

EGC 和 EGCG 降低 α_{s1} -酪蛋白致敏小鼠过敏反应

郭红蕾¹, 于晓凤¹, 张倩倩¹, 丛艳君^{1*}, 李邻峰²

(¹北京工商大学食品与健康学院 北京食品营养与人类健康高精尖创新中心

北京市食品添加剂工程技术研究中心 北京 100048

²北京友谊医院皮肤科 北京 100050)

摘要 为研究茶多酚中的表没食子儿茶素(EGC)和表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)的抗 α_{s1} -酪蛋白致敏机理,首先用 α_{s1} -酪蛋白致敏 BALB/C 小鼠,在激发阶段用 EGC 和 EGCG 给予营养干预,以降低 α_{s1} -酪蛋白致敏小鼠的过敏反应。以小鼠体内肥大细胞蛋白酶含量、组胺含量、特异性抗体 IgE 水平、细胞因子分泌水平以及组织病理学观察为主要指标,评价 EGC 和 EGCG 降低 α_{s1} -酪蛋白致敏小鼠过敏反应的能力。结果表明:EGC 和 EGCG 均可显著降低过敏小鼠的肥大细胞蛋白酶、组胺、特异性 IgE 抗体和 Th2 型细胞因子水平。同时,组织病理学结果显示:EGC 和 EGCG 显著降低肠、胸腺、脾脏和肺的病变更程度。本研究结果可为茶多酚调控牛乳过敏原致敏反应发生的路径提供理论参考,未来可从信号转导和基因表达水平方面进一步探讨抗过敏机制。

关键词 α_{s1} -酪蛋白; 表没食子儿茶素; 表没食子儿茶素没食子酸酯; 抗过敏

文章编号 1009-7848(2022)11-0181-09 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.11.020

牛乳是国际公认的八大过敏原之一,已引起人们的广泛关注。牛乳过敏是婴幼儿中的一种常见的食物过敏反应,牛乳过敏在不到 1 岁的婴幼儿中的发病率为 2%~3%^[1]。年龄超过 3 岁的儿童对牛乳过敏会产生一定的免疫耐受,过敏发病率在 0.3%左右^[2],严重危害婴幼儿的健康。目前临床上尚无根治食物过敏的方法,通常采取严格回避食用过敏原的方法。然而,日常食谱中广泛存在食物过敏原,避免摄入十分困难,同时不能满足婴幼儿和青少年正常的营养需求,甚至引发心理问题,存在较大的弊端^[3]。开发安全有效的预防或治疗食物过敏的产品极为迫切。酪蛋白是牛奶中的主要过敏原,并且 α_{s1} -酪蛋白比 α_{s2} -、 β -和 κ -酪蛋白具有更高的致敏性^[4],研究抗 α_{s1} -酪蛋白过敏的机理至关重要。

茶中富含潜在的生物活性化合物,例如黄酮-3-醇、原硫氰菊酯、黄酮醇、茶黄素、茶糖素、1-茶氨酸、甲基黄嘌呤、没食子酸等^[5]。茶在人类健康中

起着重要作用,包括预防癌症、冠心病和肥胖症^[6-7]。茶对食物过敏的影响主要与酚类化合物有关^[8],茶叶中的茶多酚不仅能够抑制肥大细胞脱颗粒释放组织胺,还能降低过敏机体内特异性 IgE 的水平,提升机体防御机能^[9-11]。茶多酚中,儿茶素类化合物约占其 65%~80%,主要包括 4 种形式的儿茶素:表儿茶素(EC)、表儿茶素没食子酸酯(EGC)、表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)及表没食子儿茶素(EGC)^[12]。其中的 EGC 含量约占儿茶素总量的 15%~20%,EGCG 含量约占儿茶素总量的 50%^[13-15],这些成分对食物过敏的影响机制有待深入研究。茶多酚是一种相对安全的食品添加剂,不会对人体产生有害作用,可以利用其研究开发抗过敏以及低过敏食品^[16-18]。

本研究首先建立 α_{s1} -酪蛋白致敏 BALB/C 小鼠模型,在激发阶段每天灌胃 EGC 和 EGCG,在第 42 天比对 α_{s1} -酪蛋白致敏组与 EGC、EGCG 干预组小鼠的肥大细胞蛋白酶(MCP-1)含量、组胺含量、特异性 IgE 抗体水平、细胞因子水平等指标,并深入观察组织病理学切片,旨在探索茶多酚中活性较强的 EGC 和 EGCG 体内抗过敏机理,为开发新型低致敏性、抗过敏性乳制品,提高乳制品的食用安全性提供理论依据。

收稿日期: 2021-11-07

基金项目: 国家重点研发计划项目(2019YFC1605002); 国家自然科学基金项目(31872886)

第一作者: 郭红蕾,女,硕士生

通信作者: 丛艳君 E-mail: congjy@th.btbu.edu.cn

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

50只4周龄雌性BALB/C小鼠,北京维通利华公司(许可证号:SCXK(京)2006-0009)。鸡蛋清蛋白(OVA),上海源叶生物技术公司;霍乱毒素(CT),伴刀豆球蛋白(Con A),Sigma公司;HRP-羊抗鼠IgE抗体,北京拜尔迪生物技术公司;1640培养基、青霉素、链霉素和两性霉素B,迈晨公司;胎牛血清(FBS),Hyclone公司;肥大细胞蛋白酶试剂盒、组胺试剂盒、细胞因子IL-4试剂盒、细胞因子IL-5试剂盒、细胞因子IL-10试剂盒、细胞因子IFN- γ 试剂盒,武汉华美公司。

