

# 대도시 공단지역과 농촌 인근 소도시에 거주하는 초등학생들의 면역기능 차이에 대한 연구 (I)

허 용 · 김은미 · 윤희섭<sup>1)</sup> · 성주현<sup>2)</sup> · 김형아<sup>3)‡</sup>

대구가톨릭대학교 자연대학 산업보건학과 · 서울덕의초등학교<sup>1)</sup>  
강원대학교 의과대학 예방의학교실<sup>2)</sup>, 가톨릭대학교 의과대학 예방의학교실<sup>3)</sup>

## Alteration of Overall Immunologic Status in the Children Living at a Polluted Industrialized Area Compared with the Children at a Semi-Rural Area in Korea

Yong Heo · Eun Mi Kim · Hi Seop Yoon<sup>1)</sup> · Joohon Sung<sup>2)</sup> · Hyoung Ah Kim<sup>3)‡</sup>

Catholic University of Daegu, College of Natural Sciences Dept. Occupational Health, Seoul DukEui Primary School<sup>1)</sup>

Kangwon National University, College of Medicine Dept. Preventive Medicine<sup>2)</sup>

Catholic University of Korea, College of Medicine Dept. Preventive Medicine<sup>3)</sup>

This study was undertaken to investigate an influence of environmental pollution on immunologic status of primary school children. One hundred seven and fifty one children at third grade were randomly selected from a primary school located at the industrialized area of metropolitan Seoul and from a primary school at the semi-rural area, respectively.

Number of peripheral blood leukocytes was lower in the children living at the industrialized area than the children at the semirural area and number of granulocytes was significantly lowered in the industrialized area children. Comparison of plasma IgG subclass levels demonstrated significant upregulation of IgG2 and IgG3 in the industrialized area children, suggesting an involvement of these IgG subclasses in alteration of immunologic status leading to occurrence of allergic diseases. To examine skewing of peripheral T cell activities, peripheral mononuclear cells were in vitro stimulated with phorbol 12-myristate 13-acetate and ionomycin, typical T cell activators, for 72 hours

followed by determination of IL-4, IL-13, and  $TNF\alpha$  in the culture supernatants. Production of IL-4 and IL-13, two representative type-2 cytokine mediating allergic responses, was significantly higher at the industrialized area children than the semi-rural children with no difference at the  $TNF\alpha$  level. This observation indicates that enhancement of type-2 response potentially mediating allergy induction was apparent in the industrialized area children. Meanwhile, comparison of plasma IgE and histamine levels between the two area did not show similar trends as the IgG subclass and T cell activities.

Overall, our data implies that functional activities of T and B cells in the children living at heavily polluted area could be modified in comparison with those of the children at rather clean environment area.

**Key Words:** environmental pollution, school children, IL-4, IL-13, IgG subclass

## I. 서 론

산업화와 도시화에 따른 환경오염이 지구 생태계와 인간에게 미치는 영향에 대

해서는 20세기 이후 활발한 연구에 따라 그 위험성이 지속적으로 밝혀지고 있다. 특히 어린이들 신체 각 장기 혹은 조직들의 미성숙, 성인에 비해 더욱 민감하게

반응할 수 있는 유해인자에 대한 독성기전, 아울러 유해인자에 노출 기회가 많게 되는 행동학적 특성등으로 인해 환경유해인자들의 어린이 건강에 미치는 위해성은 더욱 높다 (UNEP, UNICEF & WHO, 2002). 환경유해인자의 다양한 독성중에서 산업장 배출 매연과 자동차 배기가스에 주로 기인하는 공기 오염과 어린이들의 호흡기 또는 피부질환 발생의 상관성

\* 본 연구는 보건복지부 보건의료기술연구개발사업 연구비에 의해 수행되었음

접수일 : 2002년 7월 24일, 채택일 : 2002년 8월 13일

‡ 교신저자 : 김형아(서울시 서초구 반포동 505 가톨릭대학교 의과대학 예방의학교실

Tel : 02-590-1241, Fax : 02-532-3820, E-mail : kimha@catholic.ac.kr)

에 대한 연구가 90년대 이후 본격적으로 연구되고 있는데 (English et al., 1999; Svanes et al., 1999), 영.유아 시기에 노출되는 환경유해인자에 의한 면역체계의 type-2 response 편향화가 향후 어린이들에게 천식, 비염, 아토피성 피부염과 같은 과민반응을 촉발하는 것으로 밝혀지고 있다 (Peden, 2000). 산업 및 환경 유해인자중 실험동물 및 사람에서 알레르기성 과민반응의 배경 기전이 되는 heper T cell type-2 (Th2) 기능 또는 분화를 항진시키는 것으로 알려진 대표적인 물질로는 납, 수은, 경유연소물질이 거론되고 있다 (Heo et al., 2001; Nel et al., 1998; Krieger et al., 1998). 본 연구에서는 우리나라의 경우 천식과 같은 알레르기성 호흡기 과민반응과 아토피성 피부염 같은 과민성 피부질환의 발생에 대기오염을 중심으로 한 환경오염이 어떠한 영향을 미치고 있는지 평가하고 그 원인물질을 구명하기 위한 연구의 최종 목적을 달성하기 위하여 일차적으로 거주 지역이 대규모 공단이 위치해 있는 대도시인 경우와 농촌에 인접해 있으면서 대규모 공단이 없어 대기오염 측면에서 볼 때 청정한 지역으로 알려진 소도시에서 거주하고 있는 초등학교 3학년 어린이들을 대상으로 이들의 전반적인 면역기능을 분석.평가하여 비교하였다.

## II. 연구대상 및 방법

### 1. 연구대상

대상 어린이들은 모두 초등학교 3학년

에 재학중인 학생들로서 서울시 구로구 구로공단지역내 소재하고 있는 일개 초등학교 (107명; industrialized area)와 강원도 춘천시 소재 일개 초등학교 (51명; semi-rural)에서 선정되었다 (Table 1). 지역간 남녀 구성비는 차이가 없었으며 학부모들에게 연구목적을 설명하고 채혈에 동의한 경우에만 약 6ml 정도의 말초혈액 채혈과 설문조사를 시행하였다.

