접촉시 임상증상이 유발된 병력이 있으면 거의 확실한 것으로 여겨지

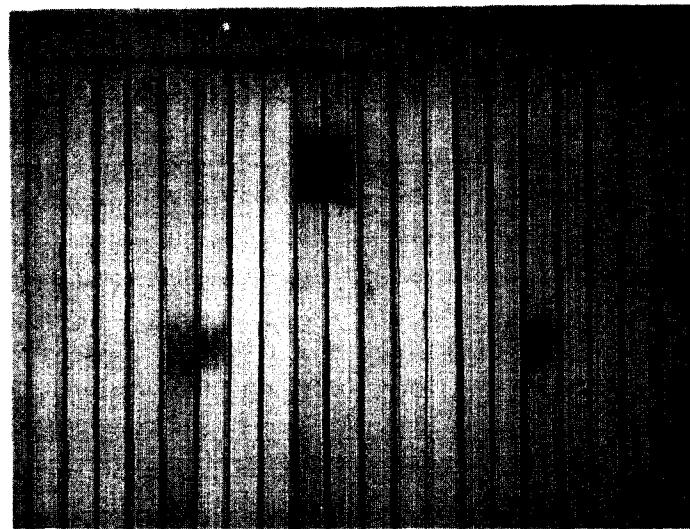


Fig. 2-1. Identification of the allergenic components of cat fur extracts in cat fur sensitive patients on wet preparation.

1-6 sera : positive with Cat ELISA
7-15,17 sera : positive with 3M FAST-plus
16 : positive sera pool
18-20 sera : negative control

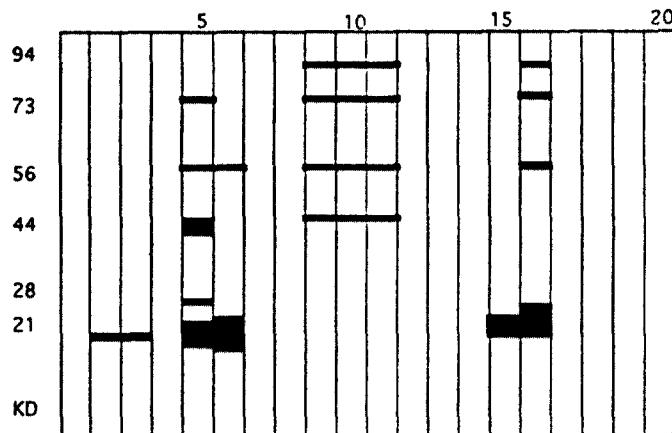


Fig. 2-2. Schematic drawing of Fig 2-1.

고, 뚜렷한 병력이 없이 RAST가 양성인 경우는 유발 검사로 확진하여야 한다^{20,21)}. 우리나라에서는 고양이 털 항원(Bencard사) 피부시험에 강양성인 9예중 RAST 양성 6예, 호염기구 히스타민 유리시험 양성 7예, 기관지 유발시험 양성 4예를 보였음을 보고하였다²⁰⁾, 또한 고양이털 항원에 대한 피부단자시험 양성 천식환자 40예를 대상으로 기관지 천식 유발시험을 시행하여 17예(43%)에서 양성반응을 관찰하고(조기

반응 9예, 이중 반응 5예, 후기 단독 반응 3예) 이들의 82%에서 RAST(el) 양성을 관찰 보고하였다²⁰⁾.

우리나라에서 시행한 피부시험 결과들 중 고양이털 항원의 경우 Bencard사 제품을 이용하여 17-64%^{12,20)}, Torii사 항원을 이용하여 2.1-30.2%의 양성을 보고되었다²³⁻²⁵⁾. 그러나 가장 많이 사용하는 Bencard사의 항원을 이용한 피부단자시험 결과 고양이털과 집먼지 진드기에 대한 동시양성을(2+ 이상)이 95.8%이고

