

艾蒿过敏原 Art v 4 功能表位及其 与桃 Pru p 4 交叉致敏机制初探

宋若琳, 车会莲

中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083

摘要:目的 解析艾蒿过敏原 Art v 4 的功能表位分布特征,并探讨其与桃过敏原 Pru p 4 之间潜在交叉表位。方法 通过免疫信息学方法预测 Art v 4 B 细胞表位及 T 细胞表位,并结合三维结构进行定位分析。通过序列比对筛选与 Pru p 4 共享的潜在交叉表位。合成候选肽段后,以抑制性 Dot-Blot 检测其与患者血清 IgE 的结合抑制作用。结果 Art v 4 蛋白中存在多个潜在线性 B 细胞表位,其中 13~20 aa 与 108~116 aa 区段在多种预测算法中重叠较高。预测获得的潜在优势 CD4⁺ T 细胞表位中,101~115 aa 表现出较高的 MHC II 结合倾向。Art v 4 与 Pru p 4 在多个区段存在较高同源性,部分优势 T 细胞表位高度保守。31~45 aa 与 101~115 aa 肽段可显著抑制患者血清 IgE 与天然过敏原结合。结论 Art v 4 具有多个候选表位,31~45 aa、101~115 aa 区段可能是值得进一步关注的交叉表位区域。

关键词: Art v 4; Profilin; 交叉反应; T 细胞表位; 免疫信息学

中图分类号: R593.1 文献标志码: A 文章编号: 1003-8507(2026)12-2272-07

DOI: 10.20043/j.cnki.MPM.202602163

Functional epitope characterization of the *Artemisia vulgaris* allergen Art v 4 and a preliminary investigation of its cross-reactive sensitization mechanism with peach Pru p 4

SONG Ruolin, CHE Hui-lian

College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China

Abstract: **Objective** To characterize the functional epitope distribution of the *Artemisia vulgaris* allergen Art v 4 and to investigate its potential cross-reactive epitopes with the peach allergen Pru p 4. **Methods** Immunoinformatics approaches were used to predict B-cell and T-cell epitopes of Art v 4, followed by spatial localization analysis based on its three-dimensional structure. Potential shared cross-reactive epitopes between Art v 4 and Pru p 4 were screened by sequence alignment. Candidate peptides were synthesized, and their inhibitory effects on the binding of patients' serum IgE to the natural allergen were evaluated by inhibitory Dot-Blot assay. **Results** Multiple potential linear B-cell epitopes were identified in Art v 4, among which the 13-20 aa and 108-116 aa regions showed high overlap across different prediction algorithms. Among the predicted dominant CD4⁺ T-cell epitopes, the 101-115 aa region showed a high tendency for MHC II binding. Art v 4 and Pru p 4 exhibited high sequence homology in multiple regions, and some dominant T-cell epitopes were highly conserved. The 31-45 aa and 101-115 aa peptides significantly inhibited the binding of patients' serum IgE to the natural allergen. **Conclusion** Art v 4 contains multiple candidate epitopes, and the regions 31-45 aa and 101-115 aa may represent cross-reactive epitope regions worthy of further investigation.

Keywords: Art v 4; Profilin; Cross-reactivity; T-cell epitope; Immunoinformatics

艾蒿(*Artemisia vulgaris*)花粉是我国重要的吸入性过敏原之一,是夏秋季节季节性过敏性疾病的主要诱因^[1-3]。近年来,花粉-食物过敏综合征(pollen-food allergy syndrome, PFAS)受到越来越多关注,主要

由花粉过敏原与植物性食物中过敏原之间的交叉反应引起。目前,肌动蛋白结合蛋白(profilin)、病原相关蛋白10(pathogenesis-related protein 10, PR-10)和脂质转移蛋白(lipid transfer protein, LTP)被认为是介导花粉-食物交叉反应的重要过敏原家族。

艾蒿花粉含有多种分子过敏原,Art v 4 属于 profilin 家族,虽然并非蒿属花粉中最主要的致敏组分,但由于其具有较高的序列和结构保守性,常被认为参与花粉与多种植物性食物之间的广泛交叉识

基金项目:国家自然科学基金专项项目(32541102)

作者简介:宋若琳(2001—),女,硕士在读,研究方向:食品安全及过敏机制研究

通信作者:车会莲, E-mail: chehuilian@cau.edu.cn

别^[4]。既往文献已将 Art v 4 与桃过敏原 Pru p 4 作为艾蒿-桃关联中可能涉及的 profilin 通路之一加以报道^[5-6]。然而,目前针对 Art v 4 优势表位、其与 Pru p 4 的共享表位及分子基础研究仍相对有限。

基于此,本研究以 Art v 4 为对象,系统预测并筛选优势功能区域,与 Pru p 4 进行同源性比对,筛选潜在交叉表位,并通过体外实验进行初步验证,以期艾蒿-桃相关 profilin 通路的机制研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 艾蒿过敏原 Art v 4 及桃过敏原 Pru p 4 序列的获取 从 NCBI 数据库获取 Art v 4 及 Pru p 4 氨基酸序列的 FASTA 格式文件。采用 ExPASy ProtParam 在线工具其分子量、理论等电点及不稳定指数等理化性质进行预测。

