

以麸质蛋白为靶向的乳糜泻治疗方法研究进展

胡雪洁^{1,2,3}, 袁娟丽^{1,4}, 陈红兵^{1,3}, 武涌^{1,3*}

(1. 南昌大学食品科学与技术国家重点实验室, 南昌 330047; 2. 南昌大学食品学院, 南昌 330031;
3. 南昌大学中德联合研究院, 南昌 330047; 4. 南昌大学药学院, 南昌 330006)

摘要: 乳糜泻(celiac disease, CD)是携带遗传易感基因人群的自身免疫疾病,其特点是摄入含麸质蛋白的小麦或大麦和黑麦产品后,小肠会受到炎症性损伤。乳糜泻患者必须终生坚持无麸质饮食,这是目前唯一有效的治疗方法。然而,严格遵守无麸质饮食是困难的,需要新的治疗方法来补充甚至替代饮食治疗。尽管迄今为止,还没有技术允许乳糜泻患者无限制地安全食用含麸质的产品,但随着对乳糜泻发病机制认识的不断深入,在无麸质饮食替代疗法方面已经取得了有希望的进展。本文综述了以麸质蛋白为靶向的乳糜泻治疗方法研究进展,如下调麦醇溶蛋白的表达、麦醇溶蛋白的隔离、谷氨酰胺残基的转酰胺化和免疫显性肽的酶解,批判性地讨论了这些治疗方法的实用性和获得的结果。

关键词: 小麦; 麸质; 乳糜泻; 乳糜泻治疗; 麦醇溶蛋白

Research advances in gluten-targeted therapies of celiac disease

HU Xue-Jie^{1,2,3}, YUAN Juan-Li^{1,4}, CHEN Hong-Bing^{1,3}, WU Yong^{1,3*}

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China;
2. School of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330031, China;
3. Sino-German Joint Research Institute, Nanchang University, Nanchang 330047, China;
4. School of Pharmaceutical Science, Nanchang University, Nanchang 330006, China)

ABSTRACT: Celiac disease (CD) is an autoimmune disease in the population carrying genetically susceptible genes, which is characterized by an inflammatory damage in the small intestine after ingestion of wheat or barley and rye products containing gluten proteins. Celiac disease patients must follow a lifelong gluten-free diet, which is currently the only effective therapy. However, strict adherence to a gluten-free diet is difficult, and new therapies are needed to supplement or even replace dietary therapy. Although so far none of the technologies allow the safe consumption of gluten without limitations, promising advances have been made in the search for an alternative to the gluten-free diet based on increasing knowledge of the pathogenesis of celiac disease. This article reviewed the advances in gluten-targeted therapies of celiac disease, such as down-regulation of gliadin expression, sequestering of gliadin, transamidation of glutamine residues and proteolysis of immunodominant peptides, and discussed the usefulness and the results obtained of these therapies.

KEY WORDS: wheat; gluten; celiac disease; celiac disease therapies; gliadin

基金项目: 国家自然科学基金项目(31601404)、科技部国际科技合作专项(2013DFG31380)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (31601404) and International Science & Technology Cooperation Program of China (2013DFG31380)

*通讯作者: 武涌, 博士, 助理研究员, 研究方向为食品生物技术。E-mail: ericyo918@hotmail.com

*Corresponding author: WU Yong, Ph.D, Assistant Professor, Sino-German Joint Research Institute, Nanchang University, 235 Nanjing East Road, Qingshanhu District, Nanchang 330047, China. E-mail: ericyo918@hotmail.com

1 引言

乳糜泻是遗传易感人群中常见的自身免疫疾病,临床表现多种多样,典型症状包括疲劳、体重减轻、腹泻、贫血、骨质疏松和抑郁。肠损伤是乳糜泻主要的表现,以上皮内淋巴细胞增生、隐窝增生和绒毛萎缩为特征^[1]。这些病理变化发生在敏感个体的肠粘膜上,是对麸质蛋白及相关肽的反应。Dicke^[2]首先报道了乳糜泻与小麦和类似谷类食物摄入之间的关系,从那时起去除麸质被认为是治疗这种疾病的基础。无麸质饮食虽然安全有效,但治疗效果并不理想。主要原因是严格遵守无麸质饮食的患者经常受到饮食依从性和麸质污染的影响,导致乳糜泻患者病情加重;无麸质食品价格昂贵,适口性差,在许多国家并不普遍,且对于食品中允许的最低麸质含量,国际上还没有达成共识,美国食品和药品管理局(Food and Drug Administration, FDA)以及食品法典委员会只允许在麸质含量低于 20 mg/kg 的食品上标注“无麸质”标签^[3,4];无麸质饮食模式易导致维生素 B、纤维、钙和铁缺乏,且无麸质产品常使用精制面粉和淀粉,与以小麦为原料的产品相比,含有更多的脂肪、糖和盐^[5,6]。无麸质饮食对乳糜泻患者的生活质量会产生负面影响。因此,迫切需要发展安全、有效和负担得起的替代疗法。

