



La lectine de l'arachide

Peanut lectin

P. Rougé^{a,b,*}, R. Culerrier^a, C. Granier^c, F. Rancé^d, A. Barre^{a,b}

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

^b Faculté de pharmacie, université de Toulouse, 35, chemin des Maraîchers,
31062 Toulouse cedex 09, France

^c UMR 3145 CNRS-Bio-Rad, Cap Delta/Parc Euromédecine, 1682, rue de la Valsière,
CS 61003, 34184 Montpellier cedex 4, France

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

Résumé

Les lectines végétales ou agglutinines sont des protéines de reconnaissance qui interagissent spécifiquement avec les glycanes des surfaces cellulaires. Les lectines de légumineuses sont classées en plusieurs groupes en fonction des sucres simples qu'elles reconnaissent. Les principales appartiennent à deux catégories : les lectines galactose-spécifiques (lectine de l'arachide [PNA]), lectine du soja (SBA) et les lectines mannose-spécifiques (lectine du pois [PSA], lectine de lentille [LCA]). La PNA, localisée dans les corps protéiques de la graine, a été décrite comme un allergène mineur de l'arachide (Ara h agglutinin). Elle reconnaît spécifiquement les glycanes terminés par un galactose et a été utilisée pour isoler les lymphocytes T. La majorité des sérums d'allergiques à l'arachide interagissent avec la PNA. Ces sérums interagissent aussi avec des lectines voisines, la PSA ou la LCA, mais beaucoup moins avec la SBA ou la PHA de haricot. Les épitopes liant les IgE ont été identifiés sur la surface moléculaire de la PNA. Quelques uns d'entre eux présentent des homologies structurales avec ceux des PSA et LCA. Ces homologies structurales expliqueraient les réactions croisées observées entre la PNA et les autres lectines de légumineuses.

© 2010 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Arachide ; Lectine ; Ara h agglutinine ; PNA ; Épitopes B ; Allergénicité

Abstract

Plant lectins or phyto-agglutinins are proteins that specifically recognize the glycan chains on the cell surface. Lectins from the Leguminosae (Fabaceae) have been classified in different groups according to the simple sugars they recognize. Two main groups have been identified: the galactose-specific lectins (peanut lectin [PNA], soybean lectin [SBA]) and the mannose-specific lectins (green pea lectin [PSA], lentil lectin [LCA]). Peanut lectin, a seed storage protein localized in the peanut's protein bodies, has been identified as a minor peanut allergen. As a consequence of its galactose-binding specificity, it has been used successfully to isolate T lymphocytes. Sera from the majority of peanut-allergic patients react with PNA and they also react with the closely-related lectins PSA and LCA; they interact weakly with SBA and PHA lectins. IgE-binding epitopes have been identified on the molecular surface of PNA. A few of these epitopes are structurally-related to those of PSA and LCA, which could account for the observed IgE-binding cross-reactivity between PNA and other legume lectins.

© 2010 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Keywords : Plant lectins; Peanut agglutinin; Peanut allergen; Cross-reactivity; B-cell epitope

1. Introduction

Les allergènes majeurs de l'arachide ont été identifiés à des protéines de réserve localisées dans les corps protéiques de la graine. Il s'agit essentiellement d'une vicilline (Ara h 1) [1],

* Auteur correspondant.

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

d'une albumine 2S (Ara h 2) [2] et d'une légumine (Ara h 3) [3]. D'autres allergènes, qualifiés de mineurs, ont été décrits. Il s'agit de protéines également localisées dans :

- les corps protéiques : les albumines 2S Ara h 6 et Ara h 7 [4], la lectine Ara h agglutinin ou *peanut agglutinin* (PNA) [5] ;
- les corps lipidiques : les oléosines Ara h 10 et Ara h 11 [6] ;

- le cytoplasme : Ara h 5 (profiline) [4], Ara h 8 (protéine PR10 Bet v 1-like) [7] et Ara h 9 (protéine de transfert des lipides [LTP]) [8].

