论著

DOI:10.16016/j.1000-5404.201408120

特异益生菌株对变应性鼻炎患者的免疫调节作用

陈红江[1], 高明华[1], 邹 帆[1],李朝军[1],周维康[2],李奇林[3] (400014 重庆,重庆市第三人民医院:耳鼻咽喉科[1],过敏反应科[2],超声科[3])

[摘要] **目的** 探讨特异益生菌干预是否可以减少常年性变应性鼻炎(perennial allergic rhinitis, PAR)发作次数,减轻PAR症状;益生菌抑制PAR发病是否与肠道或全身免疫有关。**方法** 2013年春季和2014年春季(2-4月),我院收治PAR患者50例进入研究序列,每例患者允许获得独立编码的胶囊药物,每天确保口服胶囊1粒,连续3个月。益生菌组药物为益生菌胶囊,每粒含5×10^9 CFU(25%嗜酸乳杆菌和75%乳双歧杆菌)。对照组为纤维素胶囊。2组PAR患者均口服氯雷他定10 mg/d,治疗1个月。分别于治疗后1、3个月进行随访,完成以下指标检测:症状VAS评分、鼻腔分泌物及全血嗜酸性粒细胞测定,血清sIgE、细胞因子IL-4及IFN-γ浓度测定,粪便IgA浓度测定。**结果** 2组治疗前检测的上述指标差异无统计学意义($P>0.05$)。2组症状VAS评分在治疗后1个月均降低;治疗后3个月益生菌组评分低于对照组($P<0.05$)。治疗后1、3个月,益生菌组鼻腔分泌物嗜酸性粒细胞检出率较对照组明显降低($P<0.05$,$P<0.01$)。治疗后1、3个月,2组血清sIgE出现先上升后下降的现象,组间差异均有统计学意义($P<0.05$)。治疗后1个月,2组IL-4均上升,组间差异有统计学意义($P<0.05$);治疗后3个月IL-4升高被益生菌干预阻断,而对照组IL-4继续升高,组间差异有统计学意义($P<0.01$)。2组全血嗜酸性粒细胞计数和血清IFN-γ水平在治疗后1、3个月无明显变化($P>0.05$)。治疗后1、3个月,益生菌组粪便中IgA持续降低,而对照组IgA水平持续升高,组间差异有统计学意义($P<0.01$)。**结论** 口服特异益生菌组合能够减少PAR的发病,减轻鼻腔黏膜的变应性炎症。益生菌可能通过调节肠道或全身免疫状态,抑制PAR的发病。

[关键词] 益生菌;变应性鼻炎;肠道免疫

[中图法分类号] R765.21;R915;R967 [文献标志码] A

Immunomodulation effect of specific probiotics in allergic rhinitis patients

Chen Hongjiang[1], Gao Minghua[1], Zou Fan[1], Li Chaojun[1], Zhou Weikang[2], Li Qilin[3] ([1]Department of Otolaryngology, [2]Department of Allergy, [3]Department of Ultrasonography, Third People's Hospital of Chongqing, Chongqing, 400014, China)

[**Abstract**] **Objective** To study whether probiotic intervention can prevent perennial allergic rhinitis (PAR) and alleviate PAR symptoms, and to investigate whether probiotics prevent PAR by modulating gut or systematic immunity. **Methods** Fifty PAR patients were randomized to receive either probiotic capsules (probiotic group) containing 25% *Lactobacillus acidophilus* and 75% *Bifidobacterium lactis* or placebo cellulose capsules (control group) in a double-blind manner every day for one month. Loratadine (10 mg/d) was administered to all PAR patients for a month. The follow-up was done during the 1st month and 3rd month after treatment, and the symptom VAS scores, eosinophils of nasal swabs and whole blood, serum immunoglobulin E (IgE), serum interleukin-4 (IL-4), serum interferon-γ (IFN-γ), and fecal immunoglobulin A (IgA) were detected. **Results** There was no significant difference in all the parameters between the two groups before treatment ($P>0.05$). The symptom VAS scores were reduced in both groups during the 1st month, and the scores of the probiotic group were lower than those of the control group during

[基金项目] 重庆市卫生局面上项目(2012-2-223)

