

## 집먼지진드기에서 분리한 용출단백질의 개옴진드기 감염증에 대한 항원효과

김태훈 · 김재원 · 지차호\*

충북대학교 수의과대학 및 동물의학연구소  
(게재승인: 2005년 1월 19일)

### Antigenetic effects of the eluted proteins from house dust mite (*Dermatophagoides pteronyssinus*) in dogs infested with sarcoptic mite (*Sarcoptes scabiei* var. *canis*)

Tae-Hun Kim, Jae-Won Kim, Cha-Ho Jee\*

College of Veterinary Medicine and Research Institute of Veterinary Medicine,  
Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea  
(Accepted: January 19, 2005)

**Abstract :** Canine sarcoptic mite (*Sarcoptes scabiei* var. *canis*) is ectoparasite which burrow usually in the stratum corneum of the skin of dogs. Antigens from the burrowing mites induce humoral and cell-mediated immune responses in the hosts. The effect of antigenicity induced by somatic antigens of house dust mite (*Dermatophagoides pteronyssinus*) isolated by continuous elution has been evaluated in canine sarcoptic mites infestation. Continuous elution was carried out in 7.5% SDS-PAGE to isolate proteins of common antigens from somatic antigens of house dust mite. These eluted proteins from somatic antigens of house dust mite were confirmed by Western blotting in 7.5% SDS-PAGE, and eluted proteins (65, 60 kDa) were isolated. To evaluate the antigenetic effect of eluted proteins, eight dogs were divided as 4 groups such as non-vaccinated and non-challenged control (Group I), challenged control (Group II), vaccinated (Group III), and vaccinated and challenged (Group IV) groups. Group II and IV were artificially infested canine sarcoptic mites. Group III and IV were immunized with eluted proteins (65, 60 kDa). At the 6th week of the vaccination, the antibody titers of Group of IV were statistically significant higher than those of Group II ( $p < 0.05$ ). And antibody titers of Group III were also statistically significant higher than those of Group I ( $p < 0.05$ ). From these result, it is possible to replace somatic antigens of canine sarcoptic mites with eluted proteins from somatic antigens of house dust mites in order to diagnose and prevent the canine sarcoptic mite infestations.

**Key words :** continuous elution, *Sarcoptes scabiei* var. *canis*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, somatic antigens, eluted proteins

## 서 론

옴진드기(*Sarcoptes scabiei*)는 절지동물문(Phylum Arthropoda) 거미강(Class Arachnida) 옴진드기과(Family

Sarcoptidae)에 속하는 외부기생충으로서 세계적인 분포이며 포유류의 피부에 굴을 뚫고 들어가 기생한다. 개옴진드기는 표피 각질층 밑이나 표피 하 또는 진피에 굴을 파고 숙주의 림프액을 빨아먹고 살며 신생표피 세포

이 논문은 2004년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비 지원에 의하여 연구되었음

\*Corresponding author: Cha-Ho Jee

College of Veterinary Medicine, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea  
[Tel: +82-43-261-2985, Fax: +82-43-267-3150, E-mail: chjee@cbu.ac.kr]

를 먹기도 한다 [6]. 개음진드기의 생활사를 보면 수정을 마친 암컷이 숙주의 피부 속을 뚫고 들어가 그곳에 굴을 형성한 후 하루에 1~2개씩 일생동안 40~50개의 충란(egg)을 낳는다. 이 충란은 3~5일 내에 부화되어 6개의 다리를 지닌 유충(larva)에서 두 번의 약충기(protonymph, deutonymph)를 지낸 후 암컷과 수컷으로 성장하고 충란부터 성충까지 완전히 발육하는 데는 약 17일이 걸린다 [9].

개음진드기가 감염되는 병소는 흔히 겨드랑이, 사타구니, 머리, 귀 또는 눈 부위이고 구진성 피부염, 림프성 가피형성, 구진 파열, 가려움증의 초기 증상이 나타나며 가려움으로 병소를 긁게 되어 염증이 더욱 악화되며, 숙주 체내에서 세포성(cell-mediated) 면역 및 순환항체(circulating antibody)가 형성된다 [21]. 과도한 각피화, 결합조직의 증식, 피부는 비후되며 추벽이 생기고 탈모와 2차 감염으로 자기손상(selfmutilation)이 일어날 수도 있다 [3]. 개음진드기증을 진단하기 위해 주로 피부 채취로 개음진드기의 충란이나 충체를 확인하지만 그 방법의 정확도는 50% 미만인 것으로 보고되고 있다 [5].

