

특이 IgE항체 양성자와 음성자 간 집먼지진드기 (*D. farinae*) 항원에 대한 IgG항체 반응의 비교 : Immunoblot analysis

연세대학교 의과대학 내과학교실

남동호 · 박중원 · 홍천수

서 론

집먼지진드기는 세계적으로 호흡기 알레르기 질환에서 가장 중요한 알레르겐으로 알려져 있다¹⁻³⁾. 국내에서도 호흡기 알레르기 환자의 약 50-80%가 집먼지진드기에 대한 알레르기 피부반응 검사에 양성을 보이고 이들중 약 2/3가 특이 IgE항체 반응을 가지고 있다^{4,5)}. 우리나라 환자는 *Dermatophagoides pteronyssinus*와 *Dermatophagoides farinae*(이하 *D. farinae*) 두 종의 집먼지진드기에 대해 모두 알레르기 반응을 보이며 특히 *D. farinae*에 대한 알레르기 피부반응이 더 크고 이것에 대한 특이 IgG의 양이 더 많다고 알려져있다.^{6,7)} 집먼지진드기에 대한 IgG 항체, 특히 IgG4 항체는 면역치료 후에 차단항체로서 작용하리라 추측되어 왔으나⁸⁾ 아직 이에 대한 명확한 의의는 잘 밝혀지지 않은 상태이다. 집먼지진드기에 대한 특이 IgG 항체는 특이 IgE 양성인 아토피성 천식 환자 뿐만 아니라 비아토피성 천식이나 심지어는 정상 대조군의 일부에서도 검출된다고 보고되었다⁹⁻¹¹⁾. 이에 집먼지진드기(*D. farinae*)항원에 대한 특이 IgE 항체 양성자와 음성자간에 특이 IgG 항체 반응의 차이를 보고자

immunoblot analysis를 시행하였다.

대상 및 방법

1. 대상 혈청

연구에 사용한 환자의 혈청은 연세대학교 의과대학 세브란스 병원 특수진료소 알레르기 클리닉에 내원하여 호흡기 알레르기 질환으로 진단받고 집먼지진드기 알레르기 피부반응 검사를 실시한 성인 천식 환자 중 특이 IgE 항체 양성이며 *D. farinae*에 대한 기관지 천식 유발 검사상 양성을 보인 5명 및 피부반응 및 특이 IgE 양성이나 특이한 알레르기 질환을 가지지 않는 아토피 정상 대조군(의과대학 학생)5명, 피부반응 및 특이 IgE 음성이며 특이 IgG 양성을 보인 비아토피성 천식 환자 5명과 정상 대조군 5명의 혈청을 분리하여 영하 20°C에 냉동 보관하였다가 실험에 사용하였다.

2. 항원

D. farinae 전충체 항원은 본 교실에서 순수 배양한 집먼지진드기 배지에서 진드기 총체만 순수하게 채집하여 냉동 건조한 후 ethylether로 탈지후 phosphate buffered saline(PBS)로

추출 하였다. 추출액을 다시 충분한 양의 증류수로 투석하여 냉동 건조시켜 조항원으로 만들어 사용하였다. 순수 분리한 주항원인 *Der f I* 및 *Der f II*는 동경대학교 물료내과의 Okudaira 교수가 기증한 시료를 이용하였다.