Comme tous les représentants de ce groupe de protéines végétales, la lectine PNA se caractérise par ses propriétés de reconnaissance des glycanes recouvrant la surface des cellules animales ou humaines [9]. La PNA est une lectine galactose-

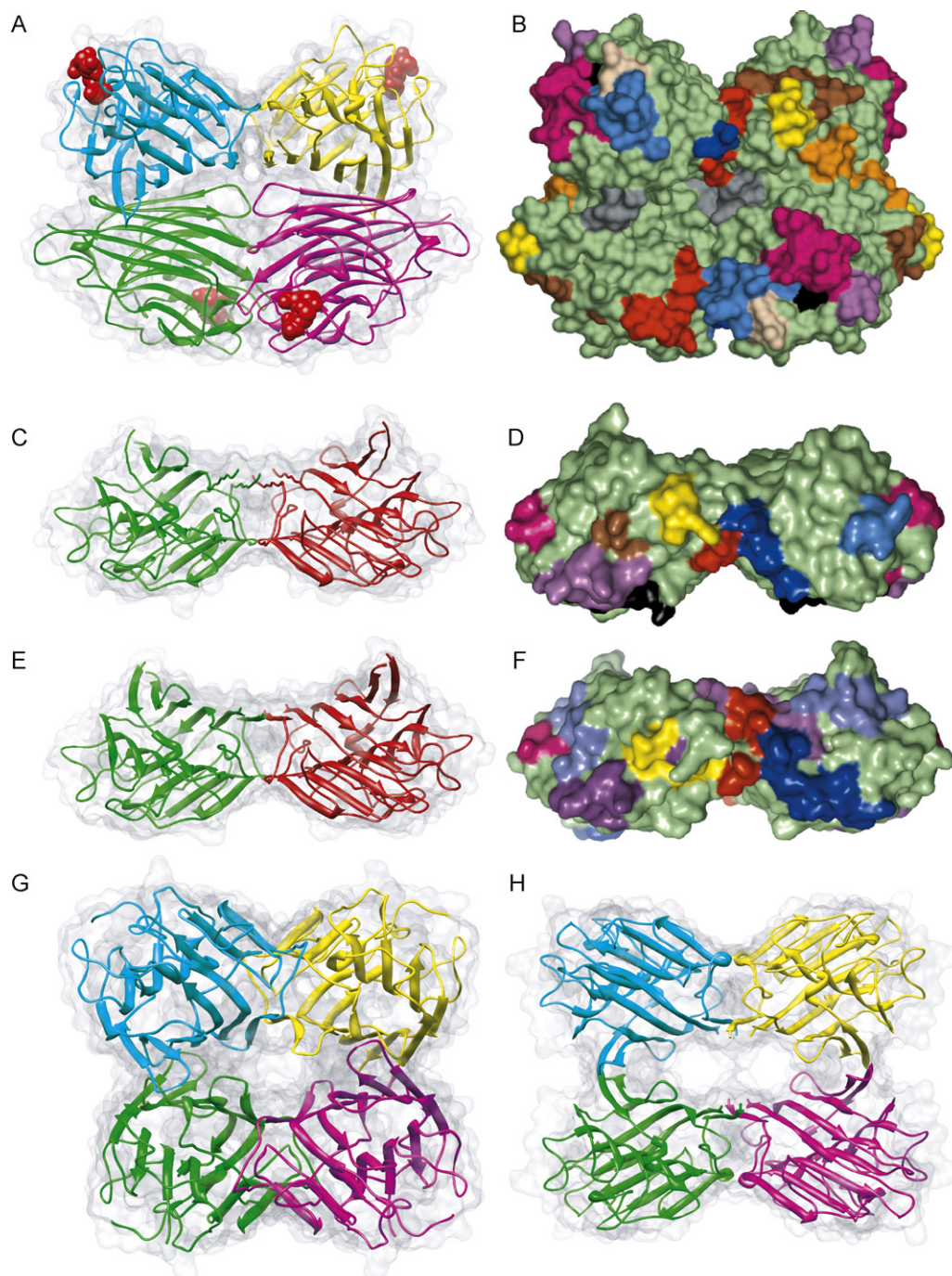


Fig. 1. Structures tridimensionnelles de la lectine de l'arachide (PNA) (A), la lectine du pois (PSA) (C), la lectine de la lentille (LCA) (E), la lectine du soja (SBA) (G) et la lectine du haricot (PHA-E) (H). Les protomères associés en tétramères (PNA, SBA, PHA-E) ou en dimères (PSA, LCA) sont différemment colorés. Les contours de la surface moléculaire sont représentés en gris. Localisation des épitopes B liant les IgE, différemment colorés, sur la surface moléculaire du tétramère de PNA (B) et des dimères de PSA (D) et de LCA (F).

spécifique qui a une affinité toute particulière pour les glycanes terminés par un résidu de galactose (Gal) ou de *N*-acétylgalactosamine (GalNAc) et, surtout, pour les *O*-glycanes T et Tn qui sont des antigènes carcino-embryonnaires de nombreuses cellules tumorales [10,11]. À ce titre, elle a été particulièrement utilisée pour isoler les lymphocytes T (riches en antigène Tn) du sang circulant [12] et en tant que marqueur de cellules tumorales à des fins diagnostique et pronostique [13] ou thérapeutique dans le traitement photodynamique (PDT) du cancer [14].

2. Structure de la PNA

