

자작나무와 오리나무 화분의 주 알레르겐에 대한 immunoglobulin E 결합 성분의 규명

윤문경¹, 김미애¹, 진현정², 신유섭¹, 박해심^{1,3}

¹아주대학교 의과대학 알레르기내과학교실, ²영남대학교 의과대학 내과학교실, ³아주대학교 대학원 의생명과학과

Identification of immunoglobulin E binding components of two major tree pollens, birch and alder

Moon-Gyung Yoon¹, Mi-Ae Kim¹, Hyun-Jung Jin², Yoo-Seob Shin¹, Hae-Sim Park^{1,3}

¹Department of Allergy & Clinical Immunology, Ajou University School of Medicine, Suwon; ²Department of Internal Medicine, Yeungnam University College of Medicine, Daegu; ³Department of Biomedical Sciences, Ajou University Graduate School, Suwon, Korea

Purpose: Pollinosis is one of the major allergic diseases caused by airborne pollens. Alder and birch pollens are the major sensitizing tree pollens in this country. The immunoglobulin E (IgE) reactivity to each pollen allergen is known to be variable according to the region. We determined the major IgE binding components of these tree pollens in sera of adult patients with allergic rhinitis.

Methods: Allergic rhinitis patients, of whom specific IgE level to birch and/or alder pollens (> 10 kU/L by ImmunoCAP) were included. The protein bands of two pollen extracts were determined by sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis, and their IgE-binding components were identified by IgE immunoblot analysis. The binding specificity and cross-reactivity between two pollens were evaluated by IgE enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) inhibition test.

Results: Six IgE binding components were found in birch pollens in which two (14 kDa and 17 kDa) were major components. Two IgE binding components were found in alder pollens in which the 17 kDa was a major component. The IgE binding component to the major allergen component of 17 kDa was observed in 90.3% of the study subjects sensitive to alder pollens and 72.7% of them sensitive to birch pollens. The ELISA inhibition tests showed significant inhibitions with additions of birch/alder pollen extracts.

Conclusion: We identified two major IgE binding components (17 kDa and 14 kDa) from birch pollens and one component (17 kDa) from alder pollens. Significant cross reactivity was noted between these two pollens. (*Allergy Asthma Respir Dis* 2013;1:216-220)

Keywords: Alder, Birch, Allergens, Immunoblotting, Cross reactions

서 론

알레르기를 유발하는 원인 알레르겐 중 화분은 집먼지진드기 다음으로 중요한 흡입항원이며 화분과 연관되어 발생하는 알레르기 질환을 화분증(pollinosis)이라 부른다. 알레르기를 유발하는 수목 화분에는 나자식물(소나무과, 측백나무과)과 피자식물(자작나무과, 참나무과, 버드나무과, 느릅나무과) 화분이 주된 원인이며, 특히 피자식물에 속하는 자작나무(birch)와 오리나무(alder) 화분이 흔한 항원이다.^{1,2)} 이는 동서양에서 공통적으로 관찰되어, 북유럽,

미국, 북서아프리카, 동아시아와 오스트레일리아에서는 자작나무, 오리나무, 개암나무(hazel)와 참나무(oak) 화분이 알레르기 증상을 나타내는 중요한 요인 중 하나이며³⁾ 우리나라에서도 자작나무, 오리나무, 참나무 화분 등이 알레르기를 일으키는 주요 원인 수목 알레르겐으로 알려져 있다.⁴⁻⁶⁾

국내의 수목 화분 농도를 살펴보면 소나무, 참나무, 오리나무, 자작나무 등이 주를 이루는데 이들 중 약 70%는 소나무 화분이 차지하고 있다. 모든 지역에서 소나무 화분의 농도가 가장 높게 나타나고 있으나, 소나무 화분으로 인한 알레르기 유발 가능성은 다른 중

Correspondence to: Hae-Sim Park

Department of Allergy & Clinical Immunology, Ajou University Hospital, Ajou University School of Medicine, 164 World cup-ro, Yeongtong-gu, Suwon 443-380, Korea
Tel: +82-31-219-5196, Fax: +82-31-219-5154, E-mail: hspark@ajou.ac.kr

• This study was supported by the National Research Foundation (NRF) and a grant from the Korean government (MEST,2013-003341).

