

성인 집먼지진드기 알레르기 환자에서 특이 IgE 결합 성분 항원 비교

진현정,¹ 윤문경,² 남영희,³ 안준홍,¹ 박해심,² 정진홍¹

¹영남대학교 의과대학 내과학교실, ²아주대학교 의과대학 알레르기내과학교실, ³동아대학교 의과대학 내과학교실

Comparison of IgE-binding components between 2 house dust mites in adult allergic patients

Hyun Jung Jin,¹ Moon-Gyung Yoon,² Young-Hee Nam,³ June Hong Ahn,¹ Hae-Sim Park,² Jin Hong Chung¹

¹Department of Internal Medicine, Yeungnam University College of Medicine, Daegu; ²Department of Allergy and Clinical Immunology, Ajou University School of Medicine, Suwon; ³Department of Internal Medicine, Dong-A University College of Medicine, Busan, Korea

Purpose: This study investigated the differences in the profile of IgE-binding components between *Dermatophagoides pteronyssinus* (Dp) and *Dermatophagoides farinae* (Df) in respiratory allergic patients sensitized to Dp/Df.

Methods: Eighteen patients with respiratory allergic diseases having higher levels of serum specific IgE to Df compared to those to Dp (> twice) were enrolled. IgE-immunoblot analysis using Dp and Df extracts were used to compare the IgE binding components. Study subjects were classified into 2 groups according to the results of IgE-immunoblot analysis: 6 subjects having IgE-binding components to group 1 and 2 allergens (group B) and 12 subjects not having them (group A).

Results: Group A subjects were older (47.92 ± 8.51 vs. 35.50 ± 11.10 , $P = 0.039$) and males were dominant (75% vs. 0% $P = 0.009$). IgE-immunoblot analysis demonstrated that all the group B subjects had IgE bindings to 2 major components, 14 and 25 kDa, while group A subjects had IgE bindings to high-molecular weight components ranging from 60–98 kDa. The enzyme-linked immunosorbent assay inhibition test showed a significant inhibition with additions of Df, not with Dp in group B subjects. Serum specific IgE levels to Dp and Df were significantly higher in group B than in group A, while its ratio (Df to Dp) was significantly higher in group A. No differences were noted in clinical parameters, total IgE, or eosinophil cationic protein levels.

Conclusion: Heterogeneity of IgE binding patterns to Dp and Df extracts was noted according to the ratio of serum specific IgE (Df/Dp). (*Allergy Asthma Respir Dis* 2016;4:199-204)

Keywords: *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, IgE binding components

서 론

집먼지진드기는 국내 생활환경에 광범위하게 분포하며 국내 환경에서 가장 중요한 원인 알레르기항원으로 인정되고 있다.^{1,2} 서울 지역에 거주하는 호흡기알레르기 증상을 호소하는 성인 환자의 약 60% 정도가 집먼지진드기에 감작되어 있었고, 아토피 피부염 환자에서의 감작률은 27.9%–66.7%로 보고되었다.³⁻⁵ 소아 환자에서도 최근 10년간 집먼지진드기에 대한 감작률은 2000년에 57.3%에서

2010년에 64.8%로 약 8% 정도 증가하여, 향후 알레르기 질환의 발병에 주요 역할을 할 것으로 생각한다.⁶

대부분의 집먼지진드기 알레르기 환자는 알레르기 피부반응 검사상 세모무늬집먼지진드기(*Dermatophagoides pteronyssinus*, Dp), 큰다리집먼지진드기(*Dermatophagoides farinae*, Df) 두 종 모두에 양성 반응을 보이며, 이는 둘 간에 광범위한 교차반응 때문이다.⁷ 그러나 일부 환자들은 Dp, Df에 대한 특이 IgE 반응에 차이를 보이는 경우가 있고, 특히 Df에만 단독 반응을 보이는 환자들이 관찰된다.⁸

Correspondence to: Jin Hong Chung <http://orcid.org/0000-0003-1829-3051>

Division of Pulmonology and Allergy, Department of Internal Medicine, Yeungnam University College of Medicine, 170 Hyeonchung-ro, Nam-gu, Daegu 42415, Korea

Tel: +82-53-640-6682, Fax: +82-53-654-8386, E-mail: jhcn@med.yu.ac.kr

*This study was supported by a grant from the Korean Health Technology R&D Project funded by the Ministry of Health & Welfare, ROK (H14C2628).