집먼지진드기(*Dermatophagoides pteronyssinus*; house dust mite)는 1864년 Bogdanoff에 의해 처음 발견되었고 전 세계적으로 분포되어 있으며 [2], 집먼지진드기 항원이 사람이나 개에서 천식, 아토피성 피부염 [13, 16]의 가장 중요한 원인물질로 확인됨에 따라 그에 대한 많은 연구가 진행되어 왔었다 [17, 20]. 집먼지진드기는 실험실내 인공배양이 가능하여 개, 돼지 등의 음진드기와 교차 항원반응에 대하여 많은 연구가 진행되어져 왔었다 [1, 8, 11].

개음진드기는 실험실 내 인공배양이 되지 않으며, 진단 등에 사용할 충분한 항원량도 얻기 힘든 실정이다. 이러한 이유로 본 실험에서는 실험실 내 인공배양이 가능한 집먼지 진드기로부터 개음진드기와의 공통항원을 연속적 용출법 [14]으로 분리하였으며, 분리한 집먼지진드기 용출단백질 [1]이 개음진드기증에 대한 항원효과가 있는 지를 알아보기 위하여 본 실험을 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 개음진드기와 집먼지진드기 수집 및 체항원 제조

#### (1) 개음진드기와 집먼지진드기 수집

개음진드기는 인공 감염시킨 개의 피부에 생긴 가피에서 현미경 하에서 수집하였다. 집먼지진드기는 우리나라 우점종 중 배양이 잘 되는 세로무늬 집먼지진드기(*Dermatophagoides pteronyssinus*)를 선택하였으며 연세대학교 의과대학 기생충학 실험실에서 분양받은 집먼지진드기를 본 실험실에서 배양하였다.

#### (2) 체항원 제조

개음진드기와 집먼지진드기의 체항원(somatic antigen)은 Arlian 등 [7]의 방법에 따라 제조하였다. 즉, 두 체항원을 인산완충용액(phosphate buffered solution, PBS, pH 7.4)으로 세척한 후 막자사발로 분쇄하고 PBS로 용해하였다. 탈지방화하기 위하여 동량의 클로르포름과 혼합 후 4°C, 10,000 g에서 15분간 원심분리 후 상층액만을 회수하여 0.45 µm 필터로 여과하여 사용하였다. 각각의 분리된 항원은 Bradford법으로 항원농도를 측정하여 실험에 사용하였다. Bradford법에 사용한 시약은 0.1 g brilliant Blue G-250을 50 ml 메탄올에 녹이고 85% 인산용액 100 ml, 50 ml 증류수를 첨가하여 필터 후 4°C에 보관하였다. 측정방법은 Bradford reagent를 샘플과 BSA에 1:5의 비율로 섞어 실온에서 5분간 상온에 방치한 후 spectrophotometer를 이용하여 595 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이에 사용한 BSA standard 용액의 농도는 0, 25, 50, 75, 100 µg 이었다.

### 항원구조 및 항원성 비교 분석

#### (1) SDS-PAGE

전기영동(Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis)은 7.5% SDS-PAGE gel을 사용하였으며, Coomassie blue 염색을 통해 각 항원의 분획을 확인하였다. 전기영동은 Ready Gel Cell(Bio-rad, USA)을 사용하여 Blackshear [10]의 방법에 따라 실시하였으며, 전기영동을 마친 gel은 Merrill [18]의 방법에 준하여 Coomassie blue 염색을 실시하였다.

#### (2) Western blotting

개음진드기와 집먼지진드기 체항원을 전기영동 후 개음진드기를 인공감염시켜 양성으로 확인된 개혈청과 집먼지진드기 체항원으로 면역시킨 개 혈청을 각각 반응시켜 Arlian 등 [5]의 방법으로 Western blotting을 실시하였다.

### 집먼지 진드기 체항원 연속적 용출

#### (1) SDS-PAGE gel 제작

Gel은 glass tube(직경 28 mm)를 casting stand에 장착하여 Laemmli [15]의 방법에 따라 7.5% resolving gel과 4% stacking gel을 제작하다.

