

Serie Molekulare Allergologie – Teil 8

Stabile pflanzliche Nahrungsmittelallergene: Speicherproteine

CHRISTIAN RADAUER, JÖRG KLEINE-TEBBE, KIRSTEN BEYER

Bezeichnung der Allergene: Unter den Speicherproteinen in den Samen zweikeimblättriger Pflanzen (z. B. Nüsse und Hülsenfrüchte) wurden drei Gruppen als Allergene beschrieben: die 2S-Albumine, die 7S-Globuline und die 11S-Globuline. Die 2S-Albumine sind – ebenso wie die bifunktionellen Amylase- und Proteaseinhibitoren im Getreide sowie die Lipidtransferproteine – Mitglieder der Prolamin-Superfamilie (www.meduniwien.ac.at/allergens/allfam/factsheet.php?allfam_id=AF050). Die 7S-Globuline (Viciline) und die 11S-Globuline (Legumine) gehören zur Cupin-Superfamilie (www.meduniwien.ac.at/allergens/allfam/factsheet.php?allfam_id=AF045). Bereits seit langem biochemisch charakterisiert, haben sich für viele Speicherproteine verschiedene Trivialnamen eingebürgert, z. B. Napin, Arachin, Glycinin und Conglutin.

Proteinstrukturen: 2S-Albumine falten sich wie alle Mitglieder der Prolamin-Superfamilie in ein kompaktes Bündel aus vier bis fünf α -Helices, die durch vier bis fünf konservierte Disulfidbrücken zusätzlich stabilisiert werden (**Abb. 1a**). Die Helices sind durch lange, variable Schleifen verbunden. Die meisten 2S-Albumine bestehen aus zwei Polypeptidketten mit ca. 9 kDa und 5 kDa, die durch Disulfidbrücken kovalent vernetzt sind.

7S- und 11S-Globuline gehören zur Cupin-Superfamilie. Diese Proteine falten sich zu stabilen Paaren von fassartigen (lat. cupa = Fass), aus β -Faltblättern gebildeten Strukturen (**Abb. 1b**). Zusätzliche Stabilität erfahren diese Proteine durch Bildung von Oligomeren: 7S-Globuline bilden Trimere (**Abb. 1c**), bei 11S-Globulinen findet man vor allem Hexamere (**Abb. 1d**).

Bedeutung: Speicherproteine sind die Hauptallergene in Hülsenfrüchten (z. B. Erdnuss, Lupine, Sojabohne), Nüssen (z. B. Walnuss, Haselnuss) und in weiteren Samen zweikeimblättriger Pflanzen (z. B. Buchweizen, Sesam, Senf). Getreidesamen enthalten andere Speicherproteine, die in diesem Artikel nicht behandelt werden. Neben den nicht-spezifischen Lipidtransferproteinen (nsLTP, siehe Serie Molekulare Allergologie – Teil 6 [7]) sind die Speicherproteine hauptverantwortlich für primäre Allergien gegen Hülsenfrüchte, Nüsse und Samen, gekennzeichnet durch häufig schwere allergische Reaktionen (**Tab. 1, Abb. 2**).

Funktion und Eigenschaften: Speicherproteine werden in Pflanzensamen als Energie- und Nährstoffspeicher gebildet, um den Keimling bis zur Ausbildung von Wurzeln und Blättern zu versorgen. Diese biochemische Funktion erklärt viele der Eigenschaften dieser Proteingruppe.

