

· 专 论 ·

中药注射剂诱发过敏性反应的临床前安全性评价

张 頔, 屈 哲, 霍桂桃, 吕建军, 杨艳伟, 张 硕, 高苏涛, 李佩佩, 林 志*
中国食品药品检定研究院, 北京 100050

摘 要: 中药注射剂是我国民族医药产业中重要的支柱产品, 具有起效快、生物学利用度高等优势, 在危重疾病的治疗中发挥巨大作用。然而, 目前上市的一些中药注射剂品种频频发生过敏反应, 甚至出现过敏性休克或死亡。这些不良反应严重地打击了人们对中医药治病的信心, 也制约了中医药民族产业的发展。就中药注射剂过敏反应发生的主要类型、中药注射剂临床前安全评价的现状、临床前评价的动物模型与方法等进行阐述, 为提高中药注射剂安全性提供新的思路。

关键词: 中药注射剂; 药物不良反应; 过敏反应; 类过敏反应; 安全性评价

中图分类号: R965.3 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2013)04-0241-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2013.04.001

Research progress in preclinical safety evaluation on hypersensitivity induced by traditional Chinese medicine injections

ZHANG Di, QU Zhe, HUO Gui-tao, LV Jian-jun, YANG Yan-wei, ZHANG Shuo, GAO Su-tao, LI Pei-pei, LIN Zhi
National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China

Abstract: The Chinese materia medica injection (CMMI) is a kind of important product in the medicine of national minorities. As for a rapid onset and good bioavailability, CMMI plays a great role in the treatment of critical disease. However, some hypersensitivity events with adverse drug reaction of CMMI often occurred when they came into market, even including anaphylactic shock or death. It cracks our confidence to the treatment of disease by traditional Chinese medicine (TCM), and restricts the development of TCM. In this paper, we discuss the general comments, mechanism, related guidance, and methods of preclinical safety evaluation in hypersensitivity induced by CMMI.

Key words: Chinese materia medica injection; adverse drug reaction; hypersensitivity; anaphylactoid reaction; safety evaluation

中药注射剂 (traditional Chinese medicine injection) 采用现代制药学方法提取纯化中草药中的有效成分, 具有起效快、生物利用度高等特点, 在危重疾病急救、心脑血管疾病的治疗中发挥重要作用。然而, 随着中药注射剂的广泛使用, 其不良反应事件呈增加的趋势^[1-2]。2006年6月, 国家食品药品监督管理局公布了《关于暂时停止使用和审批鱼腥草注射液等7个注射剂的通告》。随后国家药品不良反应中心先后通报了一大批中药注射剂的不不良反应, 包括刺五加、双黄连、茵栀黄、莲必治、香丹注射液、生脉注射液、喜炎平等中药注射剂^[3-4]。目前中药注射剂的不不良反应居高不下, 安全性再评价工作以及建立合适、灵敏的中药注射剂安全性评

价体系对于我国中医药民族产业的发展非常重要。

中药注射剂的不不良反应主要表现为皮肤的过敏性损伤 (如皮疹、斑疹、丘疹、皮肤瘙痒等), 胃肠道反应 (如腹痛、腹泻、恶心、呕吐等), 循环系统症状 (如心悸、心律不齐、心动过速等), 以及肝肾功能异常。中药注射剂引起的不良反应主要为 I 型超敏反应, 占不良反应总数的 80%^[5]。中药注射剂里的药物成分非常复杂、制备工艺参差不齐, 如果药物直接进入具有过敏体质的个体, 就有可能诱导机体产生多种不同类型的变态反应。尽管我国对于上市前的中药注射剂过敏反应检测已有相应规定, 但是在其临床应用过程中过敏反应的不良事件仍频频发生, 甚至出现过敏性休克和死亡报道。由此可见, 现有的

收稿日期: 2013-06-03

基金项目: 国家科技重大专项课题, 重大新药创制“新药研究开发关键技术研究”(2012ZX09505001-004)

作者简介: 张 頔, 女, 主管技师, 主要从事药物安全性评价工作。Tel: (010)67872233-8210 E-mail: skystar.night@163.com

*通信作者 林 志, 女, 副研究员, 主要从事药物安全性评价工作。Tel: (010)67872233-8120 E-mail: linzhi@nicpbp.org.cn

安全评价方法可能不够灵敏,存在较高的假阴性,或实验动物的免疫系统与人存在差异,无法模拟人群中过敏反应的症状等。因此,关于中药注射剂过敏反应的评价成为目前学界研究的热点。本文就中药注射剂过敏反应的主要类型、中药注射剂临床前安全评价的现状、相关法规等进行简述。

1 中药注射剂过敏反应的主要类型

中药注射剂引起的过敏发生机制非常复杂,包括 I 型、II 型、III 型、IV 型过敏反应,目前中药注射剂引起的主要是 I 型过敏反应和类过敏反应^[6]。丁玉峰^[7]报道,在中药注射剂引发的 3 009 例不良反应中,双黄连诱导的占 64.5%,其中过敏性休克占 5.2%;刺五加注射液诱导的过敏性休克占 33.3%。