Received: December 10, 2015 Revised: March 2, 2016 Accepted: March 22, 2016

© 2016 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 (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).

지금까지 알려진 집먼지진드기 알레르기항원 성분은 24개인데, 이들 중 주요 알레르기항원으로는 1군에 속하는 Der p1, Der f1와, 2군에 속하는 Der p2, Der f2가 있다.⁹ 대부분의 집먼지진드기에 감작된 환자들은 1군과 2군에 속하는 알레르기항원에 동시에 양성 반응을 나타낸다. 그러나 일부 집먼지진드기 알레르기 환자는 주요 알레르기항원 성분인 1군과 2군 알레르기항원에 대한 IgE 반응을 나타내지 않아, 개인마다 IgE 반응이 다를 것으로 예상된다.¹⁰

저자들은 Df에 대한 특이 IgE 항체치가 Dp에 대한 특이 IgE 항체치에 비해 2배 이상 높은 환자들을 대상으로 Dp, Df에 대한 IgE 결합 알레르기항원 성분의 차이를 비교하였다.

대상 및 방법

1. 연구 대상

2009년 8월부터 2011년 3월까지 아주대학교병원 알레르기내과에 내원한 환자 중 ImmunoCAP (ThermoFisher Scientific, Uppsala, Sweden)으로 측정한 Dp, Df 두 종류의 집먼지진드기에 대한 특이 IgE 항체 검사 결과가, 2배 이상의 차이를 보이는 18명의 환자를 대상으로 연구하였다.⁷ 대상 환자의 혈청으로 Dp, Df에 대한 IgE immunoblotting 검사를 실시하여 Dp, Df에 대한 IgE 결합 알레르기항원 성분의 차이를 비교하였다. Der p1, Der f1와 Der p2, Der f2에 반응을 보이지 않은 환자를 A군, 반응을 보인 환자를 B군으로 분류하여 임상 양상을 비교하였다. 대상군의 혈청은 -20°C에 보관 후 IgE-immunoblotting 및 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 억제 시험에 이용하였다. 연구에 참여한 환자는 아주대학교 병원의 임상시험심의위원회에서 승인 후 동의서를 작성하였다.

2. 연구 방법

1) 혈청 특이 항체 측정

대상자의 말초 혈액을 채취하여 집먼지진드기에 대한 혈청 특이 IgE 항체치를 ImmunoCAP system으로 측정하였다.

2) Dp, Df에 대한 IgE immunoblotting

Dp, Df 조항원(Thermo Fisher Scientific)을 40 µg/mL의 농도로 완충용액(0.5 M Tris pH 6.8, glycerol, 10% sodium dodecyl sulfate, 0.5% bromophenolblue, 2.5% β-mercaptoethanol)으로 희석하고 5분 동안 가열하였다. 표지자(4–250 kDa, Invitrogen, San Diego, CA, USA)와 Dp, Df 조항원을 4%–20% Tris-glycine gel (Novex, Invitrogen)에서 120 V, 2시간 동안 전기영동한 후 이를 polyvinylidene difluoride 막(Millipore Co., Bedford, MA, USA)에 220 mA로 1시간 30분 전이시켰다. 비특이적 결합을 방지하기 위하여 20% skim milk-TBST (Tris buffered saline-Tween20)를 이용하여 15시간 동안 4°C에서 작용시켰다. 환자 및 대조군의 혈청으로 2시간 동

안 처리한 후, TBST로 3회 세척하고 biotinylated antihuman IgE 항체(Vector Laboratories Inc., Burlingame, CA, USA)를 10% fetal bovine serum-phosphate buffered saline (FBS-PBS)를 이용하여 1:1,000 v/v로 희석하고 상온에서 1시간 작용시켰다. 이후 Tris buffered saline-Tween20 (TBST)로 3회 세척한 후 각각의 막을 AP color development buffer에 AP conjugate substrate kit (Bio-Rad laboratories Inc., Hercules, CA, USA) 용액을 넣고 반응시켰다.

