

· 论著 ·

文章编号: 1007-8738(2018)04-0320-07

卵清蛋白致过敏性腹泻小鼠血清和胃组织中 5-羟色胺系统的代谢分析

夏振江^{1,2,3}, 徐艳^{4,5,6}, 韩吉春^{4,5,6}, 何强强^{1,2,3}, 董金金^{4,5,6}, 邹小艳^{1,2,3}, 杜玉枝^{1,2}, 尚靖^{1,2,4,5,6*}, 魏立新^{1,2*} (中国科学院: ¹西北高原生物研究所青海省藏药药理学和安全性评价研究重点实验室, ²藏药研究重点实验室, 青海 西宁 810008; ³中国科学院大学, 北京 100049; ⁴中国药科大学天然药物活性组分与药效国家重点实验室, 江苏 南京 210009; ⁵中国药科大学江苏省中药评价与转化重点实验室, 江苏 南京 211198; ⁶中国药科大学中药学院, 江苏 南京 211198)

[摘要] 目的 探讨卵清蛋白(OVA)致过敏性腹泻小鼠 5-羟色胺(5-HT)信号系统的变化。方法 7~8 周龄雌性 BALB/c 小鼠分为模型组、色甘酸钠处理组和对照组。模型组和色甘酸钠处理组分别在 0 d 和 14 d, 腹腔注射 OVA I (50 μg/只)。28 d 后, 隔天对小鼠进行口服灌胃 OVA II (50 mg/只) 激发(共 8 次)。色甘酸钠处理组从 28 d 开始, 隔天(口服灌胃激发前)给予色甘酸钠(78.0 mg/kg)(共 8 次)。OVA 口服灌胃后对小鼠进行综合评分、粪便评分及测定体温变化。43 d 后, 处死动物。摘眼球取血离心取血清并取胃组织。ELISA 检测血清 OVA 特异性 IgE(OVA-SIgE)。液相色谱-质谱联用技术(LC-MS)测定血清中的 5-HT 及其上下游代谢产物犬尿酸(KYN)、色氨酸(Trp)、5-羟色胺酸(5-HTP)和 5-羟基吲哚乙酸(5-HIAA)含量, 利用实时定量 PCR 检测过敏小鼠胃组织 5-HT 代谢相关基因色氨酸羟化酶 1(TPH1)、吲哚胺-2,3-双加氧酶 1(IDO1)、单胺氧化酶 A(MAO-A)、5-HT 选择性再摄取转运体(SERT)及其受体 5-羟色胺 1A 受体(HTR1A)、HTR3A、5-羟色胺 4 受体(HTR4)的 mRNA 水平。结果 OVA 致敏后, 小鼠产生严重的过敏性腹泻, 血清中的 OVA-SIgE 明显升高。血清中的 KYN 显著上升, 5-HT、5-HIAA 和 5-HTP 显著下降。胃组织 IDO1 及其受体 HTR1A、HTR3A 的 mRNA 水平增加, TPH1、MAO-A mRNA 水平降低。给予色甘酸钠后综合评分、粪便评分、体温及 OVA-SIgE 明显降低, 并且腹泻率也低于模型组, 血清中的 5-HIAA 及胃组织中 MAO-A mRNA 水平升高, 胃组织 IDO1、5-HT1A、5-HT3A mRNA 水平降低。结论 OVA 致过敏性腹泻小鼠 5-HT 信号系统激活, 给予色甘酸钠后, 缓解过敏症状并使 5-HT 代谢相关产物、代谢基因和受体基因的表达发生改变。

[关键词] 5-羟色胺(5-HT); 卵清蛋白(OVA); 过敏性腹泻; 小鼠

[中图分类号] R965, R392.8, R442.2 **[文献标志码]** A

DOI:10.13423/j.cnki.cjcmi.008581

Metabolic analysis of serotonin system in serum and gastric tissues of ovalbumin-induced allergic mice

XIA Zhenjiang^{1,2,3}, XU Yan^{4,5,6}, HAN Jichun^{4,5,6}, HE Qiangqiang^{1,2,3}, DONG Jinjin^{4,5,6}, ZOU Xiaoyan^{1,2,3}, DU Yuzhi^{1,2}, SHANG Jing^{1,2,4,5,6*}, WEI Lixin^{1,2*}

¹Qinghai Key Laboratory of Tibetan Medicine Pharmacology and Safety Evaluation, Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008; ²Key Laboratory of Tibetan Medicine Research, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008; ³University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049; ⁴State Key Laboratory of Natural Medicines, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009; ⁵Jiangsu Key Laboratory of TCM Evaluation and Translational Research, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198; ⁶School of Traditional Chinese Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China

