

· 毒理 ·

RBL-2H3 细胞体外试验评价药物类过敏的方法学研究和适用性考察

易娟娟, 谢家骏*, 张立波, 康黎静, 赵琳

(上海中医药大学药物安全评价研究中心, 上海 201203)

[摘要] 目的: RBL-2H3 细胞用于检测药物类过敏的方法学研究, 对评价类过敏反应的适用性进行考察。方法: 采用 MTT 试验研究 RBL-2H3 细胞的密度、生长时间等基本生长特性, 以化合物 48/80 (C48/80) 为工具药物对其最佳给药浓度、作用时间及检测指标进行优化, 以聚山梨酯(吐温 80)、中华眼镜蛇毒作适用性考察, 对血塞通、脉络宁注射液类过敏反应进行初步评价。结果: RBL-2H3 细胞试验作为药物类过敏反应体外检测方法, 最佳培养时间为 24 h, 最佳种植密度为 $(0.5 \sim 2.0) \times 10^5/\text{mL}$ 。实验选用台氏液为反应溶媒, 其 C48/80 致 RBL-2H3 细胞脱颗粒试验以 $25 \sim 50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 质量浓度, 反应 30 min 为优选条件。C48/80 可使细胞上清 β -己糖苷酶、组胺浓度升高, 呈现良好的“量-时-效”关系; β -己糖苷酶、组胺释放率与药物剂量呈高度正相关 ($r = 0.984, 0.940; P = 0.000, 0.000$), 两指标之间相关性非常显著 ($r = 0.957; P = 0.000$)。适用性考察显示, 吐温 80、中华眼镜蛇毒素在临床或高于临床浓度条件下均具有致 RBL-2H3 细胞脱颗粒作用; 中药注射剂血塞通注射液存在潜在发生类过敏风险, 脉络宁注射液类过敏反应阴性。结论: RBL-2H3 细胞作为药物类过敏的体外试验方法具有灵敏、快速、方便的特点, 适用于包括中药注射剂在内的药物类过敏反应的检测和评价, 对于存在明显色质的受试物, 建议以 ELISA 法指标组胺检测结果为准, 最终的确证还需结合整体动物试验。

[关键词] RBL-2H3 细胞; 类过敏; 方法学; 化合物 48/80; 吐温 80; 血塞通注射液; 脉络宁注射液

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)13-0180-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014130180

Methodological Study of Evaluation of Drug Allergy Using RBL-2H3 Cells *in vitro*

YI Juan-juan, XIE Jia-jun*, ZHANG Li-bo, KANG Li-jing, ZHAO Lin

(Drug Safety Research Centre of the Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

[Abstract] **Objective:** The methodology study was conducted in RBL-2H3 cells allergy test, and its applicability into evaluating anaphylactoid reactions was studied. **Method:** The grown characteristics of RBL-2H3 cells were observed, then compound 48/80 (C48/80) was used to optimize the experimental conditions such as cell density, concentration of dosage, testing indexes. The application of the method was studied though testing two reported allergic reaction drugs, which was used to evaluate two herbs injections. **Result:** As a *in vitro* test to detect drug allergic reaction, the optimum planting density of RBL-2H3 test was $(0.5 \sim 2.0) \times 10^5/\text{mL}$, optimal incubation time was 24 h, optimal drug interaction medium was Tyrode's solution; the optimal condition of C48/80 induced RBL-2H3 cell degranulation test was $25 \sim 50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ concentration and response 30 min; C48/80, Tween-80 and Chinese cobra toxin could induce RBL-2H3 cell degranulation and the increase of cell supernatant β -

[收稿日期] 20140422(015)

[基金项目] 国家“十二五”科技重大专项(2011ZX09301-009)

[第一作者] 易娟娟, 硕士研究生, 从事中药毒理学研究, Tel: 021-51323053, E-mail: yijj01@yeah.net

[通讯作者] * 谢家骏, 研究员, 从事中药药理学毒理学研究与中药新药开发, Tel: 021-51322395, E-mail: xiejj001@163.com

glucosidase and histamine concentrations, which showed a good 'quantity-time-effect' relationship. For Xuesaitong the potential anaphylactoid risk was found. **Conclusion:** As a *in vitro* test for drug anaphylactoid, RBL-2H3 cell method is sensitive, rapid and convenient, it suits the anaphylactoid testing of drugs including TCM injections. For non-ferrous subjects content, it is suggested that the index of histamine ELISA method, confirm at last still need to be combined with experiment *in vivo*.

