

• 综述 •

## 皮下淋巴结注射变应原免疫治疗在变应性疾病中应用研究进展

蔡智谋<sup>1</sup> 文忠<sup>1</sup>

[关键词] 特异性免疫治疗;皮下淋巴结注射;变应性疾病

doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2019.11.025

[中图分类号] R765.21 [文献标志码] A

### Research progress in the application of intralymphatic allergen immunotherapy in allergic diseases

**Summary** Although subcutaneous immunotherapy (SCIT) and sublingual immunotherapy (SLIT) have a positive effect, there are drawbacks such as long treatment time period, frequent treatment times, and risk of adverse reactions. Peripheral superficial lymph node injection of allergen immunotherapy (ILIT) as an emerging specific immunotherapy method has the advantages of high safety, less adverse reactions, short treatment time, less treatment times, less patient pain, and exact curative effect. In recent years, more and more scholars have conducted extensive research on intra-lymphatic injection of immunotherapy for allergic diseases. This paper systematically summarizes the theoretical basis, method, safety, effectiveness and possible immune mechanism of ILIT

**Key words** specific immunotherapy; lymph node injection; allergic disease

过敏性疾病是指由 IgE 介导的 I 型变态反应性疾病,主要包括变应性鼻炎(allergic rhinitis, AR)、过敏性哮喘、特应性皮炎以及食物过敏等。AR 是发生在鼻黏膜的 I 型变态反应性疾病,其主要治疗方法包括药物治疗和免疫治疗,其中特异性免疫治疗作为 AR 的一线治疗方法被各国指南推荐使用<sup>[1-4]</sup>。目前常用的特异性免疫治疗方法主要包括皮下免疫疗法(subcutaneous immunotherapy, SCIT)和舌下免疫疗法(sublingual immunotherapy, SLIT),以上 2 种方法虽然疗效肯定,但存在着疗程长、治疗频繁、费用高昂及存在不良反应等弊端。临床实际中,不足 50% 的尘螨 AR 患者能够坚持完成完整的皮下免疫治疗,有近 1/3 的患者在皮下免疫治疗第 1 年脱落<sup>[5-6]</sup>。以上因素严重制约了免疫治疗的普及和发展。近年来,有学者进行了淋巴结注射免疫治疗变应性疾病的研究,成为了变应性疾病特异性免疫治疗手段的重要补充。浅表淋巴结注射变应原免疫治疗(intralymphatic immunotherapy, ILIT)作为一种新兴的特异性免疫治疗方法,具有安全性高、不良反应少、治疗时间短、治疗次数少、患者痛苦小、疗效确切等优点。现就 ILIT 在变应性疾病中应用研究进展做一综述。

#### 1 变应性疾病特异性免疫治疗现状及存在的主要问题

变应原特异性免疫治疗是唯一针对病因治疗

过敏性疾病的治疗方法。与药物对症治疗不同,其具有明确的远期疗效,可改变疾病进程,阻止变应性疾病的发展并预防新发过敏。目前常用的免疫治疗方法主要包括 SCIT 和 SLIT,二者通过逐渐增加皮下注射或舌下含服变应原疫苗的剂量和浓度,使患者机体对相应变应原耐受性逐渐增强并产生持久免疫耐受,最终减轻甚至消除患者由于变应原暴露引发的过敏症状。大组文献数据显示<sup>[7-9]</sup>, SCIT 和 SLIT 在治疗过敏性疾病中均具有较高的疗效和安全性。Epstein 等<sup>[10]</sup>报道,在 1 000 次 SCIT 注射中仅出现 1 次全身不良反应(0.1%),而 SLIT 患者中仅 0.056% 出现全身不良反应<sup>[11]</sup>。可见无论是 SCIT 还是 SLIT 其全身不良反应发生率均较低,二者均是安全有效的治疗方法。

