

성인 알레르기 환자에서 자연산과 유전자 변형 감자에 대한 감작률과 특이 IgE 항체 측정 및 알레르겐 성상 비교

아주대학교 의과대학 알레르기-류마티스 내과학교실

윤성호·김현미·에영민·강영미·서창희·남동호·김승현·박해심

=Abstract=

IgE sensitization to the potato allergen in adult allergy patients and identification of IgE binding components: comparison between the wild and genetically modified potato

Sung-Ho Yoon, Hyun-Mi Kim, Young-Min Ye, M.D.,
Young-Mi Kang, Chang-Hee Suh, M.D., Dong-Ho Nahm, M.D.,
Seung-Hyun Kim, and Hae-Sim Park, M.D.,

Department of Allergy and Rheumatology, Ajou University School of Medicine, Suwon, Korea

Background : The aim of this study was to evaluate the prevalence of IgE sensitization and allergic risk of genetically modified (GM) potato compared with wild one in adult patients with various allergic diseases.

Methods : One thousand eight hundred eighty eight allergy patients visited Ajou University hospital and 38 healthy controls were enrolled. Skin prick tests were performed with wild and GM extracts. Phosphinothricin N-acetyltransferase (PAT) and neomycin phosphotransferase (NPT) gene was inserted in GM potato. Serum specific IgE level to the two potato extracts was measured by ELISA and their binding specificities were confirmed by ELISA inhibition test. IgE binding components in both wild and GM potato extracts were identified by SDS-PAGE and IgE-immunoblot.

Results : One hundred eight patients (5.7%) showed positive responses ($A/H \geq 2+$) on skin prick test to both wild and GM potatoes. Serum specific IgE was detectable in 50 ~ 88% among the positive reactors on skin prick test. ELISA inhibition tests showed similar inhibition pattern between wild and GM. Fourteen IgE binding components within wild potato and nine IgE binding components within GM potato with similar binding patterns, of which three major allergens in wild (26, 34, 45 kDa) and one (45 kDa) in GM one were noted.

Conclusions : The sensitization rates to wild and GM potato extracts were 5.7% respectively, in adult allergy patients and one common major allergen (45 kDa) was identified. It is speculated that genetic manipulation of the potato did not increase allergenic risk.(Korean J Med 69:651-659, 2005)

Key Words : Genetically modified food, Potatoes, IgE, Immunologic sensitization

·접 수 : 2005년 3월 30일

·통 과 : 2005년 6월 24일

·교신저자 : 박해심, 경기도 수원시 영통구 원천동 산 5, 아주의대 알레르기-류마티스 내과(443-721)

E-mail : hspark@ajou.ac.kr

*본 연구는 농림부 연구비(204070-301)의 지원으로 이루어진 것임.

서 론

감자의 원산지는 칠레의 안데스이지만 현재는 온대 지방에서 널리 경작되고 있다. 우리나라에서 널리 섭취되고 있으며, 삶거나 구워서 먹거나 알코올의 원료로 사용되고 감자 녹말은 당면, 공업용 원료로 사용되기도 한다.

음식물 알레르기의 발병빈도는 성인에서 1~2%, 소아에서 6~8%로 나이가 어릴수록 유병률이 높다¹⁾. 감자 알레르기의 경우에도 역시 성인보다 소아에서 많이 보고되고 있다. 소아에서 감자 섭취 후 아나필락시스 반응과 두드러기, 혈관부종의 증상을 보인 경우에 대한 보고가 있었고²⁾, 감자 알레르기로 생각되는 12명의 아토피 피부염이 있는 소아를 대상으로 감자 항원으로 시험한 피부단자시험에서는 12명 중 7명(58%), 경구유발시험에서는 8명(67%)의 소아가 양성을 나타냈다는 보고도 있었다³⁾. 한편 성인에서는 아토피가 있는 두 명의 주부에서 감자 껍질을 벗기는 동안 코 막힘이나 천식 및 두드러기 증상을 보인 증례가 보고되었고⁴⁾, 꽃가루 알레르겐이 감자를 포함한 여러 야채와 교차반응을 일으킬 수 있다는 보고가 있었다^{5, 6)}. 국내에서는 농산물 중 콩, 메밀 등에 대한 감작률 및 알레르겐 성분에 관한 보고가 있지만^{7, 8)} 감자에 대한 보고는 없었다.

여러 음식물에서 유전자 변형 기술을 이용한 식품의 생산과 소비가 매년 증가하고 있다. 식품에 유전자 변형 기술을 적용하는 것은 식품을 질적 혹은 양적으로 증대시키는 데 유용하다. 하지만 유전자 변형 식품은 알레르기 유해성 등의 문제로 인체에 해로울 수도 있다. 1996년, Nordlee 등⁹⁾은 유전자 변형과정 중 다른 음식의 알레르겐이 들어갈 수 있다는 보고를 하여 다른 여러 식품에서 유전자 변형으로 인한 인체에 유해 가능성이 있기 때문에 유전자 변형 식품의 유해성 연구에 대한 기초 데이터의 축적이 필수적이다.

이에 저자들은 본 알레르기 클리닉을 방문한 성인 환자에서 자연산 감자(wild potato)와 유전자 변형 감자(genetically modified<GM> potato)에 대한 감작률과 이에 대한 특이 IgE 항체치 및 알레르겐 성분을 규명하고, 자연산 감자에 비해 유전자 변형 과정에 따른 알레르기 유해성을 평가하는 연구를 수행하였다.

