

내재면역과 알레르기

가톨릭대학교 의과대학 이비인후과학교실

강 준 명

Innate Immunity and Allergy

Jun Myung Kang, MD

Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

서 론

알레르기 질환은 산업화된 국가에서 현재까지 계속 증가하고 있는 추세이다. 이러한 현상은 소위 위생가설(hygiene hypothesis)로 흔히 설명되어지는데, 개선된 위생환경으로 세균, 바이러스, 기생충 감염이 감소되어 미생물에 의한 면역계의 자극이 결핍되면 T helper 2(Th2) 면역반응이 일어나 알레르기 질환이 증가한다는 것이다.¹⁾ 미생물과 면역계와의 반응은 내재면역(innate immunity)에 의해 시작되며, 주로 Toll-like receptors(TLR)에 의해 매개되고 조절된다. 내재면역은 미생물을 인지함으로써 숙주의 방어 기전에 중요할 뿐만 아니라 적응면역(adaptive immunity)의 활성화와 조절에도 중요한 역할을 하고 패혈증, 면역결핍, 죽상경화증(atherosclerosis), 알레르기, 자가면역질환 등 여러 질환과 관련이 있는 것으로 알려져 있다.²⁾

최근 알레르기 발생에 있어 내재면역 특히 TLR의 역할에 대해 많은 연구가 이루어지고 있으며, 이러한 연구결과들을 바탕으로 치료와 예방에도 적용을 시도하고 있다. 이에 이 논문에서는 알레르기에 대한 TLR의 역할에 대해 현재까지 보고된 역학적, 임상적, 실험적 연구결과들을 기술하고, TLR과 관련되어 시도된 치료 및 예방의 결과들을 기술하고자 한다.

내 재 면 역

건강한 사람이 미생물에 접촉되면 대부분 미생물은 수시간 내에 방어기전에 의해 인지되고 제거된다. 이러한 방어기전이 내재면역이며 항원특이림프구의 클론성 확장(clonal expansion)에 의존하지 않기 때문에 긴 유도기간을 필요로 하지 않는다. 내재면역의 수용체는 많은 미생물 병원체

들이 공통되고 일정하게 유지하고 있는 분자양상인 pathogen-associated molecular patterns(PAMPs)를 인지함으로써 미생물 병원체에 특이적으로 반응하는데, 이점이 항원의 기원과 관계없이 구조적 특이성에 따라 결합하는 적응면역의 수용체(항체, T cell receptor)와의 차이점이며, 이러한 수용체들을 pattern-recognition receptor라고도 한다. 림프구의 발달기에 유전자 재배열에 의해 형성되는 적응면역의 수용체와는 달리 선천면역의 수용체는 배선 유전부호화 수용체(germline-encoded receptor)이며 클론성 분포를 하지 않아 주어진 수용체 세트는 같은 세포형태의 모든 세포에서 나타난다.³⁾

내재면역의 수용체는 기능적으로 분비형(secreted), 세포 내이입형(endocytic), 신호형(signaling)으로 나눌 수 있다. 분비형은 세균벽에 결합함으로써 opsonin으로 작용하여 보체(complement)와 대식세포에 의해 인지되도록 하는데, mannan-binding lectin, C-reactive protein이 대표적이다. 세포내이입형은 대식세포의 표면에 존재하는 것으로서 macrophage mannose receptor, macrophage scavenger receptor 등이 해당되며, 세균과 결합되면 세포 내의 lysozyme으로 이동시켜 분해되도록 하고 이 중 일부 단백질은 MHC(major histocompatibility complex)에 의해 세포표면에 제시된다. 신호형은 세포 내의 신호전달계를 활성화시켜 많은 유전자의 발현을 유도함으로써 다양한 염증 사이토카인을 분비하도록 하는데, TLR이 여기에 해당한다. TLR은 면역반응의 유도에 주된 역할을 하게 되며 적응면역의 활성화를 조절한다.⁴⁾

TLR

Toll 단백질은 처음에 과일파리(fruitfly) *Drosophila me-*

Table 1. Toll-like receptor family members and their endogenous and exogenous ligands

Toll-like receptors family member	Endogenous ligands	Exogenous ligands
TLR-1	a	Mycobacterial lipoprotein, triacylated lipopeptides
TLR-2	Hsp60	LPS, zymosan, peptidoglycan, lipoproteins, (bacteria and mycoplasmas), lipotechoic acid, Glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchor proteins, Pam3Cys-Ser-Lys4
TLR-3	a	Poly (I : C) (viral ds RNA)
TLR-4	Hsp60, Hsp70, saturated fatty acids, Hyaluronic-acid fragment, surfactant protein-A, lipid A, RP105	LPS, respiratory syncytial virus protein F
TLR-5	a	Flagellin
TLR-6	a	Mycoplasmatic lipoproteins, lipotechoic acid, peptidoglycan
TLR-7	a	ss RNA (virus), resiquimoid, imiquinoid
TLR-8	ss RNA (human)	Resiquimoid, imiquinoid
TLR-9	a	CpG DNA, dsDNA (virus), ISS
TLR-10	a	A
TLR-11	a	Uropathogenic bacterial antigens, profilin (<i>T. gondii</i>)

a : ligand so far unknown, Hsp : heat shock protein, ISS : immunostimulatory sequences, LPS : lipopolysaccharide, CpG : Cytosine-Guanine-rich motifs

lanogaster에서 배아형성기 동안에 배복부 신체패턴을 결정하는 수용체로서 발견되었으며,⁵⁾ 이후에 이러한 수용체에 의한 경로(Toll pathway)가 어른 파리에서는 감염에 반응하는 항균 펩타이드의 형성을 유도함으로써 감염에 대한 방어에, 척추동물에서는 내재면역반응을 유도하는데 기여하는 것으로 알려지게 되었다. 포유동물에서 Toll과 유사한 기능을 갖는 단백질이 발견되었는데, 이를 Toll양 수용체(Toll-like receptors)로 부르게 되었고 TLR1이 처음으로 클로닝되었다(Table 1). 이후 10개의 TLR이 발견되었고 LPS(lipopolysaccharide)는 TLR4를 통해 신호가 전달됨이 처음으로 알려지게 되었다.⁶⁾