La PNA est une lectine tétramérique (100 kDa) constituée de quatre protomères identiques (25 kDa) associés par des liaisons faibles mais en nombre suffisant pour assurer la cohésion de l'édifice moléculaire (Fig. 1) [15]. Chaque protomère possède un site de reconnaissance des glycanes : c'est une lectine tétravalente (à quatre possibilités de liaison aux glycanes). C'est donc une structure très volumineuse qui doit posséder de nombreux épitopes B susceptibles d'être reconnus par les IgE correspondantes. D'autres lectines de légumineuses correspondent à des tétramères. C'est le cas de la lectine du soja (SBA) et du haricot (PHA) (Fig. 1G,H) qui diffèrent néanmoins de la PNA par un mode d'association différent des quatre protomères et par des spécificités de reconnaissance différentes. En revanche, les lectines du pois (PSA) et de la lentille (LCA) sont des lectines dimériques bivalentes (à deux possibilités de liaison aux glycanes) constituées de deux protomères (Fig. 1C et E).

3. Allergénicité de la PNA

Les IgE des sérums de 16 patients allergiques à l'arachide réagissent avec la PNA en *dot-blotting*, résonance plasmonique de surface (BIAcore) et Elisa (Fig. 2). L'interaction est plus ou moins importante selon les sérums et n'interfère pas avec les allergènes majeurs de l'arachide Ara h 1, Ara h 2 et Ara h 3, comme l'indique l'épuisement préalable des sérums par la PNA qui continuent de réagir avec ces allergènes. Des lectines

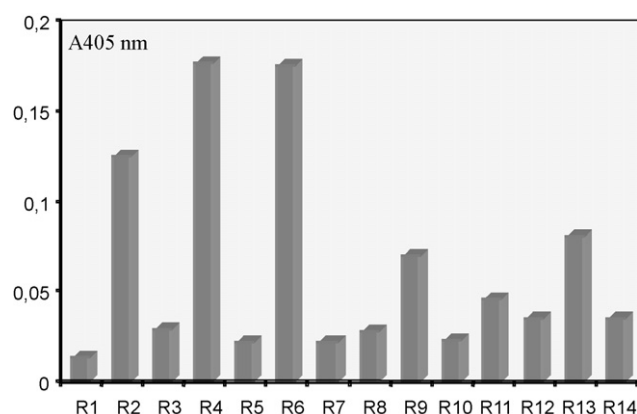


Fig. 2. Dosage Elisa des IgE de 14 sérums de patients allergiques à l'arachide réagissant spécifiquement avec la lectine de l'arachide (PNA). Chaque valeur est la moyenne de trois dosages effectués indépendamment.

