

综述

抗原口服耐受性影响因素的研究进展

李永宁, 贾旭东

(中国疾病预防控制中心营养与食品安全所, 北京 100021)

摘要: 抗原口服耐受性是经口接触某种抗原物质后机体再次接触这种抗原时对其免疫应答的主动抑制。机体每天都要接触大量的食物抗原, 而抗原口服耐受性的存在使绝大部分人不会对这些抗原产生过敏反应。食物致敏性是人们关注的热点之一, 通过建立动物模型来研究食物致敏性是一条比较直接的途径, 而降低实验动物的口服耐受性可有效提高该模型的检出效力。本文就近年来口服耐受性影响因素及消除口服耐受性的措施或方法方面的研究进展进行综述。

关键词: 抗原; 口服耐受性; 食物致敏性; 动物模型; 食品安全

中图分类号: R392.8 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2011)06-0576-06

Progress on the influencing factors of oral tolerance to antigens

Li Yongning, Jia Xudong

(National Institute for Nutrition and Food Safety, China CDC, Beijing 100021, China)

Abstract: Oral tolerance refers to a state of active inhibition of immune response to a food antigen which has been exposed previously via oral route. With exposure to a large extent of food antigens every day, adverse immunologic reactions to an antigen only take place in a small proportion of individuals because of the existence of oral tolerance. Food allergy is one of hot topics in related fields. Establishing an animal model is a direct way to explore food allergy. Avoiding oral tolerance of an animal to antigens could improve the detection efficiency of the model. The progress on the research of factors influencing oral tolerance to food antigens is reviewed.

Key words: Antigen; oral tolerance; food allergy; animal model; food safety

食物过敏指食物被易感人群摄入后, 机体对其产生的异常免疫反应导致机体出现生理功能紊乱、组织损伤等一系列临床症状, 通常表现为皮肤荨麻疹、消化道和/或肺部不适, 极少数会出现过敏性休克及死亡。常见的食物过敏主要是 I 型过敏反应, 也就是由 IgE 介导的反应, 食物过敏的发生不仅需要外来抗原具有诱导产生 IgE 的能力, 还要具有避免口服耐受性产生的能力。本文对口服耐受性的机制、相关影响因素及消除方法方面的研究进展进行综述。

1 口服耐受性的产生机制

口服耐受性是指口服某种抗原物质后机体再

次接触该抗原时表现出的一种免疫无应答状态。引起口服耐受性的机制有两种: (1) 经口给予低剂量抗原产生的主动性细胞抑制, 表现为诱导抗原特异性调节 CD4⁺ T 细胞的增殖, 包括分泌白细胞介素-10(IL-10) 为主的 I 型调节性 T 细胞(Tr1), 分泌转化生长因子-β(TGF-β) 为主的 III 型辅助性 T 细胞(Th3), 表达叉头状转录因子 P3(Foxp3) 以及分泌型、膜结合型 TGF-β 的 CD25⁺ CD4⁺ 调节性 T(Treg) 细胞。这些抗原特异性调节细胞可迁移至淋巴器官, 通过抑制效应细胞的产生来抑制免疫反应或迁移至靶器官通过释放非抗原特异性细胞因子(旁观者抑制) 来引发耐受。(2) 经口给予高剂量抗原诱导机体产生抗原特异性 T 细胞的失能或清除, 主要影响 I、II 型辅助性 T 细胞(Th1、Th2) 来引起耐受。这两种机制并非互相排斥, 而是具有一定的重叠性。有研究证明在肠粘膜发生的 T 细胞清除可导致局部巨噬细胞分泌 TGF-β, 该细胞因子具有促进 Th3 及 Foxp3⁺ CD25⁺ CD4⁺ Treg 细胞增殖的作用。因此, T 细胞的失能与清除和主动性细胞抑制可能是由肠道接触抗原引起的耐受过程的不同方面^[1-2]。

收稿日期: 2011-02-15

基金项目: 国家科技部 973 课题(2007CB109207); 转基因重大专项(2008ZX08011-005)

作者简介: 李永宁 男 实习研究员 研究方向为营养与食品卫生
E-mail: 13466796251@163.com.

