

소아 갈치알레르기: 대구 특이 IgE 검사 활용성 및 대구와의 교차반응

염상화,¹ 프레브산 간툴가,¹ 정경옥,¹ 박경희,^{2,3} 박중원,^{2,3} 이수영¹

¹아주대학교 의과대학 소아청소년과학교실, ²연세대학교 의과대학 내과학교실, ³연세대학교 의과대학 알레르기연구소

Cutlassfish allergy in children: Usefulness of serum cod specific IgE and cross-reaction with cod

Sanghwa Youm,¹ Purevsan Gantulga,¹ Kyunguk Jeong,¹ Kyung Hee Park,^{2,3} Jung-Won Park,^{2,3} Sooyoung Lee¹

¹Department of Pediatrics, Ajou University College of Medicine, Suwon; ²Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul; ³Institute for Allergy, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Purpose: Fish allergy is the ninth common food allergy, and cutlassfish is one of the common allergenic fishes in Korean children. However, there is no commercial diagnostic tool for testing cutlassfish allergy in the world. We evaluated the usefulness of serum cod specific IgE (cod-slgE) to diagnose cutlassfish allergy and cross-reaction between cutlassfish and cod.

Methods: Nineteen children who experienced immediate type reactions after consumption of cutlassfish were enrolled. Cod-slgE was measured by ImmunoCAP, and serum samples were obtained from 11 allergic patients and 11 controls. Using our own homemade crude extracts, sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE), anti-parvalbumin (PV) immunoglobulin G immunoblot, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and ELISA inhibition were performed.

Results: Thirteen patients were clinically allergic to both cutlassfish and cod, and 6 were allergic to cutlassfish alone. The median age and cod-slgE concentrations were not significantly different between the 2 groups. The clear fish protein bands and PVs were identified on SDS-PAGE and immunoblotting. Serum cod-slgE was positive in 4 out of 6 cutlassfish mono-allergic patients, however, there was no significant correlation between cod-slgE by ImmunoCAP and cutlassfish-specific IgE by ELISA. The cutlassfish IgE ELISA was profoundly inhibited by cutlassfish, while the cod IgE ELISA was profoundly inhibited by cod but partially inhibited by cutlassfish.

Conclusion: We found a potential diagnostic value of cod-slgE to diagnose cutlassfish allergy and the asymmetric cross-reaction between cutlassfish and cod. These results could help diagnose and provide a dietary guidance in cutlassfish allergic children. (*Allergy Asthma Respir Dis* 2024;12:147-154)

Keywords: Food allergy, Fish proteins, Parvalbumins, Cross-reaction

서론

생선알레르기는 어린 나이에 발생하여 성인까지 지속되는 식품 알레르기 중 하나로, 소아보다 성인에서 그 빈도가 높으며, 국내에서는 전 연령 대상 식품알레르기의 5번째로, 소아에서는 9번째로 흔한 식품알레르기이다.^{1,2} 생선은 아나필락시스를 포함한 다양한 형태의 immunoglobulin E (IgE) 매개의 반응을 주로 유발하고 일부의 환자에서는 식품 단백질 유발성 장염증후군과 같은 non-IgE

반응도 발생한다.³⁻⁵ IgE 매개성 생선알레르기의 진단은 기타 식품 알레르기에서와 마찬가지로 자세한 병력과 혈청 특이 IgE 항체의 정량검사가 활용되며, 일부의 환자에서는 확진을 위해 경구유발시험이 필요하다.

생선 특이 IgE 항체의 정량 검사는 ImmunoCAP (Thermo Fisher Scientific, Uppsala, Sweden)으로 가능하며, 대구, 가자미, 광어, 고등어, 연어, 참치, 멸치 등에 대한 검사가 개발되어 활용되고 있다.³⁻⁵ 그러나 소아 흰살생선알레르기 환자에서 비교적 흔한 갈치에

Correspondence to: Sooyoung Lee <https://orcid.org/0000-0003-1734-4101>
Department of Pediatrics, Ajou University School of Medicine, 164 Worldcup-ro, Yeongtong-gu, Suwon 16499, Korea
Tel: +82-31-219-5160, Fax: +82-31-219-5169, Email: jsjs87@ajou.ac.kr
Received: January 27, 2024 Revised: February 19, 2024 Accepted: February 19, 2024

© 2024 The Korean Academy of Pediatric Allergy and Respiratory Disease
The Korean Academy of Asthma, Allergy and Clinical Immunology
This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).

대한 특이 IgE 검사는 개발되어 있지 않고 피부단자시험 시약도 개발되어 있지 않아서, 현재로서는 갈치알레르기 진단을 위한 IgE 감작을 확인할 방법이 없다.⁶ 이에 진료 현장에서는 갈치알레르기의 상세한 병력이 확인된 경우 대구의 3가지 알레르기 성분이 포함된 대구 특이 IgE 검사를 대신 시행하여 예측해 보기도 한다. 대부분의 생선의 주 알레르겐은 갈습 결합 단백질(10–15 kDa)인 parvalbumin (PV)이고 수십 종 이상의 생선에서 PV의 화학적 및 분자생물학적 연구가 이루어졌다. 또한 enolase와 aldolase도 주요 알레르기 성분으로 알려져 있으며, 다양한 생선들 사이의 교차반응은 주로 PV에 의한다고 보고되었다.^{7,8} 갈치(*Trichiurus lepturus*, cutlassfish)와 대구(*Gadus macrocephalus*, cod)는 각각 조기어강, 농어목, 갈치과 및 조기어강, 대구목, 대구과에 속하는 생선으로 동일한 강인 조기어강에 속하는 생선이다.^{4,9} 대구는 타 목에 속하는 생선들과의 교차반응성, 특히 PV에 의한 교차반응성이 다양하게 보고되었으나, 현재까지는 갈치의 PV 연구, 임상 연구, 및 기타 생선들과의 교차반응 연구는 이루어진 바 없으며, 갈치 감작을 확인할 수 있는 검사법이 개발되어 있지 못한 실정이다.