1.2 线性与构象 B 细胞表位的预测与筛选 在线性 B 细胞表位预测中,先采用 ABCpred 对候选区段进行初筛;再采用 BepiPred-3.0 进行进一步筛选,保留重叠的候选区段;结合 DNASTAR Protean 综合分析蛋白柔性、表面可及性等,筛选潜在优势 B 细胞表位区域。构象 B 细胞表位通过 ElliPro 进行预测。

1.3 T 细胞表位的预测与筛选 采用 IEDB 数据库中的 NetMHCIIpan 及 NetMHCpan 工具,分别用于 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞表位筛选。选取常见 HLA 等位基因进行预测,以 percentile 值 $\leq 10\%$ 或 rank 值 $\leq 2\%$ 作为候选筛选标准。

1.4 Art v 4 与 Pru p 4 的同源序列比对与潜在交叉表位空间定位 采用 Clustal Omega 进行序列比对,分析同源性及保守区段分布情况。Art v 4 三维结构基于 AlphaFold 数据库模型进行评价,对候选表位在空间结构中的位置进行定位,分析其表面暴露特征及结构分布。

1.5 艾蒿过敏患者血清与桃提取物竞争抑制实验 采用抑制性斑点免疫印迹(inhibitory Dot-Blot, iDot-Blot)评价桃提取物在艾蒿过敏患者血清水平的竞争抑制作用。过敏患者及健康对照者血清样本的采集和使用经中国农业大学人类研究伦理委员会批准(批准号:CAUHR-20230606),所有受试者均签署知情同意书。受试者通过校内招募及社交平台问卷招募的方式征集,并结合临床病史、过敏原检测结果及问卷信息进行筛选,最终纳入艾蒿过敏患者及健康对照者,其中健康对照者均无明确过敏病史且过敏原检测结果均为阴性。采集静脉血后分离血清,分装并于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用,患者基本信息见表 1。

将 4 例艾蒿过敏患者血清等体积混合作为混合血清,以 PBS 稀释后备用。分别以桃提取物、艾蒿提

取物与血清预孵育,其中桃提取物组为交叉抑制组,艾蒿提取物组为阳性抑制对照组,PBS 组为空白对照组;健康对照血清经相同处理后作为阴性对照。

以艾蒿提取物为固相抗原进行 iDot-Blot 检测。NC 膜封闭后分别加入各组预孵育血清孵育,洗膜后加入 HRP 标记抗人 IgE 抗体,采用化学发光法显色并成像,比较各组显色强度以评价桃提取物的竞争抑制作用。

表 1 过敏患者及健康对照者信息

Table 1 Information of patients and healthy controls

序号	性别	年龄	过敏原及等级
1	男	41~50	狗毛皮屑(+++);艾蒿(++++)
2	女	31~40	牛奶(++);粉尘螨(+++);艾蒿(++++)
3	男	19~30	艾蒿(++++)
4	男	19~30	虾(++++)、尘螨(++++)、艾蒿(++++)
5	女	19~30	无
6	女	41~50	无

注:过敏患者及健康对照者均于首都医科大学附属北京世纪坛医院进行皮肤点刺试验(Skin prick test, SPT)测定过敏原,按照皮肤指数(Skin index, SI),即过敏原风团与阳性对照风团平均直径的比值评价 SPT 的反应强度并进行分级,SI >2.0 为“++++”; $1.0\leq SI<2.0$ 为“+++”; $0.5\leq SI<1.0$ 为“++”; $0.3<SI<0.5$ 为“+”。

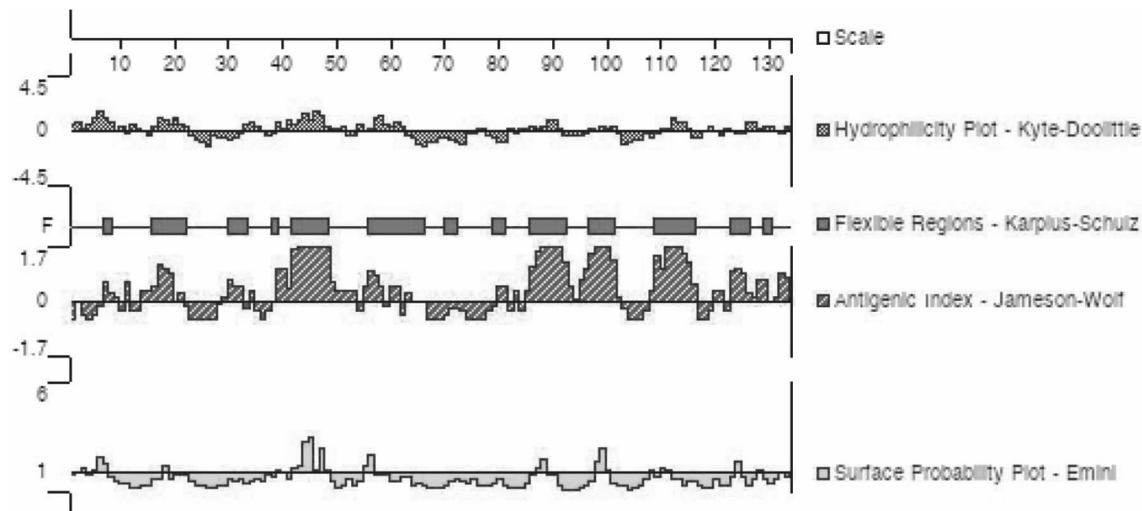
1.6 表位肽的合成、质量鉴定与 IgE 抑制性验证 根据筛选结果选取 3 段潜在交叉 T 细胞表位肽,即 31~45 aa、71~85 aa 和 101~115 aa,分别命名为 A31、A71 和 A101,由南京金斯瑞生物科技股份有限公司采用 Fmoc 固相合成法合成。采用高效液相色谱(HPLC)检测合成肽纯度,选择纯度大于 95% 的肽段进行后续研究。合成肽的分子量通过电喷雾电离-质谱(ESI-MS)确认。合成多肽于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。采用 iDot-Blot 方法评价表位肽与艾蒿过敏患者血清 IgE 的结合能力。