TLR은 정상 척추동물에서는 발견되지 않은 분자양상들의 특징적인 세트를 인지하여, 면역반응에 있어 자기(self)와 병원체를 구별할 수 있도록 해주며 숙주의 1차 방어에 주된 기능을 나타낸다. 이러한 기능 때문에 TLR은 주로 대식세포, 수지상세포(dendritic cell), 중성구, 점막상피세포, 진피내피세포(dermal endothelial cells) 등에 발현되어 있다. 그러나 최근의 연구에 의하면 체내의 여러 물질들이 TLR을 통해 수지상세포를 활성화시킬 수 있는 것으로 보고되었으며, 생물체의 비감염성 물질에 대한 반응에 있어서도 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 모든 TLR은 세포 내에서 유사한 신호전달경로를 나타내는데, TLR 리간드가 결합하면 TLR의 세포 내 TIR(Toll/IL-1R) domain이 MyD88로 알려진 매개단백과 결합하여 활성화되고, 결국 전사인자 NFκB(nuclear transcription factor kappa-B)를 활성화시킨다.⁷⁾

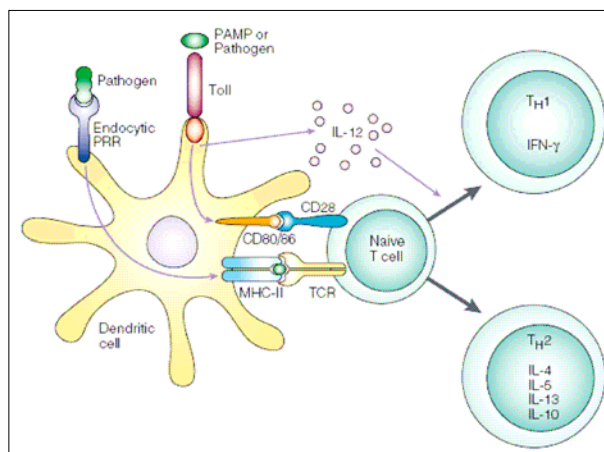


Fig. 1. Role of TLRs in the control of adaptive immunity. TLRs sense the presence of infection through recognition of PAMPs (pathogen-associated molecular patterns). Recognition of PAMPs by Toll-like receptors (TLRs) expressed on antigen-presenting cells (APC), such as dendritic cells, upregulates cell-surface expression of co-stimulatory (CD80 and CD86) molecules and major histocompatibility complex class II (MHC II) molecules. TLRs also induce expression of cytokines, such as interleukin-12 (IL)-12, and chemokines and their receptors, and trigger many other events associated with dendritic cell maturation. Induction of CD80/86 on APCs by TLRs leads to the activation of T cells specific for pathogens that trigger TLR signalling. IL-12 induced by TLRs also contributes to the differentiation of activated T cells into T helper (TH)1 effector cells. It is not yet known whether TLRs have any role in the induction of TH2 responses. IFN-γ : interferon-γ, PRR : pattern-recognition receptor (Adapted from Nat Rev Immunol 2001 ; 1 : 135-45).

수지상세포는 내재면역과 적응면역을 연결하는 중요한 역할을 담당하는데, 미성숙 수지상세포는 병원균이 들어오는 말초조직에 다량으로 분포하며 모든 TLR을 표현하고 있다. 미성숙 수지상세포가 병원균에 있는 PAMPs를 TLR을 통

해 인지하면 성숙해지면서 MHC 분자와 적응면역반응의 유도에 반드시 필요한 CD80/86과 같은 공동자극분자(co-stimulatory molecule)를 세포표면에 다량으로 표현하게 되고 여러 사이토카인을 분비하게 된다(Fig. 1). 이렇게 성숙한 수지상 세포는 림프절로 가서 미경험(naive) T 세포를 자극하게 된다.⁸⁾ 결국 어떤 단백질 항원이 Th2 세포 감작을 일으키는 효과적인 알레르겐이 되기 위해서는 내재면역을 자극시켜야 하며, 이것이 미생물에 의한 신호경로와 유사한 기능을 나타내는 어떤 효소능력(enzymatic activity)에 의한 것인지, PAMPs의 오염에 의한 것인지는 아직 명확히 밝혀지지 않았다.⁹⁾

수지상세포는 공동자극분자, 분화 및 활성분자, C-형 렉틴 혹은 TLR 등의 발현 양상의 차이에 따라 여러 아형으로 나눌 수 있다. 수지상세포 아형에 따라 병원체에 대해 다른 반응을 나타내고 Th1, Th2 혹은 조절 T 세포 발달을 유도하는 신호 분자를 선택적으로 생산한다. 예를 들면, 고전적인 myeloid CD11c+/CD1b+ 수지상세포는 TLR1, 2, 3, 4, 5, 6, 7을 발현하고, CD123+ plasmacytoid 수지상세포는 TLR6, 7, 8, 9를 발현한다. 그러므로 myeloid 수지상세포는 TLR1, 2, 4, 5, 6을 통해 여러 세균성분, TLR3로 이중 RNA, TLR7로 단일 바이러스 RNA를 인식한다. 반면 plasmacytoid 수지상세포는 TLR9를 통해 세균 DNA의 CpG 유형(motifs), TLR7, 8을 통해 단일 RNA를 인식하고 IFN- α 의 생산을 통해 다양한 바이러스에 대한 내재면역에 특히 중요하다.¹⁰⁾ TLR 신호는 미경험 T 세포가 특정 T 세포 아형으로 분화되도록 하는 사이토카인을 분비하도록 수지상세포를 활성화시킨다. LPS, CpG 유형, 바이러스 이중 RNA 등과 같은 많은 TLR 리간드는 Th1 유도 사이토카인인 IL-12와 IL-18을 분비하도록 하여 T 세포를 Th1 세포로 분화되도록 한다. 기생충이나 특정 세균은 Th2 세포 분화를 유도하는데, 어떤 TLR의 자극에 의해서 수지상세포가 Th2 세포 분화를 유도하는지는 아직 확실히 밝혀지지 않았다.¹¹⁾

Hygiene Hypothesis

여러 역학적 연구들에 의하면 알레르기 질환은 경제수준이 높아지고 사회가 선진화될수록 증가한다고 알려져 있다. 이를 설명하는 것이 소위 "위생가설"로서 출생 후 초기 감염성 질환의 발생률과 알레르기 질환의 유병률 간에는 역비례 관계가 있다는 것이다.¹⁾ A형 간염, 홍역, 결핵 등의 감염과 알레르기 질환의 유병률이 역비례 관계가 있음이 알려져 있고, 가족 중 형제의 수가 많을수록 알레르기 질

Table 2. Microbial exposures associated with less allergy and asthma : Clinical studies

Infections
Respiratory tract : measles, tuberculosis
Gastrointestinal tract : hepatitis A, <i>Helicobacter pylori</i> , <i>Toxoplasma gondii</i> , schistosomiasis, hookworm
Common colds
Early gastrointestinal tract colonization
Less antibiotic use
Anthroposophical lifestyle (Rudolf Steiner schools)
Less antibiotic use
Eating fermented, lactobacillus-containing vegetables
Farming lifestyle
Animal contact
Stables exposure
Drinking unpasteurized farm milk
Endotoxin
Metropolitan lifestyle
Endotoxin
Common colds
Early day care
Larger family size
Animal exposure
Rural homes
Farms
Pet keeping

