

花生过敏原检测、降敏加工 及脱敏治疗研究进展

田 阳^{1,2}, 饶 欢^{1,2}, 薛文通^{1,2,*}

(1. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京食品营养与人类健康高精尖创新中心, 北京 100083;

2. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘 要:花生过敏在世界范围内的发病率较高, 目前尚无有效治疗方法。本文对花生过敏原检测、降敏加工方法进行综述, 同时对尚处于研究阶段的花生过敏治疗方法进行整理, 为低致敏花生制品的开发及脱敏方法的有效建立提供参考。

关键词:花生致敏原, 检测, 加工, 脱敏治疗

Advances in research on the detection of peanut allergens, desensitized process and therapy

TIAN Yang^{1,2}, RAO Huan^{1,2}, XUE Wen-tong^{1,2,*}

(1. Beijing Advanced Innovation Center for Food Nutrition and Human Health, College of Food Science
and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China;

2. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agriculture University, Beijing 100083, China)

Abstract: The morbidity of peanut allergy around the world is relatively high, and for now there is no effective treatment. In this paper, the allergen detection and desensitization processing methods were reviewed. Desensitization and treatment methods were also reviewed in this paper, which would provide reference for the development of low-sensitized peanut products and desensitization methods.

Key words: peanut allergens; detection; processing; desensitization therapy

中图分类号: TS255

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2017)18-0306-06

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2017.18.058

食物过敏在世界范围内的发病率高达1%~2%, 在成人中的发病率达到5%, 儿童中的发病率达到8%, 且其发病率仍在逐年攀升^[1]。从患者角度来看, 影响食物过敏的原因可能包括患者自身的免疫功能差异性、遗传特性、性别、饮食习惯、抗氧化剂摄入降低及抗酸类药物的过多使用等^[1]。从食品角度来看, 花生、牛奶、豆类、鸡蛋、坚果、鱼类、甲壳类、小麦这八类食物诱发产生的食物过敏占过敏人数总量的90%。花生过敏在美国、加拿大、英国、以色列的儿童发病率分别达到了1.4%、1.7%、1.9%和0.2%^[2]。

目前, 在食品工业中为了更安全健康地使用花生进行生产, 通常采用热加工、超高压微射流、辐照、单一或复合酶解等方式对花生致敏蛋白进行改性, 以求破坏其致敏表位或降低其与免疫球蛋白E(IgE)的结合能力^[3]。在过敏治疗方面, 已有研究在动物、细胞平台对花生的致敏性进行评价^[4], 并通过

低剂量、高频率的方式, 使用低致敏食物刺激幼儿, 使其逐渐降低对花生的敏感程度^[5], 但效果不是非常理想。

目前, 针对花生致敏蛋白进行改性, 以求降低或根除其致敏性的研究并不鲜见。但据报道, 这些改性方法都只能部分降低甚至升高花生的致敏性, 并不能完全避免过敏。花生致敏一旦发生便伴随终生, 严重时可导致死亡, 过敏患者必须严格避免摄入花生。随着食品工业的蓬勃发展, 越来越多的食品中开始添加花生作为辅料, 这就使得花生降敏加工方式的开发显得尤为重要。本文对花生致敏原的检测及过敏患者诊断方法研究进行整理, 并从致敏蛋白发生结构改性和结合特性变化的角度, 探讨各类花生脱敏及治疗方法的有效性, 同时对国内外先进的脱敏治疗手段进行综述, 为低致敏花生制品的开发奠定理论基础。

收稿日期: 2017-02-23

作者简介: 田阳(1992-), 女, 博士研究生, 研究方向: 蛋白质工程, E-mail: Tiany@cau.edu.cn。

* 通讯作者: 薛文通(1962-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 蛋白质工程, E-mail: xwt@cau.edu.cn。

基金项目: 国家自然科学基金(31471614); 国家现代农业产业技术体系(CARS-09-G15)。

1 花生致敏原检测技术

建立高效完备的致敏原检测方法和过敏诊断技术,对于防治花生过敏尤为重要。在致敏原检测方面,常用的方法主要包括免疫学检测方法(如ELISA、PCR、杂交印迹法等)及其他方法(如生物传感器法、质谱法、高效液相色谱法等)。而过敏的诊断则多为临床实验方法,最常见的是皮肤点刺实验(Skin Prick Test, SPT)、食物激发实验等。