1.7 图像灰度值分析与统计学处理 采用 ImageJ 软件对化学发光成像所得 Dot-Blot 图像进行灰度值分析,并以 PBS 预孵育组归一化为 100%,得到相对 IgE 结合强度。所有实验均独立重复至少 3 次,结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示。采用 GraphPad Prism 软件 10.0 进行统计学分析,两组间比较采用独立样本 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析。以 $\alpha=0.05$ 为检验水准, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Art v 4 表位分析 ExPASy ProtParam 分析结果显示,Art v 4 由 133 个氨基酸组成,预测分子量为 14.21 kDa,符合 profilin 家族小分子蛋白的序列特征。GRAVY 值为 -0.002 ,提示 Art v 4 整体呈亲水性特

征。结合 DNASTar Protean 分析结果,Art v 4 在 42 ~ 48 aa,85 ~ 102 aa,108 ~ 116 aa 表现出良好的亲水性、柔性及抗原性特征,可能为潜在表位分布区域,如图 1 所示。



注:Hydrophilicity plot:亲水区域;Flexible Regions:柔性区域;Antigen Index:抗原指数;Surface Probability:表面可及性。

图 1 Art v 4 的氨基酸序列的 DNASTar Protean 分析

Fig. 1 DNAstar protean analysis of the amino acid sequence of Art v 4

线性 B 细胞表位预测结果显示,ABCpred 预测共筛选获得 14 个潜在线性 B 细胞表位区段。进一步地,BepiPred - 3.0 预测获得 2 个评分较高的候选表位区段,位于 13 ~ 20 aa 和 108 ~ 116 aa,如表 2 所示。构象 B 细胞表位预测共获得 7 组候选表位,评分较高的表位主要分布于蛋白 N 端和 C 端,如表 3 所示。

表 2 两种免疫信息学工具预测的 Art v 4 线性 B 细胞表位

Table 2 Linear B - cell epitopes of Art v 4 predicted by two immunoinformatics tools

预测软件	预测结果
ABCpred(https://webs.iitd.edu.in/raghava/abcpred/) (threshold = 0. 50)	4 ~ 19, 12 ~ 27, 19 ~ 34, 26 ~ 41, 33 ~ 48, 40 ~ 55, 50 ~ 65, 57 ~ 72, 70 ~ 85, 81 ~ 96, 91 ~ 106, 99 ~ 114, 105 ~ 120, 113 ~ 128
BepiPred - 3. 0(https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?BepiPred-3.0) (threshold = 0. 15)	13 ~ 20, 108 ~ 116

表 3 Art v 4 构象 B 细胞表位预测结果

Table 3 Predicted conformational B - cell epitopes of Art v 4

序号	表位残基范围	残基数	ElliPro 评分
1	S1, G0, S2, W3, Q4, T5, D8, D9	8	0. 746
2	T99, G100, Q101, D126, Y127, L129, D130, Q131, G132, M133	10	0. 723
3	M12 ~ L22 区段	11	0. 701
4	P42 ~ A113 多区域结构表位	32	0. 695
5	Q78 ~ A83 区段	6	0. 566
6	T30 ~ T33 区段	4	0. 554
7	S38 ~ S40 区段	3	0. 517

T 细胞表位预测结果显示,Art v 4 可筛得若干潜在 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞表位,其中 NetMHCIIpan 4. 1 预测获得 8 条潜在优势 CD4⁺ T 细胞表位,如表 4; NetMHCpan 4. 1 预测获得 10 条潜在优势 CD8⁺ T 细胞表位,如表 5。

综合线性 B 细胞表位、构象 B 细胞表位、CD4⁺/CD8⁺ T 细胞表位,优先保留在多种预测结果中重叠的候选区段,得到 11 ~ 20 aa, 31 ~ 45 aa, 71 ~ 85 aa, 87 ~ 98 aa, 101 ~ 115 aa 5 条潜在表位。

表 4 NetMHCIIpan 预测的 Art v 4 潜在优势 CD4⁺ T 细胞表位

Table 4 Potential dominant CD4⁺ T - cell epitopes of Art v 4 predicted by NetMHCIIpan

