

# 荞麦种子过敏蛋白的研究进展

邓娇, 赵佳利, 张晓娜, 石桃雄, 梁成刚, 汪燕, 黄娟

(贵州师范大学 荞麦产业技术研究中心, 贵阳 550001)

**摘要:** 荞麦(*Fagopyrum esculentum* Moench)是一种药食两用的杂粮作物, 被认为是健康、富含营养的绿色食品。荞麦种子中的一些蛋白成分是常见的食物过敏原, 患者过敏严重时可危及生命。文章对荞麦过敏人群、致敏途径、过敏症状、过敏蛋白成分及其研究方法、过敏症的诊断和治疗等相关研究进展进行综述, 以期有助于荞麦过敏蛋白的进一步研究, 并为荞麦过敏症的临床诊断和治疗提供理论依据。

**关键词:** 荞麦; 过敏症状; 过敏蛋白; 诊断

**中图分类号:** R392.1

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-2478(2019)03-0253-04

荞麦(*Fagopyrum esculentum* Moench)属于蓼科(Polygonaceae)荞麦属(*Fagopyrum*)的一种双子叶杂粮作物, 因其种子呈三角形, 故又称三角麦。荞麦栽培起源于东亚的温带地区, 我国作为荞麦栽培主要的起源地, 至今已有 2000 年的历史<sup>[1]</sup>。目前, 荞麦有 4 个栽培品种: 甜荞、苦荞、米荞和翅荞, 其中前两种是主要的栽培品种<sup>[2]</sup>。甜荞在东、西方都有种植, 如中国、韩国、日本、尼泊尔、俄罗斯、意大利、加拿大和美国等国家, 而苦荞因其种子及其制品具有苦味而得名, 主要种植在中国甘肃、宁夏、西藏等地区<sup>[3-4]</sup>。研究表明, 荞麦种子中含有较高的黄酮类化合物, 具有调血脂、降血糖、抗氧化、抗炎、镇痛、预防心脑血管疾病等多种功效<sup>[5]</sup>。荞麦种子贮藏蛋白含量较高, 平均为 10%, 且蛋白质的氨基酸组分均衡, 含有 8 种人体必需氨基酸<sup>[1]</sup>。研究表明, 荞麦蛋白具有降低胆固醇、抑制胆结石、抗白血病和抗肿瘤等生理功效<sup>[4]</sup>。因此, 荞麦是一种药食同源的作物, 得到越来越多人的关注。在很多国家, 荞麦通常被用在饮食上。如在日本, 用荞麦制成面条、汤圆和小面包; 在一些国家, 荞麦还被掺在面糊里做成蛋糕和煎饼<sup>[3]</sup>; 在我

国的市场上也有一些以荞麦为原料加工的食品, 如荞麦馒头、荞麦饼、荞麦酥等, 此外还有荞麦保健品, 如苦荞茶、苦荞酒以及以荞麦壳为填充物的荞麦枕头。

荞麦虽然被称为一种流行的健康食品, 但有一部分人对它过敏。患者通过食用荞麦或使用荞麦产品, 如荞麦枕头, 或由于工作需要接触荞麦粉尘等引起过敏反应<sup>[2-3]</sup>。

## 1 过敏人群及概率

一些调查表明, 对荞麦过敏的患者大多数是儿童, 男性比女性更容易对荞麦产生过敏(男:女=1.64)<sup>[3]</sup>。研究者对食物过敏患者中的荞麦过敏者做了统计。意大利先后进行了 2 次调查: 2011 年, Heffler 等<sup>[6]</sup>发现在 72 例疑似荞麦过敏症患者中, 有 30 例被确诊对荞麦过敏; 2013 年, Badiu 等<sup>[7]</sup>做了一个涉及意大利 18 个过敏诊所包括 1 954 例过敏症患者的统计, 其中有 70 例被诊断出对荞麦过敏, 发病率为 3.6%。我国北京协和医院的一项调查显示, 在 192 例食物过敏的患者中, 有 7 例对荞麦过敏, 发病率也为 3.6%<sup>[8]</sup>。

一些国家对一般人群中荞麦过敏概率的统计大多选择在学校进行。1998 年日本的一项研究表明, 在 92 680 名学生中, 有 0.2% 的学生患有荞麦过敏症<sup>[9]</sup>; 2000 年韩国对 27 435 名小学生以及 14 777 名中学生进行了调查, 发现分别有 0.09% 的小学生和 0.13% 的中学生对荞麦过敏<sup>[10]</sup>。