이에 이 연구에서는 갈치알레르기 병력이 있는 소아에서 대구알레르기 동반 여부에 따른 대구 특이 IgE 반응도를 비교해 보고, 연구자들이 제조한 갈치와 대구의 조항원을 이용하여 IgE 교차반응 정도를 확인해 봄으로써 갈치알레르기 진단과 식이 처방에 도움을 주고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상 및 혈청 검사

2019년 1월부터 2022년 12월까지 아주대학교병원 소아청소년과에 내원한 18세 미만의 환자 중 갈치와 대구 모두에 대한 섭취력이 있으며 갈치 섭취 후 즉시형 알레르기 반응을 경험한 19명의 소아청소년 환자를 대상으로 하였다. 병력은 정형화된 상세 문진기록이 확보된 의무기록을 통하여 후향적으로 수집하였고, 모든 환자에서 대구 특이 IgE 검사가 시행되었다. 각각의 생선 노출 후 2시간 이내에 즉시형 알레르기 반응을 경험한 환자를 알레르기군으로, 각각의 생선 노출 후에 증상이 없어 식이 제한을 하지 않았던 경우를 관용군으로 정의하여 갈치대구알레르기군(cutlassfish allergic and cod allergic, cut+cod+)과 갈치알레르기대구관용군(cut+cod-)으로 분류하였다. 인구학적 특성, 알레르기 관련 병력, 가족력, 첫 증상 발현 연령, 갈치와 대구 섭취 시 알레르기 증상 여부, 혈청학적 검사 등을 조사하였다(이 연구의 대상 환자는 AARD에 게재승인된 타 연구의 대상 중 일부에 포함되었으나, 연구의 방법, 목적, 분석과 결과는 중복되는 부분이 없다.⁶). 이 연구는 아주대학교병원 기관연구윤리심의위원회(Institutional Review Board, IRB) 승인을 받아 수행되었다(AJOURB-DB-2022-492, AJOURB-OBS-2018-151).

혈청 총 IgE 및 대구 특이 IgE는 ImmunoCAP을 이용하여 정량 분석하였는데, 현재 국내에서 상용화되어 있는 대구 특이 IgE 검사에 사용되는 대구 항원은 *Gadus morhua*의 3종 알레르겐이 포함된 조항원(crude extract) 추출물이다. 이 연구 수행 기관의 대구 특이 IgE의 분석 하한선은 0.05 kU_A/L 미만이고 상한선은 100 kU_A/L 이상이었으며, 통계 분석을 위해 0.05 미만을 0.04 kU_A/L로, 100 이상을 100.1 kU_A/L로 대체하여 수행하였다.

2. 갈치, 대구 조항원 제조

국내 시장에서 근해에서 포획한 국내산 갈치와 대구를 구하여 조항원을 제조하였다.⁹ 생선의 뼈와 정교하게 분리한 200–350 g의 생선살을 증류수(distilled water, DW)와 10분 동안 삶은 후, 인산 완충식염수(phosphate buffered saline, PBS, 1:4 w/v)에 섞어 균질화한 후 동결시켰다. 이어서 에틸에테르(1:4 w/v)로 세척하고 말리는 과정을 3–5회 반복하여 충분히 탈지방화하고 4°C에서 PBS (1:4 w/v)와 섞어 24시간 저어서 단백을 추출하였다. 그 후 4°C에서 12,000 rpm에서 15분 동안 원심분리하였고, 상층액을 얻어 4°C에서 DW로 투석하였다(pore size cutoff 3.5 kDa; Spectrum, New Brunswick, NJ, USA). 투석 후 얻어진 추출물은 0.22-µm Millipore syringe (Merk, Darmstadt, Germany)로 여과하여 살균하고 -70°C 이하에서 소분하여 보관하였다.

3. SDS-PAGE와 anti-PV IgG immunoblot

제조한 갈치와 대구의 조항원의 단백질 분획을 확인하고 비교하기 위해 sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)를 시행하였다. 생선 단백질은 sample buffer와 함께 70°C에서 10분간 가열한 후 4%–12% Bis-Tris gel (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)에 lane당 5 µg을 로딩하고 50 V로 5분, 200 V로 40분 전기영동 하였다. 분리된 단백질 중 생선의 주 알레르겐인 PV분획을 확인하기 위해 anti-PV IgG를 이용하여 immunoblot을 시행하였다. 상기 설명과 동일한 방법으로 갈치와 대구 조항원은 SDS-PAGE 시행한 후 니트로셀룰로즈 막에 전이하였고, gel은 Ponceau S solution (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)으로 염색하여 전기영동이 잘 되었는지 단백질 분획을 확인하였다. 항원이 전이된 니트로셀룰로즈 막은 blocking solution (3% bovine serum albumin [BSA] in TBS)으로 불필요한 단백질의 부착을 억제한 후 1:3,000의 anti-PV monoclonal IgG를 실온에서 1시간 반응시키고, 세척한 후 1:1,000 alkaline phosphatase가 부착된 anti-mouse IgG1과 실온에서 반응시키고, 30초 동안 BCIP/NBT substrate (SIGMA FAST 5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate/nitro blue tetrazolium; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)로 발색하여 갈치와 대구의 PV 분획을 확인하였다.

