技术方法 文章编号:0253-3626(2009)06-0739-04

单一屋尘螨特异性免疫治疗变应性鼻炎的免疫机制探讨

刘 虹[1],洪苏玲[1],杨玉成[2],刘鸿翔[2],申 迹[2]
(1.重庆医科大学附属第一医院耳鼻咽喉科,重庆 400016,2.第三军医大学西南医院心胸外科,重庆 400037)

【摘 要】目的:探讨单一屋尘螨变应原疫苗(简称,阿罗格)特异性免疫治疗常年性变应性鼻炎的疗效、安全性及可能机制。方法:常年性变应性鼻炎(Perennial allergic rhinitis,PAR)患者 30 例,其中对屋尘螨呈强阳性的患者 18 例(A 组),对花粉、真菌等呈强阳性的患者 12 例(B 组),健康对照组 20 例,对比观察各组阿罗格特异性免疫治疗变应性鼻炎前后症状、体征、临床疗效,同时检测血清 IL-4、IL-10、IFN-γ、TGF-β_1 和特异性 IgE(sIgE)等免疫学指标的变化情况。结果:(1)30 例 PAR 患者,特异性免疫治疗后总有效率 83.3%(25 例),显效率 60.0%(18 例),无效率 6.0%(2 例)。(2)30 例常年性变应性鼻炎患者共进行 990 次脱敏治疗,1 例发生全身反应,共发生 2 次,总发生率 0.2%(2/990),14 例发生局部反应,共发生 14 次,总发生率 1.4%(14/990),局部和全身反应均较轻。(3)与治疗前相比,治疗后血清 IFN-γ、TGF-β_1 治疗后升高,但没有恢复到健康对照组水平,较健康对照组低;而 IL-4、IL-10 降低,但比健康对照组高;sIgE 较治疗前明显下降,治疗前后各项指标比较均有统计学意义($P<0.01$)。但 A 组、B 组各项指标比较,无统计学意义($P>0.05$)。结论:阿罗格屋尘螨变应原特异性免疫治疗变应性鼻炎是一种安全有效的方法,能调节变应性鼻炎患者体内 Th1/Th2 细胞因子的失平衡状态,并可能与血清中其他特异性抗体发生交叉抗原反应,这为变应性鼻炎免疫治疗提供了理论依据。

【关键词】变应性鼻炎;变应原特异性免疫治疗;阿罗格屋尘螨变应原疫苗;共同抗原;交叉反应
【中国图书分类法分类号】R765.21 【文献标识码】A 【收稿日期】2008-10-08

作者介绍:刘 虹(1979-),女,硕士,
研究方向:特异性免疫治疗变应性鼻炎。
通讯作者:洪苏玲,女,教授,E-mail:hsl-prof@163.com。
基金项目:国家"十五"攻关项目(2004BA720A19-02)。

GH 能在微乳介导下穿透毛囊进入皮肤。选取的 PC 具有特有的多分子聚集结构,能与 IPM 形成相互缠绕的网络结构[13],增加GH在油相的溶解度,可形成较高的浓度梯度,从而得到较高的透皮速率。由此表明,微乳具有促进GH经皮渗透作用,有望成为 GH的新型透皮给药制剂。

参 考 文 献

[1] 柳正青,胡晋红,朱全刚.盐酸格拉司琼巴布剂的制备及大鼠透皮释药性能研究[J].中国医药工业杂志,2006,37(8):534-536.
[2] 张立超,胡晋红.微乳透皮给药系统的研究进展[J].国外医学药学分册,2004,31(1):44-48.
[3] 陈华兵,翁 婷,常雪灵,等.布洛芬微乳的制备及其透皮吸收研究[J].中国药学杂志,2004,39(1):43-45.
[4] Changez M,Varshney M. Aerosol - OT microemulsions as transdermal carriers of tetracain hydrochlorid[J] .Drug Dev Ind Pharm,2000,26(5):507-512.
[5] Rheer S,Choi J G,Park E S,et al.Transdermal delivery of ketoprofen using microemulsion[J].Int J Pharm,2001,228(1/2):161-170.
[6] 陆杨燕,夏 强,夏 勇,等.载药微乳液相行为的研究[J].物理化学学报,2005,21(1):98-101.
[7] YUAN Y,LI S M,YU L M,et al.Physicochemieal properties and evaluation of microemulsion systems of transdermal delivery meloxicam[J].CHEM.RES.CHINESE U.,2007,23(1):81-86.
[8] Varaporn B J,Prapaporn B b,Sarunyoo S,et al.Transdermal delivery of hydrophobic and hydrophilic local anesthetics from o/w and w/o Brij 97-based microemulsions[J].J Pharm Pharmaceut Sci,2007,10(3):288-298.
[9] 陈 玲,周建平.微乳的处方因素对伊维菌素体外透皮性能的影响[J].中国药学杂志,2006,41(15):1154- 1157.
[10] Paolino D,Ventura CA,Nistico S,et al.Lecithin microemulsions for the topical administration of ketoprofen percutaneous absorption through human skin and in vivo human skin tolerability[J].Int J Pharm,2002,244(1-2): 21-31.
[11] 陈华兵,翁 婷,杨祥良.微乳在现代药剂学中的研究进展[J].中国医药工业杂志,2004,35(8):502-506.
[12] 王晓黎,蒋雪涛.微乳在药剂学上的应用[J].解放军药学学报,2000,16(2):88-91.
[13] Dreher F,Walde P,Luisi PL,et al.Human skin irritation studies of a lecithin microemulsion gel and of lecithin liposomes[J]. Skin Pharmacol,1996,9(2):124-129.

