

식육알레르기 발생 경향 및 잠재적 우육알레르겐에 관한 연구

정보영¹ · 김동엽¹ · Fan Jiang Ping^{1,2} · 정현채 · 한기동^{1*}

¹영남대학교 자연자원대학 식품공학과, ²중국 운남농업대학교 식품과학대학

Studies on Prevalence of Meat Allergy and Potential Beef Allergens

Bo-Young Jeong¹, Dong Yeop Kim¹, Jiang Ping Fan², Hyun Chae Chung¹, and Gi Dong Han^{1*}

¹Department of Food Science and Technology, Yeungnam University, Gyeongsan 712-749, Korea

²College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan, P.R.China

Abstract

The prevalence of food allergies was investigated using questionnaires with 300 subjects whose ages ranged from 19 to 24 years old and the causative food allergens was analyzed using immunological analysis with serum of the subjects who answered that they have/had food allergy. The questionnaire showed that 11.33% of subjects have/had experience of food hypersensitivity, where the main causative foods were fish, beef, chicken, milk, egg, and pork in order. The meat allergy shared 4.65% (2.33% for beef, 1.66% for chicken, 0.66% for pork) in the prevalence of food allergies. The causative beef allergens were investigated with the serum of 6 subjects who have had beef allergy. Western blots were carried out with the serum of P6 subject who showed a positive reaction to beef extract in ELISA. The two specific bands were detected in beef extract on the PVDF membrane, and no band was detected in extracts of pork and chicken. A calculation of the distance of migration by SDS-PAGE enabled the molecular masses of the two bands to be estimated as 67 kDa and 31 kDa, respectively. The 67 kDa was revealed as bovine serum albumin (BSA) which is one of the important beef allergens as reported previously though an analysis of the N-terminal amino acid sequence. However we could not identify the sequence of 31 kDa, probably because they comprised several subunits and were modified proteins such as glycoprotein that were unlikely to be easily degraded by the Edman method. The 31 kDa band were dyed with the PAS (periodic acid-schiff reagent), suggesting that it might be a glycoprotein. These results suggested that the 31 kDa might be considered as a novel potential beef allergen which is not reported previously, although further studies are needed.

Key words : meat allergy, beef allergen, BSA, 31 kDa, allergy prevalence

서 론

알레르기 질환은 최근 20년 사이에 전 세계적으로 빠르게 증가하고 있는 추세이다. 국내에서도 2005년 보건복지부에서 실시된 국민건강영양조사에 따르면 알레르기는 암, 만성 성인병과 더불어 3대 만성 질환의 하나이며, 특히 소아에 있어서는 가장 흔한 만성 질환의 하나로 알려져 있다(국민건강영양조사, 2005). 생활환경의 빠른 서구화는 과거에 보기 힘든 여러 가지 형태의 알레르기 질환을 야기하여 심각한 사회적 문제가 되고 있다. 전체 인구의 15-20%가 어떠한 형태로든 알레르기를 경험한 적이 있

는 것으로 보고되고 있고(Battais *et al.*, 2003; Han *et al.*, 2000a), 이러한 알레르기 환자의 대다수는 식품에도 알레르기 반응을 일으키는 것으로 조사되었고(Adel-Patient *et al.*, 2000; Latser *et al.*, 1998), 그 예로 아토피성 피부염 환자의 60%가 음식물에 대한 과민반응을 갖는 것으로 보고 된 바 있다(Burks *et al.*, 1988). 우리나라의 경우 전국 역학 설문조사에서 식품알레르기로 진단받은 적이 있는 경우가 3세 이하의 소아에서 5-8%, 성인에서는 1.5-3% 정도인 것으로 조사되었고, 전 연령에서는 1.5% 정도가 식품알레르기로 고생하고 있는 것으로 보고되고 있다(Kim *et al.*, 2003; Suh *et al.*, 2003). 식품알레르기는 생후 1년 이내에 발생률이 가장 높으며 연령이 증가함에 따라 유병률은 감소하는 경향을 보이나, 최근 식품알레르기는 유아나 청소년뿐만 아니라 성인에서도 그 발생빈도가 현저히 증가하고 있는 추세이다(Ogle *et al.*, 1980). 식품알레르기 반응의 대부분은 일반적으로 우유(Delpbine *et al.*, 2002;