通信作者: 贾旭东 男 研究员 研究方向为食品毒理 E-mail: jiaxudong@yahoo.com

2 口服耐受性的影响因素

影响口服耐受性的因素很多,其中包括抗原的可溶性及消化稳定性、初次暴露时间、旁观者抑制、肠道菌群、调节性 T 细胞(Tregs)、树突状细胞(DCs)、自然杀伤 T(NKT)细胞等。肠道菌群、Tregs、DCs、NKT 细胞主要通过 IL-10、TGF- β 等细胞因子来对机体的免疫反应进行调节,此外它们之间也有着相互促进作用,共同参与口服耐受性的形成。

2.1 抗原的可溶性及消化稳定性

研究表明,大多数可引起过敏反应的物质具有热稳定性、糖基化、分子量介于 10~70 kDa、可耐受胃酸及消化酶降解等特性。Bowman 和 Selgrade^[3]使用 6~9 周龄的 C3H/HeJ 小鼠,以花生、卵清蛋白(OVA)、巴西坚果、菠菜及火鸡等已知致敏原或非致敏原作为研究对象来制备口服耐受性模型。各实验组小鼠分别通过灌胃给予溶于纯 Hank's 平衡盐溶液(HBSS)或含 0.2 mmol/L 碳酸氢钠的 HBSS(碳酸氢钠可提高蛋白溶解度及抑制胃部消化)的抗原,对照组只给予 HBSS。另外 1 组小鼠在麻醉后给予胶囊封装(耐酸,在小肠中释放内容物)OVA 20 mg。1 周后,经腹腔注射给予各组小鼠 100 μ l 相同抗原及 200 μ l 含铝佐剂,并于注射 1 周后取血待检。结果显示,在未给予碳酸氢钠的各实验组中,OVA 组出现了显著的口服耐受性,而花生、巴西坚果(具有致敏性)及菠菜、火鸡(无致敏性)均无法诱导口服耐受性;体外实验证明 OVA 经过模拟胃液(SGF)消化后可检测到 >40 kDa 的产物,而花生及巴西坚果只可检测到 \leq 17 kDa 的产物;上述物质经过模拟肠液(SIF)消化后发现,绝大多数 <30 kDa 的蛋白质在 30 min 后可被消化完全,研究者由此提出 OVA 可诱导口服耐受性是由于其对胃肠消化酶均可耐受,而花生及巴西坚果由于只耐受胃蛋白酶而被肠道内消化酶完全消化,所以无法引起口服耐受性。此外,给予 OVA 胶囊的小鼠无法诱发口服耐受性,预先给予西米替丁(抑制胃酸分泌)的 C3H/HeJ 小鼠,正常喂饲 OVA 后也出现了耐受的降低,据此,作者推测蛋白需经过适度的消化才能更有利于口服耐受性的产生。同时给予 0.2 mmol/L 碳酸氢钠及花生蛋白的小鼠与只给予花生蛋白的小鼠相比产生了显著的口服耐受性,巴西坚果处理组也可观察到口服耐受性的增强但差异无统计学意义,且经酸化处理产生沉淀的 OVA 无法引起口服耐受性,由此推测提高蛋白溶解度有助于产生口服耐受性。

2.2 抗原的初次暴露时间

Prescott 等^[4]报道,在人体生长过程中,早期规

律地给予食物抗原,可在一定“关键窗口期”诱发对该抗原的耐受;推测人类的关键窗口期为 4~6 月,在更早的 1~3 月或 6 月后给予食物抗原,可导致较高的过敏反应率的发生,且后者高于前者。研究表明儿童对房间尘螨的免疫反应中持续的 Th2 细胞(IL-4、IL-13)应答及 Th1 细胞(INF- γ)应答的抑制与过敏的发生有关;非易感儿童仅在出生后检测到强 Th2 应答,并且在出生后 6 个月内出现 Th2 细胞的减少和 Th1 细胞的增加。Penders 等^[5]报道,关键窗口期的存在可能与此时免疫系统尚未完全成熟、肠道正常菌群未建立及正在构建对食物及外源性微生物抗原的免疫耐受有关。现已有许多针对具有过敏倾向及无过敏倾向儿童出生后成熟的辅助性 T 细胞反应性的研究。Sudo 等^[6]经口给予无菌(GF)小鼠 OVA,观察到 Th2 型细胞因子及抗原特异性 IgE 的产生。对初生 GF 小鼠使用双歧杆菌以重建其微生物群,可诱发口服耐受性,而对于年龄较大的小鼠则无此作用,证明初期肠道正常菌群的建立对于肠道屏障作用的形成、维持及对口服耐受性的形成均具有重要影响,也验证了肠道菌群对于关键窗口期的影响。

