



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

의 학 석 사 학 위 논 문

3세 미만의 아토피 피부염 환자에서 모체를 통한
난백(Egg White) 항원 감각의 양상

아 주 대 학 교 대 학 원

의 학 과

전 계 리

3세 미만의 아토피 피부염 환자에서 모체를
통한 난백(Egg White) 항원 감각의 양상

지도교수 이 수 영

이 논문을 의학 석사학위 논문으로 제출함.

2001년 2월

아 주 대 학 교 대 학 원

의 학 과

전 계 리

전계리의 의학 석사학위 논문을 인준함

심사위원장 이수영(인)

심사위원 홍창호(인)

심사위원 남동호(인)

아주대학교대학원

2000년 12월 22일

감사의 글

이 논문을 준비하고 마무리까지 많은 격려와 지도를 해 주신 이수영 교수님께 깊은 감사를 드리며, 연구 진행에 도움을 주신 홍창호 교수님, 남동호 교수님께도 진심으로 감사를 드립니다.

언제나 저를 믿고 사랑해주신 부모님께도 감사의 마음을 전합니다.

3세 미만의 아토피 피부염 환자에서 포체를 통한 난백(Egg White) 항원 감각의 양상

아토피 피부염은 만성 염증성 피부질환으로 연장소아나 성인에서와는 달리 영유아에서는 식품알레르기가 원인인 경우가 흔하다. 연구자는 3세 미만의 아토피 피부염 환아를 대상으로 생후 처음 식이한 난백 항원에 의하여 급성 알레르기 반응을 나타낸 경우와 수개월 이상 난백 항원을 식이한 알레르기 환아에서 3 종류의 주요 난백 항원에 대한 혈청 IgE 및 IgG 반응의 차이를 알아보고자 본 연구를 시행하였다.

아토피 피부염환자 중 혈청 검사 상 난백 항원 특이 항체가 양성인 3세 이하 영유아 16명을 대상으로 난백에 첫 노출시 증상이 나타났던 비식이감작군 (Non-dietary sensitization 이하 NDS, 8명)과 직접 난백섭취에 의하여 감각이 이루어진 식이감작군(Dietary sensitization 이하 DS, 8명)으로 나누어 3종류의 주된 난백 알레르기에 대한 IgG 및 IgE 결합양상을 비교하였다.

IgG-blot 결과 모든 환아에서 ovalbumin과 ovotransferrine에 대한 특이 IgG 결합을 볼 수 있었으나 ovomucoid의 경우 생후감작군(DS)의 경우 7례 (7/8, 88%)에서 결합띠를 관찰할 수 있었으나 비식이감작군(NDS)에서는 3례 (3/8, 38%)에서만 약한 결합띠가 관찰되었다. IgE-blot의 경우 전반적으로 IgG-blot에 비해 난백 항원-항체의 결합 빈도가 낮았으며 ovalbumin에 대한 결합띠가 약하게 나타났고 두 군간의 항원-항체 결합 양상의 차이는 보이지 않았다.

이상의 결과로 볼 때 난백 특이 IgE는 현재의 아토피 질환과 연관이 있으며

난백 특이 IgG는 난백 항원의 노출 지표로 사용될 수 있다. 또한 ovomucoid 특이 IgG는 난백 항원 노출정도와 기간에 비례하여 증가됨을 알 수 있었다.

핵심되는 말 : 아토피성 피부염, 난백 알레르기, 비식이감작, 난백 특이 IgE, 난백 특이 IgG

차 례

논문 인준서	i
감사의 글	ii
국문요약	iii
차례	v
그림차례	vi
표차례	vii
I. 서론	1
II. 연구대상 및 방법	2
A. 연구대상	2
B. 실험방법	2
III. 결과	4
IV. 고찰	14
V. 결론	18
참고문헌	19
영문요약	23

그림 차례

Figure 1. SDS-PAGE Analysis of Individual Egg White Proteins ---	
-----	7
Figure 2. Results of Egg White specific-IgG Immunoblot in AD	
Patients-----	9
Figure 3. Illustration of Individual IgG binding patterns to Egg White	
Extract-----	10
Figure 4. Results of Egg White specific-IgE Immunoblot in AD	
Patients-----	12
Figure 5. Illustration of Individual IgE binding patterns to Egg White	
Extract-----	13

