



食品工业科技

Science and Technology of Food Industry

ISSN 1002-0306, CN 11-1759/TS



《食品工业科技》网络首发论文

题目: 朱红硫磺菌经 TLR4/NF- κ B/MyD88 通路改善小鼠卵清白蛋白食物过敏
作者: 张康帅, 张浩祯, 史晓霞, 李秋娟, 周梓怡, 吕之萌, 李静, 白洁, 孙鲜策, 吴晨冰
DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025050208
网络首发日期: 2025-09-28
引用格式: 张康帅, 张浩祯, 史晓霞, 李秋娟, 周梓怡, 吕之萌, 李静, 白洁, 孙鲜策, 吴晨冰. 朱红硫磺菌经 TLR4/NF- κ B/MyD88 通路改善小鼠卵清白蛋白食物过敏[J/OL]. 食品工业科技. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2025050208>



网络首发: 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认: 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

作者简介：张康帅（2003-），男，学士在读，研究方向：预防医学，E-mail: echodreamer915@163.com

*通信作者：吴晨冰（1996-），女，硕士，实验师，研究方向：环境毒暴露的毒作用研究，E-mail:

bb978192507@163.com

朱红硫磺菌经 TLR4/NF- κ B/MyD88 通路改善小鼠卵清白蛋白食物过敏

张康帅¹，张浩祯¹，史晓霞¹，李秋娟¹，周梓怡¹，吕之萌¹，
李静²，白洁¹，孙鲜策¹，吴晨冰^{1,*}

(1.大连医科大学公共卫生学院，辽宁大连 116044;

2.大连医科大学基础医学院，辽宁大连 116044)

摘要：目的：探究朱红硫磺菌改善小鼠食物过敏（Food Allergy, FA）的作用及机制。方法：将小鼠随机分为对照组、FA 组、朱红硫磺菌预防组及治疗组。采用经皮与灌胃联合方式建立小鼠 FA 模型，即用卡泊三醇软膏混合卵清白蛋白（ovalbumin, OVA）涂抹引起小鼠皮肤炎症，同时每周灌胃 OVA 攻击一次。预防组自实验开始每天灌胃朱红硫磺菌菌液（ 2×10^9 CFU/d）；治疗组于模型成立后给予相同剂量菌液，持续 4 w。监测攻击后小鼠体温变化及过敏症状。采用酶联免疫吸附试验（Enzyme-linked immunosorbent Assay, ELISA）法检测血清 IgE 及小鼠肥大细胞蛋白酶（mouse mast cell protease-1, mMCP-1）的水平；苏木精-伊红（hematoxylin-eosin staining, H&E）染色及甲苯胺蓝染色评估组织病理学变化。采用蛋白质免疫印迹（Western Blotting, WB）法检测肺组织中 Toll 样受体 4（Toll-like receptor 4, TLR4）/核因子 κ B（nuclear factor kappa-B, NF- κ B）/髓样分化因子 88（Myeloid differentiation primary response 88, MyD88）信号通路的变化以探究其在朱红硫磺菌缓解 OVA 所致 FA 反应中的作用。结果：与对照组相比，FA 组小鼠体温显著降低，血清 IgE 和 mMCP-1 水平升高，并伴有肠黏膜损伤、肥大细胞浸润及肺血管扩张，TLR4、NF- κ B 磷酸化水平及 MyD88 表达量升高。与 FA 组相比，经朱红硫磺菌干预后小鼠体温下降程度减轻，IgE 和 mMCP-1 水平降低，组织病理损伤减轻，且 TLR4, NF- κ B 磷酸化水平及 MyD88 表达量均显著下调。结论：OVA 经皮联合灌胃致敏可诱导小鼠 FA 模型，朱红硫磺菌可经由 TLR4/NF- κ B/MyD88 通路缓解 OVA 所诱导的小鼠 FA 反应。

关键词：过敏反应，朱红硫磺菌，炎症反应，TLR4/NF- κ B/MyD88 通路

Laetiporus sulphureus Ameliorating

Ovalbumin-Induced Food Allergy in Mice via the TLR4/NF- κ B/MyD88 Pathway

ZHANG Kangshuai¹, ZHANG Haozhen¹, SHI Xiaoxia¹, LI Qiujuan¹,
ZHOU Ziyi¹, LÜ Zhimeng¹, LI Jing², BAI Jie¹, SUN Xiance¹,
WU Chenbing^{1,*}

(1. School of Public Health, Dalian Medical University, Dalian 116044, China;

2. College of Basic Medical Sciences, Dalian Medical University, Dalian 116044, China)

Abstract: Objective: In this study, we investigated the therapeutic effects and underlying mechanisms of *Laetiporus sulphureus* in a mouse model of food allergy (FA). Methods: Mice were randomly divided into the following four groups: control, FA, *L. sulphureus* prevention, and *L. sulphureus* treatment. The FA model was established via combined transdermal [calcipotriol ointment mixed with ovalbumin (OVA)] and oral OVA challenges. The prevention group received daily oral gavage of a suspension of *L. sulphureus* (2×10^9 CFU/day) from the initiation of the experiment, whereas the treatment group was administered the same dosage of the bacterial suspension for 4 weeks following successful model establishment. Systemic allergic responses were assessed by monitoring body temperature and clinical symptoms post-challenge and serum IgE and mMCP-1 levels were quantified using ELISA. In addition, histopathological changes were evaluated using hematoxylin and eosin and toluidine blue staining, and western blotting was performed to analyze the TLR4/NF- κ B/MyD88 signaling pathway in lung tissues to assess its potential role in the response of *L. sulphureus* to OVA-induced FA. Results: Compared with the control mice, those in the FA group were characterized by hypothermia, elevated levels of IgE and mMCP-1,

intestinal mucosal damage, mast cell infiltration, and pulmonary vascular dilation, along with the upregulated expression of TLR4, phosphorylated NF- κ B, and MyD88. Intervention with *L. sulphureus* was found to contribute to a significant mitigation of the aforementioned adverse effects, reducing hypothermia, lowering IgE/mMCP-1 levels, attenuating tissue damage, and downregulating activation of the TLR4/NF- κ B/MyD88 pathway. Conclusion: *Laetiporus sulphureus* can contribute to alleviating OVA-induced FA in mice by modulating the TLR4/NF- κ B/MyD88 pathway, thereby indicating the potential utility of this bacterium as a therapeutic agent for the treatment of food allergies.