2.3 旁观者抑制

旁观者抑制是指一种食物抗原诱导的调节细胞产生的细胞因子可对其邻近的另一种不同抗原产生的免疫反应进行抑制的效应^[7]。Gustavo 等^[8]通过两组实验来验证旁观者抑制的存在。在第 1 个实验中,通过饮水给予 B6D2F1 小鼠 3 d 蛋清溶液以制备口服耐受性模型,对照组小鼠喂饲纯水。7 d 后在所有小鼠尾根部经皮下注射给予 0.2 ml 含有 100 μ g 二硝基苯基共轭卵清蛋白(DNP-OVA)及 50 μ g 二硝基苯基共轭钥孔戚血蓝蛋白(DNP-KLH)的弗氏完全佐剂(CAF,1:1)。28 d 后再给予所有小鼠右后足跖 100 μ g 热聚 DNP-OVA、左后足跖 20 μ g 热聚 DNP-KLH 诱发迟发型超敏反应(DTH)。结果显示,未诱发口服耐受性的对照组小鼠给予 DNP-OVA、DNP-KLH 后出现了显著的 DTH,而两种物质均无法诱发实验组小鼠出现显著的 DTH。推测小鼠对 DNP-KLH 免疫反应的抑制是由于之前经由皮下注射同时给予 DNP-OVA 及 DNP-KLH 引起的对 DNP-KLH 免疫抑制作用持续存在的结果。在第 2 个实验中,对照组及耐受小鼠制备同上。于实验开始后第 7、14 d 后经皮下给予所有小鼠包含 100 μ g OVA 及 50 μ g 血红蛋白(Hb)的 Al(OH)₃ 佐剂,1 周后部分小鼠再通过腹腔注射给予 1 μ g Hb 及 1 μ g OVA 诱导腹膜炎,为检测抑制作用在无可引起口服耐受的耐受原时是否持续存在,数组小鼠

只注射 1 μg Hb。24 h 后检测腹膜洗出液中的细胞计数来判断炎症细胞浸润的强度。结果显示,由 OVA 诱发的口服耐受性可同时抑制 OVA、Hb 的免疫应答,各实验组小鼠腹腔洗出液中的白细胞计数显著低于对照组(无口服耐受性)小鼠。只通过腹腔注射给予 Hb 而无耐受原 OVA 存在时,实验组小鼠的细胞浸润也同样受到了抑制,这可能是由于皮下注射时 OVA 的存在诱发了对于 Hb 的免疫抑制,即旁观者抑制。

2.4 Foxp3⁺CD4⁺CD25⁺调节 T 细胞及 III 型辅助性 T 细胞

Tregs 及 Th3 细胞可通过表达转化生长因子 β (TGF- β) 对机体免疫应答进行负调节,其中 Tregs 可表达分泌型及膜结合型两种形式的 TGF- β 。研究表明,TGF- β 与 Tregs 之间的相互作用及相互调节是维持机体 T 细胞免疫应答与耐受平衡的关键因素,TGF- β 可以诱导表型为 CD4⁺CD25⁻初始 T 细胞向有活性的 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞转化^[9]。

TGF- β 是一类具有重要作用的细胞因子,包括 TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3 三种亚型。最新研究表明,TGF- β 一般以前体状态存在(无法直接被 TGF- β 受体识别),其发挥生理作用需前体 TGF- β 结合蛋白(LTBP)分子的激活作用,并与潜伏相关多肽(LAP)以非共价键结合^[10-11]。Solovyan 和 Keski-oja^[12]通过使用十字孢碱诱导人内皮细胞的凋亡来确定 TGF- β 在其过程中所起到的作用,结果显示,人脐带血管内皮细胞(HUVEC)的凋亡伴随着 TGF- β 的表达及增殖,以此推测内源性 TGF- β 的活化是凋亡过程的组成部分。