序号	起止位点	氨基酸序列	最佳 HLA 等位基因	百分位值 (%)	核心序列
1	101 ~ 115	QAMVFGIYDEPVAPG	HLA - DQA101 : 01 / DQB105 : 01	0. 05	VFGIYDEPV
2	71 ~ 85	GAKYVMVIQGEAGAVI	HLA - DRB1 * 01 : 01	0. 32	YMQIQGEAG
3	31 ~ 45	DGTVWAKSASFPEFK	HLA - DRB1 * 09 : 01	0. 34	WAKSASFPE

(续表)

序号	起止位点	氨基酸序列	最佳 HLA 等位基因	百分位值 (%)	核心序列
4	41 ~ 55	FPEFKPNEIDAIKE	HLA - DRB1 * 09:01	0. 37	PNEIDAIK
5	66 ~ 80	GLFLGGAKYMQVE	HLA - DRB1 * 01:01	2. 10	GAKYMQVG
6	1 ~ 15	MSWQTYVDDHLMCDI	HLA - DRB1 * 01:01	2. 12	TYVDDHLM
7	46 ~ 60	PNEIDAIKEFNEAG	HLA - DRB1 * 09:01	2. 18	DAIKEFNE
8	91 ~ 105	AGGICIKKTGQAMVF	HLA - DRB1 * 01:01	2. 30	TGQAMVFGI

注:预测工具:IEDB NetMHCIIpan 4. 1;强结合:百分位值 <2% ,中等/较高亲和:2 ~ 10% ,弱结合: >10% 。

表 5 NetMHCpan 预测的 Art v 4 潜在优势 CD8⁺ T 细胞表位
Table 5 Potential dominant CD8⁺ T - cell epitopes of Art v 4 predicted by NetMHCpan

排名	位置	序列	HLA - I 等位基因	百分位值 (%)
1	11 ~ 19	HLMCDIAAM	HLA - A * 02:01	0. 20
2	87 ~ 95	RRGGICIKK	HLA - A * 30:01	0. 21
3	88 ~ 96	RGGICIKKT	HLA - A * 30:01	0. 21
4	90 ~ 98	GICIKKTGQ	HLA - A * 02:01	0. 21
5	74 ~ 82	VIQGEAGAV	HLA - A * 02:01	0. 38
6	30 ~ 38	GDGTVWAKS	HLA - A * 02:01	1. 54
7	31 ~ 39	DGTVWAKSA	HLA - A * 02:01	1. 63
8	56 ~ 64	PNEIDAIK	HLA - A * 30:01	1. 18
9	76 ~ 84	IQGEAGAVI	HLA - A * 02:01	0. 87
10	77 ~ 85	QGEAGAVIR	HLA - A * 30:01	1. 41

注:预测工具:IEDB NetMHCpan 4. 1;强结合:百分位值 <0. 5% ,中等/较高亲和:0. 5 ~ 2% ,弱结合: >2% 。

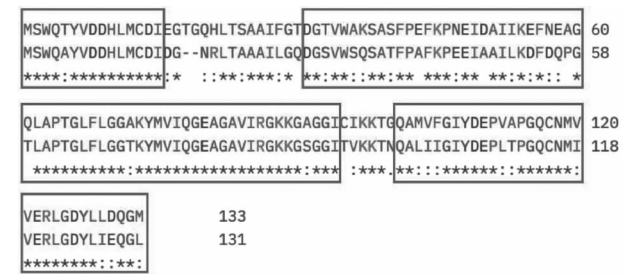
2.2 Art v 4 与 Pru p 4 交叉表位分析 为探讨桃过敏原 Pru p 4 与艾蒿过敏原 Art v 4 之间潜在的交叉反应基础,采用 BLAST 对两者氨基酸序列进行整体比对。结果显示,Art v 4 与 Pru p 4 的序列覆盖率为 100% ,一致性为 72. 93% ,具有较高同源性,如表 6 所

示。进一步采用 Clustal Omega 精细比对结果显示,两者在 1 ~ 15 aa,31 ~ 94 aa,101 ~ 133 aa 存在连续高度保守区段,如图 2 所示,与前述 B 细胞及 T 细胞表位预测结果具有明显重叠,提示这些区域可能构成 Pru p 4 与 Art v 4 交叉反应的潜在结构基础。

表 6 Art v 4 与 Pru p 4 氨基酸序列 BLAST 比对结果
Table 6 BLAST alignment results of the amino acid sequences of Art v 4 and Pru p 4

比对序列	覆盖率 (%)	E 值	一致性 (%)	序列长度 (aa)
Art v 4 vs. Pru p 4	100	2. 00 × 10 ⁻⁷⁷	72. 93	133

注:覆盖率 (Query Cover) 表示查询序列参与比对的比例;一致性 (Per. ident) 表示两条序列中完全相同氨基酸残基所占比例;E 值 (Expect value) 越小,表示序列比对结果的统计学显著性越高。



注:若某一列残基完全相同,标记为“*”;若该列残基虽不完全相同,但分子大小和亲疏水性相似(无明显不相似替换),标记为“:”;若该列仅部分保留理化性质,存在相似与不相似残基混合替换,标记为“.”。

