

白梦天,胡竹林. 过敏性疾病小鼠动物模型建立及表型变化的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(2): 128-134.
Bai MT, Hu ZL. Studies of mouse models of allergic disease [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(2): 128-134.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2020.02.020

过敏性疾病小鼠动物模型建立及表型变化的研究进展

白梦天^{1,2,3,4}, 胡竹林^{1,2,3,4*}

(1.昆明医科大学第四附属医院,眼科,昆明 650032; 2.云南省眼科研究所,昆明 650032;
3.云南省第二人民医院,眼科,昆明 650032; 4.姚克专家工作站,昆明 650032)

【摘要】 目前,过敏性疾病已成为全球性公共卫生问题,其不仅影响患者的生活质量,甚至威胁患者的生命。利用过敏性小鼠动物模型,大量过敏性疾病分子机制及分子构象变化得以揭示,如过敏性结膜炎,过敏性哮喘,变应性接触性皮炎和食物过敏等。尽管不同疾病的过敏性疾病小鼠动物模型免疫应答类型以及表型有所差异,但其与人类免疫应答及表型变化存在相似性。在本篇综述中,我们总结了建立过敏性动物模型的方法以及过敏性疾病表型变化,以期对过敏性疾病小鼠动物模型的建立与质量评估提供相应参考。

【关键词】 小鼠动物模型;过敏性疾病;树突状细胞

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020) 02-0128-07

Studies of mouse models of allergic disease

BAI Mengtian^{1,2,3,4}, HU Zhulin^{1,2,3,4*}

(1. Department of Ophthalmology, Fourth Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, China.
2. Yunnan Eye institute, Kunming 650032. 3. Yunnan Second People's Hospital, Kunming 650032.
4. Expert workstation of Yao Ke, Kunming 650032)

【Abstract】 Allergic diseases have become a global public health problem that not only affects the quality of life of patients, but can also be life threatening. Using mouse models, a large number of molecular mechanisms and conformational changes of various allergic diseases have been revealed, such as allergic conjunctivitis, allergic asthma, contact dermatitis and food allergy. Although the types and phenotypes of immune responses in allergic mice with different diseases vary, they are similar to the immune responses and phenotypic changes that occur in humans. In this review, we summarize the common method for establishing mouse models of allergic diseases and describing the phenotypic changes of each. We hope that this review will provide a reference for the continued establishment and quality evaluation of allergic animal models in mice.

【Keywords】 murine animal models; allergic disease; dendritic cell

过敏性疾病在发达国家、部分发展中国家及地区已具有较高的发病率,这与当地经济因素、环境因素密切相关。不同个体致敏后,其抗体对于抗原

的敏感性存在差异,且不同个体之间可能存在不同的临床表现,使得过敏性疾病的临床表现及治疗存在较大差异^[1]。为了更有效方便地研究过敏性

【基金项目】 云南省第二人民医院白内障眼底病省创新团队(2017HC010);云南省眼科防治重点实验室(2017DG008);姚克专家工作站(2017IC064)。

【作者简介】 白梦天(1990—),男,博士研究生,主要从事眼表疾病的的基础与临床研究。E-mail:308347673@qq.com

【通信作者】 胡竹林,男,博士,主任医师,教授,博士生导师,主要从事眼表疾病的的基础与临床研究。E-mail:hzl77@263.net

疾病,过敏性疾病小鼠模型已经被广泛运用,并且取得了丰硕的成果。同时,研究者正尝试将成果服务于临床^[2]。尽管不同的过敏性疾病发病机制不同,但构建过敏性小鼠模型时却常采用相同的方式,即抗原系统性致敏,其后进行局部激发。而常用的抗原包括卵清蛋白(ovalbumin, OVA)、豚草花粉(ragweed pollen, RW)、屋尘螨(house dust mites, HDM)等。致敏小鼠以发生 I 型和 IV 型过敏反应为主。包括嗜酸性粒细胞浸润、肥大细胞脱颗粒、抗原特异性 IgE 的产生, Th 细胞的活化、Th1/Th2 失衡等^[3]。本文将对过敏性结膜炎、过敏性哮喘、特异性接触性皮炎、食物性过敏的小鼠动物模型构建以及表型变化进行综述。

1 过敏性结膜炎

据统计,过敏性结膜炎全球患病率约 10%~30%,但真实患病率可能高于当前统计结果,可能的原因在于其缺乏特征性临床体征且部分患者未及时就诊。过敏性结膜炎作为一种免疫系统疾病,其与过敏性哮喘、食物性过敏具有相似的免疫学机制^[4]。