1.1 致敏原检测方法

双抗夹心 ELISA 法和杂交印迹法都是利用抗原与抗体的特异性结合进行抗原鉴定,但该方法必须在事先获取抗体的条件下进行检测。通常以花生过敏患者的血清或制备的单克隆抗体作为一抗,与待测样品中的抗原结合,然后添加可以显色的二抗,制作标准曲线,即可测得样品中的抗原含量^[6]。目前国内外学者对此法不断改进,使其检出限不断降低,目前针对花生过敏原的检出限可达到 8~20 ng/mL^[7]。不少国内外学者积极研制针对花生主要过敏原 Ara h1、Ara h2、Ara h3、Ara h6、Ara h9 的抗体,将其作为商品化的一抗用于检测待测物中的抗原成分^[8-10]。然而,由于食品中蛋白种类及含量较多,复杂的加工过程又会使蛋白解离或聚合,交叉反应的存在也常常会使检测结果呈现假阳性,由此可见,该方法通常只用于定性检测。PCR 扩增技术可检测花生致敏原的 DNA,花生蛋白可能在加工中受到破坏,但其 DNA 仍可被 PCR 技术检测^[11]。与 ELISA 法等相比,该法具有效率高、效果佳的优点,但由于 DNA 污染等因素也可造成假阳性结果。

基于质谱法的相关检测技术(如 LC-MS/MS、ICP-MS 等)一般会将待测物分离纯化或直接电离成为等离子体,借助蛋白质信息库对食物中的蛋白质进行鉴定,以确定样品中是否含有目标致敏原。此外,生物信息学分析法可将外源基因表达的氨基酸序列在国际公认的权威数据库中进行生物信息学比对,来确认其与已知抗原的相似性。如果待测物中的氨基酸序列与已知致敏原序列相似性较高,说明其潜在交叉反应性较高,致敏风险较大^[12]。蛋白质组学^[13]与基因组学也可应用至致敏原检测,通过获取待检物中所含蛋白及相关基因的所有信息,并与致敏原数据库进行比对,即可得知致敏相关信息。

1.2 过敏诊断技术

花生过敏是 IgE 介导的 I 型超敏反应,因此可通过检测患者血液中是否含有针对花生致敏原的特异性 IgE 来判断患者是否过敏。一般以 IgE 含量超过 15 kIU/L 时,将过敏阳性预测值定为 95%^[14],该法安全可靠,但所需时间较长,费用较高。

皮肤点刺实验是根据过敏患者产生风团的过敏症状来判断其过敏物。在一定范围内,少量致敏原针刺皮肤后出现风团或红斑的面积与致敏原的生物活性呈现线性关系^[6]。国外学者曾使用重组花生过敏原的方法制备 rAra h1、rAra h2 等主要花生过敏原,用于 SPT 实验,结果发现其灵敏性较高,但准确性较差^[15]。虽然该法检测过程花费时间较短,费用

较低,但实际操作时往往需要多次点刺实验才能确定患者到底对哪一种致敏原过敏,风团的产生与消退也会给患者带来较大痛苦。

双盲安慰剂对照食物刺激实验(double-blind placebo-controlled food challenge, DBPCFC)早在 1988 年已被欧洲变态反应和临床免疫学会评定为诊断食物过敏的权威检测法^[16]。但该方法需要待测者直接进食致敏食物,风险较高,实验的条件要求较高。

2 加工对花生致敏蛋白的影响

2.1 热加工

常用于加工花生的处理方法可分为热加工与非热加工两类,作为使用率最高的加工方式,热加工可充分促进花生产生香气及良好的口感。生产者通常对花生整体施以热加工,加热时间和时间的不同会显著影响致敏蛋白结构的变化,同时花生中的脂肪和糖类也会在此过程中与蛋白反应,结合在致敏蛋白表面,形成糖蛋白,致使蛋白的致敏表位破坏或者暴露,有时也会形成新的过敏表位,从而增强花生致敏性。

研究表明,温度和时间对致敏原结构的改变有着重要作用,当热处理的温度高于 70 °C 时,致敏原的三级、二级结构都将发生不可逆的改变,同时较大的蛋白质分子内部发生解离,蛋白质分子间也会发生聚集^[17]。由于热处理中使用的温度、时间、传热介质不同,致敏原的致敏性呈现上升或降低的程度也各不相同。

水煮已被证实是一种可以降低花生致敏性的加工方式。根据本课题组前期实验结果证实^[18],随着水煮时间延长,致敏原结构的松散程度显著增加,其致敏性呈现下降趋势。这可能是由于水煮过程中大量水分子进攻致敏蛋白,降低了蛋白结构的致密程度,使得一些保守结构,尤其是 α -螺旋、 β -折叠等含量降低,从而失去了对致敏表位的保护作用。

