

# Notch 配体 Jagged1 通过促进 Th2 型细胞分化促进食物过敏的发生

姜松松

(扬州大学 旅游烹饪学院, 江苏 扬州 225127)

**摘要:** 通过体外细胞实验和动物模型实验,研究在食物过敏发生中发挥作用的 Notch 配体,并进一步明确其重要作用。结果表明:细胞模型中,鸡蛋过敏原卵清白蛋白显著增强了骨髓源树突状细胞上 Notch 配体 Jagged1 的表达,Jagged1 通过上调 Gata-3 的表达促进 Th2 型细胞分化。小鼠过敏模型中,Jagged1-Fc 融合蛋白显著增强了小鼠体内 Th2 型细胞因子分泌,增强了 Th2 型免疫反应,进而加重小鼠的过敏反应。因此,Notch 配体 Jagged1 通过诱导 Th2 型免疫反应促进食物过敏的发生。

**关键词:** Notch 信号; Jagged1; Th2 型细胞分化; 食物过敏

**中图分类号:** TS 972.3

**文献标志码:** A

**文章编号:** 2095-8730(2020)01-0072-07

食物过敏已经成为一个严重的全球性公共健康问题。国外流行病学调查研究显示,西方国家大约有 3.5%~4.0% 的人患有食物过敏。<sup>[1]</sup> 我国虽然没有进行大规模的食物过敏流行病学调查,这方面的数据相对匮乏,但小范围的流行病学分析发现,在北京、广州,食物过敏发生率为 3.4%~5.0%。<sup>[2]</sup> 值得注意的是,流行病学调查报告显示,食物过敏发生率在世界范围内还在逐年升高。<sup>[3]</sup> 食物过敏能够引起严重的临床症状,甚至导致休克、死亡,已经严重危害了人类的健康。<sup>[4]</sup>

Notch 信号途径是一条高度保守的信号途径,广泛存在于脊椎动物和非脊椎动物,由 Notch 受体、Notch 配体、细胞内效应器分子 3 部分组成。哺乳动物有 4 种 Notch 受体(Notch1~4)和 5 种 Notch 配体(Delta-like [Dll] 1、3、4, Jagged [Jag] 1、2)。<sup>[5]</sup> Notch 信号的激活是通过相邻细胞的 Notch 配体与受体相互作用,配体和受体结合后,Notch 蛋白由  $\gamma$ -分泌酶复合物(主要成分为早老素 1 和早老素 2)剪切。Notch 蛋白经过剪切后,形成 Notch 受体胞内段(Notch intracellular domain, NICD),释放入胞质,NICD 进入细胞核,结合 CSL 蛋白,并募集核转录激活蛋白家族

(MAML),形成三元络合转录激活物(NICD-CSL-MAML)后,进一步结合 Notch 靶基因转录因子,这些转录因子促进下游基因表达,从而进一步发挥生物学作用。<sup>[6]</sup> 目前,研究证实 Notch 信号途径在多种疾病中均发挥重要的调节作用,如肿瘤、中枢神经系统疾病及心血管疾病等。<sup>[7-9]</sup> 但是,Notch 信号途径在食物过敏的发生中是否发挥作用仍很少被研究,因此,本研究拟探究 Notch 信号在食物过敏中的作用及可能机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

4 周龄 SPF 级雌性 BALB/c 小鼠(14~18 g),购自于维通利华[许可证号:SCXK(京)SCXK(京)-2016-006]。饲养于 SPF 级动物房[使用许可证号 SYXK(京)2015-0036],实验期间自由饮水、摄食,环境温度控制在(23±3)℃,湿度控制在 40%~70%,12 h 光照、明暗交替。适应性喂养 1 周,自由摄食和饮水。

此外,8 周龄 SPF 级雌性 BALB/c 小鼠(20~24 g)取骨髓细胞,体外诱导骨髓源树突状细胞(BMDC)。同时,部分小鼠取脾脏,磁珠分选获取

收稿日期:2019-09-23

基金项目:扬州大学高层次人才科研启动基金项目(137011691)

作者简介:姜松松,男,扬州大学旅游烹饪学院讲师,博士,从事食品营养、食物过敏学研究。

初始 CD4<sup>+</sup>T 细胞。

本研究中所用动物实验符合动物伦理学相关规定。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 BMDC 细胞培养

参考 INABA 等<sup>[10]</sup>的方法,体外诱导培养 BMDC。调整细胞浓度为  $1 \times 10^6$  个/mL,分别取 1 mL 细胞,分别加 anti-mouse CD11c - FITC mAb, Armenian Hamster IgG Isotype Control-FITC mAb 孵育 30 min,上机检测。部分实验中,OVA (200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 收集获得的 BMDC,于 37  $^{\circ}\text{C}$ ,含 5%  $\text{CO}_2$  的孵箱中培养 24 h。