### 2. 채혈 및 말초혈액학적 분석

연구대상자들에게서 약 6ml의 말초혈액을 EDTA-vacutainer tube에 채혈하고 이중 1ml을 이용해 Coulter counter (Ac. Tdiff; Beckmancoulter, Fullerton, CA, USA)에 의해 분석하였다. 주요 분석항목으로는 총 백혈구수, 적혈구수, 임파구수, 단핵구 (monocyte) 수, 과립구 (granulocyte) 수, 상피 면역세포 구성비 (%), 헤마토크리트 (hematocrit; %), 헤모글로빈 농도 (g/dl) 등이었다. 또한 2ml의 혈액은 2400 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈장 (plasma)을 분리하고 분리된 혈장은 사용 전까지는 -80℃ 냉동 보관하였다.

### 3. 임파구 분리 및 활성화 배양

최종적으로 남은 약 3ml의 혈액에서 Ficoll-paque density gradient centrifugation (Amersham Pharmacia Biotech, Upsala, Sweden) 방법에 의해 임파구를 분리하였다 (Pepper et al., 1968). 분리된 임파구는 DPBS (BioWhittaker, Walkersville, Maryland, USA)로 3회 세척한 후 complete

RPMI 세포배양배지 (1 mM nonessential amino acids, 1 mM sodium pyruvate, 1% sodium bicarbonate, 2 mM glutamine, 50  $\mu$  M 2-mercaptoethanol, 10% heat-inactivated fetal bovine serum, 1% penicillin-streptomycin-fungizone mixture 첨가)를 사용하여 24 well plate에 well 당  $1 \times 10^6$  cells을 넣고 활성화 배양을 하였다. 활성화 물질로는 PMA (phorbol 12-myristate 13-acetate; 5ng/  $1 \times 10^6$  cells; Sigma, Saint Louis, Missouri, USA)와 ionomycin (500ng/  $1 \times 10^6$  cells; Sigma)을 혼합하여 주로 사용하였다 (허용 등, 2002). cytokine을 측정하기 위한 세포배양액은 배양 후 72시간에 얻어졌는데 72시간 배양이 48시간이나 96시간 배양보다 cytokine 생성 수준이 높음을 확인하였다 (data not shown). 세포배양액은 사용 전까지 -80℃ 냉동 보관하였다.

### 4. ELISA 방법에 의한 cytokine 정량

세포배양액에 생성된 interleukin-4 (IL-4), interleukin-13 (IL-13), interferon gamma (IFN  $\gamma$ ), tumor necrosis factor alpha (TNF  $\alpha$ )을 정량하기 위해 sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 방법을 사용하였다 (Heo et al., 1996). 간단하게 방법을 기술하면 먼저 Immulon IV plate (Dynatech, Chantilly, VA, USA)에 각 cytokine에 대한 capture antibody (2  $\mu$ g/ml) 100  $\mu$ l/well을 넣고 4℃에서 overnight 정치시켰다. 다음날 automatic washer (Biotek ELx 50, Biotek Instruments, Burlington, VT, USA)로 3회 세척한 뒤, 단백질의 비특이적 부착을 억제하기 위해

Table 1. Demographic characteristics of the primary school children living at the industrialized or the semi-rural area of Korea (number of children)\*

Residential area	Sex	Respiratory allergy	Atopic dermatitis	Both	None allergic symptoms	Total
Industrialized area	Male	4	1	4	49	58
	Female	7	5	1	36	49
Semi-rural area	Male	3	1	0	21	25
	Female	2	4	0	20	26
Total		16	11	5	126	158

\* number of children with respiratory allergy, atopic dermatitis, both allergy symptoms, or neither of these symptoms

10% FBS (fetal bovine serum)-PBS를 (200  $\mu$ l/well) 넣고 2시간 실온에서 정치시켰다. 정치후 다시 3회 세척하고 세포배양액과 각 cytokine standard를 넣은 뒤 4°C에서 overnight 정치시켰다. 다음날 7회 세척하고 detection antibody (1  $\mu$ g/ml) 100  $\mu$ l/well을 넣고 실온에서 2시간 정치시킨 다음, 다시 7회 세척 후 avidin-peroxidase (2.5  $\mu$ g/ml) 100  $\mu$ l/well을 넣고 1시간 실온에서 정치시켰다.

2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid, Sigma)를 사용하여 발색 후 흡광도를 405 nm에서 Biotek ELISA reader (EL800)로 측정하였다. cytokine별 사용된 antibody pair (capture vs detection, PharMingen, San Diego, CA, USA)는 다음과 같다. IL-4 (8D4-8/MP4-25D2), IL-13 (JES 10-5A2/B69-2), IFN  $\gamma$  (NIB42/4S.B3), TNF  $\alpha$  (MAb1/MAb11). 각 cytokine 별 정량한계는 다음과 같다. IL-4 (15 pg/ml), IL-13 (15 pg/ml), IFN  $\gamma$  (100 pg/ml), TNF  $\alpha$  (60 pg/ml).

#### 5. ELISA 방법에 의한 Immunoglobulin 정량

혈장내 존재하는 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4의 수준을 정량화하기 위해 isotype-specific ELISA 방법을 사용하였다 (Braun et al., 1999; Silvy et al., 1996). 간단하게 방법을 기술하면 먼저 Immulon II plate (Dynatech)에 각 IgG subclass 항체에 대한 capture antibody (2  $\mu$ g/ml, PharMingen) 100  $\mu$ L/well을 넣고 4°C에서 overnight 정치시켰다. 다음날 3회 세척한 뒤 단백질의 비특이적 부착을 억제하기 위해 1% BSA (bovine serum albumin)-PBS를 (200  $\mu$ l/well) 넣고 2시간 실온에서 정치시켰다. 정치후 다시 3회 세척하고 1% BSA-PBS로 희석한 혈장 (IgG1, 1/10000; IgG2, 1/50000; IgG3, 1/5000; IgG4, 1/25000)과 각 IgG isotype standard (Sigma)를 넣은 뒤 4°C에서 overnight 정치시켰다. 다음날 7회 세척하고 biotin-mouse anti-human IgG (1  $\mu$ g/ml, PharMingen) 100  $\mu$ l/well을 넣고 실온에서 2시간 정치시킨 다음 다시 7회 세척 후 avidin-peroxidase (2.5  $\mu$ g/ml) 100

$\mu$ l/well을 넣고 1시간 실온에서 정치시켰다. 6-sulfonic acid, Sigma)를 사용하여 발색 후 흡광도를 405 nm에서 ELISA reader로 측정하였다. 각 isotype 별 정량한계는 다음과 같다. IgG1 (5 ng/ml), G2, G3 (15 ng/ml), IgG4 (1.5 ng/ml). 아울러 IgG subclass 정량에 대한 정도관리는 WHO reference serum (National Institute for Biological Standards and Control, Hertfordshire, UK)과 Human IgG subclass profile ELISA kit (Zymed Laboratories, South San Francisco, USA)를 이용하여 실시하였다. 혈장내 total IgE는 IBL kit를 사용하여 450 nm에서 정량하였다 (IBL, Hamburg, Germany).