本文对近些年以麸质蛋白为靶向的乳糜泻治疗方法研究进展进行总结,期望在保持麸质蛋白独特的感官、营养和烘焙品质的同时使乳糜泻患者摆脱严格的饮食限制。

2 麸质蛋白

麸质蛋白又称面筋,是指面团被洗去淀粉后的粘性物质。麸质蛋白富含大量的氨基酸,是营养丰富、物美价廉的植物性蛋白源,主要存在于小麦、黑麦、大麦、燕麦及其杂交品种中。以这些谷物生产加工的食品,如面包、蛋糕、饼干和啤酒等,一般均含有麸质成分。麸质蛋白发生水合作用可形成一种由二硫键维持的三维蛋白质网络,使面团呈现特殊的粘弹性。所以,在面包等类似产品的制作中,麸质蛋白的加入能够增强面团筋力,留存的 CO₂ 膨胀而使产品体积增加,同时麸质蛋白的 CO₂ 留存性和吸水性能提高产品产率,使产品保持松软,延长货架期,增强产品风味等。

麸质蛋白主要由麦醇溶蛋白和麦谷蛋白组成,是小麦等谷物中主要的储存蛋白。麦醇溶蛋白和麦谷蛋白在麸质蛋白功能特性中起重要作用。麦醇溶蛋白分子量在 28~55 kDa 之间,为球状单体颗粒,镶嵌在网状聚合的麦谷蛋白上,根据在酸性电泳条件下电泳迁移率的不同可分为 α - β -、 γ -、 ω -麦醇溶蛋白^[7]。麦谷蛋白是一种分子量超过 34,000 kDa 的聚合物结构,由高分子量的麦谷蛋白亚基

(high molecular weight-glutenin subunits, HMW-GS, 70~90 kDa) 和低分子量的麦谷蛋白亚基(low molecular weight-glutenin subunits, LMW-GS, 30~45 kDa)组成,两者通过分子间的二硫键相互作用连接^[8,9]。HMW-GS 通过其半胱氨酸残基形成聚合物,在面团网络结构形成中起重要作用,决定面团的弹性,LMW-GS 对面团弹性的形成也有促进作用,但其作用效果比 HMW-GS 弱,麦醇溶蛋白则赋予小麦面团一定的粘度^[10]。在面团中,麦谷蛋白与麦醇溶蛋白相互作用,从而形成小麦粉独有的特性。如果没有这两种蛋白的存在,面筋蛋白网络就无法形成,影响谷类食物的口感,麦醇溶蛋白和麦谷蛋白之间的比例则是决定面筋蛋白网络质量的关键因素。

3 乳糜泻病理机制

乳糜泻是由麦醇溶蛋白引起的自身免疫疾病,其发病是遗传因素与环境因素共同作用的结果。麦醇溶蛋白是一种富含谷氨酰胺和脯氨酸的蛋白质,人体胃蛋白酶、胰蛋白酶和小肠刷状缘酶缺乏脯氨酸和谷氨酰胺内切酶活性^[11],因此,富含脯氨酸和谷氨酰胺的麦醇溶蛋白在消化道中难以完全消化,从而形成耐消化的肽段聚集在小肠上皮细胞,有利于免疫刺激表位的存活^[12]。