### 1.2.2 磁珠分选 CD4<sup>+</sup>T 细胞

参考 MIYAHARA 等<sup>[11]</sup>的方法从小鼠的脾脏中分离纯化 CD4<sup>+</sup>T 细胞。

部分实验中,纯化获得的 CD4<sup>+</sup>T 细胞与 GSI DAPT(20  $\mu\text{M}$ ) 或者 DMSO(终浓度为 0.1%) 预处理 24 h。

### 1.2.3 CD4<sup>+</sup>T 细胞和 BMDC 体外共培养

不同处理的 CD4<sup>+</sup>T 细胞和经过 OVA 诱导刺激的 BMDC 按照 10:1 的比例于 37  $^{\circ}\text{C}$ 、含 5%  $\text{CO}_2$  的孵箱中诱导培养 96 h。BMDC 在共培养前,经过丝裂霉素 C 处理(50  $\text{mg}/\text{mL}$ )。收集细胞上清,采用 ELISA 试剂盒检测 IL-4、IL-13 的分泌水平。

### 1.2.4 Jagged1 - Fc 融合蛋白与 CD4<sup>+</sup>T 细胞共培养

将 CD4<sup>+</sup>T 细胞浓度调整为  $2 \times 10^6$  个/mL,接 6 孔板,加 anti-CD3 (2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 刺激,同时,加 Jagged1 - Fc 融合蛋白(5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 或者人源性 IgG (5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ),共培养 96 h,收集细胞上清,采用 ELISA 试剂盒检测 IL-4、IL-5、IL-13 和 IFN- $\gamma$  的分泌水平。

### 1.2.5 动物模型

30 只 BALB/c 小鼠按体重随机分成 3 组,分别为 OVA 对照组、Jagged1 - Fc 处理组、人源 IgG 处理组(处理对照组),每组 10 只。

各组小鼠分别于第 0、7、14、21、28 天分别经口灌胃 1 mg OVA,吸附 10  $\mu\text{g}$  CT 佐剂。其中 Jagged1 - Fc 组在灌胃前 1 h,尾静脉注射给予 Jagged1 - Fc(200  $\mu\text{g}/\text{只}$ ),处理对照组在灌胃前 1 h,尾静脉注射给予人源 IgG 抗体(200  $\mu\text{g}/\text{只}$ ),并在第 38、39、40、41 天,每天进行一次尾静脉注射,其

中 OVA 组不处理。在第 42 天每只小鼠经口灌胃 5 mg OVA 进行大剂量刺激。

在第 42 天对小鼠进行眼窝内眦静脉采血,分离获得的血清进行特异性 IgE、IgG<sub>1</sub> 抗体水平检测。在刺激之后的 45 min 时采血,用于获取血清。在 4  $^{\circ}\text{C}$ ,5 000 r/min 条件下离心,分离血清,分装后保存于 -20  $^{\circ}\text{C}$  备用。

第 42 天,大剂量刺激 1 h 后处死小鼠后,取 OVA 组小鼠肠系膜淋巴结、脾脏,制备单细胞悬液,方法参考 REZENDE 等<sup>[12]</sup>的研究。实验分为 4 组,MW167 组、FLI-06 组、DMSO 组、空白对照组。分别取 1 mL 细胞悬液加入 12 孔细胞培养板中,分别添加 MW167 (20  $\mu\text{mol}/\text{L}$ )、FLI-06 (20  $\mu\text{mol}/\text{L}$ )、DMSO 处理,再添加 OVA,蛋白浓度为 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,将细胞培养板放入细胞培养箱中,5%  $\text{CO}_2$ 、37  $^{\circ}\text{C}$  培养 72 h 后,收集各组细胞上清液,ELISA 法测定其中 IL-4、IL-5、IL-13、IFN- $\gamma$  和 IL-17A 的分泌水平。

### 1.2.6 RT-PCR

使用 TRIZOL 试剂进行 RNA 提取,利用 FastQuant cDNA 第一链合成试剂盒反转录(每个体系加入 1 500 ng RNA) 得到 cDNA 文库;利用 Quant qRT-PCR kit (SYBR Green) 进行 qRT-PCR 检测,反应程序为:95  $^{\circ}\text{C}$  60 s,(95  $^{\circ}\text{C}$  5 s,60  $^{\circ}\text{C}$  30 s)  $\times$  40 个循环。每个样品中靶基因的相对 mRNA 表达水平的计算: mRNA 相对表达量 =  $2^{-\Delta\text{Ct}}$   $\times$  100%,其中 Ct 值 = 靶基因 Ct 值 - 内参( $\beta$ -actin) Ct 值。引物序列见表 1。

