



Revue générale

Les protéines à motif cupine : allergènes majeurs des graines

Proteins with cupin motif as major seed allergens

P. Rougé^{a,*}, E. Brunet^a, J.-P. Borges^a, A. Jauneau^b, B. Saggio^c, T. Bourrier^d,
F. Rancé^e, A. Didier^f, A. Barre^a

^a UMR-CNRS 5546, université de Toulouse, 24, chemin de Borde-Rouge, 31326 Castanet Tolosan cedex, France

^b IFR 40, université de Toulouse, 24, chemin de Borde-Rouge, 31326 Castanet Tolosan, France

^c Laboratoire de biologie, hôpital Lenval, 57, avenue de la Californie, 06200 Nice, France

^d Pneumologie et allergologie pédiatrique, hôpital de l'Archet-II, 151, route de St-Antoine-de-Ginestière, 06200 Nice, France

^e TSA 70034, allergologie-pneumologie, hôpital des Enfants, 330, avenue de Grande-Bretagne, 31059 Toulouse cedex, France

^f Clinique des voies respiratoires, CHU Larrey, 24, chemin de Pourvoirville, 31059 Toulouse cedex 09, France

Reçu le 20 septembre 2010 ; accepté le 24 septembre 2010

Résumé

Les allergènes majeurs de l'arachide, des fruits à coque et des autres graines comestibles correspondent essentiellement à des protéines de réserve s'accumulant dans les corps protéiques au cours de la maturation de la graine. Les globulines à motifs cupine sont les protéines de réserve les plus abondantes. On les subdivise en globulines 7S ou vicillines et globulines 11S ou légumine. Les vicillines résultent de l'association non covalente de trois monomères constitués d'une seule chaîne peptidique, en un homotrimère aplati de forme triangulaire. Les légumine se distinguent des vicillines par des monomères à deux chaînes peptidiques qui s'associent en homotrimères puis, deux trimères s'associent en hexamère. À la différence des légumine qui sont rarement glycosylées, les vicillines sont généralement N-glycosylées. Les vicillines et légumine sont largement distribuées dans les graines de nombreuses familles végétales où elles ont été identifiées (Ara h 1 et Ara h 3 de l'arachide) ou seulement suspectées (germine de la châtaigne) comme allergènes majeurs. En raison de leurs fortes homologues séquentielle et structurale, elles donnent lieu à de nombreuses réactions croisées dont la signification clinique n'a pas toujours été démontrée.

© 2010 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Cupine ; Vicilline ; Légumine ; Allergènes des graines ; Allergénicité ; Épitope B

Abstract

Major allergens of peanut, tree nuts and other edible seeds, essentially consist of seed storage proteins that are deposited into the protein bodies during the seed ripening process. Globulins with cupin motifs are the most abundant seed storage protein allergens. They are classically subdivided in two groups of 7S and 11S globulins, which correspond to vicilins and legumins, respectively. Vicilins result from the non-covalent association of three single-chain monomers in flattened triangular-shaped homotrimers. Legumins definitely differ from vicilins by homotrimers built up from two-chain monomers, subsequently associated face to face in a homo-hexameric structure. In addition, vicilins are usually N-glycosylated whereas legumins are essentially non-glycosylated. Both vicilin and legumin proteins are widely distributed as major allergens, e.g. Ara h 1 (vicilin) and Ara h 3 (legumin) of peanut (*Arachis hypogaea*), or as putative allergens, e.g. germin (legumin) of chestnut (*Castanea sativa*), in edible seeds of different plant families. According to their high degree of both sequential and structural conservation, they often trigger IgE-binding cross-reactions in sensitized individuals. In most cases, however, the clinical significance of these IgE-binding cross-reactivities still remains to be assessed.

© 2010 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Keywords : Cupin; Vicilin; Legumin; Seed allergen; Allergenicity; IgE-binding B-cell epitope

1. Introduction

Les anaphylaxies à l'arachide, aux fruits à coque et, plus généralement, aux graines comestibles, occupent une place

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : rouge@scsv.ups-tlse.fr (P. Rougé).