[**Key words**] RBL-2H3 cells; anaphylactoid reaction; methodological studies; compound 48/80; tween 80; Xuesaitong injection; Mailuoning injection

1978 年美国国立牙科研究所免疫学试验室从 Wistar 大鼠保持肿瘤状态的嗜碱粒细胞中,成功分离和克隆出嗜碱白血病细胞株 RBL-2H3 (rat basophilic leukemia) 细胞。该细胞由于具有高亲和力 IgE 受体,被广泛应用于研究肥大细胞 Fc ϵ RI 和 IgE 介导的 I 型过敏反应^[1]。近年来,有学者尝试将其应用于类过敏研究。化合物 48/80 (compound 48/80, C48/80) 是一种非免疫性组胺释放剂,是组胺研究的重要工具药物^[2]。肥大细胞脱颗粒时组胺、类胰蛋白酶、 β -己糖苷酶三者能够平行释放^[3]。由于类胰蛋白酶只存在肥大细胞而不存在于嗜碱粒细胞中,因此组胺、 β -己糖苷酶是 RBL-2H3 细胞脱颗粒的重要评价指标。本文以 C48/80 为脱颗粒工具药物,以细胞上清组胺、 β -己糖苷酶为评价指标,对 RBL-2H3 细胞类过敏反应脱颗粒条件进行优化。在此基础上,选用有类过敏阳性反应文献报道的聚山梨酯 80 (吐温 80, Tween 80)、中华眼镜蛇毒素,对试验方法适用性进行考察;选用中药注射剂血塞通注射液、脉络宁注射液,对其类过敏反应进行初步评价。

1 材料

1.1 细胞株 RBL-2H3 细胞(大鼠嗜碱性粒细胞白血病患者细胞株)来源于美国 ATCC (CRL-2256),购自中国科学院上海细胞研究所。

1.2 药品与试剂 血塞通注射液($\times \times$ 制药, 13BB15), 脉络宁注射液($\times \times$ 制药, 批号 20120645)。

DMEM (Gibico, 批号 1312065), 胎牛血清 (Gibico, 批号 1221119), 双抗 (Gibico, 批号 J112061), 胰蛋白酶 (Sigma, 批号 0458), 台盼蓝 (Sigma, 批号 RNBC7180), C48/80 (Sigma, 039K4023), 组胺 ELISA 试剂盒 (Demeditec, 批号 12525), β -己糖苷酶 (Sigma, SLBF1695V), Compound48/80 (Sigma, 102M4086V), Triton X-100 (Sigma, WXBB4308V), 聚山梨酯 80 (Tween-80, Sigma, BCBF4913V), 中华眼镜蛇毒素(上海普振生

物, N3MCC9LE)。

1.3 仪器及设备 CO₂ 细胞培养箱 (Thermo, SN: 309519-9426), 全自动酶标仪 (美国 BioTek), 2-16K 型离心机 (德国 Sigma), TPL-40B 型水平低速离心机 (上海安亭科学仪器厂), 倒置系统显微镜 (Olympus), 超低温冰箱 (Thermo), 精密电子天平 (北京赛多利斯)。

2 方法

2.1 RBL-2H3 细胞生长特性观察 按种植密度分为 4 组: 0.1×10^5 , 0.5×10^5 , 1×10^5 , 2×10^5 /mL, 每组按培养时间不同分为 8 个亚组, 即 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 d, 每个亚组 3 个复孔。MTT 实验: 对数期 RBL-2H3 细胞, 重悬后调整细胞密度如上, 100 μ L/孔加液, 分别于对应时间点前 4 h 给予 MTT 液, 50 μ L/T, 并补足培养液至 200 μ L, 小心弃上清, 加入 DMSO (200 μ L/孔) 震荡溶解 5 min, 上清液对半稀释后于 570 nm 测定吸光度 (A)。