Received: June 13, 2013 Revised: July 3, 2013 Accepted: July 11, 2013

© 2013 The Korean Academy of Pediatric Allergy and Respiratory Disease
The Korean Academy of Asthma, Allergy and Clinical Immunology
This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>).

류의 화분에 비해 매우 낮다. 반면 자작나무와 같은 수목 화분 및 돼지풀 등과 같은 잡초 화분은 그 발생량은 적으나 알레르기를 유발할 가능성은 매우 높아 화분 알레르기 환자에게 특히 주의해야 할 식물로 보고된다.⁷⁾ 그러나 유럽에서는 인종에 따른 주요 수목 화분항원에 대한 immunoglobulin E (IgE) 결합 성분(binding component)의 양상 차이를 보고한 바가 있으나,⁸⁾ 국내에서는 알레르기 환자의 주요 수목 화분항원에 대한 IgE 결합 성분을 보고한 연구가 없었다. 따라서 본 연구는 우리나라 알레르기비염 환자를 대상으로 자작나무 화분과 오리나무 화분의 주 알레르겐에 대한 IgE 결합 성분을 규명하고, 오리나무와 자작나무 화분항원 사이의 교차 반응을 조사하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 재료

1) 연구 대상

2009년부터 2012년까지 아주대학교병원에 알레르기비염으로 내원한 환자들 중, ImmunoCAP (Phadia, Uppsala, Sweden)으로 측정된 자작나무 혹은 오리나무 화분항원에 대한 혈청 특이 IgE 값이 10 kU/L을 초과하는 환자들을 대상으로 자작나무군(33명)과 오리나무군(31명)을 선택하였다.

2) 화분항원 추출

자작나무 화분은 *Betula pendula* (Allergon, Engelholm, Sweden), 오리나무 화분은 *Alnus incana* (Allergon)를 사용하였다. Phosphate buffered saline (PBS)에 화분 1 g을 넣고 4°C에서 24시간 동안 항원을 추출한 후, sonicator를 사용하여 항원에 초음파를 30초씩 3번 반복하여 작용시켰다. 그 후, 추출액을 2,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 그 상층액을 모아 0.45 µm filter를 이용하여 분리하였다. 분리된 화분항원에서 Bradford assay로 단백질을 정량하고 sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)로 단백질을 확인한 후, 이 항원을 ELISA 억제시험(enzyme linked immunosorbent assay inhibition test)과 immunoblot에 이용하였다.

2. 방법

1) SDS-PAGE에 의한 화분항원의 확인

각각의 화분항원을 sample buffer (0.5 M Tris pH 6.8, glycerol, 10% SDS, 0.5% bromophenol blue, 2.5% β-mercaptoethanol)에 희석하고 5분간 100°C에서 가열하였다. 표지자와 각각의 화분항원을 4-20% Tris-glycine gel (Novex, Invitrogen, San Diego, CA, USA)에서 120 V, 2시간 동안 전기영동하여 화분항원 단백질을 분리하였다.

2) IgE Immunoblot에 의한 화분항원의 결합 IgE 성분 분석

각각의 화분항원을 40 µg/mL의 농도로 SDS-PAGE법으로 항원 단백질을 분리한 후, poly-vinyl difluoride membrane (PVDF membrane, Millipore Co., Bedford, MA, USA)에 250 mA로 2시간 전이시켰다. 단백질이 전이된 PVDF membrane을 4 mm 간격으로 절단한 다음 절단된 각각의 membrane에 비특이적 결합을 방지하기 위해서 20% skim milk-tris buffered saline-Tween20 (skim milk-TBST)를 이용하여 12시간 이상 4°C에서 작용시켰다. 환자와 대조군의 혈청을 2시간 동안 처리한 후, TBST로 4회 세척하고 biotinylated antihuman IgE 항체 (Vector Laboratories Inc., Burlingame, CA, USA)를 10% fetal bovine serum-phosphate buffered saline (FBS-PBS)를 이용하여 1:1,000 v/v로 희석하여 상온에서 1시간 작용시켰다. 이후 TBST로 3회 세척한 후 각각의 membrane에 1X AP color development buffer와 AP conjugate substrate kit (Bio-Rad laboratories Inc., Hercules, CA, USA)의 혼합액을 넣어 단백대가 나타날 때까지 반응시켰다.

