

费巧玲,齐睿娟,张小雨,等.经皮致敏小鼠肠道过敏模型的建立与评价[J].中国实验动物学报,2019,27(5):619-625.

Fei QL,Qi RJ,Zhang XY, et al. Establishment and evaluation of a mouse model of intestinal allergy by epicutaneous sensitization[J]. Acta Lab Anim Sci Sin,2019,27(5):619-625.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2019.05.011

经皮致敏小鼠肠道过敏模型的建立与评价

费巧玲,齐睿娟,张小雨,高源,韩宜芯,李西蒙,蔡润兰,齐云*

(中国医学科学院 & 北京协和医学院药用植物研究所,北京 100193)

【摘要】 目的 建立经皮致敏小鼠肠道过敏模型。**方法** 首先比较经皮致敏(耳部与背部皮肤)方式与腹腔注射致敏方式诱导小鼠肠道过敏的程度。选用敏感性更高且操作简单易行的耳部皮肤致敏方式,即采用卡泊三醇软膏引起小鼠耳部皮肤炎症,同时涂抹卵清蛋白(ovalbumin, OVA)致敏小鼠两周。通过对经皮致敏小鼠灌胃OVA攻击后肠道过敏症状、空肠毛细血管渗透性、血浆总IgE(total IgE, tIgE)和小鼠肥大细胞蛋白酶-1(mouse mast cell protease-1, mMCP-1)水平以及空肠组织病理变化等指标对模型进行评价。**结果** 经皮致敏肠道过敏模型相比于腹腔致敏模型可诱导更高的血浆tIgE和mMCP-1水平。与对照组相比,经皮致敏OVA灌胃攻击后模型组小鼠出现快速抓挠、弓背、腹泻等肠道过敏症状,直肠温度下降(约1.2℃)和空肠毛细血管通透性增加(约2倍),血浆tIgE和mMCP-1显著升高,空肠粘膜受损、炎性细胞浸润、肥大细胞增多(约5倍)。**结论** 经皮致敏肠道攻击的小鼠模型具有典型的食物肠道过敏病理特征,代表了皮肤暴露于过敏原的致敏途径,为食物过敏的机制研究和防治措施提供了新的研究工具。

【关键词】 肠道过敏;小鼠模型;经皮致敏;mMCP-1;肥大细胞

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2019) 05-0619-07

Establishment and evaluation of a mouse model of intestinal allergy by epicutaneous sensitization

FEI Qiaoling, QI Ruijuan, ZHANG Xiaoyu, GAO Yuan, HAN Yixin, LI Ximeng, CAI Runlan, QI Yun*

(Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100193, China)

Corresponding author: QI Yun. E-mail: yqi@implad.ac.cn

【Abstract】 Objective To establish a mouse model of intestinal allergy by epicutaneous sensitization (ES). **Methods** After comparing the degree of intestinal allergy induced by ES (on the ear or back skin) or intraperitoneal injection, the method of ES (on ear skin) with higher sensitivity and easier operation was selected. Calcipotriol ointment was used for induction of the inflammation of mice ear skin. At the same time, mice were epicutaneously sensitized with ovalbumin (OVA) for two weeks. The established model was evaluated according to the below symptoms, including intestinal allergic symptoms, jejunal capillary permeability, plasma tIgE and mMCP-1 levels, and jejunal histopathological changes after OVA challenge (i.g.). **Results** In contrast to intraperitoneal injection, the ES induced higher production of plasma tIgE and mMCP-1. Moreover, the mice in the model group showed obvious intestinal allergy symptoms, such as rapid scratching, arching back and diarrhea, hypothermia (the rectal temperature was decreased about 1.2℃), increased jejunal capillary permeability (about 2 times), and robustly increased plasma tIgE and mMCP-1 levels. Histological

【基金项目】中国医学科学院医学与健康科技创新工程(2016-I2M-3-015);国家自然科学基金(81601385,81873066)。
Funded by the Medical and Health Science and Technology Innovation Project of Chinese Academy of Medical Sciences (2016-I2M-3-015), and the National Natural Science Foundation of China(81601385,81873066).