*Corresponding author : Gi Dong Han, Department of Food Science and Technology, Yeungnam University, Gyeongsan 712-749, Korea. Tel: 82-53-810-2957, Fax: 82-53-810-4662, E-mail: gdhan1@ynu.ac.kr

Kilburn *et al.*, 1998; Rossi *et al.*, 1994), 계란(Noma *et al.*, 1998; Quirce *et al.*, 1998; Smith *et al.*, 1987), 육류(Biedermann *et al.*, 1999; Liccardi *et al.*, 1997), 견과류(Clarke *et al.*, 1998; Ewan, 1996), 어패류(Musmand *et al.*, 1993; O'Neil *et al.*, 1995), 곡류(Guenard-Bilbault and Kanny, 1999; James and Robert, 1996), 과실류(Gall *et al.*, 2000) 등에 포함된 특정 알레르겐에 의해서 유발되고 있다. 특히 육류에 의해 유발되는 식품알레르기는 서구화된 식생활 습관으로, 축산물의 소비증가가 식육알레르기 증가의 주원인이라 볼 수 있다. 식육식품은 성장기에 있는 유아 및 청소년에 있어 중요한 영양원인 만큼 문제의 심각성이 있다고 하겠다. 지금까지 상대적으로 식육의 알레르겐성에 관한 연구는 매우 드물게 이루어져 왔으나, 최근 본 연구그룹에 의한 것을 포함하여 활발한 연구가 이루어지고 있다. 지금까지 밝혀진 주요 식육알레르겐 단백질들은 계육 중의 50 kDa, 돈육 중의 51 kDa 그리고 우유 중의 67 kDa의 bovine serum albumine (BSA)과 60 kDa의 bovine gamma globulin(BGG) 등으로 알려져 있다(Ferreira and Seidman, 2007; Han *et al.*, 2000b).

식품알레르기에 대한 국내 보고는 그동안 다소 이루어져 왔으나 대부분 소아 등 특정 연령층에 국한되거나 병원을 방문한 환자를 대상으로 하여 이루어져 왔다. 식품알레르기의 효율적인 관리대책을 확립하기 위해서는 보다 다양한 층에 대한 식품알레르기 발생빈도 조사와 원인알레르겐에 대한 폭 넓은 정보가 필수적이다. 이에 따라 본 연구는 계층별 알레르기 발생빈도 조사의 일환으로 19세에서 24세 사이의 대학생을 중심으로 그들의 병력을 바탕으로 설문조사를 실시하여 식육을 중심으로 최근의 식품알레르기의 발생경향에 대하여 조사하였고, 또한 설문조사 결과 식육에 대한 알레르기를 경험한 것으로 응답한 대상자들의 혈청을 이용하여 그 원인 알레르겐을 확인하였다.

재료 및 방법

설문 조사 대상 및 방법

2006년 10월부터 2006년 12월까지 19세에서 24세까지의 대학생 315명을 대상으로 그들의 병력을 바탕으로 한 설문조사를 하였고, 이 중 기재가 부실한 것을 제외한 300부를 최종분석에 이용하였다.

혈청 준비

설문 조사 및 설문 조사 결과, 식육에 대한 알레르기를 경험한 적이 있다고 응답한 대학생들 중 협조가 가능한 6명과 대조군으로 식품알레르기를 경험해 본 적이

없는 대학생 4명을 선정하여 교내 보건소에서 채혈되었다. 채혈된 혈액은 실온에서 1시간 정도 정치시킨 후 3000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 취하고 적당량씩 분주하여 -80°C에 보관하면서 이후의 면역실험에 이용하였다.

식육 추출물의 준비

상업적으로 구입된 소(앞다리 살), 돼지(목살) 그리고 닭고기(가슴살)는 지방과 결합조직이 제거된 후 각각 10 g씩 취해져 가위로 잘게 절단되었다. 여기에 20 mM sodium phosphate buffer(KCl, pH 7.4)가 100 mL 첨가되어 균질기에서 5초간 균질화되었다. 균질화된 용액은 3000 rpm에서 15분간 원심분리된 후 상층액은 다시 Whatman No.2 (Whatman International Ltd., UK)의 거름종이에 의해 걸러졌다. 모든 조작용은 4°C의 저온에서 이루어졌으며, 추출물의 단백질 농도는 biuret방법(James and Robert, 1996)으로 측정되어 최종농도가 5 mg/mL가 되도록 보정한 후 실험에 사용되었다.