4. 환자 혈청

갈치 IgE 검출을 위한 enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) 및 갈치와 대구의 IgE 교차반응 확인을 위한 ELISA inhibition test를 위해 환자 혈청을 확보하였다. 갈치대구알레르기군 중 인체유래물 활용 동의서를 획득한 11명으로부터 제공받아 사용하였고, 모든 생선에 알레르기가 없는 11명으로부터 혈청을 제공받아 음성 대조군으로 사용하였다. 혈청은 소분하여 -20°C에 보관 후 실험에 사용하였다.

5. IgE ELISA 및 ELISA inhibition test

갈치알레르기 환자에서 대체하여 시행한 대구 특이 IgE 결과와 실험실에서 갈치 조항원을 이용한 IgE 검출결과 비교하기 위해 갈치 ELISA를 시행하였고, 갈치와 대구의 IgE 교차반응성을 확인하기 위하여, 연구자들이 제조한 갈치 및 대구 조항원과 환자 혈청을 사용하여 ELISA inhibition test를 시행하였다. 갈치 IgE ELISA는 갈치의 조항원을 coating buffer (0.1 M carbonate buffer, pH 9.6; Sigma, St. Louis, MO, USA)에 2 µg/mL로 희석하여, immuno-ELISA Plate (Nunc, Roskilde, Denmark) well당 100 µL씩 분주하여 4°C에서 16시간 동안 부착시킨 후 세척액(0.05% Tween-20 in PBS, pH 7.0)으로 5회 세척하고, assay diluent (10% fetal bovine serum in PBS)로 실온에서 2시간 블로킹 한 후 다시 5회에 걸쳐 세척하였다. 그 후 11명의 갈치대구알레르기군 환자의 개별 혈청을 assay diluent에 1:5로 희석하여 항원이 부착된 well에 50 µL씩 넣어 4°C에서 16시간 반응시킨 후 5회 세척하였다. 그 후 희석된 biotinylated human anti-IgE (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA)와 streptavidin-HRP (BD PharMingen, San Diego, CA, USA)에 1시간 반응시키고 7회 세척하였고, TMB (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine; BD PharMingen)를 첨가하여 발색정도를 확인하고 stop solution으로 반응을 정지한 후 450 nm에서 흡광도(optical density 450, OD₄₅₀)를 측정하였다. 갈치 및 대구의 IgE ELISA inhibition test를 위해서는 각각의 항원이 부착된 well에 11명 환자로부터 얻은 혼합 혈청(pooled sera)과 갈치, 대구, 밀가루, BSA를 억제제로 사용하여 시행하였다. 각각의 억제제는 0.1 µg/mL, 1 µg/mL, 10 µg/mL 및 100 µg/mL의 농도로 1:5로 희석한 혼합 혈청과 실온에서 2시간 반응시켜 사용하였고, 이후의 과정은 갈치 ELISA와 동일하게 시행하였다. 교차반응의 정도는 각 다음의 공식을 사용하여 억제제에 의한 ELISA 반응의 50% 억제 농도(inhibitory concentration of 50% inhibition, IC₅₀) 및 30% 억제농도(IC₃₀)를 구하여 비교하였다.

6. 통계 분석

통계 분석은 IBM SPSS Statistics ver. 28.0 (IBM Co., Armonk, NY, USA)을 이용하였으며 연속형 변수는 중위값 및 사분범위로, 범주형 변수는 빈도와 퍼센트로 표시하였다. 각 군 간 비교를 위해

연속형 변수는 Mann-Whitney U-test를, 범주형 변수는 chi-square test 및 Fisher exact test를 이용하여 분석하였다. IgE ELISA 흡광도와 대구 특이 IgE 값 사이의 상관분석 시에는 모든 변수가 유의수준 0.05에서 정규성 가정을 만족하지 않아 비모수방법을 이용하여 스피어만 상관분석(Spearman rank correlation)을 시행하였다. P 값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

1. 연구 대상의 특성 및 대구 특이 IgE

총 19명의 환자 중 갈치대구알레르기군은 13명(63.2%), 갈치알레르기대구관용군은 6명(31.6%)이었다. 두 군의 인구학적 정보, 임상 특성 및 혈청학적 검사 결과는 Tables 1, 2와 같다. 갈치대구알레르기군 13명 모두에서 갈치와 대구 섭취 후 두드러기, 가려움증을 동반한 발진, 구강 증상 등의 즉시형 피부 증상을 보였다. 갈치알레르기대구관용군 6명 중 2명(33.3%)은 아나필락시스, 4명(66.7%)에서는 피부 증상이 유발되었다.

갈치대구알레르기군의 중위연령은 14개월(범주: 6-25개월), 갈치알레르기대구관용군의 중위연령은 18개월(범주: 11-76개월)로 두 군 간에 유의미한 차이가 없었고(P=0.210), 식품알레르기를 포함한 동반 알레르기 질환의 전반적인 분포도 두 군 간에 유의한 차이가 없었다. Total IgE 농도의 중위값은 갈치대구알레르기군에서 243 kU/L (범주: 78-4,165 kU/L), 갈치알레르기대구관용군에서 152 kU/L (범주: 3-373 kU/L)이었고 두 군 간에 유의미한 차이는 없었다(P=0.152). 혈청 대구 특이 IgE를 측정할 결과 대구 섭취 후 알레르기반응이 없었던 갈치알레르기대구관용군 6명 중 4명(66.7%)에서 0.35 kU_A/L 이상으로 양성되었고, 대구 특이 IgE 농도의 중위값은 갈치대구알레르기군에서 7.99 kU_A/L (범주: 0.12-40.5 kU_A/L), 갈치알레르기대구관용군에서 2.24 kU_A/L (범주: 0.04-58.4 kU_A/L)로 유의미한 차이가 없었다(P=0.152).