importante en allergie alimentaire en raison de leur fréquence et de leur gravité potentielle [1–3]. Les allergènes incriminés sont extrêmement diversifiés puisqu'on dénombre pas moins de neuf à 11 allergènes différents dans la noisette (*Corylus avellana*) et l'arachide (*Arachis hypogaea*). La plupart des allergènes majeurs des graines correspondent à des protéines de réserve concentrées dans les corps protéiques. Les protéines de réserve les plus abondantes sont des globulines salino-solubles ou cupines, que l'on subdivise en globulines 7S ou vicillines et globulines 11S ou légumineuses. Les allergènes majeurs de l'arachide, Ara h 1 (vicilline) et Ara h 3/Ara h 4 (légumine), appartiennent à ces deux catégories de cupines [4,5]. Largement répandues dans les graines de nombreuses espèces végétales appartenant à des familles botaniques très diverses, les cupines ont été identifiées comme allergènes majeurs de nombreuses graines comestibles. Dans d'autres cas, où les investigations cliniques ont été moins poussées, elles sont seulement suspectées de remplir ce rôle et sont considérées comme des allergènes potentiels. Leurs homologies de séquence et de structure sont à l'origine de réactions croisées souvent importantes mais, dans la plupart des cas, leur signification clinique (allergies croisées) n'a pas encore été démontrée.

2. Les protéines de réserve des graines

Les plantes supérieures possèdent des graines de structure complexe dont les cotylédons (toutes les graines) et l'albumen (graines albuminées seulement) sont bourrés de granules ou corps protéiques (*protein bodies*), dans lesquels des protéines de réserve se sont accumulées au cours de la maturation de la graine (Fig. 1A et B). L'hydrolyse de ces protéines au moment de la germination de la graine fournira à la jeune plante les acides aminés nécessaires à son développement, avant qu'elle ait acquis son autotrophie par photosynthèse. Les protéines à motif cupine ou cupines constituent la majorité de ces protéines de réserve. Elles correspondent à des globulines salino-solubles qui se répartissent en globulines 7S ou vicillines (du latin *vicia* qui désigne les vesces dans la nomenclature binomiale des espèces) et globulines 11S ou légumineuses (nom venant des légumineuses ou légumes).

3. Structure des protéines à motif cupine

Le qualificatif de protéine à motif cupine ou, plus simplement, de cupine vient de la structure du monomère qui est essentiellement constitué de brins β associés en deux faisceaux en forme de coupe (du latin *cupa*) (Fig. 1C). Les vicillines ou globulines 7S (Ara h 1 de l'arachide, Ana o 1 de la noix de Cajou, Pis v 3 de la pistache) résultent de l'association non covalente de trois monomères ou protomères constitués d'une seule chaîne peptidique en un trimère aplati de forme triangulaire (Fig. 1D). L'association des monomères en homotrimère s'effectue par leurs extrémités. Cette structure trimérique se retrouve dans toutes les vicillines. Ces cupines sont généralement N-glycosylées.

