

propranolol and exercise capacity in postural tachycardia syndrome: a randomized study [J]. *Neurology*, 2013, 80(21): 1927-1933.

[26] CHEN L, WANG L, SUN J, et al. Midodrine hydrochloride is effective in the treatment of children with postural orthostatic tachycardia syndrome [J]. *Circulation journal*, 2011, 75(4): 927-931.

[27] AMANDA J, ANTHONY J, MARVIN S, et al. A double-blind placebo-controlled cross-over study of the vascular effects of midodrine in neuropathic compared with hyperadrenergic postural tachycardia syndrome [J]. *Clinical science*, 2014, 126(4): 289-296.

[28] RAJ S R, BLACK B K, BIAGGIONI I, et al. Acetylcholinesterase inhibition improves tachycardia in postural tachycardia syndrome [J]. *Circulation*, 2005, 111(21): 2734-2740.

[29] COFFIN S T, BLACK B K, BIAGGIONI I, et al. Desmopressin acutely decreases tachycardia and improves symptoms in the postural tachycardia syndrome [J]. *Heart Rhythm*, 2012, 9(9): 1484-1490.

[30] HOELDTKE R D, BRYNER K D, HOELDTKE M E, et al. Treatment of postural tachycardia syndrome: a comparison of octreotide and midodrine [J]. *Clin Auton Res*, 2006, 16(6): 390-395.

(编辑:刘雄志)

(收稿日期:2015-03-07 修回日期:2015-04-21)

doi:10.13407/j.cnki.jpp.1672-108X.2016.10.021

· 综述 ·

食物过敏分子诊断进展

易红, 喻卢, 罗晓燕, 王华 (重庆医科大学附属儿童医院, 重庆 400014)

[中图分类号] R392.8

[文献标识码] A

[文章编号] 1672-108X(2016)10-0063-04

Advances in Molecular Diagnosis of Food Allergy

Yi Hong, Yu Lu, Luo Xiaoyan, Wang Hua (*Children's Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400014, China*)

食物过敏 (food allergy, FA) 是指某种食物引起的由 IgE 介导和/或非 IgE 介导的特异性的免疫反应, 表现为消化系统、呼吸系统、皮肤、甚至全身性的症状。典型的食物过敏通常在摄入相应食物后 2 h 内发生, 轻者可仅表现为局部风团或口周的红斑瘙痒, 重者可引起致命的过敏性休克。准确诊断食物过敏对预防严重威胁生命的过敏反应和避免不必要的饮食回避都具有重要意义。目前常用的诊断食物过敏检测方法包括皮肤点刺试验 (skin prick test, SPT)、血清特异性 IgE (serum-specific immunoglobulin E, sIgE) 检测等试验方法。这些检测方法假阳性率较高, 检测结果受到患者年龄、抗原质量、交叉过敏反应等影响。双盲安慰剂对照食物激发试验 (oral food challenge, OFC) 仍是诊断食物过敏的金标准, 但存在诱发过敏性休克等严重不良反应的风险, 难以作为常规检测手段。近年来, 随着 DNA 重组技术的发展, 以过敏原的致敏组分 DNA 为模板制备重组变应原并用于食物过敏检测, 与传统的粗提抗原比较, 重组变应原具有纯度高, 标准化优势, 可很大程度提高食物过敏检测的可靠性, 其前期研究结果显示出广泛的应用前景。

1 常见食物的过敏原及过敏组分

食物过敏原一般为相对分子质量 10 000 ~ 70 000 的蛋白质或糖蛋白。一种食物常同时包含有多种过敏原组分 (见表

1), 但并非每种过敏原组分在食物过敏中都发挥作用, 仅部分具有变应原性, 其中对 50% 以上过敏病人血清均能发生明显反应的抗原称为主要过敏原。另外, 部分抗原在表位结构或氨基酸序列上具有相似性, 可引起食物间交叉过敏反应。

表 1 食物过敏原组分及交叉过敏原^[1]

