

苦碟子注射液(碟脉灵)过敏反应发生机制探讨

阎博华^{1,2}, 彭成³, 刘中兴³, 王莉³, 谢晓芳³, 谢雁鸣^{1*}, 陈峰⁴

- (1. 中国中医科学院 中医临床基础医学研究所, 北京 100700;
2. 四川省中医院, 成都 610072; 3. 成都中医药大学, 成都 610075;
4. 通化华夏药业有限责任公司, 吉林 通化 134100)

[摘要] 目的:分析苦碟子注射液(碟脉灵,DML)过敏反应类型及可能产生的原因,对其过敏反应发生机制进行探索。
方法:按照《中药、天然药物免疫毒性(过敏性、光变态反应)研究的技术指导原则》的实验方法对DML临床拟用剂量进行全身主动过敏实验(ASA)和皮肤被动过敏实验(PCA),并且采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测豚鼠血清总免疫球蛋白(IgE),补体3(C3),补体4(C4),白细胞介素(IL)-4,IL-10,IL-2,前列腺素D₂(PGD₂),白三烯C₄(LTC₄),肿瘤坏死因子- α (TNF- α),干扰素- γ (IFN- γ)水平的变化。**结果:**ASA过敏症状,激发后卵白蛋白组症状表现均为极强阳性(死亡)。DML未超滤组较氯化钠组与超滤组症状反应均强烈($P < 0.01$)。血清免疫学指标改变:与氯化钠组比较,DML未超滤组血清中总IgE,IL-10,LTC₄,TNF- α ,IFN- γ ,IL-2均有明显升高($P < 0.05$, $P < 0.01$),DML超滤组血清PGD₂,TNF- α ,IFN- γ 均明显升高($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与DML超滤组比较,未超滤组血清中总IgE,IL-4均有明显升高($P < 0.05$, $P < 0.01$)。PCA:氯化钠组蓝斑阳性率为0,与卵白蛋白组比较,DML未超滤组与DML超滤组小鼠蓝斑直径均减小($P < 0.05$, $P < 0.01$);与氯化钠组、DML超滤组比较,DML未超滤组吸光度A显著升高($P < 0.01$),与超滤组比较,卵白蛋白A显著升高($P < 0.01$)。**结论:**由IgE介导的I型过敏反应是DML发生过敏反应的主要类型,其主要发生机制可能为DML所含大分子物质通过IgE介导免疫激发体内各类炎症介质释放,产生免疫反应,减少大分子物质可能是防止DML发生过敏反应的重要途径。

[关键词] 苦碟子注射液; I型过敏反应; 主动全身过敏实验; 被动皮肤过敏反应

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)09-0101-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016090101

Underlying Mechanisms for Allergic Reactions of DML Ixeis Sonchifolia Hance Injection

YAN Bo-hua^{1,2}, PENG Cheng³, LIU Zhong-xing³, WANG Li³, XIE Xiao-fang³,
XIE Yan-ming^{1*}, CHEN Feng⁴

- (1. Institute of Basic Research in Clinical Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 2. Sichuan Traditional Chinese Medicine (TCM) Hospital, Chengdu 610072, China; 3. Chengdu University of TCM, Chengdu 610075, China; 4. Tonghua Huaxia Pharmaceutical Co. Ltd., Tonghua 134100, China)

[Abstract] **Objective:** To analyze the types and main potential causes of Diemailing (DML) allergic reactions, and explore the underlying mechanisms of such allergic reactions. **Method:** According to the *Guideline for Immunotoxicity Research (Allergy and Photoallergic Reaction) on Chinese Medicine and Natural Medicine*, the active systemic anaphylaxis (ASA) test and passive cutaneous anaphylaxis (PCA) test were carried out for DML ixeis sonchifolia hance injection. Serum IgE, C3, C4, interleukin (IL) -4, IL-10, IL-2, prostaglandin D₂ (PGD₂), leukotriene C₄ (LTC₄), tumor necrosis factor (TNF) - α and interferon (IFN) - γ levels were

[收稿日期] 20150925(016)