过敏性结膜炎动物模型的建立首先需全身致敏,而后进行眼部抗原激发(表 1)。目前认为,特异性 IgE 介导的 I 型超敏反应,特异性 T 细胞介导的 IV 型超敏反应与过敏性结膜炎具有密切关联。当机体处于致敏状态下,变应原与眼表肥大细胞膜 FcεRI 上的 IgE 结合,启动早期相反应(early phase reaction, EPR),引起肥大细胞脱颗粒,释放一系列

细胞因子,如嗜酸性粒细胞趋化因子(eosinophilic chemotactic factor)、组胺(histamine)以及白三烯(leukotrienes)等^[10]。当进入晚期相反应(late phase reaction, LPR)时,则可见大量嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、T 淋巴细胞浸润,并释放细胞因子、趋化因子,引起角膜组织的炎性损伤。

树突状细胞(Dendritic cell, DCs)可将变应原收集并运输至淋巴结,激活 T 细胞,造成 Th1/Th2 漂移, Th2 细胞优势表达。Th2 细胞产生的 IL-4、IL-5、IL-6、IL-13 可促进 IgE 的产生,并促进 IgE 与肥大细胞膜 FcεRI 的结合,引起炎症损伤^[11]。2000 年 IL-37 被首次提出^[12], IL-37 属于 IL-1 基因家族成员, IL-1 家族包含 7 个促炎因子(IL-1α、IL-1β、IL-18、

IL-33、IL-36α、IL-36β、IL-36γ), 4 个抗炎因子(IL-1R 拮抗因子、IL-36R 拮抗因子、IL-37、IL-38)^[13]。IL-37 能够与 IL-18 竞争性结合 IL-18Rα, 招募孤儿受体 IL-1R8。IL-1R8 能够抑制先天性和获得性免疫,并且上调抗炎相关信号通路,如 AMPK、JAK/STAT, 下调促炎相关通路如 NF-κB、NLR3 等^[14]。由于小鼠体内并不能检测到 IL-37,因此无法使用基因敲除技术构建 IL-37 缺陷小鼠,但随着转基因技术的不断发展,IL-37 转基因(IL-37-transgenic, IL37-tg)小鼠已经成为过敏性疾病中研究 IL-37 常用的动物模型^[15]。此外,经重组 IL-37 处理的野生型(wild-type, WT)小鼠同样能够发挥抗免疫作用^[16]。当前,IL-37 已经成为多种过敏性疾病研究的新热点。然而,IL-37 在过敏性结膜炎的研究中还鲜有报道。

表 1 过敏性结膜炎小鼠造模方法及表型变化

Table 1 Modeling and phenotypic changes in mice with allergic conjunctivitis

动物 Animals	抗原 Antigen	全身致敏 Sensitization	局部激发 Challenge	表型变化 Phenotype	参考文献 Ref.
BALB/c 4~6 周龄	RW	50 μL RW 与 氢氧化铝佐剂混合后皮下注射	制备滴眼液(0.2 g/L RW)滴眼,每日 1 次,连续给药 5 d	血清中 RW 特异性 IgE,脾细胞中 IL-5, IL-13, CD4 ⁺ CD25 ⁻ T 表达增高;脾细胞中 CD4 ⁺ CD25 ⁺ T 表达降低	[5]
C57BL/6 J 6 周龄	OVA	50 μg OVA 与 1 mg 氢氧化铝佐剂溶解于 200 μL 生理盐水后,腹腔注射 2 次(间隔 2 周)	5 周后,500 μg OVA 溶解于 5 μL 生理盐水中制备滴眼液滴眼	眼表临床评分,血清中组胺、总 IgE、特异性 IgE 表达增高	[6]
BALB/c 8~10 周龄	SRW	50 μg SRW 与 5 mg 氢氧化铝佐剂混合后,腹腔注射	1.5 mg SRW 溶解于 10 μL PBS 中制备滴眼液,连续给药 5 d	淋巴结细胞中 IL-4, IL-13 表达增高,IFN-γ 表达降低	[7]
BALB/c 6~7 周龄	RW	50 μg RW 与 0.25 mg 氢氧化铝佐剂混合后腹腔注射	1.25 mg RW 溶解后滴眼	结膜组织和血清中 IL-13, IL-33 MCp-1 表达增高, IL-10 表达降低	[8]
BALB/c 4~6 周龄	SRW	50 μg SRW 与 5 mg 氢氧化铝佐剂混合后注射于后肢	10 d 后,1.5 mg SRW +溶解于 10 μL PBS,滴眼	TSLP, TSLPR, OX40L 的 mRNA 表达增高	[9]

注:RW:豚草花粉;OVA:卵清蛋白;SWR:短豚草花粉。

Note. RW, ragweed pollen. OVA: Ovalbumin. SWR: short ragweed pollen.