1.2 仪器与设备

SH-2磁力搅拌器,北京东方开物科学器材公司;PHS-3C型PH计,上海仪电科学仪器股份公司;低温高速离心机,SIGMA公司;KHB ST-360酶标仪,上海科华实验系统公司;BSA124S-CW电子天平,赛多利斯科学仪器(北京)公司;SHZ-C水浴恒温振荡器,上海龙跃仪器设备公司。

1.3 方法

1.3.1 EGC和EGCG干预 α_{s1} -酪蛋白致敏小鼠模型 BALB/C小鼠在SPF标准的动物房内适应性喂养一周,期间自由摄食、饮水,环境温度控制在(23 \pm 3) $^{\circ}$ C,湿度控制在40%~70%,随机分成5组:

生理盐水阴性对照组(NC组)、 α_{s1} -酪蛋白致敏组(α_{s1} -CN组)、EGC组、EGCG组和色苷酸二钠阳性对照组(PC组),每组10只。 α_{s1} -酪蛋白致敏组前5周(每隔7d)分别经口灌胃 α_{s1} -酪蛋白(2 mg/kg,佐以CT),阴性对照组给予相同体积/质量的生理盐水和CT。EGC处理组、EGCG处理组前4周(每隔7d)经口灌胃 α_{s1} -酪蛋白(2 mg/kg,佐以CT),从第5周起每天分别灌胃EGC、EGCG 1次,连续14d,灌胃剂量均为50 mg/kg,直至第42天大剂量刺激时停止。阳性对照组前五周每周注射1 mg/mL色苷酸二钠1次^[19]。第6周小鼠禁食过夜后各组小鼠进行5~10倍浓度的大剂量灌胃 α_{s1} -酪蛋白或生理盐水或注射色苷酸二钠。动物实验流程如图1所示。

实验过程中,每周观察小鼠的生长状况(包括小鼠的体貌特征、饮食以及精神状态等)。测量小鼠在刺激前、后的体温变化(计算方式为处理前小鼠体温减处理后小鼠体温)^[20]。

实验最后一天,各组动物眼部内眦静脉采血,加入含有或不含有EDTA K2的离心管中,轻轻混匀。4 $^{\circ}$ C静置过夜,次日在4 $^{\circ}$ C、5 000 r/min条件下离心10 min,分离出血清或血浆,分装存于-20 $^{\circ}$ C条件,血清用于各组动物特异性IgE抗体水平、肥大细胞蛋白酶水平和组胺释放水平测定。

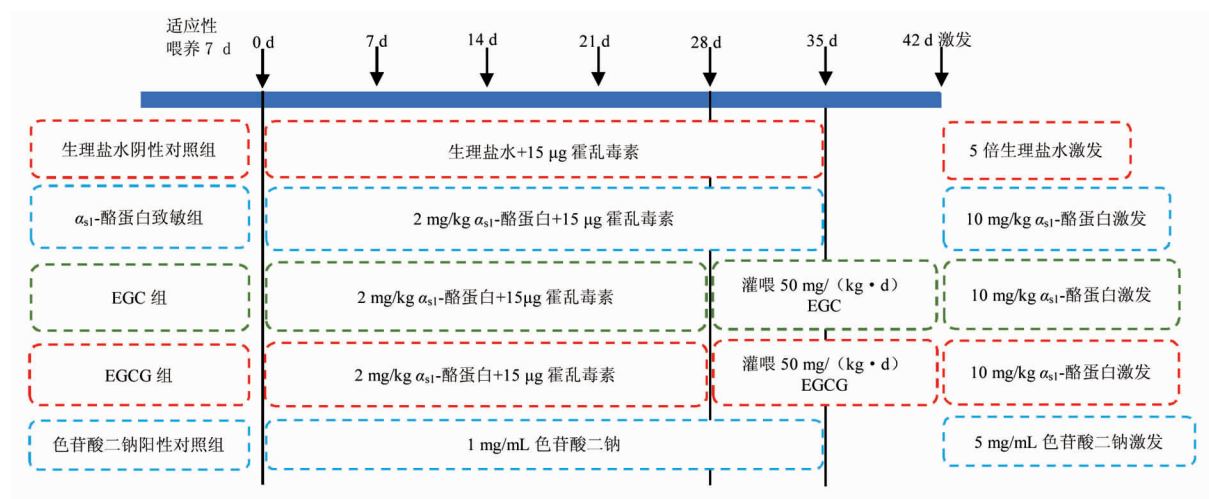


图1 EGC、EGCG营养干预 α_{s1} -酪蛋白致敏小鼠实验示意图

Fig.1 Schematic diagram of nutrition intervention α_{s1} -casein sensitized mice using EGC or EGCG

1.3.2 肥大细胞蛋白酶(MCP-1)含量的测定^[21] 使用酶联免疫吸附抑制试验(ELISA)试剂盒,按照说

明书进行操作测定。

1.3.3 组胺释放的测定^[21] 使用组胺 ELISA 试剂

盒,按照说明书进行操作测定。

1.3.4 特异性抗体 IgE 的测定

1.3.4.1 间接竞争 ELISA 溶液的配制

1) PBS PBS 为 pH=7.5 的 0.02 mol/L 磷酸盐缓冲液。

2) PBST(抗体稀释液) 向 PBS 中加入 0.1% 吐温 20。

3) 抗原稀释液 抗原稀释液为 pH=9.6 的 50 mmol/L 碳酸盐溶液。

4) 底物显色液 由 10 mL 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH=6.0)、100 μ L 四甲基联苯胺(TMB)应用液(将 60 mg TMB 溶于 10 mL 二甲基亚砷)和 15 μ L 30%过氧化氢配置而成,现用现配。