고양이털 양성반응군에서 RAST양성율이 15.9%로 낮으며 임상상과 맞지 않는 것을 근거로 시행한 연구 결과, 고양이털 항원이 집먼지진드기 항원에 오염되어 있는 것을 밝히고¹⁰⁾ 피부시험시 항원의 순수성이 중요함을 강조한 바 있다. 또한 Torii사의 고양이털 항원을 이용하였을 때 RAST 억제실험 등의 간접적인 방법과 단크론항체를 이용한 집먼지진드기 추출등의 결과 Torii사의 항원이 Bencard사 항원에 비해 순수함을 알 수 있었다. 이후 1991년에 시행한 저자의 연구 결과, 기관지 천식환자에서 Torii사의 항원을 이용하여 시행한 피부시험상 20.2%의 양성율이 관찰되었고 이는 이제까지의 보고에 비해 높지 않음을 알 수 있었다. 1993년도 천식환자를 대상으로 자가 고양이털 항원(1mg/ml)을 가지고 피부단자시험을 시행한 결과 17.5%의 양성율로, Torii사 항원을 이용한 경우인 15.8%와 함께 Bencard사의 25.0%보다 적음을 관찰할 수 있었다. 피부단자시험 양성율이 이제까지의 보고보다 적은 것은 외국에 비해 애완용으로 고양이를 사육하는 경우가 적으며 생활양식의 변화등으로 실제 고양이와 접촉하는 기회가 줄었고 또한 최근 몇년간의 고양이털 알레르기에 대한 이해와 관심의 증가도 기여했으리라 생각되며, 피부시험에 사용된 항원의 순수도의 차이도 고려되어야 하리라 사료된다.

피부단자시험상 양성을 나타내는 환자들에서 고양이털 항원에 대한 RAST(el-RAST)의 양성율은 15.9-27.7%로 다른 주요 흡입성 항원에 비해 낮은 것이 관찰되었다^{10,14)}. 본 연구에서는 3M FAST-plus를 이용하여 Bencard사의 고양이털 항원에 양성 피부반응을 보이는 환자를 대상으로 고양이털 특이 IgE를 측정하였으며, 그 결과 피부반응 검사에 약한 반응(A/H ratio<1)을 보인 환자군에서는 36.4%(4/11)에서, 강한 반응(A/H ratio≥1)을 보인 환자군에서는 61%(36/59)에서 특이 IgE가 검출되었다(Table 3). 3M FAST-plus로 고양이털 특이 IgE를 측정한 환자의 Torii사 고양이털 항원에 대한 알레르기 피부반응 검사 결과를 비교 검토한 바 Torii사 고양이털 항원에 양성 피부반응을 보인 환자(50명)의 60%(30예)에서 특이 IgE가 검출되었다. 한편 3M FAST-plus로 특이 IgE가 검출된 40예중 25%(10예)는 Torii사 고양이털 항원에 대한 알레르기 피부반응 검사에 음성반응을 보였다(Table 4). 즉 3M FAST-plus법에서 사

용한 항원과 Bencard사의 항원간에 유사성이 있으리라는 의문을 가질 수 있었다.

연구자가 제조한 자가 고양이털 항원을 이용한 Cat ELISA의 경우, Torii사의 항원에 양성 피부반응(A/H ratio≥1)을 보인 환자군의 67.7%에서 특이 IgE가 검출되었고, Bencard사 항원에 양성 피부반응(A/H ratio≥1)을 보인 환자군에서는 34.9%에서만 특이 IgE가 검출되었다(Table 6,7). 즉 피부시험상 Bencard사의 항원을 이용한 경우가 Torii사의 항원을 이용한 경우보다 양성을 및 강양성을 높으나, Cat ELISA상 Torii사의 항원에 양성 피부시험결과를 보인 환자군에서 Bencard사의 항원에 양성 피부시험결과를 보인 환자군보다 특이 IgE 검출률이 높음을 관찰할 수 있었다.

이상을 종합하면 피부반응 검사와 RAST 검사시 정제된 동일 항원이 사용되어야 하리라 생각되고, Bencard사의 피부반응 검사용 시약과 3M FAST-plus의 혈청 검사용 고양이털 항원간에는 유사성이 많을 것으로 사료되었다.