2 过敏性哮喘

由于小鼠致敏程度高、繁殖能力强且适合大规模饲养,因此成为该类疾病常用的模型动物。但有研究者^[17]认为,过敏性哮喘小鼠不会自发地表现出气道高反应性(airway hyperresponsiveness, AHR),需要在模型成功建立的基础上使用支气管收缩剂,其原因为小鼠气道直径相对较大,不易出现可逆性气流阻塞,并不能直接反应气道受阻情况,但仍能观察到嗜酸性粒细胞浸润增加,CD4⁺细胞表达增高,特异性 IgE 表达增高, Th1/Th2 失衡等现象。

过敏性哮喘小鼠模型的建立分为致敏阶段和效应阶段,在致敏阶段需全身致敏,效应阶段则多采用雾化吸入方法激活效应细胞,从而引起过敏反应(表 2)。在 EPR 阶段, IgE 激活肥大细胞,使支气管平滑肌收缩,黏蛋白分泌增加以及炎症因子增加。在 LPR 阶段,随着炎症细胞迁移至肺组织和气道上皮细胞,引起气道平滑肌肥大、气道上皮脱落、杯状细胞化生以及上皮纤维化^[23]。在过敏性哮喘小鼠模型中, IL-4 主要作用于 B 淋巴细胞,增强肥大细胞、嗜碱性粒细胞中 IgE 受体的亲和力,从而促

进抗原特异性 IgE 的产生。IL-5 主要激活和招募骨髓组织中嗜酸性粒细胞。IL-13 主要引起气道上皮细胞高反应性、杯状细胞化生以及激活巨噬细胞等^[24]。

IL-37 广泛分布在人体的各个器官和组织中,如肺、淋巴结、胸腺等,此外,人和小鼠的上皮细胞、树突状细胞、巨噬细胞有 IL-18R α 。给予过敏性哮喘小鼠 rhIL-37 滴鼻,在其肺泡灌洗液中发现 Th2 相关细胞因子显著下降,同时出现哮喘症状的明显改善^[25]。而敲除 IL-18R α 后,则无法观察到 IL-37 的抗炎作用^[26]。提示 IL-18R α 对于 IL-37 效应的发挥具有重要。IL-37 发挥抗过敏性哮喘作用的机制也是研究者目前关注的热点。有研究认为在过敏性哮喘动物模型中, IL-37 通过抑制 IL-4/IL-6 诱导的 CCL1 的产生而发挥作用^[27]。Robuffo 等^[28]认为, IL-37 通过抑制髓样分化因子 88 (myeloid differentiation factor 88, MyD88),进而抑制 TLR 通路而发挥作用。而 Lunding 等^[25]发现 IL-37 可通过直接抑制 Th2 型细胞而发挥作用。IL-37 对抗过敏性哮喘的机制可能涉及多靶点、多通路,但何种靶点或通路发挥了主要作用目前尚不得而知。

表 2 过敏性哮喘小鼠造模方法及表型变化
Table 2 Modeling and phenotypic changes in mice with allergic asthma

动物 Animals	抗原 Antigen	全身致敏 Sensitization	局部激发 Challenge	表型变化 Phenotype	参考文献 Ref.
KM 小鼠 6~8 周龄	OVA	10 mg OVA 与 30 mg 氢氧化铝佐剂混合后,于第 1、6、12 天分别行双上肢、双下肢外侧、腹腔注射	第 13~15 天雾化吸入 5% OVA 溶液,连续 3 d,每天 1 次,每次 40 min	血清 IgE 表达增高,肺组织 SOD 表达及抑制率水平降低	[18]
BALB/c 6~8 周龄	HDM	1 μ g HDM 溶解于 40 μ L PBS 后滴鼻	第 7~11 天,10 μ g HDM 溶解于 40 μ L PBS 后滴鼻,每日 1 次	嗜酸性粒细胞、单核细胞计数增加,肺组织中 IL-33, CCL20, IL-5, IL-6, IL-13 表达增高	[19]
BALB/c 6~8 周龄	OVA	50 μ g OVA 与 4 mg 氢氧化铝佐剂溶解于 200 μ L 生理盐水后,分别于第 1、8、15 天行腹腔注射	第 22~28 天雾化吸入 1% OVA,每天 1 次,每次 30 min	血清 IgE、IL-4、IFN- γ 表达增高, BALF 中嗜酸性粒细胞计数增加	[20]
BALB/c 8~12 周龄	OVA	20 μ g OVA 与 2.25 mg 氢氧化铝佐剂混合后腹腔注射 2 次(间隔 1 周)	第 28~30 天雾化吸入 1% OVA,每天 1 次,每次 20 min	BALF 中 IL-4、IL-5、IL-13 及肺组织中 TNF- α 、iNOS、CD4 ⁺ 、NF- κ B 表达增高	[21]
C57BL/6 J 8~12 周龄	AHE	5 μ g AHE 溶解于 40 μ L PBS 后雾化吸入 2 次(间隔 1 周)	第 14~16 天雾化吸入 5 μ g AHE	BALF 中 IL-4、IL-5、IL-13、IL-17 表达增高,纵隔淋巴细胞中 INF- γ 表达降低	[22]

