

아스피린과민증 환자에게 발생한 라이소자임에 의한 아나필락시스 1예

윤태영¹, 김미경²⁻⁴¹충북대학교 의과대학 의학연구소 피부과학교실, ²내과학교실, ³충북대학교병원 지역약물감시센터, ⁴충청권역호흡기전문질환센터

Anaphylaxis induced by lysozyme in Green cough

Tae-Young Youn¹, Mi-Kyeong Kim²⁻⁴Departments of ¹Dermatology, ²Internal Medicine, Medical Research Institute, Chungbuk National University College of Medicine, ³Regional Pharmacovigilance Center, ⁴Regional Respiratory Disease Center, Cheongju, Korea

Lysozyme is a small protein composed of 129 amino acids with a molecular weight of 14.3 kD. In human, it is in the eye drop, saliva, nasal secretion, and gastric juice. Because of its bactericidal properties, this protein is used as an additive in various food and drug products. A 34-year-old female patient had visited at emergency room for generalized urticaria, angioedema, and dyspnea a few minutes after taking Green cough capsule which contains lysozyme. Her serum tryptase level measured by fluorescence enzyme immunoassay was 11 mg/mL. Skin prick tests with Green cough itself, and then with its 10 ingredients including lysozyme chloride showed strong positive reaction to Green cough and lysozyme chloride. Base on her symptoms and the results obtained from high level of serum trypase and skin prick tests, we have concluded her conditions to be an anaphylaxis induced by lysozyme. (*Allergy Asthma Respir Dis* 2014;2:78-81)

Keywords: Drug allergy, Anaphylaxis, Lysozyme, Tryptase

서 론

라이소자임(lysozyme)은 1922년 Alexander Fleming이 발견한 129개의 아미노산으로, 구성된 분자량은 14.3 kD 염기성 단백질이다. 식품으로는 계란 흰자에 0.3% 함유되어 있고, 인체에도 눈물, 코 점액, 침, 위액과 유즙 등의 분비물에 함유되어 있다. 라이소자임은 세균의 세포벽 구성 다당류들인 N-acetylmuramic acid와 N-acetylglucosamin 사이의 $\beta(1-4)$ glycosidic bond를 가수 분해하는 효소로 세균으로부터 생체를 보호하는 역할을 한다. 이러한 살균력 때문에 여러 가지 식품 및 약물의 첨가제로 널리 사용된다.^{1,2)}

계란 알레르기의 원인 알레르겐 중 하나이다.^{3,4)} 이외에도 치즈나 와인 제조에 사용되기 때문에 치즈나 와인 알레르기 환자의 원인 알레르겐으로도 알려져 있다.^{5,6)} 약물 첨가제로도 사용되기 때문에 라이소자임이 약물알레르기의 원인 알레르겐임이 규명된 바는 있지만⁷⁾ 아직 국내에서는 이에 관하여 보고된 바 없고 아스피린과

민증 환자에게서 발생한 경우도 보고된 바 없다. 저자들은 감기 때문에 라이소자임이 함유된 복합 감기약을 복용한 후 아나필락시스를 경험한 아스피린과민증 환자에서 혈청 tryptase와 그린코푸와 그 성분인 라이소자임을 포함한 10가지 함유물로 피부단자검사와 혈청 라이소자임 특이 immunoglobulin E (IgE) 항체를 효소면역법과 Western blot을 시행하여 라이소자임에 의한 아나필락시스를 확인하고 문헌고찰과 함께 보고하는 바이다.

증 례

환자: 황 O 윤**나이/성별:** 34세, 여자**주소:** 호흡곤란을 동반한 혈관부종**현병력:** 환자는 감기로 약국에서 복합 감기약인 그린코푸 (Green cough, Green Cross, Seoul, Korea) 한 캡슐을 복용하였다.

Correspondence to: Mi-Kyeong Kim

Department of Internal Medicine, Chungbuk National University College of Medicine, 776 1(il)sunhwan-ro, Heungdeok-gu, Cheongju 361-7, Korea

Tel: +82-43-269-6355, Fax: +82-43-273-3252, E-mail: kimmk@chungbuk.ac.kr

Received: May 23, 2013 Revised: July 15, 2013 Accepted: July 22, 2013

© 2014 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/3.0/>).

