

早期接触过敏原对大鼠哮喘模型的影响

骆文玲^{1,3}, 李海潮^{1Δ}, 郝洪军², 宿利¹

(北京大学第一医院 1. 呼吸内科, 2. 神经免疫室, 北京 100034; 3. 清华大学第一附属医院呼吸内科)

[摘要] **目的:**了解早期接触卵蛋白(ovalbumin, OVA)对大鼠哮喘模型的影响。**方法:**将新生SD大鼠随机分为阴性对照组、哮喘模型组、小剂量组和大剂量组,每组8只,其中小剂量组和大剂量组大鼠于生后当天分别一次性注射2 g/L OVA 0.1 mL和10 g/L OVA 0.1 mL。6周后,哮喘模型组、小剂量组和大剂量组经OVA致敏并制作哮喘模型。分别观察各组大鼠肺组织病理、支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)中细胞计数和分类、外周血白细胞介素-4(interleukin-4, IL-4)、 γ -干扰素(interferon- γ , IFN- γ)、OVA-IgE和OVA-IgG水平。**结果:**小剂量组和大剂量组肺组织病理显示气道炎症较哮喘组明显减轻,BALF中细胞总数、中性粒细胞和嗜酸性粒细胞比例较哮喘组显著下降,两组大鼠血IL-4和OVA-IgE较哮喘模型组显著下降,IFN- γ 水平则较哮喘模型组显著增加。大剂量组与对照组比较,IL-4和IFN- γ 及OVA-IgE差异无统计学意义。哮喘模型组、小剂量组和大剂量组大鼠血OVA-IgG较对照组显著增加,且大剂量组较哮喘组显著增加。**结论:**出生后早期接触OVA可抑制大鼠成年后OVA所诱发的气道炎症改变和特异性IgE增加,其机制可能与诱导免疫耐受形成有关。

[关键词] 哮喘;大鼠;卵蛋白

[中图分类号] R562 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-167X(2006)02-0159-05

Effect of early exposure to allergen on rat asthmatic model

LUO Wen-ling^{1,3}, LI Hai-chao^{1Δ}, HAO Hong-jun², SU Li¹

(1. Department of Respiratory Medicine, 2. Institute of Neuroimmunology, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China; 3. Department of Respiratory Medicine, Qinghua University First Hospital)

ABSTRACT **Objective:** To investigate the effect of early exposure to allergen(ovalbumin, OVA) on rat asthmatic models. **Methods:** Neonate rats were randomly divided into negative control group, asthmatic model group, low dose group and high dose group, with 8 in each. The rats of low dose group and high dose group were injected subcutaneously with 2 g/L OVA 0.1 mL and 10 g/L OVA 0.1 mL separately on the 1st day. OVA was given in asthmatic model group, low dose group and high dose group for allerginizing 6 weeks later and then asthmatic models were made. The pathologic changes of lung tissue, cell count and differentiation of bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and serum interleukin-4 (IL-4), interferon- γ (IFN- γ), OVA-specific IgE and OVA-specific IgG were observed. **Results:** The airway inflammation in both low dose group and high dose group was less severe than that in asthmatic model group. Total cell count of BALF and the ratio of eosinophil and neutrophil of both groups were decreased significantly compared with asthmatic model group. IL-4 and OVA-specific IgE were markedly decreased, while IFN- γ was significantly increased in both low dose group and high dose group compared with asthmatic model group respectively. There was no significant difference in IL-4, IFN- γ and OVA-specific IgE between high dose group and control group. The serum OVA-specific IgG was elevated significantly in asthmatic model group, low dose group and high dose group compared with control group, and it was higher in high dose group than in asthmatic model group. **Conclusion:** Early exposure to OVA after birth could inhibit the airway inflammation and OVA-specific IgE increasing induced by OVA in grown-up rats, and the mechanisms might be related to formation of immunology tolerance.