图 2 Art v 4 与 Pru p 4 的序列同源性分析

Fig. 2 Sequence homology analysis of Art v 4 and Pru p 4

比对 Art v 4 和 Pru p 4 的交叉 CD4⁺/CD8⁺ T 细胞表位如表 7 所示,综合序列保守性及表位预测结果,筛选得到 Art v 4 的 31 ~ 45 aa,71 ~ 85 aa 和 101 ~ 115 aa 作为潜在核心交叉表位区段。三维结构分析结果显示,上述区段均位于蛋白表面,主要分布于环区及短 α - 螺旋区域,具有较好的空间可及性,符合表位识别与抗原呈递的结构特征,如图 3 所示。

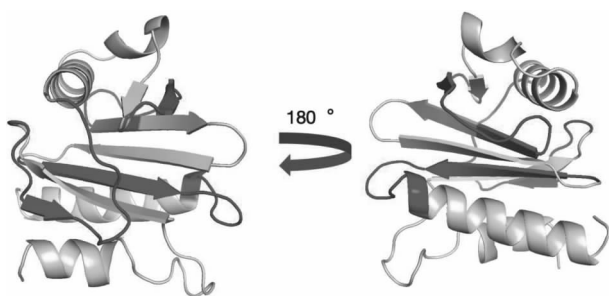
进一步采用抑制性 iDot - Blot 评价桃提取物对艾蒿过敏患者血清 IgE 识别艾蒿提取物的竞争抑制作用。结果显示,与空白对照组相比,桃提取物预孵育后患者血清 IgE 与膜上艾蒿提取物的结合信号明显减弱,且相对 IgE 结合强度显著降低 ($\alpha = 0. 05$);其抑制效果与艾蒿提取物阳性抑制组差异不显著,如图 4 所示。上述结果表明,桃提取物可与艾蒿过敏患者

血清中的部分特异性 IgE 发生竞争结合,提示 Pru p 4 与 Art v 4 之间可能存在交叉反应。

表 7 Art v 4 和 Pru p 4 的交叉 CD4⁺/CD8⁺ T 细胞表位

Table 7 Cross-reactive CD4⁺/CD8⁺ T-Cell epitopes of Art v 4 and Pru p 4

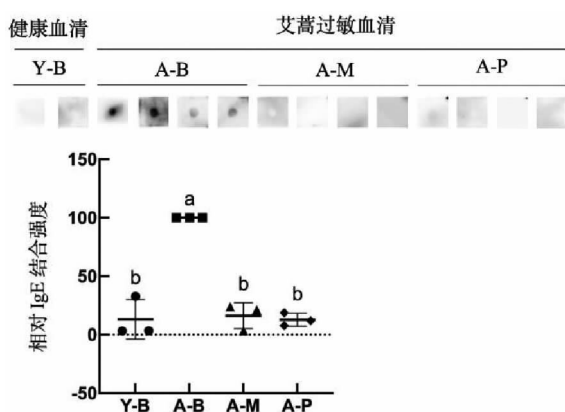
序号	Art v 4 起止	Art v 4 表位	核心序列	百分位值(%)	Pru p 4 起止	Pru p 4 表位	相似度	交叉潜力
1	71 ~ 85	GAKYMQVIGGEAGAVI	YMQVIGGEAG	0.32	71 ~ 85	KYMQVIGGEAGAVIRG	1.00	高
2	66 ~ 80	GLFLGGAKYMQVIGGE	GAKYMQVIGG	2.10	71 ~ 85	KYMQVIGGEAGAVIRG	~0.83	高
3	1 ~ 15	MSWQTYVDDHLMCDI	TYVDDHLM	2.12	1 ~ 15	MSWQAYVDDHLMCDI	~0.87	高
4	31 ~ 45	DGTVWAKSASFPEFK	WAKSASFPE	0.34	31 ~ 45	SVWSQSATFPFAFKPE	~0.62	中
5	101 ~ 115	QAMVFGIYDEPVAPG	VFGIYDEPV	0.05	96 ~ 110/101 ~ 115	KTNQALHIGIYDEPL/LHIGIYDEPLTPGQC	~0.67	中
6	91 ~ 105	AGGICIKKTGQAMVF	TGQAMVFGI	2.30	96 ~ 110	KTNQALHIGIYDEPL	~0.40	低



注:深色为 A31、A71、A101 三个肽段。

图 3 Art v 4 三维结构模型及交叉 CD4⁺/CD8⁺ T 细胞表位区段

Fig. 3 Three-dimensional structural model of Art v 4 and the cross-reactive CD4⁺/CD8⁺ T-cell epitope regions



注:上方为代表性 iDot-Blot 结果图,下方为灰度值定量分析结果。Y-B:健康对照血清与 PBS 预孵育组;A-B:艾蒿过敏患者混合血清与 PBS 预孵育组;A-M:艾蒿过敏患者混合血清与艾蒿提取物预孵育组;A-P:艾蒿过敏患者混合血清与桃提取物预孵育组。以膜上点加天然艾蒿提取物作为固相抗原。结果以均值±标准差表示。不同小写字母表示组间差异具有统计学意义($\alpha=0.05$),相同字母表示差异无统计学意义。