2.2 C48/80 致 RBL-2H3 细胞脱颗粒药物作用媒介选择 取对数期 RBL 细胞, 重悬后调整细胞密度 2×10^5 /mL, 100 μ L/孔种板, 37 $^{\circ}$ C 培养箱中培养 24 h 后, 吸弃旧培养基, 分别加入用台氏液、D-Hanks、Hanks 配制的 25, 50, 100 mg \cdot L⁻¹ C48/80 溶液 (200 μ L/孔), 空白孔、总酶孔加对应配制液及其配制的 1% Tritonx-100, 每组 3~4 个复孔; 作用 30 min 后取上清于 0.2 mL EP 管中, 1 200 r \cdot min⁻¹ 离心 10 min, 取上清待测。

2.3 C48/80 致 RBL-2H3 细胞脱颗粒“量-时-效”关系考察 按药物质量浓度分为 C48/80: 12.5, 25, 50, 100 mg \cdot L⁻¹, 每个质量浓度按培养时间分为 10, 30, 60, 120 min 4 个亚组, 每个亚组 4 个复孔。

对数期 RBL 细胞, 重悬后调整细胞密度 2×10^5 /mL, 100 μ L/孔种板, 37 $^{\circ}$ C 培养箱中培养 24 h, 吸弃旧培养基, 200 μ L/孔加入台氏液配制的上述浓度药物, 分别作用对应时间后取上清于 0.2 mL EP 管中, 1 200 r \cdot min⁻¹ 离心 10 min, 取上清测定 β -己糖苷酶量。

2.4 RBL-2H3 细胞类过敏试验方法适用性考察

Tween 80 作为注射剂增溶剂用量一般规定为 0.5% ~ 1.0%，眼镜蛇毒在临床使用每日最大剂量为 50 μg·L⁻¹，血塞通、脉络宁注射液临床标注用量分别为 200 ~ 400 mg/次，10 ~ 20mL/次。使实验结果与临床实际具有可比性，本研究模拟临床体内细胞接触药物的血药浓度，以正常人血液量约 4.5 L 计，临床体内药物浓度相当于标注剂量/血容量 (4.5 L)。考虑到临床人群个体耐受性差异及类过敏存在的剂量量效关系，各组药物剂量设置为低、次低、等、次高、高 5 个临床浓度，等级比为 3 倍。见表 1。

表 1 试验药物剂量设置

受试药物	受试物质量浓度/mg·L ⁻¹				
	1	2	3	4	5
吐温 80 ¹⁾	0.25	0.74	2.22	6.66	20
中华眼镜蛇毒素	0.005 6	0.017	0.05	0.15	0.45
血塞通注射液	9.89	29.7	89	267	801
脉络宁注射液	0.49	1.47	4.4	13.2	39.6

注：¹⁾为体积分数“μL·L⁻¹”。

取对数期 RBL-2H3 细胞，重悬后调整细胞密度 2 × 10⁵/mL，96 孔板，100 μL/孔种板，37 °C 培养箱中培养 24 h，用新鲜台氏缓冲液清洗 2 遍，设空白对照组、总酶组、药物组，加入台式缓冲液与生理盐水 9:1 配制的各浓度药物，空白组不含任何药物，总酶组含 1% 的 Triton X-100 裂解液，每组 3 ~ 4 复孔，200 μL/孔作用于细胞 30 min 后取上清于 0.2 mL EP 管中，1 200 r·min⁻¹ 离心 10 min，取上清 -20 °C 保存待测；取过上清后滴加台盼蓝染液镜下观察细胞形态变化及存活情况。

2.5 β-氨基己糖苷酶测定 (专属性底物显色法)

