

DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202003013

· 论著 ·

长期鼻腔冲洗对正常鼻黏膜免疫屏障的影响

戴飞, 陈峥, 汤欣玥, 魏瑾瑾, 蔺林

(复旦大学附属华山医院北院耳鼻咽喉头颈外科, 上海 200090)

摘要: **目的** 探讨长期鼻腔冲洗是否会对正常鼻黏膜的免疫屏障功能造成影响。**方法** 55例健康志愿者随机分为两组:生理盐水冲洗(NSI)组29例,男13例,女16例;年龄18~61岁,平均年龄37.90岁。高渗盐水冲洗(HSI)组26例,男13例,女13例;年龄18~66岁,平均年龄40.65岁。NSI组以0.9%的温盐水(40°C)进行鼻腔冲洗,HSI组以3%的温盐水(40°C)进行鼻腔冲洗;两组均为每日1次,晚睡前30 min进行冲洗,干预时间为3个月。干预前和干预3个月后时分别获取两组受试者的鼻腔冲洗液(NLF),并对NLF中溶菌酶(LYSO)、乳铁蛋白(LF)、表面活性蛋白A(SPA),分泌型免疫球蛋白A(SIgA)的浓度进行检测。**结果** 两组受试者干预前性别、年龄及NLF中LYSO、LF、SPA和SIgA的浓度之间差异无统计学意义($P>0.05$),干预后NSI组的NLF中4种检测指标与干预前比较其浓度差异无统计学意义($P>0.05$),干预后HSI组的NLF中4种检测指标与干预前比较其浓度差异无统计学意义($P>0.05$),干预后两组受试者的NLF中4种检测指标的含量差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 长期鼻腔冲洗对正常鼻黏膜的免疫屏障没有不利影响。

关键词:鼻腔冲洗;鼻黏膜;免疫;屏障;蛋白质

中图分类号:R765.2

Effect of long-term nasal irrigation on the immune barrier of normal nasal mucosa

DAI Fei, CHEN Zheng, TANG Xinyue, WEI Jinjin, LIN Lin

(Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, North Hospital of Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200090, China)

Abstract: **Objective** To investigate the impact of long-term nasal irrigation (NI) on the function of immunological defense in normal nasal mucosa. **Methods** 55 healthy volunteers completed the study. They were randomly divided into 2 groups, normal saline irrigation (NSI) group and hypertonic saline irrigation (HSI) group. The NSI group mean included 29 volunteers (male 13, female 16), age ranged from 18 to 61 years old with an average of 37.90, and those of the HIS group were 26 (male 13, female 13) with an average of 40.65 (ranged from 18 to 66). Patients of the NSI group received NI using 0.9% saline and those of the HSI group with 3% saline with a temperature of 40°C, once a day, half an hour before sleeping in the evening. The total period of intervention was 3 months (90 days). The concentrations of lysozyme (LYSO), lactoferrin (LF), surfactant protein (SP) A and secretory immunoglobulin (SIg) A in nasal lavage fluid (NLF) from the two groups were examined before and after intervention of NI. **Results** There were no statistical differences between NSI and HSI groups in sex, age, and contents of LYSO, LF, SPA and SIgA in NLF before NI ($P>0.05$). The concentrations of these four proteins were not changed significantly after NSI and HSI treatment ($P>0.05$). In addition, there were no significant differences in these substance expressions in NLF between these two groups after the NI intervention ($P>0.05$). **Conclusion** Long-term NI treatment may not have harmful effect on the immune barrier of normal nasal mucosa.

Keywords: Nasal irrigation; Nasal mucosa; Immune; Barrier; Protein

鼻腔冲洗是治疗或辅助治疗鼻腔鼻窦炎症性疾病的常用方法,该方法简便、易行、安全、有效,而且

耐受性和依从性也较好^[1-2]。虽然其治疗鼻腔鼻窦疾病的机制尚不十分明确,但鼻腔冲洗可以促进鼻

第一作者简介:戴飞,男,硕士,主治医师。

通信作者:蔺林,Email: linlinhsn@aliyun.com

黏膜上皮细胞纤毛的摆动、减轻鼻黏膜的水肿、降低鼻腔局部炎症介质的浓度和机械清理鼻黏膜表面的刺激物等^[3]。尤其是用3%高渗盐水做鼻腔冲洗,在提高鼻黏膜上皮纤毛运动系统的清除效率和改善鼻塞、流鼻涕等症状方面显著优于生理盐水^[4]。但该方法是否对正常鼻黏膜免疫屏障有不利影响尚缺乏相关证据,因此,我们课题组开展本项研究,旨在探讨长期(3个月)鼻腔冲洗是否会对正常鼻黏膜的免疫屏障功能造成影响。