表 1 引物设计

基因	引物序列(正向)	引物序列(反向)
Jagged1	GCGTCTGGTT	ACCGTCCTT
	TTGCAGCTC	TTGCCAGTCC
Jagged2	CACCTTGCTGT	CGTCTCCGTG
	CACCCTGTT	GTGTTCCCT

### 1.2.7 Western Blot

从细胞中提取总蛋白,进行 SDS-PAGE,将分离的蛋白转移至 PVDF 膜上,用 Tris-buffer 生理盐水,0.1% 的吐温 20 和 5% 的牛奶封闭。一抗 4  $^{\circ}\text{C}$  孵育过夜,洗涤,HRP 标记的二抗室温孵育 2 h。最后,将膜在 ECL 发光剂中暴露显影,使用 ImageJ 软件进行半定量分析。

### 1.3 统计分析

实验中数据使用 SPSS 13.0 和 GraphPad

Prism 5 进行统计分析。实验数据以平均值 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm SD$ ) 表示。各组数据进行方差分析 (ANOVA),  $P < 0.05$  表示差异显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 BMDC 纯度鉴定

CD11c 为小鼠 DC 表面标志分子,<sup>[13-14]</sup> 因此,本研究利用流式细胞术检测体外诱导培养获得的细胞中 CD11c<sup>+</sup> 细胞比例,判断诱导培养的 BMDC 细胞纯度(图 1),在培养获得的细胞中,CD11c<sup>+</sup> 细胞所占比例达到 83.5%,这说明培养获得的 BMDC 纯度较高,可以用于后续实验。

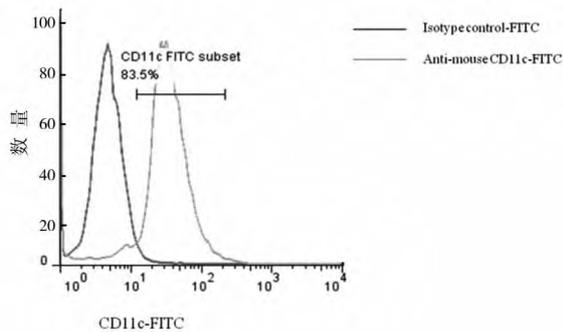


图 1 骨髓源树突状细胞流式细胞术鉴定结果

### 2.2 OVA 刺激对 BMDC 上 Notch 配体表达水平的影响

有研究发现,APCs 表面表达的 Jagged 家族配体(Jagged1 和 Jagged2)和 Th2 型细胞分化密切相关。<sup>[15]</sup> 因此,本研究首先从 mRNA 水平对 OVA 刺激培养 24 h 后的 BMDC 上的不同 Notch 配体的表达进行了检测分析。结果如图 2 所示,与对照组相比,OVA 组中 BMDC 上 Jagged1 的表达水平显著升高( $P < 0.05$ ),而 OVA 组中 BMDC 中的 Jagged2 的表达和对照相比,虽然略有升高,但无显著性差异( $P > 0.05$ )。

### 2.3 抑制 Notch 途径对 Th2 型细胞因子分泌的影响

为进一步分析 Jagged1 - Notch 信号途径对 T 细胞分化的调节作用,进行了 DC 和 CD4<sup>+</sup>T 细胞共培养实验。本研究中使用 DAPT 来抑制 Notch 信号途径,分析其对 CD4<sup>+</sup>T 细胞细胞因子分泌的影响。结果如图 3 所示,OVA 组(DMSO 孵育后的 CD4<sup>+</sup>T 细胞和经过 OVA 刺激培养后的 BMDC 共培养)细胞分泌的 IL - 4 的水平显著高于对照组(未经 OVA 刺激的 BMDC 和 CD4<sup>+</sup>T 细胞共培

养) ( $P < 0.05$ ); 而 DAPT 预处理 CD4<sup>+</sup>T 细胞后,这种增强作用消失,并且其分泌水平显著低于对照组 ( $P < 0.05$ )。本研究也对另一种 Th2 型细胞因子 IL - 13 的分泌水平进行了检测,其变化趋势与 IL - 4 的变化趋势一致。

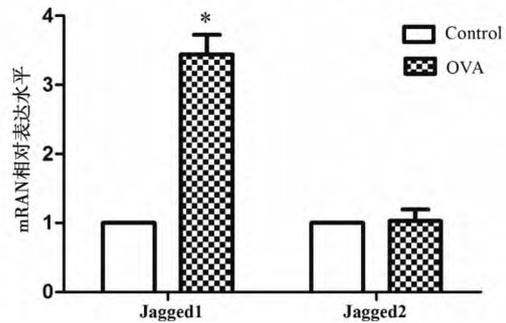


图 2 OVA 刺激后骨髓源树突状细胞表达 Notch 配体情况

注: \* 表示与对照组相比差异显著 ( $P < 0.05$ )