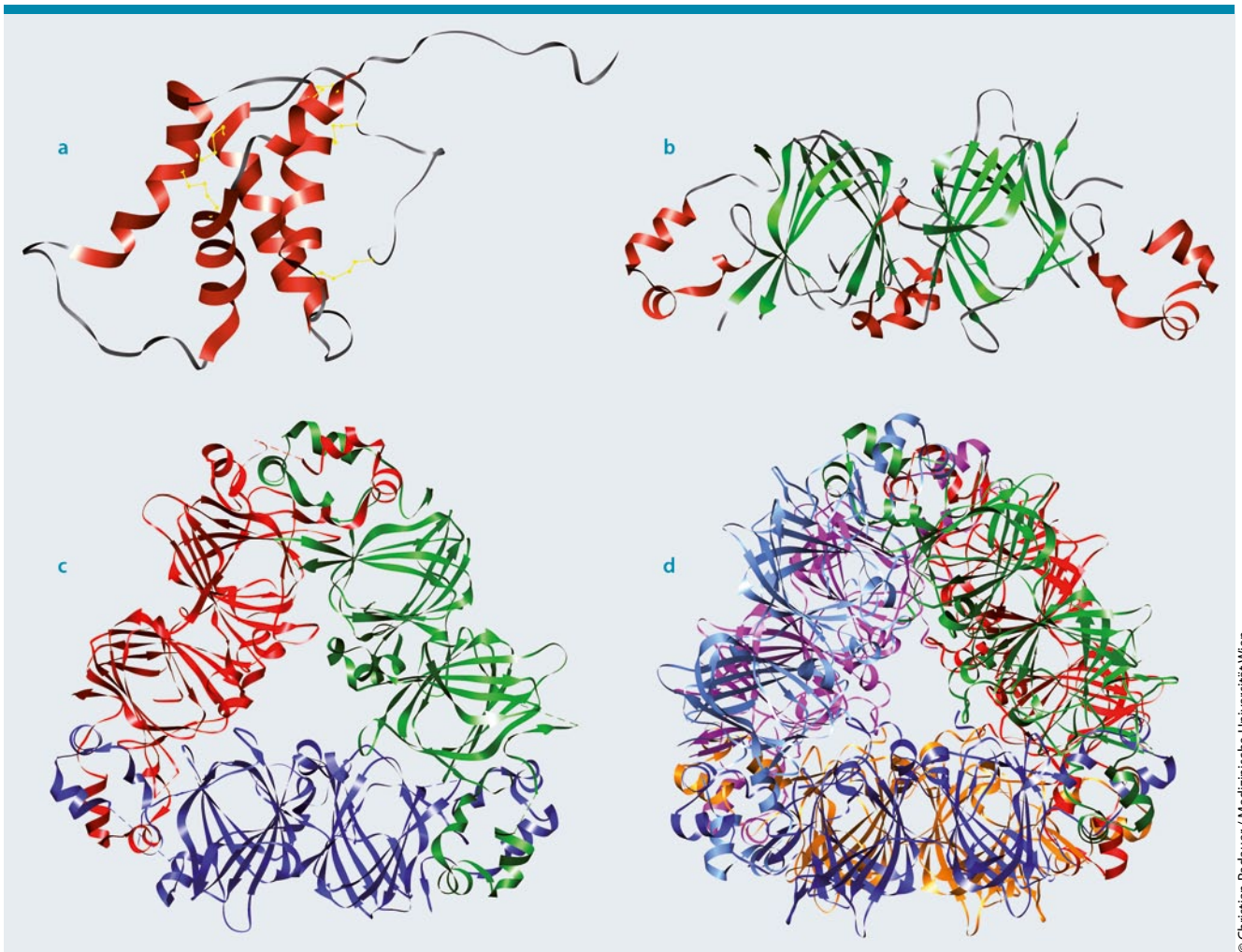
— Menge: Samen enthalten einen Proteinanteil zwischen 10 % (Getreide) und 40 % (manche Hülsenfrüchte und Ölsaaten)

der Trockenmasse [8]. Speicherproteine machen dabei einen Großteil des Gesamtproteins aus. Daher können sensibilisierte Patienten bereits beim Kontakt mit extrem kleinen Mengen des entsprechenden Nahrungsmittels mit allergischen Symptomen reagieren. In Studien reagierten manche Patienten nach placebokontrollierter Doppelblind-Provokation bereits auf 0,1 mg Erdnuss- bzw. 0,5 mg Lupinenmehl [6]. Solche winzigen Mengen findet man oft als Zusätze oder Verunreinigungen in verarbeiteten Nahrungsmitteln. Diese so genannten versteckten Allergene stellen eine zusätzliche Gefahr für Allergiker dar, die auf diese Allergenquellen mit schweren Symptomen reagieren können.

— Stabilität: Pflanzensamen bleiben oft jahrelang keimfähig und überleben selbst ungünstige Umweltbedingungen. Ein Grund dafür ist die hohe Stabilität der Speicherproteine. Erhitzen und andere Methoden der Lebensmittelverarbeitung haben nur geringen Einfluss auf die allergene Aktivität der Speicherproteine in Hülsenfrüchten, Nüssen und Samen. Ein Extrembeispiel ist die Erdnuss, deren Allergenität beim trockenen Rösten durch Bildung stabiler Aggregate sogar erhöht wird [1]. Speicherproteine werden aufgrund ihrer Stabilität im Magen nur teilweise verdaut, sodass immunologisch aktive Allergene den Dünndarm und den Blutkreislauf erreichen können. Patienten mit einer Allergie auf Speicherproteine von Hülsenfrüchten, Nüssen oder Samen reagieren daher häufig mit systemischen Symptomen bis hin zur lebensbedrohlichen Anaphylaxie.