1 资料和方法

1.1 临床资料

本研究采用开放、随机分组、平行对照的设计方式。研究时间为2017年8—11月,研究期限为3个月。纳入标准:上海地区健康志愿者;男女不限,年龄在18~75岁。排除标准:鼻腔鼻窦炎症性疾病患者、有高渗盐水使用禁忌证者、近3个月参加其他临床试验者、处于妊娠期间的女性以及全身性疾病患者。共招募到60例健康志愿者,其中55例符合纳入标准,用随机序列软件将受试者随机分为两组:生理盐水冲洗(normal saline irrigation, NSI)组29例,男13例,女16例;年龄18~61岁,平均年龄37.90岁。高渗盐水冲洗(hypertonic saline irrigation, HSI)组26例,男13例,女13例;年龄18~66岁,平均年龄40.65岁。NSI和HSI两组受试者性别差异($\chi^2 = 0.15, P > 0.05$)和年龄差异($t = 0.74, P > 0.05$)均无统计学意义(图1)。该研究经复旦大学附属华山医院伦理审查委员会许可,且所有受试者试验前均已签署了知情同意书。

1.2 干预手段

NSI组以0.9%的温盐水(40°C)进行鼻腔冲洗,HSI组以3%的温盐水(40°C)进行鼻腔冲洗,鼻腔冲洗器和洗鼻剂均来自中国扬州强健医疗器材有限公司,严格按照厂家规定进行配制,按照说明书冲洗方法冲洗次数均为每日1次,晚睡前30 min进行冲洗,干预时间为3个月。

1.3 相关指标检测

按照Grünberg等^[5]所描述的方法收集鼻腔冲洗液(nasal lavage fluid, NLF),双侧鼻腔各冲洗2次,共获得40 mL冲洗液,随后将该冲洗液在4°C和1 000×g下离心10 min,取上清,存储于-80°C冰箱,以备检测各种炎性反应因子。采用酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)对两

组受试者进行鼻腔冲洗干预前和干预后3个月时NLF中溶菌酶(lysozyme, LYSO)、乳铁蛋白(lactoferrin, LF)、表面活性蛋白A(surfactant protein A, SPA)和分泌型免疫球蛋白A(secretory immunoglobulin A, SIgA)的浓度的检测,步骤均按照上述4种物质的ELISA试剂盒(均购自美国MyBioSource)进行。

1.4 随访

患者干预时间为3个月,干预前与干预3个月结束后门诊进行试验室评估,并与干预前进行对比。按照伦理要求,试验结束后2周内,受试者将接再次受电话随访,以了解其是否有不良反应。如果出现与本次研究相关的不良反应,研究人员将给予该受试者相应治疗措施及人文关怀。

1.5 依从性保障

受试者每2周复诊时,均要求其带回空包装,并上交受试者日记卡,从而作出相应的依从性评价。为了增强受试者依从性,我们课题组会给予其更多的解释和关怀以及更多的经济补偿。而且,为了保证受试者依从性,我们课题组研究期间每日20:00~21:00会给患者或其家属打电话督促其按照要求进行鼻腔冲洗。

1.6 数据管理和质控

试验中获得的所有数据将由专人录入,专人核对,以保证数据的可溯源性和真实性,并保证受试者的个人信息不泄露。

1.7 统计学分析

采用GraphPad Prism 6统计软件分析所得数据,因数据经检验呈正态分布,而样本量又较小,所以两组间差异的比较采用 t 检验,计数资料用Fisher精确概率检验,本试验中数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

55例健康志愿者完成了本次研究,分别是NSI组29例,HSI组26例。不良反应:NSI组出现2例鼻内刺激感,2例耳内闷胀感,占总例数的13.79%;HSI组出现1例鼻内刺痛感、4例鼻内刺激感,2例耳内闷胀感,占总例数的26.92%,两组均未发现严重不良反应。