肽段中富含的谷氨酰胺经组织转谷氨酰胺酶(tissue transglutaminase, tTG)脱酰胺生成带负电荷的谷氨酸,与树突状细胞表面的 HLA-DQ2 或 HLA-DQ8 亲和力增加,使肽段更容易被树突状细胞识别,从而将其递呈给 CD⁴⁺T 细胞,引发以肠道固有层 CD⁴⁺T 细胞激活反应为特点的适应性免疫应答,导致肠道上皮炎症细胞浸润、隐窝增生、绒毛萎缩,同时促进 B 细胞增殖、分化,生成抗麦醇溶蛋白抗体(anti-gliadin antibody, AGA)、抗肌内膜抗体(endomysial antibody, EMA)、和抗 tTG 抗体^[13,14];脱酰胺麦醇溶蛋白肽或通过模式识别受体直接刺激巨噬细胞和树突状细胞,增加白细胞介素 15(interleukin-15, IL-15)的表达,最终导致肠上皮细胞受损^[15]。

4 乳糜泻治疗方法

乳糜泻的触发因素已被很好地识别,因此可以设想以小麦、大麦或黑麦中的麸质蛋白及相关肽为治疗靶向,以预防或减少麸质蛋白毒性,作为无麸质饮食的替代方案。以麸质蛋白为靶向的乳糜泻治疗方法根据作用机制可分为以下几类。

4.1 低致乳糜泻小麦品种的培育和筛选

目前,黄原胶等粘合剂和酸面团中的乳酸菌已应用于无麸质面包发酵,以提高烘焙品质,但无麸质面包通常缺乏麸质在烘焙中所提供的蓬松、软绵口感^[16]。低致乳糜泻同时能够保持良好烘焙质量的改良小麦被认为是乳糜泻

患者理想的治疗选择。低致乳糜泻小麦品种可通过筛选缺乏有害麸质表位的小麦品种或分子育种技术来获得。

不同小麦品种在 T 细胞刺激表位数量上存在显著差异^[17,18]。如, Ribeiro 等^[19]发现 Alejo 和 Pernel 2 个小麦品种潜在毒性表位数量存在 11 倍的差异; Camerlengo 等^[20]也利用先前鉴定的低致乳糜泻小麦, 通过传统育种方法, 生产出免疫显性表位减少 85% 的小麦品种。这意味着通过简单选择或传统育种方法培育低致乳糜泻小麦有很大的潜力。另外, 分子育种技术也显示出有希望的结果, 如 Gil-Humanes 等^[21]利用核酸干扰技术(ribonucleic acid interference, RNAi)下调麦醇溶蛋白在六倍体小麦中的表达, 开发出不起 T 细胞反应的小麦品系, 可能获得最终可被乳糜泻患者食用的小麦。Sánchez-León 等^[22]提出另一种培育低致乳糜泻小麦品种的方法, 使用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术对 α -麦醇溶蛋白基因中 33-聚体编码序列附近的保守区域进行定位, 设计了两个 sgRNA(sgalph1 和 sgalph2), 并在特定的麦醇溶蛋白基因中引入突变来关闭表达, 导致低麦醇溶蛋白突变株 R5 和 G12 抗体反应活性分别降低 66.7% 和 61.7%。尽管 CRISPR/Cas9 基因编辑技术与 RNAi 技术相比可产生不涉及转基因表达的稳定和可遗传的突变, 但 SDS 沉降试验初步结果表明, 编辑品系中麦醇溶蛋白下调越多面粉 SDS 值越低, 说明面粉品质下降。

从以上研究进展来看, 小麦遗传资源提供了新的研究途径, 但小麦遗传多样性不能作为独立的方法来开发基于小麦的对乳糜泻患者安全的产品, 因为根据美国 FDA 以及食品法典委员会的要求, 要符合麸质含量低于 20 mg/kg 的麸质靶向治疗水平。尽管如此, 低致乳糜泻小麦品种的培育和筛选为其他麸质蛋白靶向解毒技术奠定了基础。