Sun 等^[1]通过静脉注射给予相同遗传背景的 BABL/c 小鼠 OVA-抗原受体转基因小鼠 T 细胞 1.5×10^7 个,次日起每 2 d 经舌下给予各组小鼠 60 μg OVA + 霍乱毒素 B 亚单位(CTB)或磷酸盐缓冲液(PBS),最后一次舌下给予抗原后,于次日在尾根部皮下注射含 50 μg OVA 的 CAF 溶液。7 或 14 d 后,取小鼠淋巴结进行检验。结果显示,与 PBS 组比较,OVA/CTB 组效应 T 细胞的增殖受到严重抑制而 Tregs 显著增多。在其后续试验中,Sun 等^[1]报道了舌下给予 OVA/CTB 可引起效应 T 细胞的凋亡,且依赖于 Tregs 而非 IL-10,证明 Tregs 对效应 T 细胞同时具有抑制增殖和诱导凋亡的作用且可能由 TGF- β 所决定。

2.5 I 型调节性 T 细胞及树突状细胞

Tr1 细胞及 DCs 细胞均通过白细胞介素-10(IL-10)对抗原特异性效应 T 细胞进行调节,且 DCs 具有促进 Tr1 细胞增殖的作用。在免疫应答初期,DCs

分泌的 IL-10 可促进初始 CD4⁺T 细胞的分化与增殖,产生 Tr1 细胞。Akbari 等^[13]报道肺部 DCs 在诱导呼吸道 T 细胞耐受中起到了重要作用,并伴随着 IL-10 分泌的显著增高。Tr1 细胞具有抑制抗原特异性免疫反应及受到特异抗原刺激后增殖较慢的特性,可表达大量的 IL-10 及少量 IL-2。研究表明,Tr1 细胞可通过负调节初始及记忆性 T 细胞发挥其抑制效应^[14]。Groux 等^[15]实验证明,在存在 IL-10 的情况下初始 CD4⁺T 细胞易于向 Tr1 细胞转化,反之 Tr1 细胞生成后则可抑制初始 T 细胞的分化与增殖。

Ng 等^[16]研究了 6 月龄至 5 岁有/无鸡蛋过敏史的儿童对卵清蛋白的免疫应答,结果显示,所有儿童(过敏、非过敏)均会出现暂时性的淋巴组织增生,而有过敏史儿童增生更为显著,持续时间更长。无过敏史儿童在 OVA 刺激下,可在无可观察到的淋巴组织增生的情况下检测到 IL-10 的大量表达,证明机体免疫耐受的形成伴随着强 IL-10 表达。已有大量研究表明,IL-10 可以诱导及维持抗原特异性 T 细胞免疫耐受,由此推测,Tr1 细胞的持续大量存在可通过对初始 CD4⁺T 细胞的分化进行调节来发挥持久的抑制作用,而非通过克隆清除等方式。

DCs 在粘膜表面可诱导调节性 T 细胞的分化,并在 T 细胞归巢中起到重要作用。DCs 是一种重要的抗原递呈细胞(APCs),并具有诱导初始 T 细胞分化的独特功能。DCs 通常以不成熟状态存在,它们可通过模式识别受体(PRRs)如 Toll 样受体(TLRs)与病原体表达的病原相关分子模式(PAMPs)相互作用或识别炎症因子来转化为成熟 DCs 细胞。DCs 细胞的成熟过程伴随着吞噬作用相关受体的减少及共刺激分子表达的增加,以便发挥其调节 T 细胞分化的作用。有研究表明,派尔集合淋巴结(PP)中的 DCs 与初始 T 细胞相互作用表达 IL-10,IL-10 则可以促使初始 T 细胞向调节性 T 细胞(如 Tr1)的转化,说明 IL-10 的表达及 Tr1 的诱导是 DCs 调节免疫应答的重要机制^[17]。Worbs 等^[18]报道食物抗原只能被肠道免疫系统所识别,尤其是肠系膜淋巴结,接受肠系膜淋巴结切除术的小鼠无法产生口服耐受性。CCR7(DCs 表达趋化因子)缺陷小鼠无法诱导口服耐受性并伴随 DCs 由肠粘膜向肠系膜淋巴结的迁移障碍,说明 DCs 细胞作为抗原递呈细胞在口服耐受性的形成过程中起到重要的作用。