3. Immunoblot analysis

Laemmli의 방법¹²⁾에 따라 90 X 40mm의 mini-gel 기구(Hoeffer Scientific, San Francisco, CA)를 이용해서 12% gel로 SDS-PAGE를 시행하였다. 3.5mm폭과 80mm의 2가지 폭을 갖는 comb을 만들어 작은쪽에는 분자량 측정을 위한 표지 단백질 시약(Pharmacia, Uppsala, Sweden) 또는 정제된 *Der f I* 및 *Der f II*을 넣고 긴 쪽에는 *D. farinae* 전충체 항원용액을 넣은후 전기영동후 Towbin등의 방법¹³⁾으로 nitrocellulose membrane으로 전위시킨후 표지 단백질과 일부 *D. farinae* 전위 부위를 절단하여 Ponceu S용액으로 염색하여 표지 단백질의 위치와 항원단백의 전위를 확인하였다. 항원이 전위된 nitrocellulose membrane을 3mm 간격으로 절단한후 각각을 1% bovine serum albumin과 0.05% Tween 20이 포함된 PBS용액에 1시간동안 반응시켜 비특이적인 단백질 결합을 차단시킨후 각 분절에 혈청(IgE, IgG4는 혈청 원액으로 IgG1, IgG2 그리고 IgG3는 1 : 20으로 희석하여) 500 μ l을 넣어 상온에서 16시간 동안 반응시켰다. 0.05% Tween 20이 포함된 PBS용액(이하 PBS-T)으로 3회 세척후 biotin이 부착된 anti-human IgE 항체(Vector Laboratories, Inc, Burlingame, CA) 및 anti-human IgG 아형 단일클론 항체(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) 1 : 500희석액을 분절당 500ml씩 넣어 1시간 작용시킨후 다시 5회 세척후 methanol에 용해시킨 0.3% 4-chloro-1-naphthol(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) 3 ml와 Tris buffered saline용액 50ml 그리고 30% H₂O₂용액 25 μ l 혼합용액을 분절당 1ml씩 넣어 15분간 반응시킨후 증류수로 3회 세척하여 반응을 관찰하였다. 반응의 정도를 육안으로 식별하여 희미한 경우를 1+, 중등도인 경우를 2+, 강하게 경우를 3+로 나누었다.

결 과

1. IgE immunoblot analysis

Fig. 1, Table 1과 같이 성인 천식환자 중 특이 IgE 항체 양성이며 *D. farinae*에 대한 기관지 천식 유발검사상 양성을 보인 5명에서만 의의있는 IgE 반응을 관찰할 수 있었으며 이들은 각각 164, 127, 98, 94, 86, 80, 70, 61, 51, 41, 30, 23, 19, 17, 15, 13, 11 KD의 17개 위치에 반응 단백띠를 관찰할 수 있었다. 또한 정제된 *Der f I* 및 *Der f II*의 위치와 비교해본 결과 *Der f I*은 23 KD의 단백띠와 *Der f II*는 17 KD의 단백띠와 일치되었다. 특히 *D. farinae* 특이 IgE 양성이나 알레르기 질환을 가지지 않는 아토피성 정상 대조군 5명중 2명에서 17 KD의 *Der f II*에 대해서만 약하게 반응을 나타냄이 관찰되었다.

2. IgG1 immunoblot analysis

Fig. 2, Table 2와 같이 4군 모두에서 164, 127, 98, 94, 86, 80, 70, 61, 51, 41, 30 KD의 주로 30 KD이상의 단백항원에서 반응띠를 관찰할 수 있었으며 각군 모두 주로 164, 127, 98, 86, 80, 70, 61 KD의 7개의 위치에 강한 반응(3+)을 보였다.

Table 1. Antigenic components of the extracts of *D. farinae* bound with IgE and IgG subclass antibodies by immunoblot in all 20 subjects.

Protein band No.	M. W. (KD)	No. of sera reacted (No. of strong reaction*)				
		IgE	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
1	164	5(2)	11(5)	8(1)	0	11(5)
2	127	5(4)	17(2)	12(2)	14(0)	12(4)
3	98	5(2)	20(11)	20(9)	14(0)	9(0)
4	94	5(2)	20(6)	16(2)	15(0)	8(0)
5	86	5(2)	20(2)	11(1)	0	10(1)
6	80	5(2)	15(2)	13(1)	0	7(0)
7	70	5(2)	20(6)	16(3)	18(0)	11(4)
8	61	5(0)	3(0)	0	0	5(0)
9	51	5(2)	15(2)	13(1)	11(0)	8(0)
10	41	5(0)	8(0)	0	14(0)	7(0)
11	30	3(0)	12(0)	2(0)	6(0)	3(1)
12	23 ^a	5(0)	1(0)	0	0	1(0)
13	19	2(0)	0	0	0	0
14	17 ^b	7(0)	2(0)	0	0	1(0)
15	15	4(0)	0	0	0	0
16	13	3(0)	0	0	0	0
17	11	3(0)	0	0	0	0

*strong reaction means 3+ of binding intensity

a, 23 KD protein band is consistent with *Der f I* used as a standard.

b, 17 KD protein band is consistent with *Der f II* used as a standard.