환의 발생이 감소한다는 보고들이 이러한 가설들을 뒷받침하고 있다(Table 2).¹²⁾

그러나 어떤 감염, 예를 들어 *respiratory syncytial virus* (RSV)나 *Bordetella pertussis* 등은 IgE 생성을 증가시키고, 활동성 결핵은 Th2 면역반응을 증가시키는 것으로 알려져 있다.¹³⁾ 또한 이외에도 위생가설을 뒷받침하는 연구들이 알레르기 병인과 관계된 요소들을 충분히 고려하지 않았다는 점 등은 감염에 의해 알레르기 질환의 발생이 억제된다는 설이 반드시 일치하지는 않음을 시사한다.¹⁴⁾ 따라서 최근에는 위생가설을 알레르기 질환의 증가가 병원균과 관계된 감염에 의한 것이 아니라 출생 후 초기 미생물에 대한 노출, 즉 세균, 세균에서 나오는 내독소 등에 대한 노출의 감소와 장내세균 분포의 변화 등에 의한 것으로 이해하고 있다. 이러한 개념은 산모나 신생아가 시골농장의 동물들에게서 나오는 미생물의 부산물에 노출이 많이 될수록 TLR의 만성적인 자극을 통해 알레르기 발생이 감소한다는 연구결과로 잘 설명이 된다.¹⁵⁾ 개선된 위생과 생활환경, 백신, 항생제의 사용증가, 무균음식 섭취 등이 출생 후 초기 미생물에 대한 노출과 자극을 감소시킴으로써 TLR 자극을 감소시키고, 이것이 정상적인 면역조절기능의 발달에

영향을 미쳐 무해한 항원에 대한 Th2 반응을 유도함으로써 알레르기 발생을 증가시키게 된다.¹⁶⁾

면역체계가 정상적으로 발달하기 위해서는 체계적인 미생물에 의한 자극이 있어야 하며, 이것은 무균(germ-free) 환경에서의 동물실험에서도 잘 나타난다. 무균환경에서 자란 동물들은 면역조절기능이 감소하여 병원체에 대한 효과적인 면역반응을 나타내지 못할 뿐만 아니라 정상적인 면역관용(immune tolerance)도 감소하여 경구 투여된 항원에 대해 Th2 면역반응을 보이게 된다. 또한 이러한 동물들에게 비병원성 세균을 경구 투여하면 정상적인 면역관용을 다시 회복하게 된다.¹⁷⁾ 이러한 결과는 장내세균이 신생아 시기에 Th1/Th2 면역상태를 결정하는 데 중요한 역할을 하고 있음을 보여주고 있다.

위생가설을 면역학적으로 설명하는 데는 두 가지 기전이 알려져 있다. 처음에 알려진 기전은 면역계가 발달하면서 알레르겐 특이 면역반응이 Th2로부터 Th1 반응으로 이동되지 못해서 알레르기가 증가한다는 것이다(missing immune deviation, Th1/Th2 imbalance).¹⁸⁾ 정상적으로 나이에 따라 면역계는 Th2에서 Th1 면역반응으로 이동하게 되는데 (immune deviation) 미생물에 의한 자극의 감소로 수지상세포 및 NK 세포의 TLR에 대한 자극이 감소되면 Th1 세포의 분화를 유도할 뿐만 아니라 Th2 세포의 분화를 억

제하는 IL-12, IFN- γ 등의 사이토카인이 감소하게 되어 항원에 대한 Th2 면역반응이 증가하게 된다. 즉 Th1 반응과 Th2 반응은 서로 길항작용을 하면서 균형을 유지하고 있는데, Th1/Th2 반응의 불균형이 알레르기의 병인이라고 설명하고 있다(Fig. 2).

이러한 기전을 설명하는 역학적 연구로서, 다발성 경화증이나 류마티스양 관절염 같은 자가면역질환을 갖고 있는 환자는 알레르기 유병률이 낮은 것으로 알려져 있고,¹⁹⁾ 아토피환자는 Th1 발달에 중요한 전사인자인 T-bet의 발현에 결함이 있는 것으로 보고되고 있다.²⁰⁾ 또한 CpG-oligodeoxynucleotide (ODN) 와 같은 미생물 부산물이나 IL-12와 IFN- γ 분비를 유도하는 합성 항원보강제(adjuvants)는 항원특이반응을 Th2에서 Th1으로 변화시키며, 비(非)알레르기 환자들은 항원특이 Th1 반응을 나타낸다.²¹⁾ 하지만 이러한 기전으로 설명이 되지 않는 연구결과들도 있는데, 강한 Th2 면역반응을 유도하는 기생충 감염이 많은 지역에서 오히려 알레르기의 발생이 적고,²²⁾ Th1 면역반응에 의한 질환인 인슐린 의존성 당뇨(IDDM), 다발성 경화증(multiple sclerosis) 등이 최근 선진국에서 알레르기와 함께 증가되어 왔다는 사실이다.²³⁾ 또한 Th1 세포나 IFN- γ 는 알레르기 모델종류나 염증의 진행상태에 따라서는 알레르기 염증을 악화시키기도 하며,²⁴⁾ 동물모델에서 항원특이 Th1 세포를 투여했을 때 알레르기 염증반응을 감소시키는 것이 아니라 오히려 증가시킨다는 보고도 있다.²⁵⁾

두 번째 기전은 미생물 자극의 감소로 인해 면역억제 기능을 하는 조절(regulatory) T 세포(Treg cells)의 기능이

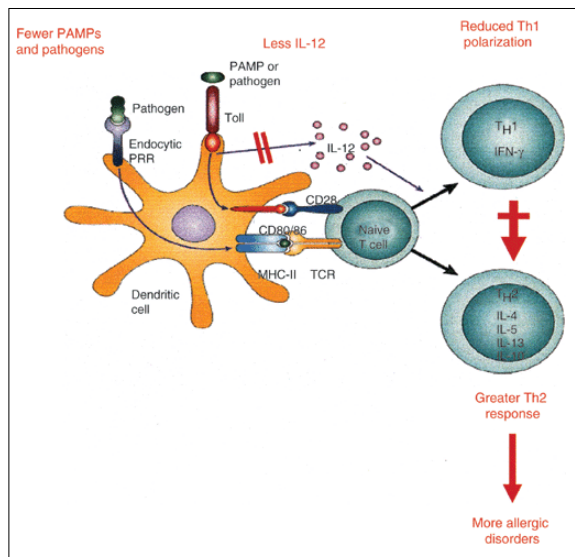


Fig. 2. The hypothesis of missing immune deviation as an explanation for the increased prevalence of allergy as a consequence of improved hygiene. The reduced microbial burden during childhood caused by Westernized lifestyles results in decreased stimulation of innate immune cells and reduced production of IL-12, which is the most important Th1-polarizing cytokine. Under these conditions, the adaptive immune response to 'innocuous' environmental antigens (allergens) is shifted towards a prevalent Th2 response (missing immune deviation) (Adapted from Immunology 2004 ; 112 : 352-63).