[通信作者] 李奇林,E-mail:chenhj_1999@163.com

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20141205.1532.105.html(2014-12-05)

the 3rd month ($P<0.05$). After treatment, the eosinophils of nasal swabs in the probiotic group were lower than those of the control group during the 1st and 3rd months ($P<0.05$, $P<0.01$). The serum IgE firstly increased and then decreased, with statistical difference between the 2 group ($P<0.05$). During the 1st and 3rd months, there was no significant difference in blood eosinophils and serum IFN-γ between the 2 groups ($P>0.05$). Serum level of IL-4 was increased during the 1st month, and the increase was prevented by probiotics during the 3rd month ($P<0.01$). Fecal IgA was increased in control group, whereas it was decreased in the probiotic group during the 1st and 3rd months ($P<0.01$). **Conclusion** The specific combination of probiotics can reduce the incidence of PAR and alleviate allergic inflammation in nasal mucosa by modulating gut or systematic immunity.

[**Key words**] probiotics; allergic rhinitis; gut immunity

Supported by the General Project of Medical Research of Chongqing Municipal Health Bureau (2012-2-223). Corresponding author: Li Qilin, E-mail: chenhj_1999@163.com

常年性变应性鼻炎(allergic rhinitis,PAR)是耳鼻咽喉头颈外科的常见病之一,是由IgE介导的鼻腔黏膜Ⅰ型变态反应性疾病。目前多数学者认为,PAR是一种免疫失衡性疾病,是体外环境因素作用于机体导致异常免疫反应,造成Th1和Th2细胞间免疫失衡而引发的以鼻腔黏膜Th2免疫反应为主的变应性炎症反应[1]。益生菌是活的微生物,特异的益生菌株可有效地预防和治疗过敏性湿疹,减轻局部和全身的过敏性炎症反应[2]。不同的益生菌株对变应性皮炎及肠道过敏疾病也有预防及治疗作用[3-5]。但目前益生菌株防治气道过敏性疾病如哮喘和PAR的相关研究不多。有研究表明口服特异益生菌株可通过诱导肠道免疫细胞的迁徙和改变细胞因子水平来调节呼吸道黏膜免疫功能[6]。据此,我们假设口服特异益生菌株可减轻PAR的症状,可通过调节PAR患者肠道或全身免疫功能来实现抑制PAR发病。我们选择在重庆地区气传花粉高峰季节(2-4月)[7],采用随机双盲对照试验,研究口服特异益生菌株治疗PAR的临床应用价值,探讨特异益生菌株治疗PAR的可能机制。

1 材料与方法

1.1 受试对象的选择与分组

选取在2013年春季和2014年春季(2-4月)我院收治的PAR患者50例随机进入临床试验研究,其中男性26例,女性24例,年龄18~63(39.4±4.6)岁,病程1~20(3.5±1.5)年,随机进入益生菌治疗组25例及安慰剂(纤维素)对照组25例。在研究过程中,益生菌治疗组有2例患者,对照组有1例患者不愿继续接受治疗,选择退出研究。每例PAR患者允许获得独立编码的胶囊药物,每天确保口服胶囊1粒,连续3个月。药物编码遵照随机双盲法。两组患者均口服氯雷他定10 mg/d,治疗1个月。参照2009年中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会鼻科学组和中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编辑委员会制定的《变应性鼻炎诊断和治疗指南》制定本研究所包含的PAR的纳入标准[8]:患者年龄≥18岁;临床诊断为PAR,行皮肤点刺试验(skin prick test,SPT)或血清特异性IgE(specific IgE, sIgE)检测,至少有1种花粉类变应原阳性,有或无1种以上其他变应原阳性;1个月内未接受任何相关药物和其他治疗。排除标准:确诊哮喘的患者;患者配合性差,不愿配合治疗。剔除标准:不愿意继续接受研究的患者;治疗期间出现与PAR疾病无关的全身性严重不良反应者。本研究经医院伦理委员会批准,受试者均签署知情同意书。

1.2 试验药物

益生菌胶囊每粒含5×10^9 CFU(25%嗜酸乳杆菌NCFM(ATCC700396)和75%乳双歧杆菌B1-07(ATCC SD5219),产自美国丹尼斯克公司。安慰剂为纤维素胶囊。