Rao 等^[18]对花生施以烘烤,结果发现当烘烤温度超过 130 °C,时间超过 20 min,蛋白的表面疏水性指数上升到最高值, α 螺旋的含量降低, β 折叠和无规则卷曲的含量上升,蛋白结构达到较松散的状态,此时花生的致敏性显著下降。但也有研究表明,烘烤使得致敏蛋白发生美拉德反应,该反应对致敏原的修饰作用可能使其形成新的致敏表位,导致其致敏性上升^[19]。Guillon 等^[20]经 Balb/C 小鼠致敏实验表明,烘烤花生中的 Ara h1 可与 Ara h6 相互结合,形成的复合物具有较高的免疫活性,而 Ara h6 蛋白本身聚合形成的同质聚合物却难以与 Balb/C 小鼠的 IgE 抗体结合,导致其难以诱发 Th2 型免疫反应。Qin 等^[21]对 Ara h2.02 进行热加工,结果发现 121 °C 处理后的蛋白难以与其核心致敏表位 3 (DRRCQSQLER)、6 (RDPYSP) 和 7 (SQDPYSPS) 结合,在分子水平上论证了热加工对致敏原结合特性的影响。由此可见,热加工较易使蛋白形成聚合物,其中一些聚合物与靶器官或靶细胞结合效率较高,由此免疫活性较高;另外一些则失去了与抗体结合的能力,故无法刺激产生过敏反应。

糖基化作为经常使用的蛋白特性改良方法,也被许多学者应用在低敏花生的开发中。采用湿法糖基化可以使糖类较快以共价键形式与蛋白质结合。据报道,糖蛋白由于体积较大,可以有效降低与其他致敏蛋白交联的几率,从而一定程度上降低致敏性^[22]。此外,糖类易与肽链中的赖氨酸结合,从理论上来说可以遮蔽赖氨酸参与的致敏表位。但由于致敏蛋白的多样性和表位的复杂性,很难将糖基化作为降低致敏性的有效手段。Vissers等^[23-25]对 Ara h2 及 Ara h6 蛋白进行提取纯化,然后施以热加工或葡萄糖糖基化,结果发现 Ara h2 与 Ara h6 在热加工过程中二级结构遭到破坏,致敏能力显著下降。而 Blanc 等^[26]研究表明,与热处理后的 Ara h1 蛋白相比,糖基化后的 Ara h1 并未显现出较低的致敏原性。由此可见糖基化并不一定可以降低花生致敏性,花生主要致敏原 Ara h1 中某些致敏表位位于亚基之间相互缠绕的地方,这可能使其受到保护而避免了与糖类分子的结合,故而无法有效降敏。

研究加工对某单一蛋白的影响可以深入探索该加工方式用于降敏加工的可行性及其降敏机理,结合致敏蛋白结构与其致敏性的变化进行分析,可以为后续的降敏加工方式的选择及优化设计提供有效的参考和研究基础。

2.2 非热加工

随着非热加工在食品生产中的应用越来越广泛,许多学者也尝试使用非热加工的方式处理致敏蛋白。酶解法由于其安全、高效、环保的特点,被广泛应用于食品工业生产中。酶交联技术可以使蛋白质之间发生聚合反应,从而遮蔽某些致敏表位,降低致敏性。R J 等^[27]使用酪氨酸酶处理花生致敏原,结果发现 Ara h2 的致敏性有所提升,而花生蛋白整体的致敏性并没有显著改变。Mihajlovic 等^[28]使用微生物多酚氧化酶和漆酶交联花生致敏原,结果表明部分交联产物可诱导小鼠产生大量抗体 IgG2a,从而提升其致敏性。

酶分解技术则是将致敏原大量分解,降低致敏原含量,破坏其表位结构及降低其与 IgE 的结合特性。L H 等^[29]的研究结果表明,使用超声波辅助酶解法可以大幅降低花生主要过敏原 Ara h1、Ara h2、Ara h3 的含量,从而减少其与 IgE 结合的机会,降低致敏性。与此类似的还有使用微生物发酵法分解致敏蛋白的相关研究。周阳^[30]的研究表明,枯草芽孢杆菌发酵不仅可使 Ara h1、Ara h2 的含量大幅降低,而且可将此二种致敏原与 IgE 的结合能力下调为零,纳豆芽孢杆菌可使 Ara h1 与 IgE 的结合能力下降 48%。

脉冲电场处理、辐照技术及高压蒸汽处理等物理方法也可降低致敏原与抗体的结合特性。Zhao^[31]等对致敏蛋白进行脉冲处理,发现致敏蛋白与 IgE 抗体结合的能力显著降低;徐舒婷等^[32]采用电子束辐照处理花生过敏原,发现辐照剂量超过 10 kGy 时,致敏原与 IgE 结合的能力明显下降。有研究显示,脉冲紫外光(PUV)处理后的花生致敏原与 IgE 结合能力