고양이 알레르겐은 고양이의 털과 상피, 소변, 타액 등에 널리 포함되어 있으며 고양이 혈청에 5개, 상피에 3개의 특이 알레르겐이 관찰되었다²⁶⁾. 이들 중 주요 항원인 cat allergen I (Fel d 1)은 Brandt²⁷⁾, 및 Leitermannr과 Ohman²⁸⁾에 의해 분리되고 생화학적으로 규명되어졌으며, Aalberse 등²⁸⁾에 의해 단크론항체를 이용하여 분리되었다. Cat allergen I (Fel d 1)은 고양이의 이하선에 주로 존재한다고 하나 몸 치장시(grooming process) 타액을 통해서 전신으로 이동할 수 있어 고양이털과 상피에 다량 존재한다²⁹⁾. 또한 Fel d 1은 분자량이 1,8000±2,000 dalton으로서 고양이의 혈청과 소변내에서는 발견되지 않는다고 한다³⁰⁾. 고양이 알부민은 혈청에서 기원한 항원 중에서는 가장 중요한 항원이나 cat allergen I에 비해 그 의미가 적은 항원(intermediate allergen)으로 밝혀져 있다²⁶⁾. 최근에 여러 항원내의 알레르겐 성분을 밝혀내는 방법으로 SDS-PAGE, autoradiography, 단크론항체를 이용한 면역효소법(ELISA)등이 행해지고 있으며 특히 Tovey 및 Baldo³¹⁾는 집먼지진드기 항원으로 SDS-PAGE 및 immunoblotting을 시행한 후 단크론항체 혹은 감작된 환자 혈청과 반응시켜 반응양상을 조사하는 것이 항원 추출물을 정량적, 정성적

으로 분석하여 표준화하는데 매우 적당한 방법이라고 보고한 바 있다(1984). 이미 이 방법들을 통해 집먼지진드기 항원³²⁾, 고양이털 항원, 두드러기 쑥등^{2,33~36)}에서 주요 항원 성분들이 밝혀져 있고 여러 연구들이 진행되고 있다.

고양이털 항원중 고양이털 알레르기의 주요 항원으로 생각되는 Fel d 1이 35,000MW dimer로 처음 관찰 보고한 이후²⁹⁾, 이 35KD 중 주요 항원이 18KD의 아형임을 보고하였고³¹⁾, 이후 이 단백은 14KD, 4KD의 두 아형으로 이루어져 있음을 관찰하였다³⁷⁾. Dufort 등³⁸⁾은 계속된 연구에서 Fel d 1이 HPLC gel filtration의 방법으로는 분자량 35KD, SDS-PAGE 법으로는 18KD임을 밝혔고 18KD는 4KD(α chain)와 14KD(β chain)의 두 아형으로 되어있으나 이들을 환원시켰을 때 항원력(allergenic activity)을 잃는 것을 관찰하였다.

또한 Azofra²⁹⁾는 고양이털 알레르기환자 15명을 대상으로 Bencard사의 고양이털 항원을 이용하여 SDS-PAGE와 immunoblotting을 시행한 결과 이들 양성 혈청의 93%에서 Fel d 1으로 생각되는 14KD 와, 73%에서 29KD와 반응하는 단백띠를 관찰 보고 하였으나, Kleine-Tebbe 등⁴⁰⁾은 15예의 고양이털 알레르기 환자의 혈청으로 SDS-PAGE후 immunoblotting을 시행하여 18, 35, 46, 54, 64KD의 반응 단백띠를 관찰하였고 14예에서 18KD와 반응하는 것을 관찰보고하였다. 즉 고양이털 알레르기의 주요항원인 Fel d 1은 분자량 18KD의 단백으로 생각되며 Azofra³⁹⁾의 연구에서 14KD의 반응단백띠가 관찰된 것은 이들이 집먼지진드기에 오염되었다고 생각되는 Bencard사의 고양이털 항원을 이용하였음을 염두에 두고 결과 판독에 주의를 요한다. 본 연구에서는 본원에서 제조한 고양이털을 이용하여 항원성(allergenicity)을 밝혀보고자 고양이털 항원에 대한 특이 IgE 양성인 환자의 혈청을 이용하여 IgE immunoblotting 을 시행한 바, 6개의 반응 단백띠를 관찰할 수 있었고 이중 31.3%(5/16)에서 주요 항원인 Fel d 1으로 사료되는 21KD에 반응 단백띠를 관찰할 수 있었다. 또한 3M FAST-plus법에 의해 고양이털 항원에 대해 특이 IgE가 검출된 환자는 주로 고분자량의 항원과 반응하는 단백띠가 관찰되었으나 자가 고양이털 항원에 대해 특이 IgE 양성인 환자의 경우에는 저분자량