1.3 变应性鼻炎症状评分

根据2009年《变应性鼻炎诊断和治疗指南》,采用视觉模拟评分法(visual analogue scale,VAS)对治疗前后的总体症状和鼻部症状严重程度进行评估。PAR患者症状评分采用VAS,包括12个项目:鼻塞、鼻痒、喷嚏、鼻涕、眼痒、流泪、眼痛、眼红肿、咳嗽、喘息、憋气、压榨感。评估时采用0~10 cm长的标尺标注,0~10分表示患者相应症状的严重程度,"0"分代表无此种症状,"10"分代表此种症状最严重。嘱患者根据最近1周的症状表现,在标尺上标出该症状所得的分数。

1.4 鼻腔分泌物嗜酸性粒细胞显微镜检查

用棉签拭擦双侧鼻腔中、下鼻甲,取鼻腔分泌物涂片、固定及亚甲蓝染色,进行嗜酸性粒细胞显微镜检查。-:无嗜酸性粒细胞在任何视野;+:某些视野见少量嗜酸性粒细胞在;++:所有视野可见嗜酸性粒细胞;+++:所有视野见大量嗜酸性粒细胞。

1.5 全自动血细胞计数仪测定全血嗜酸性粒细胞浓度

抽取静脉血3~5 mL,全自动血细胞计数仪测定血液中嗜酸性粒细胞浓度。

1.6 血清sIgE检测

抽取静脉血3~5 mL,经1 300 r/min离心10 min,分离得到血清,置-70 ℃冰箱保存待测。采用Immuno CAP 100 E过敏原检测系统(瑞典Phadia公司)检测血清sIgE。

1.7 血清细胞因子IL-4及IFN-γ浓度测定

同上述方法取得血清,采用ELISA检测血清IL-4和IFN-γ。ELISA试剂盒均购置美国R&D公司。步骤按试剂盒说明书进行。

1.8 粪便IgA浓度测定

取粪便称质量,按1∶10加入0.01 mol/L,pH 7.4 PBS,漩涡振荡器充分振荡5 min,以10 000×g低温离心30 min,取上清液-30 ℃冰冻保存待用。采用ELISA测定IgA浓度,步骤按试剂盒说明书进行。

1.9 统计学分析

采用SPSS 16.0统计软件,计量资料以$\bar{x}\pm s$表示,组间比较行方差分析,计数资料行χ^2检验。

2 结果

2.1 2组患者症状VAS评分

益生菌组和对照组均有部分患者出现鼻塞、鼻痒、眼痒、打喷嚏及流清涕等至少2种及以上PAR症状。治疗前及治疗后1个月两组患者评分差异无统计学意义($P>0.05$),治疗后3个月评分差异有统计学意义($P<0.05$,表1)。

表1 益生菌组和对照组治疗前后症状VAS评分

(分,$\bar{x}\pm s$)

组别	例数	治疗前	1个月	3个月
益生菌组	23	5.10±1.24	2.38±1.47	3.04±1.23[a]
对照组	24	5.34±1.71	2.24±1.71	4.31±1.11

a:$P<0.05$,与对照组比较

2.2 2组患者鼻腔分泌物嗜酸性粒细胞显微镜检出率情况

治疗前两组患者鼻腔分泌物涂片嗜酸性粒细胞检出率无统计学差异($P>0.05$),治疗后1、3个月益生菌组患者鼻腔分泌物嗜酸性粒细胞的检出率与对照组比较明显下降($P<0.05$,$P<0.01$,表2)。

表2 益生菌组和对照组鼻腔分泌物嗜酸性粒细胞检出率

[例(%)]

组别	例数	治疗前	1个月	3个月
益生菌组	23	23(100.0)	10(43.5)[a]	9(39.1)[b]
对照组	24	24(100.0)	13(54.2)	18(75.0)

a: $P<0.05$,b:$P<0.01$,与对照组比较

2.3 益生菌干预对免疫参数的影响

治疗前全血嗜酸性粒细胞计数,血清sIgE、IL-4和IFN-γ,大便IgA指标在两组间差异无统计学意义($P>0.05$)。在治疗后1、3个月,两组血清sIgE均先上升后下降,两个时点组间差异显著($P<0.05$)。在治疗后1个月,两组血清IL-4均较治疗前上升。在治疗后3个月,血清IL-4持续升高被益生菌干预阻断,而对照组IL-4水平继续升高,组间比较有统计学差异($P<0.01$)。在治疗后1个月和3个月,两组间全血嗜酸性粒细胞计数和血清IFN-γ水平无明显变化($P>0.05$);益生菌组粪便中IgA持续降低,而对照组IgA持续升高,组间差异有统计学意义($P<0.01$,表3)。