[基金项目] 四川省科技支撑计划项目(2014SZ0071);国家“重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09502-030)

[第一作者] 阎博华,博士,副主任医师,从事中药注射剂不良反应机制研究,Tel:18011521921,E-mail:ybh612003@163.com

[通讯作者] *谢雁鸣,研究员,博士生导师,从事中医临床疗效评价方法研究,Tel:010-64014411-3302,E-mail:zhinanb2012@yahoo.com.cn

determined by using ELISA. **Result:** ASA allergic symptoms, after stimulation, the ovalbumin group experienced the strongest positive symptom (death). The allergic symptoms of the non-ultrafiltrated DML group were stronger than those of the sodium chloride injection group and the ultrafiltrated DML group ($P < 0.01$). Changes in serum immunological parameters: Compared with the sodium chloride injection group, some indexes in serum of the non-ultrafiltrated DML group were increased significantly such as IgE, IL-10, LTC₄, TNF- α , IFN- γ and IL-2 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and the levels of PGD₂, TNF- α and IFN- γ in ultrafiltrated DML group were also increased significantly ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the ultrafiltrated DML group, Levels of serum IgE and IL-4 of the non-ultrafiltrated DML group were significantly increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). PCA: Positive rate of blue spots is zero in the sodium chloride injection group. Compared with the ovalbumin group, the diameters of blue spots were significantly decreased in both non-ultrafiltrated DML group and ultrafiltrated DML group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the sodium chloride injection group and ultrafiltrated DML group, the absorbance (A) of the non-ultrafiltrated DML group was significantly increased ($P < 0.01$). The A of the ovalbumin group was significantly increased than that of the ultrafiltrated DML group ($P < 0.01$). **Conclusion:** Type I allergy mediated by IgE is the main type of DML injection's allergic reactions. The macromolecular substance in DML can release various inflammatory mediators through IgE mediated immune stimulation. This kind of immunity reaction may be the main mechanism of allergic reactions in DML, so reducing macromolecular substances may be an important way to prevent allergic reactions of DML.

[**Key words**] Diemailing ixeis sonchifolia hance injection; type I allergy; active systemic anaphylaxis; passive cutaneous anaphylaxis

中药注射剂(TCMI)引发过敏反应发生主要与药物提取工艺、人体个体差异及药物使用密切相关^[1]。本研究通过监测对碟脉灵苦碟子注射液(DML)动物过敏实验,对DML可能引发过敏反应的相关工艺流程进行探索。DML主要成分为苦碟子,具有活血止痛、清热祛瘀功效,能够扩张冠状血管,改善心肌血氧供应,增加纤维蛋白溶解酶活性,抑制血栓形成,用于瘀血闭阻的胸痹,证见胸闷、心痛、口苦,舌暗红或存瘀斑等。适用于冠心病、心绞痛见上述症状者。DML生成工艺主要分为4个步骤,高温灭菌,加碳过滤,超滤(相对分子质量30 kDa)和超滤(相对分子质量10 kDa)。本次选择加碳过滤与10 kDa相对分子质量超滤DML进行过敏反应比较。通过对DML超滤工艺对过敏反应发生影响分析DML过敏反应发生的类型和特点。

1 材料

1.1 药品 苦碟子注射液浓备液(加碳过滤,6.67 g生药/支)、苦碟子注射液(超滤过相对分子质量10 kDa膜,生药量0.404 g/支),均由通化华夏药业有限公司提供,批号分别为141006-T,150101-S。

1.2 药物 普通级健康英国种豚鼠,体重200~250 g,由四川实验动物专委会养殖场提供,合格证号SCXK(川)2008-0014。饲养于成都中医药大学药学院豚鼠动物房。SPF级C57BL/6J小鼠,体重

18~22 g,雌雄各半,由四川大学实验动物中心提供,合格证号SCXK(川)2013-0026。饲养于独立换气系统环境中。

1.3 试剂 卵白蛋白冻粉[联世生物科技(上海)有限公司,分装号A-5253],临用前由生理盐水配成10 g·L⁻¹溶液;伊文思蓝(上海博舜生物科技有限公司,批号2017/08),生理盐水(四川科伦药业股份有限公司,批号A15041202-1)。