Key words: allergic reaction; *Laetiporus sulphureus*; inflammatory response; TLR4/NF- κ B/MyD88 signaling pathway

中图分类号: R593.1 文献标识码: A doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025050208

过敏反应作为 21 世纪全球公共卫生领域的重要挑战, 已被世界卫生组织列为三大重点防控疾病之一^[1]。在这类由免疫系统异常应答引起的多系统受累性疾病中, 食物过敏 (Food Allergy, FA) 因其发病率持续攀升、发病机制及临床表现的复杂性, 已成为威胁人类健康的重要公共卫生问题^[2-3]。据世界过敏组织 (World Allergy Organization, WAO) 报道, 加拿大、芬兰、澳大利亚 5 岁以下儿童食物过敏患病率高达 11%, 而我国此年龄段 FA 自报率为 4.81%^[4]。

近些年来, 全球范围内 FA 的发病率呈现上升趋势, 已有研究指出, FA 的发生与共生微生物群落的生态失调有关, 其中肠道菌群有着重要的作用^[1, 5]。肠道菌群作为一个复杂的微生物系统, 可经由神经, 内分泌等途径参与宿主生理调节, 对维持人体健康有着重要的作用, 其在免疫调控中的核心作用日益受到重视。目前 FA 的临床治疗仍以肾上腺素、抗组胺药等药物为主, 虽可缓解过敏症状却往往伴有不良反应且不能治愈^[6-7], 因此探索能够减少或替代药物治疗 FA 的新策略逐渐成为研究热点, 而在现有的研究中益生菌及其相关制品在过敏反应中的展现出了潜力, 使用益生菌及其相关制品调节机体免疫微环境或可成为新的 FA 治疗手段。多项研究表明, FA 患者存在肠道菌群多样性降低、短链脂肪酸减少的特征性改变^[8-10], 这为益生菌干预疗法提供了理论依据。适量的益生菌的干预可缓解 FA 的病理症状^[11-13], 并且 WAO 推荐的过敏预防指南建议对孩子过敏风险高的孕妇和哺乳期妇女补充益生菌进行预防性干预^[14]。值得注意的是, 肠道微生物

的免疫调控可能通过“肠—肺轴”实现，即肠道与肺部之间通过免疫细胞、代谢物及微生物信号进行双向沟通，在这一过程中益生菌进入肠道后可通过一系列调控作用进而影响肺组织^[15]。

目前对益生菌的研究多集中于乳酸杆菌、双歧杆菌等细菌益生菌，对真菌益生菌的探索相对匮乏。从结构的角度看，细菌益生菌结构较真菌简单，缺乏细胞核、细胞骨架及膜状胞器，因此在参与生命活动中的功能较真菌益生菌稍显不足^[16]，一种菌株往往只针对一种症状，从而常需联合多种菌株（如双歧杆菌三联活菌胶囊、双歧杆菌乳杆菌三联活菌片）以治疗复杂疾病。相比之下，真菌益生菌具有真核结构，功能调控更为多样，因此其开发与应用潜力亟待进一步挖掘。硫磺菌是一类在自然界中广泛存在的真菌，其功效可涉及抗氧化、抗炎、抗肿瘤等多个方面，其中，朱红硫磺菌（*Laetiporus sulphureus*）作为一种药食两用真菌在机体生理调节的作用逐渐得到了广泛的重视。近年来朱红硫磺菌的免疫调节功能日益受到关注，其多糖具有刺激巨噬细胞吞噬的作用，展现出调节免疫活性的潜力^[17]；此外朱红硫磺菌子实体内含有的齿孔酸可应用于合成甾体药物（如肾上腺皮质激素），在抗炎与免疫方面有着重要的意义。目前，朱红硫磺菌在炎症性肠病，消化道溃疡的治疗中已显示出显著疗效。然而，其更广泛的作用仍有待进一步开发。出于对安全问题的考量，食物过敏原免疫治疗已经扩展到降低风险的代替疗法，研究发现设计用于靶向 Toll 样受体（Toll-like receptors, TLRs）途径的佐剂（TLR-9 和 TLR-4 激动剂，益生菌等）是代替传统治疗方法的方案之一^[6]。因此，针对该通路进行干预可能为 FA 的治疗提供新的思路。

本实验选用卵清白蛋白（ovalbumin, OVA）诱导 BALB/c 小鼠发生 FA 并使用朱红硫磺菌对小鼠进行干预，通过检测相关指标的变化以探讨朱红硫磺菌在 FA 中的作用及机制，以期为 FA 的防治提供新的靶点。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