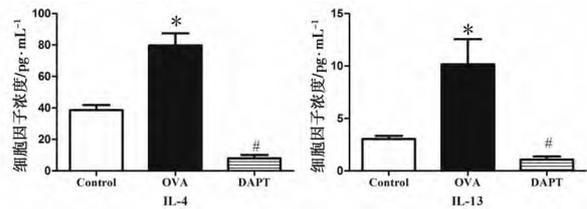


图 3 不同处理后 CD4<sup>+</sup>T 细胞分泌细胞因子的水平

注:对照组 (Control) 为 BMDC + CD4<sup>+</sup>T; OVA 组为 BMDC/OVA + CD4<sup>+</sup>T/DMSO; DAPT 组为 BMDC/OVA + CD4<sup>+</sup>T/DAPT; \* 表示与对照组相比差异显著 ( $P < 0.05$ ); # 表示与对照组及 OVA 组相比差异显著 ( $P < 0.05$ )

### 2.4 Jagged1 - Fc 对 Th2 型细胞因子分泌的影响

为进一步明确 Jagged1 - Notch 信号途径在 Th2 型细胞分化的作用,本研究直接使用 anti - CD3 和 Jagged1 - Fc 融合蛋白共同刺激 CD4<sup>+</sup>T 细胞,体外培养 96 h 后,检测上清中不同亚型细胞因子的分泌水平。结果如图 4 所示,与对照组相比,Jagged1 - Fc 处理显著增强了 IL - 4、IL - 5、IL - 13 这类 Th2 型细胞因子的分泌 ( $P < 0.05$ ),而同型对照 IgG 处理,Th2 型细胞因子分泌水平未发生显著变化 ( $P > 0.05$ ),提示 Jagged1 - Notch 信号途径,引起了 Th2 型细胞分化,增强了 Th2 型细胞因子的分泌水平。此外,本研究还对 Th1 型细胞因子 IFN -  $\gamma$  进行了检测。与对照组相比,Jagged1 - Fc 处理显著抑制了 IFN -  $\gamma$  的分泌 ( $P < 0.05$ ),而同型对照组细胞的 IFN -  $\gamma$  分泌水平未

发生显著变化 ( $P > 0.05$ ), 提示 Jagged1 - Notch 信号途径一定程度上能够抑制 Th1 型细胞分化, 但是这是由于 Jagged1 - Notch 信号引起 Th2 型细胞分化, 促进 Th2 型细胞因子分泌, 从而抑制了 Th1 型细胞分化。

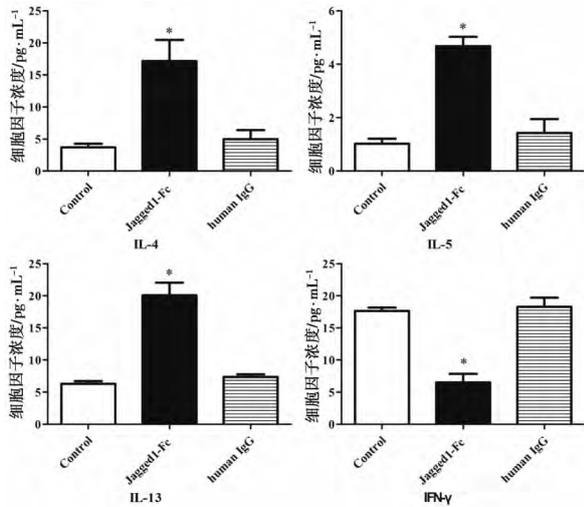


图4 Jagged1 - Fc 处理后 CD4<sup>+</sup>T 细胞分泌细胞因子的水平

注: \* 表示与对照组相比差异显著 ( $P < 0.05$ )

### 2.5 Jagged1 - Notch 信号途径对 Gata - 3 表达的影响

上述结果已经说明, Jagged1 - Notch 信号途径在 Th2 型细胞分化中发挥重要的正向调节作用。为进一步探究 Jagged1 - Notch 信号途径的作用机制, 本研究收集上述体外培养的 CD4<sup>+</sup>T 细胞, 对 Th2 型关键核转录因子 Gata - 3 进行了检测。结果如图 5 所示, mRNA 水平上, 与对照组相比, Jagged1 - Fc 融合蛋白处理组 CD4<sup>+</sup>T 细胞中, Gata - 3 的表达显著增加 ( $P < 0.05$ ), 而同型对照组 CD4<sup>+</sup>T 细胞中 Gata - 3 的表达和对照组相比没有显著差异 ( $P > 0.05$ ), 蛋白水平结果与基因水平一致。