1.4 仪器 ThermoFisherMK3型酶标仪(海卡耐兹实验仪器设备有限公司),BX51-75A21PO型光学显微镜(日本奥林巴斯公司),FYL-YS-150L型恒温孵箱(北京福意电器公司)。

2 方法

2.1 分组 取健康豚鼠和C57BL/6J小鼠,各按体重随机分为4组,卵白蛋白(10%卵白蛋白)组、氯化钠(0.9%氯化钠注射液)组、DML未超滤组和DML超滤组。DML用药剂量按说明书推荐临床拟用剂量计算,豚鼠给药量(按生药计)均为2.5 mg·g⁻¹,小鼠给药量为5 mg·g⁻¹。

2.2 全身过敏实验 取健康、合格豚鼠24只,按体重随机分为氯化钠组、卵白蛋白组、DML未超滤组和DML超滤组,每组豚鼠6只,雌雄各半。待适应环境后,各组豚鼠ip给予相应药液0.5 mL/只。隔日给药1次,共4次。于末次致敏后第14天,各组

豚鼠给予足趾静脉推注相应药液以激发过敏反应, 给药剂量为致敏剂量的 2 倍(1 mL/只)。激发后, 立即对各组豚鼠进行过敏反应观察, 连续 30 min。

2.2.1 过敏反应症状及全身致敏性评价 参考文献[2]确定全身致敏性评价标准。阴性表现为无症状; 出现烦躁、寒战、搔鼻、喷嚏、排尿和呼吸急促等表现为弱阳性; 出现呼吸困难和运动障碍的症状为阳性; 出现呼吸衰竭直至痉挛, 但可恢复为强阳性; 动物死亡, 为极强阳性。过敏反应症状评分: 0 分, 正常; 1 分, 不安宁; 2 分, 竖毛; 3 分, 发抖; 4 分, 搔鼻; 5 分, 喷嚏; 6 分, 咳嗽; 7 分, 呼吸急促; 8 分, 排尿; 9 分, 排粪; 10 分, 流泪; 11 分, 呼吸困难; 12 分, 哮喘音; 13 分, 紫癜; 14 分, 步态不稳; 15 分, 跳跃; 16 分, 喘息; 17 分, 痉挛; 18 分, 旋转; 19 分, 潮式呼吸; 20 分, 死亡。

2.2.2 血清学细胞因子检测 各组豚鼠观察反应后, 立即经股动脉采血, 3 500 r·min⁻¹ 离心取血清, 采用酶联免疫(ELISA)法检测血清总免疫球蛋白(IgE), 补体 3(C3), 补体 4(C4), 白细胞介素(IL)-4, IL-10, IL-2, 前列腺素 D₂(PGD₂), 白三烯 C₄(LTC₄), 肿瘤坏死因子-α(TNF-α), 干扰素-γ(IFN-γ)水平含量。各指标测定参照试剂盒说明书首先稀释对照品, 加样, 放置 37 ℃ 恒温箱温育 60 min, 配液、洗涤、拍干, 加入显色剂在 37 ℃ 避光显色 10 min, 加入终止液 10 min 内测定。

2.3 被动皮肤过敏检测 C57BL/6J 小鼠按体重随机分为氯化钠组、卵白蛋白组、DML 未超滤组和 DML 超滤组, 各 4 只。各组 ip 给予相应药液 0.5 mL/只。隔日给药 1 次, 共 4 次。末次给药后常规饲养 12 d, 于第 13 天采用眼球摘除法取血。37 ℃, 1 h 后 4 ℃ 恒温过夜, 次日 3 500 r·min⁻¹ 离心 10 min, 分离得含药血清, -20 ℃ 保存备用。另取 C57BL/6J 小鼠 40 只, 按体重分 4 组, 分组情况同致敏实验, 各 10 只, 雌雄各半, 氯化钠组和卵白蛋白组饲养过程中各死亡 1 只, 剩余各 9 只。各组小鼠采用 0.6% 硫化钠脱毛(注意不要损伤皮肤), 以脊柱为中轴分为两侧, 每侧用标记出 2 个区域。次日皮内注射相应药液的含抗体血清或和稀释后血清, 每个部位给药量 20 μL。注射 48 h 后, 各组小鼠均给予尾静脉注射含有 1% 依文思蓝的药液 0.5 mL/只。30 min 后脱颈椎处死小鼠, 剪取背部皮肤, 游标卡尺测定背部蓝斑直径, 蓝斑直径 ≥ 5 mm 为阳性结果, < 5 mm 或无蓝斑为阴性结果。