4.2 麦醇溶蛋白的隔离

麸质蛋白靶向解毒技术的另一机制是将麦醇溶蛋白隔离, 降低麸质蛋白对乳糜泻患者的毒性, 防止其降解为免疫原性多肽, 从而避免引起乳糜泻患者肠道免疫反应。非可吸收聚合物粘合剂 BL-7010, 因其能在与胃和十二指肠相似的 pH 环境中高效地与 α -麦醇溶蛋白结合而具有良好的应用前景。在 HCD4/DQ8 和 NOD-DQ8 乳糜泻小鼠模型中已经证实了 BL-7010 结合 α -麦醇溶蛋白的有效性, 目前正在进行 I/II 期临床试验, 以评估 BL-7010 对乳糜泻患者的安全性和有效性^[23]。Engstrom 等^[24]提出, 抗坏血酸棕榈酸盐可与氯化锌联合作为一种食品添加剂, 与麦醇溶蛋白结合, 从而抑制 tTG 的作用。该研究小组使用同源性建模的计算方法, 对麦醇溶蛋白一个常见的 tTG 结合基序进行化合物亲和力和筛选, 研究结果证实, 抗坏血酸棕榈酸盐联合氯化锌能有效降低 tTG 的活性, 但抗坏血酸棕榈酸盐和氯化锌的结合是否稳定, 以及在胃肠道条件下与麦醇溶蛋白的关系还有待研究。此外, 这些配体在乳糜泻发病机

制中的作用还需进一步研究, 因为目前尚不清楚它们是阻碍了麸质蛋白的消化和多肽通过肠道固有层还是仅在固有层水平上降低 tTG 活性, 也尚未明确安全给定剂量的化合物在体内能有效隔离多少麦醇溶蛋白, 同时研究还应关注麦醇溶蛋白隔离后面粉的营养价值, 以及通过临床研究, 这种超分子组合物是否能有效用于开发低过敏性面粉。

4.3 谷氨酰胺残基的转酰胺化

抗消化肽可通过 tTG 以 2 种方式进行修饰, 包括脱酰胺(谷氨酰胺残基被分解为谷氨酸残基和铵离子)和转酰胺化(谷氨酰胺残基和受体蛋白的赖氨酸残基发生转谷氨酰胺反应使蛋白质分子发生交联)^[25-27]。体外研究表明, 转酰胺化是主要的修饰反应, 能够提高麦醇溶蛋白肽的耐消化性^[28]。

谷氨酰胺残基的转酰胺化治疗是依赖于麸质中谷氨酰胺残基在摄入前与微生物谷氨酰胺转氨酶在特定胺亲核试剂, 如 L-赖氨酸、L-赖氨酸甲酯或乙酯的存在下发生转酰胺化反应, 从而阻断了 tTG 对谷氨酰胺残基的识别及脱酰胺作用, 解决了乳糜泻致病过程中的关键环节^[29,30]。Mazzarelal 等^[31]在赖氨酸甲酯作为胺亲核试剂的条件下, 使用微生物谷氨酰胺转氨酶转酰胺化的小麦粉制成面包, 进行随机单盲临床研究。研究表明, 转酰胺化反应实现了降低免疫原肽毒性的目的, 减少了临床复发患者数量。同时, 他们也提出这种方法尚未定量对多少谷氨酰胺残基进行修饰才能完全消除麸质蛋白的免疫原性, 有必要针对提高转酰胺活性进行进一步研究。此外, 利用 L-赖氨酸或其酯类衍生物作为胺亲核试剂会对小麦面筋的粘弹性产生负面影响, 面筋的电荷密度发生了变化, 可能会影响蛋白链之间氢键的形成。为解决对麸质蛋白构象特征的负面影响, 同时提高转酰胺活性, 最近报道了一种化学酶法, 在正丁胺存在下, 微生物谷氨酰胺转氨酶在还原条件下对麸质蛋白进行转酰胺化, 使得二维电泳图谱发生改变, 反相高效液相色谱(reverse-phase HPLC, RP-HPLC)检测发现疏水性增加, 获得了具有更好工艺性能和更少免疫刺激表位的小麦面团^[32]。该解毒策略能够显著改善转酰胺反应, 减少麸质蛋白交联, 且对麸质蛋白流变性有积极的影响, 这一点是特别重要的, 因为其他报道的解毒策略对麸质蛋白构象特征都存在不利影响。未来的工作将使用相关的体内模型, 研究在最有利的转酰胺化条件下使用不同胺亲核试剂治疗乳糜泻的潜力。

4.4 免疫显性肽的酶解

免疫显性肽酶解是目前市场上以麸质蛋白为靶向治疗乳糜泻最有效的方法之一。脯氨酸和谷氨酰胺特异性蛋白酶已被用于在食用前处理麸质蛋白^[33-35], 甚至与食物共服治疗乳糜泻^[36], 以确保麦醇溶蛋白完全消化, 减少甚至