2.2 干预前各检测指标的比较

NSI和HSI两组受试者NLF中LYSO浓度($t = 1.21, P > 0.05$)、LF浓度($t = 0.45, P > 0.05$)、SPA浓度

($t=0.83, P>0.05$)和SIgA浓度($t=0.05, P>0.05$)差异均无统计学意义(图1)。

2.3 NSI组干预前后各检测指标的比较

NSI组受试者干预前后NLF中LYSO浓度($t=0.18, P>0.05$)、LF浓度($t=0.41, P>0.05$)、SPA浓度($t=0.46, P>0.05$)和SIgA浓度($t=0.57, P>0.05$)差异均无统计学意义(图2)。

2.4 HSI组干预前后各检测指标的比较

HSI组受试者干预前后NLF中LYSO浓度($t=$

$0.33, P>0.05$)、LF浓度($t=0.51, P>0.05$)、SPA浓度($t=0.49, P>0.05$)和SIgA浓度($t=0.44, P>0.05$)差异均无统计学意义(图3)。

2.5 干预后两组各项检测指标的比较

干预后NSI和HSI两组受试者NLF中LYSO浓度($t=0.74, P>0.05$)、LF浓度($t=0.62, P>0.05$)、SPA浓度($t=0.84, P>0.05$)和SIgA浓度($t=0.11, P>0.05$)差异均无统计学意义(图4)。

