

肠道黏膜免疫细胞在食物致敏中的作用研究进展

杨帆^{1,2}, 马鑫^{1,2}, 武涌^{2,3}, 陈红兵^{1,2,3}, 李欣^{1,2,*}

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

摘要: 食物过敏是食品安全的重要问题之一, 且大部分食物过敏是在胃肠道消化过程中引发的。食物过敏原蛋白经胃肠道消化后形成肽段, 其中部分消化肽在通过肠上皮组织屏障进入肠道黏膜系统后, 被递呈给相关免疫细胞, 从而引发肠道黏膜系统中一系列免疫应答反应。本文阐述了消化肽进入肠道黏膜后, 肠上皮细胞、树突状细胞、B淋巴细胞及CD4⁺ T淋巴细胞在黏膜免疫致敏过程中所起的作用, 为探讨食物过敏引发胃肠道免疫的工作机制提供了理论依据。

关键词: 食物过敏; 肠道黏膜系统; 肠上皮细胞; 树突状细胞; B淋巴细胞; CD4⁺ T淋巴细胞

A Review of the Role of Intestinal Mucosal Immune Cells in Food Sensitization

YANG Fan^{1,2}, MA Xin^{1,2}, WU Yong^{2,3}, CHEN Hongbing^{1,2,3}, LI Xin^{1,2,*}

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

Abstract: Food allergy is one of the most important problems in food safety, and most food allergy events occur in the gastrointestinal tract. A series of immune responses are initiated in the gut, since some digested peptides pass through the barrier of intestinal epithelial cells and enter the intestinal mucosa, where they are presented to relevant immune cells. In this review, the roles of intestinal epithelial cells, dendritic cells, B lymphocytes and CD4⁺ T lymphocytes in the sensitization of digested peptides at the intestinal mucosa are discussed, which will provide valuable information to explore the underlying mechanisms of gastrointestinal immunity during food allergy development.

Keywords: food allergy; intestinal mucosa; intestinal epithelial cells; dendritic cells; B lymphocytes; CD4⁺ T lymphocytes
DOI:10.7506/spkx1002-6630-201803045

中图分类号: R392.8

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2018) 03-0302-07

引文格式:

杨帆, 马鑫, 武涌, 等. 肠道黏膜免疫细胞在食物致敏中的作用研究进展[J]. 食品科学, 2018, 39(3): 302-308.
DOI:10.7506/spkx1002-6630-201803045. <http://www.spkx.net.cn>

YANG Fan, MA Xin, WU Yong, et al. A review of the role of intestinal mucosal immune cells in food sensitization[J]. Food Science, 2018, 39(3): 302-308. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201803045. <http://www.spkx.net.cn>

食物过敏是食品安全的重要问题之一。目前大多数研究集中在食物过敏的效应阶段, 主要探索过敏原对肥大细胞和嗜碱性粒细胞的刺激和引起相关抗体和细胞因子的变化。而对食物过敏的致敏阶段, 尤其针对肠道黏膜系统中的相关免疫细胞研究较少。食物过敏原必然经过胃肠道消化, 因此其在胃肠道消化后引发的致敏阶段

才应是食物过敏研究的根本。本文针对食物过敏原在胃肠道中消化稳定性和肠道黏膜系统中肠上皮细胞、树突状细胞(dendritic cells, DCs)、B淋巴细胞以及CD4⁺ T淋巴细胞的变化探索食物过敏原在肠道黏膜引起免疫应答的工作机制, 为食物过敏在致敏阶段的研究提供理论参考。

收稿日期: 2017-06-26

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金项目(31760431); 国家高技术研究发展计划(863计划)项目(2013AA102205); 南昌大学食品科学与技术国家重点实验室自由探索课题(SKLF-ZZB-201510)

第一作者简介: 杨帆(1993—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品科学与工程。E-mail: 18720995289@163.com

*通信作者简介: 李欣(1980—), 女, 教授, 博士, 研究方向为食品生物技术。E-mail: zhizilixin@ncu.edu.cn

1 食物过敏原消化肽

机体消化吸收食物是食物从口腔到胃部再到肠道的动态分段消化吸收过程。消化后的食物中的大部分蛋白质会被降解,形成容易被小肠吸收的小肽或者氨基酸,从而给机体提供营养。其中部分蛋白质在胃肠道中被消化降解成氨基酸数小于8的多肽或氨基酸后,无法被抗原提呈细胞识别与递呈^[1]。因此,具有致敏作用的肽段须具有一定长度。例如van Beresteijn等^[2]发现引起过敏反应的乳清肽最低分子质量为3 kDa。也有些蛋白质或多肽能够抵抗胃肠道消化,保持完整抗原表位,甚至表位暴露。