【作者简介】费巧玲(1992—),女,博士研究生,研究方向为抗炎与免疫药理学。Email: 1554368105@qq.com

【通信作者】齐云(1964—),男,教授,博士生导师,研究方向为抗炎与免疫药理学。Email: yqi@implad.ac.cn

changes were also observed, such as the damage of jejunum mucosa, infiltration of inflammatory cells and the increase of mast cells (about 5 times). **Conclusions** The established mouse model not only has typical pathological characteristics of food allergy, but also represents the sensitization pathway of skin exposure to allergens. It may also provide a new research tool for further mechanism research and the prevention/treatment of food allergy.

【**Keywords**】 intestinal allergy; mouse model; epicutaneous sensitization; mMCP-1; mast cells

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

食物过敏在全球的发病率逐年上升,严重影响儿童生活质量。据研究报道,我国 31 个城市 0 ~ 14 岁儿童食物过敏的总患病率为 5.83%,其中学龄前儿童(3 ~ 5 岁)患病率最高(6.65%)^[1],鸡蛋、牛奶等是最常见的食物过敏原^[2]。食物过敏引起的疾病常常影响儿童生长发育,并可能成为其他过敏性疾病的诱因^[3]。由于食物过敏发病机制复杂,受遗传背景、环境因素、暴露条件等诸多因素的影响,利用食物过敏原建立动物模型来寻求新的预防和治疗措施是最为常用的研究方法。

目前,国内研究报道的食物过敏动物模型大多数采用腹腔注射食物大分子蛋白(如卵清蛋白、花生蛋白等)的致敏方式^[4],加以灌胃攻击^[5]。此种致敏方式虽然能够增加过敏原特异性 IgE 抗体,但其诱导的肠道病理改变并不明显^[6]。而在临床上,研究者早已发现皮肤炎症与食物过敏之间存在密切的关联性,如特应性皮炎患者中 IgE 介导的食物过敏的发生率为 15% ~ 40%^[7]。近年来,国际上已出现采用皮肤接触过敏原诱导小鼠食物过敏的新方法^[8],但国内尚未见相关研究。本文旨在建立经皮致敏小鼠肠道过敏的模型,以血浆 tIgE 水平评价全身过敏情况,以灌胃 OVA 攻击后血浆 mMCP-1 水平评价肥大细胞脱颗粒程度,初步判断经皮致敏肠道攻击优于腹腔致敏肠道攻击后,以经由耳部皮肤的致敏方式建立模型,考察该模型的病理特点,寻找其标志性的指标。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

SPF 级 BALB/c 小鼠,雌性,6 ~ 8 周龄,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供【SCXK(京)2016-0006】。相关动物实验均在中国医学科学院药用植物研究所 SPF 级动物实验室进行无菌操作【SYXK(京)2017-0020】。小鼠全部饲养于独立通气笼内,饲养环境:昼夜各半交替,温度 18 ~ 25℃,湿度 50% ~ 70%。垫料、饲料和饮水均经过高温高

压灭菌后使用。动物实验开展经中国医学科学院药用植物研究所实验动物伦理委员会审批(伦理审批号:SLXD-20180604521)。

1.1.2 主要试剂

卵清蛋白(Sigma, A5253),卡泊三醇软膏(爱尔兰利奥制药有限公司,041463-00),mMCP-1 ELISA 试剂盒(Thermo Fisher Scientific, 88-7503-22),Mouse IgE ELISA 试剂盒(Biolegend, 432401),甲苯胺蓝染色液(珠海贝索生物技术有限公司, BA-4125),伊文思蓝(Sigma, E2129)。其余试剂均为分析纯。

1.1.3 主要仪器

微孔板恒温振荡器(MB100-4P, 杭州奥盛仪器有限公司, 中国),智能温度记录仪(TH-212, 北京鸿鸥成运科技有限公司, 中国),酶标仪(Type354, Thermo, 美国),微型高速离心机(Spin 218, 北京东迅天地医疗仪器有限公司, 中国),电动玻璃匀浆器(DY89-II, 宁波新芝生物科技有限公司, 中国),数字病理扫描仪(Aperio CS2, Leica, 德国)。