* Corresponding authors, E-mail: shangjing21cn@cpu.edu.cn; lxwei@nwipb.cas.cn

[Abstract] **Objective** To investigate the changes of 5-HT (serotonin) signaling system in allergic diarrhea mice sensitized with ovalbumin (OVA). **Methods** The seven-to-eight-week-old BALB/c female mice were randomly divided into model group, sodium chromate group and negative control group. The model group and sodium chromate group were intraperitoneally injected with OVA I (50 μg per mouse) at day 0 and day 14 respectively. And starting from the 28th day, OVA II was orally administered (50 mg per mouse) every other day (8 times in total), and the sodium chromate group was given the sodium chromate (78.0 mg/kg) before the oral administration of OVA every other day (8 times in total). The allergic symptoms,

收稿日期: 2018-01-10; 接受日期: 2018-03-14

基金项目: 中国科学院“百人计划”(Y229461211); 青海省应用基础研究计划项目(2015-ZJ-733)

作者简介: 夏振江(1984-), 男, 山东泰安人, 医药工程师, 博士研究生

Tel: 15261895299; E-mail: 15261895299@126.com

* 通讯作者, 尚靖, E-mail: shangjing21cn@cpu.edu.cn; 魏立新, E-mail: lxwei@nwipb.cas.cn

including the systemic score, faeces score and body temperature were recorded following the OVA administration for sensitization. The mice were executed 43 days later. Eyeball blood sample was collected, and then serum was separated by centrifugation, the gastric tissues was taken out. The serum OVA-specific IgE (OVA-SIgE) was detected by ELISA. The serum content of 5-HT and its related metabolites including kynurenine (KYN), tryptophan (TRP), 5-hydroxytryptophan (5-HTP), and 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA) were examined by liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS). The mRNA levels of tryptophan hydroxylase-1 (TPH1), indolamine-2, 3-dioxygenase 1 (IDO1), monoamine oxidase A (MAO-A), 5-hydroxytryptamine 1A receptor (HTR1A), 5-hydroxytryptamine 3 receptor (HTR3), 5-hydroxytryptamine 4 receptor (HTR4) and serotonin reuptake transporter (SERT) were determined by real-time quantitative PCR. **Results** OVA sensitization caused severe allergic diarrhea in mice. Serum OVA-SIgE increased significantly in mice sensitized by OVA. serum KYN increased remarkably, while 5-HT, 5-HIAA and 5-HTP decreased significantly. The mRNA levels of IDO1, HTR1A and HTR3A increased in gastric tissues, while the levels of TPH1 and MAO-A mRNA decreased. Compared with the model group, the sodium chromate group had lowed systemic score, faeces score, body temperature and OVA-SIgE as well as diarrhea rate. The mRNA levels of 5-HIAA and MAO-A increased in the gastric tissues, and IDO1, 5-HT1A and 5-HT3A mRNAs decreased in the sodium chromate group. **Conclusion** The serotonin signaling system in ovalbumin-sensitized allergic diarrhea mice has been activated. The administration of sodium chromate can alleviate the allergic symptoms, and change the levels of serum metabolites and the gene expressions of the 5-HT metabolic pathway and its receptors in the stomach. **[Key words]** 5-HT; ovalbumin; allergic diarrhea; mouse

美国国家过敏和传染病研究所 (National Institute of Allergy and Infectious Diseases, NIAID) 把食物过敏定义为重复暴露在特定的食物中, 产生的一种对健康有害的特殊的免疫反应^[1]。大量研究表明, 食物过敏可能会影响近 5% 的成年人和 8% 的儿童, 越来越多的证据表明食物过敏的患病率在不断的增加^[2]。食物过敏可能由 IgE 介导 (速发型过敏反应), 也可能由非 IgE 介导 (细胞介导迟发免疫反应) 或两者共同介导^[3]。5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 是一种多功能的生物胺, 发现于 20 世纪 40 年代后期^[4]。机体中的 90% ~ 95% 的 5-HT 是肠内分泌细胞肠嗜铬细胞 (enterochromaffin cell, EC) 利用色氨酸在色氨酸羟化酶 (tryptophan hydroxylase, TPH) 和芳香族氨基酸脱羧酶 (aromatic acid decarboxylase, AADC) 催化下在胃肠道合成的^[5]。5-HT 信号系统与腹泻型肠易激综合征 (diarrhea-predominant irritable bowel syndrome, D-IBS) 和便秘型肠易激综合征 (constipation-predominant irritable bowel syndrome, C-IBS) 密切相关, 研究显示 D-IBS 患者血液中的 5-HT 浓度升高^[6], 此外实验证明, 腹腔注射 5-HT 会引起腹泻^[7]。5-HT 也参与应激性腹泻 (stress-induced diarrhea) 的病理过程并导致黏膜免疫系统失调, 腹腔注射 p-氯苯丙氨酸 (p-chlorophenylalanine, PCPA) 抑制 5-HT 合成减轻应激反应, 改善肠吸收能力和黏膜屏障功能^[8-9]。口服过敏原引起的过敏性腹泻也与 5-HT 相关, 研究显示过敏性腹泻引起 2 型辅助 T (T helper type 2, Th2) 细胞介导的体液和细胞免疫反应, 应用血小板活化因子 (platelet activating factor,

