



• 国外医学动态 •

诱发餐后腹痛的“真凶” ——食物抗原引起的局部免疫反应

摘 要 全世界多达 20% 的人在用餐后会出现胃肠道不适症状, 该症状发病率高、医疗费用昂贵, 极大影响了病人的生活质量。那么, 究竟食物是通过什么方式引起腹痛? 其中关联的机制又是什么? 本研究发现, 细菌感染和细菌毒素可以触发免疫反应, 导致小鼠的肠道中产生饮食抗原特异性 IgE 抗体。此时口服相应的膳食抗原会通过 IgE-肥大细胞激活机制加剧内脏疼痛。这种异常的痛觉信号是组胺受体 H1 介导的内脏传入敏化的结果。另外, 将食物抗原(面筋、小麦、大豆和牛奶)注入肠易激综合征病人的直肠乙状结肠黏膜也会引起局部水肿和肥大细胞激活。因此, 食物抗原在肠道内的局部免疫反应是诱发餐后腹痛的重要原因。本研究阐明了食物引起腹痛的外周机制, 为肠易激综合征和相关腹痛疾病的治疗提供了新的研究思路。

黏膜免疫系统使病原体和无害的共生菌或食物抗原处于平衡状态, 从而限制不必要的炎症和伴随的组织损害, 这是通过口服耐受(oral tolerance)实现的, 即主动抑制细胞和体液对口服抗原剂的反应。然而, 病毒和细菌感染会干扰对饮食抗原的耐受性, 从而扰乱肠道稳态。超过 10% 的普通人群出现肠易激综合征症状, 这些症状通常是由食物摄入引起。反常疼痛信号或内脏过敏(VHS)是肠易激综合征(IBS)的标志性症状。尽管在 IBS 中负责肥大细胞激活的刺激原、特别是对食物摄入的反应原仍然不清楚, 但肥大细胞数量的增加和肥大细胞介质的释放被认为是 VHS 的基础。肠易激综合征是一种使人虚弱且难以治疗的疾病, 目前还没有根治的方法。

本文作者认为由细菌感染引起的对食物抗原的口服耐受崩溃是食物诱导 VHS 的基础。他们利用啮齿枸橼酸杆菌感染 BALB/c 小鼠, 同时在饮水中给它们添加卵蛋白(OVA)。小鼠感染恢复后, 反复口服 OVA 导致感染组小鼠腹泻、粪便含水量增加和转运时间缩短, 但在未感染组小鼠中无此现象。他们在感染小鼠的结肠(鼠枸橼酸杆菌的定植部位)检测到 OVA 特异性 IgE 抗体, 但在小肠或血清中检测不到。此外, 这些小鼠在皮内注射 OVA 后并没有表现出耳朵肿胀, 这与对 OVA 过敏的小鼠形成对比, 说明上述过程是局部免疫反应, 而不是全身免疫反应。

为了解这种对食物抗原的免疫反应改变的功能意义, 作者检测了再次暴露于 OVA 是否会影响痛觉。

与其他的报道类似, 感染啮齿枸橼酸杆菌的小鼠会对结肠扩张产生一过性疼痛增强反应, 即 VHS, 4 周后恢复到基线水平。值得注意的是, 感染后 5 周或更长时间再次暴露于 OVA, 导致感染小鼠再次出现 VHS, 但未感染的小鼠无此现象, 这种情况在最后一次 OVA 灌胃后持续至少 4 周。VHS 与黏膜对荧光素钠的通透性增加有关, 这与从 IBS 病人获得的数据一致。在感染前对 OVA 有耐受性的小鼠中也得到了类似的发现, 表明一旦建立了啮齿枸橼酸杆菌的感染, 就会导致口服耐受性的崩溃。此外, VHS 的发展是抗原特异性的, 因为反复灌胃牛血清白蛋白(BSA)不能影响感染小鼠的痛觉。两组之间的腹内容量和腹内压力之间的关系没有发现差异, 排除了炎症介导的肠壁僵硬和伤害性信号改变的可能性。