食物	主要过敏原	主要交叉过敏原
鸡蛋	Gal d1, Gal d2, Gal d3, Gal d4, Gal d5	Gal d5
牛奶	Bos d4, Bos d5, Bos d6, Bos d8, 乳铁蛋白	Bos d6
大豆	Gly m5, Gly m6, Gly m2S	Gly m4
花生	Ara h1, Ara h2, Ara h3, Ara h6, Ara h9	Ara h8
虾	Pen a1, Pen m2, Lit v3, Lit v4	Pen a1
鱼	Cyp c1, Gad c1	Cyp c1, Gad c1
小麦	Tri a Aa-TI, Tri a 麦胶蛋白, Tri a19, ω-5 麦胶蛋白, 高分子量的麦谷蛋白, Tri a14	
榛子	Cor a8, Cor a9	Cor a1, Cor a2, Cor a11, Cor a8
苹果		Mal d1
桃	Pru p3	Pru p1, Pru p4
猕猴桃	Act d1, Act d2, Act d5	Act d8, Act d1
芹菜	Api g1	Api g1
胡萝卜	Dau c1	Dau c1, Dau c4
芝麻	Ses i1	Ses i1

作者简介: 易红 (1987.06 ~), 女, 硕士, 主要从事儿童皮肤病研究, E-mail: 191978270@qq.com。

通讯作者: 王华 (1963.09 ~), 男, 博士, 教授, 主要从事皮肤相关疾病研究, E-mail: huawang63@hotmail.com。

2 食物过敏分子诊断的原理

2.1 重组变应原

重组变应原是指通过 DNA 重组技术,克隆并纯化而得到的与天然过敏原具有相似免疫活性的过敏原,具有标准化、纯度高、价格便宜等优势。而天然变应原或提取液成分复杂,常包含非变应原组分,并且在制作或储存过程中容易导致重要组分的减少甚至缺失,使临床检测结果可重复性差。重组变应原很好地弥补了这些缺点,可在很大程度上提高诊断试验的敏感性与可信度。目前几乎所有食物的主要及次要过敏原均已能克隆和纯化成功,为食物过敏的分子诊断奠定了基础。

2.2 变应原组分特异性诊断

变应原组分特异性诊断 (component-resolved diagnosis, CRD) 是将重组变应原紧凑、规则的固定于固相载体表面,当加入病人血清样本后,血清中的 sIgE 抗体与重组变应原结合,然后加入荧光或酶标二抗,通过激光或化学发光仪进行荧光强度检测,专业软件进行数据分析得到数字化的检测结果。CRD 能同时检测多达上百种过敏原组份,且只需微量血清 (20 ~ 30 μ L),具有高通量特点。目前奥地利 VBC 公司商品化的 CRD 微阵列芯片已经实现了同时对 112 种过敏原组份的 sIgE 检测。

3 食物过敏分子诊断的临床应用

3.1 发现主要过敏原

近年来大量研究证明 CRD 可以帮助发现食物的主要过敏原,提高诊断的特异性。D'Urbano L E 等^[2]对 104 个疑为 IgE 介导的牛奶、鸡蛋过敏儿童进行研究,发现以 Bos d8 和 Gal d1 重组变应原进行 CRD 检测和以天然变应原浸液检测的结果相近,与 Unicap 检测的阳性预测值和阴性预测值比较无显著差异,提示 Bos d8 和 Gal d1 是牛奶和鸡蛋的主要过敏原并可作为牛奶和鸡蛋过敏的标记。花生过敏原的应用 CRD 研究发现^[3],花生过敏原 Ara h1、Ara h2 和 Ara h3 检测阳性者,95% 进食花生后发生过敏反应,87% 单一 Ara h2 阳性者进食花生后发生过敏反应,而仅有 18% Ara h8 阳性者发生过敏反应,由此证明,Ara h1、Ara h2 和 Ara h3 是花生的主要过敏原组分,尤其是 Ara h2。欧洲的一项包含 150 例受试者的研究^[4],对其中除对花生发生严重过敏反应的患者均进行了食物激发试验,结合 CRD 测试结果发现花生过敏的患者中有 78% 的患者对花生提取物的成分过敏,90% 的患者至少对一种花生过敏原成分过敏,其中 Ara h2 是主要的致敏原。Rumiko Shibata 等^[5]对小麦过敏原的研究发现 ω -5 麦胶蛋白是小麦过敏的重要过敏原,可以用来预测 OFC 的结果。这些都说明了 CRD 与 OFC 的相关性与一致性。