의 항원과 반응하는 단백띠가 관찰되었다. 그러나 이 성분을 주요 항원으로 정의하기에는 대상환자 수가 적고 또한 각 성분을 추출해 내어 생물학적 효과를 확인하는 등 좀더 많은 연구단계가 필요하리라 사료된다.

이상의 결과로 고양이털 및 상피는 우리나라 알레르기 질환에서 주요한 원인 항원의 하나로 간주되어야 하며 고양이털의 주요항원이 많이 포함된 순수한 항원이 필요하고 그 항원성 및 면역학적 측면에서 더 많은 연구가 추가되어야 할 것으로 생각된다.

요 약

목 적 : 동물의 털이나 상피가 여러 알레르기 질환에서 원인 항원으로 관여하는 것이 알려져 있으며 흔히 접할 수 있는 개나 고양이에 대한 연구가 비교적 많이 되고 있다. 최근 우리나라 알레르기 환자들에서 피부단자시험상 고양이털 항원에 대해 19~31%의 높은 양성을이 관찰된 바 있으나 이제까지 피부반응시험에 사용되었던 고양이털 항원(Bencard사)의 순수도가 의문시되며 실제 우리나라 알레르기환자에서 접할 수 있는 고양이털 항원에 대한 정확한 연구는 되어 있지 않아, 고양이털이 원인 항원으로 작용하는 정도와 항원성을 연구하고자 하였다.

방 법 : 영국 Bencard사의 항원과 비교적 순수하다고 알려진 일본 Torii사의 고양이털 항원을 이용하여 1991년 3월 1일부터 1992년 2월 28일까지 피부단자시험을 시행한 387예를 분석하였으며 1993년 1월부터 본원 알레르기 특수 클리닉을 내원한 89명의 환자를 대상으로, 본 교실에서 제조한 고양이털 항원을 이용하여 피부시험과 특이 IgE를 측정하였고 고양이털 항원에 대한 특이 IgE가 검출된 환자 16명과 양성 대조군 1명, 음성 대조군 3명에서 SDS-PAGE후 Western blotting으로 IgE Immunoblot의 반응 양상을 관찰하였다.

결 과 :

1) 387예에서 시행한 Torii사의 고양이털 항원에 대한 피부단자시험 양성을 77예로 19.9%이었고 이 중 3+ 이상의 강양성은 30예로 7.8%이었다.

2) 호흡기 알레르기(천식, 비염) 환자중, 연령군에 대한 고양이털 항원의 양성도는 0세~30세군이 37.9%, 30세~50세군이 16.5%, 50세 이상군에서 6.6%

로 연령이 증가함에 따라 양성율이 감소함을 알 수 있었고, 집먼지진드기와 잡초 꽃가루 항원에 대한 감작율도 같은 양상을 보였다.

3) Torii사의 고양이털 항원에 대한 양성반응 환자군의 60%에서 고양이 상피에 대한 특이 IgE가 검출되었고 이는 통계적 의의는 없었으나 피부시험 양성도가 높을수록 특이 IgE가 높게 검출되었으며, Bencard사의 고양이털 항원에 대한 피부 반응과 특이 IgE와는 피부시험 양성도가 높을 수록 특이 IgE가 높게 검출됨을 알 수 있었다.