KEY WORDS Asthma; Rats; Ovalbumin

支气管哮喘是多种细胞参与的慢性气道炎症。多数支气管哮喘患者有特异质。目前常用的治疗哮喘的方案为激素联合支气管舒张剂。该方案可以较为理想地控制哮喘,但不能治愈哮喘。特异性免疫治疗(specific immunotherapy, SIT)通过诱导机体对

特定变应原的无反应状态来达到治疗目的,可能使患者获得较长时间的临床缓解。但是部分患者疗效不肯定^[1],其原因可能为成年患者不易诱导免疫耐受和维持免疫耐受状态,因此有必要探索新的免疫治疗方案。大鼠过敏反应由IgE介导,有速发和迟

ΔCorresponding author's e-mail, lhch91767@sina.com

发双相反应,气道高反应性持续时间长,是较为理想的哮喘动物模型^[2]。我们给出生 24 h 内的幼鼠注射单剂鸡卵清白蛋白 (ovalbumin, OVA),试图对大鼠哮喘模型的发病进行干预,并探索其相关机制,为哮喘的防治提供新的思路 and 理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物及分组 健康 SD 孕鼠 4 只,由北京大学第一附属医院动物实验中心提供。取所产乳鼠 32 只,按随机数字表法分为 4 组:即对照组、哮喘模型组、小剂量组、大剂量组,每组 8 只。于出生第一天分别皮下注射磷酸盐缓冲液 (phosphosaline, PBS) 0.1 mL, PBS 0.1 mL, 2 g/LOVA 0.1 mL, 10 g/L OVA 0.1 mL, 后两组溶液中每 0.1 mL 含氢氧化铝凝胶 20 mg。

1.1.2 试剂 OVA (V 级, Sigma 公司), 氢氧化铝凝胶 [AL(OH)₃, Sigma 公司], 百日咳杆菌菌苗 (北京生物制品研究所), IL-4 ELISA 试剂盒和 IFN- γ ELISA 试剂盒 (北京晶美生物工程有限公司), 辣根过氧化物酶标记山羊抗大鼠 IgG 和辣根酶标记链亲和素 (北京中杉金桥生物技术有限公司), 生物素化的小鼠抗大鼠 IgE 单克隆抗体 (BD Pharmingen 公司)。

1.2 方法

1.2.1 模型制备^[3] 大鼠饲养至 1 个半月时 (体重约 150 g), 分别对小剂量组、大剂量组和哮喘组皮下注射 OVA 10 mg + AL(OH)₃ 200 mg + PBS 1 mL, 同时腹腔注射 5×10^9 个/mL 百日咳杆菌菌苗 1 mL 进行致敏。2 周后将大鼠置于不完全封闭容器中 (30 cm $\times$ 40 cm $\times$ 50 cm), 用 20 g/L OVA 雾化吸入激发, 20 min/次, 连续 7 d。对照组以 PBS 代替 OVA 致敏和诱发。最后一次激发后 24 h 内采集标本。

1.2.2 标本采集 用 50 g/L 戊巴比妥 50 mg/kg 腹腔注射麻醉动物, 腹主动脉取血 3 mL, 静置 2 h 后 4 000 r/min 离心 10 min, 分离血清, -70 $^{\circ}$ C 冻存备用。用生理盐水经右心灌流。暴露气管, 气管插管, 结扎右肺叶, 行左肺支气管肺泡灌洗, 每次 3 mL, 生理盐水灌洗重复进行 3 次, 回收率约 80%, 对支气管肺泡灌洗液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 进行细胞计数及分类 (计数 200 个)。取右肺下叶 (未经灌洗) 行 40 g/L 多聚甲醛固定, 进行病理组织切片, 苏木精-伊红 (HE) 染色, 观察支气管肺组织病理改变。

1.2.3 血清白细胞介素-4 (interleukin-4, IL-4) 和 γ -

干扰素 (interferon- γ , IFN- γ) 的测定 采用酶联免疫吸附法 (Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)。IL-4 的检测按试剂盒说明进行, 在抗 IL-4 单克隆抗体包被的酶标板上, 分别加入标本及不同浓度的标准品, 每孔 100 μ L, 37 $^{\circ}$ C 孵育 90 min, 洗板 4 次; 加入生物素化的抗大鼠 IL-4 抗体, 每孔 100 μ L, 37 $^{\circ}$ C 孵育 60 min, 洗板 4 次; 加入辣根过氧化物酶标记的亲合素, 每孔 100 μ L, 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min, 洗板 4 次; 加显色剂避光 30 min, 加终止液, 混匀, 5 min 内用酶标仪测光密度值, 绘制标准曲线, 计算浓度。IFN- γ 的检测按试剂盒说明进行, 同上。