(责任编辑:关蕴良)

Investingation of immune mechanism of only house dust mite Allergen-specific immunotherapy for allergic rhinitis

LIU Hong, et al

(*Department of Otolaryngology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the efficiency, safety and immune mechanism of only house dust mite allergen vaccine for the treatment of perennial allergic rhinitis patients. *Methods*: 30 patients with perennial allergic rhinitis were selected, 18 of them were strong positive to dermatophagoides pteronyssinus (group A) and the other 12 patients were strong 3positive to pollen and fungus and et al (group B). The symptom scores and efficiency and the levels of serum IL-4, IL-10, IFN-γ, TGF-β_1, and sIgE before and after the allergen-specific immunotherapy in the group of 30 patients were compared with the controlled one with 20 healthy people. *Results*: 1. Among the thirty patients with perennial allergic rhinitis after the treatment, the total effective rate is 83.33%, the markedly effective rate is 60.0%, and the ineffective rate is 6.0%. The patients were treated by the subcutaneous injection for 990 times. The number of the patients who got systemic side-effects was 1 with twice occuring in total, the incidence is 0.1%(2/990); The number of local side-effects were 14 cases with 14 times occuring in total, the incidence is 1.4%(14/990), but both the local and systemic side-effects were slight. 2. The symptom scores of the 30 patients was (4.20 ± 2.21) after therapy, the difference was statistically significant ($P<0.01$) compared with the former therapy. The levels of IL-4, IL-10 after the treatment was significantly lower than that of pre-treatment, but still higher than the healthy controlled group($P<0.01$), while the levels of IFN-γ, TGF-β_1 after the treatment is obviously higher than that of pre-treatment, but still lower than the healthy controlled group ($P<0.01$). Comparing the level of sIgE in post-treatment with that in pre-treatment, there was a significant difference between them by statistics evaluation ($P<0.01$). 3. The symptom scores of group A after treatment was(4.12 ± 2.11); that of group B was (4.56 ± 2.30), There was no significant difference in statistics ($P>0.05$). There was no statistically significant difference in the levels of IL-4, IL-10, IFN-γ, TGF-β_1 and sIgE between group A and group B ($P>0.05$). *Conclution*: The NHD house can modulate a imbalanced status of Th1/Th2 cells, Some common antigens are contained in both the dermatophagoides pteronyssinus and other allergens: pollen, fungus, et al, which are able to combine with the specific antibodies in serum. This study provides a theoretical basis for the allergen-specific immunotherapy for allergic rhinitis.

【Key words】Perennial allergic rhinitis; Allergen-specific immunotherapy; Only house dust mite allergen vaccine; Common antigen; Cross-reaction

变应性鼻炎(Allergic rhinitis, AR)是常见的耳鼻咽喉科疾病,平均发病率在 10%～25%左右。近年研究认为,AR 的发病机制可能与 Th1/Th2 细胞活性失衡密切相关[1],这为临床特异性免疫治疗提供了理论依据。ARIA(2008)已将特异性免疫治疗列为 AR 的主要治疗方法之一[2]。免疫注射的单纯屋尘螨变应原疫苗(即阿罗格,Novo-helisen Depot,简称 NHD)是德国默克集团公司研制生产的长效变应原疫苗,是一种国际运用的标准化变应原疫苗,但国内应用标准化变应原疫苗治疗 AR 的疗效及机制报告较少。阿罗格治疗 AR,观察尘螨、花粉、真菌等一种或多种变应原过敏的 AR 患者治疗后的临床疗效及副反应,并观察是否存在尘螨与其他特异性抗体发生交叉抗原反应及免疫调节机制,为临床阿罗格变应原免疫治疗 AR 提供临床及实验依据。