voisines de la PNA comme les lectines dimériques de PSA et de LCA interagissent systématiquement avec les sérums de patients. En revanche, les lectines tétramériques PHA et SBA réagissent beaucoup moins avec les IgE de patients. Ces réactions croisées traduisent l'existence d'épitopes B voisins ou identiques dans ces différentes lectines. Ces interactions ont été mesurées en présence de galactose et mannose, oses inhibiteurs de l'activité lectinique de la PNA et des autres lectines testées, afin d'éviter des interactions non spécifiques dues à l'interaction des lectines avec les glycoprotéines des sérums de patients susceptibles de fausser les résultats.

4. Épitopes B liant les IgE de la PNA

De nombreuses régions épitopiques liant les IgE, sont uniformément réparties sur la surface moléculaire de la PNA (Fig. 1B). Certaines d'entre elles sont coalescentes et forment des zones épitopiques plus étendues qui expliquent vraisemblablement l'allergénicité importante de la PNA. Des épitopes B ont été également identifiés à la surface des lectines PSA et LCA (Fig. 1D et F). Certains d'entre eux présentent des homologies de séquence et de conformation avec ceux identifiés sur la PNA et expliqueraient les réactions croisées observées entre la PNA et ces deux autres lectines de légumineuses. Les épitopes B localisés sur la surface moléculaire des lectines PHA et SBA n'ont pas encore été identifiés. De même, aucune information sur les épitopes T de la PNA et des autres lectines n'est disponible.

5. Incidence clinique

La lectine de l'arachide PNA réagit avec tous les sérums de patients allergiques à l'arachide testés en dépit de différences marquées entre les sérums (Fig. 2). Il n'y a pas de corrélation évidente entre la teneur en IgE spécifiques des sérums testés et leur degré de réactivité vis-à-vis de la lectine. En effet, cette interaction est indépendante de celle observée avec les autres allergènes de l'arachide et, en particulier, avec les allergènes majeurs Ara h 1, Ara h 2 et Ara h 3.

La réactivité des IgE vis-à-vis de la PNA se caractérise par des réactions croisées importantes avec d'autres lectines de légumineuses mais, paradoxalement, ce sont les lectines dimériques mannose-spécifiques (PSA, LCA) qui croisent le plus avec la PNA tandis que les lectines tétramériques de spécificités voisines de celle de la PNA (Gal/GalNAc-spécifiques) croisent nettement moins. Cette réactivité croisée reflète évidemment les homologies de séquence et de structure des épitopes B liant les IgE de ces lectines de légumineuses pourtant structurellement assez différentes.

La dégranulation des mastocytes *in vitro* par différentes lectines rapportée à plusieurs reprises [16–18] confirme le rôle de ces protéines dans la réaction allergique mais on n'a actuellement aucune preuve qu'elles puissent intervenir dans la sensibilisation primaire des patients allergiques à l'arachide. Considérée comme un allergène mineur de l'arachide, la PNA pourrait changer de statut dans la mesure où elle réagit avec les IgE de tous les patients allergiques que nous avons testés. Il faut

toutefois rester prudent sur ce dernier point, eu égard au nombre très modeste de patients ($n = 16$) que nous avons pu tester.