— Allergene Aktivität: Die wichtigste Gruppe von Allergenen unter den Speicherproteinen sind die 2S-Albumine. Sie besitzen großes Sensibilisierungspotenzial und eine extrem hohe Stabilität gegen Erhitzen und gastrointestinale Verdauung [10]. 2S-Albumine zeigen große Unterschiede hinsichtlich ihres allergenen Potenzials: Während Ara h 2 aus der Erdnuss eines der potentesten Allergene überhaupt ist, verfügen 2S-Albumine aus der Sojabohne über eine geringere Allergenität [4].

Kreuzreaktivität: In vielen Studien wurde die IgE-Kreuzreaktivität sowohl zwischen 2S-Albuminen als auch zwischen 7S- und 11S-Globulinen aus nicht näher verwandten Pflanzen nachgewiesen. Bei der Diagnostik mit Gesamtextrakten ist folglich die serologische Kreuzreaktivität zwischen verschiedenen Hülsenfrüchten sowie zwischen Hülsenfrüchten, Nüssen und Samen häufig (**Abb. 2**). Allerdings ist die klinische Relevanz dieses kreuzreaktiven IgE gering [9]. Am größten ist die Diskrepanz zwischen serologischer und klinischer Kreuzreaktivität bei Erdnuss- und Sojaallergie. Während mehr als die Hälfte der Erdnussallergiker



© Christian Radauer / Medizinische Universität Wien

Abb.1: Strukturen von typischen Speicherprotein-Allergenen. **a:** Ara h 6 aus Erdnuss, ein 2S-Albumin. Fünf α -Helices (rot) werden durch fünf Disulfidbrücken (gelb) stabilisiert. **b:** Monomer von Gly m 5 aus Sojabohne, einem 7S-Globulin. Die β -Stränge, die zwei Cupinfässer bilden (grün), werden durch variable, α -helikale Schleifen (rot und grau) verbunden. **c:** Trimer von Gly m 5. **d:** Hexamer von Gly m 6 aus Sojabohne, einem 11S-Globulin. Jede Untereinheit ist in einer anderen Farbe dargestellt.

mit systemischen Reaktionen positive IgE-Tests gegen Soja zeigt, reagieren weniger als 10 % in einer placebokontrollierten Provokation mit Soja [9]. Dagegen zeigen bis zu einem Drittel der Erdnussallergiker auch allergische Reaktionen gegen Lupinen, wahrscheinlich ausgelöst durch Speicherproteine [6]. In den meisten Studien wurde die IgE-Kreuzreaktivität allerdings nur mithilfe von Gesamtextrakten getestet, es wurde nicht zwischen einzelnen Allergenen – insbesondere den Speicherproteinen – differenziert.

Bedeutung für die Diagnostik: Die Bedeutung für die Diagnostik lässt sich in fünf Punkte gliedern:

- Komponenten-basierte Diagnostik mit Speicherproteinen zur Unterscheidung zwischen primären und pollenassoziierten Sensibilisierungen gegen Hülsenfrüchte, Nüsse und Samen: Pollenassoziierte Allergien werden durch labile Allergene aus den Familien der Bet-v-1-verwandten Proteine [3] und der Profilinen verursacht und stellen sich klinisch völlig anders dar als primäre Allergien gegen stabile Allergene: Allergische Re-

aktionen treten üblicherweise erst mit einer Sensibilisierung gegen Pollen ab dem Schulalter auf, werden vorwiegend durch rohe, nicht hitzebehandelte Nahrungsmittel ausgelöst und beschränken sich häufig auf milde, überwiegend oropharyngeale Symptome.