SPF 级 BALB/c 雌性小鼠 6~8 周龄，40 只，20~22 g，辽宁长生生物有限公司[许可证编号：SYXK（辽）2024-0002，伦理证号：AEE24077]，正式实验之前小鼠进行为期一周的适应性饲养；卵清白蛋白（ovalbumin, OVA，批号：A5253）西格玛奥德里奇（上海）贸易有限公司；卡泊三醇软膏，朱红硫磺菌菌液 大连图腾生命科学发展公司；小鼠 mMCP-1 检测试剂盒（批号：KX30049-A）、小鼠 IgE 检测试剂盒（批号：KX2056-A）上海科兴生物科技有限公司；肥大细胞（甲苯胺蓝）染液（批号：D034-1-1）南京建成科技有限公司；中性树胶（批号：G8590）、浓缩胶缓冲液（批号：T1020）、分离胶缓冲液（批号：T1010）、30%制胶液（批号：A1010）北京索莱宝科技有限公司；PVDF 膜 美

国 Millipore 公司；BCA 蛋白浓度定量试剂盒 美国 Thermo Fisher Scientific 公司； β -actin(批号：66009-1-Ig)、TLR4(批号：466350-1-Ig) 美国 Proteintech 公司；MyD88(批号：WL02494) 沈阳万类生物科技有限公司；p-NF- κ B (ser536) (批号：bs-17502R) 北京博奥森生物技术有限公司；NF- κ B(批号：T55034) 艾比玛特医药科技(上海)有限公司。

FT3400 小鼠测温仪 淮北达斯加尔生物科技有限公司；MA204 电子天平 美国梅特勒-托利多公司；1SPA-0096 酶标仪 美国 Thermo Fisher Scientific 公司；Eppendorf 移液器、5804 R 冷冻离心机 德国 eppendorf 股份公司；掌上离心机 日本 TOMY 公司；KD-TS1A 组织脱水机 浙江科迪公司；KD-BLIV 包埋机冷台 浙江科迪公司；KD-2260 切片机 浙江科迪公司；KD-TK 摊烤片机 浙江科迪公司；MF52-N 倒置荧光显微镜 广州明美公司；TANKMPK01 Milli-Q 超纯水仪 上海乐枫生物科技有限公司；XB-130 制冰机 宁波新芝生物科技公司；HT-600D 电泳仪 北京鸿涛基业科技发展有限责任公司；SH- CUTE523 化学发光成像系统 杭州申花科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 实验动物及分组处理 实验周期内小鼠饲养于 SPF 内，实验开始前小鼠适应性喂养 7 d 并观察动物健康状况，每盒动物数为 5 只，动物盒内铺垫灭菌的软木材屑，动物实验室温度控制在 23~25 °C，相对湿度保持在 50%~60%，换气次数为每小时 12 次左右，光照为 12 h 亮/12 h 暗。动物饲料为棒状、烘干的饲料，实验周期内小鼠自由饮水。将 40 只雌性 BALB/c 小鼠按随机化原则分为 4 组，即对照组、FA 组、朱红硫磺菌预防组及朱红硫磺菌治疗组，每组 10 只。将 OVA 与卡泊三醇软膏按重量比 1:50 均匀混合；除对照组外，其余 3 组每只小鼠双耳部及背部皮肤各涂抹 20 mg 含有 400 μ g OVA 的软膏混合物，持续至实验结束，朱红硫磺菌预防组小鼠从建模开始起每天灌胃朱红硫磺菌菌液 (2×10^9 CFU/d)；朱红硫磺菌治疗组小鼠自 21 d 攻击后开始每天灌胃朱红硫磺菌 (2×10^9 CFU/d)，连续 4 w。分别于第 7 d, 14 d, 21 d, 28 d, 35 d, 42 d, 49 d 进行灌胃攻击，OVA 灌胃剂量为 50 mg/只。于第 21 d 起每次攻击前记录小鼠基础体温值及灌胃攻击 15 min 后体温，计算同一小鼠前后差值；每次攻击后 1 h 内，观察小鼠过敏症状。

1.2.2 动物行为学观察记录 OVA 攻击 1 h 内观察小鼠过敏症状，记录出现过敏症状的小鼠只数，过敏症状评价指标有：四肢、背、鼻周皮肤变红，快速搔抓和摩擦鼻周围及挠头 (>10 次)、腹泻^[18]。

1.2.3 小鼠样本收集 实验结束后使用三溴乙醇经腹腔给药麻醉小鼠后，剪去胡须，采用摘眼球的方法收集小鼠全血于 EP 管中室温静置 30 min 后在 4 °C，4000

r/min 的条件下离心 5 min 以收集血清样本。收集各小鼠同一部位肺及肠组织于福尔马林溶液中固定，其余部分分装后低温储存。

1.2.4 酶联免疫吸附试验 (Enzyme-linked immunosorbent Assay, ELISA) 血清样本按照 ELISA 说明书步骤进行实验操作，实验结束后于酶标仪 450 nm 处读数，使用标准曲线法根据所测得 OD 值计算小鼠血清 mMCP-1、IgE 的含量。

1.2.5 甲苯胺蓝染色 小鼠肺组织及肠组织固定后包埋。经脱蜡，水化，染液染色，水洗，分色后自然晾干，用中性树胶封片，镜检观察^[19]。

1.2.6 苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin staining, H&E) 染色法 从固定液中捞取肺、肠组织置于全自动组织脱水机进行组织脱水后浸蜡包埋，制备厚度为 4 μm 的石蜡切片，将石蜡切片依次进行脱蜡水化—苏木精溶液染色—盐酸乙醇分色—伊红染色—脱水—二甲苯浸润后，使用中性树胶进行封片^[20]。

1.2.7 蛋白质免疫印迹 (Western Blot, WB) 切取 30 mg 肺组织于 EP 管中加入 500 mL PBS 后剪碎；4 °C，4000 r/min，离心 5 min 后弃净上层清液；加入 500 μL 裂解液(裂解液组分为 RIPA:PMSF=1000:10)后使用组织研磨仪研磨；4 °C，14000 r/min 离心 15 min 后收集上清液 BCA 法标定计算样本蛋白浓度，加入蛋白质上样缓冲液后煮沸，所得即为肺组织全蛋白。