표차례

Table 1. Clinical and Laboratory Profiles in Non-dietary Sensitization

----- 4

Table 2. Clinical and Laboratory Profiles in Dietary Sensitization

----- 5

I 서론

아토피 피부염은 아토피의 가족력, 가려움, 특징적인 피부 병변을 가지는 제 1형 과민반응에 의한 만성 염증성 피부질환이다.¹ 환자의 약 60%정도는 생후 1세 이전에 아토피 피부염의 증상이 발생하며 자연 경과는 매우 다양하지만 대체로 2세 이전에 많은 환자에서 호전을 보이게 되나 일부는 사춘기가 되어서야 호전이 된다. 특히 조기에 광범위한 부위의 피부병변이 발생한 경우, 굴측 부위에 침범한 경우, 동반된 호흡기 증상이 있는 경우 및 달걀에 민감한 경우에 좋지 못한 예후를 보인다고 알려져 있다.² 특히 성인에서와는 달리 영유아의 경우 달걀, 우유, 콩단백 등에 의한 식품 알레르기가 아토피 피부염의 병태생리에 중요한 역할을 하며 피부염의 시작은 흔히 식품의 섭취와 연관되어 나타나는 것으로 알려져 있다.^{3, 4} 중등증 이상의 영유아 아토피 피부염 환자의 약 40%는 식품알레르기 환자이며, 이런 경우 대부분 2-3년 동안 원인 식품을 금식함으로써 임상양상의 호전을 기대할 수 있다.⁴ 난백(Egg White)은 식품 알레르기에 의한 아토피 피부염의 발현에 중요한 역할을 하는 단백질으로써 난백의 알레르기 항원성과 관련된 최근 연구들에 의하면 ovalbumin(42kDa), ovomucoid(28kDa), ovomucoprotein(80kDa) 및 lysozyme(14kDa)이 주된 알레르겐이며 이 중에서도 ovomucoid는 특히 소화효소인 pepsin에 내성이 있고 열에 강한 epitope이 있어 가장 중요한 역할을 하는 원인 항원으로 알려져 있다.⁵ 식품항원에의 감작은 주로 원인 항원을 일정기간 식이함으로써 일어나지만, 최근 태내감작이나 모유를 통한 소량의 모체 식이 단백질에 의한 항원감작의 중요성도 논의되고 있다.⁶ 연구들에 의하면 산모나 수유부에게 이러한 고 알레르기 식품의 섭취를 제한하며 모유수유를 함께 시행함으로써 영유아에서 알레르기 질환의 예방에 도움이 되는 것으로 알려져 있다.⁷ 또한 본원 소아과에 내원한 아토피

피부염 영유아의 경우 달걀을 처음 먹었을 때 두드러기를 경험한 환자가 늘고 있어 이에 대한 관심이 필요한 시점이다. 이에 본 연구에서는 아토피 피부염으로 진단된 3세 이하 영유아를 대상으로 radioimmunoassay(RIA) 검사상 난백 특이 IgE 항체가 $2+(0.70 \text{ IU/ml})$ 이상으로 양성인 환아에서 난백에 첫 노출시 임상증상이 발생하여 태내감작 혹은 모유를 통한 감작으로 의심되는 군과 환자 자신의 식이에 포함된 난백의 반복 섭취에 의해 감작된 경우 두 군 사이에 항원감작 양상의 차이가 있는지를 알아보았다.

II 연구대상 및 방법

A. 연구대상

아주대학교병원 소아과에 내원하여 아토피 피부염으로 진단 받은 3세 이하 영유아를 대상으로 난백에 대한 RIA(AlaSTAT, DCP, USA) 검사를 시행하여 난백 특이 IgE 항체가 2+ 이상(0.70 IU/ml<)인 환아를 대상으로 하였다. 난백에 첫 노출시 임상증상을 일으킨 8명을 비식이감작군(Nondietary sensitization 이하 NDS), 식이에 포함된 난백의 반복섭취에 따라 임상증상이 악화되는 8명을 식이감작군(Dietary sensitization 이하 DS)으로 구분하고 난백에 대한 특이 IgE 항체가 음성인 비아토피 환아 6명을 대조군으로 하였다. 이들의 혈청을 이용하여 3종류의 난백 주항원(ovalbumin, ovomucoid, ovotransferrine)에 대한 IgE, IgG western blot을 시행하여 개별 결합양상을 비교 분석하였다.

B. 실험방법

1. 난백 항원의 SDS-PAGE

SDS-PAGE는 precast Tris-Glycin mini gel, 4-20% gradient를 사용하였고, 항원은 시판되는 ovalbumin, ovomucoid, ovotransferrine(Sigma, St. Louis, MO)을 5:1:1의 비율로 섞어 전체항원 2.8mg/ml의 농도로 만들어 시행하였다. 항원을 Novex sample buffer(0.5M Tris-HCl, pH 6.8, glycerol, 10% SDS, 0.1% bromophenol blue in DW)와 1:1로 섞어 95℃에서 3분간 가열 후 50 μ l/gel을 loading하고 125V에서 120분간 전기영동 하였다. 각각의 단백질의 분자량 측정을 위하여 pre-stained wide range 표준단백(Novex, Sandiego, CA)을 이용하였다.