- Risikoabschätzung bei potenziell bedrohlichen Sensibilisierungen gegen Speicherproteine (z. B. Erdnuss-2S-Albumin Ara h 2, Haselnuss-11S-Globulin Cor a 9): Von den meisten Allergenquellen – mit Ausnahme der Erdnuss – stehen bisher allerdings nur wenige Speicherproteine für die IgE-Diagnostik zur Verfügung (**Tab. 1**). Die Diagnostik der Erdnuss- und Baumnussallergie wird in zukünftigen Beiträgen näher erläutert.
- Unklare Rolle der Komponenten-basierten Diagnostik zur Frage der klinischen Relevanz einer serologischen Kreuzreaktivität auf Speicherproteine, z. B. zwischen verschiedenen Hülsenfrüchten, aber auch zwischen Hülsenfrüchten, Nüssen oder Samen: Hier fehlen zum einen Komponenten zur Diagnostik

Tabelle 1

Als Allergene beschriebene Samenspeicherproteine				
	Quelle	2S-Albumine	7S-Globuline	11S-Globuline
Hülsenfrüchte (Fabaceae)	Erdnuss (<i>Arachis hypogaea</i>)	rAra h 2*° nAra h 6° Ara h 7	rAra h 1*°	rAra h 3*°/4
	Sojabohne (<i>Glycine max</i>)		nGly m 5*°	nGly m 6*°
	Erbse (<i>Pisum sativum</i>)		Pis s 1 Pis s 2	
	Linse (<i>Lens culinaris</i>)		Len c 1	
	Weißer Lupine (<i>Lupinus albus</i>)	Lup a delta_Conglutin	Lup a 1	Lup a alpha_Conglutin
	Blaue Lupine (<i>Lupinus angustifolius</i>)	Lup an delta_Conglutin	Lup an 1	Lup an alpha_Conglutin
Birkengewächse (Betulaceae)	Haselnuss (<i>Corylus avellana</i>)	Cor a 14	Cor a 11	nCor a 9°
Walnussgewächse (Juglandaceae)	Echte Walnuss (<i>Juglans regia</i>)	nJug r 1°	nJug r 2°	Jug r 4
	Schwarznuss (<i>Juglans nigra</i>)	Jug n 1	Jug n 2	
	Pekannuss (<i>Carya illinoensis</i>)	Car i 1		Car i 4
Sumachgewächse (Anacardiaceae)	Cashewnuss (<i>Anacardium occidentale</i>)	Ana o 3	Ana o 1	rAna o 2°
	Pistazie (<i>Pistacia vera</i>)	Pis v 1	Pis v 3	Pis v 2, Pis v 5
Topfruchtbaumgewächse (Lecythidaceae)	Paranuss (<i>Bertolletia excelsa</i>)	rBer e 1*°		Ber e 2
Rosengewächse (Rosaceae)	Mandel (<i>Prunus dulcis</i>)	Pru du 2S Albumin		Pru du 6
Palmengewächse (Arecaceae)	Kokosnuss (<i>Cocos nucifera</i>)		Coc n 2	
Knöterichgewächse (Polygonaceae)	Echter Buchweizen (<i>Fagopyrum esculentum</i>)	nFag e 2°	Fag e 19kD	Fag e 1
	Tatarischer Buchweizen (<i>Fagopyrum tataricum</i>)	Fag t 2		Fag t 1
Sesamgewächse (Pedaliaceae)	Sesam (<i>Sesamum indicum</i>)	nSes i 1°, Ses i 2	Ses i 3	Ses i 6, Ses i 7
Kreuzblütengewächse (Brassicaceae)	Weißer Senf (<i>Sinapis alba</i>)	Sin a 1		Sin a 2
	Brauner Senf (<i>Brassica juncea</i>)	Bra j 1		
	Raps (<i>Brassica napus</i>)	Bra n 1		
	Rübsamen (<i>Brassica rapa</i>)	Bra r 1		
Wolfsmilchgewächse (Euphorbiaceae)	Castorbohne (<i>Ricinus communis</i>)	Ric c 1		

normal: Allergene, bisher ohne offizielle IUIS-Allergenbezeichnung (www.allergome.org); **fett**: Allergene mit offizieller IUIS-Allergenomenklatur (www.allergen.org); **fett**: verfügbar für die In-vitro-Diagnostik

*ImmunoCAP, Thermo Fisher Scientific (www.phadia.com); °ISAC, Thermo Fisher Scientific

n (vor Allergenname): aufgereinigtes, natürliches Allergen; r (vor Allergenname): rekombinant hergestelltes Allergen

und zum anderen kontrollierte Studien mit klinisch gut charakterisierten Patienten.