대상 및 방법

1. 대상 환자

2004년 1월 1일부터 2004년 10월 31일까지 다양한 알레르기 질환을 주소로 알레르기 클리닉을 방문한 15세 이상의 성인 환자 1,886명을 대상으로 국내 자연산 감자와 유전자 변형 감자 추출액으로 피부단자시험을 시행하고, 두 항원에 모두 양성 반응을 보인 65명의 환자에서 혈청 특이 IgE 항체를 측정하였다. 피부단자시험은 A/H 비가 2+ 이상인 경우를 양성 반응으로 간주하였으며 A/H 비의 범위 기준은 비율이 1 미만을 2+, 1~2 미만을 3+, 2~3 미만을 4+, 3~4 미만을 5+, 그 이상을 6+로 정의하였다. 대조군으로 알레르기 질환의 과거력이 없고 알레르기 피부단자시험에서 80가지의 흔한 흡입 및 음식 항원 알레르겐에 대해 음성 반응을 보인 정상인 38명을 대상으로 하였다. 환자군의 평균 나이는 32.4±11.4세였고, 성비는 남성 37명, 여성 28명으로 약 1.5:1의 비율이었다. 정상 대조군의 평균 나이는 38.7±16.4세였다. 본 연구에서 등록된 모든 환자들의 정보 및 검체는 아주대학병원 의학연구 윤리심의 위원회의 규정에 의하여 환자들의 동의 후 제공받았다.

2. 자연산 감자와 유전자 변형 감자의 알레르겐의 추출 및 제조

자연산 감자(수미감자)와 제조제 저항성을 위한 phosphinothricin N-acetyltransferase (PAT)와 항생제 저항성을 위한 neomycin phosphotransferase (NPT)가 삽입된 유전자 변형 감자를 구입하여 PAT와 NPT 두 유전자가 삽입되었는지를 polymerase chain reaction (PCR) 법으로 확인하였다(그림 1). 이후 각각의 감자를 액체질소를 이용하여 분쇄한 후, phosphate buffered saline

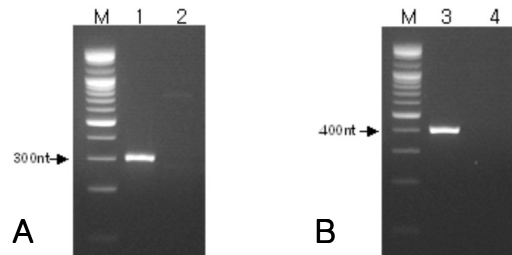


Figure 1. The detection of inserted phosphinothricin N-acetyltransferase (A) and neomycin phosphotransferase (B) gene by polymerase chain reaction. Lane 1,3: genetically modified potato Lane 2,4: wild potato

(PBS)을 1:10 w/v로 혼합하여 24시간 동안 4°C에서 agitator로 흔들어 추출하였다. 이 용액을 4°C, 12,000 ~ 15,000 rpm으로 20분 동안 원심분리한 후, 세균 및 다른 오염물질을 제거하기 위하여 상층액에서 3 mm 여과지를 이용해 부유물질을 제거하여 추출액을 만들었다. 추출액을 투석막(dialysis membrane)을 이용하여 72시간 동안 투석하였다. 투석과정 후 4°C에서 12,000 ~ 15,000 rpm으로 20분간 다시 원심분리하여 여과시켰다. 여과된 추출 용액을 동결건조시키고 사용 전까지 -20°C에서 보관 후 효소면역측정법, SDS-PAGE 및 IgE-immunoblot에 사용하였다. 피부단자시험에 사용될 추출 용액은 syringe filter를 사용해서 무균처리한 후 동량의 글리세린(Sigma Co., St. Louis, MO, USA)과 혼합하여 사용하였다.

3. 자연산과 유전자 변형 감자 항원을 이용한 혈청 특이 IgE 항체의 측정

자연산과 유전자 변형 감자로 직접 제조한 추출물을 항원으로 사용하였다. 10 g/mL 농도의 항원을 96-well microplate (Corning, NY, USA)에 well당 100 µL씩 넣고 4°C에서 12시간 이상 작용시킨 후 이를 0.05% PBS-Tween20으로 3회 세척하였다. 비특이적 결합을 방지하기 위해 10% fetal bovine serum-phosphate buffered saline (FBS-PBS)을 각 well당 200 µL씩 넣어 1시간 작용시켰다. 3회 세척 후 1:1 희석한 환자의 혈청을 well당 50 µL씩 넣어 상온에서 2시간 작용시켰다. 다시 3회 세척 후 biotin-labeled goat anti-human IgE 항체 (Vector Lab, Burlingame, CA, USA) 1:1,000 v/v를 well당 100 µL씩 넣고 1시간 작용시킨 후 3회 세척하였다. 여기에 streptavidine-peroxidase (Sigma Co., St. Louis, MO, USA) 1:1,000 v/v를 well당 100 µL씩 넣고 30분간 작용시킨 후 3회 세척하였다. 발색제(TMB: 3' 5' 5'-tetramethylbenzidine one tablet, phosphate citrate buffer 10 mL, 30% H₂O₂ 2 µL)를 well당 100 µL씩 넣고 상온에서 15분간 발색 후 2N H₂SO₄로 발색을 중지시키고 plate reader를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 정상 대조군의 평균값에 2배의 표준편차를 더하여 cut-off치를 산출하여 그 이상인 경우를 양성 반응으로 간주하였다. 특이 IgE 항체치는 고역가의 항체치를 보인 환자들의 혈청 pool을 단계적으로 희석하여 측정된 흡광도로 표준곡선을 만들어 arbitrary unit

(A.U)로 나타내었다.

