

돼지고기 중 알레르기 유발성분의 동정

정혜주 · 박재현[#] · 김재희 · 김영옥 · 정승태 · 김진호 ·
조은득 · 조대현 · 노건웅* · 김동섭

국립독성연구소 독성부 면역독성과, 식품의약품안전청, *성균관대학교 의과대학 소아과
(Received November 27, 2000; Revised January 8, 2001)

Identification of Allergens in Pork Meat

Hye Joo Chung, Jae Hyun Park, Jae Hee Kim, Young Ok Kim, Seung Tae Chung, Jin Ho Kim,
Eun Deuk Cho, Dae Hyun Cho, Geun Woong Noh* and Dong Sup Kim

*Department of Toxicology, National Institute of Toxicological Research, Korea Food and
Drug Administration, 5 Nokbun-Dong, Eunpyung-Ku, Seoul, 122-704, Korea*

**Department of pediatrics, School of Medicine, Sungkyunkwan University, 3 Mukgeng-Dong,
Chongro-Ku, Seoul, 110-745, Korea*

Abstract — The pork meat has been reported as one of the food occurring allergic reactions predominantly to Korean. To identify the potential food allergens in pork meat, sera were collected from 25 allergic patients to the pork meat and 10 allergic patients not to pork meat as well as 5 normal subjects after skin prick test and open food challenge test. Crude extracts were prepared by blending raw pork meat in phosphate buffered saline (pH 7.0) and the heat treatment on crude extracts was carried to characterize sensibility of the allergens to heat. ELISA was performed to determine specific IgE antibody levels of allergic patients to pork meat, and resulted in twofold higher mean value than that of tolerated patients. Extracted proteins from pork meat was separated with SDS-PAGE followed by immunoblotting using sera from pork sensitive patients and control subjects, respectively. The IgE binding response to pork meat by immunoblotting correlated with quantitative specific IgE value of each person. Immunoblots showed four prominent IgE-binding bands (66, 60, 50, 44 kDa) in crude extract, but two bands of those (60, 44 kDa) were heat-labile. These results suggest that most prominent allergens from pork meat are four components (66, 60, 50, 44 kDa) in Korean and the heat treatment on allergen is additional parameter to characterize allergen.

Keywords □ Pork meat, SDS-PAGE, immunoblot, food allergen, IgE, ELISA

식품 알레르기는 생체 내 면역체계가 관여하여 일어나는 특정식품에 대한 일종의 과민반응으로 정의^{1,2)}되는데 개인차는 있으나 일반적으로 두드러기, 홍반, 설사, 구토 등이 주 증상이고 심한 경우에는 아나필락시스 쇼크 및 사망을 일으키기도 한다.³⁾ 대부분의 사람이 매일 다양한 음식을 섭취하는 만큼, 식품에 의한 알레르기 유발은 우리의 건강과도 직결된 문제이며 실

제 전 세계 인구의 약 2%, 어린이의 경우에는 0.3~7.5%정도가 식품 알레르기를 경험하고 있으며 나이가 들어감에 따라 그 빈도는 점차 감소하는 것으로 보고되어 있다.⁴⁾

식품에 존재하여 그 섭취를 통해 인체에 알레르기 반응을 유발하는 알레르겐은 일반적으로 10~70 kDa의 분자량을 가진 단백질로 열, 산, 소화효소에 안정한 수용성 당 단백질이라고 알려져 있다. 식품 알레르기는 주로 구미지역을 중심으로 활발히 연구되고 있는데 지금까지 밝혀진 알레르겐으로는 우유에 존재하는