PAF) 拮抗剂和 5-HT 受体拮抗剂后过敏性腹泻症状缓解, 作者得出过敏性腹泻与 5-HT 和 PAF 诱导的信号协同相关^[10]。此外, 肠内源性的 5-HT 与炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 密切相关, 肠道炎症可以影响包括 5-HT 合成、释放、受体表达和再摄取, 通过激活 5-HT 受体 [5-羟色胺 4 受体 (5-hydroxytryptamine 4 receptor, HTR4) 等] 及终止 5-HT 的信号传递 [如抑制 5-HT 选择性再摄取转运体 (serotonin reuptake transporter, SERT) 的功能] 能缓解肠道炎症及其并发症^[11-12]。

综上所述, 5-HT 与肠易激综合征、应激性腹泻、过敏性腹泻及炎症性肠病等疾病密切相关, 被公认为是调节肠系膜反射的信号分子, 并作为治疗恶心、腹泻或便秘的靶点^[13]。然而, 在过敏性腹泻中 5-HT 信号系统的变化还未见报道。本研究通过建立卵清蛋白 (ovalbumin, OVA) 致敏的过敏性腹泻小鼠模型, 对血液中的 5-HT 及其代谢产物犬尿酸 (kynurenine, KYN)、色氨酸 (tryptophane, TRP)、5-羟色氨酸 (5-hydroxytryptophan, 5-HTP) 和 5-羟吲哚乙酸 (5-hydroxyindole acetic acid, 5-HIAA) 进行了分析。对胃组织的 5-HT 代谢相关基因和受体基因包括色氨酸羟化酶 1 (tryptophan hydroxylase-1, TPH1)、吲哚胺-2, 3-双加氧酶 1 (indolamine-2, 3-dioxygenase 1, IDO1)、单胺氧化酶 A (monoamine oxidase A, MAO-A)、5-羟色胺 1A 受体 (5-hydroxytryptamine 1A receptor, HTR1A)、HTR4、SERT 进行研究, 探讨 OVA 致敏过敏性腹泻小鼠 5-HT 信号系统的变化。

1 材料和方法

1.1 材料

无特定病原体 (specific pathogen free, SPF) 级 7~8 周龄雌性 BALB/c 小鼠 24 只, 体质量 18~22 g, 购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司。合格证号: 2008001680855, 使用许可证号: SCXK(沪) 2013-0016。动物饲养于屏障级实验室 [许可证号: SYXK(苏) 2017-0026], 动物均自由进食饮水, 人工照明 (12 h 光照/12 h 黑暗), 温度和湿度分别保持在 20~25℃ 和 40%~70%。动物接收后, 在实验室环境下适应性饲养 3~7 d 后, 用于正式实验。随机数字法将小鼠分为实验组、对照组和色甘酸钠处理组, 每组 8 只。实验鼠用颗粒饲料 AIN93G 标准饲料, 购自南通特洛菲饲料科技有限公司。本实验经南京睿鹰润泽生物医药科技有限公司动物实验伦理委员会审查批准 (NO. 018) 并在其监督下进行。OVA I (A5503-4G, ≥98%) 和 OVA II (A5253-250G, 62%~88%) 购自 Sigma 公司; 小鼠 OVA-sIgE ELISA 试剂盒购自武汉伊莱瑞特公司; 色甘酸钠购自 Adamas 公司; 逆转录试剂盒和实时定量 PCR 试剂盒购自 TaKaRa 生物公司; 乙腈、酶标仪、逆转录仪、Q-PCR 仪、液相色谱-质谱 (liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS) 联用仪器购自安捷伦 (Agilent) 公司。

1.2 方法

1.2.1 OVA 致敏小鼠模型的建立 参照文献 [14-17] 的方法, BALB/c 雌性小鼠, 模型组和色甘酸钠处理组在第 0 天给予 0.2 mL PBS (含 OVA I 50 μg, 含明矾 1 mg) 腹腔注射。对照组注射 0.2 mL 的 PBS。于 14 d, 同样操作进行强化致敏。在第 28、30、32、34、36、38、40、42 天, 禁食 4 h 后, 以生理盐水溶液 0.25 mL (含 OVA II 浓度为 50 mg/只) 对除对照组外的小鼠进行口服灌胃激发, 对照组小鼠同时以等量生理盐水口服灌胃。第一次灌服 OVA 禁食前 (第 28 天), 除对照组和模型组外, 色甘酸钠处理组小鼠口服灌胃色甘酸钠 (根据文献报道 [18] 的临床剂量, 并通过药理学剂量换算成小鼠给药剂量 78.0 mg/kg), 每次激发前给药 1 次 (共给药 8 次)。第 43 天, 将动物处死后摘眼球取血, 4℃、1200 g 离心 5 min, 取血清保存, 测定 OVA 特异性 IgE (OVA-specific IgE, OVA-sIgE) 水平和血清 5-HT 及其代谢产物 KYN、5-HTP、TRP 和 5-HIAA 水平。取胃组织, 采用实时定量 PCR 测定 TPH、IDO1、MAO-A、HTR1A、HTR4