2차 항체 준비

ELISA를 위한 2차 항체인 anti-human IgE peroxidase conjugate(Sigma Co. Ltd., USA)와 Western blots을 위한 2차 항체인 alkaline phosphatase(AP) Conjugated Goat Anti-Human IgE(Tagoimmunologicals Co. Ltd., USA)는 상업적으로 구입되어 사용되었다.

Enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA)

ELISA는 Engvall와 Perlmann(1971)의 방법에 준하여 실시하였다. 소, 돼지, 닭의 추출물을 항원으로 사용하였고, 각각의 extract를 50 mM sodium carbonate buffer (pH 9.6, 1:500(v/v))와 희석하여 96-well plate(NUNC, Denmark)에 각각 50 µL씩 분주하고 4°C에서 하룻밤 coating시키고, 다음날 PBS buffer(20 mM sodium phosphate, 150 mM NaCl, 2.7 mM KCl, pH 7.4)로 3차례 세척 후, 2% gelatin (Amresco, USA) - PBS solution으로 blocking시켜 30°C에서 1시간 반응시켰다. PBST(phosphate buffered saline containing 0.05%(v/v) tween 20)로 3차례 세척 후, 1차 항체(환자 혈청)를 포함한 1% gelatin(희석비율 1:4(v/v))을 30°C에서 4시간 반응시킨 후, PBST로 3차례 세척을 실시하였다. 그 다음 2차 항체(Anti-human IgE peroxidase conjugate(Sigma Co. Ltd., USA)을 포함한 1% gelatin(희석비율 1:1000(v/v))을 30°C에서 2시간 반응시킨 후, PBST로 4차례 세척을 실시하였다. ABTS Peroxidase substrate system(KTI Co. Ltd., USA)으로 발색을 유도하였고, 반응이 종결된 후 490 nm로 고정된 ELISA reader(Sunrise A-5082, Tecan, Austria)를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis(SDS-PAGE)

우육 알레르겐의 변화를 살펴보기 위하여 Laemmli(1970)의 방법에 준하여 실시하였다. gel은 4%의 stacking gel과 11%의 running gel을 사용하였고, 분자량표시 기준은 middle range color protein standards(Cambrex Bio Science Rockland Inc., USA)를 이용하였다. 우육추출물은 동량의 2× SDS-sample buffer(0.25 M Tris-HCl buffer, pH 6.8, containing 10% SDS, 4% 2-mercaptoethanol, 20% glycerol, 0.05% bromophenol blue, and 10 mM EDTA)를 첨가한 후, 100°C에서 2분간 가열하였다. 각각 15 µL의 추출물을 gel에 충전시키고, 전기영동장치(AE-6450, ATTO, Japan)를 이용하여 20 mA에서 1시간 SDS-PAGE를 행하였다. 분리된 band를 관찰하기 위하여 gel은 염색액(0.025% Coomassie brilliant blue R-250, 50% methanol, 5% acetic acid)을 이용하여 4시간 이상 염색 후, 탈색액(7.5% acetic acid, 5% methanol)으로 탈색하였다.

Western blots

Western blots은 Towbin 등(1979)의 방법에 준하여 실시하였다. SDS-PAGE 후 분리된 단백질은 PVDF(polyvinylidene difluoride) membrane(Bio-Rad, USA)에 전사 buffer(25 mM Tris, 192 mM glycine and 5% methanol)와 전사 장치(AE-6675, ATTO, Japan)를 이용하여 전사한다. PVDF membrane을 methanol을 이용하여 3분간 methylation 시킨 후, 증류수를 이용하여 5분간 neutralization시켜 Whatman No.2 거름종이 위에 막을 놓고, SDS-PAGE가 끝난 gel을 거름종이 위에 올려놓은 뒤 140 mA에서 1시간 전사시켰다. 전사된 PVDF membrane을 필요한 부분만 cutting하여 1% gelatin(Amresco, USA) - PBST solution으로 25°C에서 2시간 blocking하였다. TBST를 이용하여 세척하고, 1차 항체(환자 혈청)를 포함한 TBST(희석비율 1:5 v/v)을 25°C에서 하룻밤 방치시켰다. 반응이 끝나면, TBST를 이용하여 3차례 세척 후, 2차 항체(alkaline phosphatase(AP) Conjugated Goat Anti-Human IgE(Tagoimmunologicals Co. Ltd., USA))를 포함한 TBST(희석비율 1:500 v/v)로 25°C에서 90분간 반응시켰다. TBST를 이용하여 3차례 세척과 TBS로 1차례 세척 후, AP conjugate substrate kit(Bio-Rad, USA)를 이용하여 발색시켰다.