#### 6. 혈장내 존재하는 히스타민 정량

히스타민 정량을 위해서는 IBL histamine ELISA kit (IBL Immuno-biological laboratories, Hamburg, Germany)를 사용하였는데, 방법을 요약하면 다음과 같다. 우선 20  $\mu$ l의 실험혈장 및 표준 혈장, positive control 혈장에 20  $\mu$ l의 indicator buffer를 넣고 혼합한 다음, 4  $\mu$ l의 acylation reagent를 넣고 다시 혼합을 한 뒤 실온에서 30분간 정치시킨다. 이후 150  $\mu$ l의 diluted assay buffer를 넣고 혼합한 뒤, 이 혼합액 50  $\mu$ l를 goat anti-rabbit antiserum against histamine 항체가 부착된 96 well plate에 넣는다. 곧바로 peroxidase-conjugated histamine 50  $\mu$ l을 부가하고 최종적으로 rabbit antiserum against histamine을 50  $\mu$ l 첨가한 다음 orbital shaker에서 3시간 혼합한다. 이후 plate를 세척하고 TMB (tetramethylbenzidine) 발색단을 첨가한 후 20분이 지난 다음 450 nm (reference wave length 610nm)에서 ELISA reader (Bio-Tek EL800, Winooski, VT)를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

#### 7. 통계처리

군간 각 측정치의 유의한 차이는 SigmaPlot 통계프로그램(SPSS, Chicago, USA)을 이용하여 검토하였다. 일차적으

로 자료의 정규분포 여부를 검증한 뒤 single factor ANOVA 와 Dunnett's t-test 혹은 Kruskal-Wallis ANOVA와 Dunn's test로 유의성을 검정하였다. 필요에 따라 Student's t-test 또는 Mann-Whitney test로 추가 유의성 검정을 시행하였고 p value가 0.05 이하일 때를 유의한 차이로 판정하였다. 결과에 제시된 각 그림에서 \*는 p<0.05 수준에서 통계적으로 유의한 차이가 있음을 나타낸다.

### III. 결과 및 고찰

#### 1. 연구대상 어린이들의 인구학적 특성

Table 1은 본 연구의 1차 대상이 된 어린이들의 여러 가지 인구학적 특성을 표시한 것인데, 대상 어린이들 중 20% (32/158)의 어린이들이 호흡기 알레르기나 아토피성 피부염 중 적어도 한가지 이상의 알레르기성 과민성 질환을 가지고 있었다. 알레르기성 질환 중에는 호흡기 과민반응, 아토피성 피부염 順이었으며 약 3% (5/158)의 어린이들은 두 가지 과민반응을 함께 앓고 있었다. 본 연구에서는 호흡기 알레르기나 아토피성 피부염 유병 여부에 대한 정확성을 기하기 위해 대상 어린이들의 부모에 의해 작성된 알레르기성 질환에 대한 증상과 관련된 63가지 설문 결과를 전문의가 분석하여 최종적으로 현재의 상기 질환 유병 여부를 판정하였다.

#### 2. 연구대상 어린이들의 혈액학적 특성

말초혈액에서 순환되고 있는 각 종 면역세포들의 절대적 수 및 그 세포들의 구성비를 분석하였다. 공단지역 어린이들의 평균 총백혈구수는 남,녀 각각  $6.48 \pm 0.19 \times 10^3/\mu$ l,  $6.89 \pm 0.28 \times 10^3/\mu$ l로 본 연구대상자 모두 정상범위 ( $4.5 - 11.0 \times 10^3/\mu$ l)<sup>13)</sup>에 속해 있었으나 농촌 인근 소도시 남,녀 어린이들에 ( $8.19 \pm 0.80$ ,  $7.41 \pm 0.38 \times 10^3/\mu$ l) 비해 각각 낮은 수준이었다 (Fig. 1). 공단지역 어린이들의 평균 임파구수

(남:  $2.75 \pm 0.09$ , 여:  $2.96 \pm 0.10 \times 10^3/\mu\text{l}$ ), 단핵구수 (남:  $0.35 \pm 0.02$ , 여:  $0.39 \pm 0.02 \times 10^3/\mu\text{l}$ )는 농촌 인근 소도시 어린이들의 평균 임파구수 (남:  $2.79 \pm 0.11$ , 여:  $2.98 \pm 0.14 \times 10^3/\mu\text{l}$ ), 단핵구수 (남:  $0.47 \pm 0.04$ , 여:  $0.37 \pm 0.07 \times 10^3/\mu\text{l}$ )와 유의한 차이가 없었던 반면, 과립구수에서는 공단지역이 (남:  $3.37 \pm 0.14$ , 여:  $3.51 \pm 0.21 \times 10^3/\mu\text{l}$ ) 농촌 인근 소도시 (남:  $5.32 \pm 1.12$ , 여:  $4.08 \pm 0.29 \times 10^3/\mu\text{l}$ )에 비해 각각 유의하게 낮았다. 이러한 과립구에 대한 결과는 말초혈액내 구성비를 분석하였을 때도 동일하게 나타나 공단지역 남녀 어린이들 각각 농촌 인근 소도시 어린이들에 비해 유의하게 낮았다 (Fig. 2). 공단지역 어린이들의 경우 백혈구수가 농촌 인근 소도시 어린이들에 비해 낮았던 것은 임파구나 단핵구 보다는 주로 과립구수가 적었던 것에 기인함을 알 수 있었다. 특히 백혈구 구성 세포들중 과립구중의 하나인 호중구가 차지하는 비율이 어린이들에 있어서 50-60%인 반면 호산구와 호염구를 합한 비율이 2-5% 정도인 (홍창의, 1997) 점을 감안하면, 과립구중 호중구의 상대적 감소를 예측하여 볼 수 있다. 대도시 공단 지역 어린이들에게서 호중구의 비율이 상대적으로 감소되어 있음은 호중구가 병원성 세균과 같은 이물질을 탐식하여 제거함으로써 병원균 감염에 대한 방어력을 유지하는데 중요한 기능을 수행한다는 점을 (Burg and Pillinger, 2001; Levy et al., 1999) 감안하면 이들 어린이들이 각 중 감염성 질환에도 감수성이 높을 수 있음을 암시하는 결과이다. 이 가능성을 구체적으로 확인하기 위해서는 지역간 과립구에 속하는 세포들의 구성비를 비교분석하는 것이 추후 필요할 것이다.