2.6 自然杀伤 T 细胞

NKT 细胞是一种同时具有记忆性 T 细胞及 NK 细胞特性的细胞。糖脂抗原只有经过 CD1d 细胞的加工处理才可被 NKT 识别。Kim 等^[19]通过给予

CD1d^{-/-}及对照组小鼠 OVA(1 mg/只或 250 mg/只)及 PBS,结果显示,对照组小鼠分泌 IL-10 及 TGF- β 1 的能力显著高于 CD1d^{-/-}小鼠,说明 NKT 细胞可能具有诱导表达 IL-10 及 TGF- β 1 的调节性细胞的作用。为检验 NKT 细胞是否可以引起 OVA 特异性 CD4⁺T 细胞的克隆清除, Kim 等分别给予 DO11.10 (T 细胞受体转基因) CD1d^{-/-}及 DO11.10 小鼠 OVA 或 PBS 100 mg/(d·只),共 5 d。结果显示,喂饲 OVA 的 DO11.10 组小鼠与喂饲 PBS 的 DO11.10 小鼠比较,PPs 与脾脏中的 OVA 特异性 CD4⁺T 细胞明显减少,而 DO11.10 CD1d^{-/-}小鼠(OVA 及 PBS 组)体内 CD4⁺T 细胞均无明显变化。在喂饲 OVA 的 DO11.10 CD1d^{-/-}和 DO11.10 所有小鼠中,CD4⁺CD25⁺的数量并未出现明显差异。这些结果说明,诱导 OVA 特异性 CD4⁺T 细胞的克隆清除可能是 NKT 细胞引起口服耐受性的重要机制。综上所述,NKT 细胞能够通过诱导调节性 T 细胞表达及直接清除效应 T 细胞两条途径来引起口服耐受性。

2.7 正常肠道菌群

胃肠道每天都会暴露于大量的抗原物质,因此它需要区分非致病性微生物及无危害的抗原,决定是否对其产生免疫反应、阻止感染的散播或诱导机体的耐受反应。为完成以上功能,肠道免疫系统具备了促进耐受产生的特性,包括对 DCs 等 APCs、T 细胞的影响及具有抑制免疫性反应的专门淋巴结构和肠相关淋巴样组织:PPs、肠系膜淋巴结(MLN)^[20]。

Takebayashi 等^[21]报道在同等生理条件下与无菌(GF)小鼠比较,无特异病原体(SPF)小鼠可表现出较强的 T 细胞粘附能力,推测肠道菌群可上调 T 细胞的迁移能力。经腹腔内给予 SPF 及 GF 小鼠脂多糖(LPS)可显著提高两种小鼠的 T 细胞粘附能力,并伴随着粘附分子、致炎细胞因子的增殖。而经口给予 LPS 却无法引起 SPF 小鼠的 T 细胞粘附,并伴随负调节因子白介素-1 受体相关激酶-M(IRAK-M)及 TGF- β 的表达。推测肠道正常菌群的存在对于 T 细胞向肠道微血管的募集有重要的影响,通过 IRAK-M 及 TGF- β 介导的负调节作用于淋巴细胞募集过程来诱导经消化道给予 LPS 的耐受。Ishikawa 等^[22]的研究表明,经口给予 OVA 后,在相同条件下,SPF 小鼠体内所能检测 Tregs 较 GF 小鼠显著提高,推测肠道菌群在 Tregs 的诱导及维持过程中起到了重要的作用,与 Takebayashi 等^[21]关于肠道菌群促进 TGF- β 表达的结果相一致。

3 消除口服耐受性的措施或方法

Bowman 等^[3]通过给予 C3H/HeJ 小鼠 5 mg 经

酸化(pH3.0)处理产生肉眼可见沉淀或由抗酸胶囊包裹以阻止胃蛋白酶消化并释放于小肠的 OVA,结果显示,两种处理途径均无法引起口服耐受性,研究者认为,该实验中口服耐受性受到抑制的原因分别为 OVA 溶解度的降低及未得到适度的消化。

有研究发现,母鼠可通过乳汁将食物抗原及 IL-10、TGF- β 等细胞因子转运至幼鼠并诱发口服耐受性^[23],制备致敏模型时应避免母鼠接触食物致敏原。有许多研究显示,经口给予天然抗原可引起成年大鼠口服耐受性,而新生大鼠无此效应。Huang 等^[24]通过舌下每天 1 次连续给予新生 BALB/c 小鼠卵清蛋白 3 d,经腹腔注射 OVA 致敏后出现显著过敏症状,证明未引起口服耐受性。