4) 89예에서 시행한 자가 고양이털 항원에 대한 피부반응의 정도는 1+ 5.7%, 2+ 2.3%, 3+ 2.3%, 4+ 2.3%였으며, 기관지 천식 56예중 1+ 4예(7.0%), 2+, 3+, 4+가 각각 2예로 3.5%의 양성율을 보였다. 이들 기관지 천식 환자에서, Bencard사의 항원을 이용한 피부시험에는 1+ 10.7%, 2+ 10.7%, 3+ 1.8%, 4+ 1.8%의 양성율을 보였고, Torii사의 항원을 이용한 경우 1+ 7.0%, 2+ 3.5%, 3+ 5.3%의 양성율을 보였다.

5) 본 교실에서 제조한 고양이털 항원으로 ELISA 방법을 이용하여 혈청내 특이 IgE를 측정하였을때 기관지 천식 6예, 천식과 비염환자 1예의 7.53%(7/93)에서 검출되었으나 피부시험 결과와는 상관성이 없었다.

6) 고양이털 항원에 대한 특이 IgE가 검출된 환자의 혈청을 이용하여 IgE Immunoblotting을 시행한 바, 분자량 21-94KD(kilodalton)의 6개의 반응 단백띠를 관찰할 수 있었고 31.3%(5/16)에서 주요 항원인 *Fel d 1*으로 사료되는 21KD에 반응 단백띠를 관찰할 수 있었다. 또한 3M FAST-plus 검사상 양성인 환자의 경우 주로 고분자량의 반응 단백띠가 관찰되었으나 ELISA법에 의해 특이 IgE가 검출된 환자의 경우에는 저분자량의 단백띠가 관찰되었다.

결 론 : 고양이털 및 상피는 우리나라에서 알레르기 질환의 주요한 원인 항원의 하나로 간주되어야 하며 그 항원성 및 면역학적 측면에서 더 많은 연구가 추가되어야 할 것으로 생각된다.

= Abstract =

Allergenic Characterization of Cat Fur Extract and Skin Sensitivities to Cat Fur in Patients with Atopic Diseases

Sun Young Rha, M.D., Dong Ho Nam, M.D.

Bum Soo Kim, M.D., Joong Bae Ahn, M.D.

Wook Hee Won, M.D., Hyun Yong Song, M.D.

Hong Keun Cho, M.D., Dong Woon Jun, M.D.

and Chein Soo Hong, M.D.

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

Objectives: The cat fur allergen used in skin prick test was known to be contaminated with housedust mites. So we intended to evaluate the clinical importance of cat fur as a causative allergen in patients with allergic diseases.

Methods: We performed skin prick tests with cat allergen of Torii company(Japan), Bencard company(England) and home-made extracts in 387 patients. We detected specific IgE by 3M FAST-plus and ELISA method using home-made cat fur allergen, developed at this class. To characterize the allergenic components, cat fur extracts were fractionated by 12% sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis(SDS-PAGE) and then transferred onto nitrocellulose membrane and probed with sera of cat-fur sensitive patients

Results:

1) Out of 387 patients, 77(19.9%) showed more than 1+ results on skin prick test. There were no significant differences in the rates of positive results according to the allergic diseases, but the age groups were correlated with the positive results(younger than 30: 34.5%, between 30 and 50: 14.4%, older than 50: 6.8%).

2) Cat ELISA showed specific inhibition to cat fur allergen and Cat ELISA inhibition test revealed the linear dose response curve on the added amounts of cat allergen into pooled sera. 67.7% out of Torii cat fur sensitive patients(A/H ratio ≥ 1) showed positive results in Cat ELISA for specific IgE antibody.

3) Cat fur extracts showed 15 protein bands by SDS-PAGE, then they were transferred onto nitrocellulose membrane and probed with sera of 16 cat-fur sensitive patients, one sera pool of patients with

RAST class 3, and three negative controls and with biotin-conjugated anti IgE-avidin peroxidase. Six IgE binding protein bands were detected at 94, 73, 56, 44, 28 and 21 kilodalton of molecular weight. Out of six IgE binding bands, MW 21KD concerned as major cat allergen, Fel d 1, were noted in five sera(31.3%).