[#] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 02-380-1797~8 (팩스) 02-380-1799

casein, lactoglobulin, 달걀의 ovomucoid, ovalbumin, 땅콩의 vivilin(Ara h 1),^{5,6)} gonglutin(Ara h 2)⁷⁾외에도 다수가 있다.^{8,9)} 알레르기 유발하는 대표적 원인 식품은 콩류, 우유, 밀, 어류, 갑각류, 견과류 및 달걀 등이며 식품 알레르기의 약 90% 이상이 이들 식품에 의해 발생하는 것으로 보고되고 있으나^{10,11)} 알레르기 반응은 인종간, 개인간에도 많은 차이가 있기 때문에, 외국의 연구결과를 그대로 받아들이기는 어려운 바 한국인을 대상으로 한 연구가 요구된다. 최근 한 국내 대학병원에서 379명의 알레르기 천식 환아를 대상으로 수행한 연구 결과 알레르기는 식품에 의해서도 유발될 수 있으며 주 원인식품은 계란(22.7%), 돼지고기(14.8%), 복숭아(14.0%), 고등어(12.7%), 닭고기(11.1%), 우유(10.0%)임¹²⁾ 이 밝혀졌고, 다른 연구 결과에서는 우유(65.3%), 달걀(61.9%), 닭고기(65.9%), 돼지고기(64.8%) 등이 주 원인이 될 수 있음이 보고되었다. 그러나 각 식품 중 어떤 성분이 이러한 반응을 유발하는

지에 대하여는 아직까지 밝혀지지 않은 바 우선 이번 연구에서는 임상시험결과 돼지고기에 알레르기 양성 반응을 나타낸 환자의 혈청을 이용하여 돼지고기에 존재하는 알레르겐을 확인하고 가열처리에 대한 감수성을 알아보았다.

실험방법

시약 및 재료

Acrylamide, bis-acrylamide, ammonium persulfate, TEMED는 Bio-Rad사(Hercules, CA, U.S.A.)제품을, BCA protein assay용 시약은 Pierce(Rockford, IL, U.S.A.), biotin-conjugated mouse anti-human IgE, streptavidin-alkaline phosphatase conjugator는 Pharmingen(San Diego, CA, U.S.A.)에서 각각 구입하였으며, 그 외 기타 시약들은 Sigma사(St. Louis, Mg, U.S.A.)제품을 구입하여 사용하였다. 또한, 돼지고기는

Table I - Clinical characteristics of allergic patients to pork meat

Patients No.	IgE pork*	Sex	Age	Symptoms	other food allergies
1	0.92	M	11 years 7 months	AD, U, GI	Soybean, wheat
2	1.17	F	3 years 10 months	AD, U	-
3	0.76	M	11 year	AD, U	-
4	0.36	F	11 years	AD	-
5	0.59	M	24 years	AD, U, E, F	-
6	0.95	F	26 year 1 months	AD, U	-
7	0.56	F	38 years 9 months	AD	-
8	0.77	F	24 years	AD, U, E	Whole egg, Cow's milk, Tomato
9	0.68	M	26 years 2 months	AD, U, E	-
10	0.50	M	25 years 10 months	AD, U, E	Melon, Malt
11	0.97	M	9 years 9 months	AD, U, E	Tomato
12	0.58	M	72 years	AD, U	-
13	0.49	F	12 years	AD	-
14	0.44	M	12 years	AD, U, E	Mackerel
15	0.42	F	3 years	AD, U, E	-
16	0.40	F	5 years	AD, U	-
17	0.37	F	32 years 2 months	AD, U, E	-
18	0.21	M	18 years	AD, E	-
19	0.32	M	22 years	AD, U, E	-
20	1.03	F	21 years 2 months	AD, U, E	-
21	0.31	F	26 years 3 months	AD, U	-
22	0.58	F	6 years 6 months	AD, U, E	-
23	0.21	M	25 years	AD, U	-
24	0.36	F	22 years 5 months	AD, U	Chicken, Yeast, Alcohol
25	0.22	F	38 years 5 months	AD, U, E	-

AD : atopic dermatitis, U : urticaria, F : fever, GI : gastrointestinal symptoms, A : asthma, R : rhinitis, E : eozema

*IgE values are given in optical density at 405 nm

시중 슈퍼마켓에서 신선한 것을 구입하여 사용하였다.

대상환자의 혈청

알레르기 임상진단법인 skin prick test 및 open food challenge test를 실시하여 돼지고기에 알레르기 양성반응이 관찰된 환자(25명) 및 알레르기 증상은 있으나 돼지고기에는 알레르기 반응을 보이지 않는 환자(10명)의 혈청을 삼성제일병원 알레르기 클리닉으로부터 제공받아 사용하였으며, immunoblot에는 알레르기가 없는 정상인(5명)의 혈청을 대조군으로 사용하였다. 각 혈청은 사용할 때까지 -70°C 에 보관하였으며 돼지고기 알레르기 환자 각각의 임상적 특징은 Table I에 요약하였다.