Fig. 1. IgE Immunoblot analysis of *D. farinae* antigen (Lane 1-5 : *D. farinae*-sensitive atopic asthmatics; Lane 6-10 *D. farinae*-sensitive atopic controls; Lane 11-15 non-atopic asthmatics; Lane 16-20 non-atopic controls.). 17 KD and 23 KD protein bands and were consistent with *Der f II* and *Der f I* used as a standard.

Fig. 2. IgG1 Immunoblot analysis of *D. farinae* antigen (Lane 1-5 : *D. farinae*-sensitive atopic asthmatics; Lane 6-10 *D. farinae*-sensitive atopic controls; Lane 11-15 non-atopic asthmatics; Lane 16-20 non-atopic controls.).

Table 2. Comparison of antigenic components of the extracts of *D. farinae* bound with IgG1 antibodies by immunoblot in *D. farinae*-specific IgE(sIgE) positive(n=10) and negative(n=10) subjects.

Protein band M. W. No. of reaction (strong reaction*)			
No.	(KD)	sIgE Positive	sIgE Negative
1	164	5(1)	6(4)
2	127	10(1)	7(1)
3	98	10(5)	10(6)
4	94	10(1)	10(5)
5	86	10(1)	10(1)
6	80	8(1)	7(1)
7	70	10(2)	10(4)
8	61	1(0)	2(0)
9	51	7(1)	8(1)
10	41	3(0)	5(0)
11	30	5(0)	7(0)
12	23 ^a	1(0)	0
13	17 ^b	1(0)	1(0)

* strong reaction means 3+ of binding intensity.

a, 23 KD protein band is consistent with *Der f I* used as a standard.

b, 17 KD protein band is consistent with *Der f II* used as a standard.

3. IgG 2 immunoblot analysis

Fig. 3, Table 3과 같이 4군 모두에서 164, 127, 98, 94, 86, 80, 70, 51, 30 KD의 주로 30 KD이상의 단백항원에서 반응띠를 관찰할 수 있었다.

4. IgG 3 immunoblot analysis

Fig. 4, Table 4와 같이 4군 모두에서 127, 98, 94, 70, 51, 41, 30 KD의 주로 30 KD이상의 단백항원에서 전반적으로 미약한 반응띠를 관찰할 수 있었다.

Fig. 3. IgG2 Immunoblot analysis of *D. farinae* antigen binding(Lane 1-5 : *D. farinae*-sensitive atopic asthmatics; Lane 6-10 *D. farinae*-sensitive atopic controls; Lane 11-15 non-atopic asthmatics; Lane 16-20 non-atopic controls.).

Table 3. Comparison of antigenic components of the extracts of *D. farinae* bound with IgG2 antibodies by immunoblot in *D. farinae*-specific IgE(sIgE) positive(n=10) and negative(n=10) subjects.

Protein band M. W. No. of reaction(strong reaction*)			
No.	(KD)	sIgE Positive	sIgE Negative
1	164	4(0)	4(1)
2	127	8(1)	4(1)
3	98	10(6)	10(3)
4	94	10(1)	6(1)
5	86	8(1)	3(0)
6	280	9(1)	4(0)
7	70	8(2)	8(1)
8	51	6(0)	7(0)
9	30	0	2(0)

*strong reaction means 3+ of binding intensity.

토피성 정상 대조군 5명 보다 더 뚜렷한 반응을 관찰할 수 있었으며 이들 반응은 주로 164, 127, 98, 94, 86, 80, 70, 61, 51, 41, 30 KD의 단백질에서 반응띠를 관찰할 수 있었다.

Fig. 4. IgG3 Immunoblot analysis of *D. farinae* antigen(Lane 1-5 : *D. farinae*-sensitive atopic asthmatics; Lane 6-10 *D. farinae*-sensitive atopic controls; Lane 11-15 non-atopic asthmatics; Lane 16-20 non-atopic controls.).

