



糖蛋白过敏原 N-糖链与过敏的相关性研究*

张瑜芯¹⁾ 刘瑞杰¹⁾ 张绍兴¹⁾ 袁舒颖²⁾ 陈妍雯³⁾ 叶以琳¹⁾ 林谦阁¹⁾ 芦鑫荣⁴⁾
童永亮⁴⁾ 陈力^{4)**} 孙桂芹^{1)**}

¹⁾ 浙江中医药大学医学技术与信息工程学院, 杭州 310053; ²⁾ 嘉兴妇幼保健院检验科, 嘉兴 314009;

³⁾ 上海交通大学医学院附属仁济医院宁波医院, 宁波市杭州湾医院, 中心实验室, 宁波 315336;

⁴⁾ 复旦大学基础医学院病原生物学系, 医学分子病毒学教育部/卫生健康委员会重点实验室, 上海 200032)

摘要 糖蛋白是一种含有寡糖链的蛋白质, 糖链与蛋白质之间以共价键相连。N-糖蛋白为常见过敏原之一, 主要来源于食物、吸入物、昆虫毒素等, 能够引起过敏反应。N-糖蛋白过敏原的N-糖链结构影响过敏原与IgE的结合, 影响抗原提呈细胞(APC)对过敏原的识别和提呈。本文在介绍与过敏相关的N-糖蛋白、常见N-糖蛋白过敏原的N-糖链结构及与过敏相关的糖基化酶的基础上, 进一步分析过敏原N-糖链影响过敏的机制, 为临床预防与治疗过敏性疾病提供新的思路。

关键词 过敏反应, N-糖基化, N-糖链结构, 糖基化相关酶, 过敏机制

中图分类号 R392.8, Q53

DOI: 10.16476/j.pibb.2023.0292

过敏反应是指机体再次受到相同抗原刺激时出现组织损伤或功能紊乱的异常免疫反应, 最常见的是IgE介导的过敏反应^[1-3]。过敏反应造成的临床症状包括吸入性过敏引起的鼻炎、慢性咳嗽、气喘、呼吸困难等呼吸系统症状, 食入性过敏导致的呕吐、腹痛、腹泻、便秘等消化系统症状, 叮咬、接触引起的过敏性皮炎、过敏性湿疹、荨麻疹等皮肤症状, 甚至可能出现过敏性休克^[4-5]。

引发过敏反应的因素有很多, 包括食物^[6]、吸入物(如花粉^[7]等)、微生物(如霉菌^[8]等)、昆虫毒素^[9]、药物^[10](如青霉素、磺胺等)、异种血清和物理因素等。比如, 食物过敏是一种常见的过敏原因, 与食物中的蛋白质及其糖基化密切相关。引起过敏反应的物质称为过敏原, 而大部分食物过敏的过敏原是糖蛋白, 包括N-糖蛋白和O-糖蛋白过敏原, 研究较多的为N-糖蛋白, 如鸡蛋中的卵黏蛋白^[11]为O-糖蛋白; 花生中的花生过敏蛋白1(*Arachis hypogaea* 1, Ara h1)^[12]、大豆中的β伴大豆球蛋白^[13]等为N-糖蛋白。目前, 糖蛋白引起的过敏反应以IgE介导的I型超敏反应为主, 其引发过敏反应的机制尚待进一步研究。因此, 有必要阐明N-糖蛋白糖链在过敏过程中的作用及机制, 从而为过敏性疾病的药物靶点研究提供思路, 为过

敏的预防及治疗提供依据。

1 蛋白质糖基化与过敏反应

蛋白质糖基化是通过糖基转移酶催化将糖类转移到蛋白质, 使糖类与蛋白质上的氨基酸残基形成糖苷键的过程^[14]。陈念航^[15]研究发现, 不同物种的蛋白质糖基化程度存在差异, 其中最高的是植物(25.0%), 其余依次为细菌(20.8%)、动物(8.4%)、真菌(4.5%)。目前常见的蛋白质糖基化有N-糖基化和O-糖基化。N-糖基化(N-glycosylation)是N-乙酰葡萄糖胺与蛋白质上天冬酰胺残基的—NH₂在内质网进行连接, 作为一种重要的翻译后修饰途径, 参与基因转录与翻译、调节细胞周期、参与信号转导、维持蛋白质正常功能等生理过程^[16-17]; O-糖基化(O-glycosylation)是半乳糖或N-乙酰半乳糖胺与蛋白质上丝氨酸、苏氨酸和羟脯氨酸的—OH在高尔基体进行连接, 对细胞和组织的正

* 浙江中医药大学-先思达生物科技有限公司合作项目(2023-HT-275)和浙江省马丽俐名老中医专家传承工作室(GZS2021019)资助。

** 通讯联系人。

孙桂芹 Tel: 13868116801, E-mail: sunguiqin2001@163.com

陈力 Tel: 15821138980, E-mail: lichen_bk@fudan.edu.cn

收稿日期: 2023-07-26, 接受日期: 2023-11-02

常发育、生长和分化的多种生物活动中的功能至关重要^[16, 18]。

有研究认为,植物和低等动物的N-糖蛋白含有的 β -1,2-木糖和 α -1,3-岩藻糖是导致过敏反应的可能原因^[19]。蛋白质糖基化与过敏反应有一定关系,其中,对N-糖蛋白与过敏的研究较多。

1.1 食物糖蛋白与过敏

过敏性疾病90%左右由食物引发,常见的食物过敏原如花生中的Ara h1蛋白^[12]、大豆中的 β 伴大豆球蛋白^[13]等均为N-糖蛋白。Yang等^[20]研究报道,利用肽N-糖苷酶F或肽N-糖蛋白去糖基化酶F(peptide:N-glycanase F, PNGase F;其水解N-糖蛋白或N-糖肽,释放完整N-寡糖)去糖基化可降低大豆7S球蛋白与IgE的结合能力,即通过酶法去糖基化可减少大豆7S球蛋白潜在的致敏性。Md等^[21]发现,通过PNGase F对花生主要过敏原Ara h1蛋白去N-糖基化,1名花生过敏患者血清IgE与Ara h1的结合降低,彭艺芳^[22]分析了花生主要的过敏糖蛋白Ara h1的N-糖链结构,认为 β -1,2-木糖和 α -1,3-岩藻糖可能是Ara h1引起过敏反应的主要原因,上述研究提示,Ara h1上N-糖链与过敏相关。