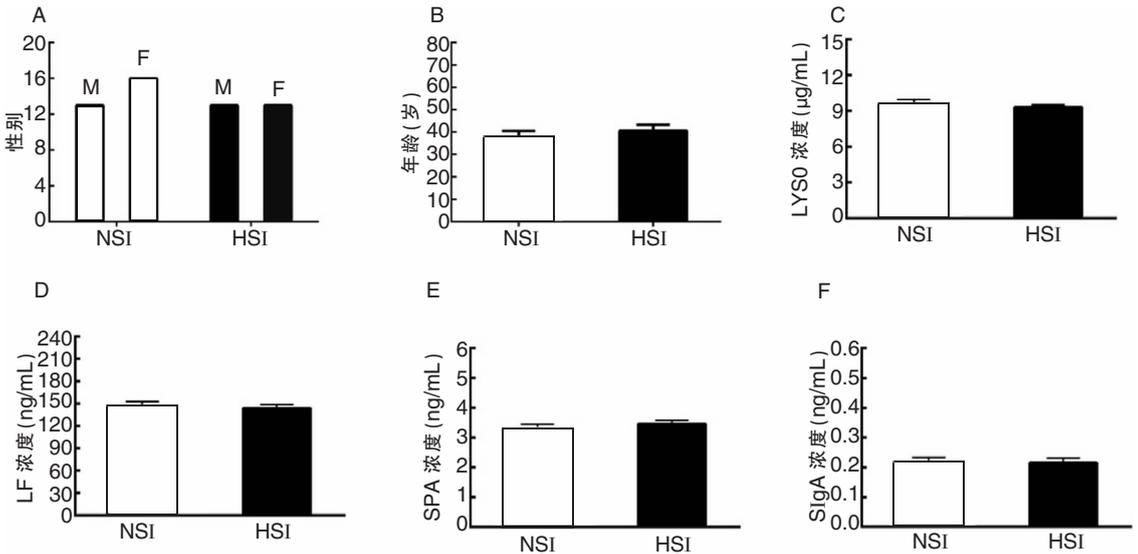


图1 干预前NSI和HSI两组受试者性别、年龄和各检测指标的比较 A:性别;B:年龄;C:LYSO浓度;D:LF浓度;E:SPA浓度;F:SIgA浓度

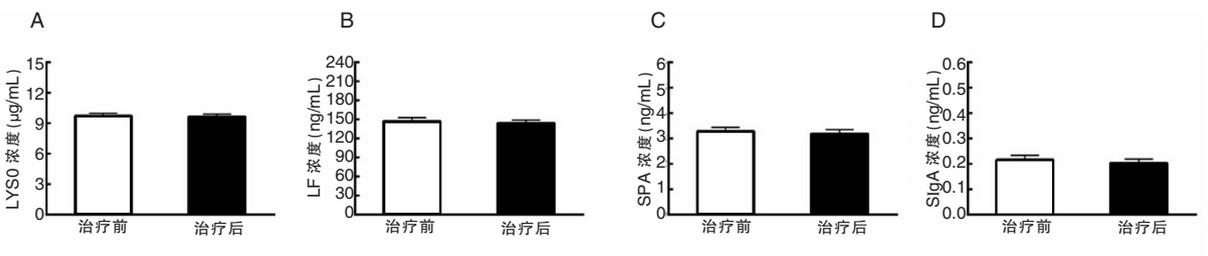


图2 NSI组受试者干预前后各检测指标的比较 A:LYSO浓度;B:LF浓度;C:SPA浓度;D:SIgA浓度

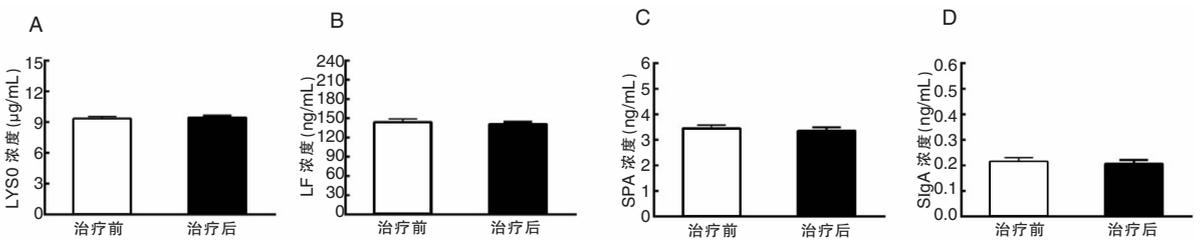


图3 HSI组受试者干预前后各检测指标的比较 A:LYSO浓度;B:LF浓度;C:SPA浓度;D:SIgA浓度

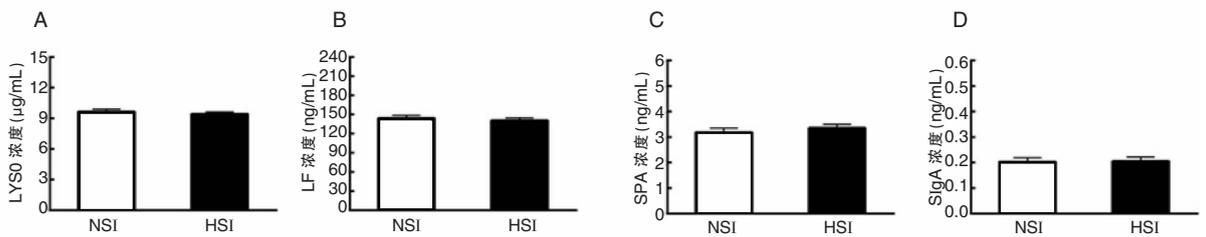


图4 干预后 NSI 和 HSI 两组受试者各检测指标的比较 A:LYSO 浓度; B:LF 浓度; C:SPA 浓度; D:SIgA 浓度

3 讨论

鼻腔冲洗作为一种护理和治疗手段历史悠久,甚至可以追溯到古印度时代,主要是由患者自行操作以清洁上呼吸道和减轻鼻腔、鼻窦的炎症状态和过敏症状^[6]。现如今,该项技术已经发展成为一种治疗或辅助治疗手段而广泛应用于治疗鼻腔、鼻窦各种疾病,促进鼻腔、鼻窦术后黏膜功能的恢复,并用以作为减少全身和鼻腔局部激素应用的替代方法或辅助方法^[7]。Hermelingmeier 等^[8]通过对大量文献进行的 Meta 分析指出,鼻腔冲洗可以推荐作为治疗变应性鼻炎的辅助治疗方法,具有耐受性好、容易掌握和价格低廉等特点,而且局部副作用微小,主要包括鼻内刺激感、鼻痒、鼻内烧灼感、耳痛等^[9-10]。