和 SERT 的 mRNA 水平。

1.2.2 过敏反应评分 参照文献 [14] 的方法, 灌胃 OVA II 后, 0~60 min 内观察排便分数 (正常粪便 = 0, 粪便变软 = 1, 稀松或液体粪便 = 2), 腹泻率 [不发生腹泻 = 0, 发生腹泻 = 1, 腹泻率 (%) = 发生腹泻鼠数量/总数 × 100%] 和测定直肠温度 (每隔 30 min 测定直肠温度)。并进行综合评分 (3 个评分标准之和: 搔抓行为、运动性和过敏反应, 0~6 分), 具体如下: 搔抓的分类是基于 15 min 时间间隔内的平均搔抓数量 (30 min 观察期间 2 个间隔) 如下: 0 分: 1~3 次; 1 分: 4~5 次; 2 分: 大于 6 次。运动性是根据不动时间进行评分: 0 分: 小于 10 min; 1 分: 大于 10 min; 2 分: 在整个实验中不停运动。过敏反应 (皮毛、在鼻子和眼睛水肿和费力的呼吸) 评分如下: 0 分: 无; 2 分: 搔抓。

1.2.3 LC-MS 测定血清中 5-HT、KYN、5-HTP、TRP 和 5-HIAA 相对含量 取 50 μL 血清, 加入预冷的 150 μL 的乙腈, 振荡涡旋 3 min, 4℃ 下 13 300 r/min 高速离心 15 min; 取上清 100 μL, 室温下挥干 1.5 h; 用 50 μL (水: 乙腈 = 95:5) 溶解残渣, 涡旋 5 min, 超声处理 15 min; 4℃ 下 13 300 r/min 高速离心 15 min, 取上清 35~40 μL 于进样小瓶中。采用 Agilent poroshell 120 EC-C18 柱 (2.1 × 100 mm, 2.7 μm)。流动相组成 [A: 1 mL/L 甲酸水溶液 (电喷雾正离子模式, electrospray ionization, ESI+), B: 乙腈, 流动相梯度 (体积比): 0~3.5 min, 50 mL/L B; 3.5~8 min, 50 mL/L~1000 mL/L B。柱温: 30℃; 流速: 0.3 mL/min; 后运行时间 (post time): 5 min]。ESI 源 [正离子模式; 扫描范围: 100~1000 m/z; 气体温度: 325℃; 气流: 8 L/min; 雾化器压力 (nebulizer pressure): 40 磅/平方英寸; 鞘气温度 (sheath gas temp): 350℃; 鞘气流速 (sheath gas flow): 12 L/min; 毛细管电压 (capillary voltage, V Cap): 4000; 喷嘴电压 (nozzle voltage) (V): 0(+); 碰撞电压 (fragmentor): 130; 锥孔 (skimmer): 65; 八极杆射频电压峰值 (octopole RF peak): 750]。

1.2.4 实时定量 PCR 测定胃组织 5-HT 代谢及受体相关基因 TPH1、IDO1、MAO-A、HTR1A、HTR3A、HTR4、SERT 的 mRNA 水平 动物处死后收集胃组织, 以 TRIzol 法提取 RNA 并定量。按反转录试剂盒操作说明进行反转录得到 cDNA, 作为后续实验的模板。实时定量 PCR 所需引物购自上海捷瑞生物公司。GAPDH 上游引物为 5'-AGAAGGTGGTGAAGCAG-

GCATC-3',下游引物为5'-CGAAGGTGGAAGAGTGG-GAGTTG-3'; TPH1 上游引物为5'-CTTATTGGCTTTT-TAATTGGTTGTG-3',下游引物为5'-CCTTCGCT-TATTTTTTCTATCCTGA-3'; IDO1 上游引物为5'-CCT-GGTTTTGAGTTTTTCGTGTA-3',下游引物为5'-AAG-GTTTCAGCATTAAAGAAGGTTG-3'; MAO-A 上游引物为5'-GCTCACAGATTTTCTCTTCCTTA-3',下游引物为5'-GCCATCATGGGCTTCATACTT-3'; HTR1A 上游引物为5'-GCTGGTGCCCCTCCCTTCTTTT-3',下游引物为5'-TTCCGCTGCTGCTCATGCTGGTC-3'; HTR3A 上游引物为5'-AGCCTGTCCAGCACGTATC-CCAC-3',下游引物为5'-CAAGAGCTATCCTCCATC-CGCCACT-3'; HTR4 上游引物为5'-TAAAGTCTTG-GCTGCCTTGGTCT-3',下游引物为5'-CCTTCTACATC-CCGTTTCTCCTC-3'. SERT 上游引物为5'-GCTCATCT-