1.2 药物糖蛋白与过敏

药物性过敏是因用药(包括口服、注射及局部外用)引起的过敏反应,是导致成年人发生过敏反应死亡的常见病因之一^[23]。某些药物引起的过敏反应也与糖蛋白有关,如激素绒毛膜促性腺激素是一种糖蛋白激素,有研究报道,其肌肉注射治疗时会引起头晕、胸闷、气促等一系列过敏反应,甚至出现严重的过敏性休克反应^[24-25]。

1.3 接触糖蛋白与过敏

昆虫叮咬或毒汁刺激皮肤后,可能出现局部或全身性过敏反应,常见有蜜蜂、黄蜂等^[26]。蜜蜂毒液中的许多蛋白质和多肽是过敏原,能够引起严重的过敏反应,其中磷脂酶A2(phospholipase A2, PLA₂,又称Api m1)是含有 α -1,3-核心岩藻糖的N-糖蛋白^[27],去除PLA₂上 α -1,3-核心岩藻糖能够降低其与IgE的结合能力^[28]。

1.4 吸入糖蛋白与过敏

尘螨、花粉、蟑螂、动物皮屑、霉菌等过敏原通过吸入进入机体,造成呼吸道的过敏反应^[29]。来自猫唾液、皮屑的分泌珠蛋白猫过敏蛋白1(*Felis domestica*, Fel d1)是一种糖蛋白,具有两个N-糖基化位点,Fel d1蛋白引起的过敏占猫过敏

的96%^[30-31]。尘螨中含有30多种蛋白质及大分子成分可以诱导机体过敏,其中第1(包括屋尘螨过敏蛋白1(*Dermatophagoides pteronyssinus* 1, Der p1)和粉尘螨过敏蛋白1(*Dermatophagoides farina* 1, Der f1)、2组分是与IgE结合的主要过敏原,而Der p1和Der f1的氨基酸序列均包含来自53~55残基的N-糖基化位点^[32]。桦树花粉的主要过敏原Bet v1包含N-糖基化(N-S-Y)的单一共识位点,其糖基化发生在花粉分泌过程^[33]。此类吸入性过敏原中也含有糖蛋白成分。

2 糖蛋白过敏原的N-糖链结构与过敏反应

N-糖蛋白过敏原上的N-糖链与过敏反应的发生相关,某些N-糖链结构可能作为IgE特异性结合的位点,特别是 β -1,2-木糖和核心 α -1,3-岩藻糖^[34]。

2.1 糖蛋白过敏原的N-糖链结构

多项研究表明,糖蛋白过敏原糖链主要为N-糖链,也存在O-糖链等糖链结构,部分过敏原N-糖链结构见表1。

植物糖蛋白过敏原N-糖链上普遍存在含有 β -1,2-木糖和核心 α -1,3-岩藻糖结构的N-糖链,如大豆贮藏蛋白Gly m Bd 30k^[35]、花生种子蛋白Ara h1^[22]、银杏种仁蛋白Ginnacin^[36]等糖蛋白过敏原均含上述两种糖链结构。昆虫来源糖蛋白过敏原N-糖链中存在核心 α -1,3-岩藻糖和核心 α -1,6-岩藻糖结构,有研究表明,这些糖链结构与蜂毒磷脂酶A2引起的过敏相关^[37]。在植物、昆虫中普遍存在的糖链结构,解释了部分患者的过敏反应不是针对同一种植物或昆虫,而是对一系列的植物或昆虫过敏,这种现象称为交叉反应,而引起交叉反应的物质称为交叉反应糖链决定簇(cross-reactive carbohydrate determinant, CCD)。有研究显示,糖蛋白上的糖链CCD与机体内IgE之间发生的特异性结合是引起过敏反应的主要原因^[38-39],其中 α -1,3-核心岩藻糖和邻近的N-乙酰氨基葡萄糖残基通常是岩藻糖依赖的抗CCD抗体表位的关键部分,即 α -1,3-核心岩藻糖决定了反应的特异性及与抗体结合的亲和力^[40]。

此外,N-糖链结构Lewis抗原也与过敏反应有关。Lewis-x(Le^x)三糖(β -D-Gal-(1,4)-[α -L-Fuc(1,3)]- β -D-GlcNAc-OH)由II型糖链(LacNAc, Gal β 1,4GlcNAc)经 α -1,3-岩藻糖基化等酶促合成步骤得到^[41]。与糖蛋白上 β -1,2-木糖和核心 α -1,3-岩藻糖类似的寡糖结构——Le^x三糖与致敏诱导的Th2反应

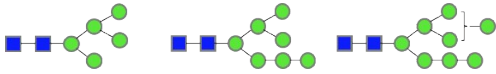







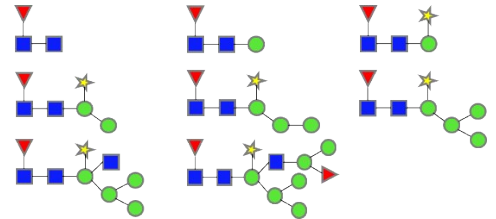
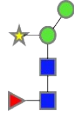
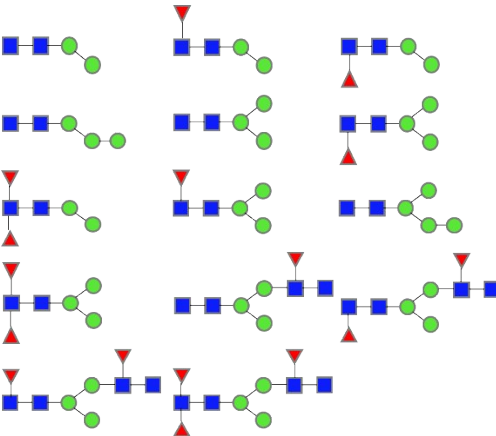
有关^[42]。Hsu 等^[42]发现, 与牛血清白蛋白 (BSA) 致敏的小鼠相比, Le^x 和 BSA 偶联 (Le^x-BSA) 致敏可诱导小鼠产生更高水平的特异性 IgE

和 IgG1。

不同来源的 N-糖蛋白过敏原, 其 N-糖链结构存在差异。而此类特殊的糖链结构可能是糖蛋白过

Table 1 Glycan chain structures of common glycoprotein allergens

表1 常见糖蛋白过敏原的N-糖链结构

来源	主要致敏蛋白	糖链核心结构	参考文献
大豆 (<i>Glycine max</i>)	β 伴大豆球蛋白 (β -conglycinin)		[35]
	大豆28K过敏蛋白 (Gly m Bd 28k)		
	大豆30K过敏蛋白 (Gly m Bd 30k)		
花生 (<i>Arachis hypogaea</i>)	花生过敏蛋白1 (<i>Arachis hypogaea</i> 1, Ara h1)		[22]
			
			
			