3) ELISA 억제 시험

10 µg/mL 농도의 Df 항원을 96-microwell plate (Corning, Corning, NY, USA)에 well당 100 µL씩 넣고 4°C에서 12시간 이상 작용시켰다. 비특이적 결합을 방지하기 위해 10% FBS-PBS를 각 well당 200 µL씩 넣어 2시간 작용시켰다. 환자의 혈청에 억제제로 Dp, Df 항원을 각각 1, 10, 100 µg/mL씩 추가하여 4°C에서 12시간 이상 반응시켰다. Df가 부착된 microplate에 억제제로 처리된 환자 혈청을 well당 50 µL씩 넣어 상온에서 2시간 작용시켰다. 0.05% PBS-Tween 20으로 3회 세척 후 biotin이 부착된 염소 항IgE 항체(Vector Laboratories Inc.) 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, 3', 5, 5'-tetramethylbenzidine one tablet, phosphate citrate buffer 10 mL, 30% H₂O₂ 2 µL)를 well당 100 µL씩 넣고 상온에서 15분간 발색 후 2NH₄SO₄로 발색을 중지시키고 plate reader를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 억제제 대신 동량의 PBS를 대조군으로 하였다. 특이 IgE 항체 결합의 억제 정도(%)는 [(대조군의 흡광도-억제제가 포함된 sample의 흡광도)/대조군의 흡광도]에 100을 곱한 값으로 정하였다.¹¹

4) 통계 분석

모든 통계 분석은 SPSS ver. 12.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 분석하였으며, 각 집단 간의 비교는 Mann-Whitney U-test, Fisher Exact test를 사용하여 검증하였다. 모든 통계학적 차이의 유의수준은 P-value가 0.05 이하일 때로 하였다.

결 과

1. 집먼지진드기에 대한 특이 IgE-immunoblotting

Dp, Df 항원 내에는 5개(13, 25, 60, 70, 98 kDa)의 IgE 결합 단백질이 관찰되었다. 12명의 환자는 Dp 항원에는 반응을 보이지 않았고, Df 항원에도 13 kDa, 25 kDa 성분항원에 IgE 결합 반응이 관찰되지 않고 대신 3개의 고분자 성분 항원(60, 70, 98 kDa)과 특이 IgE 항체의 결합을 확인하였다. 이 환자들을 A군으로 분류하였다. 6명

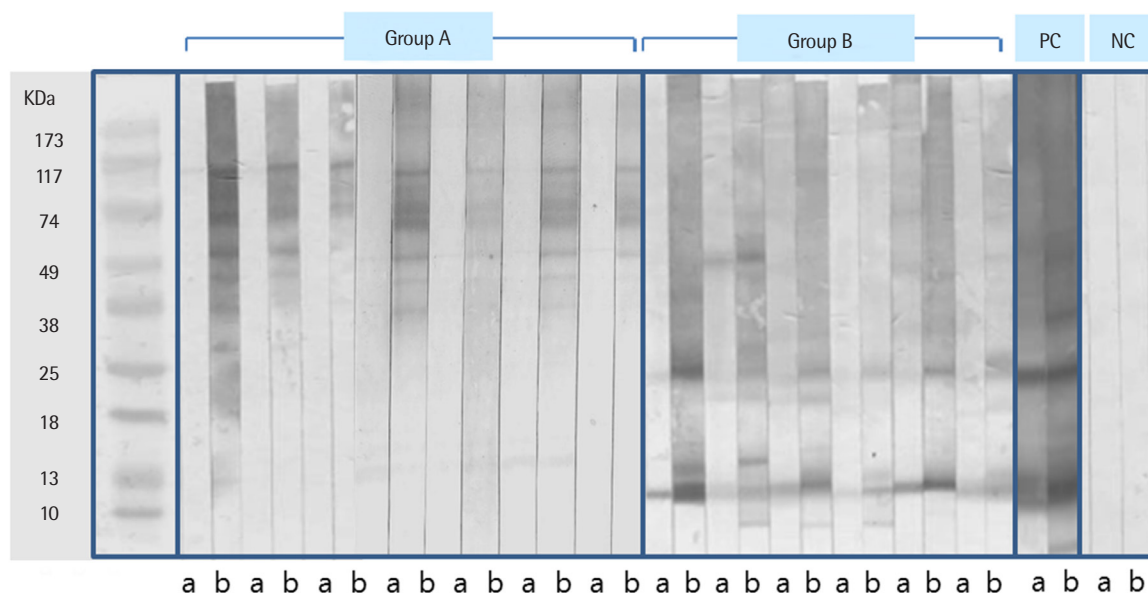


Fig. 1. Comparisons of serum specific IgE binding components by IgE immunoblot using *Dermatophagoides pteronyssinus* (Dp) and *Dermatophagoides farinae* (Df). Group A, the subjects not having IgE-binding components to groups 1 and 2 allergens; group B, the subjects having IgE-binding components to groups 1 and 2 allergens; a, Using Dp extracts; b, Using Df extracts; PC, positive control which were derived from the results from the patients with higher serum specific IgE levels to both Dp and Df; NC, negative controls.