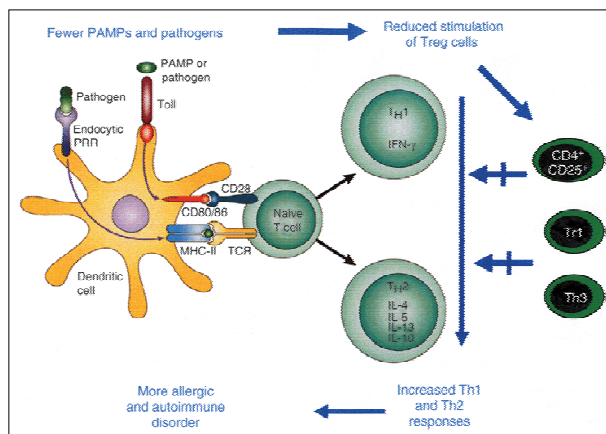


Fig. 3. The hypothesis of reduced immune regulation as an explanation for the increased prevalence of allergy as a consequence of improved hygiene. The reduced microbial burden during childhood results in reduced stimulation of Treg cells, with consequent implementation of both Th1 and Th2 responses which are responsible for the increased prevalence of both autoimmune and allergic disorders, respectively (Adapted from Immunology 2004 ; 112 : 352-63).

감소하고 이로 인해 무해한 호흡기 항원에 대해 면역관용 대신 Th2 면역반응이 나타난다는 것이다(reduced immune suppression) (Fig. 3).²²⁾ 조절 T 세포는 IL-10을 분비하는 type 1 조절 T 세포(Tr1), TGF- β (transforming growth factor- β)를 분비하는 type 3 helper T 세포(Th3), 세포 간 접촉에 의해 억제기능을 나타내는 CD4+CD25+T 세포 등으로 구성된다.²⁶⁾ 항원에 의한 조절 T 세포의 생성은 수지상세포에서 분비되는 IL-10과 TGF- β 의 존재 하에 TLR에 의해 유도되며, TLR을 통한 자극이 IL-10과 TGF- β 의 증가를 통해 조절 T 세포의 생성을 유도하는 것으로 알려져 있다.²⁷⁾ 기생충 감염이 면역억제 사이토카인을 증가시키고 비알레르기 환자와 면역요법 후의 항원특이 세포는 IL-10을 분비한다는 연구결과들은 조절 T 세포에 의해 알레르기 반응이 조절되는 것을 시사한다.²⁸⁾ 또한 이러한 기전에 따르면 정상인의 경우 알레르겐에 노출되면 알레르겐 특이 Th2 세포가 생성되는 것이 아니라 조절 T 세포가 생성되며, Th2 세포는 조절 T 세포의 생성에 이상이 생긴 경우 즉 IL-10의 분비가 감소되었거나 IL-4와 IL-13이 증가된 경우에 생성되어 알레르기가 유도되는 것으로 설명하고 있다.²⁹⁾ 하지만 IL-10이 Th1 반응은 억제하지만 어떤 경우에는 Th2 반응을 증가시키며, CD4+CD25+T 세포도 Th1 반응을 억제하지만 Th2 반응은 억제효과가 미미한 것으로 알려져 있어 조절 T 세포의 역할에 대해 앞으로 많은 연구가 필요한 상태이다.³⁰⁾

알레르기 병인을 앞에서 언급한 어떤 한가지 기전으로 다 설명할 수는 없으며, 현재로서는 항원특이 Th2 반응이 Th1 사이토카인(IFN, IL-12)뿐만 아니라 면역억제 사이토카인(IL-10, TGF- β)에 의해서도 이중으로 억제 받는 것으로 생각할 수 있다. 이러한 사이토카인들은 면역체계의 만성적이고 반복된 자극에 의해 유도되기 때문에 미생물에 대한 노출의 감소가 이러한 사이토카인들의 분비를 감소시켜 알레르기를 유발하는 것으로 생각할 수 있다.³¹⁾

알레르기 치료의 표적으로서 TLR

그동안 알레르기의 면역학적 병인에 대해 많은 연구가 이루어졌음에도 불구하고, 원인적이고 예방적으로 작용하는 효과적인 치료방법은 아직까지 없는 실정이다. 최근에는 알레르기의 초기 유도에 영향을 미쳐 알레르기를 억제하는 것에 대해 많은 연구가 이루어지고 있으며, 그 중 가장 주목을 받는 것이 TLR이다. 이것은 MyD88 결핍 마우스 연구에서 잘 나타나는데, TLR 신호전달의 장애는 많은 IgE 생성을 동반한 Th2 면역반응의 증가를 나타낸다.³²⁾

TLR4

역학적 연구에서 알레르기 감작군은 비감작군에 비해 실내의 내독소 농도가 감소하였고, 이것은 출생 후 초기 내독소의 노출이 알레르기 감작을 예방할 수 있음을 의미한다.³³⁾ 또한 LPS 보조 수용체인 CD14의 유전자 다형성(polymorphism)이 알레르기의 중증도와 연관이 있음이 알려져 있다.³⁴⁾ 알레르기 동물모델을 이용한 연구에서, 내독소는 천식의 발생을 억제하는 것으로 보고되었지만 이것은 투여시기에 따라 달라질 수 있는 것으로 알려져 있으며, 감작시기에 LPS를 투여하면 천식의 발생을 억제하지만, 알레르기가 형성된 후에는 알레르기 염증반응을 악화시키기도 한다. 즉 내독소의 용량, 노출시기, 환경보조요소, 유전적 요인에 따라 알레르기를 예방 또는 악화시킬 수 있다.³⁵⁾ 임상적으로도 신생아시기의 내독소 노출은 천식의 발생을 억제하지만 이후 시기의 노출은 천식을 악화시키는 것으로 보고되었다.³⁶⁾ 이러한 이유로 LPS 보다 독성이 약한 LPS 유도체에 대해 연구하게 되었으며, 대표적인 것이 *Salmonella Minnesota* R595 LPS의 유도체인 Monophosphoryl lipid A로서 독성이 작아(LPS의 1/100-10000) 알레르기 질환의 면역조절제로서 연구되고 있다.³⁷⁾ 최근에는 TLR4와 결합할 수 있는 합성물질들이 개발되었으며, 가장 잘 알려진 것이 AGPs(aminoacyl glucosaminide phosphate)로서 acyl chain의 성분에 따라 작용제가 되기도 하고 길항제가 되기도 한다.³⁸⁾ LPS와 *respiratory syncytial virus* 같은 TLR4의 자연적 리간드는 기존에 형성된 천식을 악화시키는 것으로 알려져 있기 때문에, 천식의 악화를 예방하고 치료하는 데는 TLR4 길항제가 효과적인 것으로 생각되고 있다. 하지만 TLR4 신호는 면역억제 사이토카인인 IL-10을 증가시키기 때문에 TLR4 작용제의 사용도 효과가 있을 수 있으며 앞으로 이에 대한 연구가 필요하다.³⁹⁾