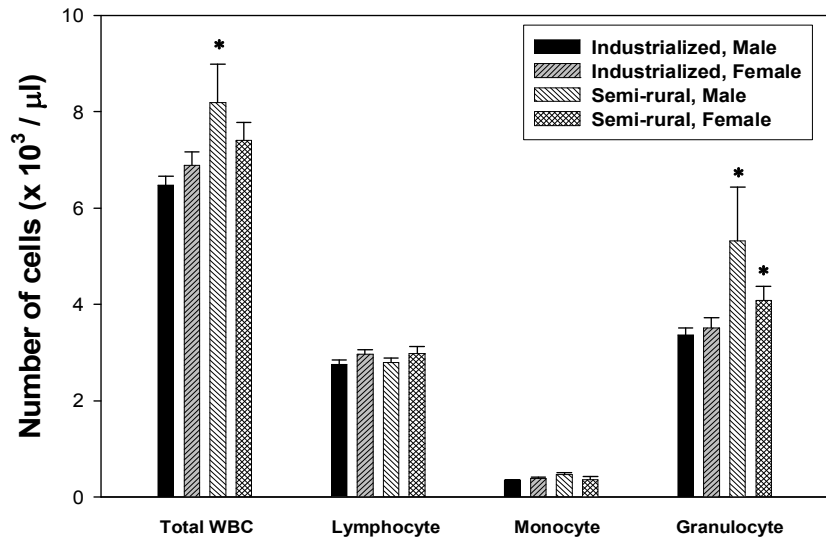


Figure 1. Decreased number of leukocytes in peripheral blood obtained from pupils living at the industrialized area in comparison with that from the semi-rural area

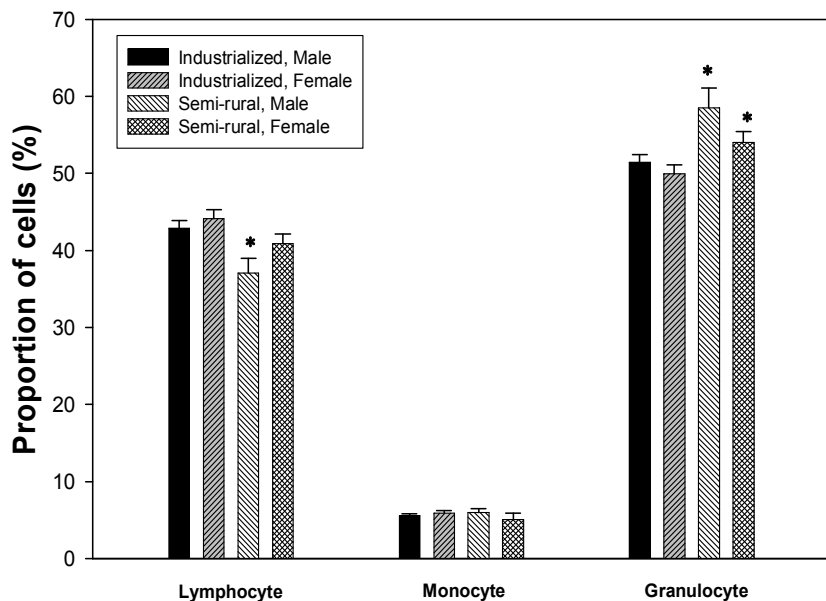


Figure 2. Significantly lowered distribution of granulocytes at the industrialized area pupils than the semi-rural area pupils

### 3. IgG subclass의 분포에 대한 비교

혈장내 존재하는 IgG의 subclass, 즉 IgG1, G2, G3, G4의 분포를 지역간 비교를 하였다. 특정 질환과 관련되어 IgG subclass 증감에 대해서는 아직까지 확립되어 있는 경우가 드물다. 과민반응과 관련되어서는 더욱 혼동스러운데, 예를 들

면 IgG4의 경우 알레르기 유도과 관련되어 있다는 보고가 있는 반면, 오히려 IgE에 의한 알레르기 발생을 제어한다는 역할도 보고되어있다 (Boluda et al., 1997). 한편 천식 발생을 가중시키는 인자로 알려져 있는 경유연소물질 (diesel exhaust particles)이 (Heo et al., 2001) IgG4의 수준을 약간 상승시킨다는 보고도 있으며

(Diaz-Sanchez, 1997), 고양이 알레르기 항원에 대해서는 IgE와 관계없이 IgG4 단독으로 알레르기 발생에 관여한다는 보고도 있다 (Custovic and Woodcock, 2001). 또한 IgG1이나 IgG3가 모두 호산구의 탈과립화를 유도하여 알레르기 발생을 매개한다는 점도 보고된 바 있다 (Kaneko et al., 1995). 본 연구 결과, 평균 total IgG의 수

준은 공단지역 어린이들 (남: 12.38 mg/mL, 여: 12.86 mg/mL)이 농촌인근지역 어린이들 (남: 11.20 mg/mL, 여: 11.04 mg/mL)에 비해 상대적으로 높았으나 통계적으로 유의하지는 않았던 반면, IgG subclass별로 나누어 비교할 때는 지역간 유의한 차이를 나타내었다 (Fig. 3). 즉, IgG2, G3, G4는 공단지역 어린이들에 있어서 농촌 인근 지역 어린이들에 비해 상대적으로 높았는데 특히 공단지역 어린이들의 IgG2 (남:  $4.53 \pm 0.56$ , 여:  $4.64 \pm 0.34$  mg/mL)와 IgG3 (남:  $1.46 \pm 0.15$ , 여:  $1.36 \pm 0.13$  mg/mL) 수준은 농촌인근지역 어린이들의 경우에 비해 (IgG2, 남:  $2.95 \pm 0.31$ , 여:  $3.45 \pm 0.26$ , IgG3, 남:  $1.06 \pm 0.22$ , 여:  $0.71 \pm 0.06$  mg/mL) 통계적으로도 유의하게 높았다 (Fig. 3). 본 연구 결과에서 나타난 지역간 IgG subclass 수준의 차이를 설명하는데는 다양한 변수가 고려되어야 하지만, 일차적으로 어린이들이 성장하는 지역의 환경오염 정도가 어린이들의 체내 IgG의 subclass 분포를 포함한 면역체계 전반에 변화를 초래할 수 있는 점을 예측케 한다. 아울러 위에서 기술한 것처럼 실험적 연구를 통해 일부 보고되고 있는 특정 IgG

subclass (IgG1, IgG3 및 IgG4)의 알레르기 발생 관련성과 연관지어 생각해 볼 때 본 연구 결과에서 보여준 IgG2 나 IgG3의 유의한 증가를 바탕으로, 알레르기 항원 특이 IgG2 나 IgG3 생성에 미치는 환경유해인자들의 영향에 대해 추후 지속적인 연구가 필요하리라 본다.

