

## 注射用辅料类过敏反应的非临床评价方法

李 佳, 黄芝瑛\*

中山大学药学院 药物安全性评价中心, 广东 广州 510006

**摘 要** 近年来注射剂的安全性问题引起了社会各界的广泛关注, 注射用辅料引发的类过敏反应是导致注射剂临床使用安全隐患的主要原因之一, 而目前尚未建立完善的可用于评价注射用辅料类过敏反应的非临床研究方法。对近年来国内外在该方面的研究进展做一综述, 旨在为注射用辅料类过敏反应非临床评价方法的发展提供一些帮助和启示。

**关键词** 补体激活; 组胺释放; 注射用辅料; 类过敏反应

中图分类号: R965.3 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2010) 01-0009-04

## Non-clinical evaluation on pseudoallergy induced by injective excipient

LI Jia, HUANG Zhi-ying\*

Center of Safety Evaluation on New Drug, School of Pharmaceutical Science, Sun Yat-sen University, Guangdong Guangzhou 510006, China

**Abstract** The safety issues of injection have evoked more public concern recently. Pseudoallergy induced by injective excipient is one of the main causes. However, non-clinical evaluation methods for this have not yet developed well. This paper reviewed the progress in this field in order to get more recognition for non-clinical evaluation of pseudoallergy induced by injective excipient.

**Key words** complement activation; histamine release; injective excipient; pseudoallergy

注射剂因暴露量和绝对生物利用度高而增加了其临床使用的风险, 近年来国内出现的多起注射剂尤其是中药注射剂临床使用的安全性问题, 引起了有关部门和学术界的广泛关注。在注射剂引发的不良反应中, 过敏反应的发生频率最高, 从轻度的皮疹到致命的过敏性休克, 危害严重。

注射剂引发过敏反应的原因有多种, 其中由辅料引起的过敏反应不容忽视, 目前已报道的注射用辅料引发的过敏反应大多为类过敏反应, 如紫杉醇注射剂中的增溶剂聚氧乙烯蓖麻油<sup>[1]</sup>、常见的注射用辅料泊洛沙姆 188<sup>[2]</sup>、聚山梨酯 80<sup>[3]</sup>等。随着脂质体、纳米胶束等新型给药系统的开发, 评价和研究注射用辅料引起的类过敏反应越显重要。对注射用新辅料的研究和对常见注射用辅料的再评价, 对于控制注射剂的安全性风险, 指导临床合理用药有着重大的意义。然而, 目前尚无完善的可用于评价

注射用辅料类过敏反应的非临床研究方法, 本文拟对近年来国内外在该方面的研究进展做一综述, 为注射用辅料类过敏反应非临床评价方法的发展提供一些帮助和启示。

### 1 注射用辅料与类过敏反应

类过敏反应的概念相对于各型超敏反应, 提出较晚, 目前在过敏反应中的定位尚不明确, 有学者认为可将其与由 IgE 介导的 I 型超敏反应并列, 作为急性过敏反应的亚类。类过敏反应的临床表现与 I 型超敏反应的不同之处在于: 不需要提前接触的致敏过程, 在首次给药时就会发生; 反应迅速, 在给药后几分钟甚至几秒钟内即可发生; 随着重复给药, 过敏反应症状会逐渐减弱甚至自行消退。有调查显示类过敏反应在临床出现的超敏反应中高达 77%<sup>[4]</sup>, 在中药注射剂引起的过敏性休克中, 约 3 / 4 属于类过敏反应<sup>[5]</sup>。

收稿日期: 2009-12-02

基金来源: 科技部“十一五”国家科技支撑计划重点项目——药用新辅料临床前安全性评价及药品与包装材料的相容性安全研究 (2008BAI55B03)

作者简介: 李 佳 (1985—), 女, 博士研究生, 研究方向: 药物毒理学。Tel: 13430271250 E-mail: jia1225\_@126.com

\* 通讯作者 黄芝瑛, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 药物毒理学。E-mail: huangzhiying@21cn.com

目前的研究显示,能引发类过敏反应的注射用辅料主要有以下几种:聚氧乙烯蓖麻油<sup>[1]</sup>,泊洛沙姆 188<sup>[2]</sup>,聚山梨酯 80<sup>[3]</sup>,高分子量聚乙二醇<sup>[6]</sup>,脂质体<sup>[7]</sup>,甲氧基聚乙二醇修饰的聚苯乙烯微球<sup>[8]</sup>。