1.3.4.2 测定方法 按照间接 ELISA 方法测定并在文献[22]的基础上进行完善。

1) 抗原包被 以 α_{s1} -酪蛋白作为包被抗原,用 pH=9.6 的碳酸盐将 α_{s1} -酪蛋白稀释至 10 μ g/mL,按 100 μ L/孔加入酶标板中,4 $^{\circ}$ C 冷藏过夜。

2) 洗涤 次日倾去酶标板孔内的液体,用 250 μ L/孔含有 0.1%吐温 20 的磷酸盐缓冲溶液(PBST)恒温振荡洗板 3 次,每次 3 min,甩净洗涤液,在吸水纸上拍打数次,至孔内无明显液滴。

3) 封闭 每孔加封闭液 150 μ L 进行封闭,37 $^{\circ}$ C 恒温培育 1 h,然后用 250 μ L/孔 PBST 洗板 3 次,每次 3 min,甩净洗涤液,在吸水纸上拍打数次,至孔内无明显液滴。

4) 加一抗 用抗体稀释液以 1:1 000 稀释血清,每孔加入 100 μ L,37 $^{\circ}$ C 恒温培育 1.5 h。

5) 洗涤 用 PBST 洗板 6 次,250 μ L/孔,每次 3 min,甩净洗涤液,在吸水纸上拍打数次,至孔内无明显液滴。

6) 加酶标二抗 用抗体稀释液将 HRP-羊抗鼠 IgE 稀释 4 000 倍,以 100 μ L/孔加入孔内,加盖 37 $^{\circ}$ C 恒温培育 1.5 h。

7) 洗涤 加入 250 μ L/孔的 PBST 洗板 6 次,每次 3 min,甩净洗涤液,在吸水纸上拍打数次,至孔内无明显液滴。

8) 显色 按 100 μ L/孔剂量加 TMB 应用液,常温暗处反应 20 min,显示蓝色。

9) 终止反应 按 50 μ L/孔剂量加入 2 mol/L 的硫酸终止反应,颜色由蓝变黄。

10) 测定 在波长 490 nm 处测定吸光度值。

1.3.5 细胞因子的测定^[22] 使用 ELISA 试剂盒测上清液中的 IL-4、IL-5、IL-10 和 IFN- γ 的水平。

将各组小鼠脾脏搅碎,从脾脏提取淋巴细胞,在 4 $^{\circ}$ C、500 \times g 下离心 5 min,弃去上清后,加入 1640 完全培养基(90% 1640 不完全培养基和 10%胎牛血清)、1%三抗(含有青霉素、两性霉素 B 和链霉素)使细胞浓度达到 2×10^5 个/mL,取 100 μ l 的细胞悬液加入 96 孔细胞培养板中,同时添加或不添加 100 μ L/mL 的 α_{s1} -酪蛋白,添加 α_{s1} -酪蛋白孔作为对照。将细胞培养板在 CO₂ 细胞培养箱中连续培养 72 h 后,收集细胞上清液,测定其中细胞因子 IL-4、IL-5、IL-10、IFN- γ 的水平。

1.3.6 组织病理学观察^[23] 大剂量刺激后,颈椎脱臼处死小鼠,解剖取空肠、胸腺、脾脏和肺,在福尔马林溶液固定,石蜡包埋切片,HE 常规染色,观察各脏器是否病变。

1.3.7 数据统计分析 文中的图表均用 Excel 2013 软件绘制,数据分析用 SPSS 17.0 完成。

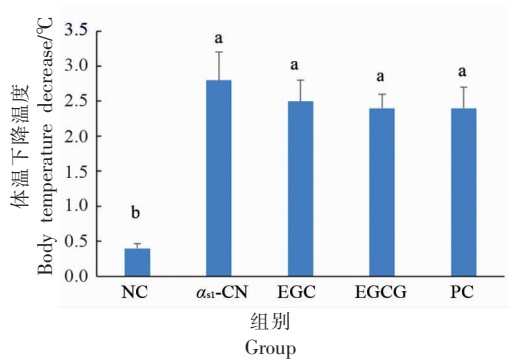
2 结果

2.1 小鼠体温变化情况

如图 2 所示,与阴性对照组相比,其它各组小鼠体温明显下降($P<0.05$)。EGC 组、EGCG 组和阳性对照组小鼠体温下降水平小于 α_{s1} -酪蛋白致敏组小鼠,这说明 EGC、EGCG 和色苷酸二钠可能在一定程度上对过敏反应产生了抑制作用,然而,4 组之间无显著性差异($P>0.05$)。

2.2 肥大细胞蛋白酶(MCP-1)含量的测定

如图 3 所示,EGC 组和 EGCG 组小鼠血浆中肥大细胞蛋白酶(MCP-1)含量较 α_{s1} -酪蛋白致敏组显著下降($P<0.05$),这说明 EGC 和 EGCG 对食物过敏小鼠肥大细胞脱颗粒的释放有抑制作用。与 α_{s1} -酪蛋白致敏组小鼠相比,EGC 组小鼠血浆中肥大细胞蛋白酶(MCP-1)水平降低了 13.64%,EGCG 组小鼠血浆中肥大细胞蛋白酶(MCP-1)降低了 24.56%。与阳性对照组相比,EGC 组血浆中 MCP-1 水平高于阳性对照组,差异显著($P<0.05$),EGCG 组血浆中 MCP-1 水平高于阳性对照组,差异不显著($P>0.05$),这说明 EGCG 对过敏小鼠肥大细胞脱颗粒的抑制作用与色苷酸二钠接近。