SCIT 和 SLIT 也存在诸多缺陷。其中治疗周期过长(通常需要 3~5 年),治疗频繁,以及需要多次皮下注射或长期舌下含服变应原提取液等因素使得患者依从性严重下降。Egertd 等<sup>[9]</sup>分析发现,不足 50% 的尘螨 AR 患者能够坚持完成为期 3 年的 SCIT,仅约 16% 的 AR 患者完成了 3 年的 SLIT。此外,SCIT 和 SLIT 治疗费用高昂,一般家庭难以承受。以上原因均阻碍了免疫治疗的进一步普及。因此探寻一种更高效、安全、简便的特异性免疫治疗方法成为了新的需求。

#### 2 ILIT 操作方法和其在变应性疾病中的应用

ILIT 是一种新兴的特异性免疫治疗方法,其在 B 超引导下,向变应性疾病患者外周浅表淋巴结注射变应原疫苗,以达到特异性免疫治疗的效果。

<sup>1</sup>南方医科大学珠江医院耳鼻咽喉科(广州,510282)  
通信作者:文忠, E-mail: wenzhong60@163.com

目前已用于淋巴结注射的变应原种类主要包括猫毛、狗毛皮屑、桦树花粉、蜂毒及尘螨疫苗制剂等(我国主要为尘螨),治疗的过敏性疾病主要包括 AR、过敏性哮喘及特应性皮炎等。

## 2.1 ILIT 应用的理论依据

诱导免疫反应发生的必要条件是将抗原暴露于足量的抗原提呈细胞及 B、T 淋巴细胞环境中。因此,要提高免疫反应效率,需将抗原运输到淋巴细胞聚集的次级淋巴器官,即淋巴结或脾脏<sup>[12]</sup>。淋巴结具有高度的免疫活性,不仅作为蛋白质抗原传输、浓缩的主要场所,也是抗原提呈细胞提呈抗原表位激发免疫反应和 T、B 淋巴细胞间相互作用的主要场所。常规免疫治疗将变应原通过皮下注射或舌下含服的途径进入体内,只有很少部分能够经过淋巴管流入区域淋巴结,此外,许多疫苗和免疫治疗制剂为非颗粒抗原,其从外周引流至淋巴结效率更低,仅有注射剂量的  $10^{-3} \sim 10^{-2}$  能够到达区域淋巴结。因此常规免疫治疗激发免疫反应的效率非常低下。

Johansen 等<sup>[13]</sup>通过动物实验证实,将过敏原直接注入浅表淋巴结,可大大提高变应原的利用率,与皮下注射和腹腔注射相比免疫效应增强达  $10^6$  倍。这成为了淋巴结注射免疫治疗的重要理论依据。为此,也有人提出了“免疫原性的地理概念”<sup>[14]</sup>。

## 2.2 ILIT 的具体操作方法

**2.2.1 淋巴结的定位** 淋巴结副皮质区在超声下呈低回声影,利用超声仪器可快速的识别、定位表浅的外周淋巴结。

**2.2.2 注射方法** 在超声引导下用 25G 针头进行淋巴结注射,注射的淋巴结多为表浅且易于定位的腹股沟或颌下淋巴结,共注射 3 次<sup>[15]</sup>。值得一提的是,时间间隔是 ILIT 成败的关键因素。由于时间间隔短于 4 周可能会干扰记忆 B 细胞的形成和亲和力的成熟,故推荐每次注射的时间间隔至少为 4 周<sup>[16-18]</sup>。此外,注射时的疼痛感是较多患者及临床医师关注的问题,根据现有文献报道,淋巴结注射的痛觉轻微,与静脉注射相比淋巴结注射的痛觉相似甚至更低<sup>[19-20]</sup>。