根据目的蛋白的分子量制备相应浓度的分离胶，进行电泳；300 mA 转印 1.5 h 后 10% 脱脂奶粉封闭 1.5 h；根据抗体说明书推荐比例稀释一抗(TLR4, 1:1000; p-NF-κB, 1:1000; NF-κB, 1:5000; β-actin, 1:5000; MyD88, 1:500) 4 °C 孵育后室温 1 h 孵育二抗；均匀滴加 ECL 发光液显影。使用 ImageJ 软件计算分析蛋白条带灰度值。

1.3 数据处理

本实验所得数据由至少 3 次重复独立实验所获取，实验结果以均数±标准差 ($\bar{X} \pm S$) 表示。TLR4, MyD88 的相对表达水平以其占 β-actin 的百分比表示；p-NF-κB 相对表达水平以占 NF-κB 百分比表示。使用统计软件 SPSS 26.0 对实验数据进行统计学分析，选用单因素分析 (One-way analysis of variance, One-way ANOVA) 以比较各个组之间的均数，选择 $P < 0.05$ 作为显著性差异衡量标准。将 $P < 0.05$ 确认为数据间具有显著差异，将 $P < 0.01$ 确认为数据间有极显著差异。

2 结果与分析

2.1 朱红硫磺菌对 FA 小鼠行为学的影响

为探讨 FA 过程中小鼠的改变及朱红硫磺菌的作用，本研究建立了 OVA 致 BALB/c 小鼠过敏模型并给予朱红硫磺菌菌液进行干预。通过观察记录小鼠灌胃

1 h 后的过敏症状发现, 对照组小鼠灌胃后无任何过敏表现, FA 组小鼠出现快速抓挠和摩擦鼻及挠头(>10 次), 皮肤变红以及腹泻, 表明小鼠 FA 模型建立成功。与 FA 组小鼠相比, 朱红硫磺菌预防组和治疗组小鼠发生上述过敏症状即快速抓挠和摩擦鼻及挠头, 皮肤变红以及腹泻的数量减少, 提示朱红硫磺菌可能缓解小鼠过敏症状 (图 1A-C)。

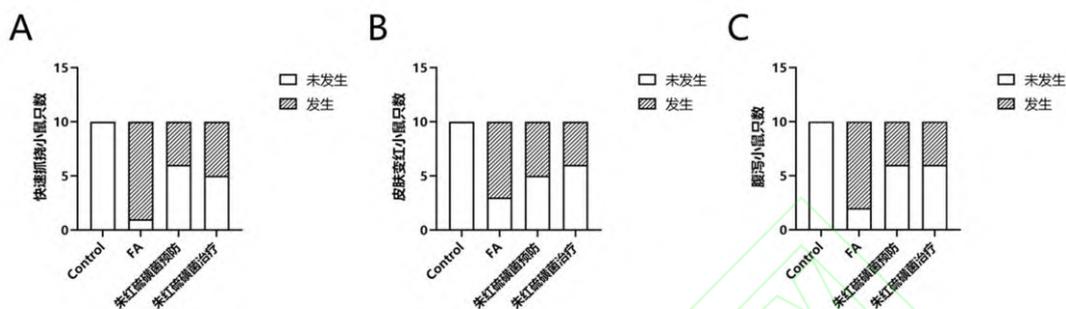


图 1 动物行为学监测

Fig 1 Animal behavioral monitoring

2.2 朱红硫磺菌对小鼠体温的影响

体温降低是过敏反应发生的标志之一^[21], 实验最后一天时测量每只小鼠基础体温和攻击 15 min 后体温并进行差值计算。灌胃攻击后, 与对照组相比 FA 组体温极显著降低约 1.42 °C ($P < 0.0001$), 而与 FA 组相比朱红硫磺菌预防组和治疗组小鼠体温降低分别为 0.52 °C 和 0.84 °C ($P < 0.01$, $P < 0.05$), 表明朱红硫磺菌可缓解由 OVA 所诱导的体温降低 (图 2)。值得注意的是, 预防组小鼠体温降低幅度低于治疗组 ($P < 0.05$), 提示朱红硫磺菌在 FA 进程中的预防性干预可能优于治疗性干预。

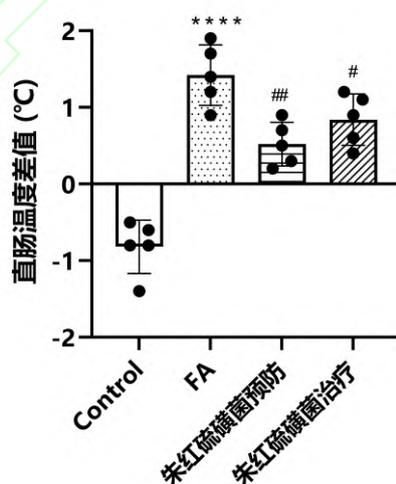


图 2 朱红硫磺菌对小鼠直肠温度的影响

Fig 2 Effect of *Laetiporus sulphureus* on rectal temperature in mice

注：数据均以 $\bar{X} \pm S$ 表示，****表示与对照组相比 $P < 0.0001$ ，#表示与FA组相比 $P < 0.05$ ，##表示与FA组相比 $P < 0.01$ 。

2.3 朱红硫磺菌缓解小鼠FA反应

MCP-1 在过敏反应中发挥着重要的作用，其水平与肥大细胞脱颗粒和过敏反应强度密切相关。图3血清学分析显示，FA组小鼠血清IgE和mMCP-1水平显著高于对照组($P < 0.0001$)证明FA发生；与FA组相比，经朱红硫磺菌干预后的预防及治疗组中均出现不同程度的IgE和mMCP-1水平降低，其中预防组IgE水平下降幅度明显高于治疗组($P < 0.01$)，表明预防性给药在缓解FA方面更具优势。