注:小写字母不同表示差异显著($P<0.05$),下同。

图2 各组小鼠体温变化情况

Fig.2 Changes of body temperature of mice in each group

2.3 组胺释放的测定

如图4所示,EGC组和EGCG组小鼠血浆中组胺含量较 α_{s1} -酪蛋白致敏组显著下降($P<0.05$),这说明EGC和EGCG对食物过敏小鼠组胺的释放有抑制作用。与 α_{s1} -酪蛋白致敏组小鼠相比,EGC组小鼠血浆中组胺含量降低了21.10%,EGCG组小鼠血浆中组胺含量降低了32.93%。与阳性对照组相比,EGC组血浆中组胺水平显著高于阳性对照组($P<0.05$),EGCG组血浆中组胺含量略高于阳性对照组($P>0.05$),这说明EGCG抑制过敏小鼠组胺的释放作用与色苷酸二钠接近。

2.4 特异性抗体IgE的测定

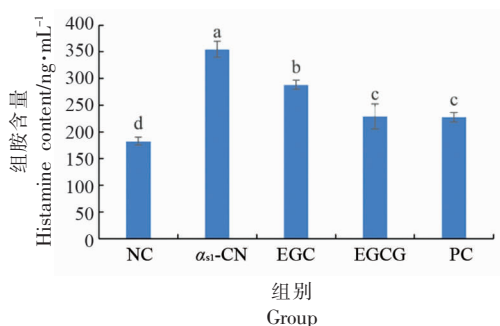


图4 各组小鼠血浆中组胺含量

Fig.4 The histamine content in the plasma of each group

2.5 细胞因子含量的测定

如图6所示,EGC组和EGCG组小鼠血清IL-4含量显著低于 α_{s1} -酪蛋白致敏组($P<0.05$),这说明EGC和EGCG对食物过敏小鼠细胞因子IL-4的释放有抑制作用,EGC组小鼠血清IL-4

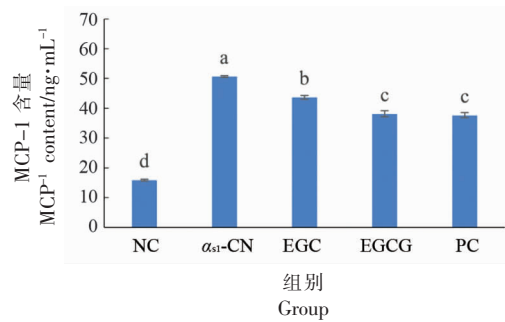


图3 各组小鼠血浆中肥大细胞蛋白酶含量

Fig.3 The contents of MCP-1 in plasma of each group

如图5所示,EGC组和EGCG组小鼠血清中特异性抗体IgE的OD值较 α_{s1} -酪蛋白致敏组显著下降($P<0.05$),这说明EGC和EGCG对食物过敏小鼠血清中特异性IgE的产生有抑制作用。与过敏 α_{s1} -酪蛋白致敏组小鼠相比,EGC组小鼠血清中特异性IgE水平降低了26.13%,EGCG组小鼠血清中特异性IgE水平降低了35.44%。与阳性对照组相比,EGC组小鼠血清中特异性IgE水平显著高于阳性对照组($P<0.05$),EGCG组小鼠血清中特异性IgE水平略高于阳性对照组($P>0.05$),这说明EGCG对过敏小鼠血清中特异性IgE水平的降低作用与色苷酸二钠接近。

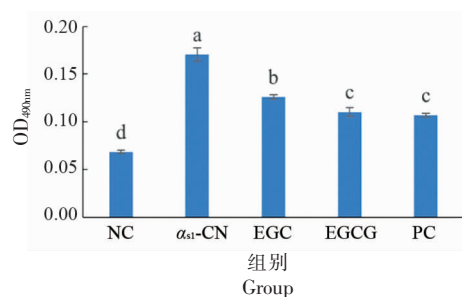


图5 各组小鼠血清中特异性抗体IgE水平

Fig.5 Specific IgE levels in sera of each group

含量降低了14.98%,EGCG组小鼠血清IL-4含量降低了29.63%,阳性对照组小鼠血清IL-4含量降低了29.98%。与阳性对照组相比,EGC组小鼠血清IL-4含量高于显著阳性对照组($P<0.05$),EGCG组小鼠血清IL-4含量略高于阳性对照组

($P>0.05$),这说明 EGCG 对过敏小鼠细胞因子 IL-4 释放的抑制效果与色苷酸二钠接近。

如图 7 所示,EGC 组和 EGCG 组小鼠血清 IL-10 含量显著低于过敏 α_{s1} -酪蛋白致敏组 ($P<0.05$),这说明 EGC 和 EGCG 对食物过敏小鼠细胞因子 IL-10 的释放有抑制作用,EGC 组小鼠血清 IL-10 含量降低了 28.30%,EGCG 组小鼠血清

IL-10 含量降低了 21.49%,阳性对照组小鼠血清 IL-10 含量降低了 18.31%。与阳性对照组相比,EGC 组小鼠血清 IL-10 含量显著低于阳性对照组 ($P<0.05$),EGCG 组小鼠血清 IL-10 含量低于阳性对照组 ($P>0.05$),这说明 EGC 和 EGCG 对过敏小鼠细胞因子 IL-10 释放的抑制效果略高于色苷酸二钠。