6. *D. farinae*에 대한 혈청내 특이 IgG 아형의 반응단백에 대한 빈도 고찰

Table 1에서 처럼 IgG 아형 반응 단백질들은 주로 30 KD 이상의 비교적 높은 분자량을 가지는 단백질들에 국한되었으며 각 아형에 따라 반응하는 단백질의 범위나 강도에 약간의 차이를 보였다. 특히 127 KD와 70 KD의 단백질의 경우 모든 IgG 아형 항체에서 50% 이상의 혈청과 반응하였다.

Table 4. Comparison of antigenic components of the extracts of *D. farinae* bound with IgG3 antibodies by immunoblot in *D. farinae*-specific IgE(sIgE) positive(n=10) and negative(n=10) subjects.

No.	Protein band (KD)	No. of reaction	
		sIgE Positive	sIgE Negative
1	127	5	9
2	98	7	7
3	94	7	8
4	70	8	10
5	30	5	6
6	41	6	8
7	30	1	5

Fig. 5. IgG4 Immunoblot analysis of *D. farinae* antigen(Lane 1-5 : *D. farinae*-sensitive atopic asthmatics; Lane 6-10 *D. farinae*-sensitive atopic controls; Lane 11-15 non-atopic asthmatics; Land 16-20 non-atopic controls.).

5. IgG 4 immunoblot analysis

Fig. 5, Table 5와 같이 주로 기관지 천식 유 발검사상 양성을 보인 천식환자 5명 및 피부반 응 및 특이 IgE 음성이며 특이 IgG 양성을 보 인 비아토피성 천식환자 5명에서 정상 또는 아

고 찰

집먼지 진드기에 대한 IgE immunoblot 분석 들은 140 KD에서 6 KD까지 최소한 32개의 IgE 반응단백들이 존재함을 보고하였으며 이들

Table 5. Comparison of antigenic components of the extracts of *D. farinae* bound with IgG4 antibodies by immunoblot in *D. farinae*-specific IgE(sIgE) positive(n=10) and negative(n=10) subjects.

No.	(KD)	Protein band M. W. No. of reaction(strong reaction*)	
		sIgE Positive	sIgE Negative
1	164	6(3)	5(2)
2	127	6(2)	6(2)
3	98	4(0)	5(0)
4	94	3(0)	5(0)
5	86	5(0)	5(1)
6	80	3(0)	4(0)
7	70	5(2)	6(2)
8	61	1(0)	4(0)
9	51	4(0)	4(0)
10	41	4(0)	3(0)
11	30	3(0)	0
12	23 ^a	0	1(0)
13	17 ^b	0	1

* strong reaction means 3+ of binding intensity.

a, 23 KD protein band is consistent with *Der f I* used as a standard.

b, 27 KD protein band is consistent with *Der f II* used as a standard.

중 30%이상의 혈청에서 반응을 보이는 단백질 11개 존재한다고 하였다¹⁴⁻¹⁷⁾. *D. farinae*의 경우 이중 알레르기 환자 혈청의 반응 빈도가 높은 주 알레르겐으로는 약 25 KD의 Group I 알레르겐(*Der f I*) 및 약 15 KD의 Group II 알레르겐(*Der f II*), 약 30 KD의 Group III(*Der f III*)알레르겐이 알려져있다¹⁸⁾. 본 연구에서도 정제된 *Der f I* 및 *Der f II*을 standard로 사용하였을때 각각 23 KD과 17 KD의 위치에 존재하였으며 이에 대한 IgE 반응을 관찰할 수 있었다. 흥미롭게도 피부반응 양성을 보인

아토피성 정상인에서 IgE 반응이 주로 *Der f II* 부위에만 국한되어 나타난것은 IgE immunoblot 분석 결과 소아에서의 초기 IgE 반응이 *Der f II*에만 주로 국한되어 나타난다는 보고¹⁹⁾와 일맥 상통하는 면이 있으며 집먼지 진드기 항원과의 접촉의 빈도가 늘어나면서 집먼지 진드기의 다른 항원에 대한 T 임파구반응의 성숙과 더불어서 이에 대한 IgE 반응들이 생겨날 가능성을 시사한다 하겠다.