银杏 (<i>Ginkgo biloba</i>)	银杏种仁贮藏蛋白质 (Ginnacin)		[36]
猕猴桃 (<i>Actinidia deliciosa</i>)	猕猴桃过敏蛋白2 (<i>Actinidia deliciosa</i> 2, Act d2)		[43]
菠萝 (<i>Ananas comosus</i>)	菠萝蛋白酶 (bromelain)		[44]
蜜蜂 (<i>Apoidea</i>)	磷脂酶A2 (phospholipase A2, PLA ₂)		[37]

蓝色正方形代表N-乙酰葡萄糖胺, 绿色圆圈代表甘露糖, 红色三角形代表岩藻糖 (N-乙酰葡萄糖胺上方为 α -1,3-岩藻糖, 下方为 α -1,6-岩藻糖), 黄色五角星代表木糖。图中糖链结构是以核心结构为基础, 但不限于此类糖结构。

敏原能导致过敏反应的原因。

2.2 与过敏原糖链结构相关的糖基化酶

为明确糖蛋白在过敏反应中的作用及机制，需对蛋白质进行糖基化或去糖基化处理。糖蛋白糖基化、去糖基化方法包括化学法、酶法等，酶法因其高效、高特异性等优势得到广泛应用。酶法改变糖蛋白糖链结构，主要通过糖基转移酶、糖苷酶两类酶，进而影响相应过敏反应的发生（表2）。

外源酶体外改变糖蛋白过敏原的糖链结构会改变过敏反应。如，Zaffran等^[45]通过PNGase F将腰果过敏原Ana o1表面N-糖链完整水解后，Ana o1与IgE免疫反应性增加。Shade等^[46]通过唾液酸酶A去除IgE中唾液酸可减轻过敏性疾病中的效应细胞脱颗粒和过敏反应。目前，通过糖基化相关酶改变过敏原糖链结构，从而影响过敏反应的方法已开展一定研究，其中PNGase F应用较为广泛。而同样

为细菌来源的N-糖苷酶F-II或N-糖蛋白去糖基化酶F-II（peptide：N-glycanase F-II，PNGase F-II；能够水解含有 α -1,3-岩藻糖的N-糖蛋白或糖肽，释放完整N-寡糖），能水解植物、昆虫来源的糖蛋白表面的 α -1,3-核心岩藻糖结构^[47]，可以弥补PNGase F去糖基化的局限性，可能在降低过敏反应的研究中具有应用前景。

胞内本身存在与宿主糖基化修饰相关的糖基转移酶或糖苷酶，其活性的改变，也可能影响过敏反应的发生。如，Saku等^[48]发现，通过岩藻糖基转移酶2（fucosyltransferase 2，Fut 2；将岩藻糖通过 α -1,2-糖苷键连接到N-乙酰葡萄糖胺上）诱导人上皮细胞表面岩藻糖基化，会加重哮喘患者气道的过敏性炎症。Kim等^[49]研究显示，相较正常表达酸性哺乳动物几丁质酶（acidic mammalian chitinase，AMCase；水解几丁寡糖或二糖上 β -1,4糖苷键释放

Table 2 Role of glycosylation related enzymes in allergy

表2 糖基化相关酶在过敏中的作用

来源	酶的名称	酶的功能	过敏中的作用	参考文献
体外改造过敏原糖链结构				
刀豆 (Jack beans)	β -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 (N-acetylglucosaminidase)	水解N-乙酰葡萄糖胺	卵清蛋白去N-乙酰葡萄糖胺后致敏性降低	[50]
链霉菌属 (<i>Streptomyces</i>)	谷氨酰胺转移酶 (transglutaminase, TGase)	催化蛋白质中 γ -谷氨酰胺残基与带有伯氨的糖共价结合	将虾原肌球蛋白和牛 β -乳球蛋白糖基化后，抗原性和潜在致敏性降低	[51-52]
脑膜炎败血伊丽莎白菌 (<i>Elizabethkingia meningoseptica</i>)	肽N-糖苷酶F (peptide: N-glycanase F, PNGase F)	完整水解N-寡糖	腰果过敏原Ana o1去糖基化增加了Ana o1与IgE的免疫反应性	[45]
	核心岩藻糖苷酶 I (core fucosidase I, cFase I)	水解核心 α -1,3-岩藻糖	将蜂毒PLA ₂ 去糖基化后与IgE反应性降低	[28]
	糖蛋白核心木糖苷酶I (glycoprotein core xylosidase I, gpcXase I)	水解核心 β -1,2-木糖	将HRP去糖基化后与IgE反应性降低	[53]
	α -1,3-甘露糖苷酶 (α -1,3mannosidase, MA3)	水解 α -1,3-甘露糖	将蜂毒PLA ₂ 去糖基化后与患者血清IgE反应性降低	[54]
宿主自身糖基化修饰改变				
人 (<i>Homo sapiens</i>)	岩藻糖基转移酶2 (fucosyltransferase 2, Fut 2)	转移 α -1,2-岩藻糖	诱导肺上皮细胞表面的岩藻糖基化，加剧哮喘患者的气道过敏性炎症	[48]
人	酸性哺乳动物几丁质酶 (acidic mammalian chitinase, AMCase)	水解1,4-N-乙酰葡萄糖胺	表达无酶活性AMCase的小鼠对屋尘螨的免疫反应增强	[49]
人	核心 β 1,3-半乳糖基转移酶 (core β 1,3-galactosyltransferase)	转移 β -1,3-半乳糖	酶C1GALT1基因的多态性可能有助于过敏性紫癜并发症的发展	[55]
新世界猴 (<i>Platyrrhines</i>)	α 1-3半乳糖基转移酶 (α 1-3 galactosyl transferase, α 1-3 GTs)	转移 α -1,3-半乳糖	在 α 半乳糖末端合成 α 1-3连接半乳糖，形成含有 α -gal的糖缀合物，可能影响蚊虫叮咬引起的超敏反应	[56]

N-乙酰葡萄糖胺)的小鼠,表达AMCase但无酶活性的小鼠与屋尘螨过敏原的免疫反应增强。

3 过敏原糖链影响过敏的机制

多项研究已证明,糖基化与过敏反应的发生密切相关,当糖蛋白上糖链发生改变其功能也可能受到影响,而糖基化会在过敏反应不同阶段参与致敏机制。目前,对IgE介导的I型过敏反应的机制研究较清楚,其反应过程主要包括致敏、激发和效应三个阶段。其中,过敏原主要参与前两个阶段。过敏原首次进入机体时,通过一系列反应刺激B淋巴细胞分泌大量特异性IgE抗体^[57],进而特异的IgE抗体与肥大细胞或嗜碱性粒细胞表面的高亲和力受体相结合,使机体致敏^[58]。同一过敏原再次进入机体即刻与细胞表面的特异性IgE抗体结合,引起一系列过敏相关症状。