蓝斑阳性率 = 动物数_{蓝斑 ≥ 5 mm} / 总动物数 × 100%

2.4 统计学方法 使用 SPSS 13.0 软件, 计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较用单因素方差分析, 组间两两比较方差齐时用 LSD 检验, 方差不齐时用 Dunnett's T3 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 豚鼠全身过敏反应症状 氯化钠组豚鼠在激发给药后无明显异常表现。卵白蛋白组豚鼠激发后反应明显, 给药后 1 min 出现躁动, 呼吸急促, 流涎, 抽搐, 3 min 内迅速死亡。DML 超滤组豚鼠过敏症状主要表现较轻的喘息、喷嚏。DML 未超滤组豚鼠表现为呼吸急促, 2 min 左右活动开始减少, 表现为呼吸抑制, 喷嚏、流涎、鼻腔水样分泌物增加等症状, 虽然表现抽搐但未出现死亡。与氯化钠组和 DML 超滤组比较, DML 未超滤组过敏反应明显(P < 0.01)。见表 1。

表 1 DML 对豚鼠全身主动过敏反应症状评分的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)
Table 1 Effect of DML on active systemic anaphylaxis symptom scores in guinea pigs($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	症状评分
氯化钠	2.00 ± 1.41
卵白蛋白	20.00 ± 0.00
DML 未超滤	13.43 ± 0.40 ^{1,3)}
DML 超滤	5.50 ± 6.72 ²⁾

注: 与氯化钠组比较¹⁾ P < 0.01, 与卵白蛋白组比较²⁾ P < 0.01, 与 DML 超滤组比较³⁾ P < 0.01。

3.2 DML 对血清总 IgE, C3, C4, IL-4, IL-10 含量的影响 与氯化钠组比较, 卵白蛋白组血清总 IgE, C3, IL-4, IL-10 均有所升高, 其中 IgE, C3 升高显著(P < 0.01); DML 未超滤组总 IgE, IL-10 显著高于氯化钠组及 DML 超滤组(P < 0.01); DML 超滤组总 IgE 和 C3 水平均接近于氯化钠组, 较卵白蛋白组明显降低(P < 0.05, P < 0.01)。见表 2。

3.3 DML 对血清 PGD₂, LTC₄, TNF-α, IFN-γ, IL-2 含量的影响 DML 超滤组 PGD₂, TNF-α 含量均明显高于氯化钠组与卵白蛋白组(P < 0.05), IL-2 含量高于卵白蛋白组(P < 0.05), IFN-γ 含量高于氯化钠组(P < 0.01); DML 未超滤组 TNF-α, IFN-γ, IL-2 含量均明显高于氯化钠组和卵白蛋白组(P < 0.05, P < 0.01), LTC₄ 含量明显高于氯化钠组(P < 0.05, P < 0.01); DML 未超滤组 IFN-γ 含量明显高于超滤组(P < 0.05)。见表 3。

3.4 DML 对被动皮肤过敏实验皮肤蓝斑形成及蓝斑吸光度 A 的影响 皮内注射相应的抗体血清后,

各组小鼠一般状态无明显变化。48 h 后注射伊文思蓝,氯化钠组小鼠背部皮肤未出现大于 5 mm 的蓝斑,阳性率为 0;卵白蛋白组阳性率显著高于氯化钠组($P < 0.01$);与卵白蛋白组比较,DML 未超滤组和 DML 超滤组小鼠蓝斑直径均明显减小($P <$