2. 난백 항원의 IgG, IgE western-blot

전기영동이 끝난 단백질을 nitrocellulose막에 50V로 90분간 이행시켰다. 그 후 막을 pH 7.4의 phosphate buffered saline(PBS)에 3회 세척한 후 3% BSA가 함유된 PBS에 실온에서 3시간 동안 담구어 불필요한 단백질의 부착을 억제하였다. 이를 다시 0.01% PBS-T로 3회 세척하고 막을 4-5mm 두께로 잘라 각각의 strip을 blotting well에 넣고 IgG western blot을 위하여 1:36 vol/vol으로 희석한 환자 혈청을 넣어 4°C cold room에서 16시간동안 흔들면서 반응시켰다. 이를 다시 세척한 후 biotin이 부착된 anti-human IgG(Sigma, St. Louis, MO)를 1:5000 vol/vol으로 희석하여 각각 넣고 2시간동안 실온에서 흔들면서 반응시키고 다시 세척한 후 avidine-phosphatase(1:1000 vol/vol)를 1시간동안 반응시켰다. 이를 다시 3회 세척한 후 BCIP/NBT alkaline phosphatase substrate (5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate/nitro blue tetrazolium, Sigma, St. Louis, MO) 시약으로 반응 시켰다. 반응 시간은 모든 경우에서 15분으로 하였고 반응이 끝난 strip은 증류수로 3회 세척한 후 실온에서 건조시켰다. 혈청과 반응한 각각의 strip에서 IgG와의 반응 단백질의 띠를 육안으로 관찰하여 분석하였고 이 때 각각의 단백질 분자량은 표준단백의 이동거리에 의거하여 계산하였다. IgE western blot은 환자 혈청을 1:10으로 희석하여 반응시켰으며 biotin이 부착된 anti-human IgE(Vector Lab., Burlingame, CA)를 1:1000으로 희석하여 IgG western blot과 동일한 방법으로 시행하여 단백질 띠를 관찰하였다.

III 결과

A. 대상

난백항원에 알레르기가 있는 아토피 피부염 환아는 16명으로 남아가 9명, 여아가 7명이었고 연령은 평균 15.21 ± 10.63 개월이었으며 이들의 임상상은 Table. 1, Table. 2와 같다. 전체 대상 환아의 총 IgE는 19-931 IU/ml로 다양하였는데, 난백 항원에 대한 특이 IgE는 평균 10.38 ± 94 IU/ml이었다. NDS군에서 환아 5는 난백 특이 IgE는 음성이었으나 난황 특이 IgE가 0.93 IU/ml로 양성인 환아였다.

Table 1. Clinical and Laboratory Profiles in Non-dietary Sensitization(NDS)

Case	Sex	Age(Month)	Diagnosis	Total IgE(IU/ml)	EW [*] -specific IgE(IU/ml)
1	F	18	AD	19	33.66
2	M	7	AD, U	292	8.79
3	M	4	AD	19	8.76
4	F	4	AD	26	8.11
5	M	7	AD, U	116	0.12 ^{**}
6	F	36	AD, U	108	6.72
7	M	15	AD	38	8.18
8	F	8	AD	71	25.7
Mean \pm SD		12.37 ± 10.78		86.12 ± 91.75	12.50 ± 11.17

* EW: Egg white

** Egg yolk-specific IgE was 0.93 IU/ml

AD: Atopic dermatitis, U: Acute urticaria

Table 2. Clinical and Laboratory Profiles in Dietary Sensitization(DS)

Case	Sex	Age	Diagnosis	Total IgE(IU/ml)	EW*-specific IgE(IU/ml)
1(9)	F	12	AD, BA	54	19.93
2(10)	M	21	AD	602	10.46
3(11)	M	36	AD, BA	628	1.42
4(12)	F	32	AD	111	4.87
5(13)	M	36	AD, U	931	5.32
6(14)	M	11	AD, U	45	2.58
7(15)	F	9	AD	14	18.38
8(16)	M	12	AD, U	43	13.19
Mean±SD		21.12±11.81		303.51±359.75	8.26±7.77

* EW: Egg white

AD: Atopic Dermatitis

BA: Bronchial Asthma

U: Acute urticaria

B. SDS-PAGE analysis

본 연구에서 SDS-PAGE에 의하여 난백의 주요 단백분획을 관찰할 수 있었다. 이 중 분자량 36kD 부위에서 나타나는 굵은 단백질 분획과 14kD 부위에서 나타나는 약한 단백질 분획이 ovomucoid, 42-56kD 부위에 굵고 넓게 분포한 단백질 분획이 ovalbumin, 74kD 부위에 보이는 단백질 분획이 ovotransferrine이다(Fig. 1).

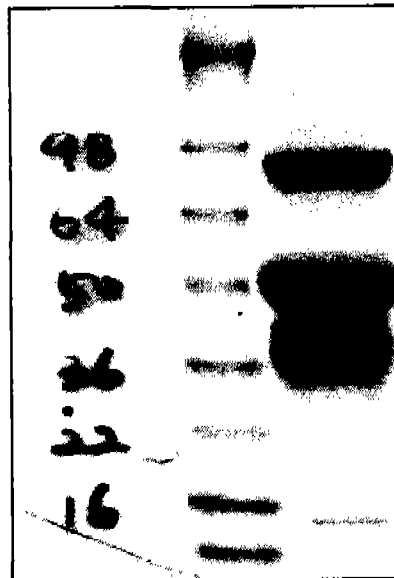


Fig 1. SDS-PAGE Analysis of Individual Egg White Proteins: ovalbumin, ovomucoid, ovotransferrine