4. 면역효소억제시험

각 감자의 항원성을 조사하기 위하여 면역효소억제시험을 시행하였다. ELISA 실험에서 특이 IgE 항체치가 높았던 3명의 혈청을 혼합하고, 그 혈청에 억제제로서 자연산 감자와 유전자 변형 감자 및 집먼지 진드기 (*D.pteronysinus*) 항원을 각각 1, 5, 10, 50, 100 µg/mL 씩 가하여 4°C에서 12시간 이상 반응시켰다. 이를 10 µg/mL 농도의 자연산 및 유전자 변형 감자 항원이 각각 부착된 microplate에 well당 50 µL씩 넣고 2시간 작용시킨 다음, 상기 기술과 동일한 방법으로 효소면역측정법을 시행하였다. 억제제 대신 동량의 10% FBS-PBS를 대조군으로 하였다. 특이 IgE 항체 결합의 억제정도(%)는 [(대조군의 흡광도 - 억제제가 포함된 시료의 흡광도)/대조군의 흡광도]에 100을 곱한 값으로 정하였다.

5. SDS-PAGE 및 IgE-immunoblot

효소면역측정법에 의한 혈청 특이 IgE 항체 측정에서 고역가를 보인 8명과 정상 대조군과 buffer 대조군을 대상으로 하였다. 자연산과 유전자 변형 감자 항원 각각을 20 µg/mL의 농도로 하여 sample buffer (0.5M Tris-pH 6.8, glycerol, 10% SDS, 0.5% bromophenol blue, 2.5% β-mercaptoethanol)에 희석하고 5분 동안 가열하였다. 표지자(4~250kDa, Invitrogen, San Diego, CA, USA)와 각 감자 항원을 4~20% Tris-glycine gel (Novex, Invitrogen, San Diego, CA, USA)에서 125V, 2시간 동안 전기영동 하였다. 전기영동 한 후, PVDF membrane (Millipore Co., Bedford, MA)에 200 mA로 2시간 전이시켰다. 비특이적 결합을 방지하기 위하여 5% skim milk-TBST (Tris buffered saline-Tween20)를 이용하여 1시간 동안 처리한 후 환자 및 대조군의 혈청으로 15시간 동안 4°C에서 작용시켰다. TBST로 3회 세척하고 alkaline phosphatase - conjugated goat anti-human IgE 항체(Sigma Co., St. Louis, MO, USA)를 3% skim milk-TBST를 이용하여 1:1,000 v/v로 희석하여 상온에서 1시간 작용시켰다. 이후 TBST로 3회 세척한 후 각각의 membrane을 BCIP/NBT alkaline phosphatase substrate (Sigma Co., St. Louis, MO, USA) 용액에 넣고 단백질이 나올 때까지 반응시켰다.

Table 1. Results of serum specific IgE antibodies to wild and genetically modified (GM) potato according to skin reactivity in 108 study subjects

A/H ratio*	Wild potato					GM potato				
	2+	3+	4+	5+	6+	2+	3+	4+	5+	6+
Skin test result [†]	38 (35.2%)	48 (44.5%)	12 (11.1%)	7 (6.4)	3 (2.8%)	36 (33.3%)	51 (47.2%)	13 (12%)	6 (5.6%)	2 (1.9%)
Serum specific IgE to wild potato [‡]	13/23 (57%)	18/28 (64%)	5/8 (63%)	2/4 (50%)	0/2 (0%)	8/19 (42%)	17/31 (55%)	6/8 (75%)	1/5 (20%)	0/2 (0%)
Serum specific IgE to GM potato [§]	10/23 (44%)	16/28 (57%)	5/8 (63%)	1/4 (25%)	0/2 (0%)	11/19 (58%)	18/31 (58%)	7/8 (88%)	3/5 (60%)	1/2 (50%)

Positive skin test response ($\geq 2+$): 108/1,886 (5.7%) for wild and genetically modified potato

*: A/H ratio on skin prick test for wild and GM potato

[†]: Number of cases positive to skin test for wild and GM potato.

^{‡,§}: number of cases with positive serum specific IgE to wild and GM potato according to skin test reactivity

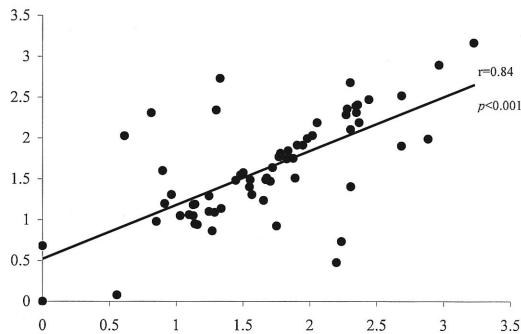


Figure 2. Correlation of specific IgE levels between the wild potato and genetically modified potato. $p < 0.001$

6. 통계 분석

통계적 분석은 SPSS v 11.0 for window (ZDNet Korea)를 이용하였고, p 값이 0.05 미만인 경우에 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다. 환자군에서 감자 각각에 대한 혈청 특이 IgE 항체치의 비교는 paired t -test 로 분석하였다. 환자군 및 대조군의 평균연령과 특이 IgE 항체치는 평균값 표준편차로 표시하였다.