Crude extract 제조 및 가열처리

Crude extract는 James 등¹³⁾이 사용한 방법을 약간 변형하여 제조하였다. 돼지고기 중 살코기만을 취하여 PBS(phosphate buffered saline, 20 mM Na_2HPO_4 , 2 mM KH_2PO_4 , 5.4 mM KCl, 0.5 M NaCl, pH 7.0)를 10% w/v 비율로 넣고 homogenizer(Nihonseiki Kaisha, Japan)로 균질화시켜 유액 상태로 만든 후 Ultrasonicator(Fisher, U.S.A.)를 사용하여 5분간 초음파 분쇄하였다. 4°C , $1000\times\text{g}$ 에서 10분간 원심분리하여 상등액을 취한 후, 다시 초원심분리기(Kontron Co., Switzerland)를 사용하여 $140,000\times\text{g}$ 에서 15분간 원심분리하여 상등액을 취한 것을 crude extract로 하였다. 또한, crude extract를 10분간 가열한 후 원심분리하여 상등액을 취한 것을 가열처리 시료로 사용하였다. 각 시료는 Amicon-YM2 filter system(Denver, MA, U.S.A.; M.W.C.O. < 1 KD)을 사용하여 단백질을 농축하고 시험에 사용할 때까지 -20°C 에 보관하였다.

단백질 정량

각각의 조제된 시료는 bovine serum albumin을 대조물질로 BCA protein assay용 kit(Rockford, IL, U.S.A.)을 이용하여 단백질 농도를 측정하였다.

ELISA 를 이용한 혈청 IgE 항체가 측정

돼지고기 crude extract를 50 mM carbonate buffer (pH 9.6)을 이용하여 $5\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 단백질 농도로 희석하여 96well ELISA plate(Costar Co., Cambridge, MA, U.S.A.)에 $100\ \mu\text{l}/\text{well}$ 씩 가하여 37°C 에서 2시간 동안

흡착시킨 후 0.05% PBST(washing 및 dilution buffer)로 1:2 비율로 희석한 각 혈청을 $100\ \mu\text{l}/\text{well}$ 씩 가하고 실온에서 하룻밤 반응시켰다. 그 후 biotin-conjugated mouse anti-human IgE를 $100\ \mu\text{l}/\text{well}$ 씩 가하고 37°C 에서 2시간 반응시킨 후 1:1000 비율로 희석한 streptavidin-alkaline phosphatase conjugator를 $100\ \mu\text{l}/\text{well}$ 씩 가하여 다시 37°C 에서 2시간동안 반응시켰다. 매 단계마다 각 well을 0.05% PBST로 3회 세척하였고 기질로서는 PNP(p-Nitrophenyl Phosphate tablet)를 사용하여 발색시킨 후 ELISA reader (Molecular Devices Co., Menlo Park, CA, U.S.A.)를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정 비교하였다.

SDS-PAGE

각 시료는 Lammeli 등¹⁵⁾이 사용한 방법에 따라 Mini Protein II 전기영동 system(Bio-rad Lab. Hercules, CA, U.S.A.)을 사용하여 12% separating gel과 4% stacking gel로 구성된 SDS polyacrylamide gel의 각 lane에 $10\ \mu\text{g}$ 씩(단백질량) loading하고 Coomassie Brilliant Blue R-250 및 silver stain kit(Bio-rad Lab. Hercules, CA, U.S.A.)로 염색하여 분리된 protein을 관찰하였다. 시료는 2X Lammeli sample buffer로 희석하여 99°C 에서 10분간 가열 후 사용하였으며, 각 gel은 분자량의 측정을 위하여 Rainbow Molecular Weight Markers(RPN 800, Amersham Pharmacia Biotech. Uppsala, Sweden)가 같이 사용되었다.