下降了至少 6.7%, γ 射线辐照可使得花生致敏原与 IgG 的结合能力降低^[33]。有学者使用高压蒸汽处理花生仁,结果表明花生致敏原的 IgE 结合能力显著降低^[34]。

非热加工对花生致敏原的结合特性影响较多,可以作为有效的降敏手段处理花生。但目前研究关于花生致敏原发生结构变化、结合特性变化与其致敏性波动之间的规律并未被明确阐述,这仍然是今后研究的一大热点。

2.3 基因工程

还有一些学者为了探究二级结构变化与致敏性之间的相关关系,采用转基因构建新致敏原的方法进行研究。如 Guillon 等^[20]采用定点突变的方法依次敲除 Ara h2 蛋白的二硫键,结果发现,敲除羧基端的第 5 号二硫键可以有效降低 Ara h2 在 Balb/C 小鼠中的致敏性。不少学者使用基因沉默技术处理 Ara h2 蛋白的 DNA 序列,使得 Ara h2 的表达发生突变,致敏表位遭到破坏,故其致敏性显著降低^[35-37]。理论上来说,脱除致敏性最简单的方法是采用基因突变,重新编辑致敏原的序列,敲除编辑致敏表位的氨基酸,在一级结构上除去线性表位。但线性表位的确定工作繁重复杂,使用不同地区过敏患者的血清池检测出的过敏表位也不尽相同。一定程度上来说,构象型表位的含量较多,变化能力较大,发挥致敏效力的可能性也较大。目前市售花生多采用热加工,这就使得探究热加工对构象型表位产生何种影响显得尤为重要。但由于热加工条件变化较多,花生籽粒内部基质如淀粉、脂肪等参与反应,使得目前研究中得到的降敏加工方法并不统一,目前还没有能够有效降低致敏性的热加工方法。

3 花生过敏的治疗

花生过敏引发的致敏症状通常包括:皮肤荨麻疹反应或特异性皮炎、呼吸道水肿及消化道炎症等等,目前尚未报道有效的治疗方式。一些学者针对花生脱敏方法进行研究,总的来说,研究思路可以概括为细胞发敏抑制、人体/动物口服免疫治疗两大部分。

3.1 细胞发敏抑制

树突细胞、肥大细胞、嗜碱性粒细胞及 T 细胞是 IgE 介导的 I 型超敏反应最长攻击的靶细胞。靶细胞初次接触抗原时可形成免疫球蛋白 E(IgE),第二次接触抗原时,IgE 与抗原反应,刺激靶细胞脱颗粒,释放组胺及炎症因子(如:白细胞介素、肿瘤坏死因子、神经生长因子和干细胞因子)^[38]。这些小分子物质可以使机体毛细血管扩张、血管通透性增加产生局部水肿以及诱发各种炎症。孙娜^[3]建立了大鼠嗜碱性粒细胞系 RBL-2H3 的食物过敏模型,经鉴定具有良好的甄别及评价致敏原致敏性的能力。作者继而使用该细胞模型研究了细胞因子 DOK-1 在脱颗粒反应中的负调节机制,为开发新的抗敏药物提供了思路。也有学者以树突细胞为研究对象^[39],探究封闭其表面受体 TSLP 后 TH2 反应的抑制作用。

目前针对花生过敏反应尚未出现成熟可靠的治

疗方法,只能使用一般性 TH2 型过敏反应的抑制剂进行控制。在过敏初期注射肾上腺素,以促进机体外周毛细血管以及胃肠粘膜血管收缩,加快心率,改善心肌缺血。同时患者需及时口服组胺拮抗剂、H1 受体拮抗剂、H2 受体拮抗剂等等抑制细胞因子的作用。

3.2 人体/动物口服免疫治疗

2010 年美国杜克大学医学中心曾经招募 33 名过敏患者进行耐受实验,通过长期少量摄入花生粉,增强患者对花生致敏原的耐受性。5 年后有 4 名患者的花生过敏症被治愈^[40]。但该方法只适用于小范围实验,并不推荐在临床实验之外进行推广。这种脱敏方法一般称为口服免疫治疗 (Oral Immunotherapy, OIT)。20 世纪初期, Schofield^[41] 等第一次使用口服免疫治疗鸡蛋过敏。在患者饮食中不断保持致敏原的刺激,可使患者对鸡蛋的过敏性变得相对迟缓。但该种疗法并不能完全治愈过敏,由此学者们转而通过改变致敏原进入人体的方式来探究少量多次摄入过敏原是否可以优化过敏治疗的效果。