Table 1. Clinical characteristics of group A subjects

Patient No.	Age (yr)/sex	Disease	Total IgE (kU/L)	Specific IgE to Dp (kU/L)	Specific IgE to Df (kU/L)	Ratio (Df/Dp)	ECP (μg/L)	TEC (/μL)	ITX with HDM	Food allergy
1	51/M	AR, AC	1,942	2.07	51.5	24.8	38.7	300	(-)	(-)
2	42/F	AICU	84	0.55	14.8	26.9	NA	100	(-)	(-)
3	52/M	AD, AR, EB	3,594	0	17.4	51.18	NA	134	(-)	(-)
4	56/F	AERD, IgG3 subclass deficiency	369	0.49	10.3	21.02	15.6	300	(-)	(-)
5	64/M	CU	145	0	8.26	24.30	NA	0	(-)	(-)
6	53/M	AR	636	0.86	19.2	22.32	NA	200	(-)	(-)
7	39/M	AR, AC	227	0	12.8	37.65	NA	300	(-)	OAS-fruit
8	53/F	AR, BA	365	0.73	5.12	7.14	22.00	250	(-)	(-)
9	38/M	Eosinophilia	4,405	2.18	32.5	14.9	126.00	500	(-)	(-)
10	39/M	AR, AICU	851	1.09	10.8	9.91	33.20	100	(-)	(-)
11	38/M	AR, AC	421	0.46	8.78	19.09	38.70	400	(-)	(-)
12	50/M	AR, BA, AICU	509	0.35	8.64	24.68	27.4	431	(-)	(-)

Group A, the subjects not having IgE-binding components to groups 1 and 2 allergens; Dp, *Dermatophagoides pteronyssinus*; Df, *Dermatophagoides farinae*; ECP, eosinophil cationic protein; TEC, total eosinophil count; ITX, allergen immunotherapy; HDM, house dust mite; AR, allergic rhinitis; AC, allergic conjunctivitis; AICU, aspirin intolerant chronic urticaria; AD, atopic dermatitis; EB, eosinophilic bronchitis; AERD, Aspirin-exacerbated respiratory disease; CU, chronic urticaria; BA, bronchial asthma; OAS, oral allergic syndrome; NA, not available; (+), the subject who has the history of immunotherapy with house dust mites or food allergy; (-), the subject has the history of immunotherapy with house dust mites or food allergy.

의 환자는 Dp, Df 항원에 집먼지진드기 주요 항원인 13 kDa, 25 kDa의 성분항원과 특이 IgE 항체 간의 결합을 확인하였고 이들을 B군으로 분류하였다(Fig. 1).

2. IgE-immunoblotting 결과에 따른 두 군의 임상 양상 비교

집먼지진드기에 대한 특이 IgE-immunoblotting 결과에 따라 A,

B군으로 나누어 임상 양상 및 검사실 소견을 비교하였다(Tables 1-3). A군의 평균 나이는 47.92 ± 8.51 세로, B군 35.50 ± 11.10 세에 비해 통계적으로 유의하게 높았다($P=0.039$). 성비는 A군은 남자 9명(75%)으로 B군(0명)에 비해 통계적으로 유의하게 남자 비율이 높았다($P=0.009$). 임상 양상을 보면, 천식 등의 기도 질환과 두드러기, 아토피 피부염 등의 비기도 질환으로 나누어 비교한 결과, 모