## 2 荞麦过敏症的临床表现

荞麦过敏症以 I 型超敏反应为主要发病机制,

收稿日期: 2018-01-08

基金项目: 贵州省科技计划项目(黔科合 LH 字[2016]7205 号; 黔科合 LH 字[2017]7364 号; 黔科合 LH 字[2017]7359 号); 贵州师范大学资助博士科研项目(11904/0516026); 国家自然科学基金(31760053; 31660366; 31760419); 贵州省教育厅青年科技人才成长项目(黔教合 KY 字[2018]128; 黔教合 KY 字[2017]121)

作者简介: 邓娇(1986—), 女, 博士, 助理研究员, 主要从事植物生理及分子生物学研究

通信作者: 黄娟(E-mail: huang200669@163.com)

即它是由 IgE 介导的速发反应,当患者吸入、摄取或经皮肤接触了荞麦过敏原,血清中会产生针对该过敏原的特异性抗体(specific IgE, sIgE),继而引起呼吸系统、皮肤、消化系统以及循环系统等发生一系列过敏症状<sup>[2-3]</sup>。当过敏症发生在呼吸系统时,主要症状表现为打喷嚏、流鼻涕、鼻痒、气喘、哮喘、呼吸困难;当发生在皮肤时,会出现荨麻疹、水肿、皮肤充血等;当发生在消化系统时,会引起胃痛、恶心、呕吐;当发生在循环系统时,会出现头晕、昏厥、血压下降、过敏性休克,甚至死亡<sup>[2-3]</sup>。早期报道了一位 29 岁的女士,她在制作荞麦法式煎饼的店里工作,开始症状只是轻微的呼吸系统症状,如打喷嚏、流鼻涕、鼻痒等,4 年后,出现了呼吸困难、哮喘以及荨麻疹,再后来,她吃了少量的荞麦法式煎饼,消化系统也发生了过敏症状<sup>[3]</sup>。日本的一位 8 岁女孩在吃了荞麦面条后,马上于游泳池里快速游泳,结果在 30 min 内发生了过敏症,最后死亡,死后被证实为荞麦过敏症,这是一起由运动诱发的荞麦过敏原致死的事件<sup>[11]</sup>。这说明荞麦过敏症会随着接触过敏原时间的延长而加剧,有时需要立即实行紧急治疗,而严重的则可能致死。

### 3 荞麦过敏蛋白

荞麦种子蛋白是其主要的营养成分之一,同时也是导致过敏的主要过敏原。荞麦过敏蛋白通常与糖基结合形成糖蛋白,相对分子质量为 7 000~170 000,能耐受加工、加热和烹饪等过程,且不被人体消化道中的酶分解<sup>[2, 12]</sup>,如早期报道的荞麦过敏原 BWI-1a 和 BWI-2b 是胰蛋白酶抑制剂<sup>[13]</sup>;相对分子质量为 16 000 和 24 000 的荞麦蛋白对胃液和糜蛋白酶具有抗性,这可能也是这些蛋白致敏的部分因素<sup>[14]</sup>。目前,研究荞麦过敏蛋白的方法主要有 SDS-PAGE、IgE 检测、Western blotting、ELISA、N 末端氨基酸测序、分子克隆、大肠埃希菌克隆表达、拟南芥转化分析等。大多数的荞麦过敏蛋白以相对分子质量大小命名。

Nair 等<sup>[12]</sup>先提取甜荞种子中的水溶蛋白,然后通过 SDS-PAGE 和 Western blotting 得到了 4 种与荞麦过敏症患者血清 sIgE 结合的过敏蛋白,相对分子质量分别为 22 000、36 000、39 000~40 000 和 70 000~72 000,其中 22 000 蛋白的免疫活性最高,因此 22 000 蛋白被认为是甜荞主要的过敏蛋白,随后对其进行了 N 末端氨基酸测序和 RT-PCR