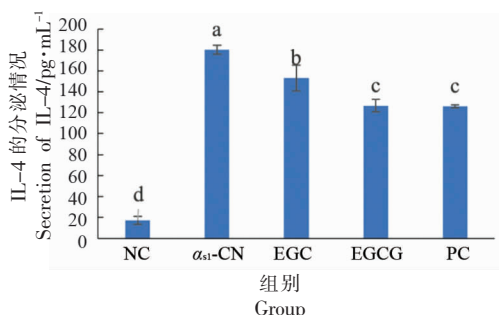


图 6 各组小鼠血清细胞因子 IL-4 的分泌情况

Fig.6 Secretions of cytokine IL-4 in sera of each group

如图 8 所示,EGC 组、EGCG 组和阳性对照组小鼠血清 IL-5 含量低于 α_{s1} -酪蛋白致敏组 ($P>0.05$),EGC 组和 EGCG 组小鼠血清 IL-5 含量略高于阳性对照组,差异不显著 ($P>0.05$)。

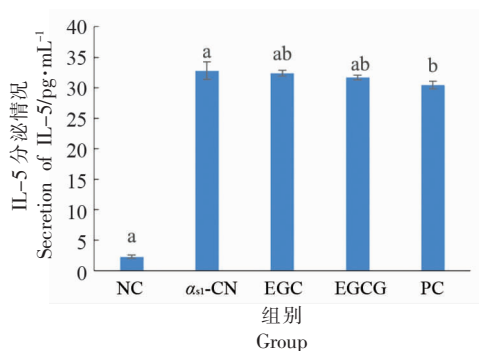


图 8 各组小鼠血清中细胞因子 IL-5 分泌情况

Fig.8 Secretions of cytokine IL-5 in sera of each group

2.6 组织病理学观察

组织病理学观察中,可以看出阴性对照组的小鼠各脏器均呈现正常形态(图 10-1a、1b、1c、1d),而 EGC 和 EGCG 组及 α_{s1} -酪蛋白致敏组的小鼠的肺、脾脏、胸腺和小肠均呈现不同程度的炎症变化。

比较各组小鼠组织病理学切片可以看出,

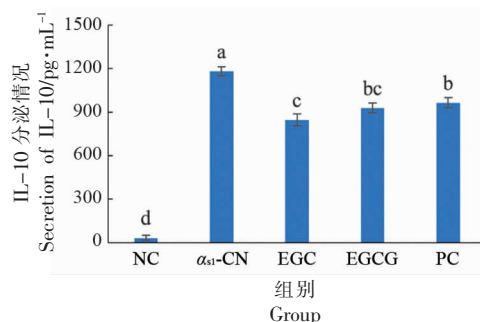


图 7 各组小鼠血清中细胞因子 IL-10 分泌情况

Fig.7 Secretions of cytokine IL-10 in sera of each group

如图 9 所示,与 α_{s1} -酪蛋白致敏组相比,EGC 组、EGCG 组和阳性对照组 IFN- γ 含量虽有所上升,但差异不显著 ($P>0.05$),EGC 组和 EGCG 组 IFN- γ 含量较阳性对照组差异不显著 ($P>0.05$)。