破坏免疫原肽, 达到治疗的效果。但目前这两种方式都有不足。食用前处理的缺点是, 麸质蛋白水解会影响蛋白质相互作用和面筋网络形成, 从而失去小麦面团原有的粘弹性。麸质靶向蛋白酶与食物共服, 在结合型胆汁酸存在下, 胃蛋白酶、胰蛋白酶或糜蛋白酶会水解该酶。需明确乳糜泻患者通过这种治疗方法可以安全摄入多少麸质蛋白和需要多少麸质蛋白靶向蛋白酶。此外, 这些酶的活性必须非常高, 以确保麸质含量低于 10 mg, 防止肠道损伤(据报道, 每天摄入少于 10 mg 的麸质对乳糜泻患者是安全的^[37])。理想情况下, 这种治疗方法需要能够在酸性条件下发挥作用, 因为免疫原肽在进入十二指肠时引发免疫反应, 且麸质蛋白靶向蛋白酶需对麸质蛋白有特异性。

在此背景下, Wolf 等^[38]开发出一种麦醇溶蛋白内肽酶 Kuma030, 该酶显示出高效降解小麦、大麦和黑麦中免疫原肽的潜力, 从而限制了毒性肽段刺激 T 细胞。在 30 min 的胃消化模型中, 该酶几乎完全降解了 4~8 g 的麸质蛋白。该结果显示了工程蛋白酶口服治疗乳糜泻的潜力, 已于近期开展临床研究。ALV003(glutamine endopeptidase from barley + prolyl endopeptidase)在临床试验中也有望减轻乳糜泻患者黏膜损伤, 但服用 ALV003 组和服用安慰剂组的乳糜泻患者有近 90% 出现不良反应^[39,40]。所以, 这项技术主要目的是避免痛苦的症状和防止误食麸质损伤小肠, 需要控制每日的麸质摄入^[41]。

4.5 以免疫为基础的方法

除麸质蛋白靶向疗法外, 还有针对乳糜泻粘膜损伤机制的免疫系统靶向治疗。如: 降低肠道通透性^[42,43]、tTG 活性抑制^[44-46]、HLA-DQ2 拮抗剂抑制麸质肽表达^[47,48]、下调先天免疫反应的麸质肽^[49]、免疫调节和麸质耐受诱导^[50-52]等。尽管一些治疗方法对乳糜泻患者可能有效, 但它们存在一定的风险, 如, 抑制 tTG 活性是有风险的, 因为 tTG 在内环境稳态中发挥着许多重要作用, 如参与细胞凋亡、细胞粘附、信号转导、胶原蛋白组装和创伤修复等重要过程。目前, 乳糜泻患者必须遵循无麸质饮食的要求, 总的来说, 麸质蛋白靶向和免疫系统靶向治疗为替代无麸质饮食提供了可能。

5 展望

乳糜泻是常见的肠道疾病之一, 对乳糜泻尚有很多未满足的治疗需求。本综述内容表明, 在保留甚至提高麸质蛋白功能价值的同时, 可以减少麸质中有毒抗原表位数量。小麦遗传多样性在低致敏产品的开发将来可能发挥关键的作用, 因为低毒品种可以与高效解毒技术结合使用。另外, 结合麸质蛋白靶向和免疫系统靶向优势的联合治疗方法, 将是替代无麸质饮食和提高乳糜泻患者生活质量的有效方法。

尽管乳糜泻是研究最深入的人类白细胞抗原相关疾病, 但它的发病机制十分复杂, 某些方面还有待进一步阐明, 如免疫显性肽通过肠上皮屏障进入固有层的途径以及每条途径在乳糜泻发病机制中的相对重要性仍不清楚。今后的研究还将涉及除麸质以外其他环境触发因素的识别, 如乳糜泻与肠道微生物。随着对乳糜泻了解的加深, 新的治疗方法无疑会出现。此外, 预计乳糜泻动物/细胞模型将会在这些治疗方法的临床验证之前取得进展。