霍乱毒素(CT)是由霍乱弧菌产生的一种肠毒素,具有促进粘膜 Th2 型反应的能力。CT 与抗原同时摄入可刺激致敏反应的发生,并伴随特异性 IgG、IgE 分泌,在制备致敏模型时使用 CT 作为佐剂可克服粘膜免疫系统所产生的口服耐受性^[25]。Bowman 等^[26]通过灌胃给予 C3H/HeJ 小鼠 OVA 加或不加 CT 来评价 CT 在致敏模型建立中的作用,结果显示,同时摄入 OVA 与 CT 的小鼠可产生明显的过敏反应,而无 CT 组则无法产生过敏。

有报道,经腹腔注射给予 BALB/c 小鼠 IL-18 及 IL-12 可抑制口服耐受性的产生^[27]。Yoshida 等^[28]的研究表明,经口同时给予 BALB/c 小鼠抗原及 IL-12 时出现了对口服耐受性的抑制,但 IL-12 对已存在的口服耐受性无影响,且曾被 IL-12 抑制口服耐受性产生的大鼠再次接触抗原物质时仍可产生口服耐受性,进一步证明了 IL-12 具有抑制口服耐受性的能力。

有研究者通过静脉注射给予 BALB/c 小鼠 α -半乳糖酰基鞘氨醇(α GC)发现,其具有抑制口服耐受性的作用,作用机制为 α GC 激活 NKT 细胞,NKT 细胞可进一步促使小肠固有层 DC 细胞的机能性成熟并迁移至肠系膜淋巴结来抑制口服耐受性^[29]。Chang 等^[30]进一步证明,经 α GC 处理的小鼠 DC 细胞诱发 TGF- β 的能力受损,说明在不同的环境下,不同亚型的 DC 细胞可能在促进或抑制口服耐受性的功能中转换。

4 结语

综上所述,抗原的可溶性及消化稳定性、初次暴露时间、旁观者效应、肠道菌群、调节性 T 细胞、树突状细胞、NK 细胞等均在口服耐受性的形成中起到调节作用,已有大量研究以这些影响因素为手段来抑制口服耐受性的产生。在建立食物致敏动