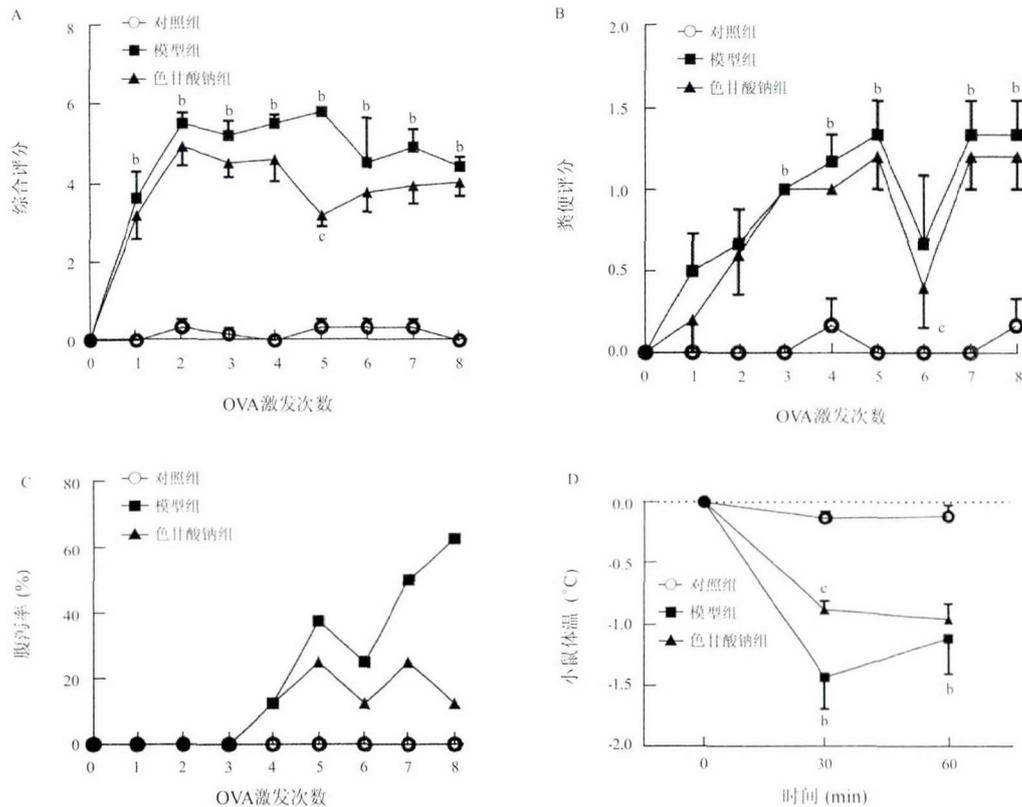
TCACCATTATCTACTTC-3',下游引物为5'-AGTTTCTGC-CAGTTGGGTTTC-3'。

1.2.5 统计学分析 所有数据采用 SPSS20.0 进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间数据的比较采用 *t* 检验分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 OVA 过敏性腹泻小鼠模型的建立

与对照组相比,OVA 致敏的过敏性腹泻模型小鼠,在特定的口服 OVA 激发次数后的综合评分、粪便评分及体温变化都有明显不同,差异有统计学意义($P < 0.01$)。并且从第4次口服 OVA 激发后发生腹泻,之后腹泻率一直高于对照组。给予色甘酸钠后,在特定激发次数综合评分、粪便评分及体温均降低,并且腹泻率也低于模型组(图1)。



A: 综合评分; B: 粪便评分; C: 腹泻率; D: 第6次OVA激发后体温变化。^b $P < 0.01$ vs 对照组; ^c $P < 0.05$ vs 模型组。

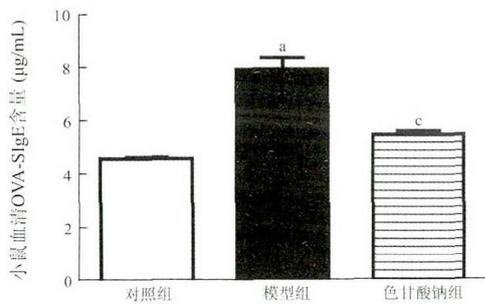
图1 小鼠OVA过敏性腹泻小鼠模型建立及给药后指标评价结果

2.2 OVA 过敏性腹泻小鼠血清 OVA-SIgE 水平升高

与对照组相比,模型组小鼠血清的OVA-SIgE显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);给予色甘酸钠后,小鼠血清OVA-SIgE明显降低($P < 0.05$,图2)。

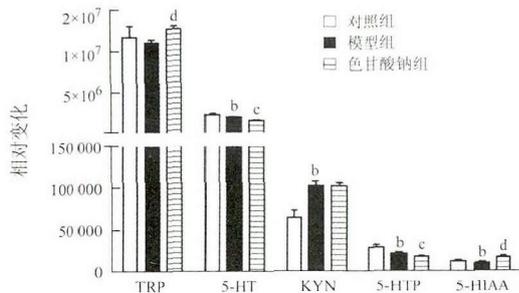
2.3 OVA 过敏性腹泻小鼠血清中5-HT、5-HTP降低、KYN升高

与对照组相比,模型组血清中的KYN升高($P < 0.01$),5-HTP、5-HIAA和5-HT均减少($P < 0.01$)。而TRP变化不明显($P > 0.05$)。与模型组相比,给予色甘酸钠后,血清中5-HIAA明显升高($P < 0.01$,图3)。



^a $P < 0.05$ vs 对照组; ^c $P < 0.05$ vs 模型组.