#### (2) 연속적 용출법

연속적 용출법은 Gonzalez 등 [14]에 따라 연속적 용출장치(Prep Cell, Model 491, Bio-rad, USA)를 이용하였으며 연속적 용출장치의 작동은 제조사에서 제공한 설명서에 따라 수행하였다. 연속적 용출장치에 power

supply, buffer recirculation pump, elution pump, 그리고 UV monitor, collector, recorder로 구성된 GradiFrac system (Pharmacia Biotec, USA)에 연결한 후 준비한 시료 3 ml를 loading하고 12W로 일정하게 전기영동을 하였다. 용출펌프(elution pump)를 이용하여 용출 완충용액의 속도는 1 ml/min으로 고정하였으며 수집관(collector)을 이용하여 한 시험관 당 5 ml 씩 용출 완충용액을 받았다. SDS gel loading buffer가 gel 밖으로 빠져나오는 시점을 기록계(recorder)로 기록하였다.

**분리된 단백질 분석**

(1) Silver staining

공통항원에 해당하는 것만을 선별하기 위하여 용출된 분획 중 5, 10, 15, 20, 30, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180번째 분획을 이용하여 silver 염색을 실시하였다. 7.5% SDS-PAGE gel을 사용하여 Blackshear [10]의 방법을 수정하여 전기영동을 실시하였고, silver 염색은 Merrill 등 [19] 방법에 준하여 실시하였다.

(2) 분리된 단백질 농축

Silver 염색으로 선별된 공통항원에 해당되는 분획을 모아 동결건조법을 사용하여 단백질을 농축하였다.

(3) Western blotting

선별된 용출 단백질이 공통항원임을 확인하고 항원성을 유지하고 있는가를 확인하기 위하여 용출 단백질을 이용하여 Arlian 등 [5]의 방법을 수정하여 Western blotting을 실시하여 전체 채항원과 용출하여 분리된 항원의 항원성을 비교하였다.

**면역효과 실험**

(1) 면역

8마리의 개(평균 체중 8.6±2.4 kg)를 음성대조군(Group I), 양성대조군(Group II), 면역대조군(Group III), 면역실험군(Group IV)의 4 Groups으로 나누고 Group III와 Group IV는 용출항원 60과 65 kDa의 집먼지진드기 채항원으로 면역시켰다(Table 1).

집먼지진드기의 채항원 양을 500 µg/ml로 적정하고 동량의 Freund's complete adjuvant를 섞어 유제(emulsion)를 제조하여 Group III와 Group IV 개의 등 부위에 피하주사 하였다. 준비한 항원과 Freund's incomplete adjuvant를 동량으로 섞어 유제를 만들고 1차 접종 후에 2주 간격으로 1회 추가 접종하였다. 2차 접종까지 마친 Group III와 Group IV의 개 경정맥에서 혈액을 채취 후 혈청을 분리하고 효소면역흡착법을 실시하여 항체가를 측정하여 면역여부를 확인하였다.

**Table 1.** Experimental designs

Group	Weeks		
	0	2nd	4th
Group I			
Group II			C
Group III	I	I	
Group IV	I	I	C

I : Immunization with eluted proteins of house dust mite  
C : Challenge with canine sarcoptic mite

**Table 2.** Grouping and immunization

Items	Group	Group	Group	Group
	I	II	III	IV
Eluted protein of HDM <sup>a</sup>	No	No	Yes	Yes
Immunization Ss <sup>b</sup>	No	Yes	No	Yes
Challenge No. of dogs	2	2	2	2

a : House dust mite

b : *Sarcoptes scabiei* var. *canis* (canine sarcoptic mite)

(2) 개음진드기 인공감염

개음진드기 채항원은 실제로 개음진드기 감염증이 있는 개의 가피에서 살아있는 개음진드기를 임체현미경(x 40)으로 보면서 수집하였으며 용출항원으로 개음진드기에 인공감염된, 면역을 하지 않은 양성대조군(Group II)과 면역을 끝낸 면역실험군(Group IV)의 개를 실험개시 4주에 1주일간 합사시켜 인공감염시켰다(Table 2).

(3) 효소면역흡착법(항체가 변화 측정)

4개 Group으로 나눈 8마리의 개에서 효소면역흡착법을 실시하기 위해 실험개시일부터 실험종료일까지 1-2주 간격으로 개의 경정맥에서 혈액을 5 ml 채취한 다음, 혈액을 3,000 rpm에서 10분간 원심 분리 후 상층의 혈청만을 수거하여 이렇게 얻은 혈청은 실험기간동안 냉동보관하였다. 항체가 측정방법은 효소면역흡착법을 Arlian 등 [6]의 방법에 따라 실시하였다. Blocking buffer는 5% 탈지분유(Non-fat dry milk in PBS), 1차 항체는 개음진드기를 인공감염시킨 개의 양성혈청과 개음진드기를 인공감염시키기 전의 개 음성혈청, 2차 항체는 Alkaline phosphatase conjugated goat anti-rabbit IgG, 기질은 p-nitrophenyl phosphate를 사용하였고 Microplate reader (Benchmark; Bio-rad, USA)를 이용하여 405 nm에서 흡광도값(optical density, OD)을 측정하였다.