分析。张胜正等<sup>[15]</sup>通过 SDS-PAGE 和 Western blotting 对荞麦面的过敏原组分进行分析,得到 13 条能与患者血清 sIgE 相结合的蛋白条带,相对分子质量分别为 110 000、95 000、60 000、50 000、43 500、37 100、34 200、32 700、26 600、24 000、16 300、9 000 和 7 500,其中 95 000、50 000、43 500、37 100、34 200、24 000 和 9 000 这 7 个蛋白为荞麦的主要致敏成分。冼静雯等<sup>[16]</sup>先通过 SDS-PAGE 分析荞麦总蛋白组分,然后利用荞麦过敏症患者 IgE,通过 Western blotting 鉴定到 5 种过敏原(55 000、36 000、32 000、29 000 和 22 000),并指出 22 000 的过敏原特异性最强,初步鉴定其为荞麦的主要过敏蛋白。Cho 等<sup>[17]</sup>通过 Western blotting 鉴定出 40 000、45 000 和 48 000 荞麦蛋白是引起韩国儿童中度和重度临床过敏症状的致敏蛋白。周艳君等<sup>[18]</sup>收集了 26 例荞麦过敏症患者,利用 Western blotting 识别了 15 种荞麦致敏蛋白(10 000、13 000、14 000、16 000、18 000~19 000、22 000~24 000、34 000、36 000、38 000、40 000~45 000、54 000、56 000、69 000~70 000、100 000~130 000 和 130 000~170 000),并推测其中显示高阳性率的 18 000~19 000、22 000~24 000、36 000、40 000~45 000 和 69 000~70 000 可能为荞麦的主要致敏蛋白。

此外,荞麦过敏原成分还有其他的命名方法,如在甜荞中发现的 Fag e 1,它是一个 13 S 球蛋白;Fag e 2,为 2 S 球蛋白;Fag e 3,为 7 S 球蛋白,是豆球蛋白的一部分;Fag e 10 000,为 2 S 清蛋白;Fag e TI-2c,为胰蛋白酶抑制剂<sup>[19]</sup>。在苦荞中发现的有:Fag t 2,它是一种相对分子质量为 16 000 的蛋白<sup>[20]</sup>;Fag t 3,又称为 TBt,是一种种子贮藏蛋白,属于 cupin 超家族,并且与豆类 11 S 贮藏蛋白的相似度较高<sup>[21-22]</sup>。此外,在苦荞中还鉴定到了过敏蛋白 TBa(24 000)和 TBb,它们是一种 TBt(56 000)的过敏蛋白的水解产物,但与 IgE 的结合能力要高于 TBt,研究者推测可能由于大分子的 TBt 水解成小片段后暴露出分子内部更多的抗原表位,所以使免疫活性增强了<sup>[21]</sup>。

### 4 荞麦过敏症的诊断和应对方法

荞麦作为一种功能食品,越来越广泛地被人们利用。同时荞麦过敏是最常见的食物过敏之一,其致病后果比较严重,甚至会威胁生命,它已成为

21世纪消费荞麦国家的一个潜在问题<sup>[23]</sup>。因此,对荞麦过敏症的诊断以及应对尤其重要。

荞麦过敏症通常采用皮肤测试、划痕试验、鼻腔试验、皮肤点刺试验、吸入激发试验、饮食测试、测定外周血嗜酸性粒细胞、血清组胺释放试验、血清sIgE检测和Western blotting特异结合等方法进行诊断<sup>[3]</sup>。目前诊断用得最多的方法是用ImmunoCAP法进行血清sIgE检测,它是公认、可靠的过敏原检测方法<sup>[24]</sup>。

检测食物中是否有荞麦成分能避免患者发生过敏。张新瑀等<sup>[25]</sup>以双抗夹心ELISA有效和灵敏地检测出食品中的荞麦过敏原。此方法也被用于人内皮唾液酸蛋白的检测<sup>[26]</sup>。Hideshima等<sup>[27]</sup>提出了一种基于场效应晶体管的生物传感器,通过电化学信号放大检测食品中荞麦过敏蛋白的方法。

汤蕊等<sup>[2]</sup>指出荞麦枕头是导致中国人荞麦过敏的一个重要产品,而避免接触是治疗的最佳方式。研究表明,荞麦过敏蛋白主要存在于籽粒外部,可以采用逐级加工的方法生产出低过敏蛋白含量的荞麦面;还有学者提出通过发芽或者利用酵母、真菌进行发酵的方法可以降解种子中的过敏蛋白,从而提高荞麦蛋白的可消化率<sup>[28-29]</sup>。再者,基于过敏原结构利用蛋白质组二硫键分析技术并结合蛋白质消化试验,可以筛选鉴定过敏原基因,再通过分子技术培育出低过敏原的荞麦品种<sup>[28, 30]</sup>,从而使过敏症患者也能安全、放心地食用荞麦产品。