图2 小鼠血清中OVA-SIgE浓度测定结果

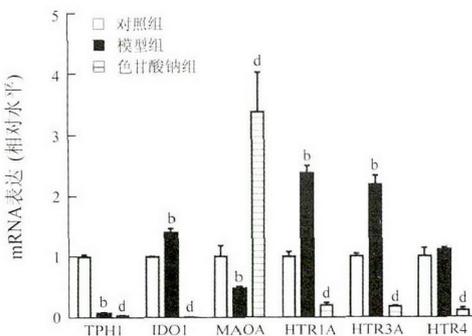


^b $P < 0.01$ vs 对照组; ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$ vs 模型组.

图3 小鼠血清中5-HT及其相关代谢产物测定结果

2.4 OVA 过敏性腹泻小鼠胃组织 IDO1 及其受体 HTR1A、HTR3A 的 mRNA 水平增加, TPH1、MAO-A mRNA 的水平降低

OVA 过敏性腹泻小鼠胃组织中的 IDO1 及 HTR1A、HTR3A 的 mRNA 明显升高 ($P < 0.01$), 而给予色甘酸钠后明显下降 ($P < 0.01$)。OVA 过敏性腹泻小鼠的 TPH1 和 MAO-A 造模后均明显下降 ($P < 0.01$)。HTR4A 造模后 mRNA 无明显变化, SERT mRNA 未检测出(图4)。



^b $P < 0.01$ vs 对照组; ^d $P < 0.01$ vs 模型组.

图4 实时定量PCR检测小鼠胃组织5-HT代谢相关酶及其受体mRNA水平

3 讨论

食物过敏的患病率青少年逐年增加,其临床症

状通常表现在胃肠道、皮肤和肺部等,并且过敏性休克表现最为剧烈且有致命的危险^[19]。食物过敏反应主要有4种类型,其中1型过敏反应与食物过敏原形成IgE有关,被称为IgE相关食物过敏^[20]。牛奶、鸡蛋、小麦、花生、坚果、芝麻、鱼、水果和蔬菜是IgE相关食物过敏的常见诱因^[21]。鸡蛋清含有OVA等过敏原,所以OVA被用来建立食物过敏模型的过敏反应及免疫应答^[22]。本研究建立了OVA致敏的过敏性腹泻小鼠模型,从综合评分、粪便评分、体温变化及OVA-SIgE等指标进行研究,OVA致敏后小鼠产生严重的过敏反应,并且腹泻率高于对照组。给予色甘酸钠后综合评分、粪便评分及体温均降低,并且腹泻率也低于模型组,小鼠血清OVA-SIgE明显降低。

研究表明5-HT信号系统与胃肠道的功能密切相关,具有调节胃肠道蠕动、分泌、神经反射等生理功能^[13]。TRP是由三个不同的代谢途径,其中主要的途径是KYN及其衍生物的形成,其次是5-HT的生成,最后是蛋白质的生成^[23]。TRP是在IDO1或IDO2作用下合成KYN,其中IDO1具有底物特异性调节下游信号通路^[24]。IDO1在免疫反应中起重要作用,并且在人类炎症疾病中作为生物标志物^[25]。OVA致敏过敏性腹泻小鼠胃中的IDO1的mRNA明显升高,血清中的KYN也检测到明显升高与之相对应。5-HT的合成是色氨酸在TPH和AADC催化下合成的。在外周系统,TPH1是其限速酶^[26],目前也有以此为靶点通过降低结肠5-HT介导的内脏痛觉过敏的药物^[27]。5-HT在胞质合成后进入囊泡,在囊泡内高K⁺浓度条件下,5-HT与5-羟色胺结合蛋白(serotonin-binding protein, SBP)紧密结合成复合物储存于血小板中。5-HT被SERT泵入到细胞内或突触内线粒体中的MAO-A分解为5-羟基吲哚乙醛,并在醛脱氢酶的作用下分解为5-HIAA并随尿液排出体外^[28]。

本研究观察了OVA致敏过敏性腹泻小鼠中5-HT信号系统的变化。结果发现OVA致敏过敏性腹泻小鼠血清中的KYN升高,5-HTP、5-HIAA和5-HT均降低。而TRP变化不明显。给予色甘酸钠后,血清中5-HIAA明显升高。OVA致敏过敏性腹泻小鼠胃组织中的TPH1和MAO-A的mRNA均明显下降,与血清中5-HTP、5-HIAA和5-HT均降低的结果也是一致的。胃组织中的5-HT的SERT mRNA在本研究中也