Immunoblot

SDS-PAGE로 분리된 단백질은 Towbin 등¹⁶⁾이 사용한 방법을 참고하여 transblot apparatus(Bio-rad)를 이용하여 polyvinylidene difluoride(PVDF)-membrane로 transfer시킨 후 0.1% Tween 20을 함유한 PBST (41.5 mM PBS, pH 7.4)로 60분간 반응하여 blocking시키고 알레르기 환자의 혈청을 0.05% PBST(washing 및 dilution buffer)로 1:10로 희석하여 가한 후 실온에서 하룻밤 반응시켰다. 그 후 dilution buffer로 1:2000으로 희석한 항체(biotin-conjugated mouse anti-human IgE)를 가하고 실온에서 2시간 반응시킨 후 streptavidin-alkaline phosphatase conjugator (1:4000 in 0.05% PBST)를 가하여 다시 실온에서

2시간 동안 반응시켰다. 매 단계마다 0.05% PBST (washing buffer)로 3회 세척하였으며, 기질로서 BCIP/NBT liquid(5-bromo-4-chloro-3-indoyl phosphate/nitro blue tetrazolium)를 가하여 발색시킨 후 증류수로 세척하고, 반응정도를 관찰하였다.

실험결과

혈중 IgE 치 측정

Open food challenge test에서 돼지고기에 양성반응 환자(25명) 및 음성반응 환자(10명)에서의 혈중 IgE를 비교하고자 ELISA를 실시한 결과, 음성반응을 보인 환자의 경우는 그 평균 흡광도 치가 0.25 ± 0.046 정도를 나타낸 반면, 돼지고기에 양성반응을 보인 환자의 경우는 평균 0.57정도의 수치를 나타내었다. 한편 돼지고기에 알레르기 양성반응 환자의 특이 IgE 수치는 0.2~1.2정도로 많은 편차를 보였는데, 환자 25명중 12명인 48%가 음성반응 환자의 평균치에 2배 이상이었고, 특히 이중 7명은 3배 이상의 수치를 나타내었으며, 단지 2명만이 음성반응 환자의 평균치에 비해 낮은 혈중 IgE수치를 나타내는 등 돼지고기 알레르기 환자의 경우는 비교적 높은 혈중 IgE수치를 나타내었다(Table I & Fig. 1).

SDS-PAGE

돼지고기 추출물 중 단백질 성분을 분리하기 위하여, crude extract 및 가열처리 시료를 각각 SDS-PAGE 실시한 후 Coomassie Brilliant Blue R-250 및 silver

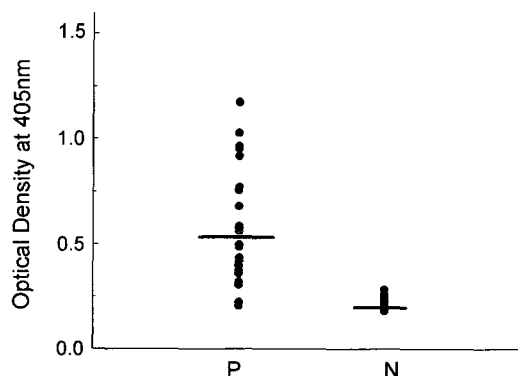


Fig. 1 - Determination of serum IgE level with pork crude extract by ELISA

P, Positive allergic patients to pork meat (n=25)
N, Negative allergic patients to pork meat (n=10)

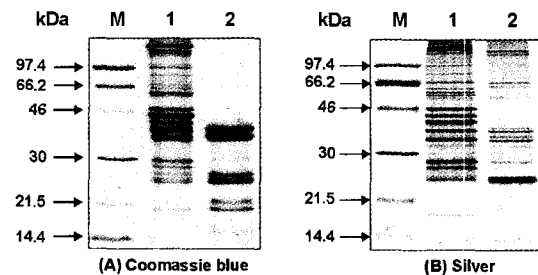


Fig. 2 - Coomassie blue(A) and silver(B) stained SDS-PAGE of crude pork extract (lane 1), heated extract (lane 2). *M*, Marker.

stain kit로 각각 염색하고 분리된 단백질을 관찰하였다. 그 결과 crude extract의 경우에는 20~250 kDa의 다양한 단백질 성분으로 구성되어 있었으며, 66, 60, 50, 44, 41, 40, 38, 30 kDa의 성분이 주요 성분을 관찰할 수 있었다. 또한 가열처리한 시료에서는 대략 40, 38, 27 kDa의 성분이 주 단백질 성분임이 관찰되었으며, Silver stain결과 66, 63 kDa의 성분 또한 관찰할 수 있었다(Fig. 2, A & B).