2. 대구, 갈치 조항원 비교

대구와 갈치의 조항원을 SDS-PAGE 시행한 결과, 대구의 경우 7-72 kDa 사이에 최소 11개 이상의 단백질을 관찰할 수 있었고, 이 중 분자량 9, 16, 18, 38 kDa의 단백질이 강하게 관찰되었다. 갈치의 경우도 최소 10개 이상의 단백질을 관찰할 수 있었고, 이 중 8, 11, 37 kDa의 단백질이 강하게 관찰되었다(Fig. 1A). Immunoblot을 위해 SDS-PAGE 후 단백을 전이하고 남은 gel을 염색한 결과 잘 분리된 단백을 확인할 수 있었고(Fig. 1B), anti-PV IgG immunoblot을 시행한 결과 대구에서는 9 kDa에서 강한 결합을 확인할 수 있었고, 갈치에서는 8, 11, 22, 48 kDa에서 강한 결합이 확인되어 이들이 PV 분획임을 알 수 있었고, 대구와는 달리 갈치 조항원에서는 PV이 polymer로도 확인되었다(Fig. 1C).

Table 1. Demographic, clinical, and immunological characteristics of 19 children with cutlassfish allergy

| Group | Patient No. | Age (mo) | Sex | Allergic history | Symptoms with cutlassfish | Symptoms with cod | Total IgE (kU/L) | Cod-sIgE (kU _s /L) |
|----------|-------------|----------|-----|------------------|---------------------------|-------------------|------------------|-------------------------------|
| Cut+cod+ | 1 | 16 | M | AD, AR, FA | Skin | Skin | 157 | 3.14 |
| | 2 | 13 | F | AS, FA | Skin | Skin | 506 | 8.66 |
| | 3 | 12 | F | AD, AR, FA | Skin | Skin | 590 | 0.12 |
| | 4 | 14 | M | AD, AR, FA | Skin | Skin | 243 | 2.12 |
| | 5 | 20 | M | AD, FA | Skin | Skin | 2,102 | 29.40 |
| | 6 | 25 | M | AR, FA | Skin | Skin | 93 | 7.99 |
| | 7 | 10 | M | AR, CU, FA | Skin | Skin | 141 | 23.40 |
| | 8 | 14 | M | FA | Skin | Skin | 78 | 4.78 |
| | 9 | 6 | F | AD, FA | Skin | Skin | 188 | 15.50 |
| | 10 | 20 | M | AD, FA | Skin | Skin | 821 | 1.98 |
| | 11 | 12 | M | AR, FA | Skin | Skin | 4,165 | 40.50 |
| | 12 | 8 | M | AD, AS, FA | Skin | Skin | 478 | 8.17 |
| | 13 | 14 | M | AD, FA | Skin | Skin | 101 | 4.78 |
| Cut+cod- | 14 | 16 | F | AD, FA | Anaphylaxis | - | 53 | 0.99 |
| | 15 | 11 | M | AD, FA | Skin | - | 373 | 3.75 |
| | 16 | 46 | F | - | Skin | - | 3 | 0.04 |
| | 17 | 20 | M | AR, FA | Anaphylaxis | - | 128 | 3.48 |
| | 18 | 12 | M | FA | Skin | - | 176 | 58.40 |
| | 19 | 76 | F | AR | Skin | - | 293 | 0.04 |

Cut+cod+, cutlassfish allergic and cod allergic group; Cut+cod-, cutlassfish allergic and cod tolerant group; IgE, immunoglobulin E; sIgE, specific immunoglobulin E; AD, atopic dermatitis; AR, allergic rhinitis; FA, food allergy; AS, asthma; CU, chronic urticaria.

Table 2. Comparison of clinical characteristics between the cutlassfish allergic cod allergic group and cutlassfish allergic cod tolerant group

| Variable | Cut+cod+ (n=13) | Cut+cod- (n=6) | P-value |
|------------------------------------|-------------------|------------------|---------|
| Sex | | | 0.320 |
| Male | 3 (23.1) | 3 (50.0) | |
| Female | 10 (76.9) | 3 (50.0) | |
| Age (mo) | 14 (6–25) | 18 (11–76) | 0.210 |
| Concurrent allergic disease* | | | |
| AD | 8 (61.5) | 2 (33.3) | 0.350 |
| Asthma | 2 (15.4) | 0 (0) | 1.000 |
| AR | 6 (46.2) | 2 (33.3) | 1.000 |
| Chronic urticaria | 1 (7.7) | 0 (0) | 1.000 |
| Anaphylaxis | 8 (61.5) | 3 (50.0) | 1.000 |
| Known FA other than fish | 13 (100) | 4 (66.7) | 0.088 |
| Family history of allergic disease | 12 (92.3) | 5 (83.3) | 1.000 |
| Total IgE (kU/L) | 243 (78–4,165) | 152 (3–373) | 0.152 |
| Cod-sIgE (kU _s /L) | 7.99 (0.12–40.50) | 2.24 (0.04–58.4) | 0.152 |

Values are presented as number (%) or median (range).

Cut+cod+, cutlassfish allergic and cod allergic group; Cut+cod-, cutlassfish allergic and cod tolerant group; AD, atopic dermatitis; AR, allergic rhinitis; FA, food allergy; IgE, immunoglobulin E; sIgE, specific immunoglobulin E.

*Most participants had more than one concurrent allergic disease.