近年来,许多学者开始研究与口服免疫治疗相结合的辅助疗法。由于肠道菌群生态与食物过敏息息相关,一些学者在口服免疫治疗时添加益生菌作为辅剂,给药于受试者,最后得到了不同的实验结果。Tang 等^[42] 将 *L.rhamnosus* 菌添加到花生中作为辅剂,给药于过敏患者 2~5 周,83% 的患者在接受治疗后对花生呈现无过敏性。而使用鼠李糖乳杆菌治疗乳蛋白过敏患者时可提升其对牛奶的过敏性,干酪乳杆菌和双歧杆菌的添加对乳蛋白过敏患者并无作用^[43-45]。也有学者将抗体直接添加到治疗剂中进行口服免疫。研究表明,奥马珠单抗 (Omalizumab) 的添加可以同时牛奶过敏患者、花生过敏患者及其他过敏患者有较高的治疗效率^[46-49]。杨成斌等^[50] 使用抗氧化剂维生素 A、维生素 E 等治疗过敏的 C57BL/6 小鼠,结果发现,处理过的小鼠在肥大细胞数量、特征性细胞因子如 IgG2a、IL-6、IL-10 等的含量及钙离子通道活性等方面均呈现不同程度的降低,作者推测可能是抗氧化剂清除了钙离子通道 SOC 中的某些自由基所致,表明了抗氧化剂可以应用于脱敏治疗的可能性。

除此之外,口服免疫治疗过程中使用的抗体或疫苗制备也是影响治疗效果的关键因素。一般来说,疫苗的种类可包括:人工合成的致敏肽段、重组的低致敏蛋白(部分序列已突变)、及重组的 DNA 质粒^[51-52]。R A Wood 等^[53-54] 使用基因突变破坏了主要致敏原 Ara h1、Ara h2、Ara h3 的线性表位,然后将其装配在热变性的大肠杆菌中,制备成疫苗。该法虽能降低肥大细胞的激活率,但副反应较多,故不推荐应用于临床。Sampson^[55] 等将花生蛋白提取物作为疫苗,在一年内以低剂量注射到花生致敏患者体内,与空白组相比,实验组患者的抗敏性提高。但该方法用时较长且较为危险,故另有 Stark 等^[56] 使用碘乙醇将 Ara h2 烷基化,使 Ara h2 肽链上的巯基被封闭,

二级结构发生大规模解离。经过结构改造的 Ara h2 构象型致敏表位发生破坏,与 IgE 结合能力下降,但仍可以刺激 T 细胞产生细胞介质。Schulz 等^[57] 使用芳烃作为致敏原结合剂,致敏 Balb/C 小鼠,结果发现典型的芳烃化合物 TCDD(2,3,7,8-四氯二苯并二恶英)可以抑制花生致敏原与 IgE 结合。但由于 TCDD 本身对小鼠的脾等器官有较大毒性,可否应用于临床治疗还需要进一步研究。

与口服免疫治疗原理类似的还有皮下免疫治疗。Neslon 等^[58] 曾对花生过敏患者用该法治疗,结果发现,皮下注射过敏原会引起严重的系统性过敏反应,患者需不断摄入肾上腺素。此外,舌下免疫治疗(epicutaneous immunotherapy, EPIT)^[59]、上皮免疫治疗(sublingual immunotherapy, SLIT)^[60] 等都是学者们研究的对象,但综合比较可知,口服免疫治疗是该类方法中最为安全的一种,而且也较好的重现了患者摄入过敏原、消化道处理过敏原以及免疫细胞如何对过敏原产生反应。

4 结语

现有研究多集中于使用某一特定加工方式处理花生,然后评估其致敏特性。其中最常见热加工方式已被大多数研究证实并不能根除花生的致敏性,由此笔者建议,可将发酵、发芽、酶解、热加工等加工方式相互结合,综合处理花生。比如研制烘烤花生酶解的花生产品,然后检测其致敏原结构特性及致敏性变化规律,探究复合处理降低致敏性的可行性。此外,一些新型加工方法,如超滤等,也可以应用在花生乳饮料的开发中,以去除过敏原。益生菌调节肠道菌群生态,进而影响机体免疫应答的功能正在受到学者们的关注,因此益生菌发酵花生制品、花生酱益生菌添加制品都可能成为新的研究方向,为脱敏食物开发提供研究基础。此外,从脱敏治疗的角度来看,花生低致敏产品的开发同样具有研究意义。低致敏食品可以作为过敏患者免疫治疗的原料,在较长期限内以低剂量刺激患者,以求获得脱敏效果。