图 4 桃提取物与艾蒿过敏原竞争性结合特异性 IgE 的 iDot-Blot 的结果及灰度值分析

Fig. 4 IDot-Blot results and densitometric analysis of competitive binding of peach extract and *Artemisia vulgaris* allergen to specific IgE

2.3 表位肽质量鉴定及 iDot-Blot 实验 为评价合成表位肽的质量,采用高效液相色谱和质谱对候选肽段进行检测。结果显示,A31 和 A101 的实测分子量与理论值基本一致,纯度均大于 98%,符合后续免疫学功能实验要求;A71 纯度为 75.4%,未纳入后续 IgE 抑制实验,仅用于候选区段结构分析参考,如表 8 所示。

表 8 表位肽 A31 与 A101 质量检测结果

Table 8 Quality identification results of epitope peptides A31 and A101

肽段	理论分子量 (Da)	实测分子量 (Da)	纯度 (%)	主要保留时间 (min)
A31	1 669.86	1 669.8	98.7	13.992
A71	1 506.78	1 506.6	75.4	13.333
A101	1 593.82	1 593.6	98.5	12.081

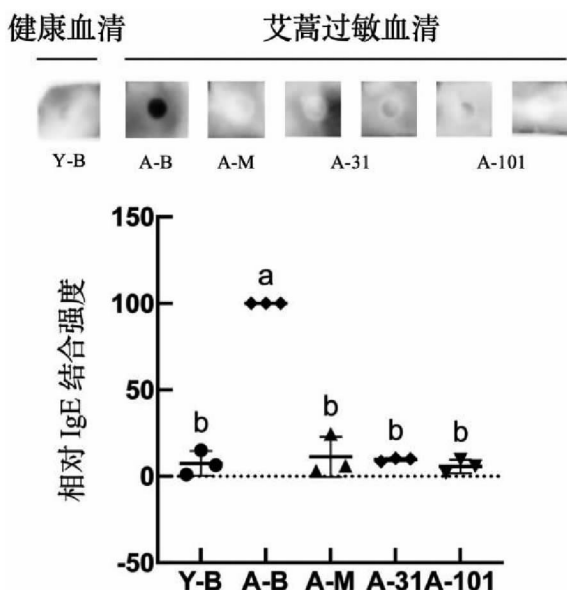
注:理论分子量为根据肽段氨基酸序列计算所得,实测分子量由 ESI-MS 测定;纯度及主要保留时间由 HPLC 分析获得。

进一步采用 iDot-Blot 方法评价候选表位肽对艾蒿过敏患者血清 IgE 与天然艾蒿过敏原结合的抑制作用。结果如图 5 所示,PBS 预孵育组显色明显,而 A31 和 A101 预孵育后显色均显著减弱,其抑制效果与阳性对照组差异不显著,表明 A31 和 A101 均可与患者血清 IgE 发生竞争结合,并有效抑制其与天然过敏原的结合,具有较强的 IgE 抑制能力。

3 讨论

本研究综合免疫信息学预测、序列比对、结构定位及血清学实验等多方面手段,对 Art v 4 的候选功能表位及其与桃来源过敏原潜在的共享识别基础展开初步探究。

在线性 B 细胞表位筛选中,本研究综合运用了 ABCpred 与 BepiPred-3.0。这两种工具算法原理和输出方式不同,ABCpred 基于神经网络对固定长度肽段进行预测,更适合作为候选区段的初筛工具,因此



注:Y-B:健康对照血清与PBS预孵育组;A-B:艾蒿过敏患者混合血清与PBS缓冲液预孵育组;A-M:艾蒿过敏患者混合血清与艾蒿提取物预孵育组;A-31:艾蒿过敏患者混合血清与A31肽段预孵育组;A-101:艾蒿过敏患者混合血清与A101肽段预孵育组。以膜上点加天然艾蒿提取物作为固相抗原。

图5 合成多肽与艾蒿过敏原竞争性结合特异性IgE的iDot-Blot的结果及灰度值分析

Fig. 5 IDot-Blot results and densitometric analysis of competitive binding of synthetic peptides and *Artemisia vulgaris* allergen to specific IgE

通常给出较多表位区段;BepiPred-3.0则基于蛋白质语言模型对单个氨基酸残基进行表位倾向评分,并依据连续高分残基形成候选区段,因此结果相对更保守。目前,使用ABCpred初步筛选、BepiPred-3.0进一步收敛,并结合理化性质综合判断,已被表位研究所广泛选择^[7-9]。

在B细胞表位层面,本研究结合免疫信息学预测和抑制性iDot-Blot实验,提示13~20 aa,108~116 aa区段可能是Art v 4上较重要的线性IgE识别区域。这一结果与既往关于profilin的表面暴露区域更易形成抗体结合位点的认识基本一致^[10-11],与既往关于profilin蛋白的N端及C端区域常包含较重要的抗体识别位点的报道也相符^[12-13]。