因此,食物过敏原蛋白经胃肠道消化后的分子大小是食物是否能引发致敏的重要因素之一。Takagi等^[3]在对多种主要食物过敏原消化稳定性的研究中发现,鸡蛋卵白蛋白分子质量为45.9 kDa,经胃肠道消化后降低至40.5 kDa,将消化后的鸡蛋卵白蛋白进行小鼠抗-鸡蛋卵白蛋白抗血清免疫印迹分析,其能够形成明显的条带,说明消化后的鸡蛋卵白蛋白具有致敏性。Martos等^[4]在生理条件下体外模拟消化鸡蛋卵白蛋白,其中分子质量为40.1 kDa的肽段在胃部消化过程能稳定存在,且具有很强的免疫球蛋白(immunoglobulin, Ig) E结合能力,而在后续肠道中消化60 min后基本被降解为小分子肽段,但其消化产物依旧存在IgE结合表位。花生蛋白中Ara h 2与Ara h 6引起的过敏占总花生过敏患病率80%~90%,是花生的两个主要过敏原^[5-7]。Sen等^[8]对纯化后的Ara h 2进行体外模拟胃肠道消化,分析消化肽段氨基酸序列,发现Ara h 2中从第23位氨基酸开始,包含约90个氨基酸组成的约10 kDa的肽段在胃肠道中不被消化;通过对花生过敏患者的血清进行免疫印迹分析,发现此消化肽段具有2~7个IgE结合表位。Koppelman等^[9]通过对纯化的花生主要过敏原Ara h 1、Ara h 2、Ara h 3以及Ara h 6进行不同浓度的胃蛋白酶消化稳定性评估,发现Ara h 2与Ara h 6在消化60 min后,仍有部分肽段稳定存在,而Ara h 1与Ara h 3分别在消化60 min和4 min后完全被降解为小分子肽段。其中,Ara h 2与Ara h 6中的一个分子质量为10 kDa的肽段能抵抗胃肠道消化,具有与原蛋白相同的IgE结合能力^[5];而Ara h 1与Ara h 3降解后片段的致敏性还未得到证实。Liu Guangming等^[10]通过体外模拟胃肠道消化实验对比了太平洋白虾与草对虾中肌球蛋白消化稳定性,发现太平洋白虾相对草对虾中肌球蛋白在胃肠道中消化稳定性更强,并在用甲壳类动物过敏患者血清检测消化后产物致敏性的研究中,发现太平洋白虾中肌球蛋白在胃部消化60 min及肠道消化240 min后均具有更强的潜在致敏性。

2 肠道黏膜免疫系统相关免疫细胞

肠道黏膜免疫系统包括固有免疫系统与适应性免疫系统,涉及多种组织屏障、免疫细胞以及免疫分子。肠道固有免疫系统由肠道上皮组织、肠道上皮下的黏膜组织中固有免疫细胞(DCs、吞噬细胞、自然杀伤细胞与嗜酸性粒细胞)与固有免疫分子(干扰素(interferon, IFN)- γ 、白细胞介素(interleukin, IL)等)共同组成。肠道上皮组织下的黏膜组织中还包括了由肠相关淋巴组织(gut associated lymphoid tissue, GALT)、B淋巴细胞和T淋巴细胞等构成的适应性免疫应答系统。其中,肠道上皮组织形成物理化学屏障,不仅具备分子筛作用,能有效阻止分子质量大于600 Da的食物过敏原蛋白进入机体,还能进一步降解食物过敏原蛋白^[11]。然而,肠道上皮细胞能通过其他多种途径摄取食物大分子抗原,使抗原进入肠黏膜。例如,肠上皮细胞通过旁路扩散转运抗原,而M细胞通过转胞吞作用摄取抗原,杯状细胞则通过相关抗原通道转运抗原^[12-13]。另外,肠上皮细胞能够低表达主要组织相容性复合体II类(major histocompatibility complex II, MHC II)分子,作为非专职性抗原递呈细胞来加工递呈抗原^[11-14]。

2.1 肠道上皮组织结构组成及功能

肠上皮细胞呈单层紧密排列组成肠道上皮组织并覆盖于黏膜表面,形成外界环境与体内环境之间的动态保护屏障。肠道上皮组织中排布着5种类型肠上皮细胞:吸收性柱状上皮细胞(肠细胞)、杯状细胞、内分泌细胞、潘氏细胞及M细胞。其中,肠细胞占80%以上,其表面突起许多微绒毛结构,一方面增大了与外界物质接触的表面积,从而利于吸收外源物质;另一方面在刷状缘表面可表达分泌多种蛋白质降解酶,可对进入肠腔中的蛋白质进一步降解^[15]。杯状细胞是一种分泌型肠上皮细胞,它可分泌多种黏蛋白组成肠道上皮组织黏液屏障。黏液可通过疏水作用结合外源抗原蛋白,从而限制它们进入肠黏膜。而根据相关研究报道,杯状细胞可通过其他通道使可溶性小分子食物蛋白进入肠黏膜中^[16-17]。而M细胞是一种存在于肠道上皮组织中特化的抗原转运细胞,其细胞表面无微绒毛结构,不能分泌消化酶和黏液,使得抗原物质更容易通过M细胞进入肠黏膜。同时还有Occludin家族、Claudin家族、ZO家族等50多种蛋白通过形成紧密连接来调控肠道上皮组织的渗透性^[18]。这种紧密连接可以阻止过多的食物抗原通过细胞旁途径进入肠道黏膜组织。据报道,肠上皮细胞基底外侧表达的多聚免疫球蛋白受体,能够结合固有层中浆细胞分泌的二聚体IgA,并通过主动转胞吞作用将二聚体IgA转运至肠腔,有助于清除肠腔中的蛋白抗原^[19]。Frossard等^[20]在对 β -乳球蛋白过敏的小鼠模型研究中发现, β -乳球蛋白

致敏的小鼠粪便中抗原特异性IgA的效价比耐受组高。由此可见肠上皮细胞既构成了阻碍外界抗原进入肠黏膜的屏障,同时也促进了机体对营养物质甚至是食物抗原的吸收,且在固有免疫与适应性免疫应答之间起重要的连接作用。

由于动物肠上皮细胞体外培养技术的限制,目前,国内外对于肠上皮细胞在物质吸收转运研究大多数是建立一种肠上皮细胞模型,即20世纪80年代发现一种在形态学和生物化学上的性质和小肠上皮细胞相似的细胞——人结肠腺癌(Caco-2)细胞,并将这种细胞模型运用到药物吸收研究中。之后许多食物过敏原转运吸收的研究均以此模型为基础并加以改进^[21-23]。但这种细胞模型在食物过敏原蛋白消化吸收研究工作中依旧存在不足,细胞之间连接太过紧密,缺少微绒毛结构而不能分泌消化酶与黏液,且相对正常肠细胞具有极少的M细胞和杯状细胞。因此,为了能更好地进行食物过敏机制的研究,期望能模拟出一种与肠上皮细胞体内生长更相似的培养方法。