物模型的过程中,口服耐受性的出现会极大影响模型的检验效率,因此可有效阻止口服耐受性产生以辅助模型建立的方法的研究具有十分重要的意义。

参考文献

- [1] SUN J B ,CZERKINSKY C ,HOLMGREN J. Sublingual 'oral tolerance' induction with antigen conjugated to cholera toxin B subunit generates regulatory T cells that induce apoptosis and depletion of effector T cells [J]. *Scand J Immunol* ,2007 ,66(2-3) : 278-286.
- [2] FARIAAM ,WEINERHL. Oral tolerance: therapeutic implications for autoimmune diseases [J]. *Clin Dev Immunol* ,2006 ,13(2-4) : 143-157.
- [3] BOWMAN C C ,SELGRADE M K. Failure to induce oral tolerance in mice is predictive of dietary allergenic potency among foods with sensitizing capacity [J]. *Toxicol Sci* ,2008 ,106(2) : 435-443.
- [4] PRESCOTT S L ,SMITH P ,TANG M ,et al. The importance of early complementary feeding in the development of oral tolerance: concerns and controversies [J]. *Pediatr Allergy Immunol* ,2008 ,19(5) : 375-380.
- [5] PENDERS J ,STOBBERINGH E E ,van DEN BRANDT P A ,et al. The role of the intestinal microbiota in the development of atopic disorders [J]. *Allergy* 2007 ,62(11) : 1223-1236.
- [6] SUDO N ,SAWAMURA S ,TANAKA K ,et al. The requirement of intestinal bacterial flora for the development of an IgE production system fully susceptible to oral tolerance induction [J]. *J Immunol* ,1997 ,159(4) : 1739-1745.
- [7] BRIDLE B W ,WILKIE B N ,JEVNIKAR A M ,et al. Deviation of xenogeneic immune response and bystander suppression in rats fed porcine blood mononuclear cells [J]. *Transpl Immunol* ,2007 ,17(4) : 262-270.
- [8] RAMOS G C ,RODRIGUES C M ,AZEVEDO G M Jr ,et al. Cell-mediated immune response to unrelated proteins and unspecific inflammation blocked by orally tolerated proteins [J]. *Immunology* 2009 ,126(3) : 354-362.
- [9] MIZRAHI M ,ILAN Y. The gut mucosa as a site for induction of regulatory T-cells [J]. *Curr Pharm Des* ,2009 ,15(11) : 1191-1202.
- [10] MUNGRE J S ,HARPEL J G ,GLEIZES P E ,et al. Latent transforming growth factor- β : structural features and mechanisms of activation [J]. *Kidney Int* ,1997 ,51(5) : 1376-1382.
- [11] TRITSCHLER I ,GRAMATZKI D ,CAPPER D ,et al. Modulation of TGF- β activity by latent TGF- β -binding protein 1 in human malignant glioma cells [J]. *Int J Cancer* ,2009 ,125(3) : 530-540.
- [12] SOLOVYAN V T ,KESKI-OJA J. Apoptosis of human endothelial cells is accompanied by proteolytic processing of latent TGF- β binding proteins and activation of TGF- β [J]. *Cell Death Differ* ,2005 ,12(7) : 815-826.
- [13] AKBARI O ,DEKRUYFF R H ,UMETSU D T. Pulmonary dendritic cells producing IL-10 mediate tolerance induced by respiratory exposure to antigen [J]. *Nat Immunol* ,2001 ,2(8) : 725-731.
- [14] PORPORATTOC ,CANALI MM ,BIANCOID. The biocompatible polysaccharide chitosan enhances the oral tolerance to type II collagen [J]. *Clin Exp Immunol* ,2009 ,155(1) : 79-87.
- [15] GROUX H ,O' GARRA A ,BIGLER M ,et al. A CD4⁺ T-cell subset inhibits antigen-specific T-cell responses and prevents colitis [J]. *Nature* ,1997 ,389(6652) : 737-742.
- [16] NG T W ,HOLT P G ,PRESCOTT S L. Cellular immune responses to ovalbumin and house dust mite in egg-allergic children [J]. *Allergy* 2002 ,57(3) : 207-214.
- [17] KELSALL B L ,LEON F. Involvement of intestinal dendritic cells in oral tolerance ,immunity to pathogens ,and inflammatory bowel disease [J]. *Immunol Rev* 2005 ,206: 132-148.
- [18] 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]. *J Exp Med* 2006 ,203(3) : 519-527.
- [19] KIM H J ,HWANG S J ,KIM B K ,et al. NKT cells play critical roles in the induction of oral tolerance by inducing regulatory T cells producing IL-10 and transforming growth factor B ,and by clonally deleting antigen-specific T cells [J]. *Immunology* 2006 ,118(1) : 101-111.
- [20] HOGAN S P ,ROTHENBERG M E. Dietary allergenic proteins and intestinal immunity: a shift from oral tolerance to sensitization [J]. *Clin Exp Allergy* 2008 ,38(2) : 229-232.
- [21] TAKEBAYASHI K ,HOKARI R ,KURIHARA C ,et al. Oral tolerance induced by enterobacteria altered the process of lymphocyte recruitment to intestinal microvessels: roles of endothelial cell adhesion molecules , TGF- β and negative regulators of TLR signaling [J]. *Microcirculation* ,2009 ,16(3) : 251-264.
- [22] ISHIKAWA H ,TANAKA K ,MAEDA Y ,et al. Effect of intestinal microbiota on the induction of regulatory CD25⁺ CD4⁺ T cells [J]. *Clin Exp Immunol* 2008 ,153(1) : 127-135.
- [23] VERHASSELT V ,MILCENT V ,CAZARETH J ,et al. Breast milk-mediated transfer of an antigen induces tolerance and protection from allergic asthma [J]. *Nat Med* ,2008 ,14(2) : 170-175.
- [24] HUANG C F ,WU T C ,CHU Y H ,et al. Effect of neonatal sublingual vaccination with native or denatured ovalbumin and adjuvant cpg or cholera toxin on systemic and mucosal immunity in mice [J]. *Scand J Immunol* ,2008 ,68(5) : 502-510.
- [25] CHRISTENSEN H R ,KJAER T M ,FROKIAER H. Low-dose oral tolerance due to antigen in the diet suppresses differentially the cholera toxin-adjuvanted IgE、IgA and IgG response [J]. *Int Arch Allergy Immunol* 2003 ,132(3) : 248-257.
- [26] BOWMAN C C ,SELGRADE M K. Differences in allergenic potential of food extracts following oral exposure in mice reflect differences in digestibility: potential approaches to safety assessment [J]. *Toxicol Sci* 2008 ,102(1) : 100-109.
- [27] EATON A D ,XU D ,Garside P. Administration of exogenous interleukin-18 and interleukin-12 prevents the induction of oral tolerance [J]. *Immunology* 2003 ,108(2) : 196-203.
- [28] YOSHIDA T ,UNO T ,HIRANO A ,et al. Oral administration of IL-12 abrogates the induction but not the maintenance of oral tolerance [J]. *Int Arch Allergy Immunol* ,2006 ,140(4) : 306-314.