为了进一步研究 VHS 中 OVA 的抗原特异性免疫反应的作用, 作者利用单克隆抗 IgE 抗体处理小鼠。发现这种治疗防止了 VHS 的恶化和再次暴露于 OVA 时结肠通透性的增加。在 IgE 缺陷(Igh7^{-/-})小鼠中证实了这些结果。相反, 用 OVA 特异性 IgE 单克隆抗体致幼龄小鼠过敏, 会导致反复注射 OVA 后出现 VHS。在 VHS 小鼠的结肠引流肠系膜淋巴结中, 产生 IL-4 的淋巴细胞数量增加。这些数据表明: 胃肠道细菌感染可以打破对饮食抗原的口服耐受, 导致对食物抗原的适应性免疫反应, 肠道通透性增强, 并在再次接触该抗原时发出异常的疼痛信号。



由于肠道微生物组成的变化与 IBS 有关, 作者调查了小鼠模型中是否也存在类似的现象。与给予生理盐水的小鼠相比, 在感染后 10 天, 再次暴露于 OVA 后, 啮齿枸橼酸杆菌感染期间暴露于 OVA 改变了肠道微生物群落结构。虽然罗宾逊氏菌和艾森伯氏菌是造成微生物群落结构改变的最强驱动因素, 但这些与 VHS 的发展没有显著的相关性。此外, 抗生素治疗和赋形剂治疗的感染小鼠还是会发生 VHS 现象。尽管在 VHS 小鼠体内观察到的微生物群组成发生了变化, 但是结果表明 VHS 的发展很可能独立于肠道微生物区系。

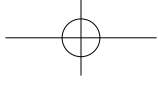
轻度炎症和肥大细胞激活增加也被认为是 IBS 的潜在机制, 特别是在感染后的 IBS 中。虽然小鼠在急性感染期(感染后 10~14 天)有轻微的结肠炎, 但 VHS 或正常敏感性感染的小鼠 7 周后已经恢复。值得注意的是, 无论是否再次暴露于卵白蛋白, 肥大细胞限制性类胰蛋白酶 α/β -1 基因 (Tpsab1) 在感染小鼠的结肠中都会上调, 这表明肥大细胞是由于感染期间暴露于膳食抗原而致敏或激活的。作者利用其他的几个实验也证实了这一观点: OVA-肽孵育来自 OVA/感染 + OVA 小鼠的肥大细胞会导致肥大细胞脱颗粒增加, 组胺(主要肥大细胞介质之一)的释放增加。另外, 肥大细胞稳定剂多沙曲唑和遗传消融分别能缓解 VHS 和预防 VHS 及降低结肠通透性。消除 B 细胞和浆细胞降低了 OVA 特异性 IgE 水平, 防止了 VHS 的发展。这表明 B 细胞和浆细胞在局部产生的 OVA 特异性抗体会使肥大细胞变得敏感, 随后在再次暴露时介导肥大细胞的激活。

来自 IBS 病人的组胺和活检上清液会激活并敏化内脏传入和背根神经节 (DRG) 神经元。作者发现机械刺激将内脏疼痛信号传递到脊髓的结肠内脏神经, 在 VHS 小鼠引起比正常敏感小鼠更高的动作电位放电, 表明 VHS 小鼠的内脏神经更敏感。此外, 与正常敏感小鼠的结肠上清液相比, VHS 小鼠的结肠上清液会增强神经元的兴奋性, 并增加了 DRG 神经元对辣椒素(瞬时受体电位通道 TRPV1 的特异性激动剂)的敏感性。伤害性感受器上的这种阳离子通道参与了 IBS 病人的 VHS。将 DRG 神经元与 VHS 结肠上清液在组胺-1 受体 (H1R) 拮抗剂下孵育, 可阻止兴奋性增加和 TRPV1 介导的反应。表明肥大细胞介导的内脏疼痛信号的增加是通过 H1R 介导的, 同时感觉神经元中 TRPV1 和其他电压门控离子通道的敏化也是造成传导信号增强的另一因素。