2.2 肠道中不同亚群DCs及功能

DCs作为专职性抗原递呈细胞之一,也是唯一能够活化初始T淋巴细胞的抗原递呈细胞。不同来源的DCs亚群具有相似性,但目前在DCs功能方面的研究主要来源于小鼠,人源的较少。小鼠小肠中的DCs亚群高表达CD11c及MHC II,不表达IgG高亲和受体CD64,且基于CD11b、CD8 α 、CD103以及CX3CR1分子的表达可对DCs亚群进行分类^[24]。小鼠小肠固有层中主要存在的CD103⁺CX3CR1⁻ DCs包括CD11b⁺CD8 α ⁻以CD11b⁻CD8 α ⁺两种异质群体,而来自血液的CD103⁻ DCs主要存在于小鼠肠系淋巴结^[25]。源于肠道的CD103⁻CX3CR1⁺ DCs定居在肠道固有层,其树突能在肠上皮细胞间隙延伸至肠腔摄取抗原,并使抗原进入到肠道黏膜。有研究发现,小鼠小肠中CD103⁺CD11b⁺、CD103⁺CD8 α ⁺和CD103⁻是3种可迁移至肠系膜淋巴结的DCs亚群,且分别在免疫耐受形成、外源抗原递呈进入肠系膜淋巴结,以及初始T淋巴细胞诱导分化中发挥重要作用^[25]。人体肠道中共表达CD141和DNGR-1两种分子的CD103⁺SIRP α ⁻ DCs等同于小鼠肠道中的CD103⁺CD11b⁻CD8 α ⁺ DCs,而不表达这两种分子的CD103⁺SIRP α ⁻ DCs则相当于小鼠肠道中的CD103⁺CD11b⁺ DCs,对于表达CX3CR1的CD103⁻CD64⁻SIRP α ⁺ DCs可能与CD103⁺CD11b⁻ DCs相同^[24]。同时,由于受到外界抗原刺激,肠道黏膜组织分泌不同的细胞因子,包括IL-1 β 、IL-6、IL-10、IL-12、IL-18、转化生长因子(transforming growth factor, TGF)- β 、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 及视黄酸。这些细胞因子导致DCs分化为不同亚型并分泌相关免疫因子,且通过参与CD4⁺ T淋巴细胞分化成为效应T淋巴细胞来对机体免疫与耐受进行调节^[26]。

正常情况下,DCs在肠道组织中处于未成熟状态,具有很强的抗原摄取能力,能低表达MHC II分子、共刺激分子及黏附因子。未成熟的DCs接触到抗原或受到一些炎性细胞因子(TNF- α 、IL-1 β)刺激后开始成熟;此时DCs表面高表达的MHC II分子特异性结合抗原分子后,经由传入淋巴管进入肠相关淋巴组织,并识别初始T淋巴细胞表面受体(T cell receptor, TCR)促使T淋巴细胞初步活化,同时DCs也上调表达共刺激分子促进T淋巴细胞完全活化。Man等^[27]通过建立牛乳致敏小鼠模型发现,在口服牛乳的小鼠肠道派氏淋巴结(peyer patch, PP)中,DCs将牛乳过敏原递呈给CD4⁺ T淋巴细胞后,相对不喂养牛乳的对照组的凋亡时间延长,且仅在存在特异性牛乳抗原时DCs才会凋亡。研究结果表明,肠道中的DCs可摄取并携带组织中的抗原进入肠相关淋巴系统,诱导初始T淋巴细胞分化,进而引起肠道黏膜免疫的发生,且肠道DCs成熟与凋亡依赖于对T淋巴细胞特异性抗原递呈与加工。

2.3 肠道黏膜系统中的淋巴细胞

肠道黏膜系统中产生致敏的部位包括PP、孤立淋巴滤泡、肠系膜淋巴结、固有层及肠道上皮组织内,这些部位均分布着T淋巴细胞与B淋巴细胞。其中T淋巴细胞根据其表面受体的不同,可分为 $\alpha\beta$ T淋巴细胞与 $\gamma\delta$ T淋巴细胞,其中 $\alpha\beta$ T淋巴细胞为主要的T淋巴细胞,占95%以上,对抗原识别具有特异性;根据表面分子不同又可分为CD4⁺CD8⁻、CD4⁻CD8⁺及CD4⁻CD8⁻ T淋巴细胞;根据功能不同可分为CD4⁺辅助性T(T helper, Th)细胞、CD8⁺细胞毒性T淋巴细胞和调节性T淋巴(regulatory T, Tregs)细胞。目前发现Th细胞包括Th1、Th2、Th9、Th17、Th22及Tfh几种亚型,它们由初始CD4⁺ T淋巴细胞受抗原刺激后分化而来,分化结果受到抗原性质、细胞因子和抗原递呈细胞表达的共刺激分子的共同控制,并在局部免疫调节过程中起着重要的作用^[28]。

而外周成熟的B淋巴细胞根据其表面表达的CD5分子,可分为CD5⁺的B1细胞和CD5⁻的B2淋巴细胞,其中B2淋巴细胞占90%以上,通过分泌抗体参与体液免疫应答。IgM是免疫应答中首先分泌的抗体,但随着B淋巴细胞受到抗原刺激和Th细胞辅助而活化增殖,IgM产生类别转换,形成IgG、IgA或IgE。肠道固有层内占70%~80%的B淋巴细胞产生的表面膜免疫球蛋白A(membrane IgA, mIgA)、TGF- β 及IL-10能够促进B淋巴细胞分化为分泌型IgA(secretory IgA, SIgA)的IgA⁺浆细胞,在肠道黏膜系统发生免疫应答及维持肠道稳态过程中,SIgA可通过转胞吞作用进入肠腔,并作为首道防线对抗原物质进行清除^[29-31]。过敏原进入肠道黏膜系统,B淋巴细胞特异性识别抗原,提呈给CD4⁺ Th细胞并表达CD40L,与B淋巴细胞表面分子CD40结合后被完全