注: HDM: 屋尘螨; AHE: 曲霉菌丝提取物; BALF: 支气管肺泡灌洗液; iNOS: 诱导型一氧化氮合酶; SOD: 超氧化物歧化酶。

Note: HDM, house dust mite. AHE, aspergillus hyphal extract. BALF, bronchoalveolar lavage fluid. iNOS, inducible nitric oxide synthase. SOD, superoxide dismutase.

3 变应性接触性皮炎

变应性接触性皮炎 (allergic contact dermatitis, ACD) 是由 T 淋巴细胞介导的迟发型 (IV 型) 超敏反应, 其致敏原为被称为半抗原 (分子量小于 500×10^3)。半抗原并不具备抗原性, 但可与载体蛋白形成半抗原-载体蛋白复合体, 皮肤的树突状细胞 (dendritic cells, DCs) 可将其捕获并移行至淋巴结。

抗原的呈递使 T 淋巴细胞致敏分化为不同亚群, 如 Th1 细胞、Tc1 细胞。当机体再次接触到过敏原后, Th1/Tc1 细胞被激活并产生 IFN- γ , 并激活临近角质细胞而产生炎症反应^[29]。

ACD 动物模型又称为接触性超敏反应 (contact hypersensitivity, CHS), 其半抗原主要有二硝基氟苯 (dinitrofluoroben-zene, DNFB)、恶唑酮、三氯乙烯、甲苯二异氰酸酯、荧光素-5-异硫氰酸盐和硝基氯代苯 (Trinitrochloro-benzene, TNCB)、等。目前经典的 ACD 小鼠动物模型建立方法为采用 DNFB 腹部涂抹, 待小鼠全身致敏后, DNFB 耳廓或背部涂抹激发

(表 3)。

目前已发现 DCs 三种亚群, 即朗格汉斯细胞 (Langerhans cells, LCs)、CD103⁻ DCs、CD103⁺ DCs。传统观念认为, 皮肤中含有大量 LCs、易于和抗原复合物结合且具有抗原呈递功能, 其应该为诱导 Th1/Tc1 的主要细胞。但研究者敲除 LCs 基因后, 发现 CHS 无明显改变; 而敲除 CD103⁺ DCs 基因后, CHS 反应明显下降^[35-36]。而 Edelson 等^[37] 又发现 Batf^{-/-} 小鼠 (先天性缺乏 CD103⁺ DCs 基因) 的 CHS 又未受到影响。因此 DCs 调控 CHS 的具体机制还需进一步研究。

有研究发现, 维生素 D 可通过抑制 Toll 样受体抑制炎症反应, 增强 IL-10 的产生, 抑制 DCs 活化, 降低 Th1 相关细胞因子的产生, 诱导 Treg 细胞产生以及抑制 B 细胞活化和 IgE 的产生来发挥免疫抑制作用^[38-39]。Malley 等^[40] 观察到, 缺乏维生素 D 的雄性小鼠对 ACD 更为敏感, 而在雌性小鼠中无此现象存在。这提示维生素 D 可能确实存在抑制 ACD 作用, 但目前此方面报道尚少, 确切机制尚不清楚。