알레르기 유발성분의 동정

돼지고기에 존재하는 알레르기 유발성분을 확인·동정하기 위해서 SDS-PAGE에 의해 분리된 단백질을 PVDF membrane에 transfer 시키고, skin prick test 및 open food challenge test에서 돼지고기에 양성 반응을 나타내는 알레르기 환자 혈청을 반응시킨 결과 환자에 따라 강한 반응성을 보이는 성분이 약간씩 차이가 있음을 확인할 수 있었으나, 특히 분자량 44 kDa의 성분은 96%(24/25)에서, 60 kDa는 92%(23/25), 66 kDa와 50 kDa는 76%(19/25), 80%(20/25)로 대부분의 환자에게서 공통적으로 강한 반응성을 나타내는 것으로 보아 이들 성분이 알레르기를 유발할 수 있는 성분으로 사료되었다. 이 4개의 성분 이외에도, 반응성은 다소 약하나, 분자량 111 kDa의 성분 역시 60%(15/25) 환자에게서 관찰할 수 있었으며, 환자에 따라 특이적으로 25~30 kDa의 성분 또한 관찰되었다(Fig. 3). 또한, immunoblot 결과 높은 혈중 IgE 수치를 가지는 환자는 낮은 IgE수치를 갖는 환자에 비해 그 반응성이 높게 나타남을 알 수 있었다(Table 1 & Fig. 3).

가열처리에 대한 알레르기 유발성분의 감수성

일반적으로 알레르겐으로 작용하는 단백질은 열처리

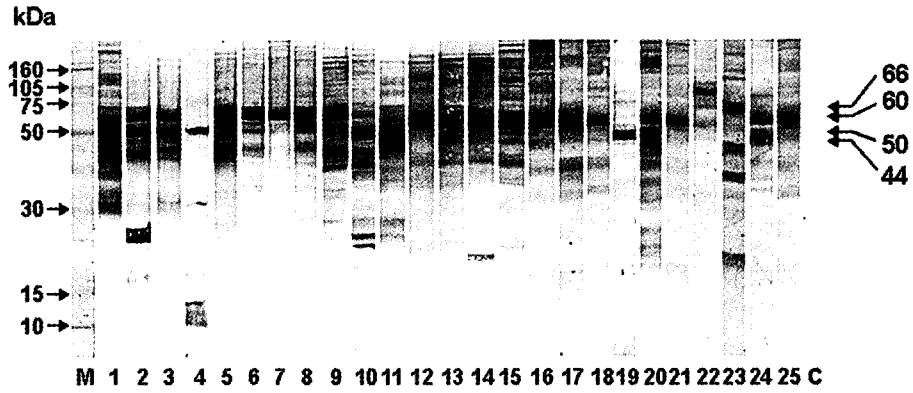


Fig. 3 - IgE immunoblots of pork meat extract with sera from 25 patients with symptoms of allergy to pork meat. *M*, Marker. *C*, Control subject.

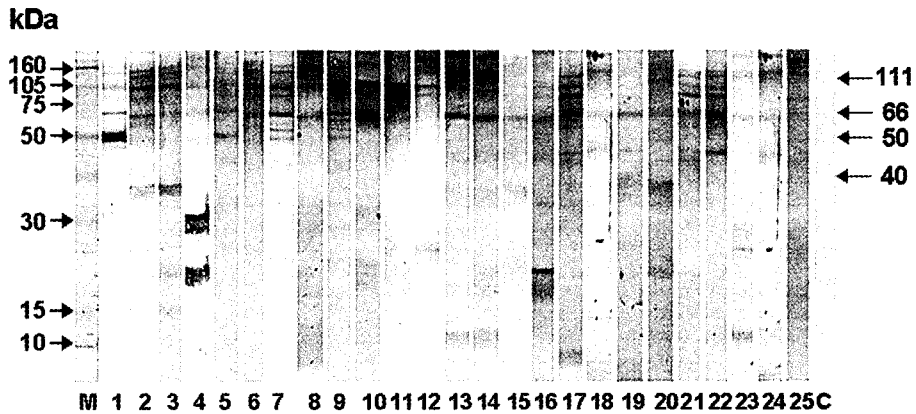


Fig. 4 - IgE immunoblots of heated pork meat extract with sera from 9 patients with symptoms of allergy to pork meat. *M*, Marker. *C*, Control subject.