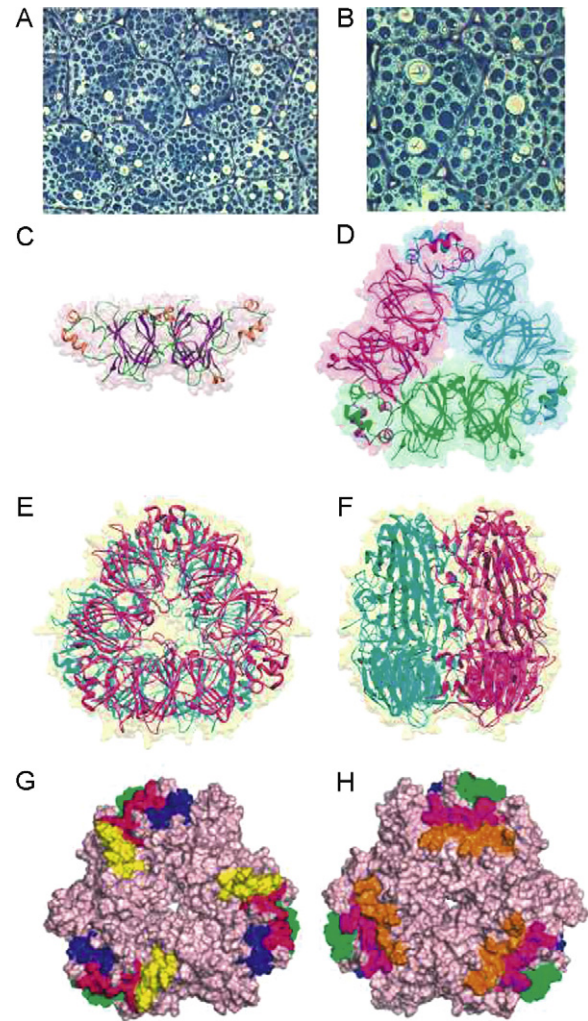


Fig. 1. A et B. Coupes de graine d'arachide colorée au bleu de toluidine (colorant protéique). Les cellules des cotylédons renferment quelques dépôts d'amidon (A), des corps lipidiques ou oléosomes (O) recouverts d'oléosines et de nombreux corps protéiques (P) où s'accumulent les cupines Ara h 1 et Ara h 3. C. Monomère d'Ana o 1 montrant l'organisation des brins β en deux faisceaux en forme de coupe ou motifs cupine (C). D. Homotrimère d'Ana o 1, constitué par l'association non covalente de trois monomères colorés respectivement en magenta, vert et cyan. E et F. Hexamère de Pru du 1 (amandine) constitué par l'association face contre face de deux homotrimères, vu de face (E) et de profil (F). G et H. Localisation des épitopes B (différemment colorés) sur les deux faces de l'homotrimère d'Ana o 1.

Les légumineuses ou globulines 11S (Ara h 3 de l'arachide, Ana o 2 de la noix de Cajou, Pis v 3 de la pistache, Pru du 1 ou amandine de l'amande) possèdent une structure trimérique identique à celle des vicillines mais en diffèrent par trois caractéristiques :

- les monomères ont une structure identique à celle des vicillines mais sont constitués par l'association de deux chaînes peptidiques possédant chacune un motif cupine ;
- les légumineuses sont des hexamères résultant de l'association non covalente de deux homotrimères (Fig. 1E et F) ;
- elles ne sont généralement pas N-glycosylées. L'association des deux trimères en hexamère s'effectue par les faces

Tableau 1
Liste des allergènes à motif cupine de graines comestibles.

Famille	Espèce	Nom commun	Nature chimique	Nomenclature
Amaranthacées	<i>Amaranthus hypochondriacus</i>	Brède Malabar	Légumine	
	<i>Beta vulgaris</i>	Betterave	Germine (vicilline)	
	<i>Chenopodium quinoa</i>	Quinoa	Légumine	
Anacardiacees	<i>Anacardium occidentale</i>	Noix de Cajou	Vicilline	Ana o 1
			Légumine	Ana o 2
	<i>Pistacia vera</i>	Pistache	Légumine Vicilline	Pis v 2, Pis v 5 Pis v 3
Asteracées	<i>Helianthus annuus</i>	Tournesol	Germine (vicilline)	
Brassicacées	<i>Brassica napus</i>	Navet	Légumine	Cruciferine
	<i>Raphanus sativus</i>	Radis	Légumine	Cruciferine
	<i>Sinapis alba</i>	Moutarde	Légumine	Sin a 2
Euphorbiacées	<i>Manihot esculenta</i>	Manioc	Germine (vicilline)	
	<i>Ricinus communis</i>	Ricin	Légumine Vicilline	
Fabacées	<i>Arachis hypogaea</i>	Arachide	Vicilline	Ara h 1
			Légumine	Ara h 3/Ara h 4
	<i>Cicer arietinum</i>	Pois chiche	Vicilline	
			Vicilline	
	<i>Glycine max</i>	Soja	Légumine	Gly m 5
			Légumine	Gly m 6
	<i>Lens culinaris</i>	Lentille	Vicilline	Len c 1
	<i>Lupinus albus</i>	Lupin	Vicilline	Lup a 1
			Légumine	α -conglutine
			Vicilline	γ -conglutine
	<i>Phaseolus lunatus</i>	Haricot de Lima	Vicilline	Phaseoline
	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Haricot	Convicillines	Phaseoline
	<i>Pisum sativum</i>	Pois	Légumine	Pis s 1/Pis s 2
	<i>Vicia faba</i>	Fève	Vicilline	
			Vicilline	
Fagacées	<i>Vigna angularis</i>	Haricot Adzuki	Vicilline	
	<i>Vigna radiata</i>	Haricot mungo	Vicilline	
	<i>Vigna unguiculata</i>	Dolique mongette	Germine (vicilline)	
Juglandacées	<i>Castanea sativa</i>	Châtaigne	Légumine	
	<i>Corylus avellana</i>	Noisette	Vicilline	Cor a 9
			Vicilline	Cor a 11
Juglandacées	<i>Juglans regia</i>	Noix	Légumine	Jug r 2
			Légumine	Jug r 4
	<i>Carya illinoensis</i>	Noix de Pécan	Vicilline	
			Légumine	
Lecythidacées	<i>Bertholletia excelsa</i>	Noix du Brésil	Germine (vicilline)	Ber e 2
Linacées	<i>Linum usitatissimum</i>	Lin	Légumine	
Malvacées	<i>Gossypium hirsutum</i>	Coton	Vicilline	
	<i>Theobroma cacao</i>	Cacao	Vicilline	
Pédaliacées	<i>Sesamum indicum</i>	Sésame	Légumine	Ses i 3
			Germine (vicilline)	Ses i 6, Ses i 7
Poacées	<i>Avena sativa</i>	Avoine	Germine (vicilline)	
	<i>Hordeum vulgare</i>	Orge	Vicilline	
	<i>Zea mays</i>	Maïs	Légumine	Zea m G1
			Légumine	Zea m G2
Polygonacées	<i>Fagopyrum esculentum</i>	Sarrasin		Fag e 1
Protéacées	<i>Macadamia integrifolia</i>	Noix de Macadamia	Vicilline	
Rosacées	<i>Prunus dulcis</i>	Amande	Légumine	Pru du 6
			Germine (vicilline)	Pru du 1
Rutacées	<i>Citrus sinensis</i>	Orange	Germine (vicilline)	Cit si 1