此外，在小鼠空肠病理切片中可以观察到，对照组肠管各层结构正常，黏膜、腺体完整，未见明显肥大细胞浸润。FA组肠管黏膜上皮不完整，局部可见脱落，蓝色箭头所示为肠黏膜损伤(图4A)，黏膜下层甲苯胺蓝染色可见肥大细胞浸润(红色箭头指示为肥大细胞脱颗粒，图4B)。在朱红硫磺菌预防组和治疗组中，肠管各层结构正常，黏膜完整腺体排列整齐，虽可见少量炎细胞但甲苯胺蓝染色未观测到肥大细胞浸润及脱颗粒情况(图4)，上述结果进一步表明朱红硫磺菌对FA的保护作用。

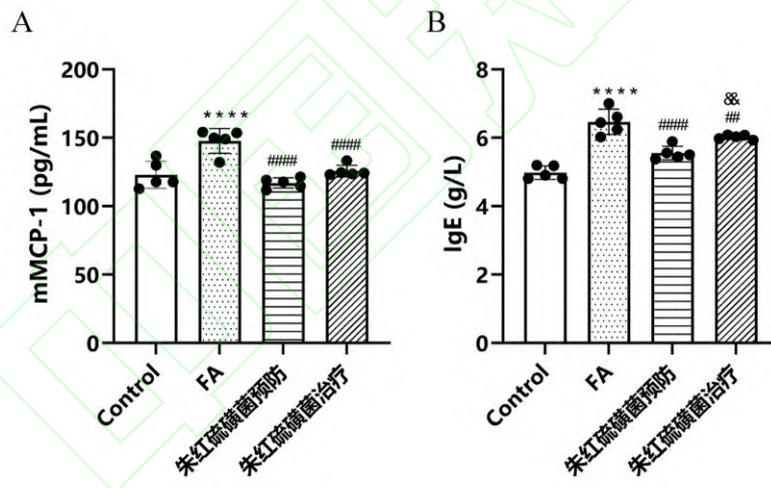


图3 小鼠血清中过敏相关指标的变化

Fig 3 Changes in allergy-related parameters in murine serum

注：数据均以 $\bar{X} \pm S$ 表示，****表示与对照组相比 $P < 0.0001$ ，####表示与FA组相比 $P < 0.0001$ ，##表示与FA组相比 $P < 0.01$ ，&&表示与朱红硫磺菌预防组相比 $P < 0.01$ 。

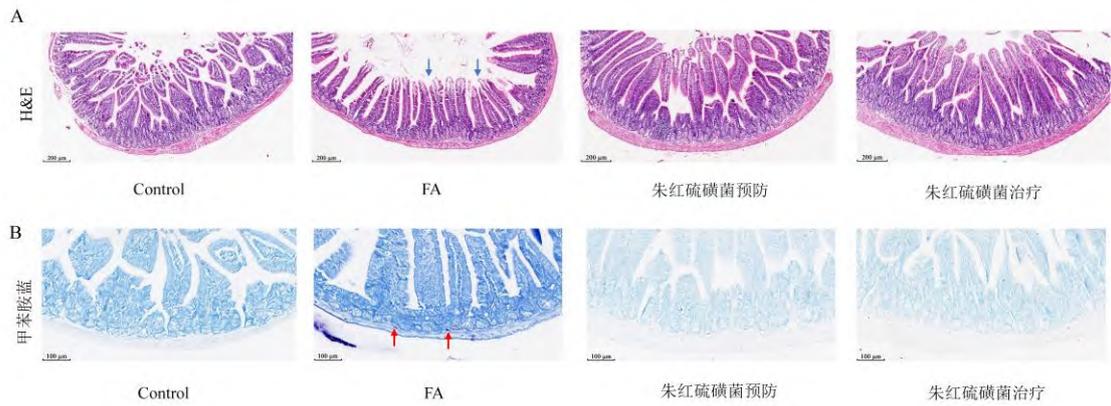


图 4 朱红硫磺菌可缓解 FA 所致肠道损伤

Fig 4 *Laetiporus sulphureus* alleviates food allergy-induced intestinal injury

2.4 朱红硫磺菌可经由 TLR4/NF- κ B/MyD88 通路缓解过敏所致的小鼠肺损伤

由图 5A-B 所示对照组肺组织结构正常，甲苯胺蓝染色未见明显肥大细胞浸润；FA 组肺部血管可见扩张充血（图 5A 蓝色箭头所示），甲苯胺蓝结果中显示肺支气管周围间质肥大细胞浸润并伴有明显脱颗粒（图 5B 红色箭头所示为肥大细胞）。朱红硫磺菌预防组肺血管扩张充血，朱红硫磺菌治疗组甲苯胺蓝可见肥大细胞浸润但无脱颗粒。

FA 可作用于机体各组织，其中对肺组织的影响常体现为炎症性疾病。本研究通过检测不同组别小鼠肺组织中 TLR4/NF- κ B/MyD88 信号通路相关指标，发现与对照组相比，OVA 的使用可导致 FA 组小鼠肺组织 TLR4 和 MyD88 表达量增加，NF- κ B 磷酸化水平显著增高。而与 FA 组相比，朱红硫磺菌预防组及朱红硫磺菌治疗组中 TLR4 和 MyD88 相对表达量及 NF- κ B 磷酸化水平均降低，表明 OVA 所诱发的 FA 可因朱红硫磺菌的两种不同处理而得到改善，以上结果提示朱红硫磺菌可通过 TLR4/NF- κ B/MyD88 通路缓解小鼠 FA 反应（图 5C-F）。