$0.05, P < 0.01$),且 DML 未超滤组直径较 DML 超滤组更小,阳性率高($P < 0.05$)。DML 未超滤组 A 明显高于氯化钠组和 DML 超滤组($P < 0.01$),DML 超滤组 A 较卵白蛋白组明显下降($P < 0.01$),与氯化钠组相近。见表 4。

表 2 DML 对致敏豚鼠血清总 IgE, C3, C4, IL-4, IL-10 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of DML on serum IgE, C3, C4, IL-4 and IL-10 levels of sensitized guinea pigs ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/mL	n	总 IgE/U·mL ⁻¹	C3/mg·L ⁻¹	C4/g·L ⁻¹	IL-4/ng·L ⁻¹	IL-10/ng·L ⁻¹
氯化钠	-	6	2.36 ± 0.41	0.04 ± 0.00	0.12 ± 0.00	60.18 ± 18.95	0.04 ± 0.01
卵白蛋白	0.5	3	3.41 ± 0.07 ¹⁾	0.08 ± 0.00 ¹⁾	0.16 ± 0.03	89.56 ± 47.49	0.05 ± 0.00
DML 未超滤	0.5	6	3.68 ± 0.10 ^{1,3,5)}	0.06 ± 0.00	0.19 ± 0.01	87.24 ± 12.29 ⁴⁾	0.06 ± 0.00 ^{1,4)}
DML 超滤	0.5	6	2.53 ± 0.60 ³⁾	0.05 ± 0.01 ²⁾	0.17 ± 0.05	50.28 ± 9.34	0.05 ± 0.01

注:与氯化钠组比较¹⁾ $P < 0.01$;与卵白蛋白组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$;与 DML 超滤组比较⁴⁾ $P < 0.05$,⁵⁾ $P < 0.01$ 。

表 3 DML 对豚鼠血清 PGD₂, LTC₄, TNF-α, IFN-γ, IL-2 含量影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of DML on serum PGD₂, LTC₄, TNF-α, IFN-γ and IL-2 levels of sensitized guinea pigs ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/mL	n	PGD ₂	LTC ₄	TNF-α	IFN-γ	IL-2
氯化钠	-	6	421.70 ± 25.45	1 402.12 ± 358.24	138.88 ± 109.90	0.10 ± 0.01	110.16 ± 28.40
卵白蛋白	0.5	3	601.40 ± 54.03	1 928.44 ± 1 439.90	158.23 ± 134.03	0.12 ± 0.01	26.85 ± 15.28
DML 未超滤	0.5	6	772.61 ± 89.38	3 571.14 ± 633.18 ²⁾	317.49 ± 49.30 ^{1,3)}	0.13 ± 0.00 ^{2,4)}	180.22 ± 9.44 ^{1,4)}
DML 超滤	0.5	6	900.07 ± 101.90 ^{1,3)}	3 494.04 ± 273.40	312.79 ± 50.50 ^{1,3)}	0.12 ± 0.01 ^{2,5)}	163.58 ± 8.0 ³⁾

注:与氯化钠组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与卵白蛋白组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$;与 DML 未超滤组比较⁵⁾ $P < 0.05$ 。

表 4 DML 对小鼠被动皮肤过敏试验皮肤蓝斑形成及 A 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Effect of DML on blue spots formation and A in passive cutaneous anaphylaxis test of guinea pigs ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/mL	n	蓝斑动物/只	蓝斑直径/mm	阳性率/%	A
氯化钠	-	9	0	0	0	0.07 ± 0.01
卵白蛋白	0.5	9	8	4.3 ± 3.0 ¹⁾	88.89 ¹⁾	0.09 ± 0.03
DML 未超滤	0.5	10	2	0.6 ± 1.2 ²⁾	20 ²⁾	0.09 ± 0.02 ¹⁾
DML 超滤	0.5	10	9	1.8 ± 1.1 ^{3,4)}	0 ^{3,4)}	0.07 ± 0.01 ^{3,4)}