在上呼吸道, 一种可引起 T 细胞非特异性激活

的超抗原 (SAgs) 会通过 2 型 T 辅助细胞 (Th2) 针对无辜抗原产生极化免疫反应。该过程与哮喘和特异性鼻炎的发病有很大的关联性。因此作者认为, 肠道暴露于 SAgs 可能会引发对饮食抗原的与细菌性胃肠炎类似的免疫反应。与 OVA/感染小鼠相似, 在葡萄球菌肠毒素 B (SEB) 存在的情况下暴露于 OVA 的小鼠在再次暴露于 OVA 时会发生 VHS (即使它们在 SEB 给药前已耐受 OVA) 和肠道黏膜通透性增加。此外, Tpsab1、IL-4、IL-6 和 IL-10 表达上调。肥大细胞激活介导了这些变化, 因为该过程可以被多沙曲唑阻断, 并且在 Cpa3^{Cre/+} 小鼠中不存在。SEB-VHS 小鼠结肠 OVA 特异性 IgE 高于生理盐水/SEB 小鼠和 SEB-VHS 小鼠, 同时在皮内注射 OVA 后没有出现耳肿胀, 表明对 OVA 只有局部免疫反应, 但不是全身免疫反应。为了评估 SAgs 是否也与 IBS 的发病有关, 比较了病人和健康志愿者粪便样本中产生 SAgs 的主要细菌(金黄色葡萄球菌和化脓性链球菌)比例。值得注意的是, 23% 的 IBS 病人粪便样本金黄色葡萄球菌检测呈阳性, 而健康志愿者的这一比例为 9%。此外, 47% 的 IBS 阳性样本中呈 SAgs 阳性, 而健康志愿者的这一比例为 17%。既往的研究已经将金黄色葡萄球菌定植与抗原特异性致敏相关的条件联系起来, 如过敏性鼻炎、哮喘和食物过敏。因此, SAgs 可能参与诱发 IBS 病人亚群的 VHS。

最后, 作者进一步调查了食物抗原是否真的能在结肠引起局部免疫反应。将大豆、小麦、面筋和牛奶的溶液注入 12 名 IBS 病人和 8 名健康志愿者的直肠乙状结肠黏膜。参与者中没有一人对这些饮食抗原过敏。值得注意的是, IBS 组的 12 名志愿者都对至少一种被测试的食物抗原显示出黏膜反应, 而只有 2 名健康志愿者表现出单一的阳性反应(1 名对大豆、1 名对麸质)。随后作者检测了类胰蛋白酶活性作为肥大细胞脱颗粒的指标。在基础条件下, IBS 病人的总胰蛋白酶样活性高于健康志愿者, 并且在注射组胺、大豆、小麦和麸质后, 与使用特定抑制剂 APC-366 的总活性区分开来的类胰蛋白酶活性更高。最后, 作者还发现虽然肥大细胞或 IgE⁺ 肥大细胞的总数并无差异, 但肠易激综合征病人有更多的 IgE⁺ 肥大细胞靠近神经纤维 ($\leq 5 \mu\text{m}$)。IBS 病人 IgE⁺ 肥大细胞与神经纤维之间的距离比健康志愿者小, 且与腹痛的严重程度呈负相关。IBS 病人肥大细胞 IgE 免疫荧光强度高于健康志愿者, 且与腹痛程度和黏膜水肿直径呈正相关。使用活检组织 cDNA 对免疫球蛋白基因进行深度测序, 结果显示



IBS 病人和健康志愿者有相似数量的 IgE⁺ 克隆。这些结果表明, 食物抗原可能通过局部 IgE 介导的机制触发 IBS 病人肥大细胞的激活。

本文的亮点是提出了一个新的对食物抗原口服耐受的观点, 这是一个动态平衡调节关键, 在 IBS 中该平衡被破坏, 导致了异常疼痛信号。本文的数据表明, 局部 IgE 抗体与食物引起的腹痛有关。与食物过敏的一个根本区别是, OVA 特异性 IgE 抗体只能在结肠组织中检测到, 这表明对饮食抗原的局部免疫反应, 而不是全身免疫反应。既往已经证明局部 IgE 抗体在气道中的作用, 特别是在过敏性鼻炎和慢性鼻窦炎合并鼻息肉的病人中, 他们与气道反应性增加有关。作者认为, 至少在免疫易感的病人亚群中, IBS 是由肥大细胞激活介导的食物诱导疾病谱的一部分。患 IBS 的风险可能取决于基因构成, 这有利于特应性免疫反应。IBS 与过敏性鼻炎、