3.1 过敏原糖基化影响抗原的识别与提呈

糖蛋白过敏原上的糖链可以促进抗原提呈细胞(APC)对过敏原的识别和提呈^[43]。Garrido-Arandia等^[43]研究报道,猕猴桃过敏原糖蛋白Act d 2的N-聚糖组分可诱导APC的成熟,如单核细胞来源的树突状细胞(moDC),并释放细胞因子从而促进Th2的反应,而蛋白质组分仅诱导T细胞反应。Shi等^[59]发现,当去除花生过敏原Ara h1上所有附着的聚糖后,Ara h1与IgE免疫反应性显著降低,原因可能在于树突状细胞(DC)对去糖基化Ara h1的摄取显著降低。上述研究提示,糖蛋白表面糖链能够促进DC与过敏原的结合。Hsu等^[42]研究发现,抗原与Lewis-x三糖偶联也增强了DC对抗原的摄取和提呈。

3.2 过敏原糖基化影响与特异性抗体结合

IgE能够识别蛋白质上的N-糖链,蛋白质糖基化位点及其相应的聚糖均影响过敏原的免疫反应性,与过敏的发生发展密切相关。过敏原糖基化表位被IgE识别并结合,具有致敏效力,能够影响过敏反应^[39]。

过敏原的 α -1,3-岩藻糖基化与过敏反应有关^[60]。已有报道,部分草木花粉、坚果中的一些N-聚糖为IgE的结合表位,其中 α -1,3-核心岩藻糖是结合位点上的关键部分,末端的 α -1,6-甘露糖促进过敏原与IgE结合,而 β -1,2-木糖仅与IgE发生程度较低的结合^[61]。蜂毒过敏原PLA₂为N-糖蛋白,其N-乙酰葡萄糖胺残基连接的 α -1,3-岩藻糖基化形成了IgE反应决定簇,N-聚糖的 α -1,3-岩藻糖结构被

证明是蜂毒主要的过敏表位之一^[62]。 α -1,3-岩藻糖结构在植物糖蛋白中很常见,也存在于昆虫糖蛋白,因此被怀疑是昆虫和植物的各种过敏原之间在广泛交叉反应的主要原因之一^[38]。

Chakrapani等^[63]发现,糖脂和糖蛋白上均存在半乳糖- α -1,3-半乳糖(galactose- α -1,3-galactose, α -gal),携带 α -gal的糖蛋白和糖脂均能激活患者的嗜碱性粒细胞,而糖蛋白在这些食物引起的过敏反应中起主要作用。Platts-Mills等^[60]认为, α -gal也是IgE识别的聚糖表位之一。Commins等^[64]研究发现,非灵长类哺乳动物肉类蛋白质上 α -gal寡糖表位可以与IgE特异性的识别,引起过敏反应。

3.3 免疫球蛋白的糖基化与过敏反应

免疫球蛋白(Ig)的可结晶片段(Fc)区域的糖基化对于调节抗体在炎症过程中的作用至关重要,抗体糖基化可能诱导病理改变,并最终导致自身免疫性疾病的发展^[65]。

IgE抗体是过敏性疾病发展进程中的主要介质,也是哺乳动物中糖基化程度最高的单体Ig,在人类IgE的每个重链上分布有7个N-糖基化位点(N-X-S/T)^[66]。Shade等^[67]系统分析了小鼠和人类IgE上的所有糖基化位点,发现其中IgE重链Fc段C ϵ 3结构域中的单个糖基化位点与过敏反应的发生密切相关,PNGase F酶切IgE上寡甘露糖聚糖后,IgE不能与肥大细胞上的Fc ϵ RI结合,机体过敏反应减轻。除酶切手段外,将C ϵ 3结构域上天冬酰胺384突变为谷氨酰胺(N384Q)、苏氨酸386突变为丙氨酸(T386A)来阻断该位点的糖基化^[67]、突变天冬酰胺394为谷氨酰胺(N394Q)或苏氨酸(N394T)^[68],都能消除IgE与Fc ϵ RI的结合和随后IgE介导的脱颗粒,且已通过小鼠模型在体内得到验证^[67]。

因此,IgE的糖基化对于该Ig类的体内活性和结构完整性至关重要,特别是IgE C ϵ 3结构域上的糖基化对诱导过敏反应具有决定性的作用,改变该糖基化位点将影响过敏反应的发生。也有研究报道,唾液酸化的IgG在小鼠模型中减弱了IgG介导的过敏反应^[69-70],但IgG与过敏性疾病的关系需要进一步实验证明^[71]。

4 讨 论

蛋白质糖基化与免疫关系密切,能通过影响免疫应答强弱^[39]、影响免疫球蛋白的功能^[72]等途径影响机体免疫。多种免疫性疾病与蛋白质糖基化相

关,如类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、炎症性肠病和自身免疫性肝病等,其中也包括过敏性疾病。

糖蛋白上的糖链是一类相对温和但广泛存在的过敏原结构,糖链结构与过敏反应密切相关,尤其是N-糖链。某些N-糖链(如 α -1,3-岩藻糖、 β -1,2-木糖等CCD结构^[18],Lewis抗原结构^[42]等)可能是过敏原与机体内IgE之间发生特异性结合的位点。其他N-糖链结构如 α -1,6-岩藻糖、LacdiNAc天线等,与过敏的关系目前尚未见文献报道。LacdiNAc结构与肿瘤^[73-74]、寄生虫感染^[75-76]等相关,但未报道与过敏相关的文献。而 α -1,6-岩藻糖是否对IgE反应性有影响有待验证^[60]。O-糖基化也是常见的蛋白质翻译后修饰之一^[77],可能与过敏反应有关。如,艾蒿花粉的主要过敏原Art v1是含有两种O-聚糖的多糖,有研究发现,Art v1的 β 阿拉伯糖化羟脯氨酸残基与艾蒿花粉过敏患者的血清抗体发生了反应, β 阿拉伯糖化羟脯氨酸残基可能构成了一种潜在的CCD因素^[78]。

食物^[20]、昆虫毒素^[28]、吸入物^[33]等糖蛋白表面的N-糖链会引起过敏反应。输血也会引起过敏反应,有研究表明,输血过敏反应与血浆蛋白如IgA、结合珠蛋白等相关,但其临床价值仍有待证据证实^[79-80],且引起输血过敏的过敏原表位不够明确^[81],过敏原糖基化与输血过敏的关系仍需进一步研究。