에서 대해서도 비교적 안정한 것으로 알려져 있는 바 crude extract를 10분간 가열처리한 후 각 환자의 혈 중 돼지고기 특이 IgE와 결합하는 정도를 확인하였다.

그 결과 111, 66, 50 kDa의 성분은 가열처리 후에도 대부분의 사람에게서 강한 반응성을 나타냄을 관찰할 수 있었다. 특히 111과 66 kDa의 성분은 대상환자 중 88%(22/25), 96%(24/25)에서, 50 kDa의 성분은 72%(18/25)에서 각각 관찰되어 비교적 열에 안정한 유력한 알레르기 유발 성분으로 생각되었다. 그 반면 60 kDa과 44 kDa의 성분은 원액의 경우는 대부분의 환자에게서 높은 반응성을 나타내었으나, 열처리한 후에는 단지 12%(3/25명), 4%(1/25)에서만 관찰되는 것으로 보아, 열에 불안정한 성분임을 알 수 있었다. 또한 crude extract에서 환자에 따라 특이적으로 관찰할 수 있었던 25~30 kDa의 성분 역시 일부 소실되

지 않고 반응을 나타냄으로 보아 알레르겐으로서 작용할 수 있는 가능성을 보여주었다(Fig. 4).

고 찰

식품 알레르기에 대한 연구의 대상 식품은 각 나라마다 다소 차이가 있어 노르웨이의 경우는 대구, 일본의 경우는 쌀과 콩, 미국의 경우는 땅콩에 대한 연구가 주로 진행되는 것을 볼 수 있는데¹⁷⁾ 각 나라마다 고유의 식이 및 문화적 특색이 다름이 그 주요인 중 하나로 들 수 있다. 최근 동서양을 막론하고, 식생활에 많은 부분이 동물성 단백질로 구성되어 있음에도 불구하고, 육류 중 알레르겐에 대한 확인 및 연구는 bovine serum albumine^{18,19)} 일부 알레르겐을 제외하고는 많이 밝혀져 있지 않다. 특히 돼지고기에 의한

알레르기는 서양에서 일부 환자들의 pork/cat syndrome (돼지고기 알레르기)와 고양이 상피에 대한 알레르기 유발 교차 반응)에 관한 몇몇 사례보고²⁰⁾와 실제 돼지고기 섭취에 의한 알레르기 유발 증상(oral allergy syndrome)에 대한 소수의 보고²¹⁾를 제외하면 거의 없는 실정이다.

그러나 국내의 연구결과¹²⁾에서는 돼지고기는 국내 알레르기환자에게는 비교적 알레르기 유발율이 높은 식품으로 보고되어, 본 연구에서는 돼지고기를 대상으로 crude extract, 가열처리를 통해, 시료를 조제하고, SDS-PAGE 및 immunoblot, ELISA를 실시함으로써 돼지고기 중 알레르겐을 동정하고 그 특성을 확인하고자 하였다. 돼지고기 알레르기 환자를 대상으로 돼지고기 특이 IgE수치를 측정할 결과, 대조군에 비해 높은 IgE수치를 나타냄으로 미루어 대부분의 돼지고기 알레르기 환자는 IgE항체에 의해 매개된 제 1형 과민 반응환자로 생각되었다.