表 3 接触性皮炎小鼠造模方法及表型变化

Table 3 Modeling and phenotypic changes in mice with contact dermatitis

动物 Animals	抗原 Antigen	全身致敏 Sensitization	局部激发 Challenge	表型变化 Phenotype	参考文献 Ref.
C57BL/6 J 8~10 周龄	TNCB	5 μ L 7% TNCB 涂抹于腹部皮肤处	6 d 后, 20 μ L 1% TNCB 涂抹于右耳皮肤处	ASCs 中 CD29、CD90、CD105, 血清中 IFN- γ 表达增高	[30]
ICR 6~8 周龄	DNCB	1% DNCB 丙酮橄榄油 (100 μ L) 涂抹于腹部皮肤 (连续 2 d, 每天 1 次)	5 d 后, 1% DNCB (20 μ L) 涂抹于右耳内侧皮肤处	耳变态评分增高, 耳肿胀度增高, 脾指数降低	[31]
BALB/c 6~8 周龄	CrCl ₂	125 μ L 10 mM CrCl ₂ + 10 μ g/mL 脂多糖混合后皮内注射于双侧腹股沟注射 2 次 (间隔 1 周)	25 μ L CrCl ₂ + 10 μ g/mL 脂多糖混合后皮内注射于双侧腹股沟处	双侧腹股沟皮肤 CD4 ⁺ , CD4 ⁺ /CD8 ⁺ 表达增高, 双侧后肢皮肤 INF- γ /IL-4、INF γ /IL-5、TNF- α /IL-4、TNF α /IL-5、Fas、FasL 表达增高	[32]
BALB/c	DNCB	1% DNCB (30 μ L) 涂抹于腹部皮肤处 2 次	5% DNCB (30 μ L) 涂抹于耳后皮肤	耳后皮肤出现肿胀及水肿, 血清中 IFN- γ 表达增高, 小鼠体重下降	[33]
SKH1 6~8 周龄	Ox	1.5% Ox 与丙酮混合后涂抹于腹部皮肤	7 d 后, 0.5% Ox 与丙酮混合后涂抹于腹部皮肤 2 次 (间隔 1 周)	腹部表皮厚度增加, 肥大细胞、嗜酸性粒细胞计数增加, 表皮及真皮层中 CD3 ⁺ 增高, 血清中 IgE 含量增高	[34]

注: TNCB: 2,4,6-三硝基氯苯; ASCs: 脂肪组织源性多能干细胞; SADBE: 接触敏化剂; DNCB: 二硝基氯苯; Ox: 恶唑酮; DNFB: 2,4-二硝基氟苯。

Note: TNCB, 2,4,6-trinitro-1-chlorobenzene. ASCs, adipose tissue-derived multipotent mesenchymal stem cells. SADBE, contact sensitizer. DNCB, dinitrochlorobenzene. Ox, oxazolone. DNFB, 2,4-Dinitrofluorobenzene.

4 食物性过敏

食物性过敏(food allergy, FA)的发病率仅次于呼吸系统过敏,且多为 IgE 介导的 I 型超敏反应。目前,被国际免疫学会认定的食物性过敏原超过 100 种,但 90% 的食物性过敏由牛奶、鸡蛋、鱼类、贝壳类、花生、大豆、小麦、坚果 8 类食物引起。在美国,儿童发病率高达 8%,成年人高达 2%~3%^[41]。

同过敏性哮喘、过敏性结膜炎动物模型类似,FA 小鼠模型也需全身致敏(多为腹腔注射),再予以口服抗原激发(表 4)。由于食物中蛋白质的分子结构在胃肠道中会发生改变,其致敏性被降低,采取腹腔注射可更好的保证致敏原分子结构的完整性。此外,FA 小鼠模型常会出现体温下降、腹泻等表现^[46]。

在 FA 动物模型中,Th1 相关因子(IFN- γ)含量显著下降,而 Th2 相关因子(IL-4、IL-5、IL-13)含量上升,出现 Th1/Th2 失衡,即“Th1/Th2 漂移”现象。Liotta 等^[47]发现 Notch 通路被阻断后,IL-4 含量降低但 IFN- γ 显著上升,且小鼠过敏症状明显减轻。这与 Sauma 等^[48]的研究结果一致。提示 Notch 通路可能通过下调 Th2,而上调 Th1 改善 FA 小鼠过敏症状。此外,Jiang 等^[49]在 FA 小鼠模型中使用

Notch 通路抑制剂后,发现淋巴细胞和脾单个核细胞中 NICD、Hes-1 表达下降,T-bet(Th1 转录相关因子)表达上升,而 Gata-3(Th2 转录相关因子)表达降低。猜测 Notch 可能在转录水平上调节 FA。但具体机制仍不清楚。

在 FA 动物模型中,研究者可排除众多混杂因素,因此可以精确地评估致敏原、找到治病因素并采取有效的干预措施。但 FA 是一种全身性疾病,它与遗传因素、环境因素以及个体易感性等均有很大关联,因此很难精确判断个体的发病情况,严重程度以及持续时间。但尽管如此,研究者仍不断在动物模型的基础上尽可能找到可能出现的过敏原,明确其危害程度与暴露因素,并在此基础上避免具有易感体质的个体接触该类过敏原。

5 小结与展望

由于人类生活环境的复杂性和多样性,过敏性小鼠动物模型可能无法完全模拟过敏性疾病的流行病学、致病因素、疾病发展及转归,但其能够较好地揭示相关细胞因子表达、信号通路转导等信息。我们应该更为客观、科学地看待此种局限性,尽管实验动物研究已取得丰硕的结果,但向临床医学转化仍然任重道远。值得肯定的是,构建过敏性小鼠