집먼지 진드기에 대한 IgE 항체가 알레르기 질환의 병인에 중요한 역할을 함은 잘 알려져 있으나 이에 대한 특이 IgG 항체의 역할에 대해서는 잘 알려져 있지않다. 집먼지 진드기에 대한 특이 IgG 항체는 집먼지 진드기에 대해 피부반응 양성을 보이는 아토피성 천식환자 뿐만 아니라 비아토피성 천식환자나 정상 대조군에서도 검출된다고 보고되어 있다⁵⁻¹¹⁾. 초기 연구들은 이러한 집먼지 진드기 특이 IgG 항체가 면역치료후에 증가되며 특이 IgE와 길항작용을 하여 알레르기 반응을 억제할 것으로 추측 하였으며 특히 IgG4 아형이 차단항체로 작용할 가능성이 보고되었으나^{8, 20, 21)} 몇몇 연구들은 면역요법의 효과가 없는 환자에서 특이 IgG4가 증가하며²²⁾ 또한 특정한 직업성 천식에서는 직업성 물질에 대한 IgG 항체의 존재가 직업성 물질에 대해 노출된 정도를 나타내는 지표로 알려져 있어²³⁾ 아직 알레르겐에 대한 IgG 항체의 역할은 분명하게는 알려지지 않은 상태이다. 본 연구 결과에서 집먼지 진드기에 대한 IgG 반응이 특이 IgE 항체의 존재 여부나 천식의 존재여부와 관계없이 정상인과 천식 환자군 모두에서 검출되었으며 주로 30 KD이상의 단백질분획과 결합함을 관찰할 수 있었다. 집먼지 진드기에 대한 다른 연구자의 전체 IgG에 대한 immunoblot 연구 결과²⁴⁾는 대부분 집먼지 진드기에 대한 특이 IgE 항체 양성 천식환자에서 *Der f II*에 대한 IgG 반응

이 약 73% 나타나고 비아토피성 정상인의 경우에는 이러한 반응이 20% 정도에서 나타나며 천식환자나 정상인 모두 50% 이상에서 주로 32, 53, 65, 70, 88 그리고 95 KD의 단백분획과 반응함을 보고하여 특이 IgE 항체 양성 천식환자에서 *Der f II*에 대한 IgG 반응이 나타난다고 보고한 점에서 본 연구와 상이한 점이 있다. 그러나 저자들이 ELISA법으로 특이 IgG 아형 항체를 측정해본 결과 모든 아형에 대해 집먼지 진드기에 대한 피부반응 양성인 천식환자나 아토피성 정상인군 그리고 알레르기 피부반응이 음성인 비아토피성 천식 및 정상인 대조군 모두에서 *D. farinae* 전층체 추출액에 대해서는 높은 특이 항체를 나타내었으나 정제된 *Der f I* 및 *Der f II*에 대해서는 낮은 특이 항체를 나타내어 대부분의 IgG 항체반응이 *Der f I* 이나 *Der f II*가 아닌 다른 항원에 대한 반응일 가능성을 시사한바 있으며²⁵⁾ Nakada등도 sephadex column으로 *D. farinae*항원을 분획하여 분자량 150 KD이상의 고분자 항원과 9-21 KD의 저분자 알레르겐으로 나누어 각각 같은 양의 항원을 사용하여 ELISA 방법으로 특이 항체를 측정해본 결과 특이 IgE 항체는 주로 저분자 알레르겐 분획에 대해 더 높은 항체를 보였으나 IgG1 이나 IgG4 항체의 경우 주로 고분자 항원에 반응하였으며 저분자 알레르겐 분획과 반응하는 경우는 면역 치료군에서 13명중 1명에서만 관찰되었다고 보고하였다²⁶⁾. 이상의 ELISA 연구 결과는 본 연구의 결과와 일치하는 결과로 생각된다. 또한 이러한 *Der f I* 및 *Der f II*에 대한 IgE 반응과 IgG 반응의 불일치는 자연적으로 존재하는 집먼지 진드기에 대한 특이 IgG 항체가 차단 항체로 작용할 가능성에 대해 상반되는 결과로 생각된다.