측정된 각 항원의 흡광도 값은 t-test를 이용하여 통계학적으로 유의성을 분석하였다.

**결 과**

**항원성 비교분석**

(1) SDS-PAGE

개음진드기와 집먼지진드기 체항원을 7.5% SDS-PAGE gel을 이용하여 전기영동한 후 Coomassie blue로 염색한 결과, 개음진드기와 집먼지진드기의 체항원은 40~187 kDa에 걸쳐 넓게 분포하였으며 각각의 체항원의 주요 공통 분획은 187, 142, 126, 120, 65, 60 kDa으로 확인되었다(Fig. 1).

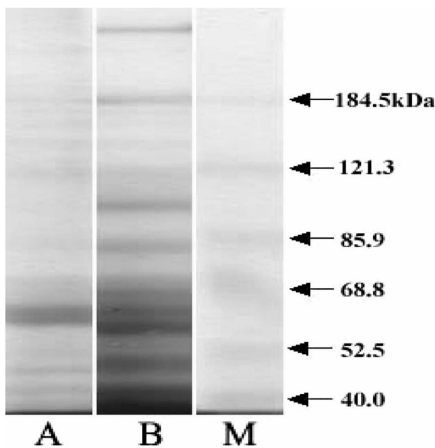
(2) Western blotting

개음진드기와 집먼지진드기 체항원의 공통항원을 확인하기 위해 Western blotting을 실시한 결과, 두 항원 모두에서 187, 142, 126, 120, 65, 60 kDa 크기의 공통항원이 확인되었다(Fig. 2).

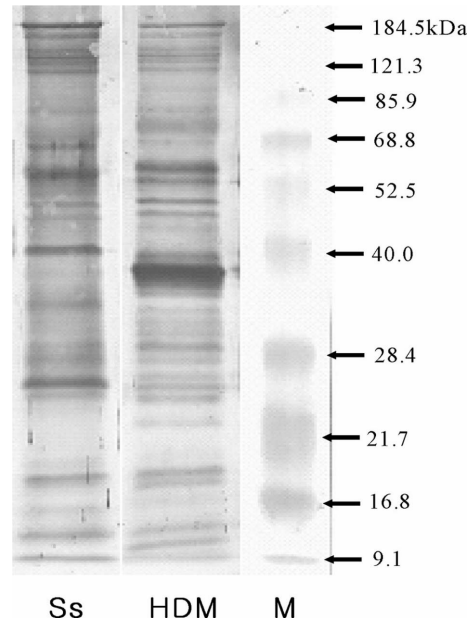
**집먼지 진드기 체항원 연속적 용출**

(1) 분리된 단백질 분획 SDS-PAGE

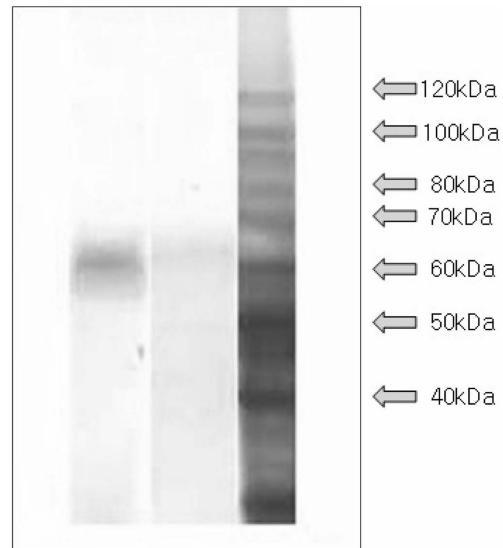
연속적 용출법으로 얻은 분획 중 개음진드기와 집먼지진드기 간에 공통으로 존재하는 단백질을 선별하기 위하여 40, 50, 60, 80, 70, 90, 100, 110, 120 번째 분획을 이용하여 SDS-PAGE를 실시 후 silver 염색하여 이중 이번 실험을 이용하고자 하는 공통항원 65, 60 kDa에 해당하는 분획을 찾았다. 그 후 동결건조하여 65, 60 kDa에 해당하는 분획들만 농축하였고 silver 염색한 결과 다음과 같았다(Fig. 3).