**2.2.3 注射用药及剂量** 目前,尚无专用的淋巴结注射用免疫治疗制剂,国内外常用 SCIT 所使用变应原提取物制剂代之。Sang 等<sup>[20-21]</sup>认为,ILIT 的原始剂量以不超过皮肤点刺试验中导致患者皮肤风团过敏原/组胺比例  $<1$  的过敏原最大上限剂量为宜。与 SCIT 不同,淋巴结注射免疫治疗并不区分剂量累加阶段及剂量维持阶段,如 Hylander 等<sup>[22]</sup>在对桦木花粉或草花粉过敏的患者进行 ILIT 时,3 次注入的变应原制剂剂量均为 1 000SQ-U。亦有学者在分次注射中增加变应原提取物剂量以

强化机体对变应原的耐受性,如 Senti 等<sup>[15]</sup>在对猫毛过敏的患者进行 ILIT 时,猫主要过敏原 Fel d1 的注射剂量 3 次分别为 1、3、10  $\mu\text{g}$ 。雍磊等<sup>[23-24]</sup>在对屋尘螨致敏的哮喘及特应性皮炎患者进行 ILIT 时,其注射次数及剂量稍做调整,分别于 0、4、8、12、16 和 20 周行腹股沟淋巴结注射屋尘螨过敏原制剂,除 0 周用药剂量为 100SQ-U 外,其余 5 次应用剂量均为 1 000SQ-U。

**2.2.4 注意事项** 在进行淋巴结注射前,应详细了解患者上一次免疫治疗注射是否出现迟发不良反应,常见的不良反应有注射局部皮肤肿胀、风团、红晕、瘙痒、疼痛和硬结;注射前半小时是否进行剧烈运动;近期是否大量接触变应原;近期是否服用其他药物,如  $\beta$ -受体阻滞剂或 ACEI 治疗;注射当天过敏性疾病的症状是否明显加重;注射当天或前 2 d 是否患有严重上呼吸道感染及发热等。以此来判断本次免疫治疗的时机及治疗剂量是否合适并作出相应调整。

尽管根据文献报道,ILIT 是一项安全的免疫治疗方法,极少发生严重全身不良反应<sup>[12]</sup>。但作为免疫疗法,在进行淋巴结注射时,治疗室内仍然需要常规备好抢救物品、药品以供紧急情况使用,包括:冰袋、糖皮质激素乳膏、注射用肾上腺素、注射或口服用糖皮质激素、注射或口服用抗组胺药、血管加压素、异丙肾上腺素、注射器、止血带、静脉输液器、听诊器、血压计、吸氧设备、简易呼吸囊、过敏反应病程和治疗的记录表等。一旦发生过敏反应,应按标准流程进行处理或抢救<sup>[25]</sup>。

## 3 ILIT 的安全性分析

免疫治疗的安全性问题是首要考虑的因素,只有在安全的前提下疗效才能得以保障。Hylander 等<sup>[26]</sup>在一项双盲随机安慰剂对照实验中,对 36 例花粉症患者进行 3 次时间间隔为 3~4 周的腹股沟浅表淋巴结注射。患者随机分成实验组及对照组,21 例实验组患者注射桦木花粉/草花粉疫苗,15 例对照组患者注射安慰剂。结果显示,与对照组相比,实验组发生药物相关局部反应(如淋巴结肿大、发痒和发红)数量较多。2 组患者均未出现中重度严重不良反应。在治疗结束后 4 周的随访中,所有与药物相关的不良反应完全消失。Hylander 等<sup>[22]</sup>在另一项研究中,将 ILIT 与 SCIT 进行对比,发现 6 例接受 ILIT 的患者均耐受良好,未出现急性或迟发性过敏反应。而 7 例接受 SCIT 的患者中,有 5 例出现轻度局部不良反应(包括注射部位的红肿、瘙痒、水肿等)。在安全性方面,较具说服力的是 Senti 等<sup>[19]</sup>进行的大样本随机对照实验。他们将 165 例花粉症患者随机分为 ILIT 组及 SCIT 组,分别接受疗程为 2 个月的 ILIT 及疗程为 3 年的 SCIT。在治疗的前 4 个月中,SCIT 组出现了