3) ELISA 억제시험

5 µg/mL 농도의 화분항원을 96 well microplate (Corning Inc., Corning, NY, USA)에 각 well 당 100 µL씩 넣고 4°C에서 12시간 이상 반응시켰다. ImmunoCAP 측정 결과, 자작나무 화분항원과 오리나무 화분항원에 대해서 동시에 10 kU/L을 초과하는 환자의 혈청에 억제제로 자작나무 화분항원과 오리나무 화분항원을 각각 0, 1, 10, 100 µg/mL씩 가하여 4°C에서 12시간 이상 반응시켰다. 비특이적 결합을 방지하기 위해 10% FBS-PBS를 각 well당 200 µL씩 넣어 2시간 작용시켰다. 0.05% PBS-Tween20으로 3회 세척 후 각각의 화분항원을 반응시킨 환자 혈청을 well 당 50 µL씩 넣어 상온에서 2시간 반응시켰다. ELISA 방법으로 각각의 화분항원에 결합하는 IgE 흡광도를 측정하였다. 특이 IgE 항체 결합의 억제도(%)는 [(대조군의 흡광도-억제제가 포함된 sample의 흡광도)/대조군의 흡광도]에 100을 곱한 값으로 정하였다.

결 과

1. 연구대상자의 임상적 특성

연구 대상자는 모두 알레르기비염 환자로, 자작나무 혹은 오리나무 화분항원에 대한 혈청 특이 IgE 값이 10 KU/L 이상이였다. 자작나무군 33명과 오리나무군 31명의 임상적 특성은 Table 1과 같다. 자작나무군의 연령 분포는 25세에서 53세 사이, 남성 비율이 60.6%였으며 오리나무군의 연령 분포는 19세에서 43세 사이였고 남성이 74.2%를 차지하였다. 알레르기비염과 기관지 천식을 함께 가지고 있는 환자의 비율은 자작나무군이 63.6%, 오리나무군은 22.6%였다.

Table 1. Characteristics of the subjects

Characteristic	Alder (n=31)	Birch (n=33)
Age (yr)	31.3±12.1	39.1±14.3
Male sex	23 (74.2)	20 (60.6)
AR	31 (100)	33 (100)
AR combined with BA	7 (22.6)	21 (63.6)
Total IgE (IU/mL)*	203.8±3.4	301.9±2.5
ECP (µg/L)	33.1±44.8	24.6±19.1
Atopy†	26/26 (100)	28/28 (100)

Values are presented as mean±standard deviation or number (%).
AR, allergic rhinitis; BA, bronchial asthma; IgE, immunoglobulin E; ECP, eosinophil cationic protein.

*Total IgE levels are presented as geometric mean±geometric standard deviation.

†Atopy was defined for subjects who had more than one positive response to common inhalant allergens (i.e., tree mixture, grass mixture, mugwort, ragweed, cat fur, dog fur, *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, and *Alternaria*) on the skin prick test.

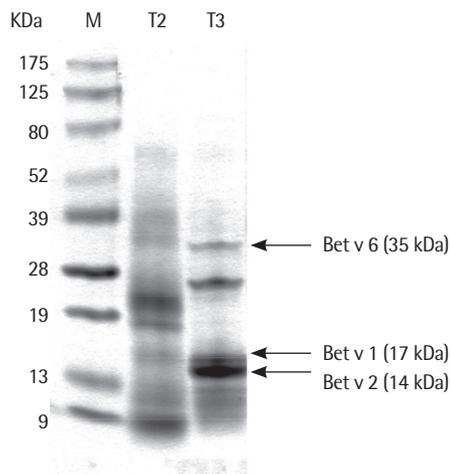


Fig. 1. Sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis finding of alder and birch pollen extracts. T2, alder; T3, birch.