T 임파구에 대한 연구 진전의 결과로 기생충에 대한 면역 반응²⁷⁾이나 알레르기 면역 반

응에서의 TH2 type의 T 임파구의 역할이 강조되고 있으며 또한 이러한 세포에서 분비하는 Interleukin-4등이 B 임파구에서의 Immunoglobulin switching에 관여하여 항원 특이 IgE와 IgG4 항체 형성에 관여한다고 알려져 있으며 특정 알레르겐에 대한 IgE 및 IgG4 항체반응은 서로 잘 비례한다고 알려져 있다²⁸⁻²⁹⁾. 또한 목초 화분에 관한 isoelectric focusing immunoprint 분석의 결과에 따르면 각종 면역 글로블린 아형의 항원 인지 양상을 비교해본 결과 특이 IgG4 항체 양성군에서는 IgE 항체가 반응하는 알레르겐 분획(allergen repertoire)에 대해 IgG4 및 IgG1, IgA2 항체가 반응을 하고 특이 IgG4 항체 음성군에서는 이러한 알레르기성 분획에 대한 항체반응이 현저하지 않음을 보고하였다³⁰⁾. 그러나 본 연구에서는 IgE 양성이거나 음성인 군 모두에서 집먼지 진드기 항원에 대한 IgG 항체반응시 특이한 분획의 차이를 관찰할 수 없었다.

이상으로 집먼지 진드기에 대한 IgG 반응은 주로 30 KD이상의 고분자 단백질에 대해 나타남을 관찰할 수 있었으며 특이 IgE 항체의 존재여부나 천식의 존재여부와 관계없이 정상인과 천식환자군 모두에서 IgG 아형 항체 반응 단백질분획의 차이를 관찰할 수 없었다.

결 론

집먼지 진드기는 세계적으로 호흡기 알레르기 질환에서 가장 중요한 알레르겐으로 알려져 있으며 이에 대한 IgE 항체 반응은 알레르기 질환의 병인에 중요한 역할을 한다. 집먼지 진드기에 대한 특이 IgG 항체는 특이 IgE 양성인 아토피성 천식환자 뿐만 아니라 비아토피성 천식이나 심지어는 정상 대조군의 일부에서도 검출된다고 보고되었다. 이에 집먼지 진드기 (*D. farinae*)항원에 대한 특이 IgE 항체 양성

자와 음성자간에 특이 IgG 항체 반응의 차이를 보고자 연세대학교 의과대학 세브란스 병원 특수진료소 알레르기 클리닉에 내원하여 호흡기 알레르기 질환으로 진단받고 집먼지 진드기 알레르기 피부반응 검사를 실시한 성인 천식환자 중 특이 IgE 항체 양성이며 *D. farinae*에 대한 기관지 천식 유발검사상 양성을 보인 5명 및 피부반응 및 특이 IgE 양성이나 특이한 알레르기 질환을 가지지 않는 아토피성 정상 대조군 5명, 피부반응 및 특이 IgE 음성이며 특이 IgG양성을 보인 비아토피성 천식 환자 5명과 정상 대조군 5명의 혈청을 이용하여 Immunoblot analysis를 시행하였다.

1. IgE에 대한 immunoblot analysis 결과 성인 천식환자 중 특이 IgE 항체 양성이며 *D. farinae*에 대한 기관지 천식 유발검사상 양성 반응을 보인 5명에서만 유의있는 IgE 결합 반응을 관찰할 수 있었으며 이들은 각각 164, 127, 98, 94, 86, 80, 70, 61, 51, 41, 30, 23 (*Der f I*), 19, 17(*Der f II*), 15, 13, 11 KD의 17개 위치에 반응 단백띠를 관찰할 수 있었으며, *D. farinae* 특이 IgE 양성이나 알레르기 질환을 가지지 않는 아토피성 정상 대조군 5명 중 2명에서 17 KD의 *Der f II*에 대해서만 약하게 반응을 관찰하였다.

2. IgG1, IgG2, IgG3 그리고 IgG4 항체에 대한 immunoblot analysis 결과 각각 13, 9, 7, 13개의 반응 단백띠가 관찰되었으며, 특이 IgE의 유무에 관계없이 주로 *Der f I* 이나 *Der f II*를 제외한 30 KD에서 164 KD사이 단백분획에 대해 반응을 보였으며 각군간에 반응 양상의 차이를 관찰할 수 없었다.