#### 4. 대기오염도와 연관된 거주지역 차이에 따른 T 림파구의 기능적 변화

Helper T cell의 한 종류인 Th2 cells는 IL-4를 분비하여 항체의 IgE 혹은 IgG1로의 isotype switching을 유도하거나 IL-5를 분비하여 폐의 호산구증다증을 촉발하여 호흡기 과민반응을 발생시키는 등 알레르기성 과민반응 유도에 있어서 핵심적인 면역세포로 (Diaz-Sanchez et al., 2000), 주로 실험동물 연구를 통하여 환경유해인자에 의한 Th2 cell의 비정상적 기능 향진이 보고되어 왔다 (Heo et al., 2001). 본 연구에서는 대도시 공단지역에 사는 어린이들의 면역체계가 농촌지역에 인접한 소도시에서 사는 어린이들에 비해 Th2 cell 기능이 비정상적으로 향진되는 type-2 response로

어느 정도 편향화되었는지를 평가하였다. 이를 위해 어린이들의 말초혈액에서 분리한 림파구를 사용하여 in vitro에서 72시간 활성화한 후 배양액에 분비된 IL-4, IL-13 및 TNF  $\alpha$ 를 정량하여 비교하였다. TNF  $\alpha$ 는 helper T cell type-1 (Th1) 혹은 탐식세포에서 분비되어 Th2 cell의 기능을 억제하는 사이토카인으로 알려져 있다 (Xing, 2000). 이에 따라 IL-4, IL-13 및 TNF  $\alpha$ 의 세포배양시 생성수준을 상대적으로 비교하면 helper T cell의 편향성을 간접적으로 예측할 수 있다는 점에 착안하였다 (Heo et al., 1998). 특히 환경오염물질 대부분이 T 림파구의 기능에 영향을 주어 체액면역 수준을 비정상적으로 항진시키고 세포면역 수준은 저하시키는 특성을 갖고 있음이 발표되면서 (Nel et al., 1998; Krieger et al., 1998) T 림파구의 기능에 대한 환경오염의 영향에 관심을 갖게 되었으나 아직까지 사람을 대상으로는 연구가 본격적으로 시행되지 못하고있는 상황이다. 본 연구 결과 (Fig. 4) 공단지역 남자 및 여자 어린이들로부터 얻은 T 림파구에서 농촌인근지역 어린이들로부터 얻은 T 림파구를 활성화했을 경우보다 상대적으로 높은

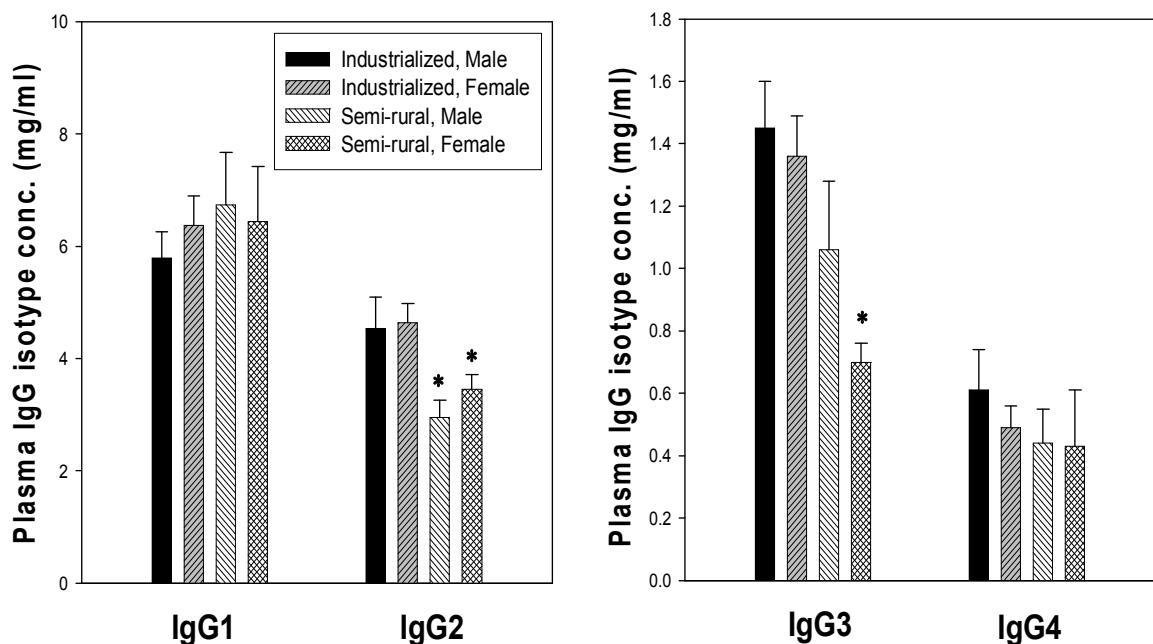


Figure 3. Pupils living at the industrialized area demonstrated higher plasma levels of IgG subclass except IgG1 than the pupils at the semi-rural area

IL-4 와 IL-13의 생성능력을 보였고 특히 공단지역 남자 어린이들의 경우는 다른 군에 비해 유의하게 높은 생성 수준을 나타내었다. IL-13은 Th2 cell에서 분비되며 알레르기 유발에 관련하여 그 역할이 최근 밝혀지고 있다 (Wills-Karp et al., 1998). 한편, Th1 cell에서 분비되는 싸이토카인인 TNF  $\alpha$  생성수준에 있어서는 공단지역 어린이들과 농촌 인근지역 어린이들간 유의한 차이를 나타내지 않았다. 본 결과는 대도시 공단지역에 사는 어린이들의 면역체계가 대기오염도가 상대적으로 낮은 농촌 인근 소도시에 사는 어린이들에 비해 알레르기 발생의 배경기전이 되는 type-2 response로 치우쳐 있음을 제시하는 결과이다. 이러한 결과들은 환경오염의 T 임파구의 기능에 대한 인위적 변화가 Th1 cell의 기능을 억제하기보다는 Th2 cell의 기능을 향진시키는 방향으로 진행되고 있음을 추론케 해주는 것으로서 알레르기성 질환의 진행과 치료대책 연구에 중요한 정보를 제공하는 것으로 생각된다.