未检出,可能与胃组织中的 SERT 的 mRNA 表达量少有关^[29]。

5-HT 通过不同的受体与细胞相互作用发挥其生物活性。目前根据它们的结构、转导机制和药理作用分为 7 组,分别为 5-HT₁ ~ 5-HT₇,其中与胃肠道相关的有 5-HT_{1A}、5-HT_{1P}、5-HT_{2A}、5-HT_{2B}、5-HT₃、5-HT₄、5-HT₇ 共 7 个受体^[30]。5-HT_{1A} 受体分布于中枢及肠神经元上,能够抑制快速兴奋性突触后电位,抑制肠平滑肌动力,并具有使肠肥大细胞脱颗粒,释放相关介质的作用^[31]。5-HT₃ 受体是一种神经递质门控离子通道。它是半胱氨酸环受体家族的成员,也包括烟碱乙酰胆碱、甘氨酸和 GABA 受体。该受体主要分布于肠神经元,目前也被证实存在于肠嗜铬细胞上,能够快速兴奋突触后电位,引起神经递质释放增加,分泌增加^[32-33]。5-HT₄ 受体主要分布于肠神经元、平滑肌和肠上皮细胞,能使神经递质释放增加,增加胃肠道蠕动反射^[34]。研究结果显示 OVA 致敏过敏性腹泻小鼠胃组织中 5-HT_{1A} 和 5-HT_{3A} 的 mRNA 的表达明显升高,而 5-HT₄ 变化不明显。给予色甘酸钠后 5-HT_{1A} 和 5-HT_{3A} 明显下降,这也可能是色甘酸钠缓解过敏性腹泻的作用机制。

综上所述,OVA 致敏过敏性腹泻引起小鼠 5-HT 信号系统的激活,给予色甘酸钠后缓解过敏症状并使 5-HT 代谢相关产物、代谢基因和受体基因的表达发生变化。本研究为基于 5-HT 信号系统探索食物过敏的机制和疾病防治提供了新的思路。

参考文献:

- [1] Boyce J A, Assa'ad A, Burks A W, et al. Guidelines for the diagnosis and management of food allergy in the United States: report of the NIAID-sponsored expert panel report [J]. *Nutr Res*, 2011, 31(1): 61-75.
- [2] Sicherer S H, Sampson H A. Food allergy: Epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2014, 133(2): 291-307.
- [3] 李兴永,王巍,孙宏治,等. 食物过敏发病机制及诊疗策略的研究进展 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2014, 5(7): 2133-2137.
- [4] Rapport M M, Green A A, Page I H. Serum vasoconstrictor, serotonin; isolation and characterization [J]. *J Biol Chem*, 1948, 176(3): 1243-1251.
- [5] Fozard J R. Neuronal 5-HT receptors in the periphery [J]. *Neuropharmacology*, 1984, 23(12B): 1473-1486.
- [6] Atkinson W, Lockhart S, Whorwell P J, et al. Altered 5-hydroxytryptamine signaling in patients with constipation- and diarrhea-predominant irritable bowel syndrome [J]. *Gastroenterology*, 2006, 130(1): 34-43.
- [7] Nishiyama K, Tanioka K, Azuma Y T, et al. Na⁺/Ca²⁺ exchanger contributes to stool transport in mice with experimental diarrhea [J]. *J Vet Med Sci*, 2017, 79(2): 403-411.
- [8] Dong Y, Han Y, Wang Z, et al. Role of serotonin on the intestinal mucosal immune response to stress-induced diarrhea in weaning mice [J/OL]. *BMC Gastroenterol*, 2017, 17(1): 82. DOI: 10.1186/s12876-017-0634-5.
- [9] Dong Y, Wang Z, Qin Z, et al. Role of serotonin in the intestinal mucosal epithelium barrier in weaning mice undergoing stress-induced diarrhea [J]. *J Mol Histol*, 2018, 49(1): 85-97.
- [10] Brandt E B, Strait R T, Hershko D, et al. Mast cells are required for experimental oral allergen-induced diarrhea [J]. *J Clin Invest*, 2003, 112(11): 1666-1677.
- [11] Coates M D, Tekin I, Vrana K E, et al. Review article: the many potential roles of intestinal serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT) signalling in inflammatory bowel disease [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2017, 46(6): 569-580.
- [12] Macer B J, Prady S L, Mikocka-Walus A. Antidepressants in inflammatory bowel disease: A systematic review [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2017, 23(4): 534-550.
- [13] Spohn S N, Mawe G M. Non-conventional features of peripheral serotonin signalling—the gut and beyond [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2017, 14(7): 412-420.
- [14] Nakamura T, Maeda S, Horiguchi K, et al. PGD2 deficiency exacerbates food antigen-induced mast cell hyperplasia [J/OL]. *Nat Commun*, 2015, 6: 7514. DOI: 10.1038/ncomms8514.
- [15] Shin H S, Bae M J, Jung S Y, et al. Preventive effects of *skullcap* (*Scutellaria baicalensis*) extract in a mouse model of food allergy [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 153(3): 667-673.
- [16] Fang S, Zhang Y, Zhang Y, et al. *Lactobacillus rhamnosus* GG improves symptoms and its mechanism in mice with ovalbumin-induced food allergy [J]. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi*, 2017, 33(5): 597-600.
- [17] 徐灵芝,冯永堂,刘艳菲,等. 胸腺基质淋巴细胞生成素在过敏性腹泻小鼠大肠黏膜的表达 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2011, 27(3): 284-286.
- [18] 权启镇,江学良. 过敏性腹泻 [J]. *山东医药*, 2001, 14(41): 54.
- [19] Renz H, Allen K J, Sicherer S H, et al. Food allergy [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2018, 4: 17098. DOI: 10.1038/nrdp.2017.98.
- [20] Valenta R, Hochwallner H, Linhart B, et al. Food allergies: the basics [J]. *Gastroenterology*, 2015, 148(6): 1120-1131.
- [21] Longo G, Berti I, Burks A W, et al. IgE-mediated food allergy in children [J]. *Lancet*, 2013, 382(9905): 1656-1664.
- [22] Golias J, Schwarzer M, Wallner M, et al. Heat-induced structural changes affect OVA-antigen processing and reduce allergic response