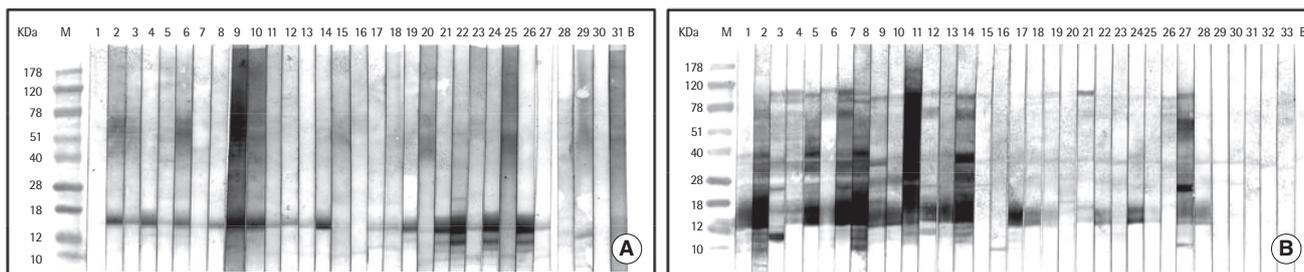


Fig. 2. Immunoglobulin E immunoblot analysis of alder (A) and birch (B) pollen extracts using sera from allergic rhinitis patients.

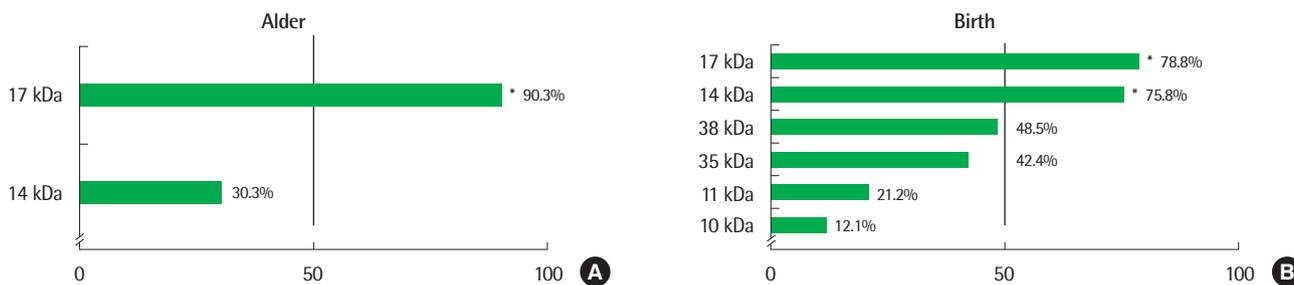


Fig. 3. Frequency of immunoglobulin E (IgE) binding components to alder (A) and birch (B) pollen extracts by immunoblot analysis. *Indicated IgE binding component found in more than 50% of patients.

2. SDS-PAGE법에 의한 화분항원의 확인

자작나무 화분항원의 단백질은 약 14 kDa, 17 kDa, 24 kDa, 35 kDa에서 단백질이 나타났으며, 이들은 각각 Bet v 2, Bet v 1, Bet v 3 와 Bet v 6로 알려져 있다. 오리나무 화분항원의 단백질은 9 kDa, 17 kDa, 18 kDa, 22 kDa에서 단백질이 나타났다(Fig. 1).