<http://www.aard.or.kr>

5분이 지나 눈꺼풀과 입술이 붉어지면서 부풀어 올랐고, 혀가 부어서 둔한 느낌이 들었으며, 1 cm 정도의 두드러기가 팔에 나타나기 시작하여 점차 커지고 뭉치면서 전신에 발생하였다. 10분 후에는 가슴답답함 및 호흡곤란 증세가 발생하였으며, 복통과 구토가 동반되어 본원 응급실로 내원하였다. 환자는 약 4개월 전에도 감기로 그린코푸를 2회 복용한 적이 있었으나 당시는 이상 소견이 없었다고 하였다. 환자는 진통소염제를 복용하면 두드러기를 경험하기 때문에 진통소염제는 복용하지 않는다고 하였다.

과거력: 아스피린 특이 체질

가족력: 특이사항 없음.

신체검사: 본원 응급실 내원 당시 혈압은 90/40 mmHg, 맥박은 분당 130회, 호흡은 분당 28회, 체온은 36.5°C이었다. 전신 두드러기와 입술 및 눈 주위에 혈관부종이 관찰되었다. 청진에서 천명음이 들렸다. 환자는 에피네프린 피하주사와 수액 공급 및 항히스타민제, 스테로이드 주사 후 증상이 호전되었다.

검사실 소견: 응급실에서 시행한 말초혈액검사, 일반화학검사, 단순흉부방사선과 심전도검사에서 이상 소견이 없었다. 혈청 tryptase는 11 mg/mL로 증가되어 있었다. ImmunoCAP (Pharmacia, Uppsala, Sweden)으로 측정한 혈청 총 IgE 치는 46.7 kU/L (정상, <113 kU/L)로 정상이었으며, Phadiatop 검사는 양성이었다.

피부단자검사: 흡입항원을 이용한 피부단자검사(55종, Ben-card, London, UK)에서 단풍나무, 오리나무, 자작나무 화분에 ++의 양성반응을 보였으며, 개털과 고양이털에 강양성반응을 나타내었다. 그린코푸(1, 5%)로 시행한 피부단자검사에서도 강양성반응을 나타내었다. 당시 그린코푸를 복용한 적이 없는 천식 및 비염 환자와 정상인 총 15명을 대조군으로 피부단자검사를 시행하였으나 모두 음성반응을 나타내었다. 이후 그린코푸의 10가지 함유 성분 (Green Cross, Seoul, Korea 제공)인 클로르페니라민말레산염, 디엘염산메틸에페드린, 카페인무수물, 길경엑스, 감초엑스, 염화라이소자임, 구아아콜설펜산칼륨, 유당수화물, 경질무수규산, 스테아르

산마그네슘(함유된 동일 용량)으로 피부단자검사를 다시 시행한 결과 라이소자임에만 강양성 반응을 나타내었다(Fig. 1, Table 1).

라이소자임 특이 IgE 항체 검사: 본 연구실에서 시행하는 효소면역법을 이용하여 측정하였다.⁸⁾ 면역효소용 96-microwell plate에 라이소자임(50 µg/mL)-human serum albumin 결합체를 well 당 20 µL씩 넣고 plate를 커버로 씌운 뒤 4°C 냉장고에 하룻밤 두었다. 차단액으로 50% skim milk를 사용하였다. PBST (phosphate buffered saline [PBS] containing 0.05% Tween 20)로 3회 세척한 후 환자와 대조군 15명(피부단자검사 시행 환자들)의 혈청 100 µL를 각각 well에 넣고 2시간 실온에 방치하였다. 이차 항체로 horseradish pexoxidase-conjugated rat antihuman IgE 항체(1:1,000 in PBS, Novus biologicals, Littleton, CO, USA)를 100 µL씩 넣고 2시간 동안 실온에 방치하였다. 발색 처리 후 흡광도를 측정하였다(Fig. 2). 환자의 흡광도는 0.56인 데 반해 대조군은 0.13 ± 0.08이었다.

라이소자임 Western blot: 원인항원을 규명하기 위해 라이소

Table 1. Results of skin prick tests with Green cough and its ingredients

Agent	Skin reactivity (mm)	
	Wheal	Erythema
Green cough	10×8	24×18
Chlorpheniramine maleate	-	-
DL-methylephedrine	-	-
Anhydrous caffeine	-	-
Glycyrrhiz extract	-	-
Lysozyme chloride	6×7	16×13
Platycodon root	-	-
Magnesium stearate	-	-
Light anhydrous silicic acid	2×2	6×7
Lactose hydrate	-	-
Potassium guaiaacolsulfonate	-	-
Histamine (0.1%)	3×2	5×4
Normal saline	-	-



Fig. 1. Results of skin prick tests with Green cough and its 10 ingredients including lysozyme.