综合来看,花生脱敏涉及人口众多,危害较大,目前尚未出现有效的脱敏方法。加工对花生致敏原的修饰可在一定程度上改变致敏性,但距离开发完全脱敏的花生制品还很远。深入探究花生致敏原的构象改变与其致敏性之间的关系,在分子水平构建线性表位,在细胞层面研究各细胞因子释放规律,在动物层面探究致敏原对靶器官的影响,可以比较全面的评价花生的致敏性。在此基础上,尝试开发多样的脱敏方法,可以为低致敏食品的开发、维护食品安全提供新思路。

参考文献

- [1] Sicherer S H, Sampson H A. Food allergy: epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment [J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2014, 133(2): 291-307.
- [2] 周催. 利用动物模型研究食物潜在致敏性及其致敏机理 [D]. 北京: 中国农业大学, 2014.
- [3] 孙娜. 细胞模型用于食物蛋白致敏性评价及过敏机制研

究[D].北京:中国农业大学,2015.

[4] 饶欢,田阳,陶莎,等.加工方式对花生致敏性的影响及其致敏性评价研究进展[J].食品科学,2015,36(23):283-287.

[5] Fleischer D M, Sicherer S, Greenhawt M, et al. Consensus communication on early peanut introduction and the prevention of peanut allergy in high-risk infants[J]. World Allergy Organization Journal, 2015, 8(1):27.

[6] 李颖超.加工处理对花生致敏原的影响及其机理[D].无锡:江南大学,2016.

[7] Zeleny R, Schimmel H. Towards comparability of ELISA results for peanut proteins in food: A feasibility study[J]. Food Chemistry, 2010, 123(4):1343-1351.

[8] Pedrosa M, Boyano-Martínez T, García-Ara C, et al. Utility of specific IgE to Ara h 6 in peanut allergy diagnosis[J]. Annals of Allergy, Asthma & Immunology, 2015, 115(2):108-112.

[9] Klemans R J B, Os-Medendorp H, Blankestijn M, et al. Diagnostic accuracy of specific IgE to components in diagnosing peanut allergy: a systematic review[J]. Clinical & Experimental Allergy, 2015, 45(4):720-730.

[10] Ebisawa M, Movérare R, Sato S, et al. The predictive relationship between peanut- and Ara h 2-specific serum IgE concentrations and peanut allergy[J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology. In Practice, 2015, 3(1):131.

[11] 韩远龙,吴志华,闫飞,等.花生过敏原检测方法研究进展[J].食品科学,2012,33(13):305-308.

[12] Zeleny R, Schimmel H. Towards comparability of ELISA results for peanut proteins in food: A feasibility study[J]. Food Chemistry, 2010, 123(4):1343-1351.

[13] 贾敏,张亦凡,张银志,等.牛奶过敏原检测方法研究进展[J].食品工业科技,2015,36(12):385-389.

[14] 马月塘,邓列华.花生过敏症[J].实用皮肤病学杂志,2014(1):34-37.

[15] Eller E, Bindslev-Jensen C. Clinical value of component-resolved diagnostics in peanut-allergic patients[J]. Allergy, 2013, 68(2):190-194.

[16] Bock S A, Sampson H A, Atkins F M, et al. Double-blind, placebo-controlled food challenge (DBPCFC) as an office procedure: a manual[J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 1988, 82(6):986-997.

[17] 李颖超,钱和,孙秀兰,等.典型热加工对花生致敏蛋白及其免疫反应性的影响[J].食品工业科技,2015(5):95-98.

[18] Rao H, Tian Y, Tao S, et al. Key factors affecting the immunoreactivity of roasted and boiled peanuts: Temperature and water[J]. LWT - Food Science and Technology, 2016(72):492-500.

[19] Beyer K, Morrow E, Li X M, et al. Effects of cooking methods on peanut allergenicity[J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2001, 107(6):1077-1081.

[20] Guillon B, Bernard H, Drumare M F, et al. Heat processing of peanut seed enhances the sensitization potential of the major peanut allergen Ara h 6[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2016, 60(12):2722-2735.

[21] Cai Q, Zhang W, Zhu Q, et al. Influence of heat treatment on

the structure and core IgE-binding epitopes of rAra h 2.02[J]. Food Chemistry, 2016(202):404-408.

[22] Tate M D, Job E R, Deng Y M, et al. Playing hide and seek: how glycosylation of the influenza virus hemagglutinin can modulate the immune response to infection[J]. Viruses, 2014, 6(3):1294-1316.