3. 갈치 IgE ELISA와 대구 특이 IgE의 상관관계

갈치대구알레르기군 중 혈청이 확보된 총 11명의 환자를 대상으

로 개별 IgE ELISA를 시행한 결과, 모두 음성 대조군에 비하여 높은 IgE 반응을 보였다(Fig. 2). 상대적 IgE농도를 나타내는 OD₄₅₀의 중위값은 갈치대구알레르기군(positive group)에서 0.055 (range, 0.010–0.131)이었고, 음성 대조군에서는 0.002 (range, 0–0.005)으로 유의미한 차이가 있었다($P < 0.0001$). 한편 갈치알레르기 병력이 있는 환자에서 대구 특이 IgE 검사로 갈치 특이 IgE 검사를 대체 가능한지 알아보하고자 IgE ELISA 검사에 의한 갈치 특이 IgE의 OD₄₅₀와 대구 특이 IgE 농도의 상관관계를 분석한 결과 유의한 상관관계가 없었다($r = 0.33, P = 0.160$) (Fig. 3).

4. 갈치와 대구의 IgE 교차반응

갈치와 대구에 동시에 알레르기 반응을 보이는 11명의 환자 혈청을 이용하여 갈치와 대구 사이의 IgE 교차반응성 정도를 확인하기 위하여 IgE ELISA inhibition test를 시행하였다. 갈치 IgE ELISA는 갈치와 대구에 의하여 유사한 수준으로 억제되어, 50% 억제 농도가 각각 0.89 µg/mL와 6 µg/mL였고, 30% 억제 농도는 각각 0.34 µg/mL와 0.44 µg/mL로 확인되었다(Fig. 4A). 한편 대구 IgE ELISA는 대구에 의한 억제 정도에 비하여 갈치에 의하여 낮은 억제 정도를 보였으며 갈치에 의해서는 실험의 최종 용량인 100 µg/mL에서도 50% 미만의 억제 수준을 보여, 50% 억제 농도는 각각 0.94 µg/mL와 >100 µg/mL였으며, 30% 억제 농도는 각각 0.42 µg/mL, 47.8 µg/mL

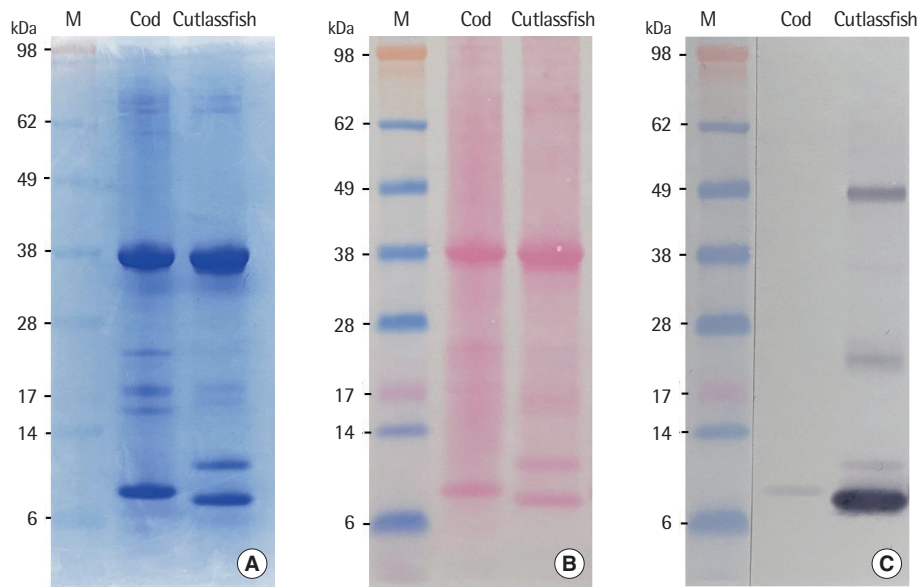


Fig. 1. (A) Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis profiles of cod and cutlassfish proteins. (B) The proteins were transferred to nitrocellulose membranes and stained with Ponceau S solution (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). (C) Anti-parvalbumin immunoglobulin G-immunoblot analysis. M, molecular markers.

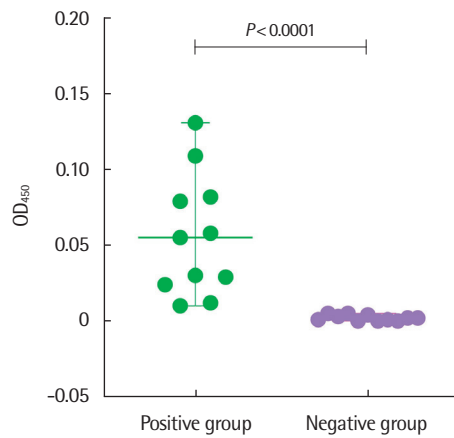


Fig. 2. Cutlassfish immunoglobulin E enzyme-linked immunosorbent assay with individual sera of cutlassfish and cod allergic patients (positive group), and tolerant patients to all kinds of fish (negative group). Results are expressed as the median and range of optical density 450 (OD₄₅₀) value. Mann-Whitney test was used to analyze *P*-value between the 2 groups.

였다(Fig. 4B). 따라서 갈치 IgE ELISA는 대구에 의하여 높은 수준으로 억제되었으나, 대구 IgE ELISA는 갈치에 의하여 부분적으로 억제됨을 확인하였다.