缓冲液 (0.1 mol·L⁻¹ 柠檬酸-柠檬酸钠)：将 0.1 mol·L⁻¹ 柠檬酸 10.4 mL 与 0.1 mol·L⁻¹ 柠檬酸钠 9.6 mL 混匀，pH 4.5，过滤除菌。基质液：将底物 β-氨基己糖苷 6.846 mg 溶解于 20 mL 0.1 mol·L⁻¹ 柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液中，终浓度为 1 mmol·L⁻¹。终止液 (0.1 mol·L⁻¹ NaCO₃/NaHCO₃)：将 0.1 mol·L⁻¹ Na₂CO₃ 9 mL 与 0.1 mol·L⁻¹ NaHCO₃ 1 mL 混匀，pH 11.0，过滤除菌。测定：取 96 孔板，每孔加入上清液 50 μL，基质液 50 μL，混匀，37 °C 孵育 1 h，加入 150 μL 终止液终止反应，5 min 内测定 405 nm 处 A。

β-己糖苷酶释放率 = 药物组 A / 总酶组均值 A × 100%

2.6 组胺测定 ELISA 法严格按照试剂盒说明书测定，结合标曲计算出样品浓度 C。

组胺释放率 = 药物组 C / 总酶组均值 C × 100%

2.7 统计方法 运用 SPSS 18.0 统计软件进行数据处理，计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示，多组间比较采用单因素方差分析，P < 0.05 有显著性差异；Pearson 相关性分析，P < 0.05 为显著性相关。

3 结果

3.1 RBL-2H3 细胞生长特性观察 结果显示，种植密度为 0.1 × 10⁵、0.5 × 10⁵、1.0 × 10⁵、2 × 10⁵/mL 的细胞，其对数期分别为接种培养后 2 ~ 5、0 ~ 3、0 ~ 3、0 ~ 1 d (图 1)。由于对数期细胞代谢最活跃，对外界刺激敏感性最强，是进行药物影响试验的最佳对象。据此，种植密度在 (0.5 ~ 2.0) × 10⁵/mL 范围内，培养时间以 24 h 作为后期采用的细胞最佳种植密度和培养时间。

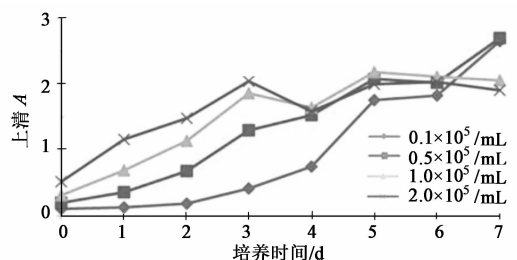


图 1 RBL-2H3 细胞不同种植密度生长曲线

3.2 RBL-2H3 细胞脱颗粒药物作用媒介选择 目前研究中采用的反应体系，主要有台式缓冲液、HBSS 缓冲液 (Hank's Balanced Salt Mixture)、RPMI 1640 或 DMEM 培养液^[4-7]，RBL-2H3 细胞上清液脱颗粒指标 β-己糖苷酶测定采用专属性底物显色法，含酚红的培养液对其检测结果产生干扰，故试验宜采用较为清澈的缓冲盐液作为媒介。HBSS 缓冲液分为含钙镁 Hanks 及不含钙镁 D-Hanks。对 3 种常用孵育液媒介下药物诱导 RBL 细胞脱颗粒情况进行比较，结果呈现良好的剂量关系，台式液和 D-Hanks 差别不大，优于 Hanks。以下选用台式液作为溶媒。见表 2。

表 2 3 种媒介下 C48/80 诱导 RBL-2H3 细胞脱颗粒率 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

药物	质量浓度 /mg·L ⁻¹	β-己糖苷酶释放率/%		
		台式液	D-Hanks	Hanks
空白	-	21.4 ± 0.8	26.4 ± 1.7	40.2 ± 2.0
C48/80	25	27.1 ± 2.6	34.3 ± 2.0 ¹⁾	53.5 ± 2.7
	50	30.3 ± 2.2 ²⁾	36.9 ± 3.0 ²⁾	55.3 ± 1.6
	100	34.9 ± 3.8 ²⁾	46.1 ± 2.3 ²⁾	70.8 ± 18.6 ²⁾

注：与对应空白组比较¹⁾P < 0.05, ²⁾P < 0.01 (表 3 ~ 6 同)。

3.3 RBL-2H3 细胞脱颗粒“量-时-效”关系考察 结果显示，C48/80 致 RBL-2H3 细胞脱颗粒具有良好的“量-时-效”关系，同一浓度药物细胞脱颗粒率

随作用时间延长而提高。见表 3。但 50, 100 mg·L⁻¹ C48/80 在与细胞反应 60 min, 120 min 时出现大于 20% 细胞死亡, 易出现类过敏反应评价的假阳