C. 주요 난백 항원에 대한 IgG western-blot

NDS과 DS 전례에서 74kDa 분획의 ovotransferrine에 강한 결합이 관찰되었다. 42-56kDa 부위의 ovalbumin에는 NDS의 경우 7례(7/8, 88%)에서 강한 결합을 보였으며 난황에 알레르기가 있는 환자 5에서도 결합이 관찰되었으며 DS에서는 8례(100%) 모두에서 강한 결합이 관찰되었다. 반면 36kDa 부위의 ovomucoid는 NDS에서는 1례(1/8, 13%)에서 강한 결합을 보이고 2례(2/8, 25%)에서 약한 결합이 확인되어 38%에서 결합띠가 관찰되었으나 DS에서는 2례를 제외한 나머지 6례(6/8, 75%)에서 모두 결합띠가 선명하게 관찰되었다. 대조군에서는 ovotransferrine에 대한 결합띠는 모두 관찰되었으며 ovalbumin에 대한 결합띠는 4례(4/8, 50%)에서 양성이었고 ovomucoid에 대한 결합띠는 3례(3/8, 38%)에서 비교적 강하게 관찰되었다. 혈청대신 음성대조액으로 사용한 bovine serum albumin(BSA)으로 반응시킨 strip에서는 난백 항원에 대한 결합띠가 관찰되지 않았다(Fig. 2, 3).

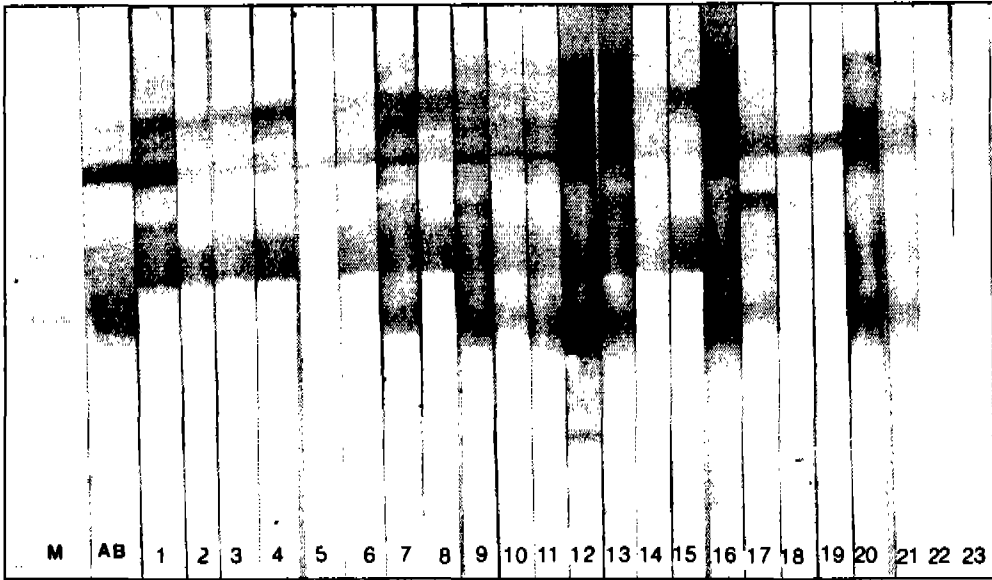


Fig. 2. Results of Egg White specific-IgG Immunoblot in AD Patients. M:molecular weight standard marker, AB:amido black stain, individual sera from non-dietary sensitization(lane 1-8), individual sera from dietary sensitization(lane 9-16), and negative controls (lane 17-22). Blank strip using BSA(lane 23).

Case	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Binding Proteins																
ovomucoid	○					○	●		●	●	●	●	●			●
ovalbumin	●	●	●	●	○	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
ovotransferrine	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●

Fig. 3. Illustration of individual IgG binding patterns to EW(ovalbmin, ovomucoid, ovotransferrine)extract. 1-8:Non-dietary sensitization, 9-16:Dietary sensitization. ○: weak reaction, ●: strong reaction

D. 주요 난백 항원에 대한 IgE western-blot

IgE-blot의 경우 IgG-blot에 비해 전반적으로 항원-항체 결합의 빈도가 낮고 약하게 관찰되었다. 먼저 NDS의 경우 74kDa의 ovotransferrin은 3례(3/8, 38%)에서 강한 결합띠가 관찰되었고, 42-56kDa의 ovalbumin 부위와 결합하는 혈청은 5례(63%)에서 관찰되었는데 이 중 1례는 매우 강한 결합을 보였다. 36kDa의 ovomucoid 분획에는 3례(3/8, 38%)에서 결합띠가 관찰되었다. DS에서는 ovotransferrin에 7례(7/8, 88%)가 결합하였으며 ovalbumin에는 6례(6/8, 75%)에서 결합띠가 관찰되었다. Ovomucoid 부위에는 4례(4/8, 50%)에서 결합띠가 관찰되었는데 이 중 3례(3/8, 38%)는 강한 결합을, 1례(1/8, 13%)에서는 약한 결합이 관찰되었다. 한편, 대조군의 경우 3례(3/6, 50%)에서 74kDa 부위의 ovotransferrin 부위에 약한 결합띠가 관찰되었을 뿐 나머지 난백 항원에는 항원-항체 결합이 관찰되지 않았다 (Fig. 4, 5).