3.2 预测过敏反应的严重程度及持续时间

食物过敏反应所表现的临床症状轻重不一,轻者仅仅表现为局部的红斑,重者则可引起致命性的休克。CRD 可以通过检测主要过敏原及相应的 sIgE 水平和表位结合模式来预测过敏反应的严重程度及持续时间,其结果有助于医生建议患者是否进行特异性免疫治疗,有利于患者及时恢复正常饮食,提高生活质量。

主要过敏原的种类及特性影响过敏反应的严重程度。首

先同一食物来源的不同的过敏原,因作用途径不同可引起不同强度过敏反应,小麦过敏就是很好的例子,病人可以表现为面包师哮喘、食用小麦后引起的食物过敏、小麦花粉过敏。再者,主要过敏原的生物化学特性也会影响食物过敏反应的严重程度,当对生蔬菜中不稳定的分子如 PR-10 蛋白、抑制蛋白过敏的患者,往往表现为较轻的局部症状,然而若是对耐物理及化学加工过程的过敏原如 LTPs、2S 清蛋白、 ω -5 麦胶蛋白等过敏的患者,即使食用加工过的食物也可能会出现严重的系统性的过敏反应^[6]。

IgE 抗体识别并结合的过敏原蛋白氨基酸结构称为 IgE 连接的抗原表位。抗原表位可提供食物过敏预后信息。随着诊断技术的发展,CRD 可以检测抗原表位,Lin J 等^[7]综述了过敏原线性表位可能可以作为区分食物过敏类型的生物标记。持续的鸡蛋过敏患者血清识别的是线性表位,而且比耐受患者的血清中有更高水平的 sIgE^[8]。牛奶过敏的 IgE 识别牛奶蛋白的线性表位和多种不同的抗原表位可以作为持续牛奶过敏的标记。另外,在儿童牛奶过敏耐受的发现,IgE 连接的抗原表位在逐渐降低,IgG4 连接的抗原表位逐渐增加^[9]。由此,我们可以推测通过检测 IgE 连接的线性表位及抗原表位的多态性可以预测过敏反应的严重程度及持续时间。

欧洲第一次苹果过敏的 CRD 研究发现,苹果变应原 nsLTP (Mal d3) 反应的严重程度是苹果 Mal d1 (Bet v1 同源) 的 7 倍,推测 nsLTP 与严重过敏反应相关^[10]。然而,在地中海地区,对 nsLTP 过敏反应的严重程度则从症状性的过敏到严重的致命性过敏反应不等^[11]。花生变应原 Ara h1、Ara h2 和 Ara h3 与严重的过敏反应相关,但是在严重花生过敏反应的病人中这些变敏原却可能都是阴性的^[12],这可能和花粉相关的交叉致敏原以及共同作用因子有关。流行病学数据表明,成人发生的与食物相关的过敏反应 39% 都与共同作用因子有一定的关系,这些共同作用因子包括运动、非甾体类抗炎药、酒精等^[13]。

因此,CRD 也许可以作为评估过敏反应风险的有用工具,但是我们还应了解过敏反应不仅仅是取决于患者食物变敏原的致敏谱,也和变敏原与人体免疫球蛋白的亲合力、反应的途径、变敏原的特点以及存在的共同作用因子有关^[13]。大量的 CRD 研究可以逐渐澄清这些问题,让过敏病人得到更好的建议及预防。

3.3 确定原发过敏与交叉过敏反应

食物过敏原和吸入性过敏原之间,由于相似的分子结构可引起交叉过敏反应。如豚草属过敏的枯草热病人通常伴有甜瓜和香蕉过敏,桦树和苹果、艾属植物和蔬菜间的交叉过敏导致花粉-食物过敏综合征。是什么过敏原引起了这种交叉反应一直无法确定。20 世纪 80 年代后期,随着重组过敏原的发展和在分子水平检测单个过敏原成分的实现,使 CRD 用来鉴别原发过敏和交叉过敏成为可能。