参考文献

- [1] Hujuel IA, Reilly NR. Celiac disease: Clinical features and diagnosis [J]. *Gastroenterol Clin North Am*, 2019, 48(1): 19–37.
- [2] Dicke WK. Treatment of celiac disease [J]. *Ned Tijdschr Geneesk*, 1951, (95): 124–130.
- [3] Aziz I, Evans KE, Papageorgiou V, *et al.* Are patients with coeliac disease seeking alternative therapies to a gluten-free diet [J]. *J Gastrointest Liver Dis*, 2011, 20(1): 27–31.
- [4] Palmieri B, Laurino C. A review of the gluten-free diet in non-celiac patients: Beliefs, truths, advantages and disadvantages [Z].
- [5] Theethira TG, Dennis M, Leffler DA. Nutritional consequences of celiac disease and the gluten-free diet [J]. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 2014, 8(2): 123–129.
- [6] Dennis M, Lee AR, McCarthy T. Nutritional considerations of the gluten-free diet [J]. *Gastroenterol Clin*, 2019, 48(1): 53–72.
- [7] Malaloda M, Meinhardt SW, Simsek S. Detection and quantitation of immunogenic epitopes related to celiac disease in historical and modern hard red spring wheat cultivars [J]. *Food Chem*, 2018, (264): 101–107.
- [8] Shewry PR, Tatham AS. Disulphide bonds in wheat gluten proteins [J]. *J Cere Sci*, 1997, 25(3): 207–227.
- [9] Ribeiro M, Picascia S, Rhazi L, *et al.* Effect of in situ gluten-chitosan interlocked self-assembled supramolecular architecture on rheological properties and functionality of reduced celiac-toxicity wheat flour [J]. *Food Hydrocoll*, 2019, (90): 266–275.
- [10] Cho K, Beom HR, Jang YR, *et al.* Proteomic profiling and epitope analysis of the complex α -, γ - and ω -gliadin families in a commercial bread wheat [J]. *Front Plant Sci*, 2018, (9): 818.
- [11] Cebolla Á, Moreno M, Coto L, *et al.* Gluten immunogenic peptides as standard for the evaluation of potential harmful prolamins in food and human specimen [J]. *Nutrients*, 2018, 10(12): 1927.
- [12] Schuppan D. Current concepts of celiac disease pathogenesis [J]. *Gastroenterol*, 2000, 119(1): 234–242.
- [13] Marasco G, Di-Biase AR, Schiumerini R, *et al.* Gut microbiota and celiac disease [J]. *Dig Dis Sci*, 2016, 61(6): 1461–1472.
- [14] Harris LA, Park JY, Voltaggio L, *et al.* Celiac disease: Clinical, endoscopic, and histopathologic review [J]. *Gastroint Endosc*, 2012, 76(3): 625–640.
- [15] 谢依婷, 闵芳芳, 陈红兵, 等. 乳糜泻动物模型研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2017, 8(4): 1104–1109.
- Xie YT, Min FF, Chen HB, *et al.* Research advances in animal models of celiac disease [J]. *J Food Saf Qual*, 2017, 8(4): 1104–1109.
- [16] Mezaize S, Chevallier S, Le-Bail A, *et al.* Optimization of gluten-free formulations for French-style breads [J]. *J Food Sci*, 2009, 74(3):