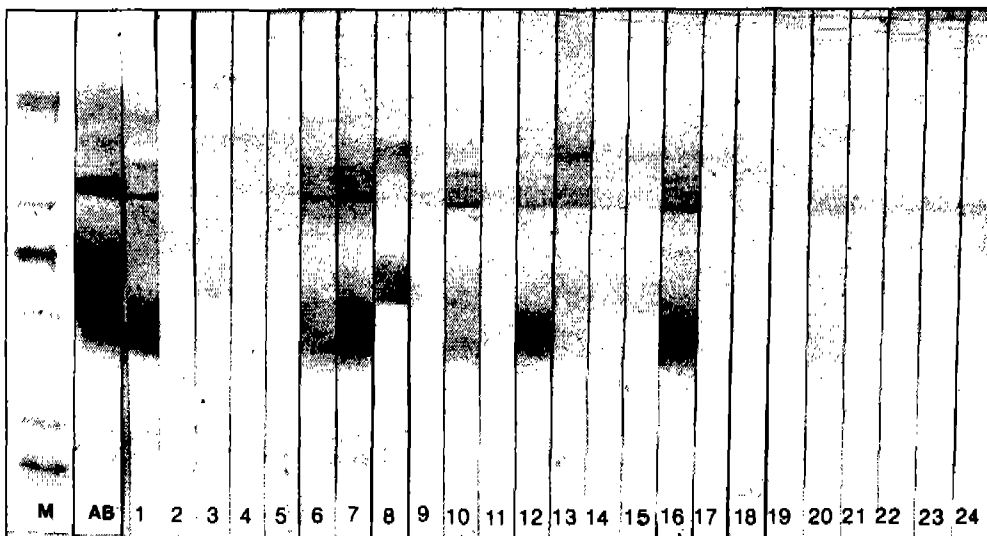


Fig. 4. Results of Egg White specific-IgE Immunoblot in AD Patients. M:molecular weight standard marker, AB:amidoblack stain, individual sera from non-dietary sensitization(lane 1-8), individual sera from dietary sensitization(lane 9-16), and negative controls(lane 17-22). Blank strip using BSA(lane 23, 24).

Cases	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Binding proteins																
ovomuroid	●					●	●			●		●	○			●
ovalbumin	○		○			○	○	●		○			○	○	○	○
ovotransferrine	●					●	●			●		●	●	○	○	●

Fig. 5. Illustration of individual IgE binding patterns to EW(ovalbmin ovomuroid, ovotransferrine)extract. 1-8:Non-dietary sensitization 9-16:Dietary sensitization. ○: weak reaction, ●: strong reaction

IV 고찰

아토피 피부염환자에서 식품알레르기가 실제로 원인이 되는지를 규명하는 과정은 아직도 많은 어려움이 있는데, 그 이유는 병력 청취시 식품을 섭취한 후 증상이 악화된다는 인과관계가 확실하지 못한 경우가 많고 두 번째로 피부 병변의 악화와 호전에 여러 가지 환경적인 요인이 동시에 관여하며 마지막으로 환자들에게서 다양한 항원에 대한 다양한 정도의 IgE가 생기는 경향이 있기 때문이다.^{4, 7-9} 아토피 피부염환자는 대체로 전체 IgE 농도와 식품에 대한 특이 IgE 항체의 농도가 증가되어 있으며 섭취된 식품 항원은 위장관벽을 통과하여 피부에 있는 IgE를 함유한 비만세포로 전달된다.¹⁰ 아토피 피부염의 발현에 태내환경이 어떠한 역할을 할 수 있다는 것은 매우 흥미로운 사실로, 임신 기간 중 노출된 일부 흡입항원 혹은 식품항원에 대하여 태아가 항체를 생산한다는 보고가 있다.^{10, 11} 최근 알려진 바에 의하면 IgE 매개성 항원 특이 반응은 태아기에 이미 시작할 수 있으며, IgE가 태반을 통과하지 못함에도 불구하고 제대혈에서 검출되는 것은 태아가 이미 IgE를 생산한다는 사실을 뒷받침해준다.⁶ 제대혈에서의 혈청 총IgE 농도를 측정하여 향후 아토피 질환의 발생 가능성에 대해 미리 예측 할 수 있다는 보고가 있는 반면, 최근 보고에 의하면 제대혈 총 IgE 농도는 아토피를 예측하는데 별 도움이 되지 못한다는 보고도 있다.¹¹⁻¹⁴ 그러나 항원 특이 IgE 농도에 대한 역학적 연구는 아직 확립되지 않았다. IgE 항체 중 일부 아형은 임신기간 동안 태반을 통해 태아에게 전달되는데 특히 임신 20주부터 상당히 많은 양이 전달되며 32주에 최고조에 이르게 되며, 출생 후 3-6개월에 거의 소진된다. 태아의 식품 항원에 대한 IgE 항체생성 반응은 모체의 면역 환경에 의하여 조절되며, 출생 후에는 신생아의 위장관내 면역환경이 알레르기 발생에 주된 역할을 하게되는데 병원체에 대한 면역반응을 시작하

고 영양소를 흡수하며 섭취된 단백질에 대해 면역 관용(Immune tolerance)이 유도된다.¹⁵ 그러나 영유아의 경우 gut barrier의 미숙함으로 인해 식품항원의 노출이 증가되므로 유전적 소인을 타고난 영아의 경우 IgE-매개성 혹은 non-IgE-매개성 면역 반응을 자극하게된다.⁶ 이에 본 연구에서는 난백 항원에 처음 노출된 영아에서 IgE 매개형 피부증상(두드러기, 아토피 피부염)을 경험하여 태내 감작이 의심되었던 난백 알레르기 환자들과, 수개월 이상 난백항원 식이 후 알레르기 반응이 나타나 난백 알레르기로 진단되었던 아토피 피부염 환자를 대상으로 IgE, IgG western blot을 시행하여 봄으로써 IgE 매개형 난백특이 항체 생성 양상을 비교하여 보고자 하였다.