注:与氯化钠组比较¹⁾ $P < 0.01$;与卵白蛋白组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$;与未超滤组比较⁴⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

4.1 I 型过敏反应是 DML 发生过敏反应的主要类型 目前普遍接受的过敏反应分类系统是来自 Coombs 和 Gell 的分类^[3],Ig 介导的过敏反应包括 I, II, III 型。而将淋巴细胞介导的过敏反应称为 I 型。I 型由 IgE 介导,且病理反应最为强烈,轻者表现如皮肤红斑、荨麻疹、全身瘙痒,或者喷嚏、上呼吸道分泌物增加、恶心、头痛,严重者可表现气促、呼吸困难、呕吐、腹泻、意识障碍,可因循环障碍休克或因呼吸困难窒息死亡^[4]。本实验过程中卵白蛋白组激发后跳跃、抽搐、喘息症状明显,3 min 内全部死亡,实验各组多只豚鼠过敏症状表现强烈,尤其是呼吸道的喘息症状非常明显。血清学检测显示,未超滤 DML 组与卵白蛋白组 IgE 浓度较之氯化钠组有明显的增加。

效应阶段^[5]。致敏状态可维持数月或更长,如果长期不接触该过敏原,致敏状态可自行逐渐消失。若相同过敏原再次进入机体时,通过与致敏的肥大细胞和嗜碱性粒细胞表面的抗体特异性结合,使这种细胞释放生物活性介质。活性物质包括组胺, PGD₂, LTC₄ 等,实验结果显示豚鼠体内超滤组 PGD₂ 增加明显,LTC₄ 未超滤组增加明显。

本研究未超滤 DML 组细胞因子含量均较氯化钠组升高,此情况符合速发型超敏反应的细胞学特点^[6-8]。未超滤 DML 的某个成分或某些成分可能通过 IgE 介导免疫激发后引起体内一些炎性介质的释放,最终导致气道的高反应性和肺部的炎性渗出^[9],引起实验豚鼠出现呼吸系统症状,由此初步推断由 IgE 介导的 I 型过敏反应是 DML 发生过敏反应的主要类型。

4.2 DML 可能同时引发 IV 型过敏反应 结果显示

未超滤 DML 与超滤 DML 均引起豚鼠体内 TNF- α , IFN- γ 含量明显增加, 而超滤组 IgE 未见明显升高, 同时 C3, C4 也未见明显变化。提示 DML 可能同时引发了 IV 型过敏反应。与 Ig 介导的 I, II, III 型过敏反应不同, IV 型过敏反应由 T 细胞介导。Th1 细胞主要起细胞免疫作用, 对致病原发生迟发型过敏反应。Th2 细胞主要起体液免疫作用。T 细胞产生的 TNF- α 可作用于局部损伤组织, 增加局部血管黏附, IFN- γ 可增强炎症介质的释放。结合 IgE, C3, C4, IFN- γ 及 TNF- α 综合分析推断 DML 可能同时引发了 IV 型过敏反应。

4.3 超滤工艺可能有助于减少 DML 所含致敏物质 DML 生成工艺主要分为 4 个步骤, 本次选择的是加碳过滤与超滤(相对分子质量 10 kDa)的 DML 进行过敏反应比较。超滤是以分离膜孔径特征进行的分离。是根据液体中分子大小和形状, 以膜为过滤介质, 依靠一定的压力和流速, 通过膜的筛分作用, 在分子水平上进行分离, 迫使大分子杂质截留, 小分子的特质透过。超滤的膜孔径以相对分子质量为单位, 一般在 1 ~ 100 kDa^[10]。超滤技术能够有效的减少残留在注射剂中的大分子热原和过敏性物质, 增加其使用的安全性^[11]。超滤将 DML 内溶质相对分子质量控制在 10 kDa 以内能够有效地降低其诱发速发型超敏反应的概率。同时能减轻因使用 DML 引起的速发型超敏反应的临床症状。本实验结果显示经超滤(相对分子质量 10 kDa)的 DML 在常规剂量内较之未超滤的过敏症状明显减轻, 经超滤后 DML 较超滤前 DML 豚鼠血清 IL-4, IL-10, LTC₄, IFN- γ 均有所下降, 提示超滤前更易引发过敏反应。未经超滤的 DML 半成品中含有大量的大分子物质和植物蛋白, 此类物质相对分子质量一般 > 10 kDa。通常认为外界的大分子物质直接进入血液后容易引发过敏反应^[12]。DML 未经超滤的药液经 0.45 μm 孔径滤膜过滤。可能将大量的多糖、植物蛋白等大分子物质存留, 极易引发速发型超敏反应。说明超滤减少了过敏反应的发生。其主要发生机制可能为 DML 所含大分子物质通过 IgE 介导免疫激发体内各类炎症介质释放产生免疫反应, 减少大分子物质可能是防止 DML 发生过敏反应的重要途径。