1 对象和方法

1.1 对象

根据 2004 年兰州会议制定的《变应性鼻炎的诊治原则和推荐方案》[3]中的诊断标准。从 2007 年 8 月至 2007 年 12 月,在重庆医科大学附属第一医院耳鼻咽喉科门诊随机选择 30 例常年性变应性鼻炎(Perennial allergic rhinitis, PAR)患者男 10 例,女 20 例,年龄 5~77 岁,平均 36 岁,病程 1~20 年,平均 7.5 年。其中对屋尘螨呈强阳性的患者 18 例(A 组),对花粉、真菌等呈强阳性的患者 12 例(B 组)。20 例健康对照组来自在校大学生。以上实验对象均无心脏病、肝病、肾病、糖尿病等病史,健康对照组无过敏性疾病。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法 采用德国默克公司生产的阿罗格,对 30 例 PAR 患者进行脱敏治疗。变应性鼻炎的特异性免疫治疗主要有皮下免疫治疗和舌下免疫治疗,前者已用于临床多年,是免疫治疗的主要方式。后者因缺乏充分的实验研究证实其疗效,尚未普及。我们采用的是皮下注射免疫治疗,具体方法参照阿罗格说明书及文献方法[4]。

1.2.2 标本检测 于治疗前及治疗结束后 1 月内采集静脉血 5 ml,于 20～28℃室温静置,沉淀 30～60 min,4℃ 4 000 r/min 离心 10 min,取血清置冰箱 -20℃保存待测。治疗前后血清 IL-4、IL-10、IFN-γ 和 TGF-β_1 检测采用 ELISA 法(双抗体夹心法)。由深圳晶美生物公司提供试剂盒,采用 ZS 一板式酶标仪,实验步骤严格按照试剂盒说明书进行。治疗前后血清 SIgE 的水平,采用瑞典 Pharmacia 公司提供的 Uni-

CAP100 型免疫荧光定量全自动分析系统检测。

1.3 不良反应观察

每次脱敏注射后，观察 30 min，记录局部及全身反应情况，观察项目包括：①局部反应，主要指注射局部产生的红斑、肿胀、丘疹、局部瘙痒、局部疼痛、局部硬结；②全身反应，主要为注射后远离注射局部出现的症状如荨麻疹或全身瘙痒、鼻炎、眼痒红、哮喘症状发作及过敏性休克等。若以上症状同时发生 2 项或以上时，则分别计数。

1.4 统计学分析

实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 和百分率表示，采用 SPSS10.0 统计软件，显著性检验计量资料采用 t 检验，计数资料采用 χ^2 检验，$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 症状、体征评分

本研究 30 例 PAR 患者，全部完成全程治疗，均出现不同程度的症状缓解，治疗后显效率 30.00%(9/30)，有效率 53.33%(16/30)，总有效率 83.33%，无效率 10.00%(3/30)。治疗前症状、体征评分(9.41 ± 1.42)，治疗后症状、体征评分(4.20 ± 2.21)，两者比较有显著性差异($P<0.01$)，见表 1。A 组治疗后症状、体征评分(4.80 ± 2.11)，B 组(4.12 ± 2.30)，差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.2 免疫学指标检测

30 例 PAR 患者治疗前后及健康对照组血清中 IL-4、IL-10、IFN-γ、TGF-β_1 及 sIgE 含量测定结果见表 2。与治疗前相比，治疗后血清 IFN-γ、TGF-β_1 水平升高，但比健康对照组低；而 IL-4、IL-10 降低，但比健康对照组高，差异均有统计学意义($P<0.01$)；血清 sIgE 治疗后明显降低，但比健康对照组高，差异有统计学意义($P<0.01$)。

治疗后 A 组与 B 组血清中 IL-4、IL-10、IFN-γ、TGF-β_1 及 sIgE 水平测定结果见表 3。A 组与 B组免疫学指标 IL-4、IL-10、IFN-γ、TGF-β_1 及血清 sIgE 水平无明显差异($P>0.05$)，A 组、B 组与健康对照组比较 IL-4、IL-10 水平下降，IFN-γ、TGF-β_1 水平升高，差异有统计学意义($P<0.01$)；血清 sIgE 水平均明显下降，差异有统计学意义($P<0.01$)。