1.2 方法

1.2.1 小鼠肠道过敏模型三种不同致敏方式的比较

将雌性 BALB/c 小鼠随机分为三组,每组 10 只,分别采用三种不同的致敏方式。致敏方式一(传统的腹腔致敏):于 0, 7, 13 d 腹腔注射 100 μg OVA(含有等体积的铝佐剂)^[9];致敏方式二(经典的经皮致敏):脱去小鼠背部毛,于 0 d 在背部皮肤贴上 1 cm × 1 cm 纱布补丁(补丁中含有 200 μg OVA, 100 μL PBS 溶解),每 24 h 更换补丁,于 13 d 撤去补丁^[8];致敏方式三(皮损经皮致敏):将 OVA 与卡泊三醇软膏按重量比 1:100 均匀混合,每只小鼠耳部皮肤涂以 20 mg 含有 200 μg OVA 的软膏混合物,连续 13 d^[10]。三组小鼠于 14 d 禁食 3 h 后,均灌胃 OVA 攻击,50 mg/只。攻击后 1 h,采集小鼠尾尖血液,比较三组小鼠血浆中 tIgE 和 mMCP-1 水平。

1.2.2 行为学观察及直肠温度测定

以下研究均采用经由耳部皮肤的致敏方式。设对照组与模型组,每组 10 只 BALB/c 小鼠。模型

组小鼠耳部皮肤涂以混合 OVA 的卡泊三醇软膏,对照组小鼠耳部皮肤涂以等量不含 OVA 的卡泊三醇软膏,连续两周。对照组及模型组小鼠于 14 d 灌胃 50 mg OVA 攻击后 15 min 测定小鼠直肠温度^[11]。在灌胃 OVA 攻击后 1 h 内观察小鼠过敏症状,记录出现过敏症状的小鼠只数,过敏症状评价指标有:快速搔抓和摩擦鼻周围及挠头(> 10 次)、弯成弓状及腹泻^[12]。

1.2.3 血浆 tIgE 及 mMCP-1 测定

用 ELISA 方法测定灌胃攻击前对照组及模型组小鼠血浆中 tIgE 及 mMCP-1 水平,以及灌胃攻击后 1 h、24 h 血浆中 tIgE 及 mMCP-1 水平^[13]。

1.2.4 小鼠空肠毛细管炎性渗出实验

另取 BALB/c 小鼠 16 只(设对照组及模型组,每组 8 只),经皮致敏两周后,灌胃 OVA (50 mg/只)。攻击后 5 min,尾静脉注射伊文思蓝 (20 mg/kg)。3.5 h 后,小鼠用戊巴比妥钠 (20 mg/kg) 麻醉后用 10 mL PBS 进行心脏灌流。取空肠组织 10 cm,称湿重,用 500 μ L N, N-二甲基甲酰胺 37 $^{\circ}$ C 萃取过夜。次日,将萃取液室温离心 (14 000 r/min, 15 min),上清在 620 nm 处测定吸光度。以伊文思蓝的 N, N-二甲基甲酰胺溶液作标准曲线,根据标准曲线计算萃取液中伊文思蓝含量。小鼠空肠组织毛细血管渗透性以萃取液中伊文思蓝含量/组织湿重表示^[14]。

1.2.5 组织病理检测

小鼠经皮致敏灌胃 OVA 攻击后于胃下方 8 ~ 10 cm 处取一段空肠组织,在中性福尔马林中固定并用石蜡包埋。组织切片分别用伊红-苏木精 (Hematoxylin-eosin, HE) 和甲苯胺蓝染色。计数至少十个高清视野 (high-power field, HPF, $\times$ 200) 下肥大细胞的数目。其测定值以每十个高清视野下的平均细胞数表示^[11]。