表3 益生菌组和对照组治疗前后免疫参数变化

($\bar{x}\pm s$)

指标	例数	治疗前	1个月	3个月
sIgE(kU/L)				
益生菌组	23	25.10±9.13	40.41±15.92[a]	36.10±17.54[a]
对照组	24	25.98±7.82	51.22±13.12	44.70±19.37
全血嗜酸性粒细胞(×10^9/L)				
益生菌组	23	0.32±0.13	0.41±0.14	0.43±0.17
对照组	24	0.29±0.12	0.44±0.12	0.44±0.15
血清IL-4(pg/mL)				
益生菌组	23	8.09±0.80	10.41±0.90[a]	8.21±0.80[b]
对照组	24	8.48±0.70	12.50±1.18	16.10±0.60
血清IFN-γ(pg/mL)				
益生菌组	23	0.20±0.10	0.21±0.12	0.20±0.07
对照组	24	0.17±0.11	0.20±0.14	0.19±0.04
大便IgA(μg/g)				
益生菌组	23	164.0±58.5	151.0±48.9[b]	127.7±51.3[b]
对照组	24	163.2±68.2	190.4±61.1	221.1±62.5

a:$P<0.05$,b:$P<0.01$,与对照组比较

3 讨论

PAR的发病机制目前尚不完全清楚,目前多数学者认为,PAR是体外环境因素作用于机体引发的以鼻腔黏膜Th2免疫应答为主的变应性炎症疾病。Th1细胞主要分泌IL-2、IL-12、IFN-γ等,通常称为Th1类细胞因子,其中IFN-γ是其特征因子,参与细胞免疫,是迟发型变态反应中重要的效应细胞。Th2细胞主要分泌IL-4、IL-5、IL-6、IL-9、IL-10等,统称为Th2类细胞因子,其中IL-4是其特征因子,主要参与体液免疫,引起速发型变态反应。正常情况下,Th1和Th2细胞处于相对平衡状态。当机体受到变应原刺激时,平衡被打破,引起Th1/Th2比例发生明显的漂移。Th2细胞产生IL-4等Th2类细胞因子,作用于B淋巴细胞、肥大细胞、嗜酸性粒细胞及树突细胞等炎性细胞,特别是

促进嗜酸性粒细胞在鼻腔黏膜的浸润及促进炎症细胞释放炎症介质,炎症介质级联反应最终导致变应性鼻炎症状出现。

正常人血清 IgE 浓度水平极低,而 PAR 患者血清中 IgE 水平较高[9]。本研究 PAR 患者给予益生菌干预治疗后 1 个月和 3 个月血清 sIgE 水平低于对照组,提示益生菌干预可降低血清 sIgE 水平。本研究发现益生菌组患者鼻腔分泌物涂片的嗜酸性粒细胞检出率明显少于对照组;文献[10]报道鼻腔分泌物的嗜酸性粒细胞浸润程度与 PAR 疾病的严重程度呈正相关,提示益生菌干预可能通过抑制嗜酸性粒细胞在鼻黏膜的浸润来抑制鼻腔变应性炎症。

本研究采用的益生菌株不但证实对肠道过敏性疾病有治疗作用[11],还可通过诱导肠道免疫细胞的迁徙和改变全身细胞因子的水平来调节呼吸道黏膜免疫[6]。有研究表明该益生菌株可降低血清 IL-6 水平,抑制 Th2 型免疫应答,减轻季节性 PAR 的发病和症状[12]。另有研究表明该益生菌株可升高血清 IL-12 水平,促进了 Th1 型免疫应答,使 Th1/Th2 比例发生明显的漂移,发挥抑制 PAR 变应性炎症作用[13]。本研究结果显示,益生菌组血清 IFN-γ 水平较对照组无明显差异,提示益生菌干预未能刺激 PAR 患者 Th1 免疫应答增强;而益生菌组血清 IL-4 水平较对照组显著降低,IFN-γ/IL-4 比值较对照组显著升高,提示益生菌干预通过降低血清 IL-4 水平,升高 IFN-γ/IL-4 比值,抑制 Th2 型免疫应答,调节 Th1/Th2 平衡向 Th1 方向转化,发挥抑制鼻腔黏膜变应性炎症作用。