2.3 不良反应发生率

30 例 PAR 患者共进行 990 次脱敏治疗，在治疗剂量递增阶段和维持阶段都没有出现过敏性休克等严重的全身不良反应。1 例在注射 48 h 后出现全身荨麻疹，严密监控下退格注射未再观察到不良反应的发生并完成了 33 周的治疗，共发生 2 次，总发生率 0.1%(2/990)，14 例局部观察到皮肤发红和肿块，肿块直径小于 5 cm，均于 72 h 内自行消失，无特殊处理，共发生 14 次，总发生率 1.4%(14/990)。同国内报道一致[5,6]。

表 1 治疗前后症状、体征评分比较

分组	例数	鼻痒	喷嚏	流清涕	鼻塞	体征	总分
治疗前	30	1.95 ± 0.64	2.10 ± 0.58	2.01 ± 0.68	1.86 ± 0.65	1.49 ± 0.55	9.41 ± 1.42
治疗后	30	0.85 ± 0.57△	0.90 ± 0.55△	0.92 ± 0.64△	0.82 ± 0.58△	0.71 ± 0.62△	4.20 ± 2.21△

与治疗前比较 △$P<0.01$；A 组治疗后与 B 组治疗后比较 △$P>0.05$

表 2 治疗前后及健康对照组 IL-4、IL-10、IFN-γ、TGF-β_1 及 sIgE 水平比较($\bar{x} \pm s$)

分组	治疗前	治疗后	健康对照组
例数	30	30	30
IL-4(pg/L)	77.6 ± 21.0□	18.1 ± 20.7□△	59.5 ± 19.7
IL-10(pg/L)	231.1 ± 28.6□	163.7 ± 24.6□△	67.4 ± 8.5
IFN-γ(pg/L)	275.1 ± 167.6□	394.7 ± 185.1□△	119.6 ± 101.2
TGF-β_1(pg/L)	289.7 ± 164.7□	71.9 ± 173.3□△	82.2 ± 136.8
sIgE(kμ/L)	9.087 8 ± 0.000 7	3.2064 ± 0.001 3	1.23 1 ± 0.001 0

与健康对照组比较 □$P<0.01$；与治疗前比较 △$P<0.01$

表 3 A 组、B 组及健康对照组 IL-4、IL-10、IFN-γ、TGF-β_1 及 sIgE 水平比较($\bar{x} \pm s$)

分组	A 组	B 组	健康对照组
例数	15	11	20
IL-4(pg/L)	16.8 ± 19.0□△	19.5 ± 21.3□	59.5 ± 19.7
IL-10(pg/L)	151.2 ± 23.6□△	164.4 ± 25.1□	67.4 ± 8.5
IFN-γ(pg/L)	382.6 ± 173.5□△	396.4 ± 186.2□	119.6 ± 101.2
TGF-β_1(pg/L)	67.8 ± 16.47□△	71.9 ± 17.73□	82.2 ± 136.8
sIgE(ku/L)	3.1546 ± 0.0010□△	3.1158 ± 0.0011	

与健康对照组比较 □$P<0.01$；与 B 组比较 △$P<0.01$

3 讨 论

本实验结果显示：治疗后血清 IFN-γ（394.7 ± 185.1）、TGF-β_1（71.9 ± 173.3）较治疗前升高，但比健康对照组低；而 IL-4（18.1 ± 20.7）、IL-10（163.7 ± 24.6）较治疗后降低，但比健康对照组高，差异均有统计学意义（$P<0.01$）；治疗后血清 sIgE 较治疗前明显降低，差异有统计学意义（$P<0.01$）。表明阿罗格不仅对屋尘螨过敏的 PAR 患者有效，而且对真菌、花粉等过敏的 PAR 患者具有同样效果。由此推论花粉、霉菌及草木与屋尘螨变应原可能含有共同的抗原决定基，都能与体内屋尘螨变应原的特异性抗体相结合，即发生了交叉反应[7]。而这与 van Ree R[8]的结论一致，证明不同种变应原间存在共同抗原，即保护性 IgG 亚类抗体在不同变应原间发生了交叉反应[7]，达到了封闭多种变应原的效果。