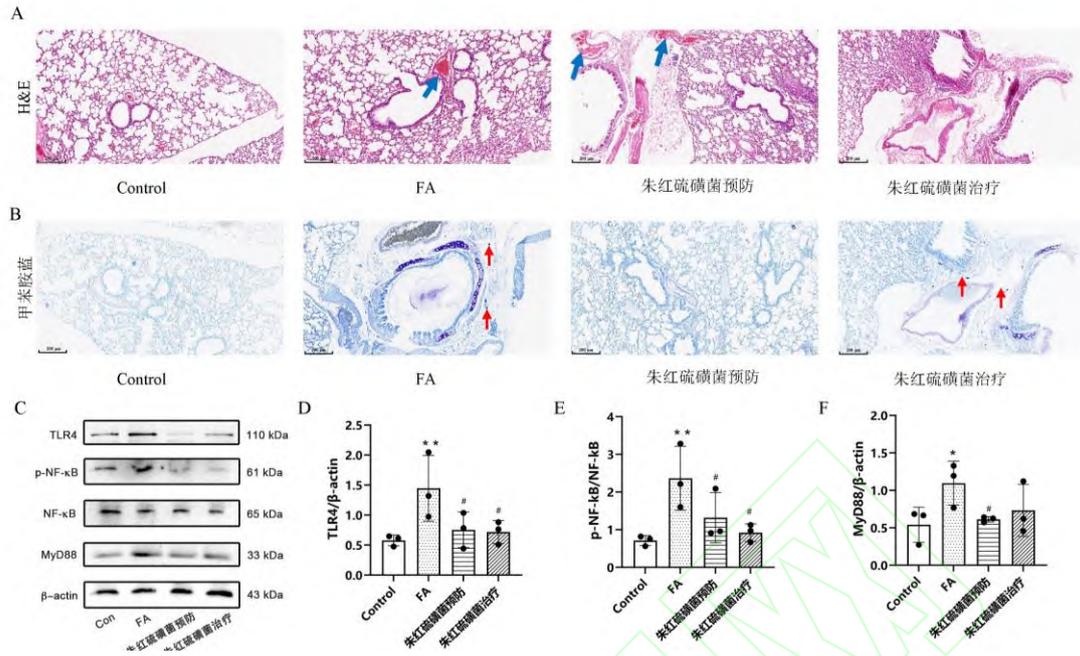


图 5 朱红硫磺菌可经 TLR4/NF- κ B/MyD88 通路缓解 FA 所致肺损伤

Fig 5 *Laetiporus sulphureus* alleviates food allergy-induced lung injury via the TLR4/NF- κ B/MyD88 signaling pathway

注：数据均以 $\bar{X} \pm S$ 表示，*表示与对照组相比 $P < 0.05$ ，**表示与对照组相比 $P < 0.01$ ，#表示与 FA 组相比 $P < 0.05$ 。

3 讨论

本实验通过 OVA 灌胃联合皮肤涂抹的方式建立 BALB/c 小鼠 FA 模型，并使用朱红硫磺菌对小鼠进行干预，研究发现真菌益生菌朱红硫磺菌能通过抑制 TLR4/NF- κ B/MyD88 信号通路，减轻 OVA 所诱导的炎症反应，从而有效缓解食物过敏症状。

FA 是由食物过敏原触发机体异常免疫应答所导致的病理状态，主要包括急性过敏反应和过敏反应、食物蛋白诱导的过敏性直肠结肠炎、食物蛋白诱导的小肠结肠炎综合征、食物依赖性、运动诱导的过敏反应和口腔过敏综合征（花粉-食物过敏综合征）^[22]。FA 可累及机体多个器官，根据发病机制可分为：（1）由 IgE 所介导的 I 型超敏反应，常于接触食物过敏原后 2 h 内引发；（2）非 IgE 介导的 FA；（3）混合 IgE 介导的 FA^[23]。FA 的典型特征包括：（1）上皮细胞通透性增加；（2）树突状细胞反应偏斜；（3）肥大细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞的募集；（4）诱导食物抗原特异性 IgE 的产生^[24-25]。因小鼠皮肤屏障在接触到致敏原后被破坏从而导致致敏性增加，而接触到致敏原的肠道可因渗透性增加而产生过敏反应，形成皮肤-肠道串扰^[18, 26]。OVA 是鸡蛋中的主要蛋白质，是广泛用于诱导动物过敏模型的模式抗原，因此在对 FA 的探究中常常使用 OVA 进行过敏反应的诱导^[27]。基于上述机制，本研究中采用涂抹联合 OVA 灌胃的方式破坏小鼠

皮肤屏障增强肠道致敏性, 辅以每周 OVA 灌胃增强模型稳定性, 进行小鼠 FA 模型的建立。模型有效性通过小鼠行为学变化(抓挠、皮肤变红、腹泻及体温降低), 血清中 IgE 和 mMCP-1 水平的升高, 以及肠道及肺组织病理损伤得到证实。

益生菌是一类可定殖在宿主体内, 通过调节菌群组成的而对宿主有益的活性微生物。本研究显示, 朱红硫磺菌干预后可显著减轻过敏症状, 其治疗潜力与益生菌 *F. prausnitzii* 显示在慢性肾病 (chronic kidney disease, CKD) 治疗以及益生元/后生元通过重塑肠道菌群缓解乳清蛋白诱导的大鼠 FA 中的作用类似^[28-29]。此外, 本研究中所证实的口服朱红硫磺菌可有效缓解小鼠肠道及肺组织的损伤这一结果, 与肠道微生物群可经“脑-肠-微生物群轴”调控机体疾病过程、肠道菌群可经“肠-肺轴”介导对肺组织的作用相吻合^[15, 30]。近些年来提出了肠道、呼吸道通过微生物和机体可形成双向串扰的理论^[31], 进一步支持了益生菌在 FA 治疗中的应用价值。