在T细胞表位层面,本研究筛得若干候选CD4⁺T细胞表位,其中101~115 aa区段在预测中表现出较高的MHC II结合倾向,提示其可能是值得进一步关注的候选Th细胞表位。既往关于profilin的研究更多集中于IgE交叉识别现象,缺乏对其交叉表位的深入探究^[14]。本研究的结构定位结果可见,候选CD4⁺T细胞表位大多位于相对稳定且具有一定可及性的结构区段,与其他相关研究一致,其原因可能与

抗原加工及MHC II呈递通常偏好相对稳定片段的规律相关^[15-16]。

从序列比对结果来看,Art v 4与Pru p 4之间呈现出较高的序列保守性,且候选区段存在重叠现象,提示二者可能存在共享的免疫识别基础。这一发现与profilin型过敏原的已有认知相契合。已有研究表明,profilin参与多种花粉-食物交叉反应组合,如Bet v 2(桦树)-Mal d 4(苹果)、Bet v 2(桦树)-Pru p 4(桃)、Phl p 12(禾本科)-Mal d 4(苹果)等^[17]。本研究对Art v 4-Pru p 4的分析,有助于从候选共享表位角度补充艾蒿-桃相关profilin通路的分子层面证据。

血清学实验为上述推测提供了初步支持。桃提取物竞争抑制实验结果表明,桃提取物中存在能够与天然艾蒿提取物竞争患者IgE结合的成分,支持二者在患者血清水平上具有一定程度的交叉反应性。在血清学策略方面,本研究采用混合血清进行初筛,主要目的是提高共有IgE识别位点的检出效率。已有研究在过敏原初筛、IgE immunoblot和dot blot分析中使用混合血清池进行初步血清学评价^[18-19],其优势在于整合多位过敏患者的IgE反应谱,用于比较总体IgE反应性或初筛共有识别趋势,但同时,其难以反映患者之间异质性的不足。这提示后续研究需结合个体血清进行更细致的验证,以全面深入了解表位与个体免疫反应之间的关系。

本研究也存在一些局限性。目前得到的T细胞表位结论仍属于预测性结果,后续若要明确其在实际免疫应答中的作用,还需结合外周血单个核细胞(Peripheral Blood Mononuclear Cells, PBMC)增殖实验、酶联免疫斑点技术(Enzyme Linked Immunospot Assay, ELISPOT)等进行进一步验证。其次,本研究的血清学实验样本量较小且获取范围有限,可能导致研究结果在推广应用时存在一定偏差,未来还需纳入全国不同地区过敏患者的数据。最后,A71区段虽在预测和结构分析中表现出一定候选意义,但由于肽段纯度不足,未能纳入后续免疫学验证,其功能相关性仍需后续研究进一步确认。

综上,本研究初步预测并筛选了Art v 4的候选线性B细胞表位及T细胞表位,并结合血清学实验对部分候选IgE识别区段进行了初步验证。序列比对与结构分析提示,Art v 4与Pru p 4之间具有较高保守性,31~45 aa和101~115 aa区段可能构成二者共享识别的候选基础。结合桃提取物竞争抑制实验,本研究进一步提示艾蒿与桃来源profilin之间可能存在一定交叉反应性。上述结果为进一步解析艾蒿-桃相关profilin通路的分子机制提供了候选区段和实验线索,也可为相关分子诊断及后续干预研究提供参考。

利益冲突声明 本研究不存在任何利益冲突

(下转第2298页)

2024, 32(7): 603–700.

Writing Group of Chinese Guidelines for the Management of Hypertension, Chinese Hypertension League, Hypertension Branch of China International Exchange and Promotive Association for Medical and Health Care, et al. Chinese guidelines for the management of hypertension (2024 revision) [J]. Chinese Journal of Hypertension, 2024, 32(7): 603–700. (In Chinese)

- [36] 中华医学会糖尿病学分会, 朱大龙, 郭立新. 中国糖尿病防治指南(2024 版) [J]. 中国实用内科杂志, 2025, 45(10): 864–874, 892.

Chinese guidelines for the prevention and treatment of diabetes (2024 edition) [J]. Chinese Journal of Practical Internal Medicine, 2025, 45(10): 864–874. (In Chinese)

- [37] 王增武, 郭远林. 中国血脂管理指南(基层版 2024 年) [J]. 中国循环杂志, 2024, 39(4): 313–321.

Wang ZW, Guo YL. Chinese guidelines for lipid management (primary care version 2024) [J]. Chinese Circulation Journal, 2024, 39(4): 313–321. (In Chinese)

- [38] Liu ZH, Zhang L, Wang LY, et al. The predictive value of

cumulative atherogenic index of plasma (AIP) for cardiovascular outcomes: a prospective community-based cohort study [J]. Cardiovascular Diabetology, 2024, 23(1): 264.

- [39] 范转转, 李文婷, 马国亮. 绝经后女性内脏脂肪指数与心血管疾病的关联性分析: 前瞻性队列研究 [J]. 中国全科医学, 2026, 29(2): 180–187.