알레르겐 단백질의 분자량 측정

Molecular weight는 Weber와 Osborn(1969)의 방법에 준하여 실시하였다. 각 단백질의 molecular weight는 SDS-PAGE gel에서 PVDF membrane으로 전사된 후, 그 이동 거리를 측정함으로써 검출되었다. 즉 다음과 같은 식으로 검출할 수 있다.

$$\text{이동성} = \frac{\text{단백질의 이동거리(cm)}}{{}^1\text{BPB의 이동거리(cm)}}$$

¹BPB: Bromophenol blue.

결과 및 고찰

설문조사를 통한 식품알레르기의 발생경향

지금까지 시도가 없었던 대학생을 중심으로 그들의 병력을 바탕으로 한 식품알레르기 발생경향에 대한 설문조사를 실시하였다. 조사대상자 300명 중 34명(11.33%)이 특정 식품에 대한 알레르기 경험이 있는 것으로 조사되었으며, 이러한 결과는 일본의 대학생을 대상으로 한 설문조사에서 11.4%가 식품알레르기를 경험하였다는 이전의 보고와 비슷한 경향을 보였다(Han *et al.*, 1997). 발생빈도가 높은 원인 식품별로 구분하면 생선 32.35%, 우육 20.58%, 계육 14.7%, 우유 및 유제품 11.76%, 계란 8.82%, 돈육 5.88%, 곡류 및 서류 2.94% 그리고 과일과 야채 2.94% 순으로 나타났다(Table 1). 전체 식품알레르기 경험자 중 식육에 알레르기 증상이 있거나, 있었다고 대답한 비율은 4.65%로 높게 나타났다. 이와 같이 식육에 대한 알레르기를 경험한 대상자가 예상외로 많았는데 이것은 식생활 습관의 변화로 인한 육류소비의 증가가 그 원인의 하나일 것으로 사료된다.

식육에 대한 알레르기 발생빈도 조사결과는 우육이 식육 중 높은 알레르겐성을 가지는 것을 나타내는데, 이것은 이전의 보고와 비슷한 경향을 보였다(Han *et al.*, 2000a; Orhan and Sekerel, 2003). 최근 우육의 소비가 꾸준히 증가하여 온 것과 이러한 결과는 무관하지 않을 것으로 보인다.

ELISA를 이용한 우육에 대한 항원성 검사

우육에 대하여 알레르기 경험이 있다고 응답한 6명과

Table 1. Incidence of food allergy investigated from the anamnesis of 300 subjects

	Numbers	% ¹⁾	% ²⁾
Beef	7	20.58	2.33
Pork	2	5.88	0.66
Chicken meat	5	14.7	1.66
Chicken's egg	3	8.82	1
Cow's milk and its products	4	11.76	1.33
Fish	11	32.35	3.66
Cereals and beans	1	2.94	0.33
Fruits and vegetables	1	2.94	0.33
Sum	34		11.33
Total sum of subjects	300		

¹⁾The percentage for subjects indicated allergenic reaction.

²⁾The percentage for the total sum of subjects.