通过活化, $CD4^+$ Th细胞活化分泌的IL-4、IL-21及IL-6能够促进浆细胞合成介导体液免疫的抗体^[32-33]。

3 肠道黏膜免疫细胞在食物过敏中的致敏作用

3.1 肠上皮细胞和T淋巴细胞相互作用促进抗原的吸收

肠上皮细胞主要是通过细胞因子与肠黏膜中免疫细胞产生相互作用并通过表达多种细胞因子和趋化因子受体,对淋巴细胞增殖、分化以及肠道上皮组织稳态调节发挥作用。有研究发现, Th3调节性细胞产生的转化生长因子以及抗炎性细胞因子能够保护肠道上皮细胞之间的紧密连接^[34]。另有研究报道乳糜泻患者摄入麸质蛋白后, 肠道上皮细胞过表达的IL-15在T淋巴细胞增殖与活化中起重要作用^[35]。之后Korneychuk等^[36]在鸡蛋过敏导致的肠下垂疾病发病机理的研究中发现, 作为鸡蛋中的主要过敏原之一, 卵白蛋白能促进肠道上皮细胞过表达IL-15, 且在IL-15与 $CD4^+$ T淋巴细胞共同作用下能够刺激诱导 $CD8^+$ T淋巴细胞形成, 而对肠道造成损伤, 进而增加对抗原的吸收。研究报道促炎性细胞因子如IFN- γ 与TNF- α 能够下调肠道上皮细胞间紧密连接的蛋白的表达^[37]。最近又有报道指出, 肠道上皮细胞表面可表达IFN- γ 受体, 且肠黏膜中产生的IFN- γ 可增大肠道上皮屏障渗透性并提高抗原递呈能力^[38]。Kominsky等^[39]对炎症肠病中IFN- γ 的功能研究中发现, IFN- γ 可以通过诱导肠道上皮细胞顶膜表达IL-10受体(IL-10R、IL-10R1), 来恢复肠道稳态功能。而位于肠道上皮细胞顶膜的具有与IgE抗体低亲和力结合的受体CD23, 能够保护抗原转运过程不被降解, 导致大量的能引发过敏反应的免疫原性蛋白进入到黏膜免疫系统^[40]。肠上皮细胞产生的这些细胞因子与受体在体内组成庞大而完整的网络, 在免疫反应极向的调节以及黏膜损伤后的修复中发挥着重要作用, 为肠道黏膜下的其他细胞提供活化和化学趋化信号。

3.2 DCs和T淋巴细胞的相互作用是食物过敏原递呈的关键阶段

DCs及其分泌的细胞因子与T淋巴细胞表面共刺激分子的表达可调节免疫应答种类和强度。在食物过敏模型中, DCs表面IgE受体与过敏原发生交联时, 能够激活 $CD4^+$ T淋巴细胞自发性产生Th2型细胞因子, 且DCs本身能够产生大量的促炎性细胞因子^[41]。Yang Pingchang等^[42]在利用葡萄球菌肠毒素B与鸡蛋卵白蛋白诱导小鼠致敏的实验中发现, 葡萄球菌肠毒素B可上调肠道黏膜DCs表面黏蛋白域蛋白-4共刺激分子表达, 并诱导鸡蛋卵白蛋白特异性Th2细胞免疫应答。Feng Baisui等^[43]通过建立口服花生及佐剂霍乱毒素(cholera toxin, CT)小鼠致敏模型得出相同结论: CT能够上调肠道黏膜DCs表面黏蛋白域蛋白-4共刺激分子表达, 并诱导花生特异性Th2细胞

免疫应答。Blazquez等^[44]在研究鸡蛋过敏原卵白蛋白致敏小鼠模型中, 对比于口服磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffered saline, PBS)组小鼠, 口服鸡蛋卵白蛋白及CT组小鼠肠系膜淋巴结中 $CD103^+CD11b^-CD8^-$ DCs数量显著增多, 且上调 $CD103^+CD11b^-CD8^-$ DCs中共刺激分子CD86以及OX40L的表达; 同时检测到致敏小鼠脾细胞中含有大量的IL-4、IL-13及少量的IFN- γ 、IL-17, 通过中和OX40L能完全抑制Th2分化, 而IFN- γ 、IL-17的产生不受影响, 可见DCs表达OX40L决定了Th2的分化。Smit等^[45]通过建立小鼠花生致敏模型发现, 实验组致敏小鼠肠道上皮内淋巴细胞中 $CD11b^+$ DCs数量明显增加, $CD103^+$ DCs数量减少, 且主要诱导产生Th2细胞分化。Denning等^[46]将不同小鼠肠道固有层DCs、初始 $CD4^+$ T淋巴细胞以及鸡蛋卵白蛋白进行共同培养, 发现C57BL/6小鼠肠道中的 $CD103^+CD11b^+$ DCs能独特地表达合成IL-6与TGF- β 的mRNA及催化视黄酸形成的酶, 从而有效地诱导初始 $CD4^+$ T淋巴细胞分化为Th17, 且 $CD103^+CD11b^-$ DCs诱导Tregs细胞产生与初始 $CD4^+$ T淋巴细胞及DCs两种细胞在肠道固有层中的比例有关。Cerovic等^[25]建立鸡蛋卵白蛋白的小鼠致敏模型, 发现位于小鼠肠道淋巴边界的 $CD103^-$ DCs诱导初始 $CD4^+$ T淋巴细胞与 $CD8^+$ T淋巴细胞分化形成的效应T淋巴细胞均能分泌IL-17和IFN- γ 。Scott等^[47]建立野生型与CCR2缺陷型小鼠模型, 通过鸡蛋过敏原鸡蛋卵白蛋白刺激小鼠小肠固有层 $CD103^+CD11b^+$ DCs、CCR2 $^+$ 或CCR2 $^-$ 亚群的 $CD103^-CD11b^+$ DCs, 再与初始 $CD4^+$ T淋巴细胞共培养, 发现CCR2 $^+CD103^-CD11b^+$ DCs能更有效地诱导初始 $CD4^+$ T淋巴细胞分化为Th17, 并分泌IL-17。可见 $CD103^-$ DCs诱导初始T淋巴细胞分化与DCs表面CCR2分子表达有关。