**Fig. 1.** SDS-PAGE analysis of somatic antigens of *Dermatophagoides pteronyssinus* and *Sarcoptes scabiei* var. *canis* by Coomassie blue staining. A: Somatic antigens of house dust mite, B: Somatic antigens of canine sarcoptic mite, M: Molecular weight marker.



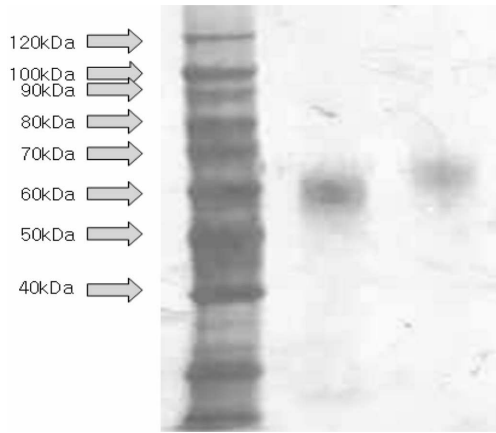
**Fig. 2.** The comparative common antigens in canine sera of the house dust mite immunized and the Ss artificially-infested with canine sarcoptic mite by Western blotting. M: Marker, HDM: Serum of house dust mite immunized dog, Ss: Serum of canine sarcoptic mite infested dog.



**Fig. 3.** Silver staining of eluted proteins (65, 60 kDa) in 7.5% SDS-PAGE.

(2) 용출 단백질 Western blotting

용출 단백질을 이용하여 개음진드기를 인공 감염시킨 개 혈청과 용출된 집먼지진드기의 체항원으로 면역시킨



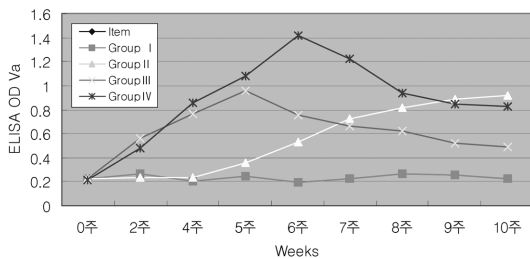
**Fig. 4.** Western blotting analysis of eluted proteins (65, 60 kDa) in 7.5% SDS-PAGE.

개 혈청으로 Western blotting을 실시한 결과, 용출 단백질(65, 60 kDa)이 항원성을 가지고 있으며 공통항원에 해당하는 분획임을 확인하였다(Fig. 4).

**면역효과 비교분석**

(1) 효소면역흡착법 OD값 비교

각 Group의 면역효과를 알아보기 위해 효소면역흡착법으로 값을 측정 한 결과, 면역시키지 않은 음성대조군(Group I)의 OD값은 실험기간동안 0.19에서 0.269의 범위 내에서 거의 일정한 값을 보였다. 용출된 집먼지진드기 체항원으로 면역시킨 면역대조군(Group III)의 OD값은 0.224에서 0.954로 증가하였으며, 면역 후 10주 동안 비슷한 수준의 OD값을 나타냈다. 면역한 후 항체형성 여부를 비교한 결과, 면역대조군(Group III)이 음성대조군(Group I)에 비하여 통계학적으로 유의성(p<0.05) 있게 증가하였음을 알 수 있었다. 면역시키지 않은 양성대조군(Group II)은 개움진드기를 인공감염시킨 후 OD값



**Fig. 5.** Changes of antibody titer in each Group of dogs. Group I was negative control, Group III and IV were immunized with eluted proteins of house dust mite on 0, 2nd week Group II and IV were challenged with canine sarcoptic mite.

이 0.220에서 0.920까지 증가하였고 면역실험군(Group IV)은 용출된 집먼지진드기 체항원으로 면역시킨 후 OD 값이 0.210에서 0.861로 증가하였으며 개움진드기 인공 감염 후에는 0.861에서 1.420으로 양성대조군(Group II)에 비하여 통계학적으로 유의성 있는 (p<0.05) OD 값으로 나타났다(Fig. 5).