난백은 주위에서 쉽게 섭취할 수 있는 고단백 식품이지만, 항원성이 매우 높아 흔히 알레르기를 유발하게된다.¹⁶ 난백은 24종류의 단백질 분획을 가지고 있는데 난황보다 항원성이 더 높은 것으로 알려져 있으며 난백의 주요 항원에 대해서는 연구에 따라 다소의 차이는 있지만 대체로 4가지 주요항원에 대해서는 공통된 의견을 보인다.^{17, 18} Ovalbumin(*Gal d I*)은 난백의 약 54%를 차지하는 주요 단백질이지만 요소나 guanidinium salts에 의해 쉽게 변성된다. Ovotransferrin(*Gal d II*)은 철분 결합과 항균역할을 하며 lysozyme(*Gal d IV*)은 아직 달걀 알레르기 환자에서 어느 정도로 중요한 원인이 되는지 자세히 밝혀져 있지 않다. 한편 ovomucoid(*Gal d III*)는 난백의 11%를 차지하지만 열과 pepsin 등의 소화효소에 의하여 항원성이 변하지 않으므로 매우 중요한 역할을 하는데 Bernhisel-Broadbent¹⁸의 연구에 따르면 달걀에 지속적으로 과민반응을 보이는 소아에서 ovomucoid에 대한 특이 IgE 농도가 의미 있게 높아 ovalbumin보다 더 중요한 알레르겐이라고 하였으며 Urisu⁵의 연구에서도 ovomucoid-specific IgE 항체가 달걀 알레르기 환자에서 주된 알레르겐이며, 소아에서 달걀 알레르기의 예후를 예측하는 지표로 이용할 수 있다고 하였다. 그러나 Elsayed¹⁹의 연구에서는

ovalbumin이 주된 난백항원이라고 주장하여 주요 난백항원에 대해서는 연구자마다 조금씩 다른 견해를 보이고 있다. 본 연구에서는 western-blot시행을 위하여 정제된 3종류의 주요 난백항원을 이용하였는데, SDS-PAGE상 관찰되는 43-56kDa부위의 넓고 풍부한 띠는 ovalbumin에 해당하는 부분이며, 36kDa과 74kDa 부위에서 선명하게 관찰되는 분획은 각각 ovomucoid와 ovotransferrine이며, 12-14kDa부위의 얇은 분획은 ovomucoid fragment이다. 난백항원에 대한 IgG-immunoblot 분석상 NDS 군과 DS 군 모두에서 IgG 결합이 강하게 나타났으며 개별 항원별 결합 빈도도 높아 특히 ovalbumin의 경우 IgG와 100%에서 결합하였으며 대조군에서도 50% 내외에서 난백항원과 결합하는 양상이 관찰되었다. NDS 군에서 이러한 난백 특이 IgG 항체는 대개 태내환경 혹은 모유 수유시 노출된 항원에 대한 감각으로 환아 자신 스스로가 생산한 항체로 생각되는데 안타깝게도 본 연구에서는 연령이 6개월 이하인 2명의 환아들에서는 모체의 항체가 잔존한 것인지 환아가 생산한 항체인지 정확히 판단하기는 어렵다. 한편 Hattevig 등¹³은 수유부에서 우유와 달걀의 식이제한을 한 결과 생후 3개월째 ovalbumin과 beta-lactoglobulin 특이 IgE 항체 농도가 유의하게 감소되었으나 이들 항원의 특이 IgG농도는 식이제한과 상관없이 생후 6개월까지 유의하게 감소하는 양상을 보여 이 경우는 항원 특이 IgG가 모체를 통한 항체임을 알 수 있었다. Ovomucoid-specific-IgG는 NDS 군에서는 3례(3/8, 37%)에서만 결합 띠가 관찰되고 결합정도도 약하였으나, DS군과 대조군 일부에서는 ovomucoid-specific-IgG가 강한 결합띠로 관찰되었다. 본 연구에서의 이 같은 결과는 NDS 군의 경우 난백에 첫 노출시 임상증상이 나타나 그 이후로 달걀 섭취를 기피하여 난백항원에 노출될 기회가 적었기 때문으로 생각되는데, 따라서 ovomucoid-specific-IgG는 항원 노출빈도에 비례하여 증가하는 것으로 추정할 수 있다. 그러나 아쉽게도 본 연구에서는 이러한

ovomucoid에 대한 IgG 항체 생성과 임상증상에 대한 추적 관찰과 난백 유발 시험을 시행하지 못하여 임상증상과 IgG 항체사이의 관련성에 대하여는 논의할 수 없겠다.