性。因此选用不高于 IC₁₀ 药物剂量(细胞存活 90% 以上)与不长于 30 min 的细胞作用时间进行评价较为合适。

表 3 C48/80 对 RBL-2H3 细胞上清 β -己糖苷酶释放率的影响($\bar{x} \pm s, n=4$)

药物	质量浓度 /mg·L ⁻¹	β -己糖苷酶释放率/%			
		10 min	30 min	60 min	120 min
空白	-	13.26 ± 1.49	15.74 ± 2.40	20.47 ± 2.73	24.12 ± 1.35
C48/80	12.5	25.53 ± 2.41 ²⁾	31.43 ± 2.98 ²⁾	28.35 ± 2.17 ¹⁾	30.35 ± 1.79
	25	31.10 ± 0.98 ²⁾	33.58 ± 4.28 ²⁾	37.94 ± 2.66 ²⁾	35.5 ± 6.04 ²⁾
	50	32.65 ± 0.74 ²⁾	35.64 ± 1.49 ²⁾	40.8 ± 4.74 ²⁾	58.08 ± 6.20 ²⁾
	100	41.17 ± 4.90 ²⁾	47.78 ± 10.16 ²⁾	56.53 ± 4.32 ²⁾	77.24 ± 2.26 ²⁾

C48/80 使细胞上清 β -己糖苷酶、组胺显著升高 ($P < 0.05$), 其 β -己糖苷酶、组胺释放率与药物剂量呈高度相关 ($r = 0.984, 0.940; P = 0.000, 0.000$); 两指标之间相关性显著 ($r = 0.957; P = 0.000$)。见表 4。

表 4 C48/80 对 RBL-2H3 细胞上清 β -己糖苷酶及组胺释放的影响

组别	质量浓度 /mg·L ⁻¹	β -己糖苷酶 释放率/%	组胺释放率 /%
空白	-	16.18 ± 1.59	7.63 ± 2.35
C48/80	1.9	18.01 ± 1.4	16.84 ± 4.39
	5.6	19.73 ± 2.41	17.89 ± 7.97
	16.7	20.52 ± 2.47 ¹⁾	16.58 ± 4.28
	50	25.95 ± 1.81 ²⁾	20.85 ± 2.08 ²⁾
	150	60.09 ± 2.35 ²⁾	118.98 ± 22.91 ¹⁾

3.4 RBL-2H3 细胞类过敏试验方法适用性考察

结果显示, Tween-80 在临床浓度时便可使 β -己糖苷酶释放率升高 ($P < 0.05$), 在高于 9 倍临床血药浓度 (20 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$) 时、组胺释放率亦显著升高 ($P < 0.05$), 呈明显的量效关系。中华眼镜蛇毒素在高于 3 倍临床血药浓度 (0.15 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 时、可使细胞上清 β -己糖苷酶、组胺释放率显著升高 ($P < 0.05$), 高于 9 倍临床血药浓度 (0.45 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 时, 释放率指标升高更为明显。血塞通注射液在高于 9 倍临床血药浓度 (801 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 时, 细胞上清 β -己糖苷酶释放率显著升高 ($P < 0.05$), 组胺释放率亦有一定的升高趋势。见表 5。

脉络宁注射液 β -己糖苷酶 A 随药物浓度的增高而升高显著, 但组胺释放不明显。分析认为此属受试物质本身具有较深的颜色所致。为了避免受试物质因本身色质干扰 β -己糖苷酶吸光度测定而可能导致的类过敏评判的假阳性, 宜采用组胺测定结果作为判定标准。见表 5。

表 5 药物对 RBL-2H3 细胞上清 β -己糖苷酶及组胺释放的影响 (一) ($\bar{x} \pm s, n=4$)