[23] Vissers Y M, Blanc F, Skov P S, et al. Effect of heating and glycation on the allergenicity of 2S albumins (Ara h 2/6) from peanut[J]. PLoS One, 2011, 6(8):e23998.

[24] Vissers Y M, Iwan M, Adel-Patient K, et al. Effect of roasting on the allergenicity of major peanut allergens Ara h 1 and Ara h 2/6: the necessity of degranulation assays[J]. Clinical & Experimental Allergy, 2011, 41(11):1631-1642.

[25] Liu Y, Zhao G, Zhao M, et al. Improvement of functional properties of peanut protein isolate by conjugation with dextran through Maillard reaction[J]. Food Chemistry, 2012(131):901-906.

[26] Blanc F, Vissers Y M, Adel-Patient K, et al. Boiling peanut Ara h 1 results in the formation of aggregates with reduced allergenicity[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2011, 55(12):1887-1894.

[27] Radosavljevic J, Nordlund E, Mihajlovic L, et al. Sensitizing potential of enzymatically cross-linked peanut proteins in a mouse model of peanut allergy[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2014, 58(3):635-646.

[28] Mihajlovic L, Radosavljevic J, Nordlund E, et al. Peanut protein structure, polyphenol content and immune response to peanut proteins *in vivo* are modulated by laccase[J]. Food & Function, 2016, 7(5):2357-2366.

[29] Li H, Yu J, Ahmedna M, et al. Reduction of major peanut allergens Ara h 1 and Ara h 2, in roasted peanuts by ultrasound assisted enzymatic treatment[J]. Food Chemistry, 2013, 141(2):762-768.

[30] 周阳.微生物发酵对花生蛋白中致敏因子的影响研究[D].郑州:河南工业大学,2014.

[31] Zhao X, Yang W, Chung S Y, et al. Reduction of IgE immunoreactivity of whole peanut (*Arachis hypogaea* L.) after pulsed light illumination[J]. Food and Bioprocess Technology, 2014, 7(9):2637-2645.

[32] 许舒婷,高美须,支玉香,等.电子束辐照对花生过敏原免疫原性及生化性质影响的研究[J].核农学报,2012,26(7):1006-1011.

[33] Yang W W, Mwakatage N R, Goodrich-Schneider R, et al. Mitigation of major peanut allergens by pulsed ultraviolet light[J]. Food and Bioprocess Technology, 2012, 5(7):2728-2738.

[34] Cabanillas B, Maleki S J, Rodríguez J, et al. Heat and pressure treatments effects on peanut allergenicity[J]. Food Chemistry, 2012, 132(1):360-366.

[35] Bublin M, Breiteneder H. Developing therapies for peanut allergy[J]. International Archives of Allergy and Immunology, 2014, 165(3):179-194.

[36] White B L, Shi X, Burk C M, et al. Strategies to mitigate peanut allergy: production, processing, utilization, and

immunotherapy considerations[J]. Annual Review of Food Science and Technology, 2014(5): 155-176.

[37] Chung S Y, Reed S. Reducing food allergy: is there promise for food applications[J]. Current Pharmaceutical Design, 2014, 20(6): 924-930.

[38] 邹丽, 李欣, 高金燕, 等. I型超敏反应中肥大细胞脱颗粒活性物质及其信号通路研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2015(11): 4532-4537.

[39] 温立婷. 阻断树突状细胞 TSLP 受体对 TH2 免疫反应的影响[D]. 西安: 第四军医大学, 2014.

[40] Duke Medicine News and Communications. Allergy Treatment Helps Kids Tolerate Some Peanuts [OL]. http://corporate.dukemedicine.org/news_andpublications/news_office/news/allergy-treatment-helps-kids-tolerate-some-peanuts/view, 2011-02-09/2014-01-10.

[41] Schofield A T. A case of egg poisoning[J]. The Lancet, 1908, 171(4410): 716.

[42] Tang M L K, Ponsonby A L, Orsini F, et al. Administration of a probiotic with peanut oral immunotherapy: a randomized trial[J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2015, 135(3): 737-744.

[43] Canani R B, Nocerino R, Terrin G, et al. Effect of *Lactobacillus* GG on tolerance acquisition in infants with cow's milk allergy: A randomized trial[J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2012, 129(2): 580.

[44] Canani R B, Nocerino R, Terrin G, et al. Formula selection for management of children with cow's milk allergy influences the rate of acquisition of tolerance: a prospective multicenter study[J]. The Journal of Pediatrics, 2013, 163(3): 771-777.