결 과

1. ELISA를 이용한 자연산과 유전자 변형 감자에 대한 감작률과 피부반응도에 따른 혈청 특이 IgE 항체치의 비교

자연산 감자에 대한 피부단자시험에서 양성 반응을 보인 환자는 1,886명 중 108명(5.7%), 유전자 변형 감자에서는 1,883명 중 108명(5.7%)으로 차이가 없었으며 모

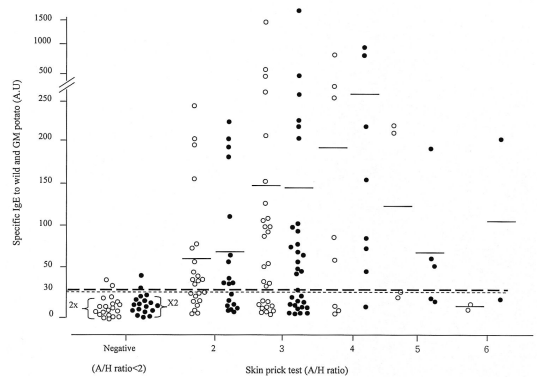


Figure 3. Specific IgE binding to wild and genetically modified potato by ELISA according to skin test reactivity of potato. Wild potato (○), genetically modified potato (●), mean+2SD of controls for potato (—) and genetically modified potato (-----)

두 동일한 환자였다. 피부반응도에 따른 특이 IgE 항체치의 양성률은 자연산 감자의 경우 피부반응도가 2+일 때 57% (13/23명), 3+일 때 64% (18/28명), 4+일 때 63% (5/8명), 5+일 때 50% (2/4명), 6+일 때 0% (0/2) 이었고, 유전자 변형 감자의 경우 2+일 때 58% (11/19명), 3+일 때 58% (18/31명), 4+일 때 88% (7/8명), 5+일 때 60% (3/5명), 6+일 때 50% (1/2)였다(표 1). 자연산과 유전자 변형 감자의 IgE 항체치 사이에는 서로 유의한 상관관계가 있었다(그림 2)($p < 0.001$). 피부반응도에 따른 특이 IgE 항체치의 평균값은 자연산 감자의 경우 피부반응도가 2+일 때 58.27 ± 69.59 A.U., 3+일 때 148.01 ± 291.59 A.U., 4+일 때 191.14 ± 268.81 A.U., 5+일 때 125.2 ± 112.8 A.U., 6+일 때 12.45 ± 0.21 A.U.였고, 유전자 변형 감자의 경우 2+일 때 65.68 ± 78.38 A.U., 3+일 때

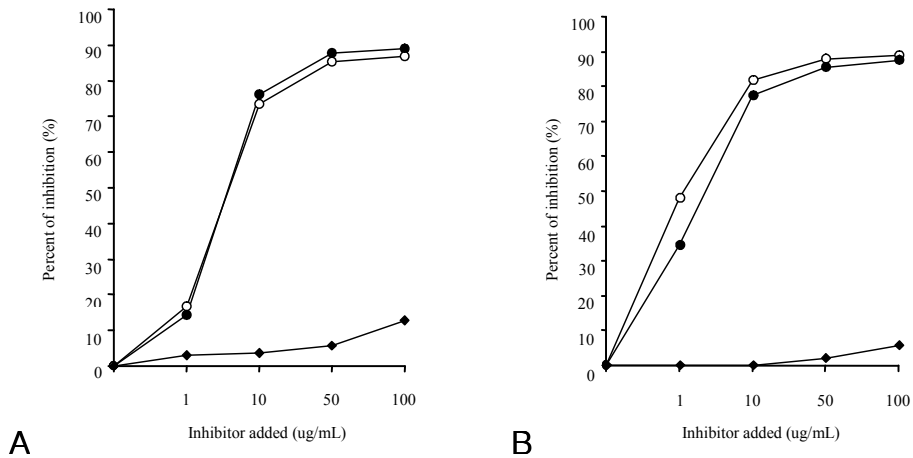


Figure 4. Percent inhibition of IgE-ELISA with addition of wild potato (○), genetically modified potato (●) and *D.pteronyssinus-Dpt* (◆) using the sera from patients sensitized to wild potato (A) and genetically modified potato (B)

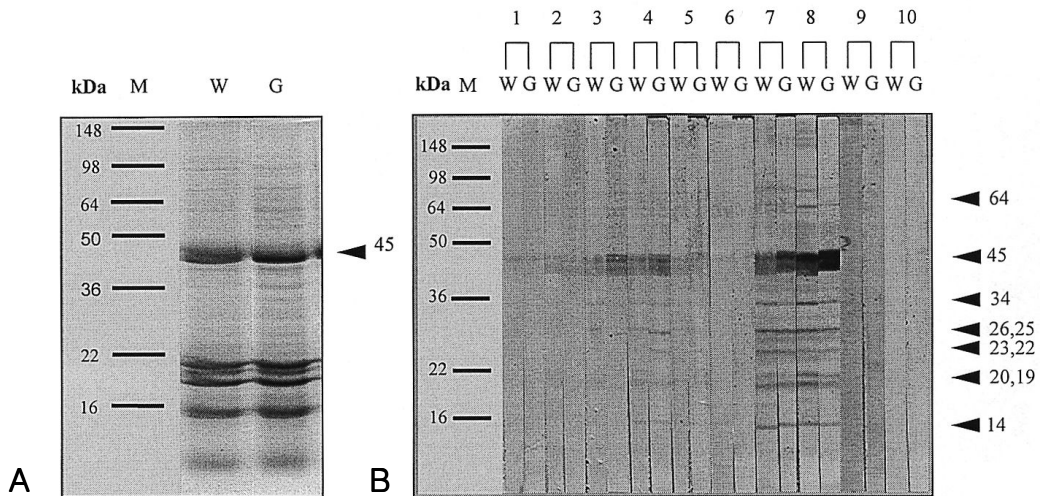


Figure 5. 12% SDS-PAGE (A) and IgE binding component (B) of wild and genetically modified potato extracts using sera from sensitized patients. W : wild potato extracts, G : genetically modified potato extracts, M : marker lane 1-8 : sensitized subjects, lane 9 : normal control, lane 10 : buffer control