桦树花粉的主要过敏原 Bet v1 是花粉-食物过敏综合征的致病交叉反应过敏原。此外,Bet v1 与花生过敏原成分 Ara h8 之间具有高度氨基酸序列同源性,导致桦树花粉过敏患者出现花生过敏原检测呈阳性。传统的 SPT 和 sIgE 检测很难鉴别导致过敏的分子是 Bet v1 还是 Ara h8,而 CRD 检测能很容易区别,从而确定原发过敏和交叉过敏。最近研究报道,大豆过敏原成分 P34 和牛奶的酪蛋白间有相似的抗原表位,表明某些牛

奶过敏的病人可能同时会有大豆过敏的症状^[14]。另外,采用 CRD 已确定肌动蛋白是所有花粉和植物性食物的交叉过敏原;虾的主要过敏原肌球蛋白是虾和屋尘螨间的交叉过敏原。坚果、豆类的贮藏蛋白和蔷薇科、水果、蔬菜等植物性食物的 LTPs 是引起食物间交叉过敏反应的过敏原^[15]。利用 CRD 建立病人的过敏反应资料,分析潜在的交叉过敏反应,可以更好地帮助临床决策。

3.4 指导特异性免疫治疗

特异性免疫治疗 (allergen-specific immunotherapy, SIT) 是指利用逐渐增加剂量的过敏原诱导机体免疫耐受的过程。由于 CRD 可以提供病人特异性的过敏原信息,有助于 SIT 抗原的选择,因此也被称为“成分特异性的免疫治疗 (component-resolved immunotherapy, CRIT)”。只有当种属特异性的过敏原被确认后,CRIT 才能正确有效。为了证明 CRD 对免疫治疗的重要性,最新研究^[16-17]表明所纳入研究的病人中,CRD 的结果改变了将近一半的病的最初的 CRIT 的应用。由于地域和过敏原来源的差异和病人 sIgE 资料的多态性,目前 CRIT 的临床实际应用还存在一定的局限^[18-19],对 CRD 引导的 CRIT 是否提高了治疗的有效性尚需进一步的评估。虽然免疫治疗有着悠久的历史,现已能很好地用于呼吸道过敏^[20],但是用于食物过敏还需要更多的研究。

4 小结

综上所述,分子诊断在食物过敏检测的研究中具有突出的优点。它从分子水平对变应原 sIgE 进行检测,可发现食物过敏的标志性变应原,为 CRIT 提供指导,预测过敏反应持续时间及严重程度,在一定程度上确定原发过敏与交叉过敏反应,预测 OFC 结果,减少进行激发试验的人数。CRD 可以分析单个过敏原成分的阳性及阴性结果,因此,也可以建立个人的过敏原资料的全局图谱,有利于帮助医生更好地做出临床决策。分子诊断属于体外检测方法之一,必须结合临床病史、体征,才能更准确的诊断食物过敏。CRD 拥有良好的应用前景,但是目前还是不能取代现有的诊断试验方法,OFC 仍然是诊断食物过敏的金标准,还需要我们更进一步地研究和探索。

参考文献:

- [1] SASTRE J. Molecular diagnosis in allergy [J]. *Clinical & experimental allergy*, 2010, 40: 1442-1460.
- [2] D'URBANO L E, PELLEGRINO K, ARTESANI M C, et al. Performance of a component-based allergy-microarray in the diagnosis of cow's milk and hen's egg allergy [J]. *Clin Exp Allergy*, 2010, 40(10): 1561-1570.
- [3] ASARNOJ A, OSTBLOM E, AHLSTEDT S, et al. Reported symptoms to peanut between 4 and 8 years among children sensitized to peanut and birch pollen-results from the BAMSE birth cohort [J]. *Allergy*, 2010, 65(2): 213-219.
- [4] BALLMER-WEBER B K, LIDHOLM J, FERNÁNDEZ-RIVAS M, et al. IgE recognition patterns in peanut allergy are age dependent: perspectives of the EuroPrevall study [J]. *Allergy*, 2015, 70(4): 391-407.
- [5] RUMIKO SHIBATA, SANKEI NISHIMA, AKIRA TANAKA, et al. Usefulness of specific IgE antibodies to ω -5 gliadin in the diagnosis and follow-up of Japanese children with wheat allergy [J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2011, 107(4): 337-343.
- [6] SANZ M L, BLAZQUEZ A B, GARCIA B E, et al. Microarray of allergenic component-based diagnosis in food allergy [J]. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2011, 11(3): 204-209.
- [7] LIN J, SAMPSON HA. The role of immunoglobulin E-binding epitopes in the characterization of food allergy [J]. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2009, 9(4): 357-363.
- [8] JARVINEN K M, BEYER K, VILA L, et al. Specificity of IgE antibodies to sequential epitopes of hen's egg ovomucoid as a marker for persistence of egg allergy [J]. *Allergy*, 2007, 62(7): 758-765.
- [9] SAVILAHTI E M, RANTANEN V, LIN J S, et al. Early recovery from cow's milk allergy is associated with decreasing IgE and increasing IgG4 binding to cow's milk epitopes [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2010, 125(6): 1315-1321.
- [10] FERNÁNDEZ-RIVAS M, BOLHAAR S, GONZÁLEZ-MANCEBO E, et al. Apple allergy across Europe: how allergen sensitization profiles determine the clinical expression of allergies to plant foods [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2006, 118(2): 481-488.
- [11] PASCAL M, MUÑOZ-CANO R, REINA Z, et al. Lipid transfer protein syndrome: clinical pattern, cofactor effect and profile of molecular sensitization to plant-foods and pollens [J]. *Clin Exp Allergy*, 2012, 42(10): 1529-1539.
- [12] SICHERER S H, SAMPSON H A. Food allergy: epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2014, 133(2): 291-307.
- [13] WÖLBING F, BIEDERMANN T. Anaphylaxis: opportunities of stratified medicine for diagnosis and risk assessment [J]. *Allergy*, 2013, 68(12): 1499-1508.
- [14] ANGELA MARÍA CANDREV, PAOLA LORENA SMALDINI, RENATA CURCIARELLO, et al. Cross-reactivity between the soybean protein P34 and bovine caseins [J]. *Allergy Asthma Immunol Res*, 2015, 7(1): 60-68.
- [15] VAN WINKLE R C, CHANG C. The biochemical basis and clinical evidence of food allergy due to lipid transfer proteins [J]. *Allerg Immunol*, 2014, 46(3): 211-224.
- [16] SASTRE J, LANDIVAR M E, RUIZ-GARCÍA M, et al. How molecular diagnosis can change allergen-specific immunotherapy prescription in a complex pollen area [J]. *Allergy*, 2012, 67(5): 709-711.
- [17] LETRÁN A, ESPINAZO M, MORENO F, et al. Measurement of IgE to pollen allergen components is helpful in selecting patients for immunotherapy [J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2013, 111(4): 295-297.
- [18] TRIPODI S, FREDIANI T, LUCARELLI S, et al. Molecular profiles of IgE to Phl, eum pratense in children with grass pollen allergy: Implications for specific immunotherapy [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2012, 129(3): 834-839.
- [19] DARSOW U, BROCKOW K, PFAB F, et al. Allergens. Heterogeneity of molecular sensitization profiles in grass pollen

allergy-implications for immunotherapy [J]. Clin Exp Allergy, 2014, 44(5): 778-786.

anniversary of immunotherapy with recombinant allergens [J]. Allergy, 2011, 66(6): 775-783.