18 例轻度(荨麻疹、皮肤潮红和血管性水肿, Mueller 分级 1 级和 2 级)以及 2 例重度(需要住院治疗的哮喘, Mueller 分级 3 级)过敏反应。相反,仅有 6 例轻微的过敏反应(荨麻疹和血管性水肿)在 ILIT 组被发现。结果表明, ILIT 引起的过敏性不良反应较 SCIT 少, 差异有统计学意义( $P=0.001$ ), ILIT 较 SCIT 安全性更高。

目前, ILIT 的安全性在临床上已得到验证。大部分 ILIT 临床试验均指出, 它作为一种新的免疫治疗模式, 具有较高的安全性, 极少发生严重不良反应<sup>[12]</sup>。与 SCIT 相比, ILIT 发生不良反应的概率更低, 安全性更高, 是一种新型安全的免疫治疗方法。

#### 4 ILIT 的疗效评价

Senti 等<sup>[19]</sup>进行的随机对照试验发现, ILIT 组患者在治疗后花粉季节过敏症状明显减轻, 患者药物评分降低, 且在治疗早期低于 SCIT 组患者。ILIT 还可降低鼻腔及皮肤反应性, 降低血清过敏原特异性 IgE 水平。Hylander 等<sup>[22,26]</sup>进行的两项双盲安慰剂对照试验也得出相似的结论, 即 ILIT 减轻了患者花粉过敏症状, 减少了患者控制症状所需的药物, 降低了患者的鼻腔及皮肤反应性。此外, Patterson 等<sup>[28]</sup>、Schmid 等<sup>[29]</sup>及 Sang 等<sup>[20]</sup>相继进行了 ILIT 临床研究, 发现在对花粉、猫毛、狗毛皮屑及尘螨过敏的 AR 患者进行 ILIT 后, 患者过敏症状可快速缓解, 生活质量得以改善, ILIT 的临床疗效肯定。类似地, 雍磊等<sup>[23-24]</sup>对过敏性哮喘及成人特应性皮炎患者进行 ILIT, 发现 ILIT 临床疗效优于 SCIT, 是更安全有效的治疗方法。

ILIT 只需 8 周左右即可完成完整的免疫治疗过程, 但其对变应性疾病患者过敏症状的改善是持久的, 且改善程度与 SCIT 相当。有证据表明, 治疗结束后 1~3 年, ILIT 疗效仍然存在, 与 SCIT 相比疗效相当, 同样可使患者产生持久免疫耐受<sup>[27]</sup>。

#### 5 ILIT 改变变应性疾病患者免疫状态

学者们就 ILIT 是否与常规免疫治疗相似, 通过抑制 Th2 反应、刺激 Th1 反应或调节性 T 细胞 (Treg) 反应调整患者炎症状态的问题进行了大量临床研究。Senti 等<sup>[19]</sup>发现接受 ILIT 后患者血清过敏原特异性 IgE (sIgE) 水平降低的现象。随后, 他们报道了 ILIT 不仅诱导患者血清过敏原特异性 IgG4 (sIgG4) 的增加而且刺激外周血单个核细胞 (PBMCs) IL-10 的体外生成。雍磊等<sup>[23]</sup>指出, 在治疗后 68 周 ILIT 组及 SCIT 组患者血清屋尘螨 sIgE 均显著低于治疗前, 2 组患者血清屋尘螨 sIgG4 均显著增高, 组间差异无统计学意义。然而, 在 Hylander 等<sup>[22]</sup>进行的研究中, ILIT 患者治疗后血清 sIgE 升高, 血清 sIgG4 无明显变化。在他们随后进行的另一项 ILIT 研究<sup>[26]</sup>也发现, ILIT

患者血清中 sIgE 或 sIgG4 没有明显变化, 但在症状改善的患者中, sIgG4 抗体阳性率明显升高。Sang 等<sup>[20]</sup>指出, 患者血清 sIgE 和 sIgG4 在接受 ILIT 后 4 个月升高, 但 1 年后下降。Witten 等<sup>[30]</sup>研究发现, ILIT 患者血清 sIgE 和 sIgG4 均升高, IL-4 和 IL-10 的产生以及 FoxP3 的表达增加。总而言之, Th1、Th2 和 Treg 细胞免疫在 ILIT 中的作用机制, 还有待进一步研究。