过敏性湿疹和哮喘等特应性疾病的相关性进一步支持了这一假说。

综上所述, 本文提出的食物介导 VHS 的概念对于 IBS 和相关疾病的治疗具有重要的意义。利用 H1R 拮抗剂依巴斯汀阻断肥大细胞介质的作用可能是有效的, 特别是当使用针对导致肥大细胞敏化和激活的上游机制的化合物时。因此, IgE 介导的肥大细胞活化可作为 IBS 病人预后的生物标志物和治疗靶点。同样, 使用抗 IgE 的单克隆抗体奥马珠单抗治疗严重哮喘病人的 IBS 症状也得到了改善。本文的研究结果为进一步研究针对肥大细胞敏化和/或激活的上游机制治疗的潜力奠定了基础。

(Aguilera-Lizarraga J, Florens MV, Viola MF, *et al.* Local immune response to food antigens drives meal-induced abdominal pain. *Nature*, 2021, 590(7844):151-156. 南通大学疼痛医学研究院, 卢焕俊 朱林鹏 徐梦林 叶思雨 译 高永静 校)

• 国际译文 •

5-HT_{2A}R 荧光探针 PsychLight 助力非致幻性抗抑郁药物的研发

G 蛋白偶联受体 (GPCRs) 是一类强效药物治疗靶点, 在美国 FDA 批准的药物中, 约 35% 通过影响该类蛋白起作用。5-羟色胺 2A 受体 (5-HT_{2A}R) 是神经精神类药物的靶点。5-HT_{2A}R 配体相关的药物包括: 非典型的抗精神病药物如氯氮平、迷幻药如麦角酰二乙酰胺 (LSD)、促进神经可塑性的药物等。越来越多的证据表明, 5-HT_{2A}R 配体的致幻作用对于促进神经可塑性和产生治疗作用不是必需的。加州大学戴维斯分校医学院 Lin Tian 课题组和 David E. Olson 课题组合作, 开发了一种基于 5-HT_{2A}R 结构的遗传编码的荧光传感器 PsychLight。PsychLight 不仅能够测量内源性 5-HT 动力学特性, 其独特之处还在于能够预测致幻性及非致幻性药物。主要结果如下: (1) 研究人员用绿色荧光蛋白 (cpGFP) 替换 5-HT_{2A}R 的第三个细胞内环 (IL3), 并添加内质网输出序列增强其膜定位能力, 开发出一种能检测 5-HT_{2A}R 配体的荧光感受器 psychLight2。PsychLight 的时间分辨率可达到毫秒级, 能够检测离体和体内 5-HT 的时间依赖性释放。在恐惧训练实验中, 足底电击明显增强中缝背核 psychLight2 荧光, 随后迅速减弱。以上结果表明, 在动物自由活动状态下, psychLight2 能够检测内源性 5-HT 浓度的变化。(2) 随后研究人员基于 psychLight2 开发出药物筛选技术, 对化合物 (包含致幻性和非致幻性) 进行筛选。具有致幻作用的 5-HT_{2A}R 配体增强 psychLight2 的荧光信号。非致幻作用的 5-HT_{2A}R 配体在激动剂模式下不激活 psychLight2, 但在拮抗剂模式下降低 psychLight2 的荧光。与 5-HT_{2A}R 并不发生结合的配体化合物, 既不能增强也不能降低 psychLight2 的荧光强度。以上结果表明, psychLight2 能够鉴别出致幻性和非致幻性 5-HT_{2A}R 的配体化合物。通过上述药物筛选技术发现, AAZ-A-154 是具有神经可塑性、具有抗抑郁特性、非致幻性 5-HT_{2A}R 配体。在小鼠实验中证实, AAZ-A-154 的抗抑郁作用类似于氯胺酮, 但没有致幻性。因此, PsychLight 不仅可以检测体内 5-HT 动力学特性, 还将助力研发非致幻性抗抑郁药物。

(Dong CY, *et al.* Psychedelic-inspired drug discovery using an engineered biosensor. *Cell*, 2021, 184(10):2779-2792. 北京大学神经科学研究所, 付苏译, 刘风雨校)