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] 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.
- [2] Burks AW, Williams LW, Connaughton C, Cockrell G, O'Brien TJ, Helm RM. Identification and characterization of a second major peanut allergen, Ara h II, with use of the sera of patients with atopic dermatitis and positive peanut challenge. *J Allergy Clin Immunol* 1992;90:962-9.
- [3] 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.
- [4] Kleber-Janke T, Cramer R, Appenzeller U, Schlaak M, Becker WM. Selective cloning of peanut allergens, including profilin and 2S albumins, by phage display technology. *Int Arch Allergy Immunol* 1999;119:265-74.
- [5] Burks AW, Cockrell G, Connaughton C, Guin J, Allen W, Helm RM. Identification of peanut agglutinin and soybean trypsin inhibitor as minor legume allergens. *Int Arch Allergy Immunol* 1994;105:143-9.
- [6] Pons L, Chéry C, Mrabet N, Schohn Hn Lapicque F, Guéant JL. Purification and cloning of two high molecular mass isoforms of peanut seed oleosin encoded by cDNAs of equal sizes. 2005. *Plant Physiol Biochem* 2005;43:659-68.
- [7] Mittag D, Akkerdaas J, Ballmer-Weber BK, Vogel L, Wensing M, Becker WM, et al. Ara h 8, a Bet v 1-homologous allergen from peanut, is a major allergen in patients with combined birch pollen and peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:1410-7.
- [8] Enrique E, Utz M, De Mateo JA, Castelló JV, Malek T, Piñeda F. Allergy to lipid transfer proteins: cross-reactivity among pomegranate, hazelnut, and peanut. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2006;96:122-3.
- [9] Peumans WJ, Van Damme EJM, Barre A, Rougé P. Classification of plant lectins in families of structurally and evolutionary related proteins. *Adv Exp Med Biol* 2001;491:27-54.
- [10] Chacko CK, Akkuputtan PS. Peanut (*Arachis hypogaea*) lectin recognizes α -linked galactose, but not *N*-acetyl lactosamine in *N*-linked oligosaccharide terminals. *Int J Biol Macromol* 2001;28:365-71.
- [11] Wu AM, Wu JH, Yang Z, Singh T, Goldstein IJ, Sharon N. Differential contribution of recognition factors of two plant lectins, *Amaranthus caudatus* lectin and *Arachis hypogaea* agglutinin, reacting with Thomsen-Friedenreich disaccharide (Gal β 1-3GalNAc α 1-Ser/Thr). *Biochimie* 2008;90:1769-80.
- [12] Reisner Y, Biniaminov M, Rosenthal E, Sharon N, Ramot B. Interaction of peanut agglutinin with normal human lymphocytes and with leukemic cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1979;76:447-51.
- [13] Lis H, Sharon N. Lectins as molecules and as tools. *Annu Rev Biochem* 1986;55:35-67.
- [14] Goel M, Damai RS, Sethi DK, Kaur KJ, Maiya BG, Swamy MJ, et al. Crystal structures of the PNA-porphyrin complex in the presence and absence of lactose: mapping the conformational changes on lactose binding, interacting surfaces, and supramolecular aggregations. *Biochemistry* 2005;44:5588-96.
- [15] Banerjee R, Das K, Ravishanker R, Suguna K, Suroliya A, Vijayan M. Conformation, protein-carbohydrate interactions and a novel subunit association in the refined structure of the peanut lectin-lactose complex. *J Mol Biol* 1996;259:289-96.
- [16] Zavazal V, Krauz V. Lectin-binding ability of immunoglobulin E and its participation in triggering of mast cells. *Folia Microbiol (Praha)* 1985;30:237-46.
- [17] Shibasaki M, Sumazaki R, Isoyama S, Takita H. Interaction of lectins with human IgE: IgE-binding property and histamine-releasing activity of twelve plant lectins. *Int Arch Allergy Immunol* 1992;98:18-25.
- [18] Pramod SN, Krishnakantha TP, Venkatesh YP. Effect of horse gram lectin (*Dolichos biflorus* agglutinin) on degranulation of mast cells and basophils of atopic subjects: identification as an allergen. *Int Immunopharmacol* 2006;6:1714-22.