TLR2

어떤 종의 LPS는 TLR2를 통해 신호전달이 되며, 이외에도 lipopeptide, peptidoglycan, yeast 세포벽 성분인 zymosan 등이 TLR2와 결합한다.⁴⁰⁾

TLR2의 발현이 알레르기 발병률이 적은 농장의 소아들에게서 증가되어 있고⁴¹⁾ 농장의 소아들 중 TLR2의 유전적 변이가 알레르기 발병의 주된 인자라는 연구결과⁴²⁾ 알레르기와 TLR2의 연관성을 시사하지만 아직까지 알레르기 염증반응에서의 역할에 대해서는 좀더 많은 연구가 필요하다. 천식 모델에서 TLR2 작용제(peptidoglycan, 합성 lipopeptide Pam3Cys-Ser-Lys4)는 알레르기 염증반응을 감소시켰다.⁴³⁾ 그러나 TLR2 작용제를 난알부민과

함께 항원보강제로 투여하여 감작시켰을 때는 폐 호산구 염증과 Th2 사이토카인이 증가되어, TLR2는 면역반응 유도기에 Th2 세포의 분화에도 어떤 역할을 하는 것으로 알려져 있다.⁴⁴⁾

TLR9

미생물 DNA는 척추동물 DNA에서는 나타나지 않는 unmethylated Cytosine-Guanine repeat(CpG) dideoxynucleotides를 포함하고 있고, CpG dideoxynucleotides를 포함한 oligodeoxynucleotides는 TLR9와 결합함으로써 강한 면역조절작용 및 항알레르기작용을 나타낸다.⁴⁵⁾ CpG 유형은 수지상세포를 자극함으로써 NK세포가 Th2 반응에 길항작용을 나타내는 IL-10, IL-12, IFN- γ 를 분비하도록 한다. 또한 이러한 immunostimulatory DNA sequences(ISS)는 indoleamine 2,3-dioxygenase(IDO)를 증가시켜 조절 T 세포를 유도하고, 조절 T 세포에 의해 Th2 면역반응을 억제하게 된다.⁴⁶⁾ 감작된 마우스에 CpG DNA를 투여하면 천식, 알레르기 결막염, 알레르기 비염 모델에서 과민반응을 억제하며 스테로이드보다도 효과적인 것으로 알려져 있다.⁴⁷⁾ 새로운 치료 방법으로서 CpG 유형을 알레르겐에 화학적으로 결합시켜 투여하면 oligodeoxynucleotide를 단독투여 했을 때보다 치료효과가 더 좋은 것으로 보고되었다.⁴⁸⁾ 지금까지의 연구들은 CpG DNA가 TLR9를 통해 알레르기 질환을 예방하고 치료하는 데 효과적임을 제시하고 있으며 현재 많은 임상적 연구가 진행되고 있다.

TLR7과 TLR8

TLR7과 TLR8은 구조적으로 매우 유사하며, 자연적 리간드는 주로 바이러스에서 유래한 단일 RNA이지만 처음 발견된 리간드는 imidazoquinoline 유도체인 imiquimod(R-837)와 resiquimod(R-848)이다.³⁷⁾ Imidazoquinoline은 IFN- γ 를 증가시켜 항바이러스 기능을 가지기 때문에 여러 바이러스 질환에 효과적으로 사용되고 있다.⁴⁹⁾ 바이러스 감염은 천식을 악화시키기 때문에 imiquimod와 resiquimod 같은 TLR7, 8 작용제를 천식환자의 바이러스 감염 시에 사용할 수 있으리라 기대되며 동물모델 연구에서 resiquimod에 의해 증가된 Th1 사이토카인이 Th2 면역반응을 억제하는 것으로 보고되었다.⁵⁰⁾

Bacterial vaccines

Mycobacteria

*Mycobacteria*는 TLR에 의존적으로 IL-12와 IFN- γ

의 증가를 통해 강한 Th1 면역반응을 유도하는 것으로 알려져 있다.⁵¹⁾ *Mycobacteria*와 알레르기 관계를 나타내는 역학적 연구로서 BCG(Bacillus Calmette-Guerin) 접종 후 강한 피부 반응은 알레르기 발생을 억제하는 것으로 보고되었으나⁵²⁾ 다른 연구에서는 BCG 접종과 알레르기 발생률이 상관관계를 나타내지 않았다.⁵³⁾ 또한 결핵의 유병률은 알레르기 질환의 유병률과 역상관관계가 있음이 보고되었고 20세까지의 결핵 과거력은 알레르기 발생을 감소시켰다.¹²⁾ 천식 동물모델에서 BCG 투여는 IgE의 감소와 함께 알레르기 염증반응을 감소시켰고, 강한 세포매개성 면역반응을 유도하는 것으로 알려진 *Mycobacterium vaccae*도 항알레르기 효과를 나타냈으며, 이러한 효과는 면역억제 사이토카인은 IL-10과 TGF- β 를 분비하는 조절 T 세포의 증가에 의한 것으로 보고되었다.⁵⁴⁾ 소아 아토피 습진 환아를 대상으로 Heat-killed *M. vaccae*를 투여한 임상적 연구에서 일부 효과를 나타냈지만 알레르기 천식환자에서는 유의한 효과를 나타내지 못했다.⁵⁵⁾ 이러한 차이가 나는 원인은 아직 밝혀지지 않았지만, 천식환자에서 사용된 흡입 스테로이드가 미생물의 효과를 방해했을 가능성이 제기되고 있다.⁶⁾ 현재까지의 임상연구결과들은 BCG나 *M. vaccae*가 알레르기를 치료하는 데는 크게 효과적이지 않지만, 출생 후 초기 알레르기를 예방하는 데는 효과가 있을 것으로 기대하고 있다.