组别	质量 浓度 /mg·L ⁻¹	β -己糖苷酶		组胺	
		释放率/%	增长 倍数	释放率/%	增长 倍数
空白	-	13.43 ± 0.94	1	7.16 ± 0.62	1
吐温 80 ³⁾	0.25	14.51 ± 3.35	1.08	5.27 ± 1.82	0.74
	0.74	17.51 ± 0.67 ¹⁾	1.30	8.83 ± 0.92	1.23
	2.22	19.44 ± 0.72 ²⁾	1.45	8.36 ± 1.67	1.17
	6.66	28.02 ± 1.96 ²⁾	2.09	15.09 ± 2.73	2.11
	20	54.81 ± 6.84 ¹⁾	4.08	43.31 ± 9.12 ¹⁾	6.05
中华眼镜 蛇毒素	0.005 6	19.01 ± 0.96 ²⁾	1.42	7.05 ± 2.59	0.99
	0.017	18.75 ± 1.87	1.40	8.54 ± 3.45	1.19
	0.05	21.09 ± 2.8	1.57	15.13 ± 5.98	2.12
	0.15	29.14 ± 3.72 ¹⁾	2.17	28.06 ± 3.79 ¹⁾	3.92
	0.45	29.21 ± 4.88	2.18	36.26 ± 15.88	5.07
血塞通	9.89	21.75 ± 2.52	1.62	3.07 ± 1.73	0.43
	29.7	26.91 ± 1.75 ²⁾	2.00	2.65 ± 1.74	0.37
	89	28.18 ± 6.12	2.09	2.27 ± 0.61	0.32
	267	42.19 ± 10.67	3.14	5.35 ± 1.58	0.75
	801	74.25 ± 14.22 ¹⁾	5.53	12.9 ± 4.35	1.80
空白	-	17.13 ± 1.95		7.37 ± 0.97	1
脉络宁	0.49	19.67 ± 1.24		9.17 ± 2.01	1.24
	1.47	28.77 ± 2.8 ²⁾		9.06 ± 1.01	1.23
	4.4	36.15 ± 0.31 ²⁾		10.39 ± 2.33	1.41
	13.2	62.61 ± 0.27 ²⁾		9.00 ± 1.55	1.22
	39.6	147.37 ± 0.98 ²⁾		10.19 ± 3.51	1.38

注: ³⁾吐温 80 体积分数单位为 " $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ "。

4 讨论

C48/80 是经典的致细胞脱颗粒的工具药物, RBL-2H3 细胞随着药物作用时间延长及药物浓度的增大, 细胞脱颗粒率随之升高, 但药物浓度过高或作用时间过长, 会出现部分细胞死亡, 死亡细胞可能弥漫性释放胞内活性物质, 造成对细胞脱颗粒率评定结果的干扰, 所以药物剂量选择应以不明显导致细胞死亡为宜, 建议选用不高于 IC₁₀ 药物剂量进行试验。

关于测定指标的选择,β-己糖苷酶、组胺释放率与药物剂量呈高度相关且两指标之间相关性显著,但由于中药注射剂自身多成分的复杂性,以及药液成色较深等因素,对以比色法原理法进行检测的指标(如 β-己糖苷酶)可能产生很大的干扰,故以 ELISA 法指标(如组胺)进行检测的结果更为科学。

Tween-80 是一种亲水性的表面活性剂,由失水山梨醇单油酸酯与环氧乙烷聚合而成,为多国《药典》收载,其作为助溶剂常用于注射剂中。国家审批的 134 个中药注射剂品种中明文规定含有 Tween-80 的有 24 个,常用量为 0.5% ~ 1.0%。2006 年鱼腥草注射液事件爆发后,研究者发现 Tween-80 可通过激活补体途径来导致类过敏反应发生^[8],也可在不依赖于细胞外 Ca²⁺ 情况下直接诱导 MC 脱颗粒^[9]。本研究显示,高于临床浓度的 Tween-80 可明显诱导 RBL-2H3 细胞脱颗粒。

眼镜蛇毒素是眼镜蛇毒中的一种突触后神经毒蛋白,可以剂量依赖性诱导钙离子摄取而使肥大细胞脱颗粒释放组胺^[2],但同时也可通过清除补体而完全阻断通过补体途径导致的大鼠类过敏反应^[10]。本研究显示,相当临床浓度的中华眼镜蛇毒素能使细胞上清 β-己糖苷酶和组胺释放率分别升高 57% 和 112%,高于临床浓度 9 倍剂量则进一步升高 118% 和 407%,提示其诱导类过敏的反应特性。