## 2 类过敏反应机制

关于类过敏反应发生的机制,目前认为主要有直接刺激肥大细胞(嗜碱性粒细胞)脱颗粒释放组胺、激活补体系统、异常合成类花生酸类、抑制缓激肽降解等,其中研究资料较为丰富的是前两类反应机制<sup>[4, 9]</sup>。

组胺在急性过敏反应中扮演着重要的角色,体内大部分组胺储存在肥大细胞和嗜碱性粒细胞胞浆内的颗粒中,当这两类细胞被激活发生脱颗粒反应时,会释组胺和其他介质,产生过敏反应症状。在 I 型超敏反应中,特异性 IgE 通过 Fc 段与肥大细胞和嗜碱性粒细胞表面的高亲和力 Fc 受体(CD64)结合,刺激细胞脱颗粒释放组胺。而在类过敏反应中,无需特异性 IgE,无需免疫系统参与,外源物就可以直接刺激肥大细胞和嗜碱性粒细胞脱颗粒。目前这种直接作用的机制尚不明确,已排除由于渗透压的影响,虽然仍存在直接细胞毒作用的可能,但大部分观点认为这是一种非细胞毒非免疫的胞吐作用。而这种胞吐作用极有可能是通过直接刺激 G 蛋白并激活一系列激酶,从而增加胞质中游离钙离子浓度产生的<sup>[9]</sup>,相关的基础研究仍有待深入。国内的一些研究认为聚山梨酯 80 极有可能是通过直接刺激肥大细胞(嗜碱性粒细胞)脱颗粒释放组胺这一机制引发类过敏反应的<sup>[10]</sup>。

与补体激活相关的类过敏反应(complement activation-related pseudo-allergy, CARPA)是目前研究最成熟的一种类过敏反应机制<sup>[4]</sup>。补体是机体内一种复杂的固有免疫系统,可通过经典途径、旁路途径和甘露聚糖结合凝集素途径被激活,产生一系列级联放大效应。这三种激活途径在 CARPA 中往往并存,例如聚氧乙烯蓖麻油可通过经典途径和旁路途径激活补体<sup>[1]</sup>,而泊洛沙姆 188 的补体激活则涉及了全部三种途径<sup>[2]</sup>。不论通过何种途径激活补体系统,在级联放大过程中都会产生过敏毒素 C5a 和 C3a。C5a 和 C3a 可通过与肥大细胞和嗜碱性粒细胞表面表达的过敏毒素受体结合,刺激肥大细胞、嗜碱性粒细胞脱颗粒,释组胺等血管活性介质,产生过敏反应症状。

## 3 非临床评价方法

目前,国内外均未建立完善的评价注射用辅料类过敏反应的非临床研究方法,然而已有一些探索值得借鉴。

### 3.1 整体动物试验模型

国外研究者比较了猪、犬和大鼠 3 种实验动物用于评价 CARPA 的敏感性,结果显示猪和犬均能较真实地反应脂质体类纳米材料诱发 CARPA 的能力,而犬对脂质纳米胶束也非常敏感,除了能和猪一样表现出肺压升高、全身性低血压、心输出量降低、心率失常、皮肤潮红的类过敏反应症状外,还有显著的血细胞和植物神经变化,因此更适于用来评价 CARPA<sup>[11]</sup>。何永亮<sup>[12]</sup>、易勇<sup>[13]</sup>等也用犬和猴来评价含聚山梨酯 80 的中药注射液引发类过敏反应的能力,以过敏反应症状、心电图变化和体温变化为监测指标,结果显示不同品系的犬对含聚山梨酯 80 的注射液均异常敏感,而猴则在犬的 5 倍剂量给药时仍未出现类过敏反应症状。上述研究一致表明犬为评价类过敏反应的较佳动物种属,然而在以上方法中,判定指标的监测较为复杂,主观性较强,并且要求实验操作者有丰富的经验、能准确辨认过敏反应症状。