고찰

생선알레르기는 비교적 어린 나이에 발생하여 성인까지 지속되는 식품알레르기 중 하나로, 국내 소아 식품알레르기에서 9번째로 흔한 원인이며, 아나필락시스 발생도 높다.^{1,2} 최근 저자들이 수행한

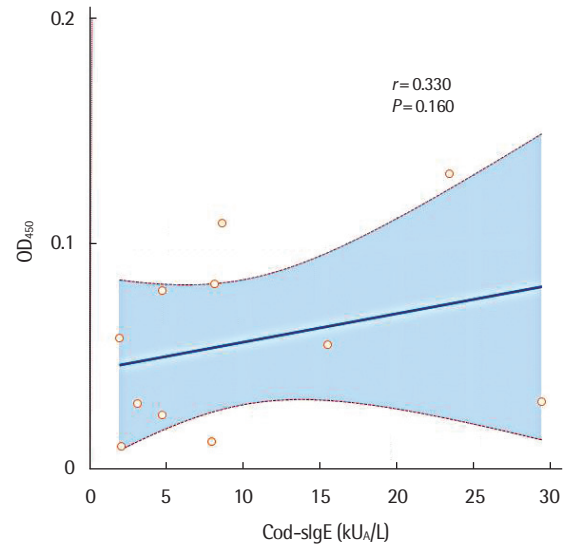


Fig. 3. Scatter plot of Spearman rank correlation between optical density 450 (OD₄₅₀) of cutlassfish specific immunoglobulin E (sIgE) by enzyme-linked immunosorbent assay and levels of cod-sIgE by ImmunoCAP (Thermo Fisher Scientific, Uppsala, Sweden).

국내 소아 흰살생선알레르기 연구에 의하면, 갈치 섭취력이 있는 108명 중 31명(28.7%)이 알레르기 반응을 보였고, 대구를 먹어본 111명 중 29명(26.1%)이 알레르기 반응을 경험하였음을 확인하여서, 대구뿐 아니라 갈치도 국내 소아에서는 매우 중요한 생선알레르기의 원인임을 확인하였다.⁶ 그러나 전 세계적으로 갈치알레르기는 임상 및 알레르겐 연구가 이루어진 바 없으며, 감작을 확인할 수 있는 알레르기피부시험 및 혈청 특이 IgE 검사가 개발되어 있지 않

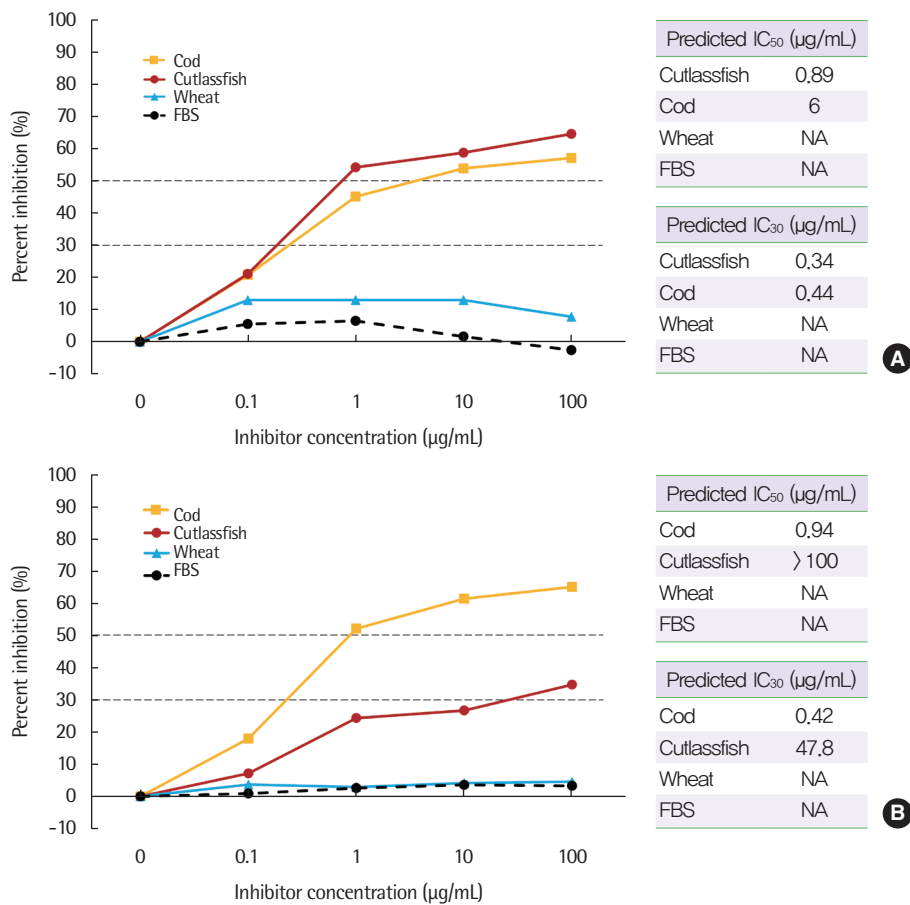


Fig. 4. Evaluation of cross-reaction between cutlassfish and cod. (A) Cutlassfish inhibition enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and (B) cod inhibition ELISA with sera from cutlassfish and cod positive patients. IC, inhibitory concentration; NA, not analyzed; FBS, fetal bovine serum.

아 진단과 식이 관리에 어려움이 있다. 이에 이 연구에서는 병력으로 진단된 갈치알레르기 소아 19명을 대상으로 대구알레르기 동반 여부에 따른 대구 특이 IgE 검사 결과를 비교해 보고, 갈치와 대구 항원 및 환자 혈청을 사용하여 IgE 교차반응성을 확인해 봄으로써 갈치알레르기가 의심되는 환자에게 최선의 진단과 식이 처방을 하는데 도움을 주고자 면역학적 연구를 시행하였다.