이상으로 집먼지 진드기에 대한 IgG 반응은 주로 30 KD이상 크기의 단백분획들에 대해 나타남을 관찰할 수 있었으며, 특이 IgE 항체의

존재여부나 천식의 존재여부와 관계없이 정상인과 천식환자군 모두에서 IgG 아형 항체 반응 단백질 분획의 차이를 관찰할 수 없었다.

- Abstract -

Comparison of IgG antibody responses to *Dermatophagoides farinae* between specific IgE - positive and - negative subjects : An immunoblot analysis

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*

IgG antibody responses to house dust mite is known to be detected in sera from mite-sensitive asthmatics and even in sera from specific IgE negative healthy controls and non-atopic asthmatics. To evaluate the IgG subclass response to house dust mite(*D. farinae*) in specific IgE positive or negative asthmatics and controls, we examined the IgE and IgG subclass

responses to *D. farinae* whole body extracts by immunoblot analysis in 20 sera from 5 *D. farinae*-specific IgE positive asthmatics and 5 atopic controls and 5 non-atopic asthmatics and 5 non-atopic healthy controls. IgE antibodies in sera from *D. farinae*-specific IgE positive asthmatics bound to 17 protein bands of *D. farinae*(164, 127, 98, 94, 86, 80, 70, 61, 51, 41, 30, 23(*Der f I*), 19, 17(*Der f II*), 15, 13, 11 KD). IgG1, IgG2, IgG3 and IgG4 antibodies bound to 13, 9, 7, 13 protein bands of *D. farinae*, mainly protein bands with molecular weight 30 to 164 KD, and there were no differences in binding patterns between asthmatics and controls regardless of the presence of specific IgE antibodies.

In conclusion IgG subclass antibody responses to *D. farinae* from sera of asthmatic patients and controls were seemed to be restricted to high molecular weight proteins from 30 to 164 KD rather than to *Der f I* and *Der f II* regardless of the presence of IgE.

참 고 문 헌

- 1) Voorhost R, Spieksma-Boezeman MIA, Spieksma FTM : Is a mite (*Dermatophagoides sp.*) the producer of the house dust allergen? *Allergie Asthma* 10 : 329-334, 1964
- 2) Voorhost R, Spieksma FTM, Varekamp H, Leupen MJ, Lyklema AW : The house-dust mite(*Der*matophagoides pteronyssinus*) and the allergens 9t produces, Identity with the house-dust allergen. *J Allergy* 39 : 325 - 339, 1967
- 3) Platts-Mills TAE, de Weck AL : Dust mite allergens and asthma - a world wide problem. *J Allergy Clin Immunol* 83 : 416 - 27, 1989
- 4) 강석영, 최병휘, 문희범, 민경업, 김유영 : 한국인 호흡기 알레르기 환자에 있어서의 피부 시험 성적에 관한 연구, *알레르기* 4 : 49 - 56, 1984
- 5) 윤여운, 이미경, 박해심, 박성삼, 홍천수 : 알레르기 환자에서 시행한 피부단자 시험과 혈청 IgE 검사성적, *알레르기* 9 : 385 - 398, 1989
- 6) 강신옥, 박해심, 홍천수 : 피부단자 시험 판정 기준별 RAST성적의 비교 관찰, *알레르기* 8 : 225 - 235, 1988
- 7) 홍천수 : 집먼지 진드기에 대한 환자의 감각 상태와 환자 집먼지내 집먼지 진드기의 상태에 관한 조사, *알레르기* 11 : 457 - 465, 1991
- 8) Aalberse RC, Dieges PH, Knui-Bretlova A, Vooren P, Aalberse M, van Lecunwen J : IgG4 as blocking antibody. *Clin Rev Allery* 1 : 289 - 302, 1983
- 9) Chapman MD, Platts-Mills TAE : Measurement of IgG, IgA, and IgE antibodies to *Dermatophagoides pteronyssinus* by antigen-binding assay, using a partially purified fraction of mite extract. *Clin Exp Immunol* 34 : 126 - 136, 1978
- 10) Kemeney DM, Urbanek R, Ewan P, Mchugh S, Richards D, Patel S, Lessof MH : The subclass of IgG antibody in allergic disease II : The IgG subclass of antibodies produced following natural exposure to dust mite and grass pollen in atopic and non-atopic individuals. *Clin Exp Allergy* 19 : 545 - 549, 1989