Table 2. Clinical characteristics of group B subjects

Patient No.	Age (yr)/sex	Disease	Total IgE (kU/L)	Specific IgE to Dp (kU/L)	Specific IgE to Df (kU/L)	Ratio (Df/Dp)	ECP (μ g/L)	TEC (/ μ L)	ITX with HDM	Food allergy
1	33/F	AR, BA	619	4.42	87.5	19.8	NA	64	(-)	(-)
2	53/F	AD	613	29.8	60.4	2.03	20.4	90	(+)	(-)
3	35/F	AR, AD	346	25.7	67.1	2.61	18.0	250	(+)	(-)
4	26/F	AD	>5,000	26.8	101	3.77	22.60	500	(-)	(-)
5	43/F	AR, AC, BA	2,916	33.7	>100	2.97	28.7	400	(-)	(-)
6	23/F	AR, AD	327	4.86	29.8	6.13	77.6	64	(-)	(-)

Group B, the subjects having IgE-binding components to groups 1 and 2 allergens; Dp, *Dermatophagoides pteronyssinus*; Df, *Dermatophagoides farinae*; ECP, eosinophil cationic protein; TEC, total eosinophil count; ITX, allergen immunotherapy; HDM, house dust mite; AR, allergic rhinitis; BA, bronchial asthma; NA, not available; AD, atopic dermatitis; AC, allergic conjunctivitis; (+), the subject who has the history of immunotherapy with house dust mites or food allergy; (-), the subject has the history of immunotherapy with house dust mites or food allergy.

Table 3. Comparison of clinical features between the 2 groups

Variable	Total	Group A (n= 12)	Group B (n=6)	P-value
Age (yr)	43.78 \pm 10.93	47.92 \pm 8.51	35.50 \pm 11.10	0.04
Sex				
Male:female	9:9	9:3	0:6	0.01
Phenotype				
Airway allergy:nonairway allergy	13:5	9:3	4:2	>0.99
Total IgE (kU/L)	1,080.53 \pm 1,314.50	1,129.00 \pm 1,436.87	1,637.00 \pm 1,919.38	0.57
Log (total IgE)	2.78 \pm 0.48	2.76 \pm 0.53	2.97 \pm 0.50	0.44
Specific IgE to Dp (kU/L)	7.45 \pm 12.03	0.732 \pm 0.74	20.88 \pm 12.88	<0.01
Specific IgE to Df (kU/L)	32.11 \pm 30.21	16.68 \pm 13.13	74.47 \pm 27.66	<0.01
Ratio of specific IgE (Df/Dp)	17.84 \pm 13.25	23.66 \pm 11.81	6.22 \pm 6.81	<0.01
ECP (μ g/L)	39.08 \pm 31.95	43.09 \pm 37.54	33.46 \pm 25.00	0.46
TEC (/ μ L)	243.50 \pm 158.62	251.25 \pm 150.36	228.00 \pm 188.09	0.54

Values are presented as mean \pm standard deviation.

Group A, the subjects not having IgE-binding components to groups 1 and 2 allergens; group B, the subjects having IgE-binding components to groups 1 and 2 allergens; Dp, *Dermatophagoides pteronyssinus*; Df, *Dermatophagoides farinae*; ECP, eosinophil cationic protein; TEC, total eosinophil count.

두 기도 질환이 흔하였으며 두 군 사이에 차이는 없었다($P>0.574$).

총 IgE, eosinophil cationic protein (ECP) 및 말초혈액 호산구 수는 두 군에서 유의한 차이가 없었다($P=0.574$, $P=0.464$, $P=0.541$). Dp, Df에 대한 특이 IgE 항체치는 B군에서 유의하게 높았다(0.732 ± 0.74 kU/L vs. 20.88 ± 12.88 kU/L, 16.68 ± 13.13 kU/L vs. 74.47 ± 27.66 kU/L, $P<0.01$, $P<0.01$). 그러나 특이 IgE 항체치비(Df/Dp 비)는 A군이 B군에 비해 유의하게 높았다(23.66 ± 11.81 vs. 6.22 ± 6.81 , $P<0.01$).

3. ELISA 억제시험

A군 환자 2명과 B군 환자 2명의 혈청으로 각각 ELISA 억제시험을 시행하였다. A군에서는 Df에서 억제반응이 보이지 않았다. B군의 환자에서는 Df 항원의 농도가 1, 10, 100 μ g/mL로 증가할수록, 약 20%, 75%, 90%로 50% 이상의 용량에 따른 유의한 억제 반응을 관찰하였으나, 반면 Dp에 의해서는 유의한 억제 반응이 관찰되지 않았다(Fig. 2).