在机制层面, TLRs 通路是当前研究的焦点之一。Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 是 TLR 家族中的一员, 作为先天免疫中识别病原体相关分子模式的关键受体, 其信号传导主要依赖于骨髓分化因子 88 (myeloid differentiation factor 88, MyD88) —除 TLR3 外所有 TLR 的适配器^[32]。TLR4 识别特定的病原体相关分子模式, 在炎性刺激激活后, 招募 MyD88 并触发一系列反应, 进而导致 NF- κ B 磷酸化后通过调节促炎介质的转录和翻译来放大炎症反应^[33]。过敏反应可累肺部, 作为常见的靶器官其炎症反应与 TLR4/NF- κ B 信号通路的异常激活密切相关^[34-37]。已有研究发现, 在 BALB/c 小鼠过敏性哮喘和肺炎模型中, 益生菌和益生元可经由 TLR4/NF- κ B 信号通路发挥治疗作用^[36]。本研究结果显示, 在肺组织内因 FA 所致 TLR4/NF- κ B/MyD88 信号通路的激活, 可因给予朱红硫磺菌干预而得到了有效的抑制 ($P < 0.05$), 与已有研究相符。

4 结论

本研究通过皮肤-灌胃联合致敏方式, 成功构建了 OVA 诱导的小鼠 FA 模型, 从动物模型、组织病理及信号通路等多个维度上证实, 真菌益生菌朱红硫磺菌可有效的缓解 FA 反应, 其作用机制可能为抑制 TLR4/NF- κ B/MyD88 信号通路, 从而减轻炎症反应并促进修复组织损伤。此外, 朱红硫磺菌经由肠-肺轴介导的免疫调节作用, 为 FA 的防治提供了新策略和潜在治疗靶点, 进一步证实了朱红硫磺菌在过敏性疾病治疗中的应用潜力。

综上所述, 本研究不仅为 FA 的防治提供了新的益生菌资源, 也进一步深化了对微生物-肠-肺轴在免疫调节中作用机制的认识, 为益生菌的临床应用和人体微生态健康关系的深入探索提供了理论依据。

参考文献

- [1] WANG J, ZHOU Y, ZHANG H, et al. Pathogenesis of allergic diseases and implications for therapeutic interventions [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 138.
- [2] PETERS R L, KRAWIEC M, KOPLIN J J, et al. Update on food allergy [J]. *Pediatr Allergy Immunol*, 2021, 32(4): 647-657.
- [3] SICHERER S H, SAMPSON H A. Food allergy: A review and update on epidemiology, pathogenesis, diagnosis, prevention, and management [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2018, 141(1): 41-58.
- [4] 琚腊红, 赵丽云, 魏潇琪, 等. 中国 0~5 岁儿童食物过敏流行现状及影响因素分析 [J]. *中华流行病学杂志*, 2024, 45(6): 817-823. [JU L H, ZHAO L Y, WEI X Q, et al. Prevalence and influencing factors on food allergy among children aged 0-5 years in China [J]. *Chinese Journal of Epidemiology*, 2024, 45(6): 817-823.]
- [5] BAO R, HESSER L A, HE Z, et al. Fecal microbiome and metabolome differ in healthy and food-allergic twins [J]. *J Clin Invest*, 2021, 131(2): e141935.
- [6] VIRKUD Y V, WANG J, SHREFFLER W G. Enhancing the safety and efficacy of food allergy immunotherapy: A review of adjunctive therapies [J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2018, 55(2): 172-189.
- [7] TIAN X, LIANG X, HE H, et al. Probiotics alleviate food protein allergy in mice by activating tlr4 signaling pathway [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2023, 67(12): e2200579.
- [8] JAISWAL Y S, WILLIAMS L L. The rising incidence of food allergies and infant food allergies [J]. *Annu Rev Food Sci Technol*, 2025, 16(1): 269-287.
- [9] TANAKA M, KORENORI Y, WASHIO M, et al. Signatures in the gut microbiota of japanese infants who developed food allergies in early childhood [J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 2017, 93(8): fix099.
- [10] MOHAJERI M H, BRUMMER R J M, RASTALL R A, et al. The role of the microbiome for human health: From basic science to clinical applications [J]. *Eur J Nutr*, 2018, 57(Suppl 1): 1-14.
- [11] SHU S-A, YUEN A W T, WOO E, et al. Microbiota and food allergy [J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2019, 57(1): 83-97.
- [12] FIOCCHI A, CABANA M D, MENNINI M. Current use of probiotics and prebiotics in allergy [J]. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 2022, 10(9): 2219-2242.
- [13] GAO K, CHEN L, CHEN C, et al. *Leuconostoc mesenteroides* whh1141 ameliorates ovalbumin-induced food allergy in mice [J]. *J Food Sci*, 2023, 88(10): 4289-4304.
- [14] WEI Y, PENG J, WANG S, et al. Probiotics and the potential of genetic modification as a possible treatment for food allergy [J]. *Nutrients*, 2023, 15(19): 4159.
- [15] TANG J, XU L, ZENG Y, et al. Effect of gut microbiota on lps-induced acute lung injury by regulating the tlr4/nf-kb signaling pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 91: 107272.
- [16] KIM S-K, GUEVARRA R B, KIM Y-T, et al. Role of probiotics in human gut microbiome-associated diseases [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2019, 29(9): 1335-1340.
- [17] 丁祥. 珍稀食药真菌朱红硫磺菌多糖的分离纯化及其免疫调节活性的研究 [J]. *西华师范大学学报(自然科学版)*, 2013, 34(04): 311-317. [DING X. Extraction, purification and immune activity of polysaccharides from *Laetiporus sulphureus* (Fr.) Murrill var. *miniatus*