血塞通注射液在相当临床 9 倍浓度时,细胞上清 β-己糖苷酶含量升高显著,细胞上清组胺释放率明显升高,且呈一定的量效关系,存在潜在致类过敏性;脉络宁注射液药液因本身颜色干扰了 β-己糖苷酶 A 的测定,细胞上清组胺释放率检测结果显示升高不明显,类过敏反应判定为阴性。中药注射剂检测结果表明,目前市面上的中药注射剂按照产品说明书正常使用是相对安全的,在敏感人群或高于正常临床剂量使用时存在着一定的致类过敏性,此结果与中药注射剂临床表现一致,提示加强中药注射剂临床用药的规范性,做好敏感人群的用药排查防范,方能减少类过敏不良反应发生达到安全用药的目的。

近年来中药注射剂不良反应报道较多,2007 ~ 2010 年中药注射剂不良反应期刊报道 658 例^[11],其中过敏反应及类过敏反应尤为常见,严重者甚至危及生命。对此,本文通过对 RBL-2H3 细胞体外试验评价药物类过敏的方法学研究 and 适用性考察,为药物类过敏的快速筛查提供了一个可靠性强、适用性好的体外类过敏检测模型和方法,并利用该模型探

讨不同中药注射剂的潜在类过敏性。RBL-2H3 细胞生长迅速、培养方法简单、受试物需求量少、检测灵敏度高,且具有永生代、符合动物福利等特点,尤其适用于类过敏反应评判的初步筛选,但最终的确证还需结合整体动物试验。

[参考文献]

- [1] 赵吟,李钦,张信岳. 基于 RBL-2H3 细胞模型的 I 型过敏反应和类过敏反应研究[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2010, 15(11):1310.
- [2] Chai O H, Kim E K, Lee Y H, et al. Histamine release induced by dendroaspis natriuretic peptide from rat mast cells[J]. Peptides, 2001, 22(9):1421.
- [3] 郭永超,李振兴,林洪. 组胺、类胰蛋白酶、β-己糖苷酶在肥大细胞体外释放过程中的相互关系[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2009, 25(12):1073.
- [4] 胡剑江,侯燕鸣,张倩,等. 肥大细胞类过敏反应脱颗粒的实时动态检测方法[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(14):1860.
- [5] Endo Y, Yokochi T, Matsushita M, et al. Complement-dependent platelet degradation and anaphylactoid shock in mice induced by lipopolysaccharide carrying the mannose homopolymer [J]. J Endotoxin Res, 2001, 7(6):451.
- [6] Szebeni J, Muqia F, Gabizon A, et al. Activation of complement by therapeutic liposomes and other lipid excipient-based therapeutic products: Prediction and prevention [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2011, 63(12):1020.
- [7] Moghimi S M, Hamad I, Andresen T L, et al. Methylation of the phosphate oxygen moiety of phospholipid-methoxy (polyethylene glycol) conjugate prevents PEGylated liposome-mediated complement activation and anaphylatoxin production [J]. FASEB J, 2006, 20(14):2591.
- [8] 张嘉,李贻奎,李连达,等. 补体系统激活在吐温 80 导致类过敏反应中的作用[J]. 毒理学杂志, 2009, (6):457.
- [9] 张嘉,李澎,李贻奎,等. 吐温 80 诱导 RBL-2H3 细胞脱颗粒作用研究 [J]. 现代免疫学, 2009, 29(3):240.
- [10] Szebeni J. Complement activation-related pseudoallergy caused by liposomes, micellar carriers of intravenous drugs, and radiocontrast agents [J]. Crit Rev Ther Drug Carrier Syst, 2001, 18(6):567.
- [11] 吴嘉瑞,张冰,董玲,等. 中药注射剂不良反应信息的系统分析与评价 [J]. 中国医药指南, 2012, 10(20):274.

[责任编辑 聂淑琴]