Aabin등²⁰은 radioimmunoblotting을 이용한 연구를 시행하여 난백의 주요 항원 특이 IgE검출을 시행하였다. 결과적으로 ovalbumin과 lysozyme에 대한 IgE양은 적은 반면 ovomucoid와 ovotransferrine에 대한 IgE양은 상대적으로 많았다고 보고하였는데, 비록 정량 분석은 시행하지 못하였지만 본 연구의 결과도 이와 유사하였다. 즉, IgE-immunoblot 분석결과 NDS 군과 DS 군에서 대조군에 비하여 ovomucoid-specific-IgE의 결합이 강하게 관찰되었고 결합빈도(7/16, 43%)도 높아 통계학적으로 유의하였다(Chi-Square test, $p=0.041$). Falth-Magnusson 등¹²은 태내감작여부를 알기 위한 전향적 연구를 시행하였는데, 임신 중반이후 우유와 달걀식을 제한한 결과 산모의 우유와 달걀에 대한 특이 IgG 양이 유의하게 감소되고 제대혈에서 우유 및 난백 특이 IgE가 검출되지 않았다고 하였다. 그러나 이들 연구에서 대상 환아들의 추적관찰 시 실제 아토피 피부염의 발생은 산모나 수유부의 식이 제한과는 무관하며 제대혈 총 IgE 측정 역시 아토피 발생을 예측하는 인자가 아니라고 하였다.^{12, 13, 21} 반면 식품 항원 특이 IgG 항체가 아토피 질환의 발생을 예측하는 인자로 사용될 수 있다는 보고²²⁻²³도 있는데 본 연구에서는 환자의 임상경과와 관련하여 혈청IgE 및 IgG의 검출결과를 분석할 수 없었으므로 예측인자로서의 가치는 평가할 수 없었다. 단지 ovalbumin에 대한 강한 IgG 항체 반응은 모든 대상군에서 달걀항원에의 노출지표로 이용될 수 있으며, ovomucoid 특이 IgG 생성은 난백항원의 노출정도 및 기간에 비례한다고 추측되었다. 또한 ovomucoid 특이 IgE 항체 반응은 대조군에서는 관찰할 수 없었으므로 현재의 알레르기 증상과 관련이 있음을 알 수 있었다. 또한 모체가 식이한 달걀에 의해서도 난백항원에 대한 특이

OgE 생성이 유도될 수 있으므로, 신생아 및 영아기에 처음 식이한 난백에 의해서도 IgE 매개성 알레르기 반응이 나타날 수 있음을 간접적으로나마 확인할 수 있었다.

V 결론

달걀에 알레르기가 있는 3세 이하의 아토피 피부염 환자를 대상으로 난백 항원 특이 IgE 와 IgG western blot 분석을 시행하였다. 각각의 난백 항원에 대한 항원 특이 IgE 항체반응은 대조군에 비하여 NDS군 및 DS군에서 높았으며, NDS군과 DS군 사이에는 의미 있는 결합양상의 차이가 없었다. 한편 항원 특이 IgG의 생성은 ovalbumin의 경우, 모든 대상 환자에서 관찰된 반면, ovomucoid 특이 IgG는 DS군에서 높은 생성빈도를 보였다. 따라서 난백 항원 특이 IgE 반응은 현재의 아토피 질환과 연관이 있으나 NDS군과 DS군 사이에 반응의 차이는 없었으며, 항원 특이 IgG 반응의 경우는 난백 항원 노출 지표로 사용될 수 있겠다. 더욱이 ovomucoid 특이 IgG 반응의 정도는 난백 항원 노출의 정도와 기간에 비례하여 증가될 수 있음을 알 수 있었다.

참고 문헌

1. Beltrani VS: The clinical spectrum of Atopic dermatitis. J Allergy Clin Immunol 104;S87-98, 1999
2. Sampson HA, McCasill CC: Food hypersensitivity and atopic dermatitis: evaluation of 113 patients. J Pediatr 107;669-675, 1985
3. Van AP, Kemp AS, Mellis CM: Immediate food hypersensitivity reactions on the first known exposure to the food. Arch Dis Child 58;253-256, 1983
4. Sicherer SH, Sampson HA. Food hypersensitivity and atopic dermatitis: pathophysiology, epidemiology, diagnosis, and management. J Allergy Clin Immunol 104(3);S114-120, 1999
5. Urisu A, Ando H, Morita Y, Wada E, Yasaki T, Yamada K, Komada K et al: Allergenic activity of heated and ovomucoid-depleted egg white. J Allergy Clin Immunol 100(2);171-176, 1997
6. Jones CA, Holloway JA, Warner JO: Does atopic disease start in foetal life?. Allergy 55;2-10, 2000
7. Bellanti JA; Prevention of food allergies. Ann Allergy 53;683-691, 1984

8. Caffarelli C, Caragni G, Giordano S, Stapane I, Rossi C: Relationship between oral challenges with previously uningested egg and egg-specific-IgE antibodies and skin prick tests in infants with food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 95:1215-1220, 1995
9. Sampson HA, Ho DG: Clinical aspects of allergic disease: Relationship between food-specific IgE concentrations and risk of positive food challenges in children and adolescents. *J Allergy Clin Immunol* 100:444-451, 1997
10. Bock SA, Lee WY, Remigio LK, May CD: Studies of hypersensitivity reactions to foods in infants and children. *J Allergy Clin Immunol* 62:327-334, 1978
11. Herrmann ME, Dannemann A, Gruters A, Radisch B, Dudenhausen JW, et al. : Prospective study of the atopy preventive effect of maternal avoidance of milk and eggs during pregnancy and lactation. *Eur J Pediatr* 155(9):770-774. 1996
12. Falth-Magnusson K, Oman H, Kjellman N: Maternal abstention from cow milk and egg in allergy risk pregnancies. Effect on antibody production in the mother and the newborn. *Allergy* 42(1):64-73, 1987
13. Hattevig G, Kjellman B, Sigurs N, Grodzinsky F, Hed J, Bjorksten