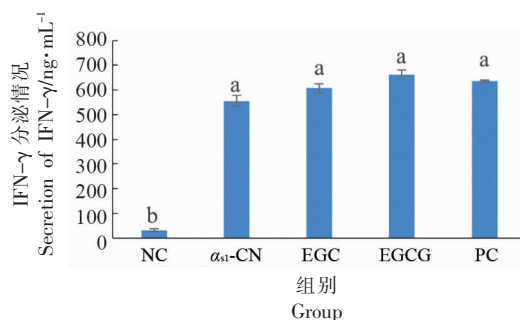


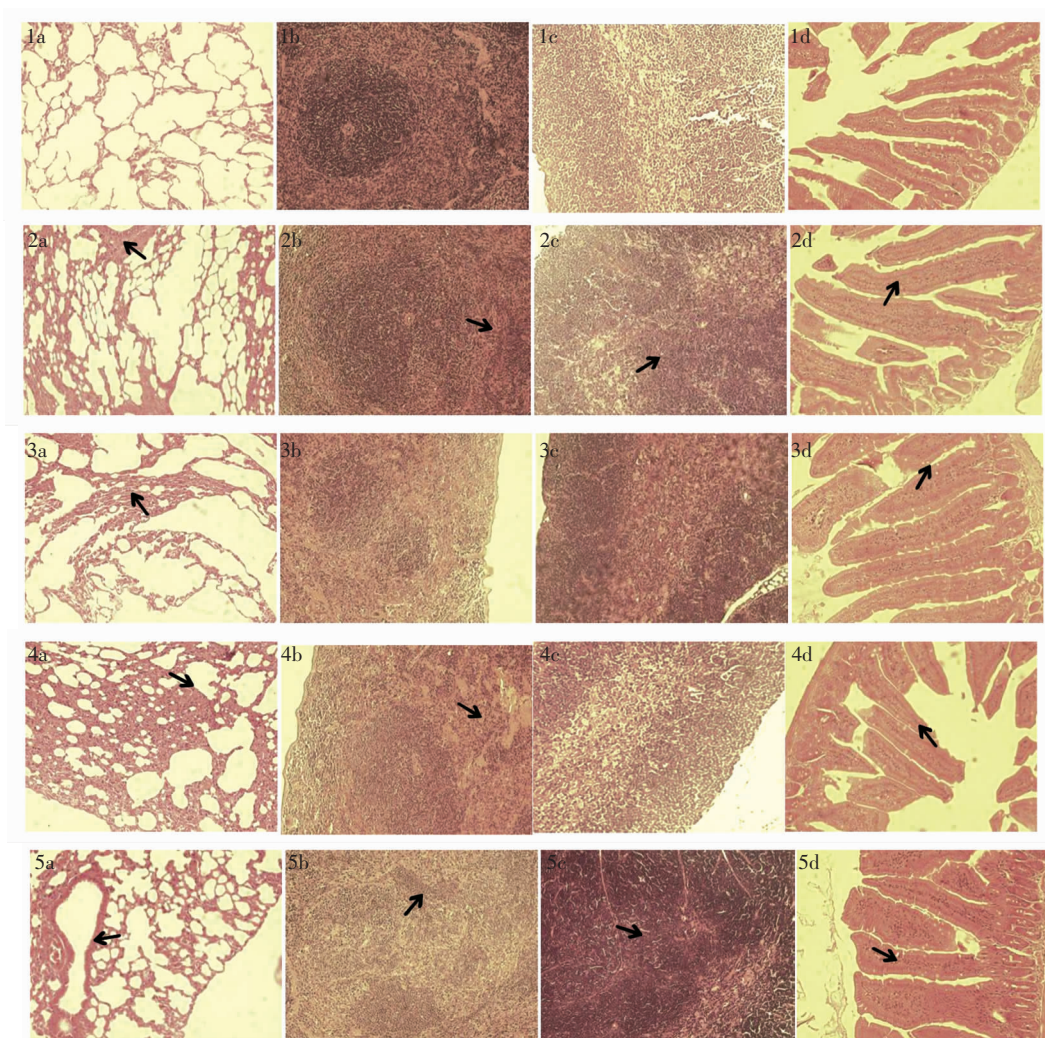
图 9 各治疗组小鼠血清中细胞因子 IFN- γ 分泌情况

Fig.9 Secretions of cytokine IFN- γ in sera of each group

EGC、EGCG、阳性对照组和 α_{s1} -酪蛋白致敏组小鼠都产生了局部肺泡隔塌陷,肺泡代偿性扩张,而 EGC、EGCG 组和阳性对照组小鼠肺泡病变程度低于 α_{s1} -酪蛋白致敏组(图 10-2a、3a、4a、5a);EGC 组和 α_{s1} -酪蛋白致敏组小鼠脾脏边缘窦有淋巴灶产生,而 EGCG 组脾脏几乎没有淋巴灶产生(图 10-2b、3b、4b、5b);EGC 组和 α_{s1} -酪蛋白致敏组小

鼠胸腺髓质内有淋巴灶产生,而EGCG组和阳性对照组小鼠胸腺髓质内几乎没有淋巴灶产生(图10-2c、3c、4c、5c);EGC、EGCG、阳性对照组和 α_{s1} -酪蛋白致敏组小鼠小肠黏膜间质均有炎细胞浸

润,而EGC、EGCG、阳性对照组小鼠小肠黏膜间质炎细胞量低于 α_{s1} -酪蛋白致敏组(图10-2d、3d、4d、5d)。



注:肺、胸腺、小肠倍率为20 \times ,脾倍率为40 \times ;1. NC组;2. EGC组;3. EGCG组;4. PC组;5. α_{s1} -CN组;a. 肺;b. 脾脏;c. 胸腺;d. 小肠。

图10 各组小鼠肺、脾脏、胸腺和小肠等组织的病理切片

Fig.10 Pathological sections of the lungs, spleen, thymus and small intestine of mice in each group

3 讨论

食物致敏是一个层层关联的过敏级联反应,当过敏原进入体内后,会被抗原呈递细胞内化,并加工成肽,然后呈递给T细胞,T细胞能够调节几种免疫细胞的反应,包括B细胞和T辅助淋巴细胞(Th1、Th2)。Th2型细胞分泌IL-4、IL-5、IL-10等细胞因子,间接促进免疫反应发生;而Th1型细胞主要分泌IFN- γ ,对Th2型过敏反应起抑制作

用,二者之间互相制约,两亚群之间的平衡是机体免疫调节的基本方式^[24]。当两亚群Th1型和Th2型细胞间平衡被破坏时,Th1型细胞会向Th2型细胞类型转换,导致特异性IgE抗体的水平会升高,促进过敏反应的发生。特定白介素的分泌使B细胞成熟,形成浆细胞,产生IgE,随后IgE与肥大细胞或嗜碱性粒细胞表面上存在的特定Fc γ 受体结合。第2次暴露后,过敏原与IgE发生交联,引

发多种介质释放,在生理环境中促进过敏症状的发作^[25]。

从过敏级联反应中可以推断出可能的干预点,而本文结果表明,EGC 和 EGCG 对激发阶段的致敏过程有明显的干预作用:在灌胃 EGC 和 EGCG 后,小鼠血清中的组胺水平、肥大细胞蛋白酶(MCP-1)水平和特异性 IgE 抗体水平显著低于 α_{s1} -酪蛋白致敏组小鼠,Th2 型细胞因子降低,Th1 型细胞因子有所上升,促使 Th2 与 Th1 型细胞因子之间趋于平衡,降低了过敏反应的发生。Lee 等^[26]通过研究加工后的芦荟凝胶对卵清蛋白过敏小鼠的作用,发现芦荟凝胶降低了小鼠血清中 Th2 型细胞因子和 IgE 水平,对食物过敏的发生有一定抑制作用。通过与之对比发现,过敏小鼠血清中特异性 IgE 抗体和 Th2 型细胞因子水平降低可以抑制小鼠的过敏反应。然而,细胞因子 IFN- γ 的作用仍在争论中,Morafo 等^[27]提出,IFN- γ 的产生可以起保护作用,抵制过敏反应的诱导。Perrier 等^[28]的研究表明,尽管在过敏原刺激后从脾脏和肠系膜淋巴结分离的细胞产生了高水平的 IFN- γ ,但 IFN- γ 并不能抑制 α_{s1} -酪蛋白过敏动物中强烈的过敏反应。Wróblewska 等^[29]的研究似乎证实了这种细胞因子可以抑制过敏。综上,本实验 EGC 和 EGCG 组中 IFN- γ 含量的上升是否参与激发阶段过敏干预机制还有待进一步研究。