表 4 食物性小鼠造模方法及表型变化
Table 4 Modeling and phenotypic changes in mice with food allergic mice

动物 Animals	抗原 Antigen	全身致敏 Sensitization	局部激发 Challenge	表型变化 Phenotype	参考文献 Ref.
BALB/c 8~9 周龄	OVA	50 μ g OVA+2 mg 氢氧化铝佐剂溶解于 200 μ L PBS 后,灌胃 2 次(间隔 2 周)	50 mg OVA 溶解于 200 μ L PBS 后灌胃 6 次(间隔 3 d)	血清中总 IgE, OVA 特异性 IgE, OVA 特异性 IgG1 表达增高,回肠、结肠及血清中 mMCp-1 表达增高,脾细胞, IL-6, IL-13 表达增高	[42]
BALB/c 6~8 周龄	OVA	10 μ g OVA+1 mg 氢氧化铝佐剂溶解于 200 μ L 生理盐水后皮下注射 2 次(间隔 2 周)	饮食中加入 14% OVA, 持续 2 周	脂肪组织中 IL-6, TNF- α 表达增高,血清中瘦素和脂联素表达降低	[43]
BALB/c 6~8 周龄	BLG	20 mg BLG 与 10 μ g 霍乱毒素混合后灌胃 3 次(间隔 1 周)	21 d 后 100 mg BLG 灌胃	血清中 IL-4, IL-13 表达增高, IL-10 表达降低, 体重下降	[44]
BALB/c 6~7 周龄	OVA	10 μ g OVA 与 1 mg 氢氧化铝佐剂混合后腹腔注射 2 次(间隔 2 周)	80 mg OVA 溶解于 500 μ L 生理盐水后灌胃 2 次(间隔 4 d)	血清中 IL-5, IL-13 表达增高	[45]
BALB/c 4~12 周龄	OVA	50 μ g OVA 与 1 mg 氢氧化铝佐剂混合后腹腔注射 2 次(间隔 2 周)	50 mg OVA 溶解于 250 μ L PBS 后灌胃 1 次	血清中 OVA 特异性 IgE、mMCp-1 表达增高, IL-4, IL-13、IL-15 的 mRNA 表达增高	[46]

注:BLG: β -乳球蛋白。

Note. BLG, β -lactoglobulin.

模型寻找过敏性疾病的潜在治疗靶点仍是当前研究的热点。此外,随着高通量测序的使用成本逐步下降,使得非编码 RNA 研究的不断深入,又为过敏性疾病的深入研究提供了有力的工具和理论基础。目前已知,外泌体广泛存在于细胞及体液中,其可携带多种蛋白质、mRNA、非编码 RNA 以及脂质等物质,作为细胞-细胞间信息传递系统而参与到机体免疫应答、抗原呈递、细胞迁移、分化等生物学现象中。尽管外泌体在肿瘤学、遗传学中已广泛研究,但其在过敏性疾病研究中还需要进一步深入,如能深入挖掘过敏性疾病中外泌体与非编码 RNA、外泌体与蛋白组学的互相调控关系,外泌体与不同分子之间的直接交互作用导致分子拓扑结构改变对于疾病的影响,则可能对过敏性疾病的治疗提供新的思路和靶点。

参考文献:

- [1] Leung DYM. The microbiome and allergic diseases: a struggle between good and bad microbes [J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2019, 122(3): 231-232.
- [2] Recto MST, Genuino MLG, Castor MAR, et al. Dietary primary prevention of allergic diseases in children: the Philippine guidelines [J]. *Asia Pac Allergy*, 2017, 7(2): 102-114.
- [3] Breiteneder H, Diamant Z, Eiwegger T, et al. Future research trends in understanding the mechanisms underlying allergic diseases for improved patient care [J]. *Allergy*, 2019, 74(12): 2293-2311.
- [4] Bielory L, Schoenberg D. Emerging therapeutics for ocular surface disease [J]. *Curr Allergy Asthma Rep*, 2019, 19(3): 16.
- [5] Yang Y, Yin X, Yi J, et al. MiR-146a overexpression effectively improves experimental allergic conjunctivitis through regulating CD4⁺CD25⁻T cells [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 94: 937-943.
- [6] Kuo CH, Collins AM, Boettner DR, et al. Role of CCL7 in type I hypersensitivity reactions in murine experimental allergic conjunctivitis [J]. *J Immunol*, 2017, 198(2): 645-656.
- [7] Reyes NJ, Chen PW, Niederkorn JY. Allergic conjunctivitis renders CD4(+) T cells resistant to regulatory cells and exacerbates corneal allograft rejection [J]. *Am J Transplant*, 2013, 13(5): 1181-1192.
- [8] Córdova C, Gutiérrez B, Martínez-García C, et al. Oleonic acid controls allergic and inflammatory responses in experimental allergic conjunctivitis [J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e91282.
- [9] Sun W, Sheng Y, Chen J, et al. Down-regulation of miR-146a expression induces allergic conjunctivitis in mice by increasing TSLP level [J]. *Med Sci Monit*, 2015, 21: 2000-2007.
- [10] Zhang ZD, Deng YX, Ma HX, et al. Thymic stromal lymphopoietin-related allergic pathway in patients with vernal keratoconjunctivitis [J]. *Cornea*, 2019, 38(3): 344-351.
- [11] Kumar S, Jeong Y, Ashraf MU, et al. Dendritic cell-mediated Th2 immunity and immune disorders [J]. *Int J Mol Sci*, 20(9): 2159.
- [12] Busfield SJ, Comrack CA, Yu G, et al. Identification and gene organization of three novel members of the IL-1 family on human chromosome 2 [J]. *Genomics*, 2000, 66(2): 213-216.
- [13] Zhang L, Zhang J, Gao P. The potential of interleukin-37 as an effective therapeutic agent in asthma [J]. *Respir Res*, 2017, 18(1): 192.
- [14] Dinarello CA, Nold-Petry C, Nold M, et al. Suppression of innate inflammation and immunity by interleukin-37 [J]. *Eur J Immunol*, 2016, 46(5): 1067-1081.
- [15] Li S, Amo-Aparicio J, Neff CP, et al. Role for nuclear interleukin-37 in the suppression of innate immunity [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(10): 4456-4461.
- [16] Li S, Neff CP, Barber K, et al. Extracellular forms of IL-37 inhibit innate inflammation in vitro and in vivo but require the IL-1 family decoy receptor IL-1R8 [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(8): 2497-2502.
- [17] Irvin CG, Bates JH. Measuring the lung function in the murine: the challenge of size [J]. *Respir Res*, 2003, 4(1): 4.
- [18] 任佳羽,杨贵方,胡松岩,等. 越婢加半夏汤降低过敏性哮喘小鼠的血清 IgE 和升高肺组织中 SOD 的活力 [J]. *中国比较医学杂志*, 2015, 25(9): 18-21, 87.
- [19] Verheijden KA, Willemsen LE, Braber S, et al. The development of allergic inflammation in a murine house dust mite asthma model is suppressed by synbiotic mixtures of non-digestible oligosaccharides and *Bifidobacterium breve* M-16V [J]. *Eur J Nutr*, 2016, 55(3): 1141-1151.
- [20] 高琴琴,丁子桐,李友林,等. 不同剂量卵蛋白诱发 BALB/c 小鼠支气管哮喘模型的比较 [J]. *中国比较医学杂志*, 2019, 29(4): 52-57.
- [21] Fujii U, Miyahara N, Taniguchi A, et al. Effect of a retinoid X receptor partial agonist on airway inflammation and hyperresponsiveness in a murine model of asthma [J]. *Respir Res*, 2017, 18(1): 23.
- [22] Cruz FF, Borg ZD, Goodwin M, et al. CD11b⁺ and Sca-1⁺ cells exert the main beneficial effects of systemically administered bone marrow-derived mononuclear cells in a murine model of mixed Th2/Th17 allergic airway inflammation [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2016, 5(4): 488-499.
- [23] Chatkin JM, Zani-Silva L, Ferreira I, et al. Cannabis-associated asthma and allergies [J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2019, 56(2): 196-206.
- [24] Park S, Baek H, Jung KH, et al. Bee venom phospholipase A2 suppresses allergic airway inflammation in an ovalbumin-induced asthma model through the induction of regulatory T cells [J]. *Immun Inflamm Dis*, 2015, 3(4): 386-397.
- [25] Lunding L, Webering S, Vock C, et al. IL-37 requires IL-18