고 찰

본 연구에서 Df에 대한 특이 IgE 항체치가 높은 환자들을 대상으로 IgE-immunoblot 결과를 비교한 결과, 두 개의 다른 결합 양상을 보인 환자군을 분류할 수 있었다. 기존 연구 결과들과 유사하게 주요 알레르기항원 그룹인 1/2군 알레르기항원(13, 25 kDa)과 결합 양상을 보인 환자군(group B)과 1/2군 알레르기항원에는 결합하지 않고, 고분자 성분(60, 70, 98 kDa)과 강한 결합 반응을 보인 환자군(group A)으로 구분되었다. 즉 Dp에 비해 Df에 대한 IgE 항체치가 높은 환자들 중 일부는 주요 성분 항원이 아닌 고분자 성분 항원에만 IgE 반응을 보였다. 두 군 사이에 임상양상이나 총 IgE치, 혈중 호산구 수, ECP치에는 유의한 차이가 없었으나, Dp, Df에 대한 특이 IgE 항체치는 B군에서 유의하게 높았다. 반면 특이 IgE 항체치의 비(Df/Dp)는 A군에서 유의하게 높았다. 관련한 국내 결과로, Kim 등¹²은 집먼지진드기 기관지유발시험 결과에 따른 특이 IgE 항체 결합 양상을 비교하고, 유발시험 양성군에서 13, 15, 34

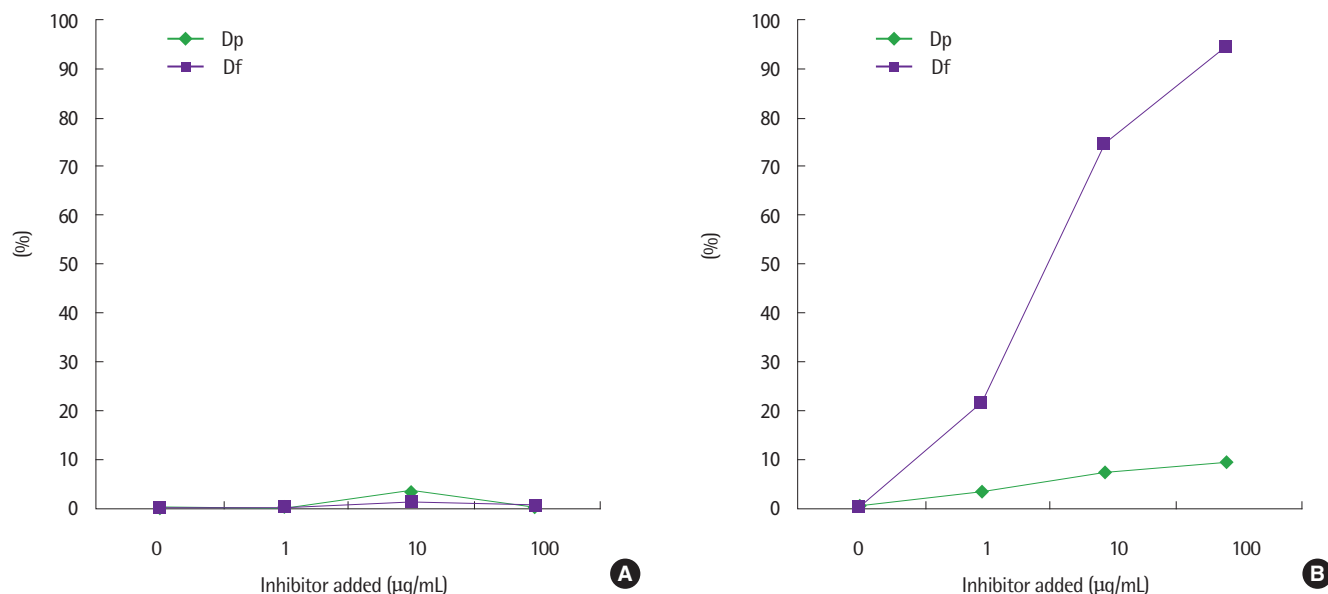


Fig. 2 IgE enzyme-linked immunosorbent assay inhibition tests with serial additions of Dp, Df in sera from group A (A) and group B (B) subjects. Dp, *Dermatophagoides pteronyssinus*; Df, *Dermatophagoides farinae*.