- [29] CHUNG Y, CHANG W S, KIM S, et al. NKT cell ligand α -galactosylceramide blocks the induction of oral tolerance by triggering dendritic cell maturation [J]. *Eur J Immunol* 2004, 34 (9): 2471-2479.
- [30] CHANG J H, LEE J M, YOUN H J, et al. Functional maturation of lamina propria dendritic cells by activation of NKT cells mediates the abrogation of oral tolerance [J]. *Eur J Immunol* 2008, 38 (10): 2727-2739.

综述

水产品病原微生物安全控制技术的研究进展

张宾, 邓尚贵, 林慧敏, 唐艳

(浙江海洋学院 食品与药学院、医学院, 浙江 舟山 316000)

摘要: 水产品中病原微生物是引发人类食源性疾病的主要因素之一。本文着重阐述了高压杀菌、辐照杀菌、电解水杀菌及生物抑菌剂技术等对水产品病原微生物的杀灭效果及对水产品品质的影响, 并对其未来的发展趋势进行了展望。

关键词: 病原微生物; 高压杀菌; 电解水杀菌; 辐照杀菌; 抑菌剂; 食品安全

中图分类号: TS254.4 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2011)06-0581-06

Technological advances on the control of pathogenic microorganisms in aquatic products

Zhang Bin, Deng Shanggui, Lin Huimin, Tang Yan

(School of Food and Pharmacy & Medical, Zhejiang Ocean University, Zhejiang Zhoushan 316000, China)

Abstract: Pathogenic microorganism in aquatic products is one of the most important factors in human food-borne diseases. Several new sterilization technologies such as high pressure sterilization, irradiation sterilization, electrolyzed water sterilization and bacteriostatic agents are provided in this article. Their basic principle, the recent development in application and the future trend of these techniques used in seafood industries are also briefly discussed.

Key words: Pathogenic microorganisms; high pressure sterilization; electrolyzed water sterilization; irradiation sterilization; bacteriostatic agent; food safety

全球每年发生约 40~60 亿例食源性疾病, 在发展中国家每年因食源性死亡人数达 180 万, 其中因食用水产品而引发的食源性死亡约占 20%。水产品中病原微生物是引发食源性疾病的主要因素之一。

近年来我国水产品病原微生物出现的安全问题有: 2005—2006 年, 广州市水产品中副溶血性弧菌检出率达 33.9%^[1]; 2006—2007 年, 长沙市动物性水产品病原菌污染率达到 32.6%^[2]; 2006—2008

年, 舟山市监测发现食源性病原菌污染最严重的为动物性水产品, 511 份鲜活水产品中共检出副溶血性弧菌 68 株^[3]。2005 年, 珠江三角洲地区酒楼、日韩料理餐厅菜肴所用生食海产品和淡水产品中副溶血性弧菌检出阳性率达 49.5%^[4]。2008 年, 江苏省检测 757 份食品样品发现以动物性水产品被副溶血性弧菌污染最为严重^[5]。2009 年, 上海市水产品中副溶血性弧菌平均检出率为 38.5%, 尤其甲壳类水产动物检出率达 51.0%^[6]。我国水产品病原微生物的高检出率, 以及因病原微生物引起的食源性疾病频发, 使控制我国水产品病原微生物成为亟待解决的问题。

日本、美国和欧洲部分国家对水产品中病原微生物安全控制技术进行了广泛的研究。本文综述国内外水产品中病原微生物安全控制技术的研究进展, 并对我国水产品病原微生物污染控制技术的发展提出展望。

收稿日期: 2011-03-25

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31071628); 国际合作项目 (2010DFB34220); 浙江省优先主题重点项目 (2011C13027-2); 浙江海洋学院科研启动资助 (21135011010)

作者简介: 张宾, 男, 博士, 讲师, 研究方向为水产品加工与贮藏 E-mail: zhangbin_ouc@yahoo.com.cn

通信作者: 邓尚贵, 男, 博士, 博士生导师, 研究方向为水产品加工与贮藏 E-mail: dengshanggui@163.com