- 11) Etievant M, Leluc B, Bouclier R, Henocq E : Immuno-enzymatic study of IgG subclasses specific for allergen in house dust immediate hypersensitivity. *Ann Allergy* 43 : 169-173, 1979
- 12) Laemmli UK : Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227 : 680-685, 1970
- 13) Towin H, Staehelin T, gordon J : Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets : procedure and some applications *Proc Natl Acad Sci USA* 76 : 4350-4354, 1979
- 14) 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
- 15) Baldo BA, Donovan GR : House dust mite (*Dermatophagoides spp.*) allergens : reserch directions and priorities in the 1990s. *Monogr Allergyb* 28 : 138-158, 1990
- 16) 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
- 17) Nakanishi K. Shimotaka K : Immunoblot analysis of *Dermatophagoides farinae* antigen. *Ann allergy* 64 : 219-223, 1990
- 18) Dust Mite Allergens and Asthma : Report of A Second International Workshop. *J Allergy Clin Immunol* 80 : 1046-1060, 1992
- 19) Shibasaki M. Isoyama S, Takita H : Influenceof age on IgE responsiveness to *Dermatophagoides farinae* : An Immunoblot study. *Int Arch Allergy Immunol* 103 : 53-58, 1994
- 20) Urbanek R, Kemeny DM, Richards DR : Subclass of anti-bee venom antibody produced during bee venom immunotherapy and its relationship to long-term protection from bee stings and following termination of venom immunotherapy. *Clin Allergy* 16 : 317-322, 1986
- 21) 김미경, 김유영 : 집먼지 진드기에 과민한 기관지 천식 환자에서의 면역요법중 혈청내 특이 IgG 아형 항체의 변동. *대한내과학회 잡지* 39 : 204-212, 1990
- 22) Durup R. Malling HJ : High IgG4 antibody level is associated with failure of immunotherapy with inhalation allergens. *Clin Allergy* 17 : 459-468, 1987
- 23) Platts-Mills TAE, Longbottom J, Edwards J, Cockcroft A, Wilkins S : Occupational asthma and rhinitis related to laboratory rats : Serum IgG and IgE antibodies to the rat urinary allergens. *J Allergy Clin Immunol* 79 : 505-515, 1987
- 24) Oshika E, Kuroki Y, Sakiyama Y, Matsumoto S : Measurement of IgG subclass antibodies to the group II antigen of *Dermatophagoides pteronyssinus*(*Der PII*) in sera from children with bronchial asthma. *Ann Allergy* 69 : 427-432, 1992
- 25) Hong CS, Park JW, Nahm DH : Measurement of IgG subclass and IgE antibodies of whole body antigen and two major allergens (*Der f I & Der f II*) of *Dermatophagoides farinae* in normal and

-D. H. Nahm, et al. : Comparison of IgG antibody responses to *Dermatophagoides farinae* between specific IgE-positive and -negative subjects : An immunoblot analysis-

- respiratory allergy patients. Yonsei Med J (In press)
- 26) Nakada S, Saito A, Yasueda H, Shida T, Nakagawa T, Haida M, Ito K, Miamoto : Measurement of IgE, IgGi and IgG4 antibodies against mite sephades fractions and prified allergens by means of enzyme-linked immunosorbent assay, Arerugi 38 : 9-15, 1989
- 27) King CL, Nutman TB : IgE and IgG subclass regulation by IL-4 and IFN-g in human helminth infections : Assessment by B cell precursor frequencies. J Immunol 151 : 458-465, 1991
- 28) Vercelli D, Geha RS : Regulation of IgE synthesis in humans : a tale of two signals. J Allergy Clin Immunol 88 : 285-295, 1991
- 29) Romagnani S : Human TH1 and TH2 subsets : doubt no more, Immunol Today 12 : 256-257, 1991
- 30) Batard T, Basuyaux B, Bremard-Oury C, Hamilton RG, David B, Peltre G : Isotypic analysis of grass pollen-specific immunoglobulins in human sera, Int Arch Allergy Immunol 100 : 68-78, 1993