- in mouse model of food allergy [J/OL]. *PLoS One*, 2012, 7(5): e37156. DOI: 10.1371/journal.pone.0037156. Epub 2012 May 21.
- [23] Gostner J M, Becker K, Kofler H, et al. Tryptophan metabolism in allergic disorders [J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2016, 169(4): 203–215.
- [24] Chen Y, Guillemin G J. Kynurenine pathway metabolites in humans: disease and healthy states [J]. *Int J Tryptophan Res*, 2009, 2: 1–19.
- [25] Schrocksnadel K, Wirleitner B, Winkler C, et al. Monitoring tryptophan metabolism in chronic immune activation [J]. *Clin Chim Acta*, 2006, 364(1/2): 82–90.
- [26] Li Z, Chalazonitis A, Huang Y Y, et al. Essential roles of enteric neuronal serotonin in gastrointestinal motility and the development/survival of enteric dopaminergic neurons [J]. *J Neurosci*, 2011, 31(24): 8998–9009.
- [27] Shi H, Cui Y, Qin Y. Discovery and characterization of a novel tryptophan hydroxylase 1 inhibitor as a prodrug [J]. *Chem Biol Drug Des*, 2018, 91(1): 202–212.
- [28] Keszthelyi D, Troost F J, Masclee A A. Understanding the role of tryptophan and serotonin metabolism in gastrointestinal function [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2009, 21(12): 1239–1249.
- [29] van Lelyveld N, Ter Linde J, Schipper M E, et al. Regional differences in expression of TPH-1, SERT, 5-HT₃ and 5-HT₄ receptors in the human stomach and duodenum [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2007, 19(5): 342–348.
- [30] Stasi C, Bellini M, Bassotti G, et al. Serotonin receptors and their role in the pathophysiology and therapy of irritable bowel syndrome [J]. *Tech Coloproctol*, 2014, 18(7): 613–621.
- [31] Wang G D, Wang X Y, Zou F, et al. Mast cell expression of the serotonin 1A receptor in guinea pig and human intestine [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2013, 304(10): G855–G863.
- [32] Thompson A J, Lummis S C. The 5-HT₃ receptor as a therapeutic target [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2007, 11(4): 527–540.
- [33] Lummis S C R. The 5-HT₃ receptor [M/OL]. In: Choi S. *Encyclopedia of Signaling Molecules*. Springer. Cham. 2018: 5373–5377. https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007%2F978-3-319-67199-4_647.
- [34] Mine Y, Itakura T, Oku S, et al. DSP-6952, a novel 5-HT₄ receptor partial agonist, inhibits visceral hypersensitivity and ameliorates gastrointestinal dysfunction in experimental animals [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 826: 123–132.

《细胞与分子免疫学杂志》2019 年征订启事

《细胞与分子免疫学杂志》为北大图书馆《中文核心期刊要目总览》医药卫生类核心期刊、百种中国杰出学术期刊、中国科技信息研究所“中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)”、中国科学院文献情报中心“中国科学引文数据库(CSCD)核心期刊来源期刊”,清华大学“中国学术期刊综合评价数据库(CAJCED)”统计源期刊、武汉大学“中国学术期刊评价研究报告中国核心学术期刊”,各种国内数据库收录期刊。同时也是 MEDLINE/PubMed、Scopus、JST China、WPRIM 等国外著名数据库收录期刊。本刊为月刊,国内外公开发行。精装双面铜版纸彩色印刷,每月 18 日出版。本刊自办发行,欢迎各单位直接联系本刊编辑部购买,量大从优,国际邮发代号 **BM4882**。

地址: 陕西省西安市长乐西路 169 号第四军医大学《细胞与分子免疫学杂志》编辑部; 邮编: 710032 网站: <http://cmi.guifeng.cc/>
电话: 029-84774550(兼传真); E-mail: immuedit@fmmu.edu.cn

联系人: 韩老师

《细胞与分子免疫学杂志》编辑部

2018-04-10