**고 찰**

개움진드기는 세계적인 분포를 보이고 있으며 각종 포유류의 기축과 야생동물의 피부에 굴을 뚫고 들어가 기생하면서 숙주의 림프액을 먹고살며 천공개선충증(sarcoptic mange)을 일으키는 중요한 외부기생충이다 [9]. 집먼지진드기 체항원과 개움진드기의 체항원을 비교분석하고 그들의 공통된 항원을 이용해 개움진드기의 면역효과에 대한 연구가 활발히 진행되었고 [4, 17], 많은 학자들이 개움진드기 자체의 항원을 이용하지 않고 집먼지진드기의 공통항원을 이용한 이유는 집먼지진드기가 오래 전부터 사람과 개의 알려진 성 천식과 아토피성 피부염의 주요원인으로 알려짐으로써 그에 대한 연구가 활발히 진행되어 왔었다. 또한 개, 돼지움진드기는 생체에서 많은 량의 항원확보가 어렵고 집먼지진드기는 인공배양이 가능하여 많은 양의 체항원을 얻을 수 있다는 것이 가장 큰 이유로 사료된다. 본 실험은 위와 같은 연구보고들을 바탕으로 개움진드기와 공통항원을 집먼지진드기 체항원에서 분리한 용출 단백질(eluted proteins)을 이용하여 개움진드기의 종숙주인 개에게 면역시킴으로써 개움진드기 감염에 대한 면역효과를 알아보는 것을 실험목적으로 삼았다.

개움진드기와 집먼지진드기 체항원을 이용하여 silver staining을 실시한 결과, 개움진드기와 집먼지진드기 체항원의 주요 공통분획은 10~187 kDa에 걸쳐 넓게 분포함을 확인할 수 있었으며 Western blotting의 결과에서는 개움진드기와 집먼지진드기에서 체항원의 공통분획은 187, 142, 126, 120, 65, 60 kDa 공통분획을 확인할 수 있었다. Arlian 등 [3]은 집먼지진드기 체항원을 이용한 개움진드기의 면역효과 실험에서 집먼지진드기와 개움진드기 체항원 사이에 존재하는 공통항원을 이용하여 좋은 면역 효과를 얻은 바 있고 Bornstein 등 [11]은 돼지 움진드기와 집먼지진드기 체항원 사이의 공통항원을 이용해 좋은 결과를 얻은 바 있다.

본 연구에 사용된 연속적 용출법은 특별한 형태로 준비된 gel을 사용하여 단백질을 전기영동하며 gel 밖으로 빠져나오는 단백질 분획을 완충용액의 흐름을 이용하여 연속적으로 받아내는 방법으로서 확인된 공통항원을 집먼지진드기 체항원에서 연속적 용출법 [14]으로 분리하

였으며 silver 염색을 통하여 공통항원에 해당하는 분획만을 선별하였다. 이 결과에 의해 얻은 용출 단백질의 분자량은 120, 65, 60 kDa 이었다. 이 중 분리하는데 시간이 많이 소요되는 용출단백질인 120 kDa을 제외한 60, 65 kDa의 용출단백질만 면역실험에 이용하였다.

Alrian 등 [4, 5, 7]의 연구에서 집먼지진드기 항원을 이용한 개음진드기 및 돼지음진드기의 면역효과는 주로 항체를 통해 알아보았다. 본 실험에서도 면역에 따른 항체의 변화를 비교해 면역효과의 판정기준으로 삼았으며 용출단백질로 면역시킨 후 각 Group의 면역효과를 알아보기 위해 효소면역흡착법으로 OD값을 측정할 결과, 집먼지진드기 체항원으로 면역시키지 않은 음성 대조군(Group I)의 OD값은 실험 기간동안 0.19에서 0.269로 거의 일정한 값을 보였으며 집먼지진드기 체항원으로 면역시킨 면역대조군(Group III)의 OD값은 0.224에서 0.954로 증가하였으며 5주째에 가장 높은 OD값을 나타내다가 항체가 점차 감소하여 9주부터 10주에서는 비슷한 OD값을 나타냈다. 이와 같은 결과는 집먼지진드기 체항원이 종속주인 개로부터 항체를 만들어 내고 만들어진 항체는 9주까지 지속되는 것을 확인시켜주고 있다. 면역시키지 않은 양성대조군(Group II)은 개음진드기를 인공감염시킨 후 OD값이 0.220에서 0.920까지 증가하였고 면역실험군(Group IV)은 집먼지진드기 체항원으로 면역시킨 후 OD값이 0.210에서 0.861로 증가하였으며 개음진드기 인공감염 후에는 0.861에서 1.420으로 증가하였다. 또 개음진드기만을 인공감염시켜 얻은 항체가(Group II)보다는 높은 항체가 유지되고 있음을 보여주고 있다. 이것은 항원성이 밝혀진 65, 60 kDa만으로도 좋은 백신효과를 보여주는 증거라고 할 수 있다.