## 5 结论

随着荞麦受欢迎的程度越来越高,荞麦过敏症患者也越来越多,荞麦过敏症日益受到重视。荞麦主要通过吸入、皮肤接触和摄取等途径引起患者呼吸道、皮肤、消化系统以及循环系统发生过敏症状,严重时可致死。在患者中,儿童的发病率较高。目前发现的主要荞麦过敏蛋白包括相对分子质量为9 000、16 000、19 000、22 000、24 000、36 000、40 000、45 000、48 000、50 000和95 000等蛋白。sIgE检测方法是诊断荞麦过敏症的常用且有效的方法,避免接触和培育低过敏原的荞麦品种是目前主要应对荞麦过敏的方法。本文概述以上内容有助于促进荞麦过敏症和荞麦过敏蛋白的进一步研究,也为更好地治疗荞麦过敏症奠定基础,从而保护过敏症患者的健康。

## 参考文献

[1] 孟子焯. 我国古代历史文化中荞麦的相关记载[J]. 南方农

业, 2017, 11(23): 61-62.

- [2] 汤蕊, 陈适, 孙劲旅. 荞麦过敏症临床特征及致敏蛋白[J]. 中华临床免疫和变态反应杂志, 2016, 10(2): 150-153.
- [3] Wieslander G. Review on buckwheat allergy[J]. Allergy, 1996, 51(10): 661-665.
- [4] 陈庆富. 荞麦属植物科学[M]. 北京: 科学出版社, 2012: 6-9.
- [5] 聂薇, 李再贵. 苦荞麦营养成分和保健功能[J]. 粮油食品科技, 2016, (1): 40-45.
- [6] Heffler E, Nebiolo F, Asero R, *et al.* Clinical manifestations, co-sensitizations, and immunoblotting profiles of buckwheat-allergic patients[J]. Allergy, 2011, 66(2): 264-270.
- [7] Badiu I, Olivieri E, Montagni M, *et al.* Italian study on buckwheat allergy: Prevalence and clinical features of buckwheat-sensitized patients in Italy[J]. Int J Immunopathol Pharmacol, 2013, 26(3): 801-806.
- [8] Rui T, Hongyu Z, Ruiqi W. Seven Chinese patients with buckwheat allergy[J]. Am J Med Sci, 2010, 339(1): 22-24.
- [9] Takahashi Y, Ichikawa S, Aihara Y, *et al.* Buckwheat allergy in 90,000 school children in Yokohama[J]. Arerugi, 1998, 47(1): 26-33.
- [10] Oh JW, Pyun BY, Choung JT, *et al.* Epidemiological change of atopic dermatitis and food allergy in school-aged children in Korea between 1995 and 2000[J]. J Korean Med Sci, 2004, 19(5): 716-723.
- [11] Noma T, Yoshizawa I, Ogawa N, *et al.* Fatal buckwheat dependent exercised induced anaphylaxis[J]. Asian Pac J Allergy Immunol, 2001, 19(4): 283.
- [12] Nair A, Adachi T. Immunodetection and characterization of allergenic proteins in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) [J]. Plant Biotechnol J, 1999, 16(3): 219-224.
- [13] Park SS, Abe K, Kimura M, *et al.* Primary structure and allergenic activity of trypsin inhibitors from the seeds of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) [J]. FEBS Lett, 1997, 400(1): 103-107.
- [14] Lee S, Han Y, Do JR, *et al.* Allergenic potential and enzymatic resistance of buckwheat[J]. Nutr Res Pract, 2013, 7(1): 3-8.
- [15] 张胜正, 尹佳, 李宏, 等. 荞麦过敏原致敏组分的分析[C]//中华医学会、中华医学会变态反应学分会. 中华医学会第二次全国变态反应学术会议论文汇编. 北京: 中华医学会, 2004: 2.
- [16] 洗静雯, 吴海强, 简晓莉, 等. 小麦和荞麦过敏原的分离与免疫学特性初步鉴定[J]. 麦类作物学报, 2008, 28(5): 799-803.
- [17] Cho J, Lee JO, Choi J, *et al.* Significance of 40-, 45-, and 48-kDa proteins in the moderate-to-severe clinical symptoms of buckwheat allergy[J]. Allergy Asthma Immunol Res, 2015, 7(1): 37-43.
- [18] 周艳君, 汤蕊, 魏继福, 等. 荞麦过敏原致敏蛋白组分研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, (4): 1167-1170.
- [19] Heffler E, Pizzimenti S, Badiu I, *et al.* Buckwheat allergy:

- An emerging clinical problem in Europe[J]. *J Allergy Ther*, 2014, 5(2): 1000168.
- [20] Zheng B, Zhang H, Wang L, *et al*. Characterization of 16-kDa major allergen with  $\alpha$ -amylase inhibitor domain in tartary buckwheat seeds[J]. *Mol Immunol*, 2018, 94: 121-130.
- [21] Zhang X, Yuan JM, Cui XD, *et al*. Molecular cloning, recombinant expression, and immunological characterization of a novel allergen from tartary buckwheat[J]. *J Agric Food Chem*, 2008, 56(22): 10947-10953.
- [22] Yang ZH, Li C, Li YY, *et al*. Effects of Maillard reaction on allergenicity of buckwheat allergen Fag t 3 during thermal processing[J]. *J Sci Food Agric*, 2013, 93(6): 1510-1515.
- [23] Zhou X, Wen L, Li Z, *et al*. Advance on the benefits of bioactive peptides from buckwheat[J]. *Phytochem Rev*, 2015, 14(3): 381-388.
- [24] Tohgi K, Kohno K, Takahashi H, *et al*. Usability of Fag e 2 ImmunoCAP in the diagnosis of buckwheat allergy[J]. *Arch Dermatol Res*, 2011, 303(9): 635-642.
- [25] 张新瑀, 崔晓东, 杨欢, 等. 双抗夹心酶联免疫吸附法检测荞麦过敏蛋白[J]. *食品工业科技*, 2015, 36(8): 53-56.
- [26] 邓桂花, 张雯佳, 梁少聪, 等. 人内皮唾液酸蛋白改良双抗夹心 ELISA 检测方法的建立[J]. *现代免疫学*, 2017, 37(2): 127-132.
- [27] Hideshima S, Fujita K, Harada Y, *et al*. Signal amplification in electrochemical detection of buckwheat allergenic protein using field effect transistor biosensor by introduction of anionic surfactant[J]. *Sens (Biosens) Res*, 2016, 7: 90-94.
- [28] 阮景军, 陈惠, 吴琦, 等. 荞麦中的蛋白质[J]. *生命的化学*, 2008, 28(1): 111-113.
- [29] Handoyo T, Maeda T, Urisu A, *et al*. Hypoallergenic buckwheat flour preparation by *Rhizopus oligosporus* and its application to soba noodle[J]. *Food Res Int*, 2006, 39(5): 598-605.
- [30] Nair A, Adachi T. Screening and selection of hypoallergenic buckwheat species[J]. *Scientific World Journal*, 2002, 2: 818-826.

---

(上接第 252 页)

- [17] Granier C, Soumelis V, Mandavit M, *et al*. The “immune checkpoints”, how does it work[J]. *Ann Pathol*, 2017, 37(1): 18-28.
- [18] Le DT, Lutz E, Uram JN, *et al*. Evaluation of ipilimumab in combination with allogeneic pancreatic tumor cells transfected with a GM-CSF gene in previously treated pancreatic cancer[J]. *J Immunother*, 2013, 36(7): 382-389.
- [19] Soares KC, Rucki AA, Wu AA, *et al*. PD-1/PD-L1 blockade together with vaccine therapy facilitates effector T-cell infiltration into pancreatic tumors[J]. *J Immunother*, 2015, 38(1): 1-11.
- [20] Irvine DJ, Hanson MC, Rakhra K, *et al*. Synthetic nanoparticles for vaccines and immunotherapy[J]. *Chem Rev*, 2015, 115(19): 11109-11146.
- [21] Ahmed KK, Geary SM, Salem AK. Surface engineering tumor cells with adjuvant-loaded particles for use as cancer vaccines[J]. *J Control Release*, 2017, 248: 1-9.
- [22] Li C, Liang S, Zhang C, *et al*. Allogeneic dendritic cell and tumor cell fused vaccine for targeted imaging and enhanced immunotherapeutic efficacy of gastric cancer[J]. *Biomaterials*, 2015, 54: 177-187.
- [23] Liu SY, Wei W, Yue H, *et al*. Nanoparticles-based multi-adjuvant whole cell tumor vaccine for cancer immunotherapy[J]. *Biomaterials*, 2013, 34(33): 8291-8300.
- [24] Srivatsan S, Patel JM, Bozeman EN, *et al*. Allogeneic tumor cell vaccines: The promise and limitations in clinical trials[J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2014, 10(1): 52-63.
- [25] Dawood S, Austin L, Cristofanilli M. Cancer stem cells: Implications for cancer therapy[J]. *Oncology (Williston Park)*, 2014, 28(12): 1101-1107; 1110.