1.2.4 血清 OVA-IgE 和 OVA-IgG 水平的测定

采用 ELISA 法, 按参考文献[4]方法略有改动。(1) 大鼠 OVA-IgG 测定: 用 0.05 mol/L 包被液 (pH 9.6) 稀释 OVA 至 200 mg/L, 包被 96 孔酶标板, 每孔 100 μ L, 置于 4 $^{\circ}$ C 湿盒内 48 h。加 100 g/L 小牛血清 (pH 7.4), 每孔 200 μ L, 4 $^{\circ}$ C 过夜。应用含 0.05% (体积分数) 的吐温 (Tween) 20 的 PBS (PBST, pH 7.4) 洗板 4 次; 加入待测 1:10 (体积比) 稀释的血清, 每孔 100 μ L, 37 $^{\circ}$ C 孵育 120 min, 洗板 4 次; 加入辣根过氧化物酶标记山羊抗大鼠 IgG, 1:80 000 (体积比) 稀释, 每孔 100 μ L, 37 $^{\circ}$ C 孵育 120 min, 洗板 4 次; 加入邻苯二胺底物显色液, 每孔 100 μ L, 避光显色 20 min, 4 mol/L H₂SO₄ 终止反应。全自动酶标仪在 490 nm 波长下测定光密度值。(2) OVA-IgE 测定: 用 0.05 mol/L 包被液 (pH 9.6) 稀释 OVA 至 100 mg/L, 包被 96 孔酶标板, 每孔 100 μ L, 置 4 $^{\circ}$ C 湿盒过夜。0.05% (体积分数) 的 PBST 洗板 4 次; 加入 20 g/L 小牛血清 (pH 7.4) 每孔 200 μ L, 37 $^{\circ}$ C 孵育 60 min, 洗板 4 次; 加入待测 1:5 (体积比) 稀释的血清, 每孔 100 μ L, 37 $^{\circ}$ C 孵育 120 min, 洗板 4 次; 加入生物素化小鼠抗大鼠 IgE, 1:500 (体积比) 稀释, 每孔 100 μ L, 37 $^{\circ}$ C 孵育 120 min, 洗板 4 次; 加入辣根酶标记链亲和素, 1:4 000 (体积比) 稀释, 每孔 100 μ L, 37 $^{\circ}$ C 孵育 40 min, 洗板 4 次; 加入邻苯二胺底物显色液, 每孔 100 μ L, 37 $^{\circ}$ C 孵育 15 min; 加入终止液, 每孔 50 μ L, 终止反应。全自动酶标仪在 490 nm 波长下测定光密度值。

1.3 统计学分析

计量资料用 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 SPSS 10.0 软件对数据进行处理, 各组间比较采用单因素方差分析 (One-Way ANOVA), 组间两两比较方差齐时采用方差分析 (最小显著法, LSD), 如方差不齐, 则采用近似方差分析 (Tamhane's T2), $P < 0.05$ 被认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同组大鼠的行为学改变

哮喘组在雾化吸入 OVA 后约 5 min 开始出现较明显的抓鼻,进而不同程度出现呼吸增快,腹肌抽搐,四肢瘫软,行动迟滞,安静少动,反应迟钝,前肢缩抬,有的出现张口呼吸,并逐渐俯伏在一起,取出动物后可见遗留较多排泄物。对照组未出现上述表现,偶见抓鼻,并自始至终保持常态。小剂量组和大剂量组表现介于对照组和哮喘组之间,大剂量组更接近于对照组。

2.2 各组大鼠 BALF 中白细胞总数及分类

(1)哮喘组与各组比较,细胞总数、嗜酸细胞及中性粒细胞明显增加,差异有统计学意义;淋巴细胞增加,与对照组及大剂量组比较差异有统计学意义,与小剂量组比较差异无统计学意义。(2)小剂量组与对照组比较细胞总数、中性粒细胞及淋巴细胞均有增加,差异有统计学意义。(3)大剂量组与对照