- (Jungh.) Imaz. eus (Fr.) [J]. Journal of China West Normal University (Natural Science), 2013, 34(04): 311-317.]
- [18] 费巧玲, 齐睿娟, 张小雨, et al. 经皮致敏小鼠肠道过敏模型的建立与评价 [J]. 中国实验动物学报, 2019, 27(05): 619-625. [FEI Q L, QI R J, ZHANG X Y, et al. Establishment and evaluation of a mouse model of intestinal allergy by epicutaneous sensitization [J]. Acta Laboratorium Animalis Scientia Sinica, 2019, 27(05): 619-625.]
- [19] 代小伟, 黄澜, 徐艳峰, et al. 甲苯胺蓝在组织染色中应用范围的拓展 [J]. 实验动物与比较医学, 2010, 30(06): 440-444. [DAI X W, HUANG L, XU Y F, 等. The application of toluidine blue in histological staining [J]. Laboratory Animal and Comparative Medicine, 2010, 30(06): 440-444.]
- [20] 袁振江, 张玉玲. 苏木精-伊红染色在病理诊断中的应用效果观察 [J]. 临床医药文献电子杂志, 2019, 6(01): 143. [YUAN Z J, ZHANG Y L. Hematoxylin-eosin staining in pathological diagnosis: a study on application effects [J]. Electronic Journal of Clinical Medical Literature, 2019, 6(01): 143.]
- [21] HARUSATO A, CHASSAING B, DAURIAT C J G, et al. Dietary emulsifiers exacerbate food allergy and colonic type 2 immune response through microbiota modulation [J]. Nutrients, 2022, 14(23): 4983.
- [22] SICHERER S H, WARREN C M, DANT C, et al. Food allergy from infancy through adulthood [J]. J Allergy Clin Immunol Pract, 2020, 8(6): 1854-1864.
- [23] EBISAWA M, ITO K, FUJISAWA T. Japanese guidelines for food allergy 2020 [J]. Allergol Int, 2020, 69(3): 370-386.
- [24] HARB H, CHATILA T A. Mechanisms of dupilumab [J]. Clin Exp Allergy, 2020, 50(1): 5-14.
- [25] MUÑOZ-BELLIDO F J, MORENO E, DÁVILA I. Dupilumab: A review of present indications and off-label uses [J]. J Investig Allergol Clin Immunol, 2022, 32(2): 97-115.
- [26] DE JONG N W, WICHERS H J. Update on nutrition and food allergy [J]. Nutrients, 2022, 14(10): 2137.
- [27] 王峥, 李秀敏, 苗晋鑫. 食物过敏小鼠模型研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(04): 570-577. [WANG Z, LI X M, MIAO J X. Advances in murine models for food allergies [J]. Acta Laboratorium Animalis Scientia Sinica, 2020, 28(04): 570-577.]
- [28] FENG L, GUO Z, YAO W, et al. Metagenomics and untargeted metabolomics analysis revealed the probiotic and postbiotic derived from lactiplantibacillus plantarum dpul f232 alleviate whey protein-induced food allergy by reshaping gut microbiota and regulating key metabolites [J]. J Agric Food Chem, 2024, 72(45): 25436-25448.
- [29] LI H-B, XU M-L, XU X-D, et al. Faecalibacterium prausnitzii attenuates ckd via butyrate-renal gpr43 axis [J]. Circ Res, 2022, 131(9): e120-e134.
- [30] KELLY J R, BORRE Y, O' BRIEN C, et al. Transferring the blues: Depression-associated gut microbiota induces neurobehavioural changes in the rat [J]. J Psychiatr Res, 2016, 82: 109-118.
- [31] 郭紫薇, 汪九重, 黄渤皓, et al. 基于“肠—肺”轴探讨中医药调控肠道菌群抗甲型流感病毒感染作用机制 [J]. 中国中西医结合杂志, 2025, 45(02): 229-234. [GUO Z W, WANG J C, HUANG B H, et al. Exploring mechanism of Chinese medicine in regulating gut microbiota against influenza A virus infection based on "gut-lung" axis [J]. Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine, 2025, 45(02): 229-234.]
- [32] PEREIRA M, DURSO D F, BRYANT C E, et al. The irak4 scaffold integrates tlr4-driven trif and myd88 signaling pathways [J]. Cell Rep, 2022, 40(7): 111225.

- [33] YANG J, ZHANG M, LUO Y, et al. Protopine ameliorates ova-induced asthma through modulating tlr4/myd88/nf-kb pathway and nlrp3 inflammasome-mediated pyroptosis [J]. *Phytomedicine*, 2024, 126: 155410.
- [34] ZHANG P. The role of diet and nutrition in allergic diseases [J]. *Nutrients*, 2023, 15(17): 3683.
- [35] HUANG L, LI Y, CHENG Z, et al. Pcsk9 promotes endothelial dysfunction during sepsis via the tlr4/myd88/nf-kb and nlrp3 pathways [J]. *Inflammation*, 2023, 46(1): 115-128.
- [36] WU Z, MEHRABI NASAB E, ARORA P, et al. Study effect of probiotics and prebiotics on treatment of ova-lps-induced of allergic asthma inflammation and pneumonia by regulating the tlr4/nf-kb signaling pathway [J]. *J Transl Med*, 2022, 20(1): 130.
- [37] LEITNER G R, WENZEL T J, MARSHALL N, et al. Targeting toll-like receptor 4 to modulate neuroinflammation in central nervous system disorders [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2019, 23(10): 865-882.