kDa 등의 부위에서 결합률이 높음을 확인하였다. 그러나 알레르기 질환별, 즉 천식 환자군과 아토피 피부염 환자군 간에는 결합 양상에 유의한 차이가 없었고, 동일한 환자군 내 개인별 차이는 보고된 바 있다. 본 연구가 제한된 수의 환자를 대상으로 진행되었지만 집먼지진드기에 감작된 환자들 중에, Dp에 비해 Df에 대한 특이 IgE 항체치의 비가 특히 높은 환자군에서 고분자 항원 성분에 집중적으로 결합하는 반응을 지닌 환자군이 존재하므로, 향후 이들의 임상적 특성 차이나 치료에 따른 반응 차이 등을 관찰하는 추가 확대 연구가 필요하다.

Df 알레르기 항원 성분에 대한 연구 결과를 살펴 보면, 고분자 성분인 60 kDa, 63 kDa 항원은 Der f 15, Der f 18에 해당하며, 주 성분이 chitin 결합 단백질이다.¹³ Chitinase는 chitin을 가수분해하는 효소로, Th2 면역 반응 증강에 따른 기도 염증 반응 및 천식의 병인 기전에 기여하는 것으로 알려져 있다.¹⁴⁻¹⁶ 한편 100 kDa 성분항원은 Df 알레르기 항원 성분 중에 Der f 11로 알려진 paramyosin으로 상당수의 환자군에서 IgE와 결합한다.¹³ 즉 paramyosin은 기생충류의 중요한 항원으로 진드기류와 교차반응물에 영향을 주며, 면역 반응의 조절에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.^{17,18} 본 연구에서도 group A 환자에서 63-98 kDa에 걸친 IgE와 결합하는 알레르기 항원 성분이 관찰되었고, 이는 chitinase를 포함하는 항원 성분과 공유하는 결과들도 보고되어 있어, 향후 주요 성분 항원별 IgE 반응과 그 임상적 의의에 대한 추후 연구가 필요하다.

집먼지진드기 항원을 이용한 면역요법은 다양한 알레르기 질환 환자에게 광범위하게 이루어지며, 그 효과도 잘 증명되어 있다.¹⁹ 상업화된 집먼지진드기 추출물의 성분 분석 결과 시약별로 성분항원

의 구성 비율의 차이가 크지만, 이들 면역치료 약제의 주성분은 1, 2군 알레르기 항원이다.²⁰ 그러나 일부 집먼지진드기 환자들에서는 면역요법의 효능이 낮은 경우가 있다.¹⁹ 약제 반응 차이에 따른 환자들의 임상적, 면역학적인 특성에 관한 연구는 거의 없다. 본 연구에서 대상자들 중 현재 집먼지진드기를 이용한 면역요법을 받는 환자 수가 매우 적어서 그 효과에 대한 비교 연구는 진행하지 못하지만 이러한 점을 고려한 추가 연구가 필요하다. 본 연구 대상자 중 A군 환자들은 1, 2군 성분항원에 대한 IgE 반응이 미약하였고 ELISA 억제시험에서 Df에서 억제반응이 보이지 않아 기존 집먼지진드기에 대한 일반적인 면역학적 반응과 차이가 있음을 확인하였다. 그 결과 기존 집먼지진드기 면역요법에 대한 효과는 감소하리라 예측된다. 최근 1, 2군 알레르기 항원이 아닌 다른 항원들도 중요한 역할을 하고 있음이 알려짐에 따라 재조합 성분 항원들을 이용한 면역 치료가 시도되고 있어²¹ A군 환자들을 대상으로 면역요법 처방 시 고분자 항원 성분(60, 70, 98 kDa)이 포함된 항원을 이용한 치료를 고려해야 하며, 관련하여 추가 연구가 필요하다.