- 140–146.
- [17] Boukid F, Mejri M, Pellegrini N, *et al.* How looking for celiac-safe wheat can influence its technological properties [J]. *Compr Rev Food Sci*, 2017, 16(5): 797–807.
- [18] Ribeiro M, Rodríguez-Quijano M, Giraldo P, *et al.* Effect of allelic variation at glutenin and puroindoline loci on bread-making quality: Favorable combinations occur in less toxic varieties of wheat for celiac patients [J]. *Eur Food Res Technol*, 2017, 243(5): 743–752.
- [19] Ribeiro M, Rodríguez-Quijano M, Nunes FM, *et al.* New insights into wheat toxicity: Breeding did not seem to contribute to a prevalence of potential celiac disease's immunostimulatory epitopes [J]. *Food Chem*, 2016, (213): 8–18.
- [20] Camerlengo F, Sestili F, Silvestri M, *et al.* Production and molecular characterization of bread wheat lines with reduced amount of α -type gliadins [J]. *BMC Plant Biol*, 2017, 17(1): 248.
- [21] Gil-Humanes J, Pistón F, Tollefsen S, *et al.* Effective shutdown in the expression of celiac disease-related wheat gliadin T-cell epitopes by RNA interference [J]. *Proc Nat Acad Sci*, 2010, 107(39): 17023–17028.
- [22] Sánchez-León S, Gil-Humanes J, Ozuna CV, *et al.* Low-gluten, nontransgenic wheat engineered with CRISPR/Cas9 [J]. *Plant Biotechnol J*, 2018, 16(4): 902–910.
- [23] McCarville JL, Nisemblat Y, Galipeau HJ, *et al.* BL-7010 demonstrates specific binding to gliadin and reduces gluten-associated pathology in a chronic mouse model of gliadin sensitivity [J]. *PloS One*, 2014, 9(11): e109972.
- [24] Engstrom N, Saenz-Méndez P, Scheers J, *et al.* Towards celiac-safe foods: Decreasing the affinity of transglutaminase 2 for gliadin by addition of ascorbyl palmitate and ZnCl₂ as detoxifiers [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 77.
- [25] Maiuri L, Vilella VR, Piacentini M, *et al.* Defective proteostasis in celiac disease as a new therapeutic target [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(2): 114.
- [26] Skovbjerg H, Noren O, Anthonsen D, *et al.* Gliadin is a good substrate of several transglutaminases: Possible implication in the pathogenesis of coeliac disease [J]. *Scand J Gastroenterol*, 2002, (37): 812–817.
- [27] Fleckenstein B, Qiao SW, Larsen MR, *et al.* Molecular characterization of covalent complexes between tissue transglutaminase and gliadin peptides [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(17): 17607–17616.
- [28] Skovbjerg H, Koch C, Anthonsen D, *et al.* Deamidation and cross-linking of gliadin peptides by transglutaminases and the relation to celiac disease [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2004, 1690(3): 220–230.
- [29] Brzozowski B. Immunoreactivity of wheat proteins modified by hydrolysis and polymerisation [J]. *Eur Food Res Technol*, 2016, 242(7): 1025–1040.
- [30] Heredia-Sandoval NG, Islas-Rubio AR, Cabrera-Chávez F, *et al.* Transamidation of gluten proteins during the bread-making process of wheat flour to produce breads with less immunoreactive gluten [J]. *Food Funct*, 2014, 5(8): 1813–1818.
- [31] Mazzarella G, Salvati VM, Iaquinio G, *et al.* Reintroduction of gluten following flour transamidation in adult celiac patients: A randomized, controlled clinical study [Z].
- [32] Ribeiro M, Nunes FM, Guedes S, *et al.* Efficient chemo-enzymatic gluten detoxification: Reducing toxic epitopes for celiac patients improving functional properties [J]. *Sci Rep*, 2015, (5): 18041.
- [33] Brzozowski B. Immunoreactivity of wheat proteins modified by hydrolysis and polymerisation [J]. *Eur Food Res Technol*, 2016, 242(7): 1025–1040.
- [34] Walter T, Wieser H, Koehler P. Degradation of gluten in wheat bran and bread drink by means of a proline-specific peptidase [J]. *Food Sci Nutr*, 2014. DOI: 10.4172/2155–9600.1000293.
- [35] Wolf C, Siegel JB, Tinberg C, *et al.* Engineering of Kuma030: A gliadin peptidase that rapidly degrades immunogenic gliadin peptides in gastric conditions [J]. *J Am Chem Soc*, 2015, 137(40): 13106–13113.
- [36] Rey M, Yang M, Lee L, *et al.* Addressing proteolytic efficiency in enzymatic degradation therapy for celiac disease [J]. *Sci Rep*, 2016, (6): 30980.
- [37] Akobeng AK, Thomas AG. Systematic review: Tolerable amount of gluten for people with coeliac disease [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2008, 27(11): 1044–1052.
- [38] Wolf C, Siegel JB, Tinberg C, *et al.* Engineering of Kuma030: A gliadin peptidase that rapidly degrades immunogenic gliadin peptides in gastric conditions [J]. *J Am Chem Soc*, 2015, 137(40): 13106–13113.
- [39] Lähdeaho ML, Kaukinen K, Laurila K, *et al.* Glutenase ALV003 attenuates gluten-induced mucosal injury in patients with celiac disease [J]. *Gastroenterology*, 2014, 146(7): 1649–1658.
- [40] Siegel M, Garber ME, Spencer AG, *et al.* Safety, tolerability, and activity of ALV003: Results from two phase 1 single, escalating-dose clinical trials [J]. *Dig Dis Sci*, 2012, 57(2): 440–450.
- [41] Ribeiro M, Nunes FM, Rodríguez-Quijano M, *et al.* Next-generation therapies for celiac disease: The gluten-targeted approaches [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2018, (75): 56–71.
- [42] Kelly CP, Green PH, Murray JA, *et al.* M2048 Safety, tolerability and effects on intestinal permeability of larazotide acetate in celiac disease: Results of a phase IIb 6-week gluten-challenge clinical trial [J]. *Gastroenterology*, 2009, 136(5): 474.
- [43] Vaquero L, Rodríguez-Martín L, León F, *et al.* New coeliac disease treatments and their complications [J]. *Gastroenterol Hepatol*, 2018, 41(3): 191–204.
- [44] Choi K, Siegel M, Piper JL, *et al.* Chemistry and biology of dihydroisoxazole derivatives: Selective inhibitors of human transglutaminase 2 [J]. *Chem Biol*, 2005, 12(4): 469–475.
- [45] Pardin C, Roy I, Lubell WD, *et al.* Reversible and competitive cinnamoyl triazole inhibitors of tissue transglutaminase [J]. *Chem Biol Drug Des*, 2008, 72(3): 189–196.
- [46] Jeitner TM, Pinto JT, Cooper AJL. Cystamine and cysteamine as inhibitors of transglutaminase activity *in vivo* [J]. *Biosci Rep*, 2018, 38(5): BSR20180691.
- [47] Siegel J, Baker D, Gordon SRA, *et al.* Compositions and methods for treating celiac sprue disease: U.S. patent application 15/896,536 [P]. 2018-7-5.
- [48] Kapoerchan VV, Wiesner M, Overhand M, *et al.* Design of azidoproline containing gluten peptides to suppress CD4+ T-cell responses associated with celiac disease [J]. *Bioorgan Med Chem*, 2008, 16(4): 2053–2062.
- [49] Silano M, Di Benedetto R, Maiale F, *et al.* A 10-residue peptide from durum wheat promotes a shift from a Th1-type response toward a Th2-type response in celiac disease [J]. *Am J Clin Nutr*, 2008, 87(2): 415–423.
- [50] Daveson AJM, Ee HC, Andrews JM, *et al.* Epitope-specific