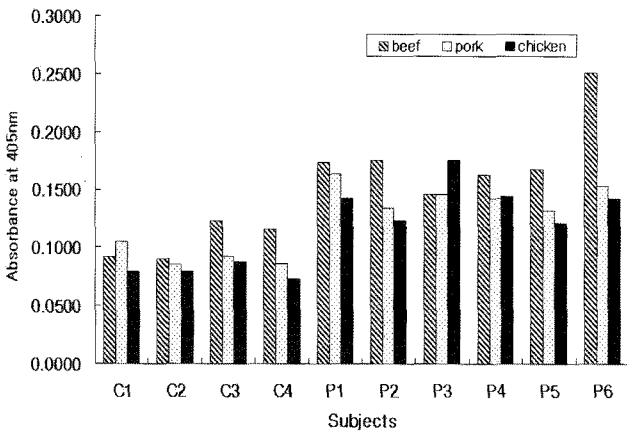


Fig. 1. ELISA with sera of beef-allergic patients and non-allergic control individuals to beef, pork and chicken extracts. C1-C5, sera of non-allergic individuals; P1-P6, sera of beef-allergic patients.

알레르기 경험이 없는 건강한 대조군 4명으로부터 준비한 혈청으로 우육에 대한 알레르겐성 검사를 ELISA를 이용하여 실시하였다. P3의 대상자를 제외하고 5명의 식육알레르기 경험자는 유의적 반응성이 없는 대조군과 비교하여 우육항원에 대하여 비교적 높은 특이적 반응을 보였다 (Fig. 1).

Western blots을 이용한 우육알레르겐 동정

우육알레르기의 원인 알레르겐에 대한 연구는 본 연구 그룹을 포함하여 다소 이루어져 왔으며, 이전의 보고에서 67 kDa의 BSA와 60 kDa의 BGG를 유력한 알레르겐으로 보고하였고, 환자에 따라서 그 원인 알레르겐을 달리할 수 있다고 하였다(Han *et al.*, 2000b).

Fig. 2(A)는 우육, 돈육, 계육추출물에 대한 SDS-PAGE 결과이다. ELISA 결과, 우육알레르겐에 대하여 가장 높은 반응성을 보였던 P6의 혈청을 이용한 Western blots 실험을 실시하여 우육중 원인 알레르겐 단백질을 확인하였다. P6 대상자는 Fig. 2(B)에 나타난 것과 같이 PVDF 상에 대상자의 혈청과 우육추출물에 특이적으로 반응하는 2개의 밴드가 관찰되었다. 이러한 두 밴드의 전기영동상 이동거리를 표준단백질과 비교 측정하여 추정된 이들의 분자량은 위로부터 67 kDa과 31 kDa이었다(Fig. 3). 두 단백질을 확인하기 위하여 N 말단 15잔기 아미노산 서열분석을 행하여 67 kDa은 이전 연구에서 보고한 BSA인 것으로 확인되었고(Fuentes *et al.*, 2005; Han *et al.*, 2000b; Kanny *et al.*, 1998; Werfel *et al.*, 1997), 31 kDa은 아미노산 서열분석이 이루어지지 못하였다. N 말단 아미노산서열 분석이 어려운 이유는 대상단백질이 분석에 어려움을 주는 당쇄를 포함하고 있는 당단백질이거나, 또는 몇 개의 subunits로 구성되어 있는 경우이다. 31 kDa 단백질에

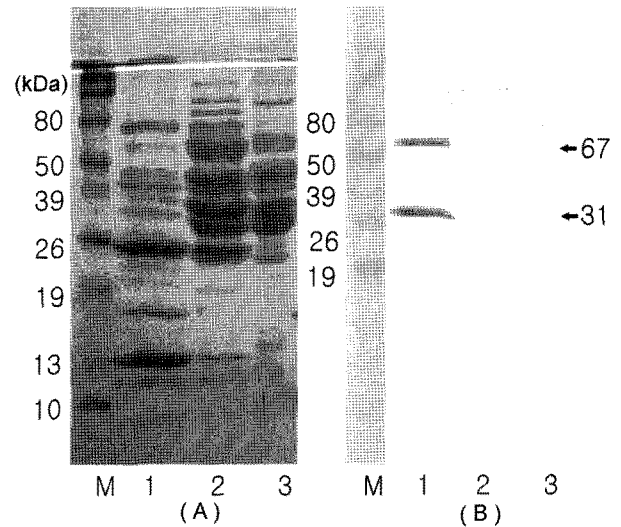


Fig. 2. Western blots analyses (11% gel) to beef, pork and chicken extracts. (A) SDS-PAGE, (B) Western blots to with serum of positive beef allergic patient. Lane M show middle range molecular marker, lane 1 shows beef extract lane 2 shows pork extract and lane 3 shows chicken extract.