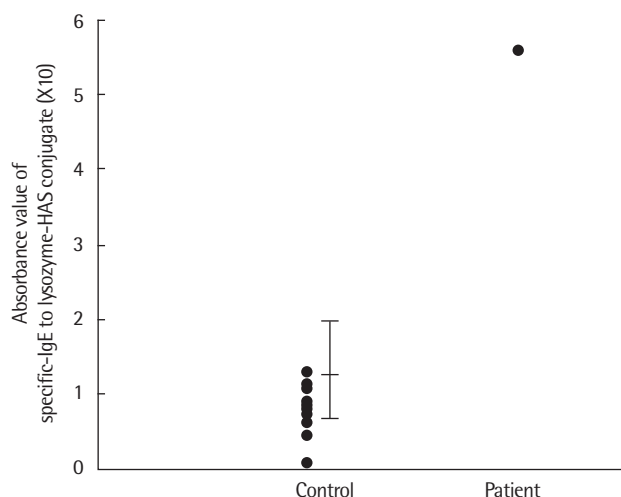


Fig. 2. Results of serum specific immunoglobulin E (IgE) antibody to lysozyme-human serum albumin (HSA) conjugate measured by enzyme-linked immunosorbent assay in patient and 15 unexposed controls. Optic density of this patient was 0.56 which was more than 3 times higher than the mean value of controls.

자임을 20 µg/mL로 희석하여 8.5% acrylamide 젤(Gibco, Grand Island, NY, USA)을 이용해 전기영동을 시행하고 Nitrocellulose 막(BioLab Inc., Lawrenceville, GA, USA)을 이용하여 Western blot을 시행하였다.⁹⁾

전기영동이 끝난 후 25 mA, overnight로 Nitrocellulose 막(BioLab Inc.)에 transfer한 후 5% skim milk로 상온에서 2시간 반응시켜 기저반응을 차단시켰으며 PBS-0.2%-Tween 20로 3회 세척하였다. 항원에 반응하는 제1항체로는 500배 희석한 환자의 혈청을 차단반응이 끝난 막과 상온에서 1시간 반응시킨 후 같은 완충액을 이용하여 3회 희석하였다. 제2항체는 alkaline phosphatase conjugated antihuman IgE (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)를 1:50으로 희석하여 각각 상온에서 1시간 반응시킨 후 위와 같은 방법으로 3회 세척하였다. BCIP/NBT (Amersco LLC, Solon, OH, USA) 용액을 이용하여 반응시킨 후 흐르는 물에 세척하여 반응 띠를 관찰한 후 molecular marker (BioLab Inc.)를 기준으로 항원의 분자량을 구하였다. 14 kD 단백질에서 환자의 혈청과 반응하는 IgE 결합이 있음을 확인하였다(Fig. 3).

고 찰

라이소자임은 '세균을 녹이는 효소'라는 뜻으로 1922년 Alexander Fleming이 발견하였다.¹⁾ 129개의 아미노산으로 이루어진 1가닥의 폴리펩티드 사슬 구조를 가지며 분자량은 14.3 kDa이다. 인체의 눈물, 타액과 점액 등에 분포한다. 이뿐 아니라 자연 변성된 L56T and D67H 등의 mutant 등은 비장, 신장 간 등에 존재한다.¹⁰⁾ 라이소자임은 이외에도 계란 흰자와 식물 등을 포함하여 다양한

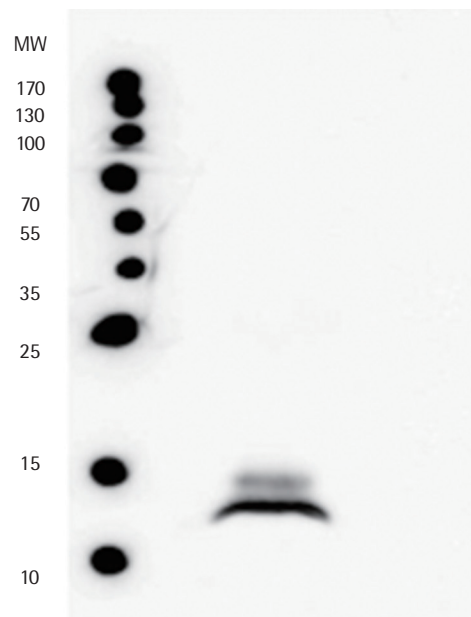


Fig. 3. Results of Western blotting of lysozyme. Immunoglobulin E binding with 14 kD protein was detected. MW, indicator of molecular weight.