闫位娟<sup>[14]</sup>在其博士学位论文中比较了小鼠、豚鼠和 Beagle 犬用于评价类过敏反应时的敏感度和准确度,观察给药后的行为学变化和血浆中组胺、IgE、IgG、IgM 的量,结果同样表明 Beagle 犬为最佳实验动物。张美玉<sup>[5]</sup>等则用相同的方法研究了鱼腥草注射液的过敏和类过敏反应,并建议以给药后的行为学变化及血浆中组胺的量为主要判定指标, IgE 作为辅助判定指标。组胺等量化指标的加入,增加了结果判定的客观性,然而组胺在血浆中的半衰期短,并且易受到溶血的影响,因此给检测带来了一定的困难,此外血浆组胺水平与临床过敏样症状发生的一致性尚有待于进一步确证<sup>[15]</sup>。可考虑将纤维蛋白酶、花生四烯酸类物质及细胞因子作为检测标志的替代或补充。

### 3.2 体外试验模型

整体动物试验的结果较为直观,但无法明确类过敏反应的具体机制,若能辅以从机制研究角度出发的体外试验,则能使结果的判定更加全面。另外,体外试验与整体动物试验相比也更简便经济。

#### 3.2.1 直接刺激肥大细胞脱颗粒试验

国外学者利用从人或大鼠、犬体内分离的肥大细胞,研究碘化放射性造影剂、万古霉素等直接刺激肥大细胞释放组胺的作用<sup>[16]</sup>。国内研究者则一般选择已建系的RBL-2H3细胞株作为实验系统,研究聚山梨酯80和几种常见中药注射剂对肥大细胞脱颗粒的影响<sup>[10, 17, 18]</sup>。检测肥大细胞活化脱颗粒的指标除组胺外,还有血清素、 $\beta$ -葡糖醛酸糖苷酶、类胰蛋白酶和 $\beta$ -氨基己糖苷酶<sup>[19]</sup>。有研究显示组胺在肥大细胞的体外释放不够稳定、重复性较差,而类胰蛋白酶和 $\beta$ -氨基己糖苷酶的释放则相似度较高,稳定性较好<sup>[20]</sup>。类胰蛋白酶多作为临床诊断的指标,而 $\beta$ -氨基己糖苷酶释放试验方法成熟、简便经济、应用广泛,近年来更有研究者在努力将其改良为高通量筛选方法<sup>[21]</sup>。此外,还可通过中性红染色法计数<sup>[18]</sup>,或AnnexinV-FITC荧光抗体染色法检测细胞膜磷脂酰丝氨酸外翻情况<sup>[10]</sup>,研究受试物刺激肥大细胞脱颗粒的作用。

### 3.2.2 体外补体激活试验

此方法最早由Janos Szebeni<sup>[1]</sup>等于1998年提出,此后不断被各国研究者采纳、借鉴和改良。将受试物与正常人血清在37℃共同孵育一段时间后,通过ELISA方法检测血清中补体激活指标的量的变化,从而判断受试物是否具有通过激活补体而引发过敏反应的能力。SC5b-9是表示补体激活的总指标,此外还有C4d、Bb、C3a-desArg、C5a-desArg等。通过控制孵育条件及综合分析各种指标的变化情况,可进一步确定受试物是通过何种途径激活补体的。目前国内尚未见相关研究的报道。

## 4 结语

随着对注射剂和药用辅料安全性问题的日益关注,重视注射用辅料类过敏反应非临床评价方法的发展,尽快建立完善、可靠的评价体系,对于控制注射剂的安全性风险,指导临床合理用药有着重大的意义。

### 参考文献:

[1] Szebeni J, Muggia F M, Alving C R. Complement activation by Cremophor EL as a possible contributor to hypersensitivity to paclitaxel: an *in vitro* study [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1998, 90(4): 300-306.  
 [2] Moghimi S M, Hunter A C, Dadswell C M, et al. Causative factors behind poloxamer 188 (Pluronic F68, Flocor)-induced complement activation in human sera. A