144.74±312.22 A.U, 4+ 일 때 285.96±353.93 A.U, 5+ 일 때 67.04±71.26 A.U, 6+ 일 때 110.95±129.47 A.U로서 자연산과 유전자 변형 감자사이에 혈청 특이 IgE 항체 치에는 유의한 차이가 없었다(그림 3).

2. 자연산과 유전자 변형 감자 항원에 대한 면역 효소억제시험

혈청 특이 IgE 항체의 특이성을 확인하기 위하여 자연산과 유전자 변형 감자항원에 각각의 감자와 집먼지 진드기 항원을 이용하여 시행한 면역효소억제시험에서 자연산 감자 항원의 경우 자연산과 유전자 변형 감자를 10 µg/mL의 농도에서 억제제로 반응시켰을 때 70% 이상의 억제를 보였다(그림 4A). 유전자 변형 감자 항원에서 각각의 감자를 10 µg/mL의 농도로 반응시켰을

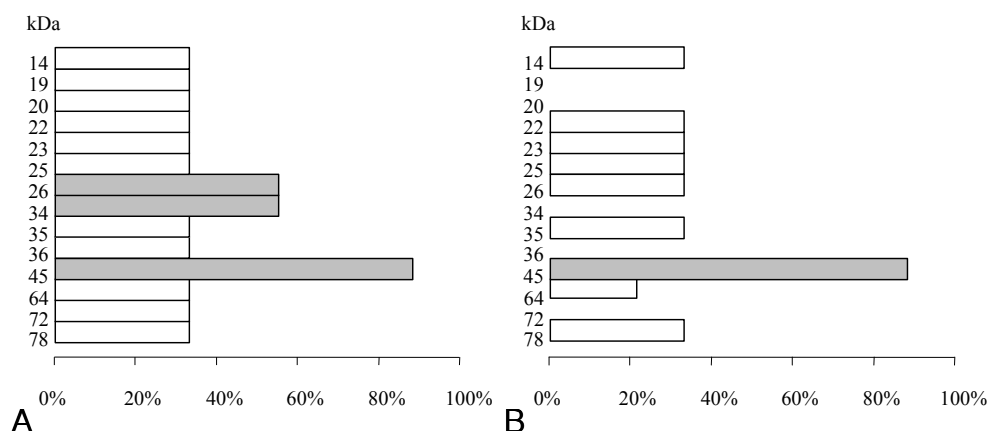


Figure 6. Result of IgE-immunoblot analysis of the wild (A) and genetically modified (B) potato extracts using the sensitized sera. A: Three components (26,34,45 kDa) were noted in more than 50% and nine component (14,19,20,22,23,25,35,36,64,72,78 kDa) were noted in 33% of the sensitized patients in wild potato. B: One component (45 kDa) was noted in 88% of patients and eight components (14,22,23,25,26,35,64,78 kDa) were noted in less than 40% of sensitized patients in genetically modified potato.

때, 자연산 감자와 같은 양상인 70% 이상의 억제 양상을 보였다(그림 4B). 각 감자에서 집먼지진드기와는 유의한 억제 양상이 나타나지 않았다. 자연산과 유전자 변형 감자 사이에 유의한 억제양상을 보였고 교차반응의 정도는 유사하였다.

3. 자연산과 유전자 변형 감자 항원에 대한 SDS-PAGE 및 IgE-immunoblot

각각의 감자 항원에 대해 SDS-PAGE와 IgE-immunoblot을 한 결과, 자연산 감자의 경우 특이 IgE 항체와 반응하는 14개(14, 19, 20, 22, 23, 25, 26, 34, 35, 36, 45, 64, 72, 78kDa)의 단백질이 관찰되었으며, 유전자 변형 감자의 경우에는 9개(14, 22, 23, 25, 26, 35, 45, 64, 78 kDa)의 단백질이 관찰되었다(그림 5). 이 단백질 중에서 자연산 감자에서 3개의 단백질(26, 34, 45kDa)과 유전자 변형 감자에서 한 개의 단백질(45 kDa)이 환자의 50% 이상에서 관찰되었으며, 그 중 45 kDa의 단백질이 자연산과 유전자 변형 감자 모두에서 대상 환자의 80% 이상에서 관찰되었다(그림 6).