3.3 DCs和T淋巴细胞的相互作用也可引发食物过敏原耐受

口服耐受的产生往往与肠道黏膜中具有免疫抑制功能的Tregs细胞形成有关, 且肠系膜淋巴结的存在是产生口服耐受的基本因素^[48]。存在于肠黏膜固有层中的 $CD103^+$ DCs, 在接受外源抗原后可从肠道固有层迁移至肠系膜淋巴结, 并将食物蛋白抗原递呈给初始T淋巴细胞, 并在其他免疫分子作用下诱导分化产生Tregs细胞。Sun Chengming等^[49]证实了 $CD103^+$ DCs在TGF- β 和视黄酸作用下, 能够促进肠道相关淋巴系统中Tregs细胞的形成, 且视黄酸可以提高Tregs细胞上参与肠归巢的表面分子CCR9与 $\alpha 4\beta 7$ 的表达, 从而形成并维持肠道发生免疫耐受。Iliev等^[50]发现 $CD103^+$ DCs的分化依赖于肠上皮细胞产生的视黄酸与TGF- β , 且在两者的共同作用下, $CD103^+$ DCs可产生大量的IL-10, 从而诱导 $CD4^+$ T淋巴细胞分化成Tregs细胞, 发生免疫耐受。Ruiter等^[51]发现非糖基化的花生蛋白可上调人骨髓DCs的视黄醛脱氢

酶2的表达,从而使肠道合成更多的视黄酸,且有助于诱导天然T淋巴细胞产生整合素 $\alpha 4\beta 7$ 。Boucard-Jourdin等^[52]发现整合素 $\alpha v\beta 8$ 优先由 $CD103^+$ DCs合成,且促使 $CD103^+$ DCs激活TGF- β 并诱导产生Tregs细胞;而对于TGF- β 和视黄酸,它们可以促进 $CD103^+$ DCs表达整合素 $\alpha v\beta 8$ 。另外,Matteoli等^[53]发现肠道 $CD103^+$ DCs能表达吲哚胺2,3-双加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO),而体内内外抑制IDO形成或遗传性缺失IDO均会导致 $CD4^+$ FoxP3 $^+$ Tregs细胞形成受阻,从而增加初始 $CD4^+$ T淋巴细胞分化成Th1或Th17;由此可见, $CD103^+$ DCs产生的IDO在免疫耐受形成中也必不可少。

Rescigno等^[54]首次发现肠道DCs能够延伸树突至肠腔捕捉抗原进入肠黏膜,通过表达肠道上皮紧密连接蛋白来维持肠道上皮屏障完整性。Schulz等^[55]发现发挥这种作用的DCs表达表面分子CD11b与CX3CR1,且 $CD11b^+$ CX3CR1 $^+$ DCs定居于肠道固有层,摄取外源抗原进入肠道固有层后,再由 $CD103^+$ DCs携带抗原迁移至肠系淋巴结诱导免疫耐受产生。Mazzini等^[56]利用C57BL/6小鼠分别研究野生型与CX3CR1缺陷型小鼠小肠对鸡蛋卵白蛋白的摄取情况,发现CX3CR1 $^+$ DCs能够有效地摄取肠腔中鸡蛋卵白蛋白,且与缺乏表达CX3CR1分子的小鼠脾细胞对比,CX3CR1缺陷型小鼠促炎性因子IFN- γ 产生降低。可见,CX3CR1 $^+$ DCs及 $CD103^+$ DCs在肠道中建立明确的分工来诱导Tregs细胞生成,从而形成肠道免疫耐受。

3.4 B淋巴细胞和T淋巴细胞相互作用诱导食物过敏的效应阶段

B淋巴细胞在对食物过敏原蛋白的应答过程中需要Th细胞的辅助,首先Th细胞表面的共刺激分子可提供B淋巴细胞活化必需的第二信号,其次Th细胞也被B淋巴细胞活化,分泌的细胞因子促进B淋巴细胞活化、增殖和分化,产生抗体。IgE介导的食物过敏的致敏过程是由Th2细胞通过分泌IL-4、IL-5及IL-13发挥作用,其中IL-4与IL-13能够促使B淋巴细胞活化产生IgM,IL-4可诱导抗体类别转化为IgE,且IL-5能够增强这种效应^[57-59]。另有研究发现,食物过敏组所产生的过敏原特异性IgG尤其是IgG1与IgG4的水平显著高于不发生食物过敏的对照组,且这些抗体受Th2型细胞分泌的细胞因子调控,也表明IgG可能在食物过敏中发挥重要作用^[60-61]。然而,非IgE介导的食物胃肠道过敏患者血清与正常组人血清中IgG水平都明显上升,表明IgG不能作为非IgE介导的食物过敏中检测指标^[62-63]。目前研究对非IgE介导食物过敏的机制尚不清楚,浆细胞产生的抗体在其中发挥的作用有待进一步探索。

4 结 语

食物过敏原蛋白需要克服胃肠道中恶劣的消化环境

及肠道上皮屏障,并保证完整的抗原表位进入到肠道黏膜系统才能诱导发生免疫应答。肠上皮细胞通过分泌细胞因子与 $CD4^+$ T淋巴细胞产生相互作用,导致大量的食物过敏原蛋白进入到肠道黏膜系统。食物过敏原蛋白通过DCs识别并提呈给 $CD4^+$ T淋巴细胞,然而,不同亚群的DCs影响着 $CD4^+$ T淋巴细胞分化的方向。而Th细胞与B淋巴细胞之间相互作用在体液免疫中起重要作用,尤其是Th2型细胞经活化产生的细胞因子通过诱导浆细胞产生IgE来介导过敏反应。非IgE介导的肠道黏膜免疫机制更为复杂,需要更深入地研究。