Fan ZZ, Li WT, Ma GL. Relationship between the Chinese Visceral Adipose Index and Cardiovascular Disease in Postmenopausal Women: a Prospective Cohort Study [J]. Chinese General Practice, 2026, 29(2): 180–187. (In Chinese)

- [40] Li HJ, Zhang Y, Luo HC, et al. The lipid accumulation product is a powerful tool to diagnose metabolic dysfunction-associated fatty liver disease in the United States adults [J]. Frontiers in Endocrinology, 2022, 13: 977625.

- [41] Wang LL, Yi JY, Guo XL, et al. Associations between Life's essential 8 and non-alcoholic fatty liver disease among US adults [J]. Journal of Translational Medicine, 2022, 20(1): 616.

收稿日期: 2025-07-29

(上接第 2277 页)

参考文献

- [1] Hou YB, Sun JL. Common pollen and related allergen components in patients with allergic diseases in the Beijing area [J]. Front Allergy, 2024, 5: 1478392.
- [2] 陈力嘉, 郭森颖, 何思楠, 等. 北京地区气传花粉致敏模式变化趋势研究 [J]. 科学通报, 2026, 71(5): 1134–1143.
- Chen LJ, Guo MY, He SN, et al. Trends of air-borne pollen sensitization pattern in Beijing area [J]. Chinese Science Bulletin, 2026, 71(5): 1134–1143. (In Chinese)
- [3] 李椿莹. 内蒙古中心城市及农村变应性鼻炎吸入过敏原谱优化及蒿属花粉致敏特征分析 [D]. 呼和浩特: 内蒙古医科大学, 2023.
- Li CY. Optimization of aeroallergen battery and analysis of Artemisia pollen sensitization characteristics of allergic rhinitis in central cities and rural areas of Inner Mongolia [D]. Hohhot: Inner Mongolia Medical University, 2023. (In Chinese)
- [4] Terán MG, García-Ramírez B, Mares-Mejía I, et al. Molecular basis of plant profilins' cross-reactivity [J]. Biomolecules, 2023, 13(4): 608.
- [5] Kato Y, Morikawa TY, Fujieda SGH. Comprehensive review of pollen-food allergy syndrome: Pathogenesis, epidemiology, and treatment approaches [J]. Allergy International, 2025, 74(1): 42–50.
- [6] Kallen EJJ, Revers A, Fernández-Rivas M, et al. A European-Japanese study on peach allergy: IgE to Pru p 7 associates with severity [J]. Allergy, 2023, 78(9): 2497–2509.
- [7] Momajadi L, Khanahmad H, Mahnam K. Designing a multi-epitope influenza vaccine: an immunoinformatics approach [J]. Scientific Reports, 2024, 14(1): 25382.
- [8] Baneshi M, Sadeghi M, Hashemi S, et al. Design of a novel multi-epitope antigen for diagnosis of visceral leishmaniasis using an immunoinformatics approach [J]. Scientific Reports, 2025, 15(1): 39308.
- [9] Dolley A, Goswami HB, Dowerah D, et al. Reverse vaccinology and immunoinformatics approach to design a chimeric epitope vaccine against *Orientia tsutsugamushi* [J]. Heliyon, 2024, 10(1): e23616.
- [10] Smith S, Chruszcz M, Chapman M, et al. Human monoclonal IgE antibodies – a major milestone in allergy [J]. Current Allergy and Asthma Reports, 2023, 23(1): 53–65.
- [11] Gómez-velasco H, García-Ramírez B, Siliqi D, et al. Allergen-induced structural rearrangements in IgE: insights from SAXS and molecular dynamics [J]. Int J Biol Macromol, 2025, 328(Pt 2): 147658.
- [12] García-Ramírez B, Mares-Mejía I, Rodríguez-Hernández A, et al. A native IgE in complex with profilin provides insights into allergen recognition and cross-reactivity [J]. Commun Biol, 2022, 5(1): 748.
- [13] Kamath S, Bublin M, Kitamura K, et al. Cross-reactive epitopes and their role in food allergy [J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2023, 151(5): 1178–1190.
- [14] Álvaro-benito M, Abualrous E, Lingel H, et al. Cut or bind? Antigen-specific processing mechanisms define CD4+ T cell immunodominant epitopes for SARS-CoV-2 S and N proteins [J]. Genome Medicine, 2025, 17(1): 147.
- [15] Yakobi SH, Nwodo UU. Structure-guided in silico design of a methionine aminopeptidase-derived multi-epitope vaccine candidate against *Neisseria gonorrhoeae* [J]. Biochem Biophys Rep, 2025, 44: 102323.
- [16] Wang X, Chen L, Lan T, et al. Profiles of apple allergen components and its diagnostic value in Northern China [J]. Front Med, 2024, 11: 1388766.
- [17] Liu S, Chu J, Yin X, et al. The adeno-associated viral vectored Dp12S vaccine effective alleviation of asthma symptoms in mice [J]. NPJ Vaccines, 2025, 11(1): 3.
- [18] Shwe YN, Ng HK, Zeng J, et al. Development of cashew and pistachio ladders through a food-processing approach [J]. Foods, 2024, 13(21): 3440.
- [19] Rabin RL. The potential of human monoclonal IgE antibodies to establish biological potency and stability of allergen extract [J]. Current Allergy and Asthma Reports, 2024, 24(9): 471–475.

收稿日期: 2026-02-14