protective role against poloxamer-mediated complement activation by elevated serum lipoprotein levels [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1689(2): 103-113.  
 [3] Coors E A, Seybold H, Merk H F, et al. Polysorbate 80 in medical products and nonimmunologic anaphylactoid reactions [J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2005, 95(6): 593-599.  
 [4] Szebeni J. Complement activation-related pseudoallergy: a new class of drug-induced acute immune toxicity [J]. *Toxicology*, 2005, 216(2-3): 106-121.  
 [5] 张美玉, 李贻奎, 张嘉, 等. 鱼腥草注射液过敏及类过敏实验研究 [J]. 中国现代应用药学杂志, 2009, 29(8): 610-614.  
 [6] Hamad I, Hunter A C, Szebeni J, et al. Poly(ethylene glycol)s generate complement activation products in human serum through increased alternative pathway turnover and a MASP-2-dependent process [J]. *Mol Immunol*, 2008, 46(2): 225-232.  
 [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): 2591-2593.  
 [8] Gbadamosi J K, Hunter A C, Moghimi S M. PEGylation of microspheres generates a heterogeneous population of particles with differential surface characteristics and biological performance [J]. *FEBS Lett*, 2002, 532(3): 338-344.  
 [9] Descotes J, Payen C, Vial T. Pseudo-allergic drug reactions with special reference to direct histamine release [J]. *Perspect Exp Clin Immunotoxicol*, 2007, 141-150.  
 [10] 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): 240-245.  
 [11] Szebeni J, Alving C R, Rosivall L, et al. Animal models of complement-mediated hypersensitivity reactions to liposomes and other lipid-based nanoparticles [J]. *J Liposome Res*, 2007, 17(2): 107-117.  
 [12] 何永亮, 易勇, 王红星, 等. 含吐温-80中药注射液对犬致过敏的研究 [J]. 中药药理与临床, 2005, 21(1): 55-56.  
 [13] 易勇, 何永亮, 王红星. 含吐温-80的中药注射剂对2例猴血压、心电图影响的初步观察 [J]. 中药药理与临床, 2005, 21(3): 64-65.  
 [14] 闫位娟. 中药注射剂致敏性研究 [D]. 广西: 广西医科大学, 2009.

- [15] 程芳, 史艳秋, 秦慧迪, 等. 药物类过敏反应生物标志物探究 [J]. 生命的化学, 2008, 28(6): 795-798.
- [16] Toyoguchi T, Ebihara M, Ojima F, *et al.* Histamine release induced by antimicrobial agents and effects of antimicrobial agents on vancomycin-induced histamine release from rat peritoneal mast cells [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2000, 52(3): 327-331.
- [17] 郭玉, 杨清敏, 王晶翼, 等. 聚山梨酯-80 致 RBL-2H3 肥大细胞脱颗粒的研究 [J]. 中国医院药学杂志, 2008, 28(19): 1676-1679.
- [18] 罗霞, 王青, 周联, 等. 几种常见中药注射剂对 RBL-2H3 细胞脱颗粒的影响 [J]. 中药新药与临床药理, 2009, 20(6): 506-510.
- [19] Hohman R J, Dreskin S C. Measuring degranulation of mast cells [J]. *Curr prot immunol*, 2001, 7(26): 1-7.
- [20] 郭永超, 李振兴, 林洪. 组胺、类胰蛋白酶、 $\beta$ -己糖胺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, 251073-1075.
- [21] Naal R M, Tabb J, Holowka D, *et al.* In situ measurement of degranulation as a biosensor based on RBL-2H3 mast cells [J]. *Biosens Bioelectron*, 2004, 20(4): 791-796.

## 国家食品药品监督管理局密切关注西布曲明安全性信息

近期, 国家食品药品监督管理局已经注意到, 欧盟人用医药产品委员会 (CHMP) 依据一项有关西布曲明的安全性研究的可能增加服用者患心脏病及中风几率的初步结果, 于 2010 年 1 月 21 日暂停所有含西布曲明成分的减肥药在欧盟地区的销售和使用。美国食品药品监督管理局 (FDA)、澳大利亚医疗产品局 (TGA) 均要求完善修改说明书, 警示用药风险。

国家食品药品监督管理局已要求国家药品不良反应监测中心立即分析含西布曲明成分的减肥药在我国不良反应报告和监测情况, 并对该类药品在我国应用的安全性情况进行分析评价, 药品评价中心于今日发布信息通报。

国家食品药品监督管理局要求药品生产企业立即采取适宜的方式将现在已知的用药风险“心血管高危患者服用西布曲明可能导致严重后果”告知医生和患者; 针对已知和潜在的风险立即修改完善说明书, 提示安全合理用药; 同时制定一份上市后药品警戒计划, 主动开展盐酸西布曲明的上市后研究和系统评价工作。

国家食品药品监督管理局正在密切关注西布曲明心血管终点试验 (SCOUT) 研究的最终结果, 并将根据其结果, 参考其他国家药监当局的监管措施, 结合我国的情况, 采取相应的监管措施。

国家食品药品监督管理局提醒医疗机构和公众, 所有含西布曲明成分的减肥药都是处方药, 必须严格按照适应症和用法用量用药, 严密监测用药后的反应, 以保障用药安全。