3. IgE Immunoblot에 의한 화분항원의 결합 IgE 분석

자작나무 화분항원 내에는 10 kDa, 11 kDa, 14 kDa, 17 kDa, 35 kDa, 38 kDa의 IgE 결합 단백대를 보였으며, 오리나무 화분항원 내

에는 17 kDa과 14 kDa의 IgE 결합 단백질이 관찰되었다(Fig. 2A, B). 이 단백질들 중 각각 50% 이상에서 IgE 결합 단백대를 나타내는 항원을 주 알레르겐(major allergen)으로 판정하였다. 자작나무군 33명 중 26명(78.8%)은 자작나무 화분항원에서 단백질 17 kDa에 IgE가 결합하였으며 25명(75.8%)은 14 kDa에 결합하였다(Fig. 3B). 오리나무군 31명 중 28명(90.3%)이 오리나무 화분항원에서 단백질 17 kDa에 IgE가 결합하였다(Fig. 3A).

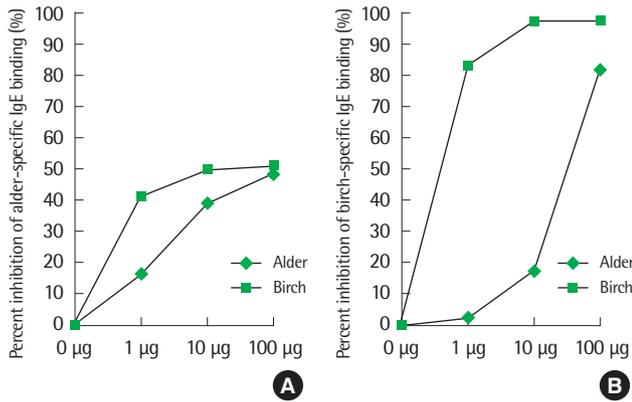


Fig. 4. Immunoglobulin E (IgE) enzyme linked immunosorbent assay inhibition results for alder (A) and birch (B) pollen extracts coated wells with serial addition of alder pollen extracts or birch pollen extracts from a patient who shows positive ImmunoCAP of alder and birch.

4. ELISA 억제시험에 의한 화분 결합 IgE 분석

자작나무와 오리나무 화분항원에 대한 ImmunoCAP 검사 결과가 모두 양성인 환자의 혈청을 대상으로 시행한 ELISA 억제시험 결과, 자작나무 화분항원에 결합한 IgE는 억제 농도 100 µg/mL에서 오리나무 화분항원에 의해 82%, 자작나무 화분항원에 의해 98% 억제되었으며, 오리나무 화분항원에 결합한 IgE는 억제 농도 100 µg/mL에서 오리나무 화분항원에 의해 48%, 자작나무 화분항원에 의해 51% 억제되었다(Fig. 4A, B). 억제제로 넣어준 화분항원의 농도가 1 µg/mL, 10 µg/mL, 100 µg/mL로 증가할수록 각각 최대 50% 이상의 유의한 억제 증가를 관찰하였다.

고 찰

자작나무와 오리나무는 참나무목이며 이들 화분은 높은 항원 단백질을 포함하며 유럽과 일부 아시아에서 계절성 화분알레르기를 유발하는 주요 원인항원 중의 하나이다. 국내 환자를 대상으로 시행된 수목 화분 연구는 대부분 피부단자시험을 통해 이루어졌으며, 주로 수목 화분 감작률 혹은 수목 화분과 음식항원과의 교차 반응성에 대한 연구였다.⁹ Kim 등¹⁰에 따르면, 부산지역 호흡기 알레르기환자에서 흡입 알레르겐 피부단자시험을 시행한 결과 수목 화분(tree pollen), 잡초 화분(weed pollen) 및 목초 화분(grass pollen)의 감작률은 각각 22.6%, 11.1%, 9.1%로 화분 알레르겐 중에 수목 화분의 감작률이 가장 높았다. 또한, 경기 남부지역에서 1999년, 2005년, 2008년 알레르기질환으로 피부단자시험을 시행한 환자들을 대상으로 10년간 화분 알레르겐 감작률의 변화를 조사한 결과, 시간이 경과함에 따라 전반적으로 감작률이 증가되는 양상이었다. 특히 오리나무 화분의 경우, 통계적으로 유의한 감작률의 증가를 확인하였다.⁹ 국외 보고에서도 수목 화분알레르기 환자의 대부분