이 연구에서는 대구(*Gadus morhua*) 특이 IgE 검사를 갈치 특이 IgE 검사의 대체법으로 활용할 수 있는지 알아보았다. 국내에서 상용화되어 있는 대구 특이 IgE 검사는 Gad m 1 (β-parvalbumin), Gad m 2 (β-enolase) 및 Gad m 3 (aldolase)가 포함된 조항원에 대한 다클론 특이 IgE 농도를 측정하는 검사이며, 따라서 다양한 생선들 사이에 교차반응성이 높다고 알려진 PV뿐 아니라 교차반응성이 적은 enolase와 aldolase 특이 IgE도 함께 측정된다.¹⁰⁻¹³ 이 연구에서는 총 19명의 갈치알레르기 환자를 대상으로 대구 특이 IgE를 측정한 결과 갈치대구알레르기군 13명 모두에서, 그리고 갈치알레르기대구관용군 6명 중 4명(66.7%)에서 양성으로 확인되었다. 또한 대구 특이 IgE 농도의 중위값은 갈치대구알레르기군에서

7.99 kU_A/L (범주: 0.12–40.5 kU_A/L), 갈치알레르기대구관용군에서 2.24 kU_A/L (범주: 0.04–58.4 kU_A/L)로 유의미한 차이가 없었다 ($P=0.152$). 이러한 결과로 미루어 보아, 대구알레르기 유무와 관계 없이 갈치알레르기 환자 19명 중 17명에서 대구 특이 IgE 검사가 진단 활용성이 있음을 알 수 있었다. 그러나 이러한 검사 결과가 실제로 갈치 특이 IgE 농도와 상관관계가 있다고 일반화할 수는 없으므로, 연구자들이 제조한 갈치 조항원과 환자의 개별 혈청을 사용하여 갈치 IgE ELISA를 시행하여 비교하였다. 결과적으로 갈치알레르기 환자의 혈청 갈치 특이 IgE의 농도와 대구 특이 IgE 농도 사이에 의미 있는 상관관계를 확인할 수 없었으며, 따라서 임상에서 갈치알레르기 병력이 있는 환자에서 진단을 위해 대구 특이 IgE 검사를 시행하는 것은 일부의 환자에서만 대체검사로써 가치가 있다고 판단되었다.

또한 이 연구에서는 갈치와 대구 조항원을 사용하여 갈치와 대구사이의 IgE 교차반응성을 알아보았다. 갈치와 대구 조항원의 단백질 분획을 확인하고 주 알레르겐인 PV가 안정적으로 포함되어 있는지를 확인하기 위하여 SDS-PAGE 및 anti-PV IgG immunoblot

을 시행하였다. 갈치와 대구 조항원은 다양한 분자량의 명확한 단백질이 확인되었고, 대구에서는 PV가 단위체로, 갈치에서는 단위체와 중합체로 확인되었다. 양질의 단백질이 포함된 것을 확인한 후 환자의 혼합 혈청을 사용하여 IgE ELISA inhibition test를 시행한 결과, 갈치는 대구에 의하여 매우 높은 수준의 억제, 대구의 경우는 갈치에 의해 부분적인 억제가 있음을 확인하였다. 따라서 갈치와 대구 사이에는 비대칭적인 교차반응이 있다고 판단되며, 갈치와 대구에 동시에 알레르기가 있는 경우, 대구가 주된 감작항원이고 갈치는 IgE 교차반응 항원이라고 예측할 수 있다.^{10,13} 즉, 갈치 단독 알레르기 환자에서는 대구 섭취 시 알레르기반응이 있을 가능성이 매우 높으며, 대구 단독 알레르기 환자의 경우는 갈치 섭취 시 상황에 따라 부분적인 교차반응이 있을 수 있다고 해석된다. 그러나 실제로 감작된 생선이 임상 증상을 유발하는지 여부는 생성된 IgE 항체의 양과 클론성, 각 생선에 함유된 PV의 상대적인 양과 질, 섭취한 생선의 조리법과 섭취량, 보조인자 등에 따라 환자마다 다르다.^{10,11,13} 이러한 IgE 교차반응성의 존재가 모두 임상적 교차반응을 초래하는지 연구가 부족한 실정이지만, 90% 이상의 생선알레르기 환자가 PV에 의하여 증상이 발생하고, 대부분의 교차반응은 PV에 의하여 나타나므로, PV의 상동성이 높을수록 임상 증상도 교차하여 유발될 가능성이 높다고 알려져 있다.^{7,14-17} 한 연구에서는 9종의 생선사이의 IgE, IgG 교차반응성을 분석한 결과, 대구, 연어, 명태, 청어, 메기 사이에는 교차반응성이 높고, 넙치, 가자미, 참치, 고등어 사이에는 교차반응성이 낮음을 보고하였다.¹⁴