组比较仅中性粒细胞有所增加,细胞总数及淋巴细胞比较差异无统计学意义(表 1)。

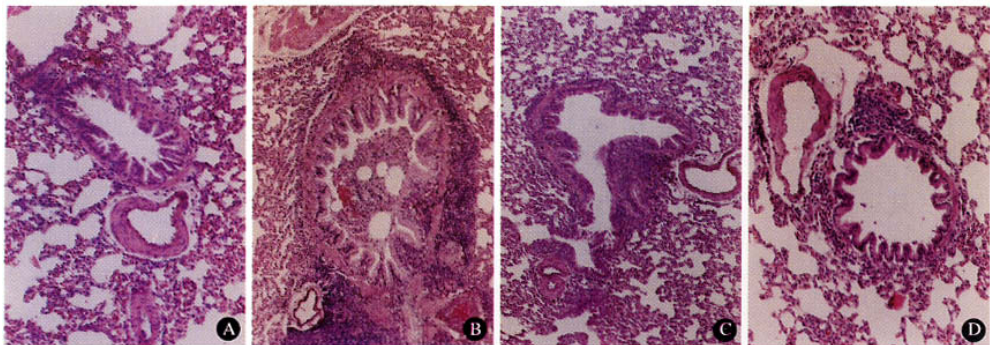
2.3 各组大鼠肺组织病理学改变

肺组织 HE 染色可见,对照组细小支气管和肺泡结构正常,支气管黏膜上皮完整,支气管腔和肺泡腔未见炎性渗出,细小支气管和血管周围可见少量炎性细胞浸润(图 1A)。哮喘组大鼠可见弥漫性细小支气管和血管周围炎性细胞浸润,其中嗜酸细胞显著增多。气道上皮有不同程度脱落,支气管黏膜上皮杯状细胞增生,管腔内可见黏液栓及炎性渗出,支气管平滑肌显著增厚,血管周围水肿(图 1B)。与哮喘组比较,小剂量组细小支气管和血管周围可见中度炎性细胞浸润,并可见散在或灶状分布的嗜酸细胞。支气管平滑肌略增厚(图 1C)。而大剂量组细小支气管和血管周围炎症明显减轻,仅外膜局灶性慢性炎症细胞浸润,支气管壁完整,平滑肌无增厚(图 1D)。

表 1 支气管肺泡灌洗液中有核细胞总数和分类($n=8,\bar{x}\pm s$)
Table 1 The total number and differentiation of neucleated cells in bronchoalveolar lavage fluid($n=8,\bar{x}\pm s$)

Group	Total number ($\times 10^7/L$)	Macrophage (%)	Neutrophil (%)	Lymphocyte (%)	Eosinophil (%)
Control	10.25 $\pm$ 2.66 [*]	95.50 $\pm$ 1.20 [*]	0 [*]	4.50 $\pm$ 1.20 ^{Δ}	0 [*]
Asthma	27.03 $\pm$ 7.06 [#]	44.81 $\pm$ 13.21 [#]	39.63 $\pm$ 9.33 [#]	15.75 $\pm$ 12.35 [*]	1.94 $\pm$ 1.08 [#]
Low dose	14.56 $\pm$ 2.88 ^{**}	70.38 $\pm$ 6.89 [#]	15.34 $\pm$ 6.80 ^{**}	12.31 $\pm$ 3.56 [*]	0 [*]
High dose	10.12 $\pm$ 2.87 [*]	82.50 $\pm$ 7.62 ^{**}	7.53 $\pm$ 5.53 ^{**}	8.73 $\pm$ 5.74 ^{Δ}	0 [*]

* $P<0.05$, # $P<0.01$, compared with control; Δ $P<0.05$, $\star$ $P<0.01$, compared with asthma group.



A, control($\times 100$); B, asthma($\times 100$); C, low dose($\times 100$); D, high dose($\times 200$)

图 1 各组肺组织光镜照片(HE 染色)

Figure 1 Histological observation of different groups of lung tissue(HE stain)

2.4 各组大鼠血清 IFN- γ 和 IL-4 改变

与对照组比较,哮喘组大鼠外周血清辅助性 T 淋巴细胞 2(Th2)细胞因子 IL-4 升高,差异有统计学意义;辅助性 T 淋巴细胞 1(Th1)细胞因子 IFN- γ

下降,差异有统计学意义。与哮喘组比较,小剂量组和大剂量组血清 IL-4 下降、IFN- γ 增加,大剂量组更为显著(表 2)。

表 2 各组大鼠血清 IL-4 和 IFN- γ 的比较 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of serum IL-4 and IFN- γ in different rat groups ($n=8, \bar{x} \pm s$)