[20] VALENTA R, LINHART B, SWOBODA I, et al. Recombinant allergens for allergen-specific immunotherapy: 10 years

(编辑:曾敏莉)
(收稿日期:2015-03-10 修回日期:2015-04-29)

· 编者 · 作者 · 读者 ·

《儿科药理学杂志》2017 年度征订启事

《儿科药理学杂志》是由重庆医科大学附属儿童医院与中国药学会儿科药理学专业组主办的目前我国儿科药理学领域唯一的专业性学术刊物。国际标准连续出版物号:ISSN 1672-108X, 国内统一连续出版物号:CN 50-1156/R。《儿科药理学杂志》为儿科学类核心期刊、中国科技论文统计源期刊、中国科技核心期刊,被国内主要的文献数据库全文刊载,被美国化学文摘(CA)收录。

本刊系统报道和交流儿科药学的进展与动态,理论联系实际,集科学性、学术性、实用性与知识性为一体,注重实用,兼顾提高。其宗旨是推动我国儿科药学的学科发展,促进儿童合理用药水平的提高,为儿童健康事业服务。辟有专家论坛、论著(基础研究、儿科临床药理、儿科药物治疗学、儿科临床药理学、儿科药物制剂与质量控制)、临床(药事)管理与规范、综述、经

验交流、短篇报道、编者·作者·读者等栏目。《儿科药理学杂志》是指导我国儿科药物研究和临床合理用药,提高儿科临床药物治疗水平的重要科技期刊。以全国儿童(科)医院、妇幼保健院(所、站)、综合医院儿科的医学、药学工作者及基层医务人员,全国从事儿童药品研究、开发、生产、流通的相关人员及医药院校师生、药事管理人员等为主要读者对象。

本刊为月刊,大 16 开 64 页,铜版纸精美印刷,每月 10 日出版,每册定价 9.00 元,全年 108.00 元。全国各地邮局均可订阅,邮发代号:78-133。未及时订阅者,可直接向编辑部订购。编辑部地址:重庆市渝中区中山二路 136 号重庆医科大学附属儿童医院内《儿科药理学杂志》编辑部,邮编:400014。电话:(023)63633143,63626877;E-mail:ymjd2003@163.com。儿科药理学杂志投稿网址:http://ekyx.jourserv.com。

欢迎订阅 2017 年《医药导报》杂志

《医药导报》杂志系中国药理学会、华中科技大学同济医学院附属同济医院联合主办的医药专业期刊,国内外公开发行。国内统一刊号:CN42-1293/R, 国际标准出版物号:ISSN1004-0781。《医药导报》杂志是国家科技部中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊),被美国《化学文摘》(CA)、《国际药文摘》(IPA)、《乌利希期刊指南》和《WHO 西太平洋地区医学索引》收录,还被万方数据库、中国学术期刊网络出版总库、中文科技期刊数据库等国内多家大型数据库收录。设有“特约稿”“药物研究”“药物与临床”“药学进展”“药物制剂与药品质量控制”“用药指南”“新药介绍”“临床药师交流园地”“药物不良反应”“药事管理”“世界新药信息”“作者·

编者·读者”等栏目,每期组编某类药物或某类疾病的药物治疗专栏。读者对象是临床医师、药师、医药院校师生和医药研究所、药品检验所的科技工作者及药品监督管理、医药工商企业经营者。

《医药导报》杂志为月刊,每月 1 日出版,2017 年每期 25.00 元,全年 300.00 元(含邮资),欢迎广大读者积极到当地邮局订阅,如错过邮局订阅时间,可随时向该刊编辑部邮订。地址:武汉市解放大道 1095 号同济医院《医药导报》编辑部,邮政编码:430030, E-mail:yydbzz@163.com。电话及传真:(027)83643083,83666619,83663559。国内总发行:湖北省邮政报刊发行局。邮发代号 38-173。

《中国执业药师》杂志 2017 年征订征稿启事

《中国执业药师》杂志为国家食品药品监督管理总局主管,中国药师协会主办的药学期刊。2017 年本刊的主要栏目包括:论著、综述(制剂研究、药品质量控制、药动学与药效学研究、药物的实验研究与临床研究、治疗药物监测、药物临床应用及应用再评价等)、药物经济学、药学信息服务、新药述评、药师与临床、

药事管理、药品不良反应。

本刊为月刊,每月 1 日出版,每期 56 页,定价 8 元/期,全年 96 元。面向国内外公开发行,邮发代号 80-740。欢迎广大读者、作者到邮局订阅本刊和通过本刊官网 www.zhongguoyaoshi.com 积极投稿。