이 자작나무와 오리나무에 주로 감작되어 있지만,¹¹ 유럽 6개국에서 자작나무 주 알레르겐에 대한 IgE 결합 성분의 빈도를 조사하였으며, 프랑스, 스웨덴, 오스트레일리아, 프랑스, 스위스, 이탈리아에서 각각 Bet v 1 (17 kDa) 성분에 대한 양성률은 100%, 98%, 90%, 65%, 62%였으며, Bet v 2 (14 kDa)에 대한 양성률은 각각 25%, 12%, 30%, 20%, 43%, 33%로 각 나라간 차이가 있었다. 이에 저자들은 국내 성인 알레르기비염 환자를 대상으로 수목 화분 중 가장 높은 감작률이 보고된 자작나무와 오리나무 화분의 주 알레르겐 성분 및 이들의 IgE 항체와의 결합 양상을 조사하였다.

수목 화분의 항원에 대한 혈청 특이 IgE immunoblot을 통해, 자작나무에서 17 kDa과 14 kDa가 환자들의 78.8%와 75.8%로 주 항원으로 나타나는 것을 확인하였으며 오리나무에서는 환자들의 90% 이상이 17 kDa에 IgE가 결합하는 것을 확인하였다. 이들 항원 중 각 화분중 환자군의 50% 이상에서 IgE 결합 단백대를 나타내는 항원을 주 알레르겐(major allergen)으로 간주하였을 때, 국내 알레르기비염 환자 중 자작나무 화분에 감작된 경우 17 kDa (Bet v 1)과 14 kDa (Bet v 2)에 IgE가 결합하는 부분이 주 알레르겐으로, 오리나무 화분에서는 17 kDa 성분이 주 알레르겐으로 생각한다.

자작나무 화분의 주 항원으로 Bet v 1 (17 kDa)과 Bet v 2 (14 kDa)이 잘 알려져 있으며, Bet v 1은 식물에서 파생된 음식과 참나무목에 속하는 다른 나무의 화분항원과 에피토프(epitope)를 공유하여 높은 교차반응을 나타내는 주요 항원이다.³ Pauli 등¹²은 피부단자 시험에 양성을 보이는 환자의 82%에서 Bet v 1과 결합하는 IgE 항체가 존재함을 보고하였고, Jarolim 등¹³은 자작나무 화분에 감작된 환자의 95% 이상에서 Bet v 1에 대한 IgE가 나타나며, 이들 중 60%의 환자에서는 Bet v 1에 대한 IgE 항체가 단독으로 검출된다고 보고하였다. 또한 Bet v 2는 수목 화분에 알레르기를 보이는 환자의 10-20%에서 양성으로 나타나며 식물 알레르겐과 중요한 교차반응을 나타낸다고 보고하였다.¹⁴⁻¹⁶ 하지만 저자들이 국내 환자를 대상으로 시행한 이번 연구에서는, Bet v 1 감작률은 78.8%로 Jarolim 등¹³과 비교해서 낮은 수치였으며 Bet v 1에만 단독 양성을 보이는 경우는 없었다. 이처럼 국내와 국외 결과 간 차이가 나는 이유는, 자작나무 화분의 성분과 이에 반응하는 환자들의 인종적 차이를 생각해 볼 수 있다. 먼저, 자작나무 화분의 차이에 대해 살펴보면, 자작나무는 그 종류가 30종이 넘으며 이들 중에서 유럽과 아시아에서 화분증을 일으키는 자작나무로는 주로 *B. pendula*와 *Betula platyphylla*로 알려져 있다. 국내에 널리 분포된 자작나무 종은 *B. platyphylla*이며,¹⁷ *B. pendula*와 *B. platyphylla*는 분류학적으로 매우 가까운 종으로 항원의 주 알레르겐은 Bet v 1으로 동일하다. 비록 저자들이 연구에서 사용한 자작나무 화분항원은 유럽에 주로 분포하는 *B. pendula*이지만, 최근에 알레르기와 관련해서 광범위하게 연구되고 있는 종이고 *B. platyphylla*와 주 알레르겐이 동일하기 때문에 자작나무 화분의 차이로 외국과 다른 패턴을 보이지

는 않을 것으로 생각된다. 따라서 본 연구에서 국내 환자들의 주 알레르겐 감작물과 패턴이 유럽에서 보고된 결과와 차이를 보이는 것은 인종 간의 차이가 있을 것으로 생각한다.