参考文献:

- [1] UNTERSMAJR E, JENSEN-JAROLIM E. The role of protein digestibility and antacids on food allergy outcomes[J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2008, 121(6): 1301-1308. DOI:10.1016/j.jaci.2008.04.025.
- [2] VAN BERESTEIJN E C, MEIJER R J, SCHMIDT D G. Residual antigenicity of hypoallergenic infant formulas and the occurrence of milk-specific IgE antibodies in patients with clinical allergy[J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 1995, 96(3): 365-374. DOI:10.1016/S0091-6749(95)70056-0.
- [3] TAKAGI K, TESHIMA R, OKUNUKI H, et al. Comparative study of *in vitro* digestibility of food proteins and effect of preheating on the digestion[J]. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 2003, 26(7): 969-973. DOI:10.1248/bpb.26.969.
- [4] MARTOS G, CONTRERAS P, MOLINA E, et al. Egg white ovalbumin digestion mimicking physiological conditions[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(9): 5640-5648. DOI:10.1021/jf904538w.
- [5] APOSTOLOVIC D, STANIC-VUCINIC D, DE JONGH H H, et al. Conformational stability of digestion-resistant peptides of peanut conglutins reveals the molecular basis of their allergenicity[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 29249. DOI:10.1038/srep29249.
- [6] KOPPELMAN S J, WENSING M, ERTMANN M, et al. Relevance of Ara h 1, Ara h 2 and Ara h 3 in peanut-allergic patients, as determined by immunoglobulin E Western blotting, basophil-histamine release and intracutaneous testing: Ara h 2 is the most important peanut allergen[J]. Clinical and Experimental Allergy, 2004, 34(4): 583-590. DOI:10.1111/j.1365-2222.2004.1923.x.
- [7] KULIS M, CHEN X, LEW J, et al. The 2S albumin allergens of *Arachis hypogaea*, Ara h 2 and Ara h 6, are the major elicitors of anaphylaxis and can effectively desensitize peanut-allergic mice[J]. Clinical & Experimental Allergy, 2012, 42(2): 326-336. DOI:10.1111/j.1365-2222.2011.03934.x.
- [8] SEN M, KOPPER R, PONS L, et al. Protein structure plays a critical role in peanut allergen Ara h 2 stability and may determine immunodominant IgE binding epitopes[J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2002, 109(1): S300. DOI:10.1016/S0091-6749(02)82054-1.
- [9] KOPPELMAN S J, HEFLE S L, TAYLOR S L, et al. Digestion of peanut allergens Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3, and Ara h 6: a comparative *in vitro* study and partial characterization of digestion-resistant peptides[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2010, 54(12): 1711-1721. DOI:10.1002/mnfr.201000011.
- [10] LIU Guangming, CAO Minjie, HUANG Yuanyuan, et al. Comparative study of *in vitro* digestibility of major allergen tropomyosin and other