Conclusion: It is suggested that cat fur can be regarded as an important allergenic fur and that we need further studies to standardize cat antigens for in vivo and in vitro tests.

Key Words: Cat fur, Skin prick test, Allergenicity, IgE immunoblotting, ELISA

REFERENCES

- 1) Lee SY, Hong CS: *Skin and bronchial reactivity to indoor allergens in Korean adult bronchial asthmatics*. J Kor Soc Allergology 11(Supple): 113, 1991
- 2) Platts-Mills TAE, Chapman MD: *Immunology, allergic disease, and environmental control*. J Allergy Clin Immunol 80:755, 1989
- 3) Ohman JL, Marsh DG, Goldman M: *Antibody responses following immunotherapy with cat pelt extract*. J Allergy Clin Immunol 69:320, 1982
- 4) Ohman JL, Findlay SR, Leitermann KM: *Immunotherapy in cat-induced asthma. Double blind trial with evaluation of in vivo and in vitro responses*. J Allergy Clin Immunol 74:230, 1984
- 5) Van Metre TE, Marsh DG, Adkinson NF, Fish JE, Kagey-Sobotka A, Norman PS, Radden EB, Rosenberg GL: *Dose of cat(Felis domesticus) allergen 1(Fel d 1) that induces asthma*. J Allergy Clin Immunol 78:62, 1985
- 6) Van Metre TE, Marsh DG, Adkins NF, Norman PS, Kagey-Sobotka A, Khattignavong A, Rosenberg GL: *Immunotherapy for cat asthma*. J Allergy Clin Immunol 82:1055, 1988
- 7) 윤여운, 이미경, 박해심, 박성삼, 홍천수 : 알레르기 환자에서 시행한 피부단자시험과 혈청 IgE 검사 성적. 알레르기 9:L385, 1989
- 8) Rynes SE: *A critical analysis of animal dander reactions*. J Allergy 8:470, 1937
- 9) Leitermann K, Ohman JL: *Cat allergen I: Biochemical, antigenic and allergenic properties*. J Allergy Clin Immunol 74:147, 1984
- 10) 안영민, 임성희, 박해심 : 여러 종류의 고양이 상피항원에 대한 피부시험 결과 순수도 비교. 알레르기 10:235, 1990
- 11) Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ: *Protein measurement with the folin phenol reagent*. J Biol Chem 193:265, 1951
- 12) 강석영 : 한국에 있어서의 알레르기성 호흡기 질환의 기인성 항원에 관한 연구. 대한 내과학회잡지 16:373, 1972
- 13) 박춘식, 김유영, 강석영 : 흡인성 기인 알레르겐 검색에 있어서 RAST와 피부시험의 비교. 알레르기 3:1, 1983
- 14) 이은직, 김준명, 이수곤, 박해심, 오승현, 홍천수 : 알레르기 질환에서 피부단자시험과 RAST 성적에 관한 연구. 대한 내과학회잡지 32:448, 1987
- 15) 강신숙, 박해심, 홍천수 : 피부단자시험 판정기준법 RAST 성적의 비교. 알레르기 8:225, 1988
- 16) 황영남, 허갑범, 이상용 : 기관지천식 환자에 대한 임상 및 피내반응에 대한 고찰. 대한 내과학회잡지 17:426, 1974
- 17) 홍천수, 이종화, 김경래, 이현철, 허갑범, 이상용 : 기관지천식과 알레르기성 비염 환자에서의 흡입성 항원의 피내반응에 관한 연구. 알레르기 2:8, 1982
- 18) 조용숙, 박해심, 오승현, 홍천수 : 흡입성 알레르겐 12종에 대한 정상 한국인의 즉시형 피부반응에 관한 연구. 대한 의학회지 30:647, 1987
- 19) Howarth PH, Durham SR, Key AB, Holgate ST: *The skin relationship between mast cell-mediator release and bronchial reactivity in allergic asthma*. J Allergy Clin Immunol 80:703, 1987
- 20) 민경업, 김미경, 김유영 : 천식환자에서의 고양이털에 대한 기관지유발시험의 성적. 알레르기 7:217, 1987
- 21) 박해심, 이미경, 홍천수 : 고양이 항원과 집먼지 추출액과의 관계. 알레르기 9:10, 1989
- 22) 김병옥, 황성오, 이미경, 박해심, 홍천수 : 외인성 기관지 천식 환자에서 고양이 항원에 대한 기관지 천식 유발검사에 관한 연구. 알레르기 9:509, 1989(초록)
- 23) 이양근, 오용일 : 전북지방 알레르기 환자에 있어서의 피부 시험, 혈청 총IgE 및 항원 특이적 IgE치의 측정 성적. 알레르기 5:147, 1985
- 24) 신동학 : 소아기관지 천식의 임상적 고찰. 소아과 30: 13678, 1987
- 25) 황순열, 김인숙, 정구석, 김성원, 김길현 : 부산, 경남 지방의 소아기 호흡기 알레르기 환자에서의 피부시험 성적. 알레르기 7:176, 1987
- 26) Wallenback I, Einarsson R: *Identification of dander specific and serum specific allergen in cat dandruff extract*. Ann Allergy 59:131, 1987