##### 5. 알레르기성 질환의 혈장내 지표치인 total IgE 및 histamine 수준 비교

알레르기 항원 특이 IgE가 B 임파구로부터 생성된 다음 비만세포나 호염구등의 면역세포 표면에 있는 IgE receptor (Fc  $\epsilon$  RI 또는 RII)에 결합하게되면 이들 면역세포들의 활성화를 유도하게 되고 그 결과 히스타민이나 leukotriene 같은 과민반응 유도체가 분비되어 알레르기 관련 임상증상을 유도하게 되는데, IgE외에도 알레르기 항원 특이 IgG1 역시 Fc  $\gamma$ RIII receptor에 결합함으로써 mouse에서 전신적 과민반응 발생에 관여함이 근래 발표되었다 (Miyajima et al., 1997; Mudde et al., 1995). 이에 본 연구에서는 일차적으로 대기오염 정도와 관련성이 있는 거주 지역의 차이가 피부 또는 호흡기 과민반응의 면역학적 표식자인 IgE 및 히스타민 수준에 어

떠한 영향을 미치는지를 분석하였다 (Fig. 5). 분석 결과 여학생들의 경우는 거주 지역에 따라 혈장내 IgE나 히스타민 수준에 차이가 없었던 반면, 농촌 인근 소도시에서 거주하는 남자 어린이들의 혈장내 IgE나 히스타민 수준은 다른 모든 군들에 비해 유의하게 높았다. 이 결과는 혈액내 과립구 수 뿐만 아니라 백혈구내 구성비에 있어서도 다른 군들에 비해 유의하게 높았던 결과 (Fig. 1 and Fig. 2)와 연관성이 있어 보인다. 즉, IgE, 히스타민 및 호산구나 호중구와 같은 과립구 모두 알레르기 유발 기전에 있어서 일련의 역할을 수행하고 있다는 주지의 사실을 통해서 생각할 때 본 연구의 결과는 단순한 우연인 것 같지는 않다. 물론, 호흡기 또는 피부 알레르기 증상을 가지고 있는 어린이들의 비율이 공단지역 남학생들의 경우가 15.6%이고 소도시 남학생들의 경우가 16%였던 점을 (Table 1) 상기하면 상기 질환 유병율의 차이가 본 결과에 영향을 미쳤으리라고는 생각되지 않는다. 한편 이 결과를 알레르기성 질환과 관련이 있을

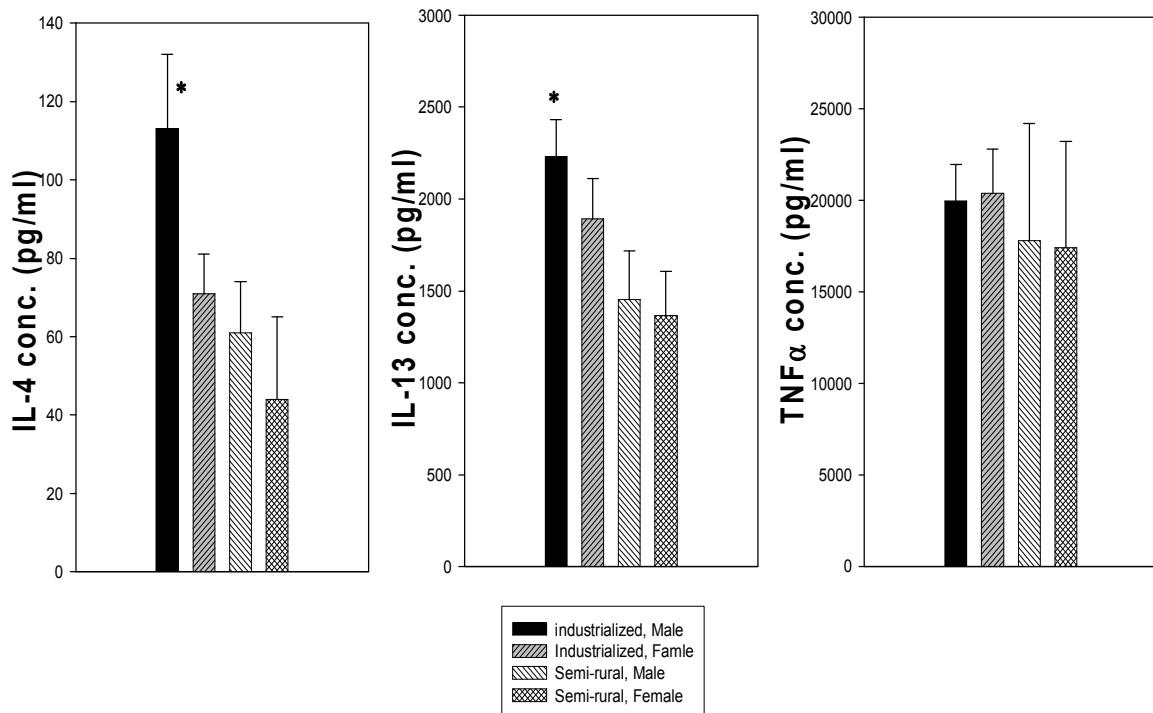


Figure 4. Levels of IL-4 and IL-13 production from T cells activated in vitro with PMA plus ionomycin were significantly higher at male pupils living at the industrialized area than male pupils at the semi-rural area