通过糖基化相关酶,在体外改造过敏原糖链结构或改变宿主自身糖蛋白糖基化修饰都会影响过敏反应。过敏原糖蛋白合成过程中的相关酶,如 α 1,3-岩藻糖基转移酶(α 1,3-fucosyltransferase, α 1,3-FucT)、 β 1,2-木糖基转移酶(β 1,2-xylosyltransferase, β 1,2-XylT),能够分别将岩藻糖、木糖转移到N-糖蛋白上^[82],而植物或昆虫中存在的 β -1,2-木糖和 α -1,3-岩藻糖是导致发生交叉反应的原因^[83]。可以推测,与此类糖链结构合成相关的糖基转移酶(如 α 1,3-FucT、 β 1,2-XylT等)可能会影响过敏原引起的过敏反应,但相关的研究未见报道,有待探究。

目前,过敏尚无特异性治疗方法,避免接触过敏原和治疗过敏原引起的全身反应仍然是常用治疗方法。治疗全身性过敏反应的关键是早期给予肾上腺素^[84]。而常用治疗手段对部分患者不可行或疗效不佳,已有研究证明,免疫疗法是治疗过敏有效的方法,包括口服/吸入脱敏免疫治疗^[85]、开发单

克隆抗体作为治疗剂^[86]等。但免疫治疗需要频繁、长时间的临床就诊,不利于其广泛应用,且免疫治疗通常不能实现永久的脱敏,在停止定期摄入维持剂量的过敏原后,经常会观察到过敏复发^[87]。因此,通过深入研究糖基化与过敏反应的关系及其作用机制,可能通过去除或改变过敏原结构从而自源头解决部分糖蛋白引起的过敏问题,为临床过敏性疾病的预防或实现长期持续疗效的治疗提供新的方向。

参 考 文 献

- [1] Daschner A, González Fernández J. Allergy in an evolutionary framework. *J Mol Evol*, 2020, **88**(1): 66-76
- [2] Blank S, Hilger C. Editorial: novel advances in allergy diagnosis and treatment. *Front Immunol*, 2021, **12**: 662-699
- [3] Dispenza M C. Classification of hypersensitivity reactions. *Allergy Asthma Proc*, 2019, **40**(6): 470-473
- [4] Gotua M, Lomidze N, Dolidze N, *et al.* IgE-mediated food hypersensitivity disorders. *Georgian Med News*, 2008(157): 39-44
- [5] Wang J, Zhou Y, Zhang H, *et al.* Pathogenesis of allergic diseases and implications for therapeutic interventions. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, **8**(1): 138
- [6] Peters R L, Krawiec M, Koplin J J, *et al.* Update on food allergy. *Pediatric allergy and immunology. Pediatr Allergy Immunol*, 2021, **32**(4): 647-657
- [7] Kiguchi T, Yamamoto-Hanada K, Saito-Abe M, *et al.* Pollen-food allergy syndrome and component sensitization in adolescents: a Japanese population-based study. *PLoS One*, 2021, **16**(4): e0249649
- [8] Abel-Fernández E, Martínez M J, Galán T, *et al.* Going over fungal allergy: alternaria alternata and Its allergens. *J Fungi (Basel)*, 2023, **9**(5): 582
- [9] Hemmer W, Wantke F. Insect hypersensitivity beyond bee and wasp venom allergy. *Allergol Select*, 2020, **4**: 97-104
- [10] Prosty C, Copaescu A M, Gabrielli S, *et al.* Pediatric drug allergy. *Immunol Allergy Clin North Am*, 2022, **42**(2): 433-452
- [11] Ma J, Zhou J, Chen L, *et al.* Effects of deglycosylation and the Maillard reaction on conformation and allergenicity of the egg ovomucoid. *J Food Sci*, 2021, **86**(7): 3014-3022
- [12] Al-Ahmad M, Jusufovic E, Arifhodzic N, *et al.* Peanut component Ara h 1 and 2 sensitization in patients with food allergy in Kuwait. *Int Arch Allergy Immunol*, 2022, **183**(3): 315-321
- [13] Shan D, Yu H, Lyu B, *et al.* Soybean β -conglycinin: structure characteristic, allergenicity, plasma lipid-controlling, prevention of obesity and non-alcoholic fatty liver disease. *Curr Protein Pept Sci*, 2021, **22**(12): 831-847
- [14] Zhong Q, Xiao X, Qiu Y, *et al.* Protein posttranslational modifications in health and diseases: functions, regulatory mechanisms, and therapeutic implications. *MedComm* (2020), 2023, **4**(3): c261