- 27) Brandt R, Ponterius G, Yman L: *The allergens of cat epithelia and cat serum. Int Arch Allergy 45:447, 1973*
- 28) Aalberse RLJ, Chapman MD, Brown BSM, Platts-millis T: *Purification of fel d 1 from house dust by monoclonal antibody affinity chromatography. J Allergy Clin Immunol 79:125, 1987*
- 29) Ohman JL, Lowell FC, Block KJ: *Allergens of mammalian origin: Properties of a major feline allergen. J Immunol 113:168, 1974*
- 30) Anderson MC, Baer H: *Allergenically active components of cat allergen extracts. J Immunol 127: 972, 1981*
- 31) Tovey ER, Baldo BA: *Standardization of allergens: Qualitative definition of house dust mite extracts following electroblotting and detection of components with antibody and lectin probes. Int Archs Allergy Immunol 75:322, 1984*
- 32) Baldo BA, Ford SA, Tovey ER: *Toward a definition the complete spectrum and rank order of importance of the allergens from the house dust mite: Dermatophagoides pteronyssinus. Advances in Biosciences 17:13, 1989*
- 33) 이미경, 홍천수 : 잔디화분의 알레르겐 검출에 관한 연구. 알레르기 11:14, 1991
- 34) Wood R, Eggleston PA, Lind P, Ingermann L, Schwartz B, Graveson S, Terry D, Wheeler B, Adkinson NF: *Antigenic analysis of household dust samples. Am Rev Respir Dis 137:358, 1988*
- 35) Chapman MD, Aalberse RC, Brown MJ, Platts-Mills TAE: *Monoclonal antibodies to the major feline allergen fel d 1. J Immunol 140:812, 1988*
- 36) Chapman MD: *Monoclonal antibodies as structural probes for mite, cat and cockroach allergens. Advances in the Bioscience 74:281, 1989*
- 37) Duffort OA, Carreira J, Polo F, Lombardero M: *Monoclonal antibodies in the purification and characterization of the major allergen in cat pelt extract(Fel d 1). Rev Esp Allergol Immunol Clin 2:9 (abstract), 1988*
- 38) Duffort OA, Carreira J, Nitti G, Polo F, Lombardero M: *Studies on the biochemical structure of the major cat allergen Felis domesticus 1. Molecular Immunology 28:301(abstract), 1991*
- 39) Azofra J: *Detection of allergens in a cat pelt extract. Allergy 47:110, 1992*
- 40) Kleine-Tebbe J, Kleine-Tebbe A, Jeep S, Schou C, Lowenstein H, Kunkel G: *Role of the major allergen(Fel d 1) in patients sensitized to cat allergens. Int Archs Allergy Immunol 100:256 (abstract), 1993*