### 2.6 Jagged1 - Fc 对小鼠食物过敏反应的影响

上述结果说明, Jagged1 - Notch 信号途径能够通过上调 Gata - 3 的表达, 引起 Th2 型细胞分化, 促进 Th2 型细胞因子分泌, 提示其在可能食物过敏致敏阶段发挥正向调节作用。因此, 本研究进一步建立 BALB/c 小鼠过敏模型, 同时分别给予小鼠 Jagged1 - Fc 和同型对照源 IgG 处理, 增强小鼠体内 Jagged1 - Notch 信号途径, 观察小鼠过敏反应的变化, 进一步确定 Jagged1 - Notch 信

号途径在食物过敏中的作用。

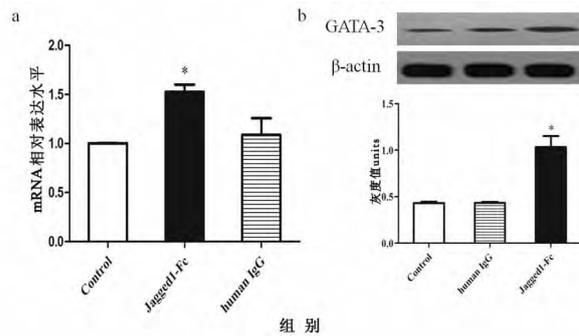


图5 Jagged1 - Fc 对 CD4<sup>+</sup>T 细胞 Gata - 3 表达的影响

注: a 表示 Jagged1 - Fc 对 Gata - 3 mRNA 表达水平的影响; b 表示 Jagged1 - Fc 对 Gata - 3 蛋白表达水平的影响; \* 表示和对照组相比具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )

### 2.6.1 Jagged1 - Fc 对小鼠抗体水平的影响

抗原特异性 IgE 应答是小鼠食物过敏的重要标志, [16] 因此, 本研究首先检测了不同处理对小鼠抗体水平的影响。结果如图 6 所示, 和 OVA 组相比, Jagged1 - Fc 显著增加了小鼠血清中的特异性 IgE 抗体水平 ( $P < 0.05$ ), 而同型对照组小鼠血清中的特异性 IgE 水平没有显著变化 ( $P > 0.05$ ), 这提示 Jagged1 - Notch 信号途径显著增强了小鼠体内的特异性 IgE 抗体应答。进一步检测了不同处理对小鼠血清中特异性 IgG<sub>1</sub> 抗体水平, 结果发现, 和 OVA 组相比, Jagged1 - Fc 处理显著增加小鼠血清中特异性 IgG<sub>1</sub> 抗体水平 ( $P < 0.05$ ), 而同型对照处理对特异性 IgG<sub>1</sub> 抗体水平没有显著影响 ( $P > 0.05$ )。

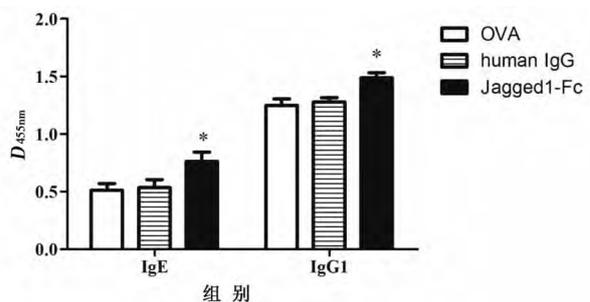


图6 各组小鼠血清中 OVA 特异性抗体水平

注: \* 表示与 OVA 组相比差异显著 ( $P < 0.05$ ),  $n = 8$

### 2.6.2 Jagged1 - Fc 处理对小鼠脾脏细胞因子分泌水平的影响

为进一步分析 Jagged1 - Fc 在小鼠体内对 Th 细胞分化的影响, 取各组小鼠脾脏, 制备单细胞悬液, 体外给予 OVA 刺激培养 72 h, 检测不同细胞

因子的分泌水平。结果如图7所示, Jaggged1 - Fc组小鼠脾细胞 IL - 4、IL - 5、IL - 13 水平显著高于 OVA 组 ( $P < 0.05$ ), 而 IFN -  $\gamma$  水平低于 OVA 组 ( $P < 0.05$ ), 而同型对照组各细胞因子水平和 OVA 组相比, 均无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