생물의 체액 속에 존재한다.¹⁾ 라이소자임은 세균의 세포벽에 N-acetylmuramic acid와 N-acetylglucosamin 사이의 β(1-4)glycosidic bond를 가수분해하여 균으로부터 생체를 보호하는 역할을 한다. 이러한 살균력 때문에 여러 가지 식품 및 약물의 첨가제로 많이 사용된다.^{1,2)} 대표적으로 와인의 청정제로서 사용되기도 하고, 치즈 제조 과정 중 *Clostridium tyrobutyricum*에 의한 late blowing을 예방하기 위한 첨가제로 사용되기도 한다.⁶⁾

계란 흰자에 함유되어 있으며 ovomucoid, ovalbumin, conalbumin과 함께 라이소자임도 계란 알레르기의 원인 알레르겐 중 하나이다.^{3,4)} Laconelli 등⁶⁾은 치즈를 계란 알레르기 환자가 섭취했을 때 라이소자임에 의한 알레르기 반응이 발생할 위험도를 평가했는데, 고성능 액체크로마토그래피(high performance liquid chromatography)를 이용하여 측정한 치즈 내 lysozyme 양이 극히 적어 알레르기 반응을 일으키는 것은 아니라고 보고한 바 있다. 하지만 Weber 등⁵⁾은 동일한 환자가 와인을 섭취했을 경우 알레르기 반응의 위험성을 배제할 수 없다고 보고한 바 있다. 이와 같이 계란 알레르기 환자의 원인 알레르겐이 라이소자임인 경우는 라이소자임이 함유된 치즈와 와인 등의 식품 등을 섭취하지 않도록 교육할 필요가 있다. 본 증례의 경우 계란이나, 치즈, 와인을 섭취했을 때 이상반응을 경험한 바는 없다고 하였다. 하지만 와인이나 계란 흰자 등도 라이소자임을 함유하고 있어 향후 알레르기 반응을 유발할 가능성이 있으므로 섭취하지 말 것을 환자에게 교육하였다. 라이소자임은 약품 첨가제로도 사용되지만 알레르기 반응을 일으켰다고 보고된 예는 매우 드물다. Perez-Calderon 등⁷⁾이 Lizipaina (bacitracin, papain, and lysozyme)을 복용한 후 혈관부종이 발생한 환자

를 보고하면서 피부반응검사와 혈청 라이소자임 특이 IgE 항체검사를 시행하여 라이소자임이 원인 알레르겐임을 확인하여 라이소자임에 의한 약물알레르기를 보고하였다. 이 증례의 환자는 본 증례와는 달리 가공된 치즈와 날계란 섭취 시에도 동일한 반응을 보였다. 본 증례는 이전에 같은 약에 노출된 병력이 있고, 라이소자임이 함유된 그린코푸 캡슐을 복용한 후 5분이 지나 전신 두드러기와 혈관부종을 경험하였으며 전신 증상으로 가슴 답답함 및 호흡곤란 복통과 구토가 동반되었으며 혈압이 저하되었고 응급실에서 시행한 혈청 *tryptase*가 상승하여 제1형 과민반응인 아나필락시스이다. 그린코푸로 일차적으로 시행한 피부단자검사에서 대조군과는 달리 강양성반응을 나타내어 그린코푸가 원인임을 확인하였다. 하지만 약품이나 식품의 경우는 그 자체 뿐 아니라 복합제인 경우 각각의 성분과 첨가제나 부용제도 원인 알레르겐이 될 수 있으므로 이들에 대한 검사를 시행하여 어떤 성분이 원인 알레르겐인지를 확인할 필요가 있다. 본 증례의 경우도 이차적으로 그린코푸의 10가지 구성 성분을 제약회사로부터 공급받아 이차적으로 성분별 피부단자검사를 시행한 결과 대조군과는 달리 라이소자임에 강양성반응을 나타내었다. 이에 대한 혈청 특이 IgE 항체를 인형알부민 결합제를 이용하여 측정한 결과 0.56으로 대조군의 *optical density*인 0.17 ± 0.08 보다 3배 이상 증가하여 양성반응을 나타내었으며 Western blot을 시행한 결과도 14 kD의 단백을 확인하여 그린코푸 중 한 성분인 라이소자임에 의한 아나필락시스로 진단하였다. 그린코푸가 아니라 라이소자임이 원인 알레르겐이기 때문에 환자에게는 라이소자임이 함유된 식품을 복용하지 말 것을 교육하여야 하므로 앞서 언급한 바와 같이 본 증례의 경우는 Pérez-Calderon 등⁷⁾이 보고한 경우와는 달리 라이소자임이 함유된 치즈와 와인을 섭취하고 현재까지는 이상 반응이 없었지만 향후 이상반응이 발생하지 않을 것이라는 확신이 없으므로 복용하지 말 것을 교육함과 동시에 매약을 하는 경우나 식품을 섭취할 경우 라이소자임이 함유되었는지도 확인하라고 교육하였다. 하지만 우리나라에서는 라이소자임이 함유된 약물을 확인할 수 없어 약품에 관한 리스트는 제공하지 못했다.