REFERENCES

1. Yoon YW, Lee MK, Park HS, Park SS, Hong CS. The skin test reactivity and the level of the total IgE in the allergic patients. *Allergy* 1989;9:385-98.
2. Ahu SD, Kim HJ. The allergen skin test and the effect of specific desensitising vaccination therapy in allergic rhinitis and bronchial asthma. *Allergy* 1983;3:159-67.
3. Kim JH, Choi SY, Lee IY, Lee YW, Yong TS, Kim CW, et al. Seasonal variation of house dust mite and its influence on the inhabitant health. *Kore-*

- an J Asthma Allergy Clin Immunol 2006;26:27-34.
4. Kim SD, Chung SJ, Lee WJ, Koo DW. A study for prick test reactivities to allergen, peripheral blood eosinophils, and serum IgE levels in patients with urticaria and atopic dermatitis in Chuncheon and the Northern Kangwon province. Korean J Dermatol 2001;39:300-8.
5. Lee BG, Sim WY, Lee MH, Haw CR. A study of allergen prick test reactivity and peripheral blood eosinophil and total serum IgE levels in patients with atopic dermatitis and urticaria. Korean J Dermatol 1989;27:502-11.
6. Jung YH, Hwang KH, Yang SI, Lee E, Kim KH, Kim MJ, et al. Changes of aeroallergen sensitization in children with asthma or allergic rhinitis from a tertiary referral hospital in Seoul over 10 years. Allergy Asthma Respir Dis 2014;2:97-102.
7. Hong CS. Sensitization of house dust mites in the allergic patients and mite ecology in their house dusts. Allergy 1991;11:457-65.
8. Heymann PW, Chapman MD, Platts-Mills TA. Antigen Der f I from the dust mite *Dermatophagoides farinae*: structural comparison with Der p I from *Dermatophagoides pteronyssinus* and epitope specificity of murine IgG and human IgE antibodies. J Immunol 1986;137:2841-7.
9. Jeong KY, Lee JY, Son M, Yi MH, Yong TS, Shin JU, et al. Profiles of IgE sensitization to Der f 1, Der f 2, Der f 6, Der f 8, Der f 10, and Der f 20 in Korean house dust mite allergy patients. Allergy Asthma Immunol Res 2015;7:483-8.
10. Thomas WR, Smith WA, Hales BJ, Mills KL, O'Brien RM. Characterization and immunobiology of house dust mite allergens. Int Arch Allergy Immunol 2002;129:1-18.
11. Cho HJ, Kim JH, Choi GS, Kim JE, Ye YM, Park HS. Clinical features of patients with apple allergy and identification of IgE-binding components of apple. Korean J Asthma Allergy Clin Immunol 2010;30:116-22.
12. Kim CW, Kim YS, Moon JS, Choi SY, Hong CS. Immunoblot analysis of specific IgE and IgG responses to *Dermatophagoides farinae* according to allergen bronchial challenge test. Korean J Asthma Allergy Clin Immunol 2004;24:394-402.
13. Jeong KY, Park JW, Hong CS. House dust mite allergy in Korea: the most important inhalant allergen in current and future. Allergy Asthma Immunol Res 2012;4:313-25.
14. Van Dyken SJ, Garcia D, Porter P, Huang X, Quinlan PJ, Blanc PD, et al. Fungal chitin from asthma-associated home environments induces eosinophilic lung infiltration. J Immunol 2011;187:2261-7.
15. Mack I, Hector A, Ballbach M, Kohlhauf J, Fuchs KJ, Weber A, et al. The role of chitin, chitinases, and chitinase-like proteins in pediatric lung diseases. Mol Cell Pediatr 2015;2:3.
16. Brinchmann BC, Bayat M, Brogger T, Muttuvelu DV, Tjonneland A, Sigsgaard T. A possible role of chitin in the pathogenesis of asthma and allergy. Ann Agric Environ Med 2011;18:7-12.
17. Kojima S. Overview: from the horse experimentation by Prof. Akira Fujinami to paramyosin. Parasitol Int 2004;53:151-62.
18. Castellani L, Cohen C. Myosin rod phosphorylation and the catch state of molluscan muscles. Science 1987;235:334-7.
19. Eifan AO, Calderon MA, Durham SR. Allergen immunotherapy for house dust mite: clinical efficacy and immunological mechanisms in allergic rhinitis and asthma. Expert Opin Biol Ther 2013;13:1543-56.
20. Casset A, Mari A, Purohit A, Resch Y, Weghofer M, Ferrara R, et al. Varying allergen composition and content affects the in vivo allergenic activity of commercial *Dermatophagoides pteronyssinus* extracts. Int Arch Allergy Immunol 2012;159:253-62.
21. Li N, Jiang YX, Diao JD, Zhao BB, Li CP. Effect of immunotherapy with recombinant allergen group 3 from *dermatophagoides farinae* in asthma mice. Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi 2014;32:280-4.