- food proteins of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*)[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2010, 90(10): 1614-1620. DOI:10.1002/jsfa.3988.
- [11] REITSMA M, WESTERHOUT J, WICHERS H J, et al. Protein transport across the small intestine in food allergy[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2014, 58(1): 194-205. DOI:10.1002/mnfr.201300204.
- [12] OHSHIMA Y. Mucosal immunity and the onset of allergic disease[J]. Allergology International, 2013, 62(3): 279-289. DOI:10.2332/allergolint.13-RAI-0585.
- [13] MÉNARD S, CERF-BENSUSSAN N, HEYMAN M. Multiple facets of intestinal permeability and epithelial handling of dietary antigens[J]. Mucosal Immunology, 2010, 3(3): 247-259. DOI:10.1038/mi.2010.5.
- [14] VITALE S, PICASCIA S, GIANFRANI C. The cross-talk between enterocytes and intraepithelial lymphocytes[J]. Molecular and Cellular Pediatrics, 2016, 3(1): 20. DOI:10.1186/s40348-016-0048-4.
- [15] GAVROVIC-JANKULOVIC M, WILLEMSSEN L E M. Epithelial models to study food allergen-induced barrier disruption and immune activation[J]. Drug Discovery Today: Disease Models, 2015, 17/18: 29-36. DOI:10.1016/j.ddmod.2016.09.002.
- [16] MCDOLE J R, WHEELER L W, MCDONALD K G, et al. Goblet cells deliver luminal antigen to CD103⁺ dendritic cells in the small intestine[J]. Nature, 2012, 483: 345-349. DOI:10.1038/nature10863.
- [17] HOWE S E, LICKTEIG D J, PLUNKETT K N, et al. The uptake of soluble and particulate antigens by epithelial cells in the mouse small intestine[J]. PLoS ONE, 2014, 9(1): e86656. DOI:10.1371/journal.pone.0086656.
- [18] 张金卫, 林汉杰, 韩凌. 肠上皮细胞紧密连接的研究进展[J]. 中国医药导报, 2015, 12(6): 160-163.
- [19] PETERSON L W, ARTIS D. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis[J]. Nature Reviews Immunology, 2014, 14(3): 141-153. DOI:10.1038/nri3608.
- [20] FROSSARD C P, HAUSER C, EIGENMANN P A. Antigen-specific secretory IgA antibodies in the gut are decreased in a mouse model of food allergy[J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2004, 114(2): 377-382. DOI:10.1016/j.jaci.2004.03.040.
- [21] PRICE D, ACKLAND M L, SUPHIOGLU C. Identifying epithelial endocytotic mechanisms of the peanut allergens Ara h 1 and Ara h 2[J]. International Archives of Allergy and Immunology, 2017, 172(2): 106-115. DOI:10.1159/000451085.
- [22] MORENO F J, RUBIO L A, OLANO A, et al. Uptake of 2S albumin allergens, Ber e 1 and Ses i 1, across human intestinal epithelial Caco-2 cell monolayers[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(22): 8631-8639. DOI:10.1021/jf061760h.
- [23] BODINIER M, LEGOUX M A, PINEAU F, et al. Intestinal translocation capabilities of wheat allergens using the Caco-2 cell line[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(11): 4576-4583. DOI:10.1021/jf070187e.
- [24] BEKIARIS V, PERSSON E K, AGACE W W. Intestinal dendritic cells in the regulation of mucosal immunity[J]. Immunological Reviews, 2014, 260(1): 86-101. DOI:10.1111/imr.12194.
- [25] CEROVIC V, HOUSTON S A, SCOTT C L, et al. Intestinal CD103⁺ dendritic cells migrate in lymph and prime effector T cells[J]. Mucosal Immunology, 2013, 6(1): 104-113. DOI:10.1038/mi.2012.53.
- [26] SCHIAVI E, SMOLINSKA S, O'MAHONY L. Intestinal dendritic cells[J]. Current Opinion in Gastroenterology, 2015, 31(2): 98-103. DOI:10.1097/MOG.0000000000000155.
- [27] MAN A L, BERTELLI E, REGOLI M, et al. Antigen-specific T cell-mediated apoptosis of dendritic cells is impaired in a mouse model of food allergy[J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2004, 113(5): 965-972. DOI:10.1016/j.jaci.2004.02.038.
- [28] WAWRZYNIAK M, O'MAHONY L, AKDIS M. Role of regulatory cells in oral tolerance[J]. Allergy, Asthma & Immunology Research, 2017, 9(2): 107-115. DOI:10.4168/aaair.2017.9.2.107.
- [29] MANTIS N J, ROL N, CORTHÉSY B. Secretory IgA's complex roles in immunity and mucosal homeostasis in the gut[J]. Mucosal Immunology, 2011, 4(6): 603-611. DOI:10.1038/mi.2011.41.
- [30] FAGARASAN S, HONJO T. Intestinal IgA synthesis: regulation of front-line body defences[J]. Nature Reviews Immunology, 2003, 3(1): 63-72. DOI:10.1038/nri982.
- [31] 王玉奇. IgA抗体的结构、功能与调控[J]. 实验血液学杂志, 1995(3): 253-259.
- [32] ETO D, LAO C, DITORO D, et al. IL-21 and IL-6 are critical for different aspects of B cell immunity and redundantly induce optimal follicular helper CD4 T cell (T_{fh}) differentiation[J]. PLoS ONE, 2011, 6(3): e17739. DOI:10.1371/journal.pone.0017739.
- [33] GASCAN H, GAUCHAT J F, AVERSA G, et al. Anti-Cd40 monoclonal-antibodies or CD4⁺ T-cell clones and IL-4 induce IgG4 and IgE switching in purified human B-cells via different signaling pathways[J]. Journal of Immunology, 1991, 147(1): 8-13.
- [34] PLANCHON S, FIOCCCHI C, TAKAFUJI V, et al. Transforming growth factor-beta1 preserves epithelial barrier function: identification of receptors, biochemical intermediates, and cytokine antagonists[J]. Journal of Cellular Physiology, 1999, 181(1): 55-66. DOI:10.1002/(SICI)1097-4652(199910)181:1<55::AID-JCP6>3.0.CO;2-M.
- [35] PAGLIARI D, CIANCI R, FROSALI S, et al. The role of IL-15 in gastrointestinal diseases: a bridge between innate and adaptive immune response[J]. Cytokine & Growth Factor Reviews, 2013, 24(5): 455-466. DOI:10.1016/j.cytogfr.2013.05.004.
- [36] KORNEYCHUK N, RAMIRO-PUIG E, ETTERSBERGER J, et al. Interleukin 15 and CD4⁺ T cells cooperate to promote small intestinal enteropathy in response to dietary antigen[J]. Gastroenterology, 2014, 146(4): 1017-1027. DOI:10.1053/j.gastro.2013.12.023.
- [37] MACDONALD T T, HUTCHINGS P, CHOY M Y, et al. Tumour necrosis factor-alpha and interferon-gamma production measured at the single cell level in normal and inflamed human intestine[J]. Clinical and Experimental Immunology, 1990, 81(2): 301-305. DOI:10.1111/j.1365-2249.1990.tb03334.x.
- [38] ONYIAH J C, COLGAN S P. Cytokine responses and epithelial function in the intestinal mucosa[J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2016, 73(22): 4203-4212. DOI:10.1007/s00018-016-2289-8.
- [39] KOMINSKY D J, CAMPBELL E L, EHRENTAUT S F, et al. IFN-γ-mediated induction of an apical IL-10 receptor on polarized intestinal epithelia[J]. Journal of Immunology, 2014, 192(3): 1267-1276. DOI:10.4049/jimmunol.1301757.
- [40] MORENO F J. Gastrointestinal digestion of food allergens: effect on their allergenicity[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2007, 61(1): 50-60. DOI:10.1016/j.biopha.2006.10.005.
- [41] FRISCHMEYER-GUERRERIO P A, GUERRERIO A L, CHICHESTER K L, et al. Dendritic cell and T cell responses in children with food allergy[J]. Clinical and Experimental Allergy, 2011, 41(1): 61-71. DOI:10.1111/j.1365-2222.2010.03606.x.
- [42] YANG Pingchang, XING Zhou, BERIN C M, et al. TIM-4 expressed by mucosal dendritic cells plays a critical role in food antigen-specific Th2 differentiation and intestinal allergy[J]. Gastroenterology, 2007, 133(5): 1522-1533. DOI:10.1053/j.gastro.2007.08.006.
- [43] FENG Baisui, CHEN Xiao, HE Shaoheng, et al. Disruption of T-cell immunoglobulin and mucin domain molecule (TIM)-1/TIM4