1.3 统计学分析

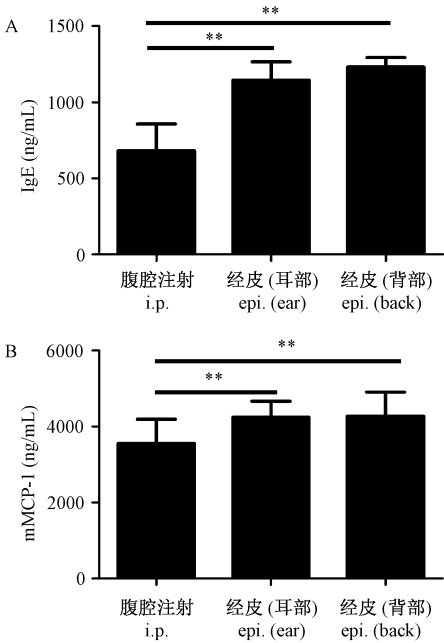
采用 SPSS 17.0 统计软件进行统计分析。模型组动物与对照组之间计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,两组间比较采用 *t* 检验进行数据统计分析。设 *n* 为各组样本数, *P* 为 *t* 检验概率值,则 *P* < 0.05 代表差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠肠道过敏模型三种不同致敏方式的比较

在小鼠肠道过敏模型的建模方法中,经皮致敏

(耳部和背部皮肤)方式相比于传统的腹腔致敏方式,能使小鼠 OVA 灌胃攻击后 1 h 血浆中 tIgE 和 mMCP-1 水平显著升高 (*P* < 0.01) (图 1),但耳部和背部皮肤致敏的两种方式之间没有显著差异 (*P* > 0.05)。由于耳部致敏方式较背部致敏更简便易行,故在后续实验中均采用耳部皮肤致敏方法。



注: A. 致敏小鼠灌胃 OVA 攻击后 1 h 血浆 tIgE 水平; B. 致敏小鼠灌胃 OVA 攻击后 1 h 血浆 mMCP-1 水平 ($\bar{x} \pm s$, *n* = 10)。与腹腔注射致敏组相比, ** *P* < 0.01。

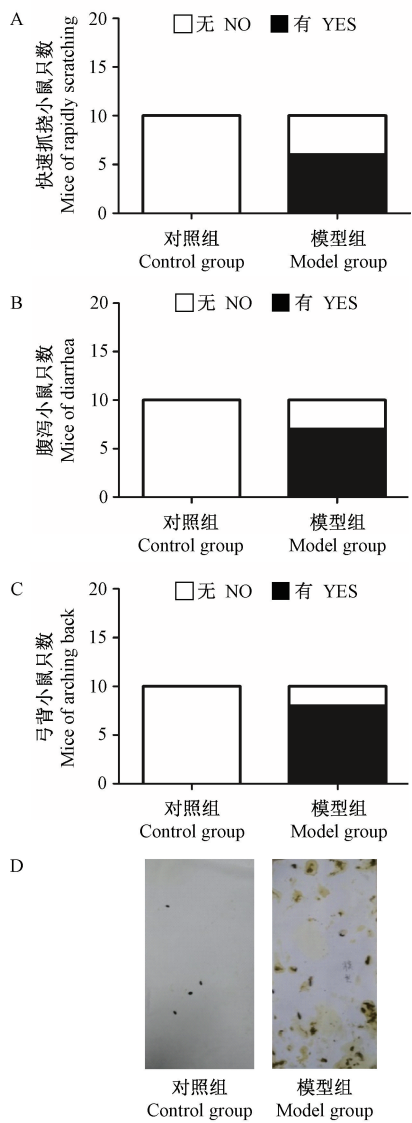
图 1 小鼠肠道过敏模型三种致敏方式的比较

Note. A. Plasma tIgE levels of sensitized mice 1 h after OVA challenge (i.g.); B. Plasma mMCP-1 levels of sensitized mice 1 h after OVA challenge (i.g.). Error bars represent means and SDs (*n* = 10 mice per group). Statistical significance was calculated relative to the i.p. group. ** *P* < 0.01. i. p., intraperitoneal injection; epi. (ear), epicutaneous sensitization on ear skin; epi. (back), epicutaneous sensitization on back skin.