Group	IL-4 (ng/L)	IFN- γ (ng/L)	IL-4/IFN- γ
Control	16.57 $\pm$ 0.54 Δ	34.78 $\pm$ 10.63 Δ	0.52 $\pm$ 0.16 Δ
Asthma	27.90 $\pm$ 1.47 *	10.55 $\pm$ 1.12 *	2.67 $\pm$ 0.30 *
Low dose	19.00 $\pm$ 1.07 * Δ	23.49 $\pm$ 5.67 Δ	0.84 $\pm$ 0.14 * Δ
High dose	17.27 $\pm$ 0.60 Δ	30.17 $\pm$ 7.41 Δ	0.59 $\pm$ 0.13 Δ

* $P < 0.01$, compared with control; # $P < 0.05$, $\Delta P < 0.01$, compared with asthma group.

2.5 大鼠血清 OVA-IgE, OVA-IgG 水平

与哮喘组相比,小剂量和大剂量组外周血清 OVA-IgE 显著减少,差异有统计学意义;大剂量组与对照组比较差异无统计学意义。小剂量与大剂量组外周血清 OVA-IgG 与对照组比较显著增高,其差异有统计学意义;而与哮喘组比较,大剂量组较其增加,差异有统计学意义,小剂量组与其比较差异虽无统计学意义,但绝对值较其增加(表 3)。

表 3 各组大鼠血清 OVA-IgE 和 OVA-IgG 光密度值的比较 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of serum OVA-IgE and OVA-IgG optical density value in different rat groups ($n=8, \bar{x} \pm s$)

Group	OVA-IgE	OVA-IgG
Control	0.28 $\pm$ 0.04 *	0.14 $\pm$ 0.04 *
Asthma	0.60 $\pm$ 0.09 *	0.86 $\pm$ 0.10 *
Low dose	0.37 $\pm$ 0.05 **	0.97 $\pm$ 0.11 *
High dose	0.28 $\pm$ 0.03 *	1.13 $\pm$ 0.13 **

* $P < 0.01$, compared with control; # $P < 0.01$, compared with asthma group.

3 讨论

支气管哮喘是 T 淋巴细胞介导为主的慢性气道炎症性疾病。Th1/Th2 型免疫应答失衡在哮喘的发生和发展过程中起重要作用^[5]。目前针对哮喘 Th2/Th1 因子失衡进行了多种尝试,包括用 IgE, Th2 因子或其受体的单克隆抗体抑制 Th2 细胞,或诱导 Th1 因子的产生等^[6-10]。这些方法虽然在动物和人体试验中获得了一定的疗效,但是它们存在可能破坏 Th2 细胞功能,加重 Th1 反应或诱导对自身抗原免疫反应的问题^[11]。

特异性免疫治疗是通过诱导机体对特定变应原的无反应状态来达到治疗目的,是目前治疗哮喘病因的唯一方法。近年来 WHO 已建议将特异性免疫治疗称之为哮喘的免疫“疫苗”。但是该方法对变应性哮喘的作用机制至今尚未清楚,其可能作用环节为^[12]: (1) 诱导相应的抗原特异性 CD4⁺ T 细胞无反应性或凋亡。(2) 调节 Th1/Th2 平衡,造成免疫

偏离。(3) 作用于 B 细胞,诱导 IgE 向 IgG (主要是 IgG4) 发生类别转换。(4) 调节 T 细胞分泌白细胞介素-10 (interleukin-10, IL-10), 诱导 T 细胞产生抗原特异性免疫耐受。(5) 抑制效应细胞如嗜酸细胞、肥大细胞等产生直接抗炎反应。但是传统的 SIT 是采用逐步递增变应原剂量的方法对哮喘患者进行皮下注射,患者常需接受 3~5 年的治疗,且部分患者疗效不肯定,其可能原因之一为成年或接近成年的患者不易诱导免疫耐受和维持耐受状态。本研究给出生 24 h 内的幼鼠注射单剂 OVA,探索早期接触变应原诱导免疫耐受的效果。