特异性免疫治疗能够抑制 Th2 细胞活化，促进 Th1 细胞功能，即能纠正体内 Th1/Th2 细胞因子失平衡状态，但均未能恢复到健康水平，提示变应原特异性免疫治疗的疗程应该足够长，据相关文献报道[9]为 3~5 年，才能稳定疗效，减少复发率。从本实验以及国内外的相关研究中[10]证实：特异性免疫治疗过程中，代表 Th1 细胞因子如 IL-2、IFN-γ、TGF-β_1 水平的上升，代表 Th2 细胞因子如 IL-4 和 IL-10 水平的下降，使 B 淋巴细胞产生的 Ig 发生类别转换，表现为血清特异性 IgE 抗体的下调，特异性 IgG 抗体水平上调[11]，IgG 抗体的亚类 IgG_1 和 IgG_4 作为封闭抗体[12]可以长时间特异性中和进入体内的变应原，一方面阻断或减少变应原与附着于肥大细胞或嗜碱性粒细胞上的特异性 IgE 抗体结合的机会，另一方面可阻止与抗原提呈细胞结合，避免了特异性 Th 细胞的分化发生偏移，这样体内 Th1 和 Th2 的细胞因子水平逐渐趋于平衡，血清特异性 IgE 抗体的进一步下调，IgG 抗体的亚类 IgG_1 和 IgG_4 水平持续上升，形成一种良性循环，干预了变态反应的自然进程，临床上表现为患者的症状、体征均有不同程度的缓解。本研究 30 例 PAR 患者均来自西南地区，都完成了全程治疗，均出现不同程度的症状、体征缓解，与国内外报道相一致[13~15]。

阿罗格特异性免疫治疗 AR 是一种安全有效的方法，能调节 AR 患者体内 Th1/Th2 细胞因子的失平衡状态，并可能与血清中其他特异性抗体发生交叉抗原反应，这为变应性鼻炎免疫治疗提供了理论依据。

参 考 文 献

[1] Scavuzzo M C, Rocchi V, Fattori B, et al. Cytokine Secretion in nasal mucusof normal Subjects and patients with allergic rhinitis [J]. Biomed Pharmacother, 2003, 57(8): 366-371.

[2] Bousquet J, Khaltaev N, Cruz A A, et al. Allergic Rhinitis and its impact on Asthma (ARIA) 2008 update (in collaboration with the World Health Organization, GA LEN and AllerGen)[J]. Allergy, 2008, 63:8-160.

[3] 顾之燕，董 震. 变应性鼻炎的诊治原则和推荐方案（2004 年，兰州）[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志，2005，40(3): 166-167.

[4] 张 罗，韩德民. 变应性鼻炎的变应原特异性皮下免疫治疗[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志，2008，62-76.

[5] 王成硕，张 罗，韩德民. 标准化尘螨变应原疫苗治疗变应性鼻炎的疗效和安全评估[J]. 首都大学学报，2005，26(3)：246-248.

[6] 陈建军，项济生，孔维佳，等. 阿罗格脱敏治疗变应性鼻炎的安全性研究[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志，2006，20(5)：208-209.

[7] Burastero S E. Pollen-cross allergenicity mediated by panallergens: a clue to the patho-genesis of multiple sensitizations[J]. Inflamm Allergy Drug Targets, 2006, 5(4):203-209.

[8] van Ree R, Brewczyński P Z, Tan K Y, et al. Grass pollen immunotherapy induceS highly cross-reactive IgG antibodies to group V allergen from different grass species[J]. Allergym, 1995, 50(3):281-283.

[9] Mailling H J, Weeke B. Immunotherapy: position paper of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology[J]. Allergy, 1993, 48(s14): 9-35.

[10] Valovirta E, Jacobsen L, Niggemann B, et al. A 3-year course of subcutaneous specific immunotherapy results in long-term prevention of asthma in children[J]. J Allergy Clin Immuol, 2006, 117(3):721.

[11] Golden D B, Kagey-Sobotka A, Norman P S, et al. Outcomes of allergy to insect stings in children, with and without venom immunotherapy [J]. N Engl J Med, 2004, 351(7):668-674.

[12] Frew A J. Immunotherapy of allergic disease[J]. J Allergy Clin Immunol, 2003, 111(s2): S712-719.

[13] Jayasekera N P, Toma T P, Williams A. Mechanisms of immunotherapy in allergic rhinitis[J]. Biomed Pharmacother, 2007, 61(1):29-33.

[14] Pilette C, Nouri-Aria K T, Jacobson M R, et al. Grass pollen immunotherapy induces an allergen-specific IgA2 antibody response associated with mucosal TGF-beta expression [J]. J Immunol, 2007, 178(7):4658-4666.

[15] Weber R W. Cross-reactivity of pollen allergens: impact on allergen immunotherapy[J]. Ann Allergy Asthma Immunol, 2007, 99(3):203-211.

（责任编辑：冉明会）