Figure 1 Comparison of three sensitization methods to establish the mouse model of intestinal allergy

2.2 经皮致敏肠道攻击对小鼠过敏症状的影响

小鼠常见的肠道过敏症状根据其程度不同会出现快速搔抓和摩擦鼻周围及挠头 (> 10 次)、腹泻、弯成弓状、不动,甚至休克死亡。经皮致敏的小鼠在灌胃 OVA 攻击之后约 20 min 开始出现过敏反应的症。60% 的模型组小鼠出现明显的快速搔抓和摩擦鼻周围及挠头 (> 10 次)、70% 出现腹泻 (稀便)、80% 出现弯成弓状。而对照组小鼠活动自如、毛色光泽、粪便没有变化 (图 2)。



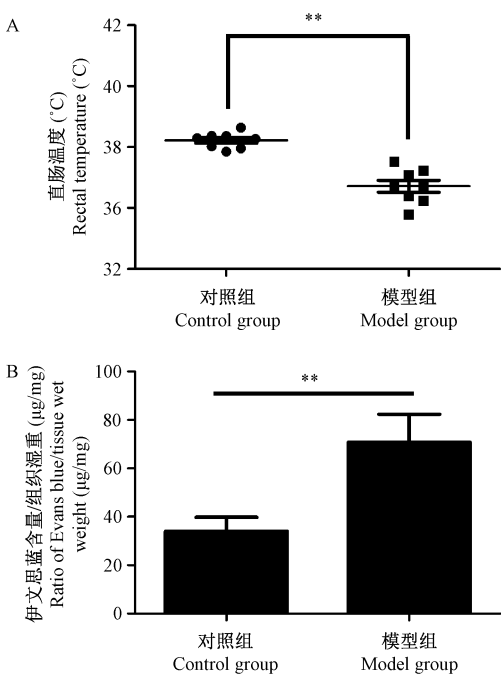
注:经皮致敏小鼠灌胃 OVA 攻击后 1 h 内出现的过敏症状; A. 快速抓挠;B. 腹泻;C. 弓背;D. 经皮致敏小鼠灌胃 OVA 攻击后 1 h 内腹泻图($n=10$)。

图 2 经皮致敏小鼠灌胃 OVA 攻击后的过敏症状
Note. Allergic symptoms of epicutaneously sensitized mice after OVA challenge (i.g.) within 1 h: A. Rapidly scratching. B. Diarrhea. C. Arching back. D. The images of diarrhea of epicutaneously sensitized mice after OVA challenge (i.g.) within 1 h ($n=10$ mice per group).

Figure 2 Allergic symptoms of epicutaneously sensitized mice after OVA challenge (i.g.)

2.3 经皮致敏肠道攻击对小鼠直肠温度及空肠毛细血管炎性渗透的影响

模型组小鼠在攻击后 15 min 时直肠温度较对照组下降约 1.2℃,且有统计学差异($P < 0.01$) (图 3A)。模型组空肠毛细血管渗出的伊文思蓝的相对含量较对照组显著增加($P < 0.01$),约为对照组的



注:A. 经皮致敏小鼠灌胃 OVA 攻击后 15 min 直肠温度;B. 经皮致敏小鼠灌胃 OVA 攻击后 3.5 h 空肠毛细血管渗透性($\bar{x} \pm s, n=8$)。与对照组相比,** $P < 0.01$ 。

图 3 小鼠直肠温度和空肠毛细血管渗透性
Note. A. The rectal temperature of epicutaneously sensitized mice 15 min after OVA challenge (i.g.). B. The jejunal capillary permeability of epicutaneously sensitized mice 3.5 h after OVA challenge (i.g.). Error bars represent means and SDs ($n=8$ mice per group). Statistical significance was calculated relative to the control group. ** $P < 0.01$.