Bacterial extracts

상품화된 세균 추출물은 상기도와 하기도 감염에 흔히 나타나는 세균들로 구성되어 있으며 Th1 면역반응을 증가시키고 안전성도 확립되었다.⁵⁶⁾ 세균 추출물을 경구로 투여한 임상적 연구는 주로 호흡기감염에 대한 효과에 대해 이루어졌으며,⁵⁷⁾ TLR을 통한 수지상세포의 자극을 통해 여러 가지 호흡기 감염에 대한 면역을 증가시켰다.⁵⁸⁾ 세균 추출물의 알레르기에 대한 면역조절 효과는 동물모델에서 증명되었으며 이러한 결과는 세균 추출물이 감염에 의한 천식의 악화를 감소시킬 뿐만 아니라 알레르기 발생을 예방할 수 있음을 시사하며 앞으로 이에 대한 많은 연구가 필요하다.⁵⁹⁾

Probiotics

Probiotics는 식품성분으로서 우리 몸에 유익한 효과를 보이는 살아있는 세균을 말하며, 우유 내에 *Streptococcus thermophilus*와 *Lactobacillus bulgaricus*를 넣어 발효한 요구르트의 형태로 과거부터 널리 섭취되었고, 최근에는 *lactic acid bacilli*의 유익한 효과가 제시되었다.⁶⁰⁾ 성인의 경우에는 장내세균의 분포가 일정하게 유지되는 데 비해 신생

아의 경우에는 생후 첫 수주 내에 급격히 장내세균의 분포에 변화가 일어나며 적어도 2세가 될 때까지는 성인과 같은 형태를 보이지 않는다.⁶¹⁾ Probiotics는 건강한 사람의 장내세균으로부터 유래하며, 대부분의 probiotics는 *Bifidobacterium* 또는 *Lactobacillus*이다.

장내세균과 알레르기 질환과의 관련성을 나타내는 여러 연구들을 보면, 발효음식을 많이 섭취하고 항생제를 적게 사용한 소아는 알레르기 감작률이 감소하였고,⁶²⁾ 알레르기 소아 환자들은 정상군에 비해 *Lactobacilli*나 *Bifido-bacteria*가 적게 분포하며⁶³⁾ *Bifidobacteria*의 수나 종류에 따라 아토피 피부염의 발생이나 증증도에 차이가 난다는 보고도 있다.⁶⁴⁾ Probiotics가 장내에서 어떠한 기전을 통해 유익한 효과를 보이는지에 대해서는 아직 확실하게 밝혀지지 않았지만, 세균의 CpG 유형과 LPS가 TLR9와 TLR4를 통해 Th1 면역반응을 유도하고,⁶⁵⁾ 또한 조절 T 세포의 발달을 유도해 면역관용에 관여하는 것으로 알려져 있다.⁶⁶⁾

임상적 치료효과로서 *Lactobacillus GG*는 영아 및 소아 아토피 피부염의 증증도를 감소시켰다.⁶⁷⁾ 하지만 알레르기 비염환자⁶⁸⁾와 천식환자⁶⁹⁾에 대해서는 유의한 효과를 보이지 않았고, 이것은 probiotics의 면역조절 기능이 Th1/Th2 균형이 쉽게 변화될 수 있는 특정시기에서만 가능하기 때문인 것으로 생각할 수 있다.⁶⁰⁾ 임신부와 태어난 신생아를 대상으로 *Lactobacillus GG*를 투여했을 때 4세까지의 아토피 피부염 발생률이 감소하였지만 천식에 대해서는 이러한 예방효과가 나타나지 않았다.⁷⁰⁾ 신생아의 장은 침투성이 증가되어 있고 상피세포는 많은 TLR을 발현하고 있기 때문에 미생물에 대한 강한 면역반응을 나타내며, 이러한 이유로 신생아 시기가 probiotics의 치료 및 예방효과를 나타내는데 가장 좋은 시기라고 할 수 있다. 또한 이러한 신생아의 장의 특징은 항원 노출 시에 감작될 가능성을 높이기 때문에, 알레르기를 예방하는 데 있어 출생 후 초기 probiotics를 사용하는 것이 큰 주목을 받고 있다.⁷¹⁾ 그러나 최근까지의 연구결과들을 종합해보면 아토피 피부염 이외의 알레르기 질환에서는 치료효과가 있다고 하기는 힘들고, 아토피 피부염에 대해서도 영유아 및 소아기에서는 예방 또는 치료효과를 기대하더라도 그 이후 시기에는 별 다른 효과가 없는 것으로 알려져 있다. 앞으로의 많은 연구를 통해 이러한 문제점을 해결한다면 알레르기 예방에 있어 효과적인 방법이 될 수 있으리라 기대된다.

결 론

감염질환을 예방하는 데 있어 백신이 큰 효과를 거둔 것

은 알레르기 질환을 예방하는 데 있어 희망과 가능성을 제시한다. 신생아시기의 면역발달과정에서 T 세포의 분화에 영향을 미치는 여러 면역반응 및 기전들에 대한 최근의 연구결과들은 면역조절에 의한 치료 및 예방을 가능케 하고 있다. 위생가설에 기반하여, 기존의 Th1/Th2 imbalance 뿐만 아니라 T 조절세포의 역할에 대해서도 많은 연구가 필요하며, 상기에서 기술한 미생물 부산물을 이용한 알레르기 예방 및 치료방법들이 많은 실험적 연구결과들을 기반으로 하고 있지만 임상적 연구결과들은 아직 부족한 실정이다.

수지상세포 활성화, 항원제시 및 T 세포분화에 대한 TLR의 역할들로 인해 TLR은 면역조절에 있어 가장 중요한 연구대상이 되고 있다. 알레르기 발생을 조절하는 TLR의 생리적 역할에 대해 보다 많은 연구가 필요하지만, 현재까지의 연구결과들은 미생물을 이용하여 TLR을 표적으로 하는 방법들이 알레르기를 예방 및 치료하는 데 있어 새로운 방법이 될 수 있음을 나타내고 있다.