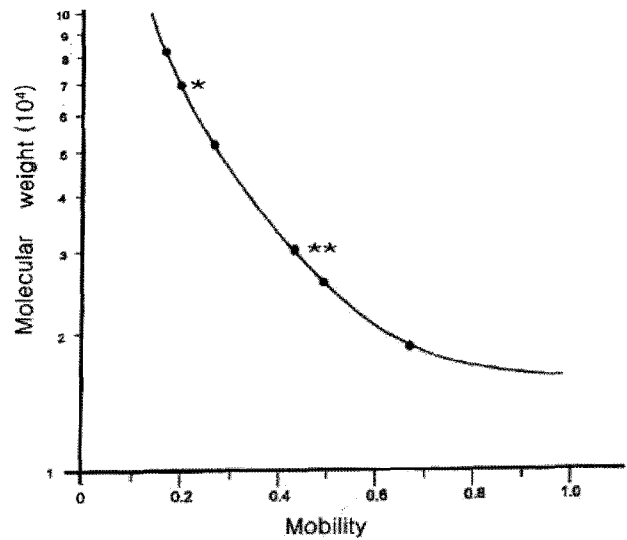


Fig. 3. Determination of molecular mass of allergenic protein in beef extract. *67 kDa; first band in Fig. 2 (B)-1 **31 kDa; second band in Fig. 2 (B)-1.

대한 PAS(periodic acid-schiff reagent)염색결과가 양성인 것으로 보아, 이 단백질은 당쇄 수식이 많은 당단백질인 것으로 사료된다(Edman, 1949).

본 실험결과, 31 kDa 단백질이 우육알레르기 환자의 혈청과 특이적인 강한 반응성을 가지고 있는 것으로부터 지금까지 보고가 되지 않은 새로운 잠재적 우육알레르겐인 것으로 판단되며, 앞으로 31 kDa 단백질의 이화학적 및 물리적 특성에 관한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

요 약

19세에서 24세까지의 대학생을 중심으로 그들의 병력을 바탕으로 한 설문조사를 실시하여 식품알레르기의 발생 경향을 조사하고, 알레르기 경험자의 혈청을 이용하여 식육알레르기의 원인 알레르겐에 대하여 조사하였다. 조사 대상자 중 11.33%가 어떤 형태의 식품알레르기를 경험하였고, 그 원인식품으로는 생선, 우유, 계육, 유제품, 난류(계란), 돈육 순으로 나타났으며, 그 중 식육에 대한 알레르기를 경험한 대상자의 비율은 전체의 4.65%(우유 2.33%, 계육 1.66%, 돈육 0.66%)를 차지하였다. 이 중 가장 발생 빈도가 높은 우유에 대한 원인 알레르겐 조사를 위해 설문조사에서 우유에 대하여 과민반응을 경험하였다고 응답한 대상자 6명의 혈청을 이용하여 원인 알레르겐에 대한 조사를 실시하였다. ELISA를 이용한 항원성의 검사결과 우유에 특이적 반응성을 보인 대상자의 혈청과 우유추출물을 이용하여 원인 알레르겐을 조사하였다. Western blots 결과에서 PVDF membrane 상에 대상자의 혈청과 특이적으로 반응하는 2개의 밴드가 관찰되었다. 표준단백질 middle range marker를 이용한 전기영동상 이동거리비교에서 이들의 분자량이 67 kDa과 31 kDa인 것으로 판명되었다. N 말단 아미노산서열 분석결과로부터, 67 kDa은 지금까지 중요한 우유알레르겐의 하나로 알려진 BSA인 것으로 확인되었으나, 31 kDa은 지금까지 보고가 없는 새로운 잠재적 우유알레르겐인 것으로 보인다. 31 kDa 분자는 N 말단 아미노산서열 분석이 어려웠다. PAS염색결과 아미노산 서열 분석이 어려운 이유는 31 kDa 분자가 당쇄로 수식되어 있기 때문인 것으로 사료되며, 앞으로 31 kDa 분자에 대한 이화학적 및 물리적인 특성에 관한 연구가 필요할 것으로 사료된다. 지금까지 식육에 대한 알레르기 발생경향 및 식육알레르겐에 관한 연구보고가 국내에서 거의 이루어지지 않은 상황에서 본 연구는 식육알레르기 연구에 중요한 정보를 제공해 줄 것으로 사료된다.