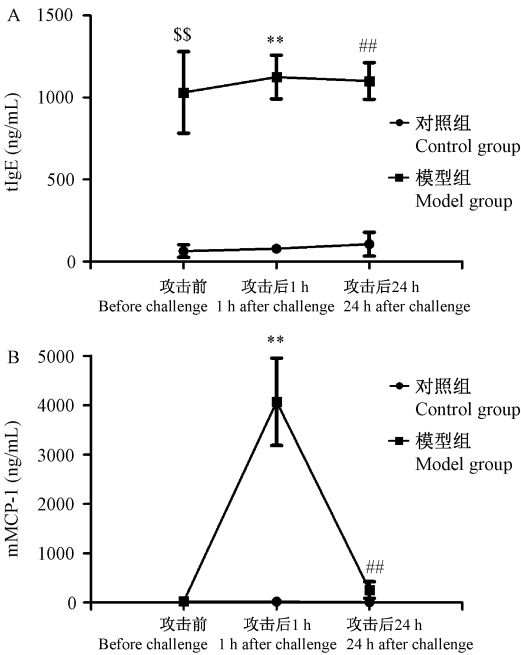
Figure 3 The rectal temperature and jejunal capillary permeability of the mice

2 倍(图 3B)。
2.4 经皮致敏方式对攻击前后小鼠血浆中 tIgE 和 mMCP-1 的影响

在末次经皮致敏之后,灌胃 OVA 攻击之前,对照组和模型组小鼠血浆中 mMCP-1 的含量很低,而此时模型组小鼠血浆中 tIgE 水平较对照组已显著升高($P < 0.01$)。攻击后 1 h,模型组小鼠血浆中 mMCP-1 的含量大幅度增加($P < 0.01$),而 tIgE 水平较攻击之前没有显著变化($P > 0.05$)。攻击后 24 h,模型组小鼠血浆 mMCP-1 下降至略高于基础水平,而 tIgE 含量仍维持高水平(图 4)。

2.5 经皮致敏肠道攻击小鼠空肠病理改变

经皮致敏灌胃 OVA 攻击后的小鼠,其空肠下端 HE 切片显示,对照组小鼠的肠黏膜结构清晰,肠绒毛排列整齐,无明显损伤,无炎症细胞浸润;模型组小鼠与对照组相比,肠黏膜出现轻度糜烂,肠绒毛损伤,排列紊乱、断裂或缺失,呈现炎症细胞浸润的



注: A. 经皮致敏小鼠灌胃 OVA 攻击前、肠道攻击后 1 h 及 24 h 血浆 IgE 水平; B. 经皮致敏小鼠灌胃 OVA 攻击前、肠道攻击后 1 h 及 24 h 血浆 mMCP-1 水平($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)。模型组与对照组在攻击前、攻击后 1 h, 攻击后 24 h 同一时间点的比较分别为: $^{**} P < 0.01$, $^{**} P < 0.01$, $^{##} P < 0.01$ 。

Figure 4 小鼠灌胃 OVA 攻击前后血浆 tIgE 和 mMCP-1 水平

Note. A. Plasma tIgE levels of epicutaneously sensitized mice before, 1 h and 24 h after OVA challenge (i.g.). B. Plasma mMCP-1 levels of epicutaneously sensitized mice before, 1 h and 24 h after OVA challenge (i.g.). Error bars represent means and SDs ($n = 8$ mice per group). Statistical significance was calculated relative to the control group at the same time point. Before challenge, $^{**} P < 0.01$. 1 h after challenge, $^{**} P < 0.01$. 24 h after challenge, $^{##} P < 0.01$.

Figure 4 Plasma tIgE and mMCP-1 levels of mice before and after OVA challenge (i.g.)

现象(图 5A)。

甲苯胺蓝染色后,对照组小鼠的肠黏膜固有层可见少量的肥大细胞,结构完整,轮廓清晰,无脱颗粒现象;模型组小鼠肠黏膜固有层可见较多肥大细胞聚集,伴随细胞膜破裂、轮廓不清,细胞周围有明显的紫红色颗粒(图 5B)。对照组与模型组小鼠空肠粘膜固有层肥大细胞每十个高清视野下的数目分别为(7.3 ± 1.9)和(37.4 ± 7.0),两组比较有统计学差异($P < 0.01$)(图 5C)。