REFERENCES

- 1) Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ* 1989;299:1259-60.
- 2) Cook DN, Pisetsky DS, Schwartz DA. Toll-like receptors in the pathogenesis of human disease. *Nat Immunol* 2004;5:975-9.
- 3) Janeway CA Jr, Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol* 2002;20:197-216.
- 4) Beutler B. Innate immunity: An overview. *Mol Immunol* 2004;40:845-59.
- 5) Letsou A, Alexander S, Orth K, Wasserman SA. Genetic and molecular characterization of tube, a *Drosophila* gene maternally required for embryonic dorsoventral polarity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:810-4.
- 6) Feleszko W, Jaworska J, Hamelmann E. Toll-like receptors-novel targets in allergic airway disease (probiotics, friends and relatives). *Eur J Pharmacol* 2006;533:308-18.
- 7) Kawai T, Akira S. Pathogen recognition with Toll-like receptors. *Curr Opin Immunol* 2005;17:338-44.
- 8) Medzhitov R. Toll-like receptors and innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2001;1:135-45.
- 9) Herrick CA, Bottomly K. To respond or not to respond: T cells in allergic asthma. *Nat Rev Immunol* 2003;3:405-12.
- 10) Iwasaki A, Medzhitov R. Toll-like receptor control of the adaptive immune responses. *Nat Immunol* 2004;5:987-95.
- 11) Kapsenberg ML. Dendritic cell control of pathogen driven T cell polarization. *Nat Rev Immunol* 2003;3:984-93.
- 12) von Mutius E, Illi S, Hirsch T, Leupold W, Keil U, Weiland SK. Frequency of infections and risk of asthma, atopy and airway hyperresponsiveness in children. *Eur Respir J* 1999;14:4-11.
- 13) Liu AH, Murphy JR. Hygiene hypothesis: Fact or fiction? *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:471-8.
- 14) Benn CS, Melbye M, Wohlfahrt J, Bjorksten B, Aaby P. Cohort study of sibling effect, infectious diseases, and risk of atopic dermatitis during first 18 months of life. *Bmj* 2004;328:1223.
- 15) Braun-Fahrlander C, Riedler J, Herz U, Eder W, Waser M, Grize L, et al. Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age children. *N Engl J Med* 2002;347:869-77.
- 16) Martinez FD, Holt PG. Role of microbial burden in aetiology of allergy and asthma. *Lancet* 1999;354 Suppl 2:SIII2-5.

- 17) Sudo N, Sawamura S, Tanaka K, Aiba Y, Kubo C, Koga Y. *The requirement of intestinal bacterial flora for the development of an IgE production system fully susceptible to oral tolerance induction.* *J Immunol* 1997;159:1739-45.
- 18) Romagnani S. *Regulation of the development of type 2 T-helper cells in allergy.* *Curr Opin Immunol* 1994;6:838-46.
- 19) Hilliquin P, Allanore Y, Coste J, Renoux M, Kahan A, Menkes CJ. *Reduced incidence and prevalence of atopy in rheumatoid arthritis. Results of a case-control study.* *Rheumatology (Oxford)* 2000;39:1020-6.
- 20) Finotto S, Neurath MF, Glickman JN, Qin S, Lehr HA, Green FH, et al. *Development of spontaneous airway changes consistent with human asthma in mice lacking T-bet.* *Science* 2002;295:336-8.
- 21) Annunziato F, Cosmi L, Manetti R, Brugnolo F, Parronchi P, Maggi E, et al. *Reversal of human allergen-specific CRTH2+ T(H)2 cells by IL-12 or the PS-DSP30 oligodeoxynucleotide.* *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:815-21.
- 22) Yazdanbakhsh M, Kreamsner PG, van Ree R. *Allergy, parasites, and the hygiene hypothesis.* *Science* 2002;296:490-4.
- 23) Bach JF. *The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases.* *N Engl J Med* 2002;347:911-20.
- 24) Cembrzanska-Nowak M, Szklarz E, Inglot AD, Teodorczyk-Injeyan JA. *Elevated release of tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma by bronchoalveolar leukocytes from patients with bronchial asthma.* *Am Rev Respir Dis* 1993;147:291-5.
- 25) Hansen G, Berry G, DeKruyff RH, Umetsu DT. *Allergen-specific Th1 cells fail to counterbalance Th2 cell-induced airway hyperreactivity but cause severe airway inflammation.* *J Clin Invest* 1999;103:175-83.
- 26) Robinson DS, Larche M, Durham SR. *Tregs and allergic disease.* *J Clin Invest* 2004;114:1389-97.
- 27) Mills KH, McGuirk P. *Antigen-specific regulatory T cells--their induction and role in infection.* *Semin Immunol* 2004;16:107-17.
- 28) Blaser K, Akdis CA. *Interleukin-10, T regulatory cells and specific allergy treatment.* *Clin Exp Allergy* 2004;34:328-31.
- 29) Akbari O, Stock P, DeKruyff RH, Umetsu DT. *Role of regulatory T cells in allergy and asthma.* *Curr Opin Immunol* 2003;15:627-33.
- 30) Laouini D, Alenius H, Bryce P, Oettgen H, Tsitsikov E, Geha RS. *IL-10 is critical for Th2 responses in a murine model of allergic dermatitis.* *J Clin Invest* 2003;112:1058-66.
- 31) Romagnani S. *The increased prevalence of allergy and the hygiene hypothesis: Missing immune deviation, reduced immune suppression, or both?* *Immunology* 2004;112:352-63.
- 32) Schnare M, Barton GM, Holt AC, Takeda K, Akira S, Medzhitov R. *Toll-like receptors control activation of adaptive immune responses.* *Nat Immunol* 2001;2:947-50.
- 33) Gereda JE, Leung DY, Thatayatikom A, Streib JE, Price MR, Klinnert MD, et al. *Relation between house-dust endotoxin exposure, type 1 T-cell development, and allergen sensitisation in infants at high risk of asthma.* *Lancet* 2000;355:1680-3.
- 34) Baldini M, Lohman IC, Halonen M, Erickson RP, Holt PG, Martinez FD. *A Polymorphism* in the 5' flanking region of the CD14 gene is associated with circulating soluble CD14 levels and with total serum immunoglobulin E.* *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999;20:976-83.
- 35) Reed CE, Milton DK. *Endotoxin-stimulated innate immunity: A contributing factor for asthma.* *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:157-66.
- 36) Liu AH. *Endotoxin exposure in allergy and asthma: Reconciling a paradox.* *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:379-92.
- 37) Kaisho T, Akira S. *Pleiotropic function of Toll-like receptors.* *Microbes Infect* 2004;6:1388-94.
- 38) Divanovic S, Trompette A, Atabani SF, Madan R, Golenbock DT, Vissintin A, et al. *Negative regulation of Toll-like receptor 4 signaling by the Toll-like receptor homolog RP105.* *Nat Immunol* 2005;6:571-8.
- 39) Higgins SC, Lavelle EC, McCann C, Keogh B, McNeela E, Byrne P, et al. *Toll-like receptor 4-mediated innate IL-10 activates antigen-specific regulatory T cells and confers resistance to Bordetella pertussis by inhibiting inflammatory pathology.* *J Immunol* 2003;171:3119-27.
- 40) Re F, Strominger JL. *Heterogeneity of TLR-induced responses in dendritic cells: from innate to adaptive immunity.* *Immunobiology* 2004;209:191-8.
- 41) Lauener RP, Birchler T, Adamski J, Braun-Fahrlander C, Bufe A, Herz U, et al. *Expression of CD14 and Toll-like receptor 2 in farmers' and non-farmers' children.* *Lancet* 2002;360:465-6.
- 42) Eder W, Klimeck W, Yu L, von Mutius E, Riedler J, Braun-Fahrlander C, et al. *Toll-like receptor 2 as a major gene for asthma in children of European farmers.* *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:482-8.
- 43) Velasco G, Campo M, Manrique OJ, Bellou A, He H, Arestides RS, et al. *Toll-like receptor 4 or 2 agonists decrease allergic inflammation.* *Am J Respir Cell Mol Biol* 2005;32:218-24.
- 44) Redecke V, Hacker H, Datta SK, Fermin A, Pitha PM, Broide DH, et al. *Cutting edge: Activation of Toll-like receptor 2 induces a Th2 immune response and promotes experimental asthma.* *J Immunol* 2004;172:2739-43.
- 45) Horner AA, Raz E. *Do microbes influence the pathogenesis of allergic diseases? Building the case for Toll-like receptor ligands.* *Curr Opin Immunol* 2003;15:614-9.
- 46) Hayashi T, Beck L, Rossetto C, Gong X, Takikawa O, Takabayashi K, et al. *Inhibition of experimental asthma by indoleamine 2,3-dioxygenase.* *J Clin Invest* 2004;114:270-9.
- 47) Horner AA, Van Uden JH, Zubeldia JM, Broide D, Raz E. *DNA-based immunotherapeutics for the treatment of allergic disease.* *Immunol Rev* 2001;179:102-18.
- 48) Marshall JD, Abtahi S, Eiden JJ, Tuck S, Milley R, Haycock F, et al. *Immunostimulatory sequence DNA linked to the Amb a 1 allergen promotes T(H)1 cytokine expression while downregulating T(H)2 cytokine expression in PBMCs from human patients with ragweed allergy.* *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:191-7.
- 49) Berman B. *Imiquimod: A new immune response modifier for the treatment of external genital warts and other diseases in dermatology.* *Int J Dermatol* 2002;41 Suppl 1:7-11.
- 50) Quarcoo D, Weixler S, Joachim RA, Stock P, Kallinich T, Ahrens B, et al. *Resiquimod, a new immune response modifier from the family of imidazoquinolinamines, inhibits allergen-induced Th2 responses, airway inflammation and airway hyper-reactivity in mice.* *Clin Exp Allergy* 2004;34:1314-20.
- 51) von Hertzen LC, Haahtela T. *Could the risk of asthma and atopy be reduced by a vaccine that induces a strong T-helper type 1 response?* *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000;22:139-42.
- 52) Shirakawa T, Enomoto T, Shimazu S, Hopkin JM. *The inverse association between tuberculin responses and atopic disorder.* *Science* 1997;275:77-9.
- 53) Alm JS, Lilja G, Pershagen G, Scheynius A. *Early BCG vaccination and development of atopy.* *Lancet* 1997;350:400-3.
- 54) Zuany-Amorim C, Sawicka E, Manlius C, Le Moine A, Brunet LR, Kemeny DM, et al. *Suppression of airway eosinophilia by killed Mycobacterium vaccae-induced allergen-specific regulatory T-cells.* *Nat Med* 2002;8:625-9.
- 55) Walker C, Sawicka E, Rook GA. *Immunotherapy with mycobacteria.* *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2003;3:481-6.
- 56) Boccaccio C, Jacod S, Kaiser A, Boyer A, Abastado JP, Nardin A. *Identification of a clinical-grade maturation factor for dendritic cells.* *J Immunother* 2002;25:88-96.
- 57) Steurer-Stey C, Bachmann LM, Steurer J, Tramer MR. *Oral purified bacterial extracts in chronic bronchitis and COPD: Systematic review.* *Chest* 2004;126:1645-55.
- 58) Spisek R, Brazova J, Rozkova D, Zapletalova K, Sediva A, Bartunkova J. *Maturation of dendritic cells by bacterial immunomodulators.* *Vaccine* 2004;22:2761-8.
- 59) Bowman LM, Holt PG. *Selective enhancement of systemic Th1 immunity in immunologically immature rats with an orally administered bacterial extract.* *Infect Immun* 2001;69:3719-27.