- B: The effect of maternal avoidance of eggs, cow's milk, and fish during lactation on the development of IgE, IgG, and IgA antibodies in infants. *J Allergy Clin Immunol* 85:108-115, 1990
14. Hattevig G, Bjorksten B, Kjellman N: Effect of maternal avoidance of eggs, cow's milk and fish during lactation upon allergic manifestations in infants. *Clin Exp Allergy* 19:27-32, 1989
 15. Hyman PE, Clarke DD, Everett SL, Sonne B, Stewart D, Harada T et al: Gastric acid secretory function in preterm infants. *J Pediatr* 106:467-471, 1985
 16. Lever R, McDonald C, Waugh P, Aitchison T: Randomised controlled trial of advice on an egg exclusion diet in young children with atopic eczema and sensitivity to egg. *Pediatr allergy Immunol* 9:13-19, 1998
 17. Yamada K, Urisu A, Kakami M, Koyama H, Tokuda R, Wada E, Kondo Y et al: IgE-binding activity to enzyme-digested ovomucoid distinguishes between patients with contact urticaria to egg with and without overt symptoms on ingestion. *Allergy* 55:565-569, 2000
 18. Bernhisel-Broadbent J, Dintzis HM, Dintzis RZ, Sampson HA: Allergenicity and antigenicity of chicken egg ovomucoid(*Gal d III*) compared with ovalbumin(*Gal d I*) in children with egg allergy and in mice. *J Allergy Clin Immunol* 93(6):1047-1059, 1994

19. Elsayed S, Holen E: Characterization of four major allergens of hen egg-white by IEF/SDS-PAGE combined with electrophoretic transfer and IgE-immunoradiography. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 91;136-141, 1990
20. Aabin B, Poulsen LK, Ebbhoj K, Norgaard A, Frokiaer H, Bindselv-Jensen C, et al: Identification of IgE-binding egg white proteins: comparison of results obtained by different methods. *Int Arch Allergy Immunol* 109(1);50-57, 1996
21. Knippels LM, van der Kleij HP, Koppelman SJ, Houben GF, Penninks AH, Felius AA: Comparison of antibody responses to hen's egg and cow's milk proteins in orally sensitized rats and food-allergic patients. *Allergy* 55;251-258, 2000
22. Rowntree S, Cogswell JJ, Platts-Mills TA, Mitchell EB: Development of IgE and IgG antibodies to food and inhalant allergens in children at risk of allergic disease. *Arch Dis Child* 60;727-735, 1985
23. Lilja G, Dannaeus A, Foucard T, Graff-Lonnevig V, Johansson SG, Oman H: Effects of maternal diet during late pregnancy and lactation on the development of IgE and egg- and milk-specific IgE and IgG antibodies in infants. *Clin Exp Allergy* 21(2);195-202, 1991

-Abstract-

IgE and IgG Immunoblot Patterns to Three Major Egg Allergens:
in Atopic Children(< 3 years old) Sensitized to Egg White by
Dietary and Non-dietary Exposure

Gye-Ree Jeon

Department of Medical Science

The Graduate School, Ajou University

(Directed by assistant Professor Soo-Young Lee)

Atopic dermatitis is a chronic, relapsing inflammatory skin disease frequently seen in children with a history of IgE mediated food allergy. Recently, the increased risk of atopic disease patients who have never been exposed to egg white protein has been reported. To study the possibility of non-dietary sensitization to egg white antigens, we took the IgE and IgG immunoblot with individual egg white proteins(ovalbumin, ovomucoid, ovotransferrine) and patient's sera.

Total 16 egg allergic children were enrolled ins this study; 8 patients had a history of acute urticaria or atopic dermatitis at the time of first exposure to egg white proteins(NDS) and the other 8 patients experienced aleergic reactions after several months of history of egg white ingestion(DS). Sera were collected from 16 patients allergic to egg white, as well as from 6 negative control subjects. Egg white

proteins(ovalbumin, ovomucoid, ovotransferrine) were migrated on SDS-PAGE and immunoblotted for IgE and IgG antibodies. While the IgE binding patterns to egg white proteins were similar in the both study groups, the incidence of IgG binding to ovomucoid was higher in DS group(87%) compare to NDS group(38%). These results suggest that possible difference in IgG response to ovomucoid between NDS and DS group, so specific IgG to ovomucoid was correlated to regular ingestion of the food. Our results suggest that the egg white specific IgE response would related with clinical disease, and ovomucoid specific IgG response might related with long-term exposure index of egg white ingestion.

Key words: Atopic dermatitis, Egg White Protein, Non-dietary sensitization, IgE-western blot, IgG-western blot