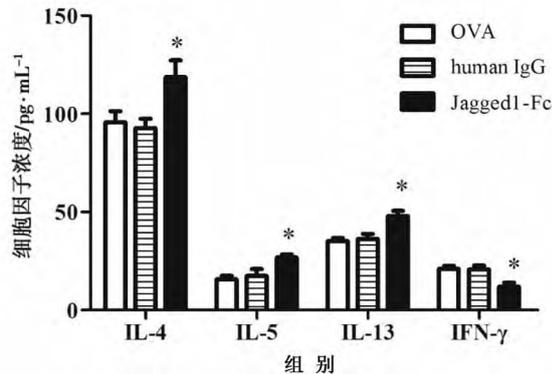


图7 各组小鼠脾细胞细胞因子分泌情况

注: \* 表示与 OVA 组相比差异显著 ( $P < 0.05$ ),

$n = 3$

### 3 讨论

绝大多数的食物过敏是 IgE 介导的 I 型速发型超敏反应, 包括致敏阶段、激发阶段和效应阶段。<sup>[17]</sup> 通常来说, 致敏阶段, 机体首次接触食物过敏原, 经过抗原递呈作用, 激活 T 细胞, 引起辅助型 Th2 型细胞分化, 浆细胞分泌 IgE 抗体; 激发阶段, 机体再次接触相同的食物过敏原; 效应阶段, IgE 致敏的肥大细胞、嗜碱性粒细胞等效应细胞释放炎症性介质, 引起以毛细血管扩张、血管通透性增加及平滑肌收缩等为特点的病理变化, 从而诱发相关过敏性疾病, 如哮喘、过敏性腹泻等临床症状。食物过敏致敏阶段, CD4<sup>+</sup> T 细胞活化, 分化成 Th2 型细胞, 分泌大量的 Th2 型细胞因子, 如 IL - 4、IL - 5、IL - 13 等。大量研究证实, 致敏阶段 Th2 型细胞极化对于食物过敏反应的发生是必须的, 但 Th2 型细胞分化的具体机制仍未阐明。<sup>[18-19]</sup> 因此, 本研究探究了 Notch 信号途径在食物过敏发生中作用及机制。

相比于 Notch 受体表达的普遍性, Notch 配体的表达更具有特异性, 不同的刺激物能够引起不同 Notch 配体介导的 Notch 信号途径。<sup>[20-21]</sup> 因此, 本研究首先使用 OVA 刺激培养 BMDCs。结果发现 OVA 引起了 BMDC 表面 Notch 配体 Jaggged1 的表达显著上调, 并且在 24 h 后, 仍可以被检测到,

而没有引起 Jaggged 家族另一个成员 Jaggged2 的表达显著上调, 这就提示 OVA 刺激激活的是 Jaggged1 - Notch 信号途径, 而不是其他配体介导的 Notch 信号途径。大量研究表明, Notch 信号途径对 Th1/Th2 细胞极化具有重要的调节作用。<sup>[15,22]</sup> 表达 Jaggged 家族配体的 APC 能够引起 Th2 型的细胞因子的分泌, 而表达 Dll 家族配体的 APC 能够引起 Th1 型细胞因子 IFN -  $\gamma$  的分泌<sup>[22]</sup>。本研究中, 将 OVA 刺激培养过的 BMDC 和初始 CD4<sup>+</sup> T 细胞共培养显著增强了 IL - 4、IL - 13 的分泌水平, Notch 信号抑制剂预处理 CD4<sup>+</sup> T 细胞后, 这种增强作用消失, 提示 OVA 激活了 Jaggged1 - Notch 信号途径, 引起了 Th2 型细胞分化。

为明确 Jaggged1 - Notch 信号途径发挥的作用, 本研究直接使用 anti - CD3 和 Jaggged1 - Fc 蛋白激活 CD4<sup>+</sup> T 细胞, 并诱导分化, 结果发现, Jaggged1 - Fc 显著增强了 CD4<sup>+</sup> T 细胞 IL - 4 等 Th2 型细胞因子的分泌, 同时抑制了 Th1 型细胞因子 IFN -  $\gamma$  的分泌。

有趣的是, 本研究发现 Jaggged1 - Notch 信号途径引起 CD4<sup>+</sup> T 细胞分泌的 Th2 型细胞因子中, IL - 4 的分泌水平远远高于其他几种, 提示与 IL - 5、IL - 13 相比, IL - 4 在 Th2 型细胞分化中可能发挥更重要的作用。有研究指出, 在动物哮喘模型中, IL - 4 在 Th2 分化是必须的, 并且发挥关键作用。<sup>[23-24]</sup> 此外, 还有研究指出, IL - 4 在 Th2 细胞分化初期具有重要的作用, 是诱发 Th2 细胞分化重要的因素。<sup>[25]</sup> 这与本研究的推测是一致的。

本研究进一步探究了 Jaggged1 - Notch 信号途径的作用机制。研究发现, Jaggged1 - Notch 信号途径显著增强了 Th2 型反应关键核转录因子 Gata - 3 的表达, 这说明 Jaggged1 - Notch 信号途径可以通过直接调节 Gata - 3 的表达来促进 Th2 型细胞分化, 这与前人的研究结果一致。<sup>[26]</sup>