3 讨论

在传统的食物过敏动物模型中,致敏途径通常为灌胃^[15]或通过腹腔注射过敏原以及免疫佐

剂^[16]。然而这些模型在肠道缺乏明确的免疫介导的过敏反应,显示的肠道病理证据含糊不清^[17]。临床上发现,系统性接触性皮炎会明显增加肠道食物过敏的风险^[18]。如特应性皮炎患儿可对很多食物抗原产生过敏反应^[19],大多数特应性皮炎个体对花粉过敏并对花粉相关的食物过敏^[20]。实际上,食物过敏原通过皮肤接触方式使机体致敏的概率远高于经口摄入途径,前者主要通过 Th2 细胞介导的免疫反应途径实现,也阻碍机体后期对致敏食物产生耐受性,并引发 IgE 介导的食物过敏的发生^[12]。

本研究发现,采用经皮致敏方式(耳部和背部皮肤)在灌胃 OVA 攻击后能够引起小鼠血浆 tIgE 和 mMCP-1 水平显著升高,且与传统的腹腔致敏方式比较具有显著差异(图 1)。意味着经皮致敏的方式能够提高造模的成功率,并且具有不依赖免疫佐剂的优势。由于耳部相较于背部的致敏方式更简便易行,且两组小鼠在灌胃 OVA 攻击后血浆 tIgE 和 mMCP-1 水平没有显著差异,故在后续研究中均采用经由耳部皮肤致敏的方法。卡泊三醇是维生素 D 的类似物。在小鼠研究中,外用卡泊三醇给药于耳部和背侧皮肤,导致角质形成细胞产生上皮细胞源性细胞因子胸腺基质淋巴细胞生成素(thymic stromal lymphopietin, TSLP)剂量依赖性增加,并在高浓度下引发特应性皮炎^[21]。本研究中将卡泊三醇软膏和 OVA 溶液均匀混合制成霜剂涂于小鼠耳部,能保留较长时间,较好的模拟了特应性皮炎患者经皮接触过敏原的致敏途径。

经皮致敏的小鼠在灌胃 OVA 攻击后 1 h 内出现明显的肠道过敏症状,包括快速搔抓和摩擦鼻周围及挠头(> 10 次)、弯成弓状及腹泻(图 2),表明经皮致敏是一种生理上可行的方式。由于 Kawasaki 等^[11]观察到经皮致敏小鼠在灌胃 OVA 攻击后 15 min 时直肠温度下降到最低点。因而,我们在研究中以灌胃 OVA 攻击后 15 min 的时间点测定小鼠直肠温度,并且发现模型组小鼠直肠温度较对照组小鼠直肠温度下降约 1.2℃(图 3A)。对灌胃 OVA 攻击前后血浆中 tIgE 和 mMCP-1 水平测定时发现,模型组小鼠血浆中 tIgE 水平保持较对照组显著升高的水平且没有明显变化(图 4A),而血浆中 mMCP-1 水平在攻击后 1 h 大幅度的升高(图 4B),随后又逐渐降回略高于基础水平(24 h),提示经皮致敏小鼠灌胃 OVA 攻击后 1 h 时间点的血浆 mMCP-1 可作为该模型的代表性指标^[22]。