Tableau 1 (Suite)

Famille	Espèce	Nom commun	Nature chimique	Nomenclature
Solanacées	<i>Capsicum annuum</i>	Poivron	Germine (vicilline)	
	<i>Lycopersicum esculentum</i>	Tomate	Vicilline	
			Cupines	
Vitacées	<i>Vitis vinifera</i>	Raisin		

opposées des deux trimères essentiellement par des interactions électrostatiques, une des deux faces étant à prédominance électropositive, l'autre à prédominance électro-négative.

En raison de leur forme triangulaire aplatie, les léguminees et vicillines qui s'accumulent dans les corps protéiques au cours de maturation de la graine s'empilent les unes sur les autres pour former des réseaux pseudo-cristallins extrêmement riches en protéines.

4. Allergénicité des cupines

La structure extrêmement compacte et résistante des cupines leur assure des propriétés allergéniques importantes. D'autre facteurs tels que leur abondance dans les graines, leur taille importante, leur résistance à la dénaturation thermique (cuisson) et à la digestion enzymatique par les protéases digestives (pepsine, trypsine, chymotrypsine), favorisent cette allergénicité. Les épitopes B liant les IgE de plusieurs cupines ont été identifiés. C'est le cas d'Ara h 1 [6] et d'Ara h 3 [5,7] de l'arachide, d'Ana o 1 [8] et Ana o 2 [9] de la noix de Cajou (Fig. 1G et H), de Pis v 2 et Pis v 3 de la pistache [10] (P.R., A.B., résultats non publiés). Ils correspondent à des zones bien exposées, souvent chargées électropositivement car riches en arginine (Arg) et lysine (Lys), qui s'agrègent à la surface des homotrimères pour constituer des régions épitopiques étendues susceptibles d'être reconnues par les IgE correspondantes. La multiplicité des épitopes B est un caractère constant des léguminees et vicillines à propriétés allergéniques. Elle est également prévisible pour les cupines dont le caractère allergénique n'a pas été démontré avec certitude (Tableau 1).

Liées aux fortes homologies de séquence et de structure observées entre des cupines d'origine très différentes, des réactivités croisées plus ou moins importantes ont été rapportées entre l'arachide, les fruits à coque et les graines d'autres légumineuses [11–15]. Les réactions croisées les plus intenses s'observent généralement entre des cupines provenant d'espèces voisines, de la même famille par exemple. C'est le cas des cupines Ana o 1 et Ana o 2 de la noix de Cajou (*Anacardium occidentale*), et Pis v 2 et Pis v 3 de la pistache (*Pistacia vera*), qui appartiennent toutes deux à la famille des Anacardiacees. Les réactions croisées entre cupines de légumineuses sont également fréquentes.

5. Incidence clinique

De nombreuses cupines, léguminees ou vicillines, ont été caractérisées comme étant des allergènes majeurs de l'arachide

(Ara h 1 et Ara h 3), des fruits à coque (Ana o 1 et Ana o 2 de la noix de Cajou) et de nombreuses autres graines comestibles (Tableau 1). Dans plusieurs cas cependant, le statut d'allergène n'a pas encore été démontré et on ne parle pour l'instant que d'allergènes potentiels ; c'est le cas, en particulier, des cupines des Amaranthacées (betterave, quinoa), de diverses légumineuses (fève, dolique, pois chiche), de fruits à coque (noix de Macadamia, noix de Pécan), du coton, du lin, du cacao ou de la tomate.