本研究发现 Jaggged1 - Notch 信号途径通过调节 Gata - 3 的表达引起 Th2 型细胞分化, 促进 IL - 4 等 Th2 型细胞因子的分泌, 因此, 推测其是在食物过敏致敏阶段发挥重要作用。因此, 本研究建立小鼠过敏模型, 在致敏阶段给予小鼠 Jaggged1 - Fc, 在小鼠体内增强 Jaggged1 - Notch 信号途径, 观察其对小鼠过敏反应发生的影响。结果发现, Jaggged1 - Fc 处理显著增强了小鼠 IgE 抗体

和 IgG<sub>1</sub> 抗体的分泌水平,这提示 Jagged1 - Notch 信号途径显著增强了小鼠体内的特异性 IgE 抗体应答及 Th2 型抗体应答。特异性 IgE 是食物过敏发生的关键性因素,而 Th2 型细胞分化及细胞因子分泌是影响抗体分泌的重要因素,<sup>[27-28]</sup> 因此,推测 Jagged1 - Notch 信号途径通过促进 Th2 型细胞分化及细胞因子分泌来促进抗体产生。为验证推测,进一步检测了小鼠脾细胞不同细胞因子的分泌情况,结果发现,Jagged1 - Fc 处理显著增强了小鼠 IL - 4 等 Th2 型细胞因子的分泌,而抑制了 Th1 型细胞因子 IFN -  $\gamma$  的分泌,这与体外研究结果一致。

#### 4 结论

Notch 配体 Jagged1 介导的 Notch 信号途径通过诱导 Th2 型细胞分化,促进 IL - 4 等 Th2 型细胞因子的分泌,在食物过敏致敏阶段中发挥重要的正向调节作用,促进食物过敏的发生。本研究结果能够为进一步寻找食物过敏的潜在治疗靶点提供一定的借鉴和科学参考。

#### 参考文献:

- [1] CHAPMAN J A, BERNSTEIN I L, LEE R E, et al. Food allergy: a practice parameter [J]. *Annals of Allergy Asthma and Immunology*, 2006, 96(3): 61 - 68.
- [2] 赵京, 陈育智, 文昭明. 婴幼儿和儿童食物过敏的发病机理及临床表现 [J]. *中华儿科杂志*, 2002, 40(3): 179 - 181.
- [3] TANG M L K, MULLINS R J. Food allergy: is prevalence increasing? [J]. *Internal Medicine Journal*, 2017, 47(3): 256 - 261.
- [4] SAVAGE J, SICHERER S, WOOD R. The natural history of food allergy [J]. *Journal of Allergy & Clinical Immunology in Practice*, 2016, 4(2): 196 - 203.
- [5] REAL P J, TOSELLO V, PALOMERO T, et al.  $\gamma$  - secretase inhibitors reverse glucocorticoid resistance in T cell acute lymphoblastic leukemia [J]. *Nature Medicine*, 2008, 15(1): 50 - 58.
- [6] KLEINJAN A, BRUIJN M D, NIMWEGEN M V, et al. The notch mediator RBP - J in CD4 T cells plays a crucial role in the induction of allergic asthma in mice [J]. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2013, 131(2): 147.
- [7] HU C, DIÉVART A, LUPIEN M, et al. Overexpression of activated murine Notch1 and Notch3 in transgenic mice blocks mammary gland development and induces mammary tumors [J]. *The American Journal of Pathology*, 2006, 168(3): 973 - 990.
- [8] NAGARSHETH M H, VIEHMAN A, LIPPA S M, et al. Notch - 1 immunoreexpression is increased in Alzheimer's and Pick's disease [J]. *Journal of the Neurological Sciences*, 2006(1): 111 - 116.
- [9] GREGOBESSA J, LUNAZURITA L, DEL M G, et al. Notch signaling is essential for ventricular chamber development. [J]. *Developmental Cell*, 2007, 12(3): 415 - 429.
- [10] INABA K, STEINMAN R M, PACK M W, et al. Identification of proliferating dendritic cell precursors in mouse blood [J]. *Journal of Experimental Medicine*, 1992, 175(5): 1157 - 1167.
- [11] MIYAHARA N, TAKEDA K, KODAMA T, et al. Contribution of antigen - primed CD8<sup>+</sup> T cells to the development of airway hyperresponsiveness and inflammation is associated with IL - 13 [J]. *The Journal of Immunology*, 2004, 172(4): 2549 - 2558.
- [12] REZENDE M M, HASSING I, BOL - SCHOENMAKERS M, et al. CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T regulatory cells do not transfer oral tolerance to peanut allergens in a mouse model of peanut allergy [J]. *Clinical and Experimental Allergy*, 2011, 41(9): 1324 - 1333.
- [13] TRAGGIAI E, CHICHA L, MAZZUCHELLI L, et al. Development of a human adaptive immune system in cord blood cell - transplanted mice [J]. *Science*, 2004, 304(5667): 104 - 107.
- [14] SMITH K A, HOCHWELLER K, HÄMMERLING G J, et al. Chronic helminth infection promotes immune regulation in vivo through dominance of CD11c<sup>+</sup>CD103<sup>+</sup> dendritic cells [J]. *Journal of Immunology*, 2011, 186(12): 7098 - 7109.
- [15] AMSEN D, BLANDER J M, LEE G R, et al. Instruction of distinct CD4 T helper cell fates by different notch ligands on antigen - presenting cells. [J]. *Cell*, 2004, 117(4): 515 - 526.
- [16] HAMELMANN E, TAEDA K, OSHIBA A, et al. Role of IgE in the development of allergic airway inflammation and airway hyperresponsiveness—a murine model [J]. *Allergy*, 1999, 54(4): 297 - 305.
- [17] SICHERER S H, SAMPSON H A. Food allergy [J]. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2010, 125(2): 116 - 125.
- [18] HELM R M, BURKS A W. Mechanisms of food allergy [J]. *Current Opinion in Immunology*, 2000, 12(6):