#### 6 展望

ILIT 治疗与传统免疫治疗相比, 具有安全性高、治疗时间短、注射次数少、患者痛苦小、疗效确切、患者依从性高等优点, 有望为过敏性疾病患者带来一种新的更便捷、更安全、更高效的特异性免疫治疗方法。

但是, 目前淋巴结注射尚无专用的免疫治疗制剂, 国内外常用 SCIT 制剂代之。此外, 同一公司所生产免疫治疗制剂在不同地区所使用的变应原制剂单位也不尽相同, 目前常用单位主要包括蛋白氮单位 (protein nitrogen unit)、质量标准化单位 (standardized quality units) 以及质量单位  $\mu\text{g}$ 。这使得不同实验之间所使用的变应原制剂剂量难以进行统计及比较。因此, 合适的淋巴结注射用免疫治疗制剂、变应原制剂单位及剂量的统一化和规范化问题仍有待进一步解决。

#### 参考文献

- [1] 中华医学会耳鼻咽喉头颈外科分会鼻科组, 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编委会鼻科组. 变应性鼻炎诊断和治疗指南 (2015 年, 天津) [J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2016, 51(1): 6-24.
- [2] BOUSQUET J, VAN CAUWENBERGE P, KHAL-TAEV N, et al. Allergic rhinitis and its impact on asthma [J]. J Allergy Clin Immunol, 2001, 108(5 Suppl): S147-334.
- [3] OKUBO K, KURONO Y, ICHIMURA K, et al. Japanese guidelines for allergic rhinitis 2017 [J]. Allergol Int, 2017, 66: 205-219.
- [4] 刘琢扶, 胡娴亭, 冯仙. 变应性鼻炎及其对哮喘的影响 (ARIA) 2016 年修订版解读 [J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2017, 31(17): 1327-1329.
- [5] EGERT-SCHMIDT A M, KOLBE J M, MUSSLER S, et al. Patients' compliance with different administration routes for allergen immunotherapy in Germany [J]. Patient Prefer Adherence, 2014, 8: 1475-1481.
- [6] DI BONA D, PLAIA A, LETO-BARONE M S, et al. Efficacy of subcutaneous and sublingual immunotherapy with grass allergens for seasonal allergic rhinitis: a meta-analysis-based comparison [J]. J Allergy Clin Immunol, 2012, 130: 1097-1107.
- [7] JUTEL M, AGACHE I, BONINI S, et al. International consensus on allergy immunotherapy [J]. J Allergy Clin Immunol, 2015, 136: 556-568.