그리고 면역실험군(Group IV) 항체는 면역 후 형성된 값보다 개음진드기 인공감염 이후에 급격히 증가하였는데, 이는 앞에서 용출단백질로 면역을 시켰을 때 OD값이 증가한 것과 마찬가지로 개음진드기의 감염에 대한 항체가 결과에서 보듯이 약 2주 만에 빠른 속도로 생성되었음을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 집먼지진드기의 용출 단백질을 이용해 먼저 면역시킨 Group IV가 그렇지 않은 Group II에 비해 개음진드기 감염에 따른 항체가 booster 효과가 있음을 보여주고 효과적으로 개음진드기에 대한 면역효과를 나타내어 준 것으로 확인되었다.

또 양성대조군(Group II)과 면역실험군(Group IV)을 통계학적으로 유의성(t-test)을 검사한 결과, Group II의 OD값은  $0.5469 \pm 0.2962$ , Group IV의 OD값은  $0.8771 \pm 0.3651$ 로 나타났으며 면역실험군(Group IV)의 항체값은 양성대조군(Group II)에 비하여 통계학적으로 유의성

( $p < 0.05$ )있게 증가하였다.

항체형성 여부를 비교하기 위하여 음성대조군(Group I)과 양성대조군(Group III)의 OD값을 비교해 본 결과, Group I은  $0.2314 \pm 0.1456$ , Group III는  $0.6168 \pm 0.2060$ 으로 나타났으며 양성대조군이 음성대조군에 비하여 통계학적으로 유의성( $p < 0.05$ )있게 증가하였음을 알 수 있었다.

이와 같은 결과를 바탕으로 개에게 집먼지진드기의 용출단백질로 면역시킨 후 어떤 기전으로 개음진드기의 감염과 치료에 작용을 하는지에 대한 기전은 정확히 밝혀진 바는 없지만 Alrian 등 [6]의 연구에서 T-helper cell type 1(Th1)과 Th2가 개음진드기에 대한 병원성(pathogenesis)과 발현(expression)에 중요한 역할을 한다고 밝히고 있다. 즉 Th2는 형질세포에서 항체를 증가시키고 Th1은 세포성 면역반응을 유도해 개음진드기의 감염에 대해 방어한다는 것이다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 집먼지진드기 체항원에서 분리한 용출단백질을 이용한 개음진드기의 면역효과가 있는 것으로 확인되었고 짧은 시간 내에 개음진드기에 대한 항체가 형성되므로 뛰어난 백신효과가 있다고 추정된다. 개음진드기에 감염되면 근절이 어려울 뿐 아니라 개음진드기를 진단하는 데에도 많은 어려움이 있다는 것을 감안한다면 집먼지진드기의 용출단백질을 이용한 개음진드기의 백신개발은 개음진드기의 근절 및 방이에 큰 효과가 있을 것으로 사료된다.

## 결 론

개음진드기의 항원성이 있는 체항원 분획을 연속적 용출법에 의해 분리하여 개에게 면역시킨 후, 항체가 측정으로 개음진드기 항원으로 사용할 수 있는지를 알아보고자 7.5% SDS-PAGE를 통하여 silver 염색법과 Western blotting을 실시하였다. 그 결과 개음진드기와 집먼지진드기 체항원 간에 여섯 개의 공통항원(187, 142, 126, 120, 65, 60 kDa)이 있음을 관찰할 수 있었고 이중 집먼지진드기의 체항원에서 연속적 용출법에 의해서 65, 60 kDa을 분리하였다. 이렇게 분리한 항원은 다시 Western blotting을 통하여 항원성이 있는지를 확인한 결과 양성대조군의 OD값은  $0.5469 \pm 0.2962$ , 면역실험군의 OD값은  $0.8771 \pm 0.3651$ 로 면역실험군의 항체값은 양성대조군에 비하여 통계학적으로 유의성( $p < 0.05$ )있게 증가하였다. 한편 용출단백질에 의한 항체형성 여부를 조사하기 위하여 음성대조군과 양성대조군의 OD값을 비교해 본 결과, 각각  $0.2314 \pm 0.1456$ ,  $0.6168 \pm 0.2060$ 으로 나타났으며 양성대조군이 음성대조군에 비하여 통계학적으로 유의성( $p < 0.05$ )있게 증가하였다.