- Ralpha and SIGIRR/IL-1R8 to diminish allergic airway inflammation in mice [J]. *Allergy*, 2015, 70(4): 366-373.
- [26] Nold-Petry CA, Lo CY, Rudloff I, et al. IL-37 requires the receptors IL-18Ralpha and IL-1R8 (SIGIRR) to carry out its multifaceted anti-inflammatory program upon innate signal transduction [J]. *Nat Immunol*, 2015, 16(4): 354-365.
- [27] Lv J, Xiong Y, Li W, et al. IL-37 inhibits IL-4/IL-13-induced CCL11 production and lung eosinophilia in murine allergic asthma [J]. *Allergy*, 2018, 73(8): 1642-1652.
- [28] Robuffo I, Toniato E, Tettamanti L, et al. Mast cell in innate immunity mediated by proinflammatory and antiinflammatory IL-1 family members [J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2017, 31(4): 837-842.
- [29] Borok J, Matiz C, Goldenberg A, et al. Contact dermatitis in atopic dermatitis children-past, present and future [J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2019, 56(1): 86-98.
- [30] Kikuchi S, Yanaba K, Nobeyama Y, et al. Suppressive effects of mesenchymal stem cells in adipose tissue on allergic contact dermatitis [J]. *Ann Dermatol*, 2017, 29(4): 391-399.
- [31] 沈琪,王梅,康金森. 沙棘油对小鼠变应性接触性皮炎的治疗作用 [J]. *中国比较医学杂志*, 2017, 27(11): 50-55.
- [32] Shigematsu H, Kumagai K, Kobayashi H, et al. Accumulation of metal-specific T cells in inflamed skin in a novel murine model of chromium-induced allergic contact dermatitis [J]. *PLoS One*, 2014, 9(1): e85983.
- [33] Hu YE, Dai SF, Liu Y, et al. Study on the therapeutic mechanisms of pseudolaric acid in mice with allergic contact dermatitis [J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2016, 9(7): 668-671.
- [34] Ostrowski A, Nordmeyer D, Mundhenk L, et al. AHAPS-functionalized silica nanoparticles do not modulate allergic contact dermatitis in mice [J]. *Nanoscale Res Lett*, 2014, 9(1): 524.
- [35] Kissenpfennig A, Henri S, Dubois B, et al. Dynamics and function of langerhans cells in vivo; dermal dendritic cells colonize lymph node areas distinct from slower migrating langerhans cells [J]. *Immunity*, 2005, 22(5): 643-654.
- [36] Wang L, Bursch LS, Kissenpfennig A, et al. Langerin expressing cells promote skin immune responses under defined conditions [J]. *J Immunol*, 2008, 180(7): 4722-4727.
- [37] Edelson BT, KC W, Juang R, et al. Peripheral CD103⁺ dendritic cells form a unified subset developmentally related to CD8 alpha⁺ conventional dendritic cells [J]. *J Exp Med*, 2010, 207(4): 823-836.
- [38] Muehleisen B, Gallo RL. Vitamin D in allergic disease; shedding light on a complex problem [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2013, 131(2): 324-329.
- [39] Hewison M. Vitamin D and the immune system; new perspectives on an old theme [J]. *Rheum Dis Clin North Am*, 2012, 38(1): 125-139.
- [40] Malley RC, Muller HK, Norval M, et al. Dietary vitamin D alters the response of the skin to UVB-irradiation depending on the genetic background of the mice [J]. *Photochem Photobiol Sci*, 2013, 12(3): 536-545.
- [41] Meyer R, Fox AT, Chebar Lozinsky A, et al. Non-IgE-mediated gastrointestinal allergies-Do they have a place in a new model of the Allergic March [J]. *Pediatr Allergy Immunol*, 2019, 30(2): 149-158.
- [42] Castillo-Courtade L, Han S, Lee S, et al. Attenuation of food allergy symptoms following treatment with human milk oligosaccharides in a mouse model [J]. *Allergy*, 2015, 70(9): 1091-1102.
- [43] Batista NV, Pereira RV, Noviello ML, et al. Prolonged ingestion of ovalbumin diet by sensitized mice improves the metabolic consequences induced by experimental food allergy [J]. *Clin Exp Immunol*, 2014, 178(3): 416-427.
- [44] Liu MY, Yang ZY, Dai WK, et al. Protective effect of *Bifidobacterium infantis* CGMCC313-2 on ovalbumin-induced airway asthma and β -lactoglobulin-induced intestinal food allergy mouse models [J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(12): 2149-2158.
- [45] Tanabe K, Kitagawa E, Wada M, et al. Antigen exposure in the late light period induces severe symptoms of food allergy in an OVA-allergic mouse model [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 14424.
- [46] Kinney SR, Carlson L, Ser-Dolansky J, et al. Curcumin ingestion inhibits mastocytosis and suppresses intestinal anaphylaxis in a murine model of food allergy [J]. *PLoS One*, 2015, 10(7): e0132467.
- [47] Liotta F, Frosali F, Querci V, et al. Human immature myeloid dendritic cells trigger a TH2-polarizing program via Jagged-1/Notch interaction [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2008, 121(4): 1000-1005.
- [48] Sauma D, Ramirez A, Alvarez K, et al. Notch signalling regulates cytokine production by CD8⁺ and CD4⁺ T cells [J]. *Scand J Immunol*, 2012, 75(4): 389-400.
- [49] Jiang S, Han S, Chen J, et al. Inhibition effect of blunting notch signaling on food allergy through improving TH1/TH2 balance in mice [J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2017, 118(1): 94-102.