在食物过敏中,由于过敏原特异性 T 细胞会从脾脏迁移到肠系膜淋巴结,致使机体产生胃肠道炎症,因此本文观察了各组小鼠小肠、肺、脾脏、胸腺等器官的组织病理学,发现 EGC 和 EGCG 组小鼠的各器官较 α_{s1} -酪蛋白致敏组小鼠病变程度多有降低。此外,Magrone 等^[30]通过研究认为多酚具有的抗炎-抗过敏作用的共同特征主要表现为 T 调节/T 辅助 17 细胞枢纽的恢复,并产生了抗炎细胞因子白细胞介素 10,这进一步佐证了多酚对过敏反应具有一定的预防和治疗作用。

本文利用牛乳中的主要过敏原 α_{s1} -酪蛋白致敏模型评价多酚抗食物过敏活性。进入体内的过敏蛋白与肥大细胞、嗜碱性粒细胞表面的过敏原特异性 IgE 结合使效应细胞释放组胺、肥大细胞蛋白酶等过敏介质,导致小鼠产生抓耳挠腮、呼吸急促、体温下降、抽搐甚至休克死亡等过敏反应症

状。动物实验发现 EGC 和 EGCG 组的小鼠过敏反应症状得到明显的缓解,小鼠毛发竖立、呼吸急促反应数量下降,体温降低的症状也有所减轻。通过小鼠体内实验证明了 EGC 和 EGCG 对于 α_{s1} -酪蛋白致敏小鼠过敏反应有一定的缓解作用,而 EGC 和 EGCG 对 α_{s1} -酪蛋白致敏小鼠是否有预防作用还需进一步验证。

4 结论

茶多酚 EGC 和 EGCG 均可显著降低过敏小鼠的肥大细胞蛋白酶、组胺、特异性 IgE 抗体和 Th2 型细胞因子水平。同时,组织病理学结果显示,EGC 和 EGCG 显著降低肠、胸腺、脾脏和肺的病变程度。本研究结论可以为茶多酚调控过敏原致敏反应发生的路径提供理论依据,未来可以从信号转导和基因表达水平进一步探讨抗过敏机制。

参 考 文 献

- [1] BERTI I, BADINA L, COZZI G, et al. Early oral immunotherapy in infants with cow's milk protein allergy[J]. *Pediatric Allergy and Immunology*, 2019: 572-574.
- [2] GAUDIN J C, RABESONA H, CHOISSET Y, et al. Assessment of the immunoglobulin E-mediated immune response to milkspecific proteins in allergic patients using microarrays[J]. *Clinical & Experimental Allergy*, 2008, 38(4): 686-693.
- [3] ZHOU J R, QI Q Q, WANG C, et al. Surface plasmon resonance (SPR) biosensors for food allergen detection in food matrices [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2019, 142: 111449.
- [4] SANO J, INAMI S, SEIMIYA K, et al. Effects of green tea intake on the development of coronary artery disease[J]. *Circulation Journal*, 2004, 68(7): 665-670.
- [5] ZHANG M, HOLMAN C D, HUANG J P, et al. Green tea and the prevention of breast cancer: A case-control study in southeast[J]. *China Carcinogenesis*, 2007, 28(5): 1074-1078.
- [6] YILMAZ C, ÖZDEMİR F, GÖKMEN V. Investigation of free amino acids, bioactive and neuroactive