현재까지 오리나무 화분에 대한 국내의 연구는 보고된 바가 없으며, 오리나무 화분항원에 결합한 IgE 인 17kDa과 14kDa은 자작나무 화분의 주 항원과 동일한 성분의 항원일 가능성이 높을 것으로 생각된다. Park 등⁸⁾에 의해 다중 화분에 대한 피부반응 양성 환자들의 화분 간 교차반응이 보고된 바 있으나, 우리나라에서 알레르기를 일으키는 주요 수목 항원인 오리나무와 자작나무의 화분항원에 대한 교차반응은 연구된 바 없다. 따라서 본 연구에서는 화분항원에 대한 IgE 결합 부분 중 주 항원뿐만 아니라 모든 IgE 결합 부분을 양적으로 측정하는 ELISA 억제시험을 시행하였다. 그 결과, 자작나무 화분항원과 오리나무 화분항원을 억제제로 반응시켰을 때, 두 항원에서 모두 억제도가 50% 이상이고 억제제의 농도가 증가할수록 유의하게 억제도가 증가하였다. 이는 자작나무와 오리나무 화분항원 간의 교차 반응성이 존재함을 시사한다. 이는 오리나무 화분의 주 항원이 참나무목의 다른 나무들과 교차반응이 있으며, 특히 자작나무과에 속하는 자작나무나 개암나무 등과 강한 교차반응을 나타낸다는 보고와 일치한다.¹¹⁾ 이러한 결과는 Niederberger 등³⁾에 의해 보고된 Immunoblot 억제 시험의 결과인, 자작나무, 오리나무, 개암나무, 참나무 화분의 Bet v 1 및 Bet v 2에 결합하는 IgE 에피토프 공유로 설명할 수 있겠다. 저자들의 연구 결과에서는 자작나무와 오리나무 항원 사이의 교차반응은 50% 이상 나타나는 공통된 IgE 결합 항원인 17kDa에 의한 것으로 생각된다. 이렇게 공통된 결합 항원이 있으므로 분류학적으로 가까운 수목 화분 알레르기를 진단하는데 이용 가능하며, 알레르겐 면역요법을 위한 항원 선정 시 자작나무와 오리나무가 모두 양성이라면 자작나무를 선택하여 면역요법을 시행할 수 있는 근거를 제시하고 있다.¹⁹⁾

결론적으로, 국내 알레르기비염 환자의 자작나무 화분항원에 대한 주 IgE 결합 성분은 17 kDa (Bet v 1)과 14 kDa (Bet v 2)이며, 오리나무 화분항원은 17kDa으로 확인되었다. 자작나무 화분항원과 반응하는 IgE 결합 성분은 Bet v 1 단독으로 나타나는 경우는 없었으며 대부분 Bet v 2와 함께 나타났고, 오리나무와 자작나무 화분항원에 대한 알레르기를 진단하고 알레르겐 면역요법을 시행할 때 두 화분 간의 교차 반응성을 고려해야 한다.