고 찰

본 연구에서는 국내에서 소비가 많은 농산물 중 감자를 택하여 감작률과 알레르겐 성분을 규명하고, 또한 제조제와 항생제에 저항성이 있는 PAT와 NPT의 두 유전

자가 삽입된 유전자 변형 감자에 대한 알레르기 유해성도 동시에 평가하고자 하였다. 일상 생활에서 접하는 음식의 종류는 매우 방대하지만 알레르기를 유발하는 주된 음식물의 종류는 어느 정도 한정되어 있고, 소아와 성인에서 알레르기를 유발하는 음식물 또한 약간의 차이가 있다. 미국의 경우에 소아에서는 우유, 달걀, 땅콩 등이, 성인에서는 땅콩, 콩, 어패류 등이 주로 알레르기를 유발하는 음식물로 알려져 있다¹⁰. 일반적으로 음식물 알레르겐의 성분은 단백질이며 주요 성분은 열과 소화효소에 내성을 지니고 있다고 알려져 있다¹¹⁻¹³. 또한 음식물 알레르기의 기전 중 IgE매개 반응의 경우 진단 방법은 병력조사, 피부단자시험, 특이 IgE 항체 측정, 경구유발시험 등의 검사 등이 있다¹⁴. 외국에서 음식물 알레르기의 빈도는 성인에서 1.5%, 3세 미만에서는 5~6%로 알려져 있으나 아토피 질환이 있는 소아의 경우 질환에 따라서 10~30%의 높은 빈도를 보인다¹⁵. 그러나 국내에서 성인을 대상으로 한 음식 알레르기에 관한 보고가 미미하며, 감자 알레르기에 대한 연구보고도 없었다. 본 연구에서 성인 알레르기 환자에서 자연산과 유전자 변형 감자에 대한 피부단자시험상 감작률은 각각 5.7%로 자연산과 유전자 변형 감자간에 동일하며, 또한 피부 반응 양성도에 따라 측정된 특이 IgE 항체치 값이 자연산과 유전자 변형 감자간에 유사하였다. 따라서 국내 성인 환자에서도 감자에 의한 음식물 알레르기에 대한 관

심이 필요하다.

감자 알레르겐 성분에 관한 국외 연구로는 감자에 대해 증상을 보이는 12명의 환자 혈청으로 특이 IgE에 대한 Immunoblot을 시행한 결과, 16kDa와 30kDa 부위와 그 외 45kDa와 65kDa에서도 단백질이 관찰되어 감자 내 여러 단백질이 알레르겐으로 작용한다는 보고가 있었고¹⁶⁾, 감자 알레르기가 있는 소아를 대상으로 한 연구에서 네 가지 주요 알레르겐[sol t 1 (43 kDa), sol t 2 (21 kDa), sol t 3 (21 kDa), sol t 4 (16 kDa)]을 보고하였다^{17, 18)}. 또한 44-46 kDa 알레르겐은 감자와 라텍스 및 토마토와 교차반응에 관여한다고 보고하였고¹⁹⁾, 라텍스 알레르기 환자를 대상으로 한 연구에서는 43 kDa의 Hev 7이 성인에게 주로 작용하며, sol t 1과도 IgE 반응을 보여 sol t 1과의 교차반응성을 시사하였다²⁰⁾. 본 연구에서 자연산 감자에서 26kDa, 34kDa, 45 kDa의 세 개의 주 알레르겐을 확인하였고, 45 kDa의 단백질이 전체 환자에서 80% 이상에서 관찰되었다. 따라서 45 kDa의 단백질이 주 알레르겐으로 생각되며, 이는 이미 보고된 sol t 1과 동일한 단백질로 추정되지만 추후 아미노산 분석 등의 확인 연구가 필요하다.

과거 농작물의 재배는 다양한 품종 개량과 재배기술로 생산량을 증대시켜 왔다. 하지만 한 종의 유전자를 다른 종에 삽입하는 유전자 조작 기술 개발로 인하여 소출량의 증대뿐 아니라 재래종보다 병충해나 질병에 대한 저항성 강화, 저 알레르기 식품의 개발, 더욱 저렴한 가격의 농산물 생산이 가능해져 현재 새로운 농작물 생산법으로 자리잡고 있다. 유전자 변형 작물의 종류도 전세계적으로 이십 가지 이상이 있고, 삽입되는 유전자도 제초제 저항성, 병충해 저항성, 바이러스 저항성, 항생제 저항성 등 각각의 목적에 맞게 수십 가지 이상에 이른다²¹⁾. 1995년 미국 몬산토사가 제초제 저항성 콩을 처음 상품화 한 것을 시작으로 현재까지 매우 빠른 속도로 유전자 변형 농산물의 생산과 소비가 증가하고 있는 추세이다. 하지만 유전자 변이를 통한 생태계 파괴와 새로운 단백질 생성으로 인한 사람에 대한 유해 가능성 때문에 유전자 변형 기술 허용에 대해 이견이 여전히 많은 실정이다. 따라서 유전자 변형 식품에 의한 알레르기 유해성과 독성에 관한 연구가 여러 회사와 기관 그리고 정부에 의해 수행되고 있다. 미국에서는 Environmental Protection Agency (EPA), Food and Drug Administration (FDA), US Department of Agriculture (USDA) 등의