超滤工艺可以减少 DML 所含的大分子致敏物质。但本实验结果提示 DML 引起的过敏因素不只是制剂中残留的一些大分子成分引起的, 可能与注射剂中的一些小分子成分有关。超滤后 DML 仍含有的有机酸或黄酮以及其他可能存在的未知成分。

DML 已分离得到的有机酸类化合物有 6 个^[13], 黄酮类有 7 种^[14], 核苷类有 10 种^[15], 成分十分复杂。另外超滤不仅仅与相对分子质量的大小有关, 与膜的选择、分子结构等都有一定的关系。

[参考文献]

- [1] 曾祥麟, 陈晓露, 李粒. 中药注射剂引起过敏反应和类过敏反应研究进展[J]. 中亚太传统医药, 2015, 11(9): 35-37.
- [3] Park J S, Choi I H, Lee D G, et al. Anti-IL-4 monoclonal antibody prevents antibiotics-induced active fatal anaphylaxis [J]. J Immunol, 1997, 158(10): 5002-5006.
- [4] Rajan T V. The Gell-Coombs classification of hypersensitivity reactions a re-interpretation[J]. Trends Immunol, 2003, 24(7): 376-379.
- [5] Simons F E, Arduoso L R, Bilò M B, et al. World allergy organization guidelines for the assessment and management of anaphylaxis[J]. World Allergy Organ J, 2011, 4(2): 13-37.
- [6] 周光炎. 免疫学原理[M]. 上海: 上海科技出版社, 2007: 229-232.
- [7] 刘俊杰, 张克军, 刘太琴, 等. 变态反应皮肤病血清特异性 IgE 检测的临床意义[J]. 陕西医药杂志, 2011, 40(3): 249-250.
- [8] 肖凤, 王伴青, 唐和生, 等. 过敏性休克死亡豚鼠脏器中 IgE, IL-4 的表达及其法医学意义[J]. 中山大学学报, 2006, 27(2): 182-187.
- [9] Zuniga R, Nguven T. Skin conditions: common skin rashes in infants[J]. Fp Essent, 2013, 407: 31-41.
- [10] 杨永清, 陈汉平. 嗜酸粒细胞与过敏性支气管哮喘的发病机理[J]. 上海免疫学杂志, 1992, 12(1): 60-62.
- [11] 彭国平, 郭立玮, 徐丽华, 等. 超滤技术应用对中药成分的影响[J]. 南京中医药大学学报, 2002, 18(6): 339-341.
- [12] 刘洪强. 中药注射剂不良反应原因分析[J]. 中国现代药物应用, 2010, 4(11): 137-138.
- [13] 刘睿, 孙璐, 赵雯, 等. HPLC 同时测定苦碟子注射液中单咖啡酰基酒石酸、咖啡酸、绿原酸、阿魏酸、菊苣酸的含量[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(19): 3287-3290.
- [14] 马思萌, 刘睿, 任晓亮, 等. HPLC 同时测定苦碟子注射 7 种黄酮类成分含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(7): 63-66.
- [15] 刘睿, 马思萌, 孙璐, 等. HPLC-DAD 法同时测定苦碟子注射液中 10 种核苷类成分[J]. 中草药, 2013, 44(18): 2542-2546.

[责任编辑 张丰丰]