SDS-PAGE로 돼지고기의 단백 성분을 분리한 결과 20~250 kDa의 다양한 분자량을 가진 성분으로 구성되어 있었으며, silver stain으로 확인된 결과 가열처리에도 분해되지 않은 단백질 성분은 대부분 glycoprotein으로 생각되었다.²²⁾ 또한 immunoblot 결과 환자의 혈청 특이 IgE항체와 결합하는 대부분의 성분은 SDS-PAGE에서도 역시 관찰됨을 알 수 있었다. 특히 immunoblot 결과 환자마다 반응성이 조금씩 특이적인 유형을 나타냈으나, 대부분의 환자에게서 공통적으로 비교적 강한 반응성을 보이는 성분은 66, 60, 50, 44 kDa로 우리나라 사람에게 알레르기를 유발할 가능성이 높은 성분임을 알 수 있었다. 이 중 60, 44 kDa의 성분은 가열처리 시 대부분 환자에서는 관찰되지 않은 것으로 보아 열에 불안정한 성분으로 생각되었다. 한편, Llatser등²³⁾은 돼지고기 알레르기 환자 1인의 혈청을 이용하여, 돼지고기에서 신장부위에서는 200, 90, 57, 47 kDa의 성분을, 장부위에서는 57, 27 kDa의 성분을, 고기에서는 51, 40, 28~30 kDa의 성분을 주된 알레르겐으로 보고하였는데, 돼지고기라도 부위에 따라 그 주 알레르겐이 차이가 있을 수 있음을 보여주었다. 한편 최근 Hilger등은²⁴⁾ pork/cat syndrome의 주 알레르겐으로 pork serum albumin(66 kDa)을 제시하였는데, 일반적으로 혈청 알부민은 알레르기 유발성분으로 이미 널리 알려져 있는바, 본 연구에서도 관찰된 66 kDa 성분은 pork serum albumin으로 사

료되었다. 그 외의 성분은 아직까지 그 구체적 성분이 명확히 규명되어 있지 않아 향후 구조 동정 등에 대한 추가연구를 통하여 명확한 규명이 필요한 것으로 사료되었다. 또한 Asero등²⁵⁾은 돼지고기의 조리 및 가공에 따라 환자의 임상적인 알레르기 증상 발현정도가 다르며, 조리된 가공식품에 내성을 보이는 알레르기 환자의 경우는 immunoblot 결과에도 반응성을 나타내지 않음을 보고하였으며, 돼지고기 알레르겐에는 일부 열에 불안정한 성분이 관여함을 제시한 바 있다. 이는 본 연구에서도 가열처리 후 60, 44 kDa의 성분이 열에 불안정한 것으로 나타나는 바 위 보고들과 일치되는 결과로 사료되며, 이는 환자마다 같은 돼지고기라도 가공된 형태에 따라 발현되는 임상증상이 조금씩 다르게 나타날 수 있음을 반영하는 간접적 결과로 생각된다. 대부분의 식품은 조리 및 가공과정 후 섭취하므로 이러한 시료의 가열처리 방법은 보다 가능성 높은 알레르기 유발가능 성분을 검색할 수 있는 방법의 하나로 적극 활용 가능하다고 사료되며, 향후 실제 사람 위장관 상태와 유사한 소화액에 대한 안정성 시험 및 식품알레르기 반응에 관여하는 다른 항체(IgG, IgA)나, cytokine의 역할 또한 식품 알레르기 연구에 추가되어야 할 것으로 생각된다.

문 헌

- 1) Sicherer, S. H. : Manifestations of food allergy : Evaluation and Management. *American Family Physician* **59**, 415 (1999).
- 2) Metcalfe, D. D. : Immune mechanisms in food allergy. *Clin. Exp. Allergy* **21**, 321 (1991).
- 3) Yunginger J. W., Sweeney, K. G. and Sturmer, W. Q. : Fatal food-induced anaphylaxis. *JAMA* **260**, 1450 (1988).
- 4) Buckley, R. H. and Metcalf, D. : Food Allergy *JAMA*. **248**(20), 2627 (1982).
- 5) Barnett, D. and Howden, M. E. H. : Partial characterization of an allergenic glycoprotein from peanut (*Arachis hypogaea* L). *Biochim. Biophys. Acta* **882**, 97 (1986).
- 6) Burks, A. W., Williams, L. W., Helm, R. W., Connaughton, C. Cockrell, G. and O'Brein T. : Identification of a major peanut allergen, Ara h 1, in patients with atopic dermatitis and positive peanut challenge. *J. Allergy Clin. Immunol.* **88**, 172 (1991).