大量研究发现,食物过敏性疾病的发生与肠道屏障功能损伤有关,在食物过敏患者中肠道通透性

- Health Care, 2016, 24(10): 1055–1058.
- [4] 黄建芳, 王彩霞, 向军俭, 等. 食物过敏动物模型的研究进展[J]. 食品科学, 2014, 35(3): 280–284.
- Huang JF, Wang CX, Xiang JJ, et al. Research advances in animal models of food allergy[J]. Food Sci, 2014, 35(3): 280–284.
- [5] 闫秀梅, 闫景彬, 黄爱芬, 等. SD 大鼠食物过敏动物模型建立及其消化系统超微结构变化[J]. 中华临床免疫和变态反应杂志, 2015, 9(1): 31–35.
- Yan XM, Yan JB, Huang AF, et al. Establishment of food allergy model in SD rats and changes of ultrastructure of digestive system[J]. Chin J Allergy Clin Immunol, 2015, 9(1): 31–35.
- [6] Knippels LM, Penninks AH, Spanhaak S, et al. Oral sensitization to food proteins; a Brown Norway rat model[J]. Clin Exp Allergy, 1998, 28(3): 368–375.
- [7] Kwon J, Kim J, Cho S, et al. Characterization of food allergies in patients with atopic dermatitis[J]. Nutr Res Pract, 2013, 7(2): 115–121.
- [8] Hsieh KY, Tsaiw CC, Wu CH, et al. Epicutaneous exposure to protein antigen and food allergy[J]. Clin Exp Allergy, 2003, 33(8): 1067–1075.
- [9] Yamada A, Ohshima Y, Yasutomi M, et al. Antigen-primed splenic CD8⁺ T cells impede the development of oral antigen-induced allergic diarrhea[J]. J Allergy Clin Immunol, 2009, 123(4): 889–894.
- [10] Hussain M, Borcard L, Walsh KP, et al. Basophil-derived IL-4 promotes epicutaneous antigen sensitization concomitant with the development of food allergy[J]. J Allergy Clin Immunol, 2018, 141(1): 223–234.
- [11] Kawasaki A, Ito N, Murai H, et al. Skin inflammation exacerbates food allergy symptoms in epicutaneously sensitized mice[J]. Allergy, 2018, 73(6): 1313–1321.
- [12] Noti M, Kim BS, Siracusa MC, et al. Exposure to food allergens through inflamed skin promotes intestinal food allergy through the thymic stromal lymphopoietin-basophil axis[J]. J Allergy Clin Immunol, 2014, 133(5): 1390–1399.
- [13] Brandt EB, Strait RT, Hershko D, et al. Mast cells are required for experimental oral allergen-induced diarrhea[J]. J Clin Invest, 2003, 112(11): 1666–1677.
- [14] Ahrens R, Osterfeld H, Wu D, et al. Intestinal mast cell levels control severity of oral antigen-induced anaphylaxis in mice[J]. Am J Pathol, 2012, 180(4): 1535–1546.
- [15] Li XM, Schofield BH, Huang CK, et al. A murine model of IgE-mediated cow's milk hypersensitivity[J]. J Allergy Clin Immunol, 1999, 103(1): 206–214.
- [16] Ogawa T, Miura S, Tsuzuki Y, et al. Chronic allergy to dietary ovalbumin induces lymphocyte migration to rat small intestinal mucosa that is inhibited by MAdCAM-1[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2004, 286(5): 702–710.
- [17] Li XM, Serebrisky D, Lee SY, et al. A murine model of peanut anaphylaxis: T- and B-cell responses to a major peanut allergen mimic human responses[J]. J Allergy Clin Immunol, 2000, 106(1): 150–158.
- [18] Tsakok T, Marrs T, Mohsin M, et al. Does atopic dermatitis cause food allergy? A systematic review[J]. J Allergy Clin Immunol, 2016, 137(4): 1071–1078.
- [19] Sampson HA, McCaskill CC. Food hypersensitivity and atopic dermatitis: evaluation of 113 patients[J]. J Pediatr, 1985, 107(5): 669–675.
- [20] Worm M, Forschner K, Lee HH, et al. Frequency of atopic dermatitis and relevance of food allergy in adults in Germany[J]. Acta Derm Venereol, 2006, 86(2): 119–122.
- [21] Li M, Hener P, Zhang Z, et al. Topical vitamin D3 and low-calcemic analogs induce thymic stromal lymphopoietin in mouse keratinocytes and trigger an atopic dermatitis[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006, 103(31): 11736–11741.
- [22] Vaali K, Puumalainen TJ, Lehto M, et al. Murine model of food allergy after epicutaneous sensitization: Role of mucosal mast cell protease-1[J]. Scand J Gastroenterol, 2006, 41(12): 1405–1413.
- [23] 王娟红, 李寰舟, 李蒙, 等. 基于肠道屏障的食物过敏机制研究进展[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(7): 1240–1243.
- Wang JH, Li HZ, Li M, et al. Advance in studies on food allergy mechanism based on gut barrier[J]. Chin J Chin Mater Med, 2015, 40(7): 1240–1243.
- [24] Reitsma M, Westerhout J, Wichers HJ, et al. Protein transport across the small intestine in food allergy[J]. Mol Nutr Food Res, 2014, 58(1): 194–205.

[收稿日期] 2019-04-29