정부기관이 유전자 변형 식품의 안정성에 대한 연구를 수행하고 있으며 International Life Sciences Institute (ILSI)나 국제 기관인 Food and Agriculture Organization (FAO), World Health Organization (WHO) 등의 기관들도 유전자 변형 식품의 알레르기 유해성 문제에 대하여 현재에도 계속 논의하고 있다. 유전자 변형 식품이 알레르기 유해성을 나타내는데 있어 크게 세 가지 가능성이 제기되고 있다. 첫 번째는 특정 단백질 양의 증가로 이 단백질이 품종 내 주요 알레르겐으로 작용할 수 있고, 두 번째는 다른 식물의 알레르겐이 유전자가 삽입된 식물에서 발현될 수 있으며, 마지막으로 유전자의 삽입으로 인한 새로운 알레르겐이 생성될 수 있다는 가능성이 있다²²⁾. 이에 기반으로 1996년, ILSI에서 유전자 변형 식품의 안정성을 평가하였고²³⁾ 삽입된 유전자의 유래 품종을 기준에 알려져 있는 알레르기 유발 식물과 비알레르기 유발 식물로 나눈 후 알레르기 유발 식물에서 유래한 유전자의 발현 물질을 면역학적 방법으로 안정성을 검사하여 유전자의 사용여부를 결정하였고, 비알레르기 유발 식물에서 유래한 유전자는 그 발현 물질의 아미노산 서열을 밝혀 기존의 다른 알레르겐 물질과 비교하여 평가하였다. 유전자 변형 식품 내 새로운 알레르겐의 발현에 대한 검증 방법은 기준에 알려진 타 알레르겐과 펩타이드 서열을 비교하는 방법을 이용해 왔으며 동물모델의 확립 또한 알레르기 유해성을 평가하는데 유용한 방법이 될 수 있다²⁴⁾. 본 저자들의 연구에서는 제초제 저항성인 PAT와 항생제 저항성인 NPT 유전자가 삽입된 감자를 사용하였다. 두 감자 항원을 전기영동하여 gel 상에서 확인한 결과 두 감자 항원간에 단백질의 양상에 차이는 없어 특정 단백질이나 새로운 단백질이 발현하지는 않았을 것으로 추측되나 추후 두 유전자가 발현하는 단백질을 분리하여 알레르겐으로 작용할 수 있는지에 대한 연구가 필수적으로 뒤따라야 할 것으로 본다.

유전자 변형 식품의 독성에 관한 연구로는 Cry V 유전자가 삽입된 감자를 동물에 먹여 자연산 감자와 비교한 결과 동물들의 몸무게, 영양성분, 각 장기내 대사물질에서 두 군간의 차이가 없어 유전자 변형 감자로 인한 유해성은 없을 것이라는 보고가 있었고²⁵⁾, 본 연구에서도 피부단자시험에서 자연산과 유전자 변형 감자간의 감각률이 동일하며, 동일한 혈청에서 시행한 특이 IgE 항체치가 서로 밀접한 상관관계를 보였다. 또한 자연산과 유전자 변형 감자 항원을 억제제로 사용하여 각 항원

에 대한 면역효소억제시험을 시행하였을 때 용량반응곡선의 양상을 보이면서 높은 억제 양상이 관찰되어, 각각의 감자 항원에 대한 IgE 항체의 반응이 특이적인 결합에 의한 것임을 확인할 수 있었다. 본 연구의 결과로 자연산과 유전자 변형 감자가 음식물 알레르기에 관여할 수 있지만, 감자의 경우 유전자 변형 과정에 따른 알레르기 유해성은 동일할 것으로 판단되며 유전자 변형 감자라도 자연산 감자와 알레르겐 성상이 거의 동일할 것으로 예측할 수 있었다. 하지만 유전자 변형 기술로 재배되는 농작물의 종류가 갈수록 다양해지고 있고 이에 따라 앞서 기술한 바와 같이 유전자 변형식품의 알레르기 유해 가능성이 일어날 수 있기 때문에 여러 면역학적 방법으로 검증하는 연구가 계속적으로 지속되어야 하며 다른 농산물 항원과의 교차반응에 관한 연구 및 분류학적으로 비슷한 식물 이외에 다른 과 식물들과의 교차반응성 및 공통 epitope의 유무를 밝히는 연구가 필요할 것으로 생각한다.

결론적으로 자연산과 유전자 변형 감자에서 피부 반응도에 따른 혈청 특이 IgE 항체치 측정과 면역효소억제시험, IgE-immunoblot의 실험 결과에서 서로 유의한 차이가 없어 자연산과 유전자 변형 감자간에 알레르기 유해성은 유사하다고 생각한다. 또한 본 실험에서 IgE-immunoblot의 결과, 두 종류의 감자에서 공통으로 1개의 주요 알레르겐(45 kDa)이 관찰되었다.

요 약

목적 : 최근 유전자 변형 기술의 발달로 유전자 변형 음식의 생산과 소비가 급증하고 있는 추세이다. 본 연구에서는 국내에서 섭취가 많고 또한 유전자 변형 음식물 중 하나인 감자의 주요 알레르겐 성분을 규명하고 유전자 변형에 의한 알레르기 유해능을 평가하고자 하였다.

방법 : 각종 알레르기 질환으로 아주대학교 알레르기 클리닉을 방문한 15세 이상의 성인 1,886명을 대상으로 자연산 감자와 유전자 변형 감자 항원으로 피부단자시험을 실시하였고, 각각의 항원에 대해 면역효소법으로 혈청 내 특이 IgE 항체치를 측정하여 비교하였으며 면역효소억제시험으로 각 감자 항원에 대한 IgE의 특이성을 관찰하였다. 또한 특이 IgE 항체치가 높은 환자들의 혈청으로 IgE-Immunoblot 분석을 실시하여 감자내 주요 알레르겐을 규명하여 유전자 변형에 따른 차이가 있는지를 조사하였다.

결과 : 국내 성인에서 자연산과 유전자 변형 감자에 대한 감작률은 모두 5.7%이었으며, 특이 IgE 항체는 두 감자 항원간에 유사한 결과를 보였다. 또한 면역효소억제시험에서 강한 억제 양상을 보였으며 두 항원간에 알레르기 성상은 유사하였다. 각각의 감자에서 1개의 공통적인 주요 알레르겐(45 kDa) 성분을 규명하였으며 두 감자 항원간에 차이는 없었다.

결론 : 본 연구의 결과로 볼 때 감자의 경우 유전자 변형 공정에 따른 알레르기 유해성의 증가는 가능성이 낮을 것으로 생각한다.