本实验结果显示,与哮喘组比较,早期接触 OVA 大鼠的 BALF 中白细胞总数、嗜酸细胞和中性粒细胞显著减少。病理显示支气管黏膜损伤及支气管黏膜和血管周围嗜酸细胞的浸润也显著减少,其中大剂量组对哮喘的抑制作用更为显著。因此出生后早期接触 OVA 可以显著减轻 OVA 致敏大鼠的气道炎症,控制 OVA 所致的哮喘发作,有效地诱导免疫耐受。

IL-4 和 IFN- γ 分别为 Th2 和 Th1 细胞的特征性因子,通过检测这两种细胞因子可以了解 TH1 和 TH2 功能状态^[13]。血清测定说明,与对照组比较,哮喘大鼠血清 IL-4 明显升高,而 IFN- γ 则明显下降,因此存在 Th2 优势的 Th1/Th2 失衡。早期接触 OVA 的大鼠,成年后在 OVA 激发的情况下,血清 IL-4 和 IFN- γ 的比例恢复至和对照组相似,其中大剂量 OVA 的作用更为明显。说明早期接触变应原可以有效抑制变应原诱导的 Th1/Th2 失衡,而且这种作用和剂量有一定的相关性。

IgE 是参与支气管哮喘气道过敏性炎症的重要物质,其水平增高是特异性疾病的特征性表现,是评价哮喘气道高反应 (airway hyperreactivity, AHR) 的参考指标。我们的实验结果显示,与哮喘组比较,早期接触 OVA 的大鼠其外周血清 OVA-IgE 被显著抑制,而 OVA-IgG 则有所增加,与 Tsitoura^[14] 和 Seymour 等^[15] 的研究相符。推测其机制为: (1) 早期暴露于 OVA 可诱导机体免疫系统的特异性无反应,即仅特异性抑制 OVA-IgE; (2) 由于微环境中存在不同的细胞因子,对 B 细胞合成抗体分子类别转换的结果有重要影响。受早期接触 OVA 的诱导,辅助性 T 淋巴细胞分泌的细胞因子使得干预组大鼠 B 细胞在合成免疫球蛋白时发生类别转换,即由 IgE 向 IgG 转换。同时 IgG 可作为阻断抗体有效地捕获抗原。Zemann 等^[16] 的研究发现口服 OVA 可诱导狗哮喘模型的免疫耐受,但 OVA-IgG 降低。这种结果的差

异可能与不同物种遗传背景,以及 OVA 进入机体的途径、剂量、时间、频率等不同有关^[17],机体因此而处于不同的免疫状态。

本研究结果显示,早期接触变应原的大鼠成年后再次暴露于同一过敏原时不能诱导出哮喘发作,和哮喘模型相比,IL-4/IFN- γ 的比例倒置,和对照组相似,提示早期接触过敏原可以有效地改变过敏原所致的 Th1/Th2 失衡。由于多数变应原的接触发生在出生后,那么引起 Th1 和 Th2 转变的“开关”机制可能主要是变应原-特异性 Th2/Th0 免疫细胞“无能反应”的不应答性。但是早期接触变应原时,由于免疫系统发育尚不成熟,也存在克隆删除的可能性,具体的机制需要进一步研究。