- compounds in different types of tea and effect of black tea processing[J]. *LWT*, 2020, 117: 108655.
- [7] CARRAGETA D F, DIAS T R, ALVES M G, et al. Anti-obesity potential of natural methylxanthines [J]. *Journal of Functional Foods*, 2018, 43: 84-94.
- [8] SAARINEN K M, PELKONEN A S, MAKELA M J, et al. Clinical course and prognosis of cow's milk allergy are dependent on milk-specific IgE status[J]. Elsevier Masson, 2005, 116(4): 869-875.
- [9] LE Q T, LI Y, QIAN Z J, et al. Inhibitory effects of polyphenols isolated from marine alga *Ecklonia cava* on histamine release[J]. *Process Biochemistry*, 2009, 44(2): 168-176.
- [10] HE W Y, ZHANG T T, VELICKOVIC, et al. Covalent conjugation with (-)-epigallo-catechin 3-gallate and chlorogenic acid changes allergenicity and functional properties of Ara h1 from peanut[J]. *Food Chemistry*, 2020, 331: 127355.
- [11] YANG C C, HUANG Y L, LI H J, et al. Quercetin inhibits histamine-induced calcium influx in human keratinocyte via histamine H4 receptors[J]. *International Immunopharmacology*, 2021, 96 (1): 107620.
- [12] HYHO K K, HAUFE T C, FERRUZZI M G, et al. Production and polyphenolic composition of tea[J]. *Nutrition Today*, 2018, 53(6): 268-278.
- [13] MUNIANDY P, SHIRI A B, BABA A S. Influence of green, white and black tea addition on the antioxidant activity of probiotic yogurt during refrigerated storage[J]. *Food Packaging & Shelf Life*, 2016, 8: 1-8.
- [14] RAY K S, SINGHANIA P R. Effect of green tea consumption on selected metabolic biomarkers in Asian Indian women with metabolic syndrome [J]. *Food & Nutrition Sciences*, 2013, 5(22): 1021-1027.
- [15] EROLI H E. The cytogenetic effects of black tea and green tea on cultured human lymphocytes [J]. *Brazilian Archives of Biology & Technology*, 2011, 54(6): 1159-1166.
- [16] YAN Z M, ZHONG Y Z, DUAN Y H, et al. Antioxidant mechanism of tea polyphenols and its impact on health benefits[J]. *Animal Nutrition*, 2020, 6(2): 115-123.
- [17] TANTOUSH Z, APOSTOLOVIC D, KRAVIC B, et al. Green tea catechins of food supplements facilitate pepsin digestion of major food allergens, but hampers their digestion if oxidized by phenol oxidase[J]. *Journal of Functional Foods*, 2012, 4(3): 650-660.
- [18] OHMORI Y, ITO M, KISHI M, et al. Antiallergic constituents from oolong tea stem [J]. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 2015, 18(5): 683-686.
- [19] TACHIBANA H, FUJIMURA Y, YAMADA K. Tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate associates with plasma membrane lipid rafts: Lipid rafts mediate anti-allergic action of the catechin [J]. *Biofactors*, 2004, 21(1-4): 383-385.
- [20] LI X M, SCHOFIELD B H, HUANG C K, et al. Amurine model of IgE-mediated cow's milk hypersensitivity[J]. *Journal of Allergy & Clinical Immunology*, 1999, 103(2): 206-214.
- [21] GILL H S, SHU Q, LIN H, et al. Protection against translocating, *Salmonella typhimurium*, infection in mice by feeding the immuno-enhancing probiotic, *Lactobacillus rhamnosus*, strain HN001 [J]. *Medical Microbiology and Immunology*, 2001, 190 (3): 97-104.
- [22] SICHERER S H. Food allergy[J]. *Mount Sinai Journal of Medicine New York*, 2011, 78(5): 683.
- [23] KRINGELUM J V, LUNDEGAARD C, LUND O, et al. Reliable B cell epitope predictions: Impacts of method development and improved benchmarking [J]. *PLoS Computational Biology*, 2012, 8 (12): e1002829.
- [24] ALLEN J E, MAIZEL R M. Th1-Th2: Reliable paradigm or dangerous dogma? [J]. *Immunol Today*, 1997, 18(8): 387-392.
- [25] ZUERCHER A W, FRITSCHÉ R, CORTHÉSY B, et al. Food products and allergy development, prevention and treatment[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2006, 17(2): 198-203.
- [26] LEE D, KIM H S, SHIN E, et al. Polysaccharide isolated from *Aloe vera* gel suppresses ovalbumin-induced food allergy through inhibition of Th2 immunity in mice [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2018, 101: 201-210.
- [27] MORAFO V, SRIVASTAVA K, HUANG C K, et al. Genetic susceptibility to food allergy is linked to differential Th2-Th1 responses in C3H/HeJ and BALB/C mice[J]. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2003, 111(5): 1122-1128.
- [28] PERRIER C, THIERRY A C, MERCENIER A, et al. Allergen-specific antibody and cytokine respons-

- es, mast cell reactivity and intestinal permeability upon oral challenge of sensitized and tolerized mice [J]. *Clinical and Experimental Allergy*, 2009, 40: 153–162.
- [29] WRÓBLEWSKA B, KALISZEWSKA –SUCHODÓLA A, MARKIEWICZ L H, et al. Whey prefermented with beneficial microbes modulates immune response and lowers responsiveness to milk allergens in mouse model[J]. *Journal of Functional Foods*, 2019, 54: 41–52.
- [30] MAGRONE T, JIRILLO E. Chapter 21 – Effects of polyphenols on inflammatory–allergic conditions: Experimental and clinical evidences [M]// WATSON R R, PREEDY V R, ZIBADI S. *Polyphenols: Prevention and Treatment of Human Disease* (Second Edition). America Pittsburgh: Academic Press, 2018: 253–261.

EGC and EGCG Reducing the Allergic Reaction of Mice Sensitized with α_{s1} -Casein

Guo Honglei¹, Yu Xiaofeng¹, Zhang Qianqian¹, Cong Yanjun^{1*}, Li Linfeng²

(¹Beijing Food Additive Engineering Technology Research Center, Beijing Advanced Innovation Center for Food Nutrition and Human Health, College of Food and Health, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048

²Department of Dermatology, Beijing Friendship Hospital, Beijing 100050)

Abstract In order to study the anti- α_{s1} -casein allergy mechanism of EGC and EGCG, BALB/C mice were first sensitized with α_{s1} -casein, and nutritional intervention was given by EGC and EGCG during the challenge stage. The contents of mast cell protease, histamine, specific antibody IgE, cytokine secretion and histopathological observation were used as the main evaluation indexes. The results showed that both EGC and EGCG significantly reduced the levels of mast cell protease, histamine, specific IgE antibodies and Th2 cytokines in allergic mice. Meantime, the results about histopathology showed that EGC and EGCG significantly reduced the degree of the lesions in the intestine, thymus, spleen and lung. The conclusions can provide theoretical basis for the pathway of tea polyphenols to regulate cow milk allergen, and further studies need to be done to explore the mechanism of anti-allergy in terms of signal transduction and gene expression level.

Keywords α_{s1} -casein; epigallocatechin; epigallocatechin gallate; anti-allergy