- Vorsichtige Interpretation bei ausschließlicher Verwendung von Komponenten und fehlendem Nachweis einer Sensibilisierung gegen Speicherproteine: Zur Komponenten-basierten Diagnostik werden sowohl aufgereinigte als auch rekombinant hergestellte Einzelallergene eingesetzt (**Tab. 1**). Durch Isoformen bzw. erhebliche Modifikation nach Translation (proteolytische Abspaltung kurzer Peptide und Glykosylierung)

können bei Verwendung eines rekombinanten Speicherproteins potenzielle IgE-Epitope schlicht fehlen bzw. verloren gehen – mit negativen Auswirkungen auf die diagnostische Empfindlichkeit (**Abb. 3**).

- Methodische Besonderheiten der IgE-Bestimmung gegen Einzelkomponenten beeinflussen das Testergebnis: Statt IgE in Einzelbestimmungen (Singleplex) und gegen Extrakte (z. B. Erdnuss, Soja, Haselnuss) zu testen, bieten sich aufgrund geringer Serummenge und Kosten Verfahren an, bei denen viele

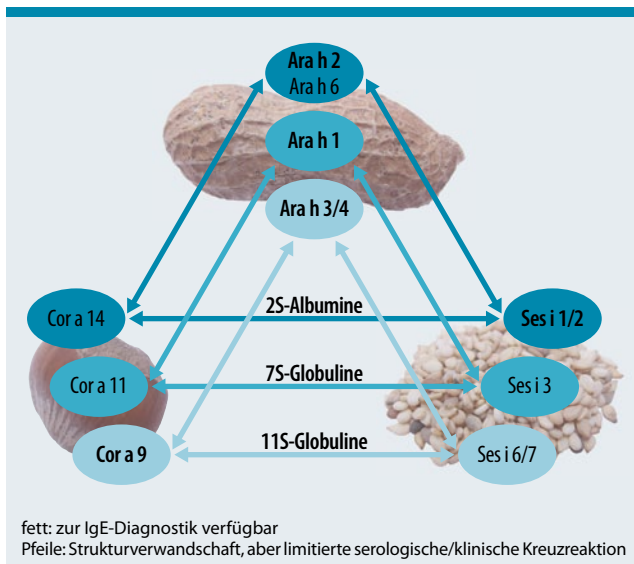


Abb. 2: Speicherproteine als stabile Nahrungsmittelallergene. Reservestoffe in Hülsenfrüchten (z. B. Erdnuss, Ara h), Baumnüssen (z. B. Haselnuss, Cor a) und Samen (z. B. Sesam, Ses i) lassen sich drei Proteinfamilien zuordnen und können schwere IgE-vermittelte Reaktionen auslösen.

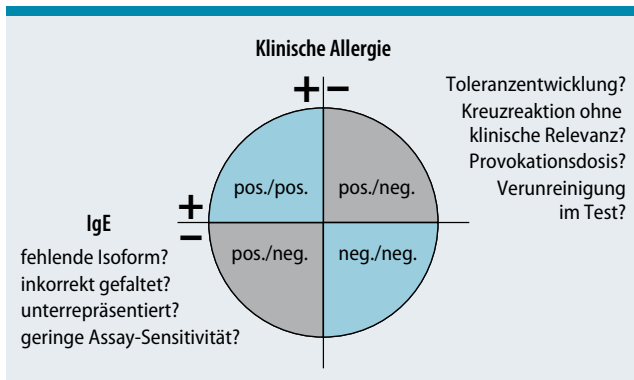


Abb. 3: Diagnostische Dilemmata beim Umgang mit Speicherproteinen. Bisher sind nur wenige Speicherproteine zur Komponenten-basierten Diagnostik vorhanden und klinische Daten zu ihrem Einsatz stehen vielfach noch aus. Für die fehlende Übereinstimmung (grau markiert) zwischen Sensibilisierungsnachweis (z. B. IgE) und klinischer Allergie (z. B. nach oraler Provokation) gibt es verschiedene Erklärungsansätze, die auch für viele andere Proteinallergene gültig sind.

Komponenten parallel gemessen werden können (Multiplex). Die bisher entwickelten Mikroarraymethoden werden semi-quantitativ angegeben und sind analytisch weniger empfindlich als Testverfahren, bei denen das Allergen im Überschuss vorliegt.