- interaction as a therapeutic strategy in a dendritic cell-induced peanut allergy model[J]. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2008, 122(1): 55-61. DOI:10.1016/j.jaci.2008.04.036.
- [44] BLAZQUEZ A B, BERIN M C. Gastrointestinal dendritic cells promote Th2 skewing via OX40L[J]. *Journal of Immunology*, 2008, 180(7): 4441-4450. DOI:10.4049/jimmunol.180.7.4441.
- [45] SMIT J J, BOL-SCHOENMAKERS M, HASSING I, et al. The role of intestinal dendritic cells subsets in the establishment of food allergy[J]. *Clinical & Experimental Allergy*, 2011, 41(6): 890-898. DOI:10.1111/j.1365-2222.2011.03738.x.
- [46] DENNING T L, NORRIS B A, MEDINA-CONTRERAS O, et al. Functional specializations of intestinal dendritic cell and macrophage subsets that control Th17 and regulatory T cell responses are dependent on the T cell/APC ratio, source of mouse strain, and regional localization[J]. *Journal of Immunology*, 2011, 187(2): 733-747. DOI:10.4049/jimmunol.1002701.
- [47] SCOTT C L, BAIN C C, WRIGHT P B, et al. CCR2⁺ CD103⁻ intestinal dendritic cells develop from DC-committed precursors and induce interleukin-17 production by T cells[J]. *Mucosal Immunology*, 2015, 8(2): 327-339. DOI:10.1038/mi.2014.70.
- [48] WORBS T, BODE U, YAN S, et al. Oral tolerance originates in the intestinal immune system and relies on antigen carriage by dendritic cells[J]. *Journal of Experimental Medicine*, 2006, 203(3): 519-527. DOI:10.1084/jem.20052016.
- [49] SUN Chengming, HALL J A, BLANK R B, et al. Small intestine lamina propria dendritic cells promote de novo generation of Foxp3 T reg cells via retinoic acid[J]. *Journal of Experimental Medicine*, 2007, 204(8): 1775-1785. DOI:10.1084/jem.20070602.
- [50] ILIEV I D, MILETI E, MATTEOLI G, et al. Intestinal epithelial cells promote colitis-protective regulatory T-cell differentiation through dendritic cell conditioning[J]. *Mucosal Immunology*, 2009, 2(4): 340-350. DOI:10.1038/mi.2009.13.
- [51] RUITER B, GRISHINA G, JAGER S D, et al. Human dendritic cells stimulated with a novel peanut protein express high levels of retinaldehyde dehydrogenase 2 and induce RA-sensitive genes in naive T-cells[J]. *Allergy*, 2012, 67: 120-121. DOI:10.1016/j.jaci.2011.12.043.
- [52] BOUCARD-JOURDIN M, KUGLER D, ENDALE AHANDA M L, et al. β 8 integrin expression and activation of TGF- β by intestinal dendritic cells are determined by both tissue microenvironment and cell lineage[J]. *Journal of Immunology*, 2016, 197(5): 1968-1978. DOI:10.4049/jimmunol.1600244.
- [53] MATTEOLI G, MAZZINI E, ILIEV I D, et al. Gut CD103⁺ dendritic cells express indoleamine 2,3-dioxygenase which influences T regulatory/T effector cell balance and oral tolerance induction[J]. *Gut*, 2010, 59(5): 595-604. DOI:10.1136/gut.2009.185108.
- [54] RESCIGNO M, URBANO M, VALZASINA B, et al. Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria[J]. *Nature Immunology*, 2001, 2(4): 361-367. DOI:10.1038/86373.
- [55] SCHULZ O, JAENSSON E, PERSSON E K, et al. Intestinal CD103⁺, but not CX3CR1⁺, antigen sampling cells migrate in lymph and serve classical dendritic cell functions[J]. *Journal of Experimental Medicine*, 2009, 206(13): 3101-3114. DOI:10.1084/jem.20091925.
- [56] MAZZINI E, MASSIMILIANO L, PENNA G, et al. Oral tolerance can be established via gap junction transfer of fed antigens from CX3CR1⁺ macrophages to CD103⁺ dendritic cells[J]. *Immunity*, 2014, 40(2): 248-261. DOI:10.1016/j.immuni.2013.12.012.
- [57] CABRERA C M, URR A J M. Food allergy and the oral immunotherapy approach[J]. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 2015, 63(1): 31-39. DOI:10.1007/s00005-014-0304-z.
- [58] KUMAR S, VERMA A K, DAS M, et al. Molecular mechanisms of IgE mediated food allergy[J]. *International Immunopharmacology*, 2012, 13(4): 432-439. DOI:10.1016/j.intimp.2012.05.018.
- [59] MORITA H, NOMURA I, MATSUDA A, et al. Gastrointestinal food allergy in infants[J]. *Allergology International*, 2013, 62(3): 297-307. DOI:10.2332/allergolint.13-RA-0542.
- [60] SCOTT-TAYLOR T H, HOURIHANE J O'B, STROBEL S. Correlation of allergen-specific IgG subclass antibodies and T lymphocyte cytokine responses in children with multiple food allergies[J]. *Pediatric Allergy and Immunology*, 2010, 21(6): 935-944. DOI:10.1111/j.1399-3038.2010.01025.x.
- [61] ATKINSON W, SHELDON T A, SHAATH N, et al. Food elimination based on IgG antibodies in irritable bowel syndrome: a randomised controlled trial[J]. *Gut*, 2004, 53(10): 1459-1464. DOI:10.1136/gut.2003.037697.
- [62] HOCHWALLNER H, SCHULMEISTER U, SWOBODA I, et al. Patients suffering from non-IgE-mediated cow's milk protein intolerance cannot be diagnosed based on IgG subclass or IgA responses to milk allergens[J]. *Allergy*, 2011, 66(9): 1201-1207. DOI:10.1111/j.1398-9995.2011.02635.x.
- [63] SHEK L P C, BARDINA L, CASTRO R, et al. Humoral and cellular responses to cow milk proteins in patients with milk-induced IgE-mediated and non-IgE-mediated disorders[J]. *Allergy*, 2005, 60(7): 912-919. DOI:10.1111/j.1398-9995.2005.00705.x.