색인 단어 : 감자, 유전자 변형식품, 알레르기

REFERENCES

- 1) Sampson HA. *Food allergy: part 1. immunopathogenesis and clinical disorders. J Allergy Clin Immunol 103:717-728, 1999*
- 2) Castells MC, Pascual C, Esteban MM, Ojeda JA. *Allergy to white potato. J Allergy Clin Immunol 78:1110-1114, 1986*
- 3) Majamaa H, Sepl U, Paluoso T, Turjanmaa K, Klakkinen N, Reunala T. *Positive skin and oral challenges to potato and occurrence of immunoglobulin E antibodies to patatin (Sol t 1) in infants with atopic dermatitis. Pediatr Allergy Immunol 12:283-288, 2001*
- 4) Quirce S, Diez Gomez ML, Hinojosa M, Cuevas M, Urena V, Rivas MF, Puyana J, Cuesta J, Losada E. *Housewives with raw potato-induced bronchial asthma. Allergy 44:532-536, 1989*
- 5) Van Ree R, Voitenko V, Van Leeuwen WA, Aalberse RC. *Profilin is a cross-reactive allergen in pollen and vegetable foods. Int Arch Allergy Immunol 98:97-104, 1992*
- 6) Calkhoven PG, Aalbers M, Koshte L, Pos O, Oei HD, Aalberse RC. *Cross-reactivity among birch pollen, vegetables and fruits as detected by IgE antibodies is due to at least three different cross-reactive structures. Allergy 42:382-390, 1987*
- 7) Kim SH, Kim HM, Ye YM, Nahm DH, Suh CH, Park HS. *IgE sensitization and identification of IgE binding components of soybean allergen in adult allergy patients. J Asthma Allergy Clin Immunol 24:331-336, 2004*
- 8) Suh YJ, Yoon SH, Sin YS, Choi JH, Suh CH, Nahm DH, Kim YG, Min KU, Park HS. *Buckwheat allergy in adults: comparison of specific IgE between homemade ELISA and CAP system and identifica-*

- tion of IgE-binding components. *J Asthma Allergy Clin Immunol* 23:474-482, 2003
- 9) Nordlee JA, Taylor SL, Townsend JA, Thomas LA, Bush RK. Identification of a Brazil-nut allergen in transgenic soybeans. *N Engl J Med* 334:688-692, 1996
- 10) Sampson HA. Update on food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 113:805-819, 2004
- 11) Helbling A, Bonadies N, Brander KA, Pichler WJ. *Boletus edulis*: a digestion-resistant allergen may be relevant for food allergy. *Clin Exp Allergy* 32:771-775, 2002
- 12) Yagami T, Haishima Y, Nakamura A, Osuna H, Ikezawa Z. Digestibility of allergens extracted from natural rubber latex and vegetable foods. *J Allergy Clin Immunol* 106:752-762, 2000
- 13) Fernandez Rivas M. Cross-reactivity between fruit and vegetables. *Allergol Immunopathol* 31:141-146, 2003
- 14) Sampson HA. Food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 111:S540-S547, 2003
- 15) Sampson HA. Food allergy. *JAMA* 278:1888-1894, 1997
- 16) Wahl R, Lau S, Maasch HJ, Wahn U. IgE-mediated allergic reactions to potatoes. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 92:168-174, 1990
- 17) Seppala U, Alenius H, Turjanmaa K, Reunala T, Palosuo T, Kalkkinen N. Identification of patatin as a novel allergen for children with positive skin prick test responses to raw potato. *J Allergy Clin Immunol* 103:165-171, 1999
- 18) Seppala U, Majamaa H, Turjanmaa K, Helin J, Reunala T, Klakkinene N, Palosuo T. Identification of four novel potato (*Solanum tuberosum*) allergens belonging to the family of soybean trypsin inhibitors. *Allergy* 56:619-626, 2001
- 19) Reche M, Pascual CY, Vicente J, Caballero T, Martin-Munoz F, Sanchez S, Martin-esteban M. Tomato allergy in children and young adults: cross-reactivity with latex and potato. *Allergy* 56:1197-1201, 2001
- 20) Seppala U, Palosuo T, Seppala U, Kalkkinen N, Ylitalo L, Reunala T, Turjanmaa K, Reunala T. IgE reactivity to patatin-like latex allergen, Hev b 7, and to patatin of potato tuber, Sol t 1, in adults and children allergic to natural rubber latex. *Allergy* 55:266-273, 2000
- 21) <http://agbios.com/dbase.php>
- 22) Lehrer SB. Genetic modification of food allergens. *Ann Allergy Asthma Immunol* 93:S19-S25, 2004
- 23) Metcalfe DD, Astwood JD, Townsend R, Sampson HA, Taylor SL, Fuchs RL. Assessment of the allergenic potential of foods derived from genetically engineered crop plants. *Crit Rev Food Sci Nutr* 36:S165-S186, 1996
- 24) Kimber I, Dearman RJ, Penninks AH, Knippels LM, Buchanan RB, Hammerberg B, Jackson HA, Helm RM. Assessment of protein allergenicity on the basis of immune reactivity: animal models. *Environ Health Perspect* 111:1125-1130, 2003
- 25) el Sanhoty R, el Rahman AA, Bogl KW. Quality and safety evaluation of genetically modified potatoes spunta with Cry V gene: compositional analysis, determination of some toxins, antinutrients compounds and feeding study in rats. *Nahrung* 48:13-18, 2004