한편 임상에서 식품알레르기의 진단을 위해 활용하는 특이 IgE 검사가 실제로 생선알레르기의 진단에 도움이 되는지 알아본 한 연구에서는 13종의 생선 특이 IgE의 증상 연계 민감도가 50%~100%, 특이도가 0%~75%로 확인되어 혈청학적 검사가 임상 증상을 예측하는데 어려움이 있음을 시사하였다.¹² 또한 생선알레르기 환자의 1/3 이상은 2개 이상의 생선에 감작되어 있으며, 주 알레르겐인 PV에 반응성이 있으므로 임상적으로 증상이 발생할 가능성이 높다는 보고도 있다.^{14,15} 이러한 현상은 PV가 대부분 생선에 다양한 양으로 존재하며 교차반응의 주된 원인이기 때문이므로 중요하게 고려하여야 함을 시사한다. 그러나 또다른 연구에서는 50%의 생선에서만 임상적 교차반응성이 있다는 보고도 있어, PV 사이의 높은 교차반응성이 있음에도 불구하고 생선알레르기 환자에서 동일하게 적용하기 어려운 실정이다.^{7,14-18} 이를 고려해보면, 본 연구에서 병력상 갈치알레르기가 의심되는 환자에서 대구 특이 IgE 검사가 양성인 경우 갈치에 대한 감작을 대변하거나, 임상 증상과 연관 없는 단순 IgE 교차반응을 시사하거나, 혹은 두 종류의 생선에 동시 감작이 있고 동시에 임상 증상도 유발할 수 있음을 의미하는 등 다양한 해석이 가능하다. 이들 가능성 중 이 연구를 통해 일부의 갈치알레르기 환자에서는 대구 특이 IgE가 진단적 가치가 있음을 알 수 있었고, 실험실 연구를 통해 갈치와 대구가 혈청학적 교차반

응이 있음을 확인할 수 있었다.

이 연구는 생선알레르기의 진단을 위해 경구유발시험을 시행하지 못하였으며 제조된 조항원으로 IgE ELISA는 시행하였으나 피부단자시험을 시행하지 못했다는 제한점이 있다. 그러나 이 연구는 갈치알레르기에 대한 국내의 최초의 연구로서 의의가 있으며, 연구 결과를 통하여 대구 특이 IgE검사가 갈치알레르기 병력이 있는 환자에서 간접적인 진단적 도구로 고려될 수 있고, 갈치와 대구 사이에 비대칭적 IgE교차반응성이 있음을 감안하여 식이 처방에 참고할 수 있을 것으로 기대한다.

REFERENCES

- Kamdar TA, Peterson S, Lau CH, Saltoun CA, Gupta RS, Bryce PJ. Prevalence and characteristics of adult-onset food allergy. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2015;3:114-5.
- Lee E, Jeong K, Shin YS, Nahm DH, Park HS, Choi HN, et al. Causes of food allergy according to age and severity: a recent 10-year retrospective study from a single tertiary hospital. *Allergy Asthma Respir Dis* 2020;8:80-8.
- Buyukiryaki B, Masini M, Mori F, Barni S, Liccioli G, Sarti L, et al. IgE-mediated fish allergy in children. *Medicina* 2021;57:76.
- Sharp MF, Lopata AL. Fish allergy: in review. *Clin Rev Allergy Immunol* 2014;46:258-71.
- Pascual CY, Reche M, Fiandor A, Valbuena T, Cuevas T, Esteban MM. Fish allergy in childhood. *Pediatr Allergy Immunol* 2008;19:573-9.
- Youm S, Gantulga P, Park GM, Jeong K, Lee S. White meat fish allergy in Korean children: a single hospital based retrospective study. *Allergy Asthma Respir Dis* 2024;12:72-7.
- Lim DLC, Neo KH, Yi FC, Chua KY, Goh DLM, Shek LPC, et al. Parvalbumin—the major tropical fish allergen. *Pediatr Allergy Immunol* 2008;19:399-407.
- Stephen JN, Sharp MF, Ruethers T, Taki A, Campbell DE, Lopata A. Allergenicity of bony and cartilaginous fish-molecular and immunological properties. *Clin Exp Allergy* 2017;47:300-12.
- Yuk JE, Lee J, Jeong KY, Park KH, Kim JD, Kim JT, et al. Allergenicity and stability of 6 new Korean bony fish extracts. *Allergy Asthma Immunol Res* 2021;13:623-37.
- Hilger C, van Hage M, Kuehn A. Diagnosis of allergy to mammals and fish: cross-reactive vs. specific markers. *Curr Allergy Asthma Rep* 2017;17:64.
- Cox AL, Eigenmann PA, Sicherer SH. Clinical relevance of cross-reactivity in food. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2021;9:82-99.
- Schulkes KJ, Klemans RJ, Knigge L, de Bruin-Weller M, Bruijnzeel-Koomen CA, Marknell deWitt Å, et al. Specific IgE to fish extracts does not predict allergy to specific species within an adult fish allergic population. *Clin Transl Allergy* 2014;4:27.
- Aalberse RC. Assessment of allergen cross reactivity. *Clin Mol Allergy* 2007;5:2.
- Van Do T, Elsayed S, Florvaag E, Hordvik I, Endresen C. Allergy to fish parvalbumins: studies on the cross-reactivity of allergens from 9 commonly consumed fish. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:1314-20.
- Beale JE, Jeebhay ME, Lopata AL. Characterisation of purified parvalbumin from five fish species and nucleotide sequencing of this major allergen from Pacific pilchard, *Sardinops sagax*. *Mol Immunol* 2009;46:2985-93.
- Swoboda I, Bugajska-Schretter A, Verdino P, Keller W, Sperr WR, Valent P,

- et al. Recombinant carp parvalbumin, the major cross-reactive fish allergen: a tool for diagnosis and therapy of fish allergy. *J Immunol* 2002;168:4576-84.
17. Bugajska-Schretter A, Elfman L, Fuchs T, Kapiotis S, Rumpold H, Valenta R, et al. Parvalbumin, a cross-reactive fish allergen, contains IgE-binding epitopes sensitive to periodate treatment and Ca²⁺ depletion. *J Allergy Clin Immunol* 1998;101:67-74.
18. Sicherer SH, Sampson HA. Food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125(2 Suppl 2):S116-25.