것으로 여겨지는 특정 IgG subclass 수준의 대도시 공단지역 어린이들에 있어서 증가 (Fig. 3) 및 공단지역 어린이들의 T 임파구 기능이 농촌 인근 소도시 어린이들에 비해 알레르기 발생의 배경기전이 되는 type-2 response로 치우쳐 있을 가능성을 제시한 결과 (Fig. 4)와 연계시켜 상관성을 도출하기는 어렵다. 궁극적으로 본 연구에서 설문조사로는 파악되지 못했던 알레르기성 질환 유병 실태, 즉 혈장 내 IgE 수준 상승과 히스타민 분비 증가에 영향을 미칠 수 있는 질환 진행 정도 (急性 現症 환자 혹은 만성적으로 또는 간헐적으로 증상이 발현되는 경우)에 대한 정보를 이용한 체계적인 연구가 추가적으로 필요하리라 본다. 알레르기성 질환에 이환시 혈장내 IgE의 경우는 상당 기간 동안 그 수준이 항진되어 있는 반면 히스타민의 경우는 이환 초기나 위증도가 심할 때만 유의하게 증가된 수준이 측정될 가능성이 높기 때문이다 (Schroeder et al., 2001; Gospos et al., 2001). 아울러, 호흡기 또는 피부 과민반응 이외에 혈장내 IgE나 히스타민 수준을 증가시킬 수 있는 요인을 고찰하여보면 기생충 감염, 음식물, venom (벌 혹은 뱀의 독), 예방주사 등에 의해 부작용으로 나타나는 전신적 과민증 (systemic anaphylaxis) 등을 우선 들 수 있는데 (Sakaguchi and Inouye, 2000; Sakaguchi et al., 1996), 농촌 인근 소도시에서 사는 남자 어린이들에게 특징적으로 이러한 점이 편중되어 있을 가능성은 완전히 배제할 수 없다 하더라도 개연성이 높다고는 생각되지 않는다.

#### IV. 결 론

대도시의 대규모 공단이 위치해 있는 지역과 농촌에 인접해 있으면서 대기오염 등 환경오염 측면에서 청정한 지역으로 알려진 소도시에서 거주하고 있는 초등학교 어린이들을 대상으로 이들의 전반적인 면역기능을 알레르기성 질환과 관련하여 분석·평가하여 다음과 같은 주요 연구결과 및 결론을 도출하였다. 우선, 공단지역

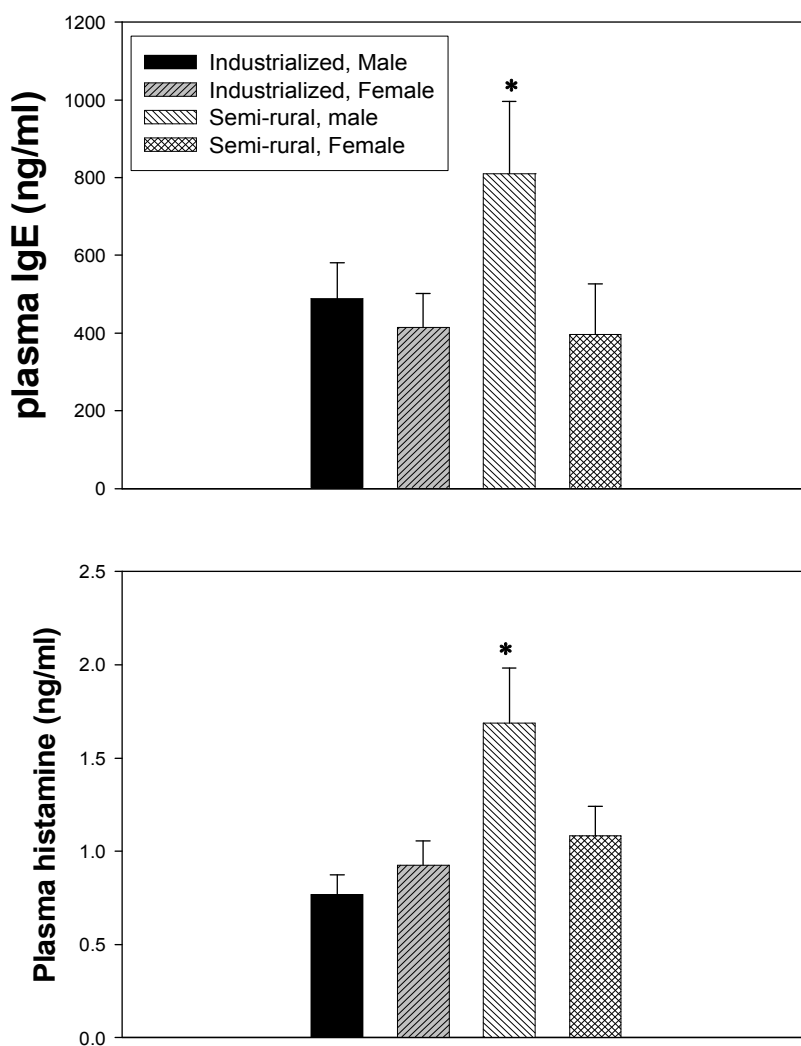


Figure 5. Significantly higher IgE and histamine levels were demonstrated in plasmas from male pupils at the semi-rural area than those of others

어린이들의 백혈구수는 농촌 인근 소도시 어린이들에 비해 낮은 수준이었고 특히 과립구수가 유의하게 낮았는데, 과립구의 대부분이 호중구임을 감안하면 호중구가 암 혹은 감염성질환에 대한 방어력을 유지하는데 중요한 기능을 수행하는 점을 고려할 때 공단지역 어린이들이 각 종 질환에 감수성이 높을 수 있음을 추측케 하는 결과이다. 아울러 혈장내 IgG subclass의 수준을 평가한 결과 공단지역 어린이들의 경우 IgG2, G3, G4의 수준이 농촌 인근 지역 어린이들에 비해 상대적으로 높았는데, 이는 특정 IgG subclass의 알레르기 발생 관련성과 연관지어 생각해 볼 때 주목할 만하다. 또한 T 임파구 기능을 평

가했을 때 공단지역 어린이들의 T 임파구가 농촌 인근지역 어린이들의 T 임파구보다 상대적으로 높은 IL-4 와 IL-13의 생성능력을 보인 반면 TNF  $\alpha$  생성수준에 있어서는 유의한 차이를 나타내지 않았던 결과는 대도시 공단지역에 사는 어린이들의 면역체계가 대기오염도가 상대적으로 낮은 농촌 인근 소도시에서 사는 어린이들에 비해 알레르기 발생의 배경기전이 되는 type-2 response로 치우쳐 있음을 단적으로 보여 주는 것이다. 비록 알레르기성 질환의 혈장내 지표치인 total IgE 및 histamine 수준에 있어서는 IgG subclass 수준 및 T 임파구 기능 분석 결과와 상관성 있는 결과를 얻지 못했지만 결론적으



로 대도시 공단 지역과 농촌 인근 소도시로 대표되는 거주 지역의 환경 특히 대기 오염이 발육상태에 있는 초등학생들의 면역체계를 알레르기성 질환에 대한 감수성을 향진시키는 방향으로 왜곡시킬 수 있음을 파악한 연구였다.