La signification clinique de la réactivité croisée observée entre cupines d'origine différente est loin d'être démontrée. Dans de nombreux cas, aucune allergie croisée n'est décelée. La prudence reste cependant de mise lorsqu'il s'agit d'élaborer un régime d'éviction dans les allergies sévères à l'arachide ou aux fruits à coque (amande, noisette, diverses noix...).

Conflit d'intérêt

Les auteurs (P.R., A.B.) ont bénéficié d'une subvention de la Société française d'allergologie pour la réalisation de ce travail.

Références

- [1] Teuber SS, Beyer K. Peanut, tree nut and seed allergies. Curr Opin Allergy Clin Immunol 2004;4:201–3.
- [2] Sicherer SH, Muñoz-Furlong A, Godbold JH, Sampson HA. US prevalence of self-reported peanut, tree nut, and sesame allergy: 11-year follow-up. J Allergy Clin Immunol 2010 [Epub ahead of print].
- [3] Rancé F, Bidat E, Bourrier T, Sabouraud D. Cashew allergy: observations of 42 children without associated peanut allergy. Allergy 2003;58:1311–4.
- [4] Burks AW, Williams LW, Helm RM, Connaughton C, Cockrell G, O'Brien TJ. Identification of a major peanut allergen. Ara h 1, in patients with atopic dermatitis and positive peanut challenges. J Allergy Clin Immunol 1991;88:172–9.
- [5] Rabjohn P, Helm EM, Stanley JS, West CM, Sampson HA, Burks AW, et al. Molecular cloning and epitope analysis of the peanut allergen Ara h 3. J Clin Invest 1999;103:535–42.
- [6] Burks AW, Shin D, Cockrell G, Stanley JS, Helm RM, Bannon GA. Mapping and mutational analysis of the IgE-binding epitopes on Ara h 1, a legume vicilin protein and a major allergen in peanut hypersensitivity. Eur J Biochem 1997;245:334–9.
- [7] Rougé P, Culerrier R, Sabatier V, Granier C, Rancé F, Barre A. Mapping and conformational analysis of IgE-binding epitopic regions on the molecular surface of the major Ara h 3 legumin allergen of peanut (*Arachis hypogaea*). Mol Immunol 2009;46:1067–75.
- [8] Wang F, Robotham JM, Teuber SS, Tawde P, Sathe SK, Roux KH. Ana o 1, a cashew (*Anacardium occidentale*) allergen of the vicilin seed storage protein family. J Allergy Clin Immunol 2002;110:160–6.
- [9] Wang F, Robotham JM, Teuber SS, Sathe SK, Roux KH. Ana o 2, a major cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut allergen of the legumin family. Int Arch Allergy Immunol 2003;132:27–39.
- [10] Ahn K, Bardina L, Grishina G, Beyer K, Sampson HA. Identification of two pistachio allergens. Pis v 1 and Pis v 2, belonging to the 2S albumin and 11S globulin family. Clin Exp Allergy 2009;39:926–34.

- [11] Fernandez C, Fiandor A, Martinez-Garate A, Martinez-Quesada J. Allergy to pistachio: cross-reactivity between pistachio nut and other Anacardiaceae. *Clin Exp Allergy* 1995;25:1254–9.
- [12] Goetz DW, Whisman BA, Goetz AD. Cross-reactivity among edible nuts: double immunodiffusion, crossed immunoelectrophoresis, and human specific IgE serologic surveys. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2005;95:45–52.
- [13] de Leon MP, Glaspole IN, Drew AC, Rolland J, O'Hehir RE, Suphioglu C. Immunological analysis of allergenic cross-reactivity between peanut and tree nuts. *Clin Exp Allergy* 2003;33:1273–80.
- [14] de Leon MP, Drew AC, Glaspole IN, Suphioglu C, Rolland JM, O'Hehir RE. Functional analysis of cross-reactive immunoglobulin E antibodies: peanut-specific immunoglobulin E sensitizes basophils to tree nut allergens. *Clin Exp Allergy* 2005;35:1056–64.
- [15] Barre A, Sordet C, Culerrier R, Rancé F, Didier A, Rougé P. Vicilin allergens of peanut and tree nuts (walnut, hazelnut and cashew nut) share structurally related IgE-binding epitopes. *Mol Immunol* 2008;45:1231–40.