참고문헌

- Adel-Patient, K., Creminon, C., Bernard, H., Clement, G., Negroni, L., Frobert, Y., Grassi, J., Wal, J., and Chatel, J. (2000) Evaluation of a high IgE-responder mouse model of allergy to bovine β -lactoglobulin (BLG) : Development of sandwich immunoassays for total and allergen-specific IgE, IgG1 and IgG2a in BLG-sensitized mice. *J. Immunol. Methods* **235**, 21-32.
- Battais, F., Pineau, F., Popineau, Y., Aparicio, C., Kanny, G., Guerin, L., Moneret-Vautrin, D. A., and Denery-Papini, S. (2003) Food allergy to wheat : identification of immunoglobulin E and immunoglobulin G-binding proteins with sequential extracts and purified proteins from wheat flour. *Clin. Exp. Allergy* **33**, 962-970.
- Biedermann, T., Schopf, P., Rueff, F., and Przybilla, B. (1999) Exertion-induced anaphylaxis after eating pork and beef. *Dtsch. Med. Wochenschr.* **124**, 456-458.
- Burks, A. W., Mallory, S. B., Williams, L. W., and Shirrell, M. A. (1988) Atopic dermatitis: Clinical relevance of food hypersensitivity reactions. *J. Pediatr.* **113**, 447-451.
- Clarke, M. C. A., Kilburn, S. A., Hourihane, J. O., Dean, K. R., Warner, J. O., and Dean, T. P. (1998) Serological characteristics of peanut allergy. *Clin. Exp. Allergy* **28**, 1251-1257.
- Delpine, B. and Christobe, D. (2002) Allergy to extensively hydrolyzed cow's milk proteins in infants: Safety and duration of amino acid-based formula. *J. Pediatr.* **141**, 271-273.
- Engvall, E. and Perlmann, P. (1971) Enzyme - linked immunosorbent assay, ELISA. *Immunochemistry* **8**, 871-877.
- Ewan, P. W. (1996) Clinical study of peanut and nut allergy in 62 consecutive patients : new features and associations. *Br. Med. J.* **312**, 1074-1078.
- Edman, P. (1949) A method for the determination of amino acid sequence in peptides. *Arch Biochem.* **22**, 475.
- Ferreira, C. T. and Seidman, E. (2007) Food allergy: a practical update from the gastroenterological viewpoint. *J. Pediatr.* **83**, 7-20.
- Fuentes, A. V., Sánchez, M. I., Pérez, M. A., Baeza, M. L., and de Barrio, F. M. (2005) Allergy to mammal's meat in adult life: immunologic and follow-up study. *Investig Allergol Clin Immunol.* **15**, 228-231.
- Gall, H., Kalveram, K. J., Forck G., and Sterry, W. (2000) Kiwi fruit allergy : a new birch pollen-associated food allergy. *Allergy Clin. Immunol.* **106**, 379-385.
- Guenard-Bilbault, L. and Kanny, G. (1999) Moneret-Vautrin D. Food allergy to wheat flour in adults. *Allerg. Immunol.* **31**, 22-25.
- Han, G. D., Masatomo, M., Giichi, I., Yoshigide, I., and Atsushi, S. (2000a) Investigation for prevalence of food, especially meat allergy. *Med. Biol.* **141**, 31-36.
- Han, G. D., Masatomo, M., Giichi, I., Yoshigide, I., and Atsushi, S. (2000b) Meat Allergy : Investigation of Potential Allergenic Proteins in Beef. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **64**, 1887-1895.
- Han, J. S., Hong, S. O., Kim, J. S., Han, J. P., and Kim, N. S. (1997) Frequency of food allergy in Korea and the causative food allergens. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **26**, 1-9.
- James, D. A. and Robert, D. H. (1996) Cloning and expression pattern of Hor v 9, the group 9 pollen isoallergen from barley. *Gene* **182**, 53-62.
- Kanny, G., de Hauteclouque, C., Moneret-Vautrin, D. A. (1998) Food anaphylaxis to bovine serum albumin. *J Allergy Clin Immunol.* **101**, 137-139.
- Kilburn, S. A., Pollard, C., Bevin, S., Warner, J. O., and Dean, T. (1998) Allergens in mother's milk : Tolerisation or sensitization. *Nutr. Res.* **18**, 1351-1361.
- Kim, C. D., Lee, W. K., No, K. O., Park, S. K., Lee, H., Lim, S. R., and Roh, S. S. (2003) Anti-allergic action of buckwheat(*Fagopyrum esculentum* Moench) grain extract. *Int. Immunopharmacol.* **3**, 129-136.
- Laemmli, U. K. (1970) Cleavage of structural proteins dur-