- [8] ZUBERBIER T, BACHERT C, BOUSQUET P J, et al. GA2 LEN/EAACI pocket guide for allergen-specific immunotherapy for allergic rhinitis and asthma [J]. *Allergy*, 2010, 65: 1525—1530.
- [9] ALVAREZ-CUESTA E, BOUSQUET J, CANONICA G W, et al. Standards for practical allergen-specific immunotherapy [J]. *Allergy*, 2006, 61 Suppl 82: 1—20.
- [10] EPSTEIN T G, LISS G M, MURPHY-BERENDTS K, et al. AAAAI/ACAAI surveillance study of subcutaneous immunotherapy, years 2008—2012: an update on fatal and nonfatal systemic allergic reactions [J]. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 2014, 2: 161—167.
- [11] CANONICA G W, COX L, PAWANKAR R, et al. Sublingual immunotherapy: World Allergy Organization position paper 2013 update [J]. *World Allergy Organ J*, 2014, 7: 6.
- [12] SENTI G, JOHANSEN P, KÜNDIG T M. Intralymphatic immunotherapy [J]. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2009, 9: 537—543.
- [13] JOHANSEN P, HÄFFNER AC, KOCH F, et al. Direct intralymphatic injection of peptide vaccines enhances immunogenicity [J]. *Eur J Immunol*, 2005, 35: 568—574.
- [14] ZINKERNAGEL R M. Localization dose and time of antigens determine immune reactivity [J]. *Semin Immunol*, 2000, 12: 163—171.
- [15] SENTI G, CRAMERI R, KUSTER D, et al. Intralymphatic immunotherapy for cat allergy induces tolerance after only 3 injections [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2012, 129: 1290—1296.
- [16] HJÁLMSDÓTTIR Á, WÄCKERLE-MEN Y, DUDA A, et al. Dosing intervals in intralymphatic immunotherapy [J]. *Clin Exp Allergy*, 2016, 46: 504—507.
- [17] KÜNDIG T M, JOHANSEN P, BACHMANN M F, et al. Intralymphatic immunotherapy: time interval between injections is essential [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2014, 133: 930—931.
- [18] SIEGRIST C A. Vaccine Immunology [M]. In *Vaccines*, 6th Edition. Edited by Plotkin SA: Elsevier; Saunders, Philadelphia, 2013: 14—32.
- [19] SENTI G, PRINZ VAVRICKA B M, ERDMANN I, et al. Intralymphatic allergen administration renders specific immunotherapy faster and safer: a randomized controlled trial [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105: 17908—17912.
- [20] LEE S P, CHOI S J, JOE E, et al. A Pilot Study of Intralymphatic Immunotherapy for House Dust Mite, Cat, and Dog Allergies [J]. *Allergy Asthma Immunol Res*, 2017, 9: 272—277.
- [21] Allergen-specific intralymphatic immunotherapy in human and animal studies [J]. *Asia Pac Allergy*, 2017, 7: 131—137.
- [22] HYLANDER T, LATIF L, PETERSSON-WESTIN U, et al. Intralymphatic allergen-specific immunotherapy: an effective and safe alternative treatment route for pollen-induced allergic rhinitis [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2013, 131: 412—420.
- [23] 雍磊, 高春芳, 程相铎, 等. 淋巴免疫治疗成人特应性皮炎临床疗效及安全性 [J]. *中华皮肤科杂志*, 2015, 48(1): 19—23.
- [24] 雍磊, 高春芳, 程相铎, 等. 淋巴免疫治疗过敏性哮喘的临床疗效 [J]. *中华临床免疫和变态反应杂志*, 2013, 9(2): 160—166.
- [25] ALVAREZ-CUESTA E, BOUSQUET J, CANONICA G W, et al. Standards for practical allergen-specific immunotherapy [J]. *Allergy*, 2006, 82: 1—20.
- [26] HYLANDER T, LARSSON O, PETERSSON-WESTIN U, et al. Intralymphatic immunotherapy of pollen-induced rhinoconjunctivitis: a double-blind placebo-controlled trial [J]. *Respir Res*, 2016, 17: 10—10.
- [27] LEE S P, JUNG J H, LEE S M, et al. Intralymphatic Immunotherapy Alleviates Allergic Symptoms During Allergen Exposure in Daily Life [J]. *Allergy Asthma Immunol Res*, 2018, 10: 180—181.
- [28] PATTERSON A M, BONNY A E, SHIELDS W E 2ND, et al. Three-injection intralymphatic immunotherapy in adolescents and young adults with grass pollen rhinoconjunctivitis [J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2016, 116: 168—170.
- [29] SCHMID J M, NEZAM H, MADSEN H H, et al. Intralymphatic immunotherapy induces allergen specific plasmablasts and increases tolerance to skin prick testing in a pilot study [J]. *Clin Transl Allergy*, 2016, 6: 19—19.
- [30] WITTEN M, MALLING H J, BLOM L, et al. Is intralymphatic immunotherapy ready for clinical use in patients with grass pollen allergy [J]? *J Allergy Clin Immunol*, 2013, 132: 1248—1252.

(收稿日期: 2018-10-15)