但是也有学者(如 Berry)指出,鼻腔冲洗可能会削弱鼻黏膜的黏液纤毛屏障,并减少鼻腔局部 LYSO 的分泌,而且可能会促进脓液在鼻腔鼻窦内播散,该治疗方法弊大于利,不过没有证据支持这些观点^[11-12]。国内也有一些医生、甚至学者对该方法持怀疑态度,认为尚没有证据支持鼻腔冲洗不会对正常鼻黏膜的免疫屏障造成影响。因此,我们课题组设计了这项研究,旨在探讨长期鼻腔冲洗是否会对正常鼻黏膜的免疫屏障功能产生不利影响。

鼻腔鼻窦黏膜上皮来源的抗菌物质很多,其中对其机理研究比较多、比较能反映鼻黏膜免疫状态的抗菌多肽有 LYSO、LF、SP 和 SIgA,因此课题组选择了这 4 种物质作为评估鼻腔冲洗对鼻黏膜功能影响的指标^[13]。

LYSO 是小分子阳离子蛋白,由鼻黏膜下腺体分泌^[14],对革兰氏阳性菌和阴性菌以及真菌都有强效抗菌能力^[15-17]。LF 存在于鼻黏膜,能够通过与革兰氏阴性菌的病原分子相关模式(如脂多糖)相结合而溶解细菌^[18]。SPA 可以与很多寄生于呼吸道的细菌结合并激活补体,从而表现出杀菌作用^[19]。SIgA 存在于鼻腔分泌物中,可以抵抗局部细菌和病

毒的感染,是黏膜表面抗感染的重要免疫屏障^[20]。前 3 者属于固有免疫屏障,SIgA 属于适应性免疫范畴。它们共同维护着鼻黏膜的免疫屏障功能。这些蛋白质的缺乏会直接导致细菌及病毒的感染,诱发鼻黏膜的炎症性疾病。因此研究鼻腔冲洗治疗对这些物质的影响有着十分重要的临床意义。

本研究中,干预前 NSI 和 HSI 两组受试者性别和年龄差异比较无统计学意义,而且两组受试者 NLF 中 LYSO、LF、SPA 和 SIgA 的浓度差异比较亦无统计学意义,说明试验前各检测指标对试验本身的影响较小。NSI 组受试者干预前后 NLF 中 LYSO、LF、SPA 和 SIgA 浓度差异比较无统计学意义,表明生理盐水长期对鼻黏膜的冲洗干预不会使鼻黏膜的屏障功能受损。生理盐水与鼻黏膜的渗透压近似,对鼻黏膜影响较小,但临床上用于治疗或辅助治疗鼻腔鼻窦疾病的冲洗液多数是高渗透压(如 3%),而且研究证实,HSI 在改善患者临床症状方面优于 NSI^[21]。因此我们又对高渗盐水对鼻黏膜免疫屏障的影响做了研究,结果发现,HSI 组受试者干预前后 NLF 中这 4 种检测指标浓度差异均无统计学意义,这说明高渗盐水长期冲洗也对鼻黏膜的固有免疫和适应性免疫没有不利影响。最后我们又对干预后 NSI 和 HSI 两组受试者 NLF 中这 4 种检测指标浓度差异进行了比较,发现无统计学意义($P > 0.05$),这个结果表明,在对鼻黏膜的免疫屏障影响方面,两种治疗方法无明显差异,都适合用于长期治疗鼻腔鼻窦炎症性疾病。可以根据患病对象的特质选择 NSI 或 HSI。

本研究表明长期鼻腔冲洗对正常鼻黏膜的免疫屏障没有不利影响。本研究有一定的局限性,比如样本量较小,没有采取多中心、双盲设计方式,也没有对鼻黏膜黏液纤毛清除系统进行研究,虽然我们研究发现 NSI 和 HSI 对鼻腔黏膜均无明显不利影响,但对于 HSI 在改善患者临床症状方面优于 NSI 的现象方面还需进一步的研究,本课题组将在后续的相关研究中予以开展。

参考文献:

- [1] Brozek JL, Bousquet J, Baena-Cagnani CE, et al. Allergic rhinitis and its impact on asthma (ARIA) guidelines: 2010 revision [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2010, 126(3): 466-476.
- [2] Fokkens WJ, Lund VJ, Mullol J, et al. European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2012 [J]. *Rhinol Suppl*, 2012, 23:1-298.
- [3] Khianey R, Oppenheimer J. Is nasal saline irrigation all it is cracked up to be [J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2012, 109(1): 20-28.
- [4] 蔺林, 严文洪, 赵霞. 不同温度生理盐水鼻腔冲洗对变应性鼻炎的治疗作用 [J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2014, 49(2): 109-114.
- [5] Grünberg K, Timmers MC, Smits HH, et al. Effect of experimental rhinovirus 16 colds on airway hyperresponsiveness to histamine and interleukin-8 in nasal lavage in asthmatic subjects in vivo [J]. *Clin Exp Allergy*, 1997, 27(1): 36-45.
- [6] Tomooka LT, Murphy C, Davidson TM. Clinical study and literature review of nasal irrigation [J]. *Laryngoscope*, 2000, 110(7): 1189-1193.
- [7] Rabago D, Zgierska A. Saline nasal irrigation for upper respiratory conditions [J]. *Am Fam Physician*, 2009, 80(10): 1117-1119.
- [8] Hermelingmeier KE, Weber RK, Hellmich M, et al. Nasal irrigation as an adjunctive treatment in allergic rhinitis: a systematic review and meta-analysis [J]. *Am J Rhinol Allergy*, 2012, 26(5): e119-125.
- [9] Shoseyov D, Bibi H, Shai P, et al. Treatment with hypertonic saline versus normal saline nasal wash of pediatric chronic sinusitis [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 1998, 101(5): 602-605.
- [10] Brown CL, Graham SM. Nasal irrigations: good or bad [J]. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*, 2004, 12(1): 9-13.
- [11] Berry YJ. Negative side of nasal saline sprays: they can be harmful [J]. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 2003, 129(12): 1352.
- [12] Berry YJ. Saline sprays [J]. *Ear Nose Throat J*, 1995, 74(7): 493.
- [13] Stevens WW, Lee RJ, Schleimer RP, et al. Chronic rhinosinusitis pathogenesis [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2015, 136(6): 1442-1453.
- [14] Klockars M, Reitamo S. Tissue distribution of lysozyme in man [J]. *J Histochem Cytochem*, 1975, 23(12): 932-940.
- [15] Nash JA, Ballard TN, Weaver TE, et al. The peptidoglycan-degrading property of lysozyme is not required for bactericidal activity in vivo [J]. *J Immunol*, 2006, 177(1): 519-526.
- [16] Prokhorenko IR, Zubova SV, Ivanov AY, et al. Interaction of Gram-negative bacteria with cationic proteins: Dependence on the surface characteristics of the bacterial cell [J]. *Int J Gen Med*, 2009, 2: 33-38.
- [17] Woods CM, Hooper DN, Ooi EH, et al. Human lysozyme has fungicidal activity against nasal fungi [J]. *Am J Rhinol Allergy*, 2011, 25(4): 236-240.
- [18] Legrand D. Lactoferrin, a key molecule in immune and inflammatory processes [J]. *Biochem Cell Biol*, 2012, 90(3): 252-268.
- [19] Psaltis AJ, Wormald PJ, Ha KR, et al. Reduced levels of lactoferrin in biofilm-associated chronic rhinosinusitis [J]. *Laryngoscope*, 2008, 118(5): 895-901.
- [20] Van Zele T, Gevaert P, Holtappels G, et al. Local immunoglobulin production in nasal polyposis is modulated by superantigens [J]. *Clin Exp Allergy*, 2007, 37(12): 1840-1847.
- [21] Kanjanawasee D, Seresirikachorn K, Chitsuthipakorn W, et al. Hypertonic saline versus isotonic saline nasal irrigation: systematic review and meta-analysis [J]. *Am J Rhinol Allergy*, 2018, 32(4): 269-279.

(收稿日期:2019-08-15)

本文引用格式:戴飞,陈峥,汤欣玥,等.长期鼻腔冲洗对正常鼻黏膜免疫屏障的影响[J].中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2020,26(3):292-296. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202003013

Cite this article as: DAI Fei, CHEN Zheng, TANG Xinyue, et al. Effect of long-term nasal irrigation on the immune barrier of normal nasal mucosa [J]. *Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg*, 2020, 26(3): 292-296. DOI: 10.11798/j.issn.1007-1520.202003013