- 647 – 653.
- [19] RODRIGO J S, CHU D K, WASERMAN S, et al. Initiation, Persistence and Exacerbation of Food Allergy [C]//Allergy Prevention and Exacerbation. Springer, Cham, 2017: 121 – 144.
- [20] DEBARRY J, GARN H, HANUSZKIEWICZ A, et al. *Acinetobacter lwoffii* and *Lactococcus lactis* strains isolated from farm cowsheds possess strong allergy – protective properties. [J]. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2007, 119(6): 1514 – 1521.
- [21] RUDD B D, SCHALLER M A, SMIT J J, et al. MyD88 – mediated instructive signals in dendritic cells regulate pulmonary immune responses during respiratory virus infection [J]. *Journal of Immunology*, 2007, 178(9): 5820 – 5827.
- [22] ANIGAKI K, TSUJI M N, HAN H, et al. Regulation of alphabeta/gammadelta T cell lineage commitment and peripheral T cell responses by Notch/RBP – J signaling. [J]. *Immunity*, 2004, 20(5): 611 – 622.
- [23] GRÜNIG G, WARNOCK M, WAKIL A E, et al. Requirement for IL – 13 independently of IL – 4 in experimental asthma [J]. *Science*, 1998, 282 ( 5397 ): 2261 – 2263.
- [24] BRUSSELLE G, KIPS J, JOOS G, et al. Allergen – induced airway inflammation and bronchial responsiveness in wild – type and interleukin – 4 – deficient mice [J]. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 1995, 12(3): 254 – 259.
- [25] HUSSAIN M, BORCARD L, WALSH K P, et al. Basophil – derived IL – 4 promotes epicutaneous antigen sensitization concomitant with the development of food allergy [J]. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2018, 141(1): 223 – 234.
- [26] FANG T C, YASHIROOHTANI Y, BIANCO C D, et al. Notch directly regulates *gata3* expression during T helper 2 cell differentiation [J]. *Immunity*, 2007, 27(1): 100 – 110.
- [27] BURTON O T, DARLING A R, ZHOU J S, et al. Direct effects of IL – 4 on mast cells drive their intestinal expansion and increase susceptibility to anaphylaxis in a murine model of food allergy [J]. *Mucosal Immunology*, 2013, 6(4): 740 – 750.
- [28] RIVAS M N, BURTON O T, OETTGEN H C, et al. IL – 4 production by group 2 innate lymphoid cells promotes food allergy by blocking regulatory T – cell function [J]. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2016, 138(3): 801 – 811.

## Notch ligand Jagged1 facilitated food allergy through promoting Th2 polarization

JIANG Songsong

( College of Tourism and Culinary Science, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225127, China)

**Abstract:** The role of Notch ligand Jagged1 in food allergy was explored in a cell model and an animal model. The results showed that ovalbumin enhanced the expression of Notch ligand Jagged1 on bone marrow – derived dendritic cells significantly. Jagged1 – Notch signaling induced Th2 cell differentiation through enhancing the expression of Gata – 3. In addition, treatment of Jagged1 – Fc enhanced allergic responses significantly through promoting Th2 cell differentiation and Th2 cytokines production in mice. Jagged1 – Notch signaling induced Th2 cell differentiation, and played a positive regulatory role in the sensitization phase of food allergy.

**Key words:** Notch signal; Jagged1; Th2 cell differentiation; food allergy

(责任编辑:赵 勇)