- [15] 陈念航. 不同物种来源天然糖苷的结构多样性分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2021
Chen N H. Structural Diversity Analysis of Natural Glycosides From Different Species Sources[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2021
- [16] Kurebayashi Y, Takeuchi H. Special issue: new insights into protein glycosylation. *Molecules*, 2023, **28**(7): 3263
- [17] 刘啸尘, 刘护, 张良, 等. 细胞代谢过程中的酶促糖基化及其功能. *中国生物工程杂志*, 2018, **38**(1): 69-77
Liu X C, Liu H, Zhang L, *et al.* *China Biotechnol*, 2018, **38**(1): 69-77
- [18] Magalhães A, Duarte H O, Reis C A. The role of O-glycosylation in human disease. *Mol Aspects Med*. 2021, **79**: 100964
- [19] Wilson I B. Glycosylation of proteins in plants and invertebrates. *Curr Opin Struct Biol*, 2002, **12**(5): 569-577
- [20] Yang A, Deng H, Zu Q, *et al.* Structure characterization and IgE-binding of soybean 7S globulin after enzymatic deglycosylation. *Int J Food Prop*, 2018, **21**(1): 171-182
- [21] Md A, Maeda M, Matsui T, *et al.* Purification and molecular characterization of a truncated-type Ara h1, a major peanut allergen: oligomer structure, antigenicity, and glycoform. *Glycoconj J*, 2021, **38**(1): 67-76
- [22] 彭艺芳. 花生致敏糖蛋白 Ara h1 糖链决定簇的质谱分析[D]. 西安: 西北大学, 2016
Peng Y F. Mass Spectrometry of The Sugar Chain Determinant Cluster of The Peanut Sensitising. Glycoprotein Ara h1 [D]. Xi'an: Northwest University, 2016
- [23] Cardona V, Ansoategui I J, Ebisawa M, *et al.* World allergy organization anaphylaxis guidance 2020. *Arerugi*, 2021, **70**(9): 1211-1234
- [24] 王秀铭. 注射用绒毛膜促性腺激素过敏反应一例. *山西医药杂志*, 2012, **41**(12): 1269
Wang X M. *Shanxi Med J*, 2012, **41**(12): 1269
- [25] 邱红. 肌注绒毛膜促性腺激素引起过敏性休克1例. *辽宁药物与临床*, 1998(2): 47
Qiu H. *Liaoning Pharmacy Clin Remedies*, 1998(2): 47
- [26] Golden D B K. Update on insect sting anaphylaxis. *Curr Allergy Asthma Rep*, 2021, **21**(3): 16
- [27] Blank S, Michel Y, Seismann H, *et al.* Evaluation of different glycoforms of honeybee venom major allergen phospholipase A2 (Api m1) produced in insect cells. *Protein Pept Lett*, 2011, **18**(4): 415-422
- [28] Li T, Li M, Hou L, *et al.* Identification and characterization of a core fucosidase from the bacterium *Elizabethkingia meningoseptica*. *J Biol Chem*, 2018, **293**(4): 1243-1258
- [29] 利少玲, 黎四平, 钟瑞芬, 等. 东莞地区变应性鼻炎患者吸入过敏原分析及血清 sIgE 分泌特点探索. *中国现代药物应用*, 2023, **17**(8): 140-144
Li S L, Li S P, Zhong R F, *et al.* *Chinese J Mod Drug App*, 2023, **17**(8): 140-144
- [30] Ligabue-Braun R, Sachett L G, Pol-Fachin L, *et al.* The calcium goes meow: effects of ions and glycosylation on Fel d 1, the major cat allergen. *PLoS One*, 2015, **10**(7): e0132311
- [31] Scheib H, Nekaris K A, Rode-Margono J, *et al.* The toxicological intersection between allergen and toxin: a structural comparison of the cat dander allergenic protein Fel d1 and the slow loris brachial gland secretion protein. *Toxins*, 2020, **12**(2): 86
- [32] 杨李, 王运刚, 崔玉宝. 尘螨变应原免疫生物学研究进展. *中国病原生物学杂志*, 2011, **6**(2): 150-154+62
Yang L, Wang Y G, Cui Y B. *J Patho Biol*, 2011, **6**(2): 150-154+62
- [33] Yamada Y, Kidoguchi M, Yata A, *et al.* High-yield production of the major birch pollen allergen Bet v1 with allergen immunogenicity in *nicotiana benthamiana*. *Front Plant Sci*, 2020, **11**: 344
- [34] Jin C, Hantusch B, Hemmer W, *et al.* Affinity of IgE and IgG against cross-reactive carbohydrate determinants on plant and insect glycoproteins. *J Allergy Clin Immunol*, 2008, **121**(1): 185-190.e2
- [35] 李玲梅. 大豆糖蛋白 N-糖基化分析及其致敏性研究[D]. 西安: 西北大学, 2017
Li L M. N-glycosylation Analysis of Soybean Glycoproteins and Their Sensitisation Studies[D]. Xi'an: Northwest University, 2017
- [36] 李成. 银杏种子糖蛋白 N-糖链分析及其致敏性研究[D]. 西安: 西北大学, 2019
Li C. N-glycoprotein N-glycosyl Chain Analysis of Ginkgo Seed Glycoproteins and Their Sensitisation Studies[D]. Xi'an: Northwest University, 2019
- [37] Kubelka V, Altmann F, Staudacher E, *et al.* Primary structures of the N-linked carbohydrate chains from honeybee venom phospholipase A2. *Eur J Biochem*, 1993, **213**(3): 1193-1204
- [38] Mari A. IgE to cross-reactive carbohydrate determinants: analysis of the distribution and appraisal of the *in vivo* and *in vitro* reactivity. *Int Arch Allergy Immunol*, 2002, **129**(4): 286-295
- [39] Foetisch K, Westphal S, Lauer I, *et al.* Biological activity of IgE specific for cross-reactive carbohydrate determinants. *J Allergy Clin Immunol*, 2003, **111**(4): 889-896
- [40] Plum M, Tjerrild L, Raiber T, *et al.* Structural and functional analyses of antibodies specific for modified core N-glycans suggest a role in T(H)2 responses. *Allergy*, 2023, **78**(1): 121-130
- [41] Ye J, Xia H, Sun N, *et al.* Reprogramming the enzymatic assembly line for site-specific fucosylation. *Nat Catal*, 2019, **2**: 514-522
- [42] Hsu S C, Tsai T H, Kawasaki H, *et al.* Antigen coupled with Lewis-x trisaccharides elicits potent immune responses in mice. *J Allergy Clin Immunol*, 2007, **119**(6): 1522-1528
- [43] Garrido-Arandia M, Murua-García A, Palacin A, *et al.* The role of N-glycosylation in kiwi allergy. *Food Sci Nutr*, 2014, **2**(3): 260-271
- [44] Van Kuik J A, Hoffmann R A, Mutsaers J H G M, *et al.* A 500-MHz 1 H-NMR study on the N-linked carbohydrate of bromelain. *Glycoconj J*, 1986, **3**: 27-34
- [45] Zaffran V D, Gupta S, Sathe S K, *et al.* Effect of deglycosylation on immunoreactivity and *in vitro* pepsin digestibility of major cashew (*Anacardium occidentale* L.) allergen, Ana o 1. *J Food Sci*, 2021, **86**(3): 1144-1152