이상의 결과로서 집먼지진드기 채항원에서 분리한 용출단백질만으로도 개음진드기 감염에 대한 항체가 형성되고 면역효과가 나타는 것으로 보아 개음진드기감염증의 진단이나 예방 차원에서 응용할 수 있다고 사료된다.

### 참고문헌

1. 김재원, 지차호. 연속적용출법을 이용한 개음과 집먼지진드기의 공통항원분리. 동물위과학연구지 2004, **5**, 69-78.
2. 조백기. 집먼지진드기. Allergy 1981, **1**, 138-144.
3. Arlian LG, Bruner RH, Vyszanski-Moher DL. Histopathology in hosts parasitized by *Sarcoptes scabiei*. J Parasitol 1990, **76**, 889-894.
4. Arlian LG, Morgan MS, Arends JJ. Immunologic cross-reactivity among various strains of *Sarcoptes scabiei*. J Parasitol 1996, **82**, 66-72.
5. Arlian LG, Morgan MS. Serum antibody to *Sarcoptes scabiei* and house dust mite prior to and during infestation with *S. scabiei*. Vet Parasitol 2000, **90**, 315-326.
6. Arlian LG, Rapp CM, Morgan MS. Resistance and immune response in scabies-infested hosts immunized with *Dermatophagoides* mites. Am J Trop Med Hyg 1996, **52**, 539-545.
7. Arlian LG, Vyszanski-Moher DL, Ahmed SG, Estes SA. Cross-antigenicity between the scabies mite, *Sarcoptes scabiei* and the house dust mite, *Dermatophagoides pteronyssinus*. J Invest Dermatol 1991, **96**, 349-354.
8. Arlian LG, Vyszanski-Moher DL, Gilmore AM. Cross-antigenicity between *Sarcoptes scabiei* and the house dust mite, *Dermatophagoides farinae* (Acari: Sarcoptidae and Pyroglyphidae). J Entomol 1988, **25**, 240-247.
9. Arlian LG, Vyszanski-Moher DL. Life cycle of *Sarcoptes scabiei* var. *canis*. J Parasitol 1988, **74**, 427-430.
10. Blackshear PJ. Systems for polyacrylamide gel electrophoresis. Meth Enzymol 1984, **104**, 237-255.
11. Bornstein S, Zakrisson G. Clinical picture and antibody response in pigs infected by *Sarcoptes scabiei* var. *suis*. Vet Dermatol 1993, **4**, 123-131.
12. Chew GL. House dust mite allergen. Am Industrial Hygiene Association Journal 1996, **57**, 573-574.
13. Day MJ, Carato A. Subclass profile of allergen-specific IgG antibodies in atopic dogs. Res Vet Sci 1996, **61**, 136-142.
14. Gonzalez JM, Gonzalez AJ, Caabeiro FR. Purification of *Trichinella spiralis* tubulin: Comparison of several analytic procedures. Vet Parasitol 1998, **77**, 115-121.
15. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 1970, **227**, 680-685.
16. Lian TM, Halliwell REW. Allergen-specific IgE and IgG antibodies in atopic and normal dogs. Vet Immunol Immunopathol 1987, **66**, 203-223.
17. Masuda K, Tsujimoto H, Fujiwara S, Kurata K. IgE sensitivity and cross-reactivity to crude and purified mite allergens (Der f1, Der f2, Der P2, Der P2) in atopic dogs sensitive to *Dermatophagoides* mite allergens. Vet Immunol Immunopathol 1999, **72**, 303-313.
18. Merrill CR. Gel-staining techniques. Method Enzymol 1990, **182**, 477-488.
19. Merrill CR, Goldman D, Vankeuren ML. Gel protein stains: Silver stain. Meth Enzymol 1984, **104**, 441-446.
20. Noli C, Willems WE. The significance of reactions to purified fractions of *Dermatophagoides pteronyssinus* and *Dermatophagoides farinae* in canine atopic dermatitis. Vet Immunol Immunopathol 1996, **52**, 147-175.
21. Stemmer BL, Arlian LG, Morgan MS, Rapp CM, Moore PF. Characterization of antigen presenting cells and T-cells in progressing scabietic skin lesions. Vet Parasitol 1996, **68**, 347-358.