Ausblick: Zukünftig werden immer mehr Samenspeicherproteine für die molekulare Allergiediagnostik zur Verfügung stehen. Ihre diagnostische Wertigkeit ist letztendlich anhand großer Studien mit klinisch gut charakterisierten Patienten zu belegen. Mittlerweile wurde die Komponenten-basierte Diagnostik zur Epitop-bezogenen Diagnostik erweitert und Patientenseren auf

IgE-Bindung gegen kurze Peptide getestet, die die IgE-Bindungsstellen repräsentieren. Das IgE von Erdnuss-allergischen Kindern mit schwereren Symptomen war gegen eine größere Anzahl von Peptiden von Ara h 1, 2 und 3 gerichtet [2]. Die Epitop-basierte Diagnostik ist noch nicht für die klinische Anwendung verfügbar. **Fazit:** Die meisten primären Allergien gegen Hülsenfrüchte, Nüsse und Samen in Mitteleuropa mit systemischen, z. T. schweren Reaktionen entstehen durch Speicherproteine. Die molekulare Allergiediagnostik hat zurzeit ihr größtes Potenzial in der Abgrenzung dieser primären Allergien von einer pollenassozierten Nahrungsmittelallergie, besonders bei unklarer Anamnese. Die klinische Relevanz einer (serologischen) Kreuzreaktivität zwischen verschiedenen Hülsenfrüchten, Nüssen und Samen lässt sich bisher auch mit Komponenten-bezogener Diagnostik nicht sicher ableiten. Nach wie vor bleibt daher die orale Nahrungsmittelprovokation zum Ausschluss bzw. endgültigen Nachweis einer klinischen Reaktion unverzichtbar [4].

Dr. Christian Radauer

Institut für Pathophysiologie und Allergieforschung
Medizinische Universität Wien
Währinger Gürtel 18–20, 1090 Wien, Österreich
E-Mail: christian.radauer@meduniwien.ac.at

Dr. Jörg Kleine-Tebbe

Allergie- und Asthma-Zentrum Westend
Berlin-Charlottenburg

Dr. Kirsten Beyer

Klinik für Pädiatrie m. S. Pneumologie und Immunologie
Charité – Universitätsmedizin Berlin

Literatur

1. Beyer K, Morrow E, Li XM, Bardina L, Bannon GA, Burks AW, Sampson HA, Effects of cooking methods on peanut allergenicity. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107: 1077–81
2. Flinterman AE, Knol EF, Lencer DA, Bardina L, den Hartog Jager CF, Lin J, Pasmans SG, Bruijnzeel-Koomen CA, Sampson HA, van Hoffen E, Shreffler WG, Peanut epitopes for IgE and IgG4 in peanut-sensitized children in relation to severity of peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121: 737–43 e10
3. Kleine-Tebbe J, Ballmer-Weber B, Breiteneder H, Vieths S. Bet v 1 und Homologe – Verursacher der Baumpollenallergie und birkenpollen-assoziiierter Kreuzreaktionen. *Allergo J* 2010; 19: 462–3
4. Lin J, Shewry PR, Archer DB, Beyer K, Niggemann B, Haas H, Wilson P, Alcocer MJ, The potential allergenicity of two 2S albumins from soybean (Glycine max): a protein microarray approach. *Int Arch Allergy Immunol* 2006; 141: 91–102.
5. Nicolaou N, Custovic A, Molecular diagnosis of peanut and legume allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2011; 11: 222–8
6. Peeters KA, Koppelman SJ, Penninks AH, Lebens A, Bruijnzeel-Koomen CA, Hefle SL, Taylor SL, van Hoffen E, Knulst AC, Clinical relevance of sensitization to lupine in peanut-sensitized adults. *Allergy* 2009; 64: 549–55
7. Petersen A, Scheurer S. Stabile pflanzliche Nahrungsmittelallergene: Lipid-Transfer-Proteine. *Allergo J* 2011; 20: 384–6
8. Shewry PR, Napier JA, Tatham AS, Seed Storage Proteins – Structures and Biosynthesis. *Plant Cell* 1995; 7: 945–56
9. Sicherer SH, Clinical implications of cross-reactive food allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108: 881–90
10. Vissers YM, Blanc F, Skov PS, Johnson PE, Rigby NM, Przybylski-Nicaise L, Bernard H, Wal JM, Ballmer-Weber B, Zuidmeer-Jongejan L, Szepefalusi Z, Ruinemans-Koerts J, Jansen AP, Savelkoul HF, Wichers HJ, Mackie AR, Mills CE, Adel-Patient K, Effect of heating and glycation on the allergenicity of 2S albumins (Ara h 2/6) from peanut. *PLoS One* 2011; 6: e23998