- [46] Shade K C, Conroy M E, Washburn N, *et al.* Sialylation of immunoglobulin E is a determinant of allergic pathogenicity. *Nature*, 2020, **582**(7811): 265-270
- [47] Sun G, Yu X, Bao C, *et al.* Identification and characterization of a novel prokaryotic peptide: N-glycosidase from *Elizabethkingia meningoseptica*. *J Biol Chem*, 2015, **290**(12): 7452-7462
- [48] Saku A, Hirose K, Ito T, *et al.* Fucosyltransferase 2 induces lung epithelial fucosylation and exacerbates house dust mite-induced airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol*, 2019, **144**(3): 698-709.e9
- [49] Kim L K, Morita R, Kobayashi Y, *et al.* AMCase is a crucial regulator of type 2 immune responses to inhaled house dust mites. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, **112**(22): E2891-E2899
- [50] Hwang H S, Kim J Y, Park H, *et al.* Cleavage of the terminal N-acetylglucosamine of egg-white ovalbumin N-glycans significantly reduces IgE production and Th2 cytokine secretion. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, **450**(4): 1247-1254
- [51] Yuan F, Lv L, Li Z, *et al.* Effect of transglutaminase-catalyzed glycosylation on the allergenicity and conformational structure of shrimp (*Metapenaeus ensis*) tropomyosin. *Food Chem*, 2017, **219**: 215-222
- [52] Yuan F, Ahmed I, Lv L, *et al.* Impacts of glycation and transglutaminase-catalyzed glycosylation with glucosamine on the conformational structure and allergenicity of bovine β -lactoglobulin. *Food Funct*, 2018, **9**(7): 3944-3955
- [53] Hou L, Li T, Chen H, *et al.* Identification and characterization of a novel glycoprotein core xylosidase from the bacterium *Elizabethkingia meningoseptica*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, **517**(2): 390-397
- [54] Shen D, Lu X, Li W, *et al.* Identification and characterization of an α -1,3 mannosidase from *Elizabethkingia meningoseptica* and its potential attenuation impact on allergy associated with cross-reactive carbohydrate determinant. *Biochem Biophys Res Commun*, 2023, **672**: 17-26
- [55] He X, Zhao P, Kang S, *et al.* C1GALT1 polymorphisms are associated with Henoch-Schönlein purpura nephritis. *Pediatr Nephrol*, 2012, **27**(9): 1505-1509
- [56] Ramasamy R. Mosquito vector proteins homologous to α 1-3 galactosyl transferases of tick vectors in the context of protective immunity against malaria and hypersensitivity to vector bites. *Parasit Vectors*, 2021, **14**(1): 303
- [57] Romagnani S. The role of lymphocytes in allergic disease. *J Allergy Clin Immunol*, 2000, **105**(3): 399-408
- [58] Williams C M, Galli S J. The diverse potential effector and immunoregulatory roles of mast cells in allergic disease. *J Allergy Clin Immunol*, 2000, **105**(5): 847-859
- [59] Shi Y, Wang M, Ding Y, *et al.* Effects of Maillard reaction on structural modification and potential allergenicity of peanut 7S globulin (Ara h1). *J Sci Food Agric*, 2020, **100**(15): 5617-5626
- [60] Platts-Mills T A, Hilger C, Jappe U, *et al.* Carbohydrate epitopes currently recognized as targets for IgE antibodies. *Allergy*, 2021, **76**(8): 2383-2394
- [61] Wilson I B, Harthill J E, Mullin N P, *et al.* Core alpha1,3-fucose is a key part of the epitope recognized by antibodies reacting against plant N-linked oligosaccharides and is present in a wide variety of plant extracts. *Glycobiology*, 1998, **8**(7): 651-661
- [62] Tretter V, Altmann F, Kubelka V, *et al.* Fucose alpha 1,3-linked to the core region of glycoprotein N-glycans creates an important epitope for IgE from honeybee venom allergic individuals. *Int Arch Allergy Immunol*, 1993, **102**(3): 259-266
- [63] Chakrapani N, Fischer J, Swiontek K, *et al.* α -Gal present on both glycolipids and glycoproteins contributes to immune response in meat-allergic patients. *J Allergy Clin Immunol*, 2022, **150**(2): 396-405.e11
- [64] Commins S P, Jerath M R, Cox K, *et al.* Delayed anaphylaxis to alpha-gal, an oligosaccharide in mammalian meat. *Allergol Int*, 2016, **65**(1): 16-20
- [65] Zhou X, Motta F, Selmi C, *et al.* Antibody glycosylation in autoimmune diseases. *Autoimmun Rev*, 2021, **20**(5): 102804
- [66] Arnold J N, Wormald M R, Sim R B, *et al.* The impact of glycosylation on the biological function and structure of human immunoglobulins. *Annu Rev Immunol*, 2007, **25**: 21-50
- [67] Shade K T, Platzer B, Washburn N, *et al.* A single glycan on IgE is indispensable for initiation of anaphylaxis. *J Exp Med*, 2015, **212**(4): 457-467
- [68] Sayers I, Cain S A, Swan J R, *et al.* Amino acid residues that influence Fc epsilon RI-mediated effector functions of human immunoglobulin E. *Biochemistry*, 1998, **37**(46): 16152-16164
- [69] Bartsch Y C, Eschweiler S, Leliavski A, *et al.* IgG Fc sialylation is regulated during the germinal center reaction following immunization with different adjuvants. *J Allergy Clin Immunol*, 2020, **146**(3): 652-666.e11
- [70] Petry J, Rahmüller J, Dühring L, *et al.* Enriched blood IgG sialylation attenuates IgG-mediated and IgG-controlled-IgE-mediated allergic reactions. *J Allergy Clin Immunol*, 2021, **147**(2): 763-767
- [71] Vattepu R, Sneed S L, Anthony R M. Sialylation as an important regulator of antibody function. *Front Immunol*, 2022, **13**: 818736
- [72] Zhou X, Motta F, Selmi C, *et al.* Antibody glycosylation in autoimmune diseases. *Autoimmun Rev*, 2021, **20**(5): 102804
- [73] Hirano K, Furukawa K. Biosynthesis and biological significances of LacdiNAc group on N- and O-glycans in human cancer cells. *Biomolecules*, 2022, **12**(2): 195
- [74] Kałuża A, Szczykutowicz J, Ferens-Sieczkowska M. Glycosylation: rising potential for prostate cancer evaluation. *Cancers*, 2021, **13**(15): 3726
- [75] Matos R, Amorim I, Magalhães A, *et al.* Adhesion of helicobacter species to the human gastric mucosa: a deep look into glycans role. *Front Mol Biosci*, 2021, **8**: 656439
- [76] Van De Vijver K K, Deelder A M, Jacobs W, *et al.* LacdiNAc- and LacNAc-containing glycans induce granulomas in an *in vivo* model for schistosome egg-induced hepatic granuloma formation. *Glycobiology*, 2006, **16**(3): 237-243
- [77] Li J, Guo B, Zhang W, *et al.* Recent advances in demystifying O-