Iaconelli 등⁶⁾과 Weber 등⁵⁾은 와인을 섭취했을 경우는 라이소자임에 감작된 환자에게 알레르기 반응이 발생할 경우에 관하여 서로 상반된 견해를 나타내어 라이소자임이 알레르기 반응을 일으키는 역치가 있을 것으로 짐작이 되므로 식품에 함유된 라이소자임의 양을 아는 것이 향후 라이소자임 환자에게 회피해야 할 음식 등을 교육하는 데 도움이 될 것으로 사료된다.

본 증례는 10가지 구성 성분 중 라이소자임이 원인 알레르겐이었지만 약물의 경우 주성분이 아닌 부용제나 첨가제가 원인 알레르기

일 가능성이 있으므로 함유 성분 중 부용제나 첨가제 등도 검사를 시행할 필요가 있다. 특히 약품의 대표적 부용제인 polysorbate¹¹⁾는 항암제를 비롯한 다양한 약품 첨가제로서 널리 사용되고 있어 누구나 감작될 경우가 있으므로 성분을 확인한 후 원인이 아닌지 반드시 확인해 볼 필요가 있다. 확인한 후에는 이들을 함유한 약품 목록을 환자에게 교육하고 사용하지 말 것을 교육해야 한다. 결론으로 본 저자들은 복합 감기약인 그린코푸를 복용한 후 아나필락시스를 경험한 환자에게 그린코푸와 라이소자임을 포함한 10가지 구성 성분으로 피부단자검사를 시행하고 혈청 라이소자임 특이 IgE 항체검사와 Western blot을 시행하여 구성 성분 중의 하나인 라이소자임이 원인 알레르겐임을 확인하여 보고하는 바이다.

REFERENCES

1. Fremont S, Kanny G, Nicolas JP, Moneret-Vautrin DA. Prevalence of lysozyme sensitization in an egg-allergic population. *Allergy* 1997;52:224-8.
2. Cheetham JC, Artymiuk PJ, Phillips DC. Refinement of an enzyme complex with inhibitor bound at partial occupancy. Hen egg-white lysozyme and tri-N-acetylchitotriose at 1.75 Å resolution. *J Mol Biol* 1992;224:613-28.
3. Mine Y, Yang M. Recent advances in the understanding of egg allergens: basic, industrial, and clinical perspectives. *J Agric Food Chem* 2008;56:4874-900.
4. Jacobsen B, Hoffmann-Sommergruber K, Have TT, Foss N, Briza P, Oberhuber C, et al. The panel of egg allergens, Gal d 1-Gal d 5: Their improved purification and characterization. *Mol Nutr Food Res* 2008;52 Suppl 2:S176-85.
5. Weber P, Kratzin H, Brockow K, Ring J, Steinhart H, Paschke A. Lysozyme in wine: a risk evaluation for consumers allergic to hen's egg. *Mol Nutr Food Res* 2009;53:1469-77.
6. Iaconelli A, Fiorentini L, Bruschi S, Rossi F, Mingrone G, Piva G. Absence of allergic reactions to egg white lysozyme additive in Grana Padano cheese. *J Am Coll Nutr* 2008;27:326-31.
7. Perez-Calderon R, Gonzalo-Garajo MA, Lamilla-Yerga A, Mangas-Santos R, Moreno-Gaston I. Recurrent angioedema due to lysozyme allergy. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2007;17:264-6.
8. Kim SM, Kim KS, Kim MK. A case of anaphylaxis to trimethoprim-sulfamethoxazole. *Korean J Med* 2011;80:365-9.
9. JJ Kim, JK Park, MK Kim. 24kD protein in Korean Ginseng, PRP-5 is a new allergen in Oral allergy syndrome [abstract] In: Programm and abstract, the 59th Annual Spring Meeting of the Korean Asthma and Allergy Society; 2009 May 16; Seoul, Korea. Seoul: Korean Asthma and Allergy Society; 2009;29:118.
10. Kumita JR, Helmfors L, Williams J, Luheshi LM, Menzer L, Dumoulin M, et al. Disease-related amyloidogenic variants of human lysozyme trigger the unfolded protein response and disturb eye development in *Drosophila melanogaster*. *FASEB J* 2012;26:192-202.
11. Cho YS, Yoon TY, Choi W, Kim KS, Kim MK. A case of anaphylaxis induced by polysorbate 80 in parenteral multivitamin. *Korean J Asthma Allergy Clin Immunol* 2009;29:204-7.