## REFERENCES

- 허용, 김은미, 유지연, 홍승권, 전성훈, 김형아, 조대현, 한순영. 2,3,7,8-tetra chlorodibenzo-p-dioxin 노출과 관련한 인체면역기능 변화를 판단할 수 있는 지표치 개발에 관한 연구. 한국 환경성독물학회 · 발암원학회지 2002;22: 112-124
- 홍 창희. 소아과학 6판. 대한교과서주식회사, 1997.(825-830쪽.)
- Boluda L, Fernandez-Caldas E, Berrens L. The role of IgG in type-I allergy: an unsolved problem. *Journal of Investigative Allergy and Clinical Immunology* 1997;7:205-210
- Braun A, Wiebe P, Pfeufer A, Geβner R, Renz HL. Differential modulation of human immunoglobulin isotype production by the neuropeptides substances P, NKA, and NKB. *Journal of Neuroimmunology* 1999;97:43-50
- Burg ND, Pillinger MH. The neutrophil: function and regulation in innate and humoral immunity. *Clinical Immunology* 2001;99:7-17
- Custovic A, Woodcock A. Exposure and sensitization in infants and children. *Current Opinions on Allergy and Clinical Immunology* 2001;1:133-138
- Diaz-Sanchez D. The role of diesel exhaust particles and their associated polycyclic aromatic hydrocarbons in the induction of allergic airway disease. *Allergy* 1997; 52:52-56
- Diaz-Sanchez D, Penichet-Garcia M, Saxon A. Diesel exhaust particles directly induce activated mast cells to degranulate and increase histamine levels and symptom severity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2000; 106: 1140-1146
- English P, Neutra R, Scalf R, Sullivan M, Waller L, Zhu L. Examining associations between childhood and traffic flow using a geographic information system. *Environmental Health Perspectives* 1999;107:761-767
- Gospos A, Dreikhausen U, Dartsch DC, Szamel M, Hockertz S. Development of an allergy test model: activation of human mast cells with potentially allergenic substances. *Toxicology* 2001; 14:91-96
- Heo Y, Parsons PJ, Lawrence DA. Lead differentially modifies cytokine production in vitro and in vivo. *Toxicology and Applied Pharmacology* 1996;138:149-157
- Heo Y, Lee WT, Lawrence DA. Differential effects of lead and cAMP on development and activities of Th1- and Th2-lymphocytes. *Toxicological Sciences* 1998;43:172-185
- Heo Y, Saxon A, Hankinson O. Effect of diesel exhaust particles and their components on the allergen-specific IgE and IgG1 response in mice. *Toxicological Sciences* 2001;159:143-158
- Kaneko M, Swanson MC, Gleich GJ, Kita H. Allergen-specific IgG1 and IgG3 through Fc(RII induce eosinophil degranulation. *Journal of Clinical Investigation* 1995;95:2813-2821
- Krieger J, Heo Y, and Lawrence DA. Oxidative stress and heavy metal modification of T lymphocyte subsets. In: Kimber I, Selgrade MK, editors. *T-Lymphocyte Subpopulations in Immunotoxicology*. England: John Wiley & Sons; 1998. p. 103-119.
- Levy O, Martin S, Eichenwald E, Ganz T, Valore E, Carroll SF, Lee K, Goldmann D, Thorne GM. Impaired innate immunity in the newborn: newborn neutrophils are deficient in bactericidal/permeability-increasing protein. *Pediatrics* 1999;104:1327-1333
- Miyajima I, Dombrowicz D, Martin TR, Ravetch JV, Kinet JP, Galli SJ. Systemic anaphylaxis in the mouse can be mediated largely through IgG1 and FcγRIII. *The Journal of Clinical Investigation* 1997;99:901-914
- Mudde GC, Bheekha R, Bruijnzeel-Koomen CAFM. IgE-mediated antigen presentation. *Allergy* 1995;50:193-199
- Nel AE, Diaz-Sanchez D, Ng D, Hiura T, Saxon A. Enhancement of allergic inflammation by the interaction between diesel exhaust particles and the immune system. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1998;102: 539-554
- Peden DB. Development of atopy and asthma: Candidate environmental influences and important periods of exposure. *Environmental Health Perspectives* 2000;108(Supplement 3):475-482
- Pepper, RJ. Tina, WZ. Mickelson, MM. : Purification of lymphocytes and platelets by gradient centrifugation. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 1968;72:842-848
- Sakaguchi M, Nakayama T, Inouye S. Food allergy to gelatin in children with systemic immediate-type reactions, including anaphylaxis, to vaccines. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1996;98:1058-1061
- Sakaguchi M, Inouye S. IgE-sensitization to gelatin: the probable role of gelatin-containing diphtheria-tetanus-acellular pertussis (DTaP) vaccines. *Vaccine* 2000;18:2055-2058
- Schroeder JT, MacGlashan DW, Lichtenstein LM. Human basophils:



- mediator release and cytokine production. *Advances in Immunology* 2001; 77:93-122
- Silvy A, Lagresle C, Bella C, Defrance T. The differentiation of human memory B cells into specific antibody-secreting cells is CD40 independent. *European Journal of Immunology* 1996;26: 517-524
- Svanes C, Jarvis D, Chinn S, Burney P. Childhood environment and adult atopy: Results from the European Community Respiratory Health Survey. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1999;103:415-420
- Wills-Karp M, Luyimbazi J, Xu X, Schofield B, Neben TY, Karp CL, Donaldson DD. Interleukin-13: Central mediator of allergic asthma. *Science* 1998;282:2258-2261
- Xing Z. Current understanding of macrophage type 1 cytokine responses during intracellular infections. *Histology and Histopathology* 2000;15:199-205
- UNEP. UNICEF & WHO. Children in the new millennium. Environmental impact on health. Geneva, Swiss; 2002. p. 1-27.