- 60) Isolauri E, Salminen S, Ouwehand AC. *Microbial-gut interactions in health and disease. Probiotics. Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2004;18:299-313.
- 61) Yoshioka H, Iseki K, Fujita K. *Development and differences of intestinal flora in the neonatal period in breast-fed and bottle-fed infants. Pediatrics* 1983;72:317-21.
- 62) Alm JS, Swartz J, Lilja G, Scheynius A, Pershagen G. *Atopy in children of families with an anthroposophic lifestyle. Lancet* 1999;353:1485-8.
- 63) Bjorksten B, Naaber P, Sepp E, Mikelsaar M. *The intestinal microflora in allergic Estonian and Swedish 2-year-old children. Clin Exp Allergy* 1999;29:342-6.
- 64) Kalliomaki M, Kirjavainen P, Eerola E, Kero P, Salminen S, Isolauri E. *Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing. J Allergy Clin Immunol* 2001;107:129-34.
- 65) Miettinen M, Matikainen S, Vuopio-Varkila J, Pirhonen J, Varkila K, Kurimoto M, et al. *Lactobacilli and streptococci induce interleukin-12 (IL-12), IL-18, and gamma interferon production in human peripheral blood mononuclear cells. Infect Immun* 1998;66:6058-62.
- 66) Rautava S, Kalliomaki M, Isolauri E. *New therapeutic strategy for combating the increasing burden of allergic disease: Probiotics-A Nutrition, Allergy, Mucosal Immunology and Intestinal Microbiota (NAMI) Research Group report. J Allergy Clin Immunol* 2005;116:31-7.
- 67) Majamaa H, Isolauri E. *Probiotics: A novel approach in the management of food allergy. J Allergy Clin Immunol* 1997;99:179-85.
- 68) Helin T, Haahtela S, Haahtela T. *No effect of oral treatment with an intestinal bacterial strain, Lactobacillus rhamnosus (ATCC 53103), on birch-pollen allergy: A placebo-controlled double-blind study. Allergy* 2002;57:243-6.
- 69) Wheeler JG, Shema SJ, Bogle ML, Shirrell MA, Burks AW, Pittler A, et al. *Immune and clinical impact of Lactobacillus acidophilus on asthma. Ann Allergy Asthma Immunol* 1997;79:229-33.
- 70) Kalliomaki M, Salminen S, Poussa T, Arvilommi H, Isolauri E. *Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year follow-up of a randomised placebo-controlled trial. Lancet* 2003;361:1869-71.
- 71) Holt PG, Sly PD, Martinez FD, Weiss ST, Bjorksten B, von Mutius E, et al. *Drug development strategies for asthma: In search of a new paradigm. Nat Immunol* 2004;5:695-8.