[45] Hol J, van Leer EH, Schuurman BEE, et al. The acquisition of tolerance toward cow's milk through probiotic supplementation: a randomized, controlled trial[J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2008, 121(6): 1448-1454.

[46] Nadeau K C, Schneider L C, Hoyte L, et al. Rapid oral desensitization in combination with omalizumab therapy in patients with cow's milk allergy[J]. The Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2011, 127(6): 1622.

[47] Schneider L C, Rachid R, LeBovidge J, et al. A pilot study of omalizumab to facilitate rapid oral desensitization in high-risk peanut-allergic patients[J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2013, 132(6): 1368-1374.

[48] Bégin P, Dominguez T, Wilson S P, et al. Phase 1 results of safety and tolerability in a rush oral immunotherapy protocol to multiple foods using Omalizumab[J]. Allergy, Asthma & Clinical Immunology, 2014, 10(1): 7.

[49] Wood R A, Kim J S, Lindblad R, et al. A randomized, double

-blind, placebo-controlled study of omalizumab combined with oral immunotherapy for the treatment of cow's milk allergy[J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2016, 137(4): 1103-1110.

[50] 杨成彬, 闫浩, 刘晓宇, 等. 花生过敏小鼠腹腔肥大细胞 SOC 活性与 ROS 相关性研究[J]. 江西师范大学学报(自然版), 2012(1): 29-34.

[51] Marth K, Focke-Tejkl M, Lupinek C, et al. Allergen peptides, recombinant allergens and hypoallergens for allergen-specific immunotherapy[J]. Current Treatment Options in Allergy, 2014, 1(1): 91-106.

[52] Zhu Z, Yu J, Niu Y, et al. Enhanced Prophylactic and Therapeutic Effects of Polylysine-Modified Ara h 2 DNA Vaccine in a Mouse Model of Peanut Allergy[J]. International Archives of Allergy and Immunology, 2016, 171(3-4): 241-250.

[53] Wood R A, Sicherer S H, Burks A W, et al. A phase 1 study of heat/phenol-killed, *E. coli*-encapsulated, recombinant modified peanut proteins Ara h 1, Ara h 2, and Ara h 3 (EMP-123) for the treatment of peanut allergy[J]. Allergy, 2013, 68(6): 803-808.

[54] Prickett S R, Voskamp A L, Dacumos-Hill A, et al. Ara h 2 peptides containing dominant CD4+ T-cell epitopes: candidates for a peanut allergy therapeutic[J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2011, 127(3): 608-615.

[55] Sampson H A. Peanut oral immunotherapy: is it ready for clinical practice? [J]. The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice, 2013, 1(1): 15-21.

[56] Starkl P, Felix F, Krishnamurthy D, et al. An unfolded variant of the major peanut allergen Ara h 2 with decreased anaphylactic potential[J]. Clinical & Experimental Allergy, 2012, 42(12): 1801-1812.

[57] Schulz V J, Smit J J, Willemsen K J, et al. Activation of the Aryl Hydrocarbon Receptor Suppresses Sensitization in a Mouse Peanut Allergy Model[J]. Toxicological Sciences An Official Journal of the Society of Toxicology, 2011, 123(2): 491-500.

[58] Nelson H S. Subcutaneous immunotherapy versus sublingual immunotherapy: which is more effective? [J]. The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice, 2014, 2(2): 144-149.

[59] Dupont C, Agbotounou W K, Thébault C, et al. Deciphering the dose-response effect of Peanut Epicutaneous Immunotherapy (EPIT) in peanut allergic subjects[J]. Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2015(70): 117.

[60] Ye P, Kulis M D, Guo R, et al. Sublingual Immunotherapy (SLIT) Regulates the Expression of Transcription Factors and Interleukins in Peanut Allergic Children[J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2016, 137(2): AB194.

(上接第 305 页)

[31] 盛晓凤, 孙晓杰, 丁海燕, 等. 七种养殖淡水鱼类肌肉营养成分及对比研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(3): 359-363.

[32] 叶彬清, 陶宁萍, 王锡昌. 秋刀鱼肌肉营养成分分析及评价[J]. 营养学报, 2014, 36(4): 406-408.

[33] 初庆柱, 刘书成, 范德炜, 等. 南极拟扇虾肌肉营养成分

分析[J]. 水生生物学报, 2012, 36(1): 168-172.

[34] 邢薇, 罗琳. 鲢鳙鱼营养价值值的比较研究[J]. 中国水产, 2015(3): 74-77.

[35] 张凤桦, 宋军, 张瑞, 等. 养殖南方大口鲶肌肉营养成分分析和品质评价[J]. 食品科学, 2012, 33(17): 274-278.