粪便中 IgA 可以反映肠道黏膜免疫状态[14]。有趣的是,我们发现两组 PAR 患者粪便中 IgA 水平在治疗前后发生显著变化。本研究表明,粪便中 IgA 在 PAR 症状出现后明显升高,而 IgA 升高在益生菌干预后受到明显抑制。上述结果提示在 PAR 发作期间,肠道黏膜免疫活跃,但通过益生菌干预,肠道黏膜免疫受到抑制,提示益生菌可能通过调节肠道免疫状态抑制或减轻 PAR 发病。

综上所述,本研究表明,口服益生菌组合(25% 嗜酸乳杆菌 NCFM 和 75% 乳双歧杆菌 B1-07)能够降低常年性 PAR 的发病,可以显著改善 PAR 症状和改善鼻腔黏膜的变应性炎症,推荐作为 PAR 预防和治疗的重要补充手段。益生菌可能通过调节肠道免疫状态,降低血清 IL-4 水平,抑制 Th2 型反应,调节 Th1/Th2 平衡向 Th1 方向转化,抑制 PAR 的发病。

参考文献:

[1] Fujimura T, Okamoto Y. Antigen-specific immunotherapy against allergic rhinitis: the state of the art[J]. Allergol Int, 2010, 59(1): 21 - 31.

[2] Du-Toit G, Lack G. Can food allergy be prevented? The current evidence[J]. Pediatr Clin North Am, 2011, 58(2): 481 - 509, xii.

[3] Kukkonen K, Kuitunen M, Haahtela T, *et al*. High intestinal IgA associates with reduced risk of IgE-associated allergic diseases[J]. Pediatr Allergy Immunol, 2010, 21(1 Pt 1): 67 - 73.

[4] Kim S O, Ah Y M, Yu Y M, *et al*. Effects of probiotics for the treatment of atopic dermatitis: a meta-analysis of randomized controlled trials[J]. Ann Allergy Asthma Immunol, 2014, 113(2): 217 - 226.

[5] Ivory K, Wilson A M, Sankaran P, *et al*. Oral delivery of a probiotic induced changes at the nasal mucosa of seasonal allergic rhinitis subjects after local allergen challenge: a randomised clinical trial[J]. PLoS One, 2013, 8(11): e78650.

[6] Marranzino G, Villena J, Salva S, *et al*. Stimulation of macrophages by immunobiotic Lactobacillus strains: influence beyond the intestinal tract[J]. Microbiol Immunol, 2012, 56(11): 771 - 781.

[7] 钱迪, 洪苏玲, 杨玉成, 等. 重庆地区变应性鼻炎患者变应原谱分析[J]. 重庆医科大学学报, 2008, 33(5): 531 - 535.

[8] 中华耳鼻喉头颈外科杂志编委会鼻科组, 中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会鼻科学组. 变应性鼻炎诊断和治疗指南(2009 年,武夷山)[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2009, 44(12): 977 - 978.

[9] Klimek L, von-Bernus L, Pfaar O. Local (exclusive) IgE production in the nasal mucosa. Evidence for local allergic rhinitis[J]. HNO, 2013, 61(3): 217 - 223.

[10] Gelardi M, Peroni D G, Incorvaia C, *et al*. Seasonal changes in nasal cytology in mite-allergic patients[J]. J Inflamm Res, 2014, 7: 39 - 44.

[11] Ki Cha B, Mun Jung S, Hwan Choi C, *et al*. The effect of a multispecies probiotic mixture on the symptoms and fecal microbiota in diarrhea-dominant irritable bowel syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial[J]. J Clin Gastroenterol, 2012, 46(3): 220 - 227.

[12] Koyama T, Kirjavainen P V, Fisher C, *et al*. Development and pilot evaluation of a novel probiotic mixture for the management of seasonal allergic rhinitis[J]. Can J Microbiol, 2010, 56(9): 730 - 738.

[13] Ouwehand A C, Nermes M, Collado M C, *et al*. Specific probiotics alleviate allergic rhinitis during the birch pollen season[J]. World J Gastroenterol, 2009, 15(26): 3261 - 3268.

[14] Nermes M, Kantele J M, Atosuo T J, *et al*. Interaction of orally administered Lactobacillus rhamnosus GG with skin and gut microbiota and humoral immunity in infants with atopic dermatitis[J]. Clin Exp Allergy, 2011, 41(3): 370 - 377.

(**收稿**:2014-08-17;**修回**:2014-10-16)

(编辑 龙 亮)