- ing the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* **15**, 680-685.
22. Latser, R., Polo, F., Delahoz, F., and Guillaumet, B. (1998) Alimentary allergy to pork. Crossreactivity among pork kidney and pork and lamb gut. *Clin. Exp. Allergy* **28**, 1021-1025.
 23. Liccardi, G., Szepfalusi, Z., Noschese, P., Nentwich, I., D'Amato, M., and D'Amato, G. (1997) Allergy to chicken meat without sensitization to egg proteins: A case report. *J. Allergy Clin. Immunol.* **100**, 577-579.
 24. Musmand, J. J., Daul, C. B., and Lehrer, S. B. (1993) Crustacea allergy. *Clin. Exp. Allergy* **23**, 722-732.
 25. Noma, T., Yoshizawa, I., Aoki, K., Sugawara, Y., Odajima, H., Kabasawa, Y., Matsui, T., Yata, J., Yamaguchi, K., and Mukoyama, T. (1998) Correlation between antigen-specific IL-2 response test and provocation test for egg allergy in atopic dermatitis. *Clin. Exp. Allergy* **28**, 1120-1130.
 26. O'Neil, C. E. and Lehrer, S. B. (1995) Seafood allergy and allergens : a review. *Food Technol.* **49**, 103-116.
 27. Ogle, K. A. and Bullock, J. D. (1980) Children with allergic rhinitis and/or bronchial asthma treated with elimination diet: a five-year follow-up. *Ann. Allergy* **44**, 273-278.
 28. Orhan, F. and Sekerel, B. E. (2003) Beef allergy: a review of 12 cases. *Allergy* **58**, 127-31.
 29. Quirce, S., Diez-Gomez, M. L., Eiras, P., Cuevas, M., Baz, G., and Losada, E. (1998) Inhalant allergy to egg yolk and egg white proteins. *Clin. Exp. Allergy* **28**, 478-485.
 30. Rossi, G. L., Corsico, A., and Moscato, G. (1994) Occupational asthma caused by milk proteins : report on a case. *J. Allergy Clin. Immunol.* **93**, 799-801.
 31. Smith, A. B., Bernstein, D. I., Aw, T. C., Gallagher, J. S., London, M., Kopp, S., and Carson, G. A. (1987) Occupational asthma from inhaled egg protein. *Am. J. Ind. Med.* **12**, 205-218.
 32. Suh, Y. J., Yoon, S. H., Shin, Y. S., Choi, J. H., Suh, C. H., Nham, D. H., Kim, Y. K., Min, K. U., and Park, H. S. (2003) Buckwheat allergy in adult: comparison of specific IgE between homemade ELISA, CAP system and identification of IgE-binding components. *Korean J. Asthma Allergy Clin. Immunol.* **23**, 474-482.
 33. Towbin, H., Staehelin, T., and Gordon, J. (1979) Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets : Procedure and some applications. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **76**, 4350-4354.
 34. Weber, K. and Osborn, M. (1969) The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.* **244**, 4406-4412.
 35. Werfel, S. J., Cooke, S. K., and Sampson, H. A. (1997) Clinical reactivity to beef in children allergic to cow's milk. *J. Allergy Clin. Immunol.* **99**, 293-300.
 36. 국민영양건강조사 (2005) 보건복지부.

(Received 2008.10.21/Revised 2009.1.24/
Accepted 2009.1.28)