immunotherapy targeting CD4-positive T cells in celiac disease: Safety, pharmacokinetics, and effects on intestinal histology and plasma cytokines with escalating dose regimens of Nexvax2 in a randomized, double-blind, placebo-controlled phase 1 study [J]. *Ebio Med*, 2017, (26): 78–90.

- [51] Haridy J, Lewis D, Newnham ED. Investigational drug therapies for coeliac disease - where to from here? [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2018, 27(3): 225–233.
- [52] Goel G, King T, Daveson AJ, *et al.* Epitope-specific immunotherapy targeting CD4-positive T cells in coeliac disease: Two randomised, double-blind, placebo-controlled phase 1 studies [J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2017, 2(7): 479–493.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



胡雪洁, 硕士研究生, 主要研究方向为食物过敏。

E-mail: 2461748819@qq.com



武涌, 博士, 助理研究员, 主要研究方向为食品生物技术。

E-mail: ericyo918@hotmail.com

“茶学研究”专题征稿函

茶叶源于中国, 与咖啡、可可并称为世界三大饮料。茶叶可鲜食, 也可以加工精制备用, 具有降压、提神等多种保健功能, 且含有多种有机化学成分和无机矿物元素。国内外对茶叶市场需求稳定增长, 我国的茶产业增长潜力巨大, 茶已成为社会生活中不可缺少的健康饮品和精神饮品。

鉴于此, 本刊特别策划了“茶学研究”专题, 由福建农林大学孙威江教授和云南农业大学周红杰教授共同担任专题主编, 主要围绕茶叶的贮藏保鲜、精深加工、品质评价、生物化学和功能性成分、香气成分分析、污染物分析检测、茶树生长代谢、茶叶资源的质量标准化等方面展开论述和研究, 本专题计划在 2019 年 6 月出版。

鉴于您在该领域的成就, 本刊主编吴永宁研究员及专题主编孙威江教授和周红杰教授特别邀请您为本专题撰写稿件, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。综述及研究论文均可, 请在 2019 年 4 月 30 日前通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并优先发表。

同时, 希望您能够推荐该领域的相关专家并提供电话和 E-mail。

感谢您的参与和支持!

投稿方式:

网站: www.chinafoodj.com

E-mail: jfoodsqa@126.com

《食品安全质量检测学报》编辑部