- glycosylation in health and disease. *Proteomics*, 2022, **22**(23-24): e2200156
- [78] Leonard R, Petersen B O, Himly M, *et al.* Two novel types of O-glycans on the mugwort pollen allergen Art v1 and their role in antibody binding. *J Biol Chem*, 2005, **280**(9): 7932-7940
- [79] Sandler S G, Eder A F, Goldman M, *et al.* The entity of immunoglobulin A-related anaphylactic transfusion reactions is not evidence based. *Transfusion*, 2015, **55**(1): 199-204
- [80] Warrior I, Lusher J M. Development of anaphylactic shock in haemophilia B patients with inhibitors. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 1998, **9**(Suppl 1): S125-128
- [81] Yasui K, Matsuyama N, Takihara Y, *et al.* New insights into allergic transfusion reactions and their causal relationships, pathogenesis, and prevention. *Transfusion*, 2020, **60**(7): 1590-1601
- [82] Jung J W, Shin J H, Lee W K, *et al.* Inactivation of the β (1, 2)-xylosyltransferase and the α (1, 3)-fucosyltransferase gene in rice (*Oryza sativa*) by multiplex CRISPR/Cas9 strategy. *Plant Cell Rep*, 2021, **40**(6): 1025-1035
- [83] Kamath S D, Bublin M, Kitamura K, *et al.* Cross-reactive epitopes and their role in food allergy. *J Allergy Clin Immunol*, 2023, **151**(5): 1178-1190
- [84] Navalpakam A, Thanaputkaiporn N, Poowuttikul P. Management of anaphylaxis. *Immunol Allergy Clin North Am*, 2022, **42**(1): 65-76
- [85] Durham S R, Shamji M H. Allergen immunotherapy: past, present and future. *Nat Rev Immunol*, 2023, **23**(5): 317-328
- [86] Pennington L F, Tarchevskaya S, Brigger D, *et al.* Structural basis of omalizumab therapy and omalizumab-mediated IgE exchange. *Nat Commun*, 2016, **7**: 11610
- [87] Yu W, Freeland D M H, Nadeau K C. Food allergy: immune mechanisms, diagnosis and immunotherapy. *Nat Rev Immunol*, 2016, **16**(12): 751-765

Allergy Associated With N-glycans on Glycoprotein Allergens*

ZHANG Yu-Xin¹⁾, LIU Rui-Jie¹⁾, ZHANG Shao-Xing¹⁾, YUAN Shu-Ying²⁾, CHEN Yan-Wen³⁾,
YE Yi-Lin¹⁾, LIN Qian-Ge¹⁾, LU Xin-Rong⁴⁾, TONG Yong-Liang⁴⁾, CHEN Li⁴⁾** , SUN Gui-Qin¹⁾**

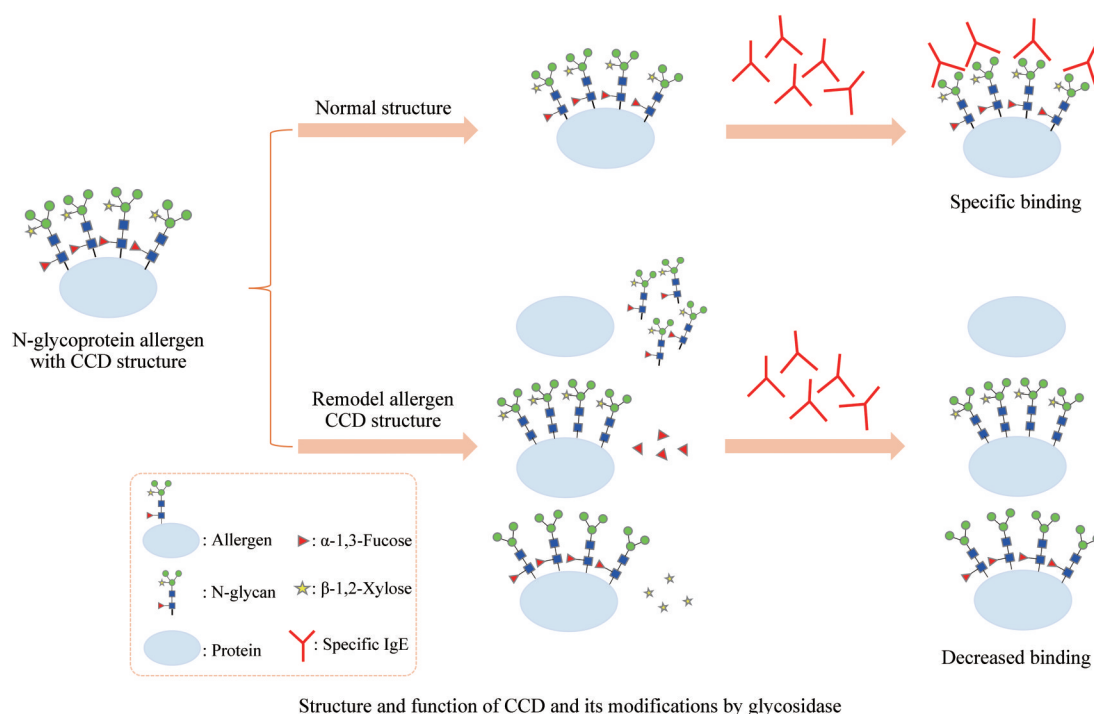
¹⁾School of Medical Technology and Information Engineering, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China;

²⁾Department of Clinical Laboratory, Jiaying Maternity and Child Health Care Hospital, Jiaying 314009, China;

³⁾Department of Central Laboratory, Renji Hospital Shanghai Jiaotong University School of Medical,
Ningbo Hangzhou Bay Hospital, Ningbo 315336, China;

⁴⁾Department of Medical Microbiology and Parasitology, Key Laboratory of Medical Molecular Virology of Ministries of Education and National Health
Committee, School of Basic Medical Sciences, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Graphical abstract



Abstract Protein as the allergens could lead to allergy. In addition, a widespread class of allergens were known as glycans of N-glycoprotein. N-glycoprotein contained oligosaccharide linked by covalent bonds with protein. Recently, studies implicated that allergy was associated with glycans of heterologous N-glycoprotein found in

* This work was supported by grants from Cooperation Projects between Zhejiang Chinese Medical University and SysDiagno Biotech Co., Ltd. (2023-HT-275) and Zhejiang Province Ma Li Li Famous Old Chinese Medicine Experts Inheritance Studio (GZS2021019).

** Corresponding author.

SUN Gui-qin. Tel: 86-13868116801, E-mail: sunguiqin2001@163.com

CHEN Li. Tel: 86-15821138980, E-mail: lichen_bk@fudan.edu.cn

Received: July 26, 2023 Accepted: November 2, 2023

food, inhalants, insect toxins, etc. The N-glycan structure of N-glycoprotein allergen has exerted an influence on the binding between allergens and IgE, while the recognition and presentation of allergens by antigen-presenting cells (APCs) were also affected. Some researches showed that N-glycan structure of allergen was remodeled by N-glycosidase, such as cFase I, gpcXylase, as binding of allergen and IgE partly decreased. Thus, allergic problems caused by N-glycoproteins could potentially be solved by modifying or altering the structure of N-glycoprotein allergens, addressing the root of the issue. Mechanism of N-glycans associated allergy could also be elaborated through glycosylation enzymes, alterations of host glycosylation. This article hopes to provide a separate insight for glycoimmunology perspective, and an alternative strategy for clinical prevention or therapy of allergic diseases.

Key words allergic reaction, N-glycosylation, N-sugar chain structures, glycosylation-related enzymes, allergy mechanism

DOI: 10.16476/j.pibb.2023.0292