参考文献

- [1] Macaubas C, DeKruyff RH, Umetsu DT. Respiratory tolerance in the protection against asthma[J]. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*, 2003,2:175 - 186.
- [2] Karol MH. Animal models of occupational asthma[J]. *Eur Respir J*, 1994, 7:555 - 568.
- [3] 高亚东,熊盛道,徐勇健,等. 一氧化氮对哮喘大鼠支气管平滑肌细胞钾通道的作用[J]. *中华结核和呼吸杂志*,2003,10:615 - 618.
- [4] Manzoli S, Macedo-Soares MF, Vianna EO, et al. Allergic inflammation in hypothyroid rats[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 1999, 104:595 - 600.
- [5] de Sousa- Mucida D, de Castro- Keller A, Fernvik EC, et al. Unconventional strategies for the suppression of allergic asthma[J]. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*, 2003,2:187 - 195.
- [6] Kumar RK, Herbert C, Webb DC, et al. Effects of anticytokine therapy in a mouse model of chronic asthma[J]. *Am J Respir Crit Care Med*,2004, 170:1043 - 1048.
- [7] Steinke JW. Anti-interleukin-4 therapy[J]. *Immunol Allergy Clin North Am*,2004, 24:599 - 614.
- [8] Henderson WR Jr, Chi EY, Maliszewski CR. Soluble IL-4 receptor inhibits airway inflammation following allergen challenge in a mouse model of asthma[J]. *J Immunol*, 2000, 164:1086 - 1095.
- [9] Shirota H, Sano K, Kikuchi T, et al. Regulation of murine airway eosinophilia and Th2 cells by antigen-conjugated CpG oligodeoxynucleotides as a novel antigen-specific immunomodulator[J]. *J Immunol*, 2000,164:5575 - 5582.
- [10] Rolinck-Werninghaus C, Wahn U, Hamelmann E. Anti-IgE therapy in allergic asthma[J]. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*, 2005,4:551 - 564.
- [11] Chung Y, Cho J, Chang YS, et al. Preventive and therapeutic effects of oral tolerance in a murine model of asthma[J]. *Immunobiology*, 2002,206:408 - 423.
- [12] Akdis CA, Blaser K, Akdis M Mechanisms of allergen-specific immunotherapy[J]. *Chem Immunol Allergy*,2006,91:195 - 203.
- [13] Fang SP, Tanaka T, Tago F, et al. Immunomodulatory effects of gyokukheifusan on INF-gamma/IL-4 (Th1/Th2) balance in ovalbumin (OVA)-induced asthma model mice[J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, 28:829 - 833.
- [14] Tsitoura DC, Blumenthal RL, Berry G, et al. Mechanisms preventing allergen-induced airways hyperreactivity: role of tolerance and immune deviation[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2000,106: 239 - 246.
- [15] Seymour BW, Gershwin LJ, Coffman RL. Aerosol-induced immunoglobulin (Ig)-E unresponsiveness to ovalbumin does not require CD8 + or T cell receptor (TCR)-gamma/delta + T cells or interferon (IFN)-gamma in a murine model of allergen sensitization[J]. *J Exp Med*, 1998,187:721 - 731.
- [16] Zemann B, Schwaerzler C, Griot-Wenk M, et al. Oral administration of specific antigens to allergy-prone infant dogs induces IL-10 and TGF-beta expression and prevents allergy in adult life[J]. *J Allergy Clin Immunol*,200 [17] Sedgwick JD, Holt PG. Suppression of IgE responses in inbred rats by repeated respiratory tract exposure to antigen: responder phenotype influences isotype specificity of induced tolerance[J]. *Eur J Immunol*, 1984, 14: 893-897.

(2005-07-04 收稿)
(本文编辑:刘淑萍)

· 消息 ·

北京大学基础医学院揭示抑癌基因 p53 的新作用机制

北京大学基础医学院生物化学与分子生物学系朱卫国教授领导的实验室对抑癌基因 p53 的翻译后修饰作用的机制研究取得可喜成果。近日,他们的研究论文发表于国际生物学界权威刊物《分子细胞生物》(*Molecular and Cellular Biology*,2006,26: 2782 - 2790.),论文题目为 Acetylation of 2006 at lysine 373/382 by the histone deacetylase inhibitor depsipeptide induces expression of p21Waf1/Cip1,通讯作者为朱卫国教授,第一作者为朱卫国教授指导的博士研究生赵颖。本研究得到国家杰出青年基金、国家重点基础研究发展规划项目等科学基金资助。

p53 是具有广泛抑癌作用的重要基因。在各类人体肿瘤中,高达 50% 以上的 p53 缺失或变异,所以 p53 的研究在分

子生物学、细胞生物学及肿瘤学界受到极大关注。p53 通常依靠对其下游因子的激活或抑制来调节细胞的生长与凋亡。而 p53 本身的修饰则是维持其功能的主要原因之一。

朱卫国教授实验室准确把握 p53 的乙酰化修饰这一前沿领域的突破口,发现组蛋白去乙酰化酶抑制剂可使 p53 的羧基末端 373/382 位点的赖氨酸发生乙酰化,并且证明该特异位点的乙酰化导致 p53 下游重要的靶基因 p21 激活,进而启动一系列生物学效应。该项研究为阐明 p53 的分子修饰模式及抑制肿瘤细胞生长的机制做出了积极贡献,对探索肿瘤防治新途径具有重要学术意义和潜在应用价值。

(北京大学基础医学院 科研办公室)