- 7) Burks, A. W., Williams, L. W., Connaughton, C., Cockrell, G., O'Brein T. J. and Helm, R. M. : Identification and characterization of a second major peanut allergen, Ara h II, with use of the sera of patients with atopic dermatitis and positive peanut challenge. *J. Allergy Clin. Immunol.* **90**, 962 (1992).
- 8) Asa, K. and Jebsen, J. W. : Studies of hypersensitivity to fish : partial purification and crystallization of a major allergenic component of cod. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* **32**, 1 (1967).
- 9) Sampson, H. A. : Food allergy. Part 1 : Immunopathogenesis and clinical disorders. *J. Allergy Clin. Immunol.* **103**, 717 (1999).
- 10) Sampson, H. A. and McCaskill, C. C. : Food hypersensitivity and atopic dermatitis: evaluation of 113 patients. *J. Pediatr.* **107**, 669 (1985).
- 11) Sampson, H. A. and Ho, D. G. : Relationship between food-specific IgE concentration and the risk of positive food challenges in children and adolescents. *J. Allergy Clin. Immunol.* **100**, 444 (1997).
- 12) 김규언, 정병주, 이기영 : 소아 천식환자에서 식품알레르기의 빈도 및 원인 식품. 소아알레르기 및 호흡기 **5**, 96 (1998).
- 13) James, J. M., Helm, R. M., Burks, A. W. and Lehrer, S. B. : Comparison of pediatric and adult IgE antibody binding to fish proteins. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* **79**, 131 (1997).
- 14) Astwood, J. D., Leach, J. N. and Fuchs, R. L. : Stability of food allergens to digestion in vitro. *Nature Biotech.* **14**, 1269 (1996).
- 15) Laemmli, U. K. : Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* **227**, 680 (1970).
- 16) Towbin H. T., Staehelin, T. and Gordon, J. : Electrophoretic transfers of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **76**, 4350 (1979).
- 17) Lehrer, S. B., Horner, W. E. and Reese, G. Lehrer, S. B., Horner, W. E. and Reese, G. : Why are some proteins allergenic? Implications for biotechnology. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **36**, 553(1996).
- 18) Fiocchi, A., Restani, P., Riva, E., Qualizza, R., Bruni, P., Resteli, Ar. and Galli, C. L. : Meat allergy. I. Specific IgE to BSA and OSA in atopic beef sensitive children. *J. Am. Coll. Nutr.* **14**, 239 (1995).
- 19) Fiocchi, A., Restani, P., Riva, E., Qualizza, R., Bruni, P., Resteli, Ar., Biasucci, G., Galli, C. L. and Giovannini, M. : Meat allergy. II. Effects of food processing and enzymatic digestion on the allergenicity of bovine and ovine meats. *J. Am. Coll. Nutr.* **14**, 245 (1995).
- 20) Couturier, P., Basset-Stheme, S. and Sainte-Laudy, J. : Pork-cat syndrome in a 16-month-old child. *Allerg. Immunol.* **31**, 60 (1999).
- 21) Liccardi, G., D'Amato, M. and D'Amato, G. : Oral allergy syndrome after ingestion of salami in a subject with monosensitization to mite allergens. *J. Allergy Clin. Immunol.* **98**, 850 (1996).
- 22) Goldman, D. Merrill, C. R. and Ebert, M. H. : Two-dimensional gel electrophoresis of cerebrospinal fluid proteins. *Clin. Chem.* **26**, 1317(1980).
- 23) Llatser, R., Polo, F., Delahoz, F. and Guillaumet, B. : Alimentary allergy to pork. Crossreactivity among pork kidney and pork and lamb gut. *Clinical and Experimental Allergy*, **28**, 1021 (1998).
- 24) Hilger, C., Kohnen, M., Grigioni, E., Lehnert, C. and Hentges, F. : Allergic cross-reactions between cat and pig serum albumin : Study at the protein and DNA levels. *Allergy* **52**, 179 (1997).
- 25) Asero, R., Mistrello, G. and Falagiani, P. : Oral allergy syndrome from pork. *Allergy* **52**, 684 (1997).