REFERENCES

- Oh JW, Lee HB, Kang IJ, Kim SW, Park KS, Kook MH, et al. The revised edition of Korean calendar for allergenic pollens. *Allergy Asthma Immunol Res* 2012;4:5-11.
- The Angiosperm Phylogeny Group. An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Bot J Linn Soc* 2003;141:399-436.
- Niederberger V, Pauli G, Gronlund H, Froschl R, Rumpold H, Kraft D, et al. Recombinant birch pollen allergens (rBet v 1 and rBet v 2) contain most of the IgE epitopes present in birch, alder, hornbeam, hazel, and oak pollen: a quantitative IgE inhibition study with sera from different populations. *J Allergy Clin Immunol* 1998;102(4 Pt 1):579-91.
- Park HS, Chung DH, Joo YJ. Survey of airborne pollens in Seoul, Korea. *J Korean Med Sci* 1994;9:42-6.
- Lee JW, Choi GS, Kim JE, Jin HJ, Kim JH, Ye YM, et al. Changes in sensitization rates to pollen allergens in allergic patients in the Southern part of Gyeonggi province over the last 10 years. *Korean J Asthma Allergy Clin Immunol* 2011;31:33-40.
- Oh JW, Lee HB, Lee HR, Pyun BY, Ahn YM, Kim KE, et al. Aerobiological study of pollen and mold in Seoul, Korea. *Allergol Int* 1998;47:263-70.
- Oh JW. Development of pollen concentration prediction models. *J Korean Med Assoc* 2009;52:579-91.
- Movérare R, Westritschnig K, Svensson M, Hayek B, Bende M, Pauli G, et al. Different IgE reactivity profiles in birch pollen-sensitive patients from six European populations revealed by recombinant allergens: an imprint of local sensitization. *Int Arch Allergy Immunol* 2002;128:325-35.
- Ebner C, Hirschwehr R, Bauer L, Breiteneder H, Valenta R, Ebner H, et al. Identification of allergens in fruits and vegetables: IgE cross-reactivities with the important birch pollen allergens Bet v 1 and Bet v 2 (birch profilin). *J Allergy Clin Immunol* 1995;95(5 Pt 1):962-9.
- Kim KH, Kim KT, Lee SK, Park HS, Lee YM, Nahm DH, et al. Sensitization rates for inhalant allergens in patients with respiratory allergy in Busan. *Korean J Asthma Allergy Clin Immunol* 2005;25:59-63.
- Smith M, Emberlin J, Stach A, Czarnecka-Operacz M, Jenerowicz D, Silny W. Regional importance of Alnus pollen as an aeroallergen: a comparative study of Alnus pollen counts from Worcester (UK) and Poznań (Poland). *Ann Agric Environ Med* 2007;14:123-8.
- Pauli G, Oster JP, Deviller P, Heiss S, Bessot JC, Susani M, et al. Skin testing with recombinant allergens rBet v 1 and birch profilin, rBet v 2: diagnostic value for birch pollen and associated allergies. *J Allergy Clin Immunol* 1996;97:1100-9.
- Jarolim E, Rumpold H, Endler AT, Ebner H, Breitenbach M, Scheiner O, et al. IgE and IgG antibodies of patients with allergy to birch pollen as tools to define the allergen profile of *Betula verrucosa*. *Allergy* 1989;44:385-95.
- Valenta R, Duchene M, Pettenburger K, Sillaber C, Valent P, Bettelheim P, et al. Identification of profilin as a novel pollen allergen; IgE autoreactivity in sensitized individuals. *Science* 1991;253:557-60.
- Valenta R, Duchene M, Ebner C, Valent P, Sillaber C, Deviller P, et al. Profilins constitute a novel family of functional plant pan-allergens. *J Exp Med* 1992;175:377-85.
- van Ree R, Voitenko V, van Leeuwen WA, Aalberse RC. Profilin is a cross-reactive allergen in pollen and vegetable foods. *Int Arch Allergy Immunol* 1992;98:97-104.
- Huh JE, Baek YH, Kim YJ, Lee JD, Choi DY, Park DS. Protective effects of butanol fraction from *Betula platyphyla* var. *japonica* on cartilage alterations in a rabbit collagenase-induced osteoarthritis. *J Ethnopharmacol* 2009;123:515-21.
- Park JW, Hong CS, Yun YY, Ko SH. Cross-reactivity between pollens in patients sensitized to multiple pollens. *J Asthma Allergy Clin Immunol* 1999;19:584-93.
- Mothes N, Horak F, Valenta R. Transition from a botanical to a molecular classification in tree pollen allergy: implications for diagnosis and therapy. *Int Arch Allergy Immunol* 2004;135:357-73.