这些药物诱发的过敏反应为 I 型过敏反应,其可能的机制是药物中的抗原或半抗原成分刺激机体产生大量的 IgE 抗体,然后 IgE 抗体与肥大细胞和嗜碱性细胞上的 FcεR 受体结合。当同一抗原再次进入机体后,则直接与已经存在肥大细胞和嗜碱性细胞表面的 IgE 抗体结合,诱导肥大细胞和嗜碱性细胞脱颗粒,释放组胺等多种炎性介质,造成组织损伤^[8]。

中药注射剂还能引发血小板减少性紫癜、急性血管内溶血、粒细胞减少等,该过敏反应可能为 II 型过敏反应。目前,葛根素注射液引发的血管内溶血已确定为 II 型过敏反应。其可能发生的机制是药物分子进入机体后与血细胞成分结合,然后通过抗体和/或补体介导的细胞毒作用,产生活化的补体分子 C3a、C5a 等,趋化中性粒细胞和单核细胞,诱导这些炎性细胞分泌水解酶和细胞因子等,造成细胞或组织的损伤。

目前,中药注射剂引起的类过敏反应也逐渐受到人们的重视。类过敏反应的症状与速发型过敏反应的症状相似,严重者可导致休克、死亡。尽管两者的临床症状类似,但病理作用机制不一样。类过敏反应是机体首次接触某种药物后出现,缺乏首次致敏过程,药物通过非免疫机制的物理或化学性作用,缺乏 IgE 抗体的情况下,直接作用于肥大细胞或嗜碱性粒细胞,促进炎性细胞释放生物活性介质,也可能通过免疫机制途径的补体激活系统或其他通路诱发肥大细胞和嗜碱性粒细胞释放生物活性介质^[9]。

2 中药注射剂临床前安全评价的现状

中药注射剂在临床应用中发生的一些不良反应,然而临床前安全性评价却多为阴性结果。目前,

中药注射剂的过敏性评价主要包括主动皮肤过敏试验(ACA)、主动全身过敏试验(ASA)、被动皮肤过敏试验(PCA)、豚鼠淋巴结试验以及体外肥大细胞脱颗粒试验等。有学者对磷酸川芎嗪注射剂、双黄连注射液、鱼腥草注射液、穿琥宁注射液等的过敏反应采用上述方法进行了临床前再评价,发现上述方法容易出现假阴性结果^[10]。因此,采用何种敏感动物、采用何种方法以及检测哪些指标是目前中药注射剂的临床前评价研究的热点。

2.1 动物模型的建立及评价

过敏反应的临床前安全性评价很难进行早期的预测,主要原因就是缺乏敏感的动物模型,实验动物的免疫系统与人存在差异,无法模拟人群中过敏反应的症状。目前用以药物过敏评价的动物主要包括 Beagle 犬、BN 大鼠、豚鼠、家兔等,如氨苯磺胺致犬过敏、青霉素致 BN 大鼠滋生免疫疾病、奈伟拉平致大鼠皮疹、氨酚喹致大鼠粒细胞减少等^[11]。

郭姗姗等^[12-13]研究了清开灵注射液、双黄连注射液、鱼腥草注射液、穿琥宁注射液和灯盏花素注射液的过敏性,发现 BN 大鼠接受中药注射剂后引起 IgE 抗体介导的速发型过敏反应,主要的机制是促进肥大细胞脱颗粒后,释放组胺、5-羟色胺、前列腺素 D2 和白三烯 B4 等过敏介质,并诱导 Th1/Th2 细胞分泌的细胞因子向 Th2 偏移,从而促进 IgE 的合成。因此,BN 大鼠可能是评价中药注射剂过敏反应的合适动物模型。

梁爱华等^[14]研究发现 0.5%聚山梨酯 80 单独组和含 0.5%聚山梨酯-80 的鱼腥草注射液 iv 给予 Beagle 犬后,Beagle 犬迅速出现类过敏反应,与临床表现高度一致,该动物模型敏感性高、重复性好。小鼠和豚鼠的敏感性要低于 Beagle 犬,均不出现明显的皮肤、黏膜红肿、瘙痒和呼吸急促等症状,也不出现与 Beagle 犬相似的类过敏反应的行为学表现。小鼠和豚鼠的类过敏反应表现为耳廓血管通透性增高,因此血管通透性增高应该为小鼠和豚鼠的评价指标。Beagle 犬可能是类过敏反应研究中比较理想的动物模型。

2.2 药物过敏及类过敏反应生物标志物的研究

急性过敏反应最终导致肥大细胞或嗜碱性粒细胞脱颗粒,因此下述几种物质可能是药物诱导的过敏反应的生物标志物。(1)组胺:组胺可使得平滑肌收缩、血管通透性增加和黏液分泌增多等过敏症状,是过敏反应症状产生的最主要的活性物质之一,

因此该物质是临床早期诊断的“金标准”。然而,药物诱导产生组胺在不同动物种属中表现的并不一致,因此血浆组胺与不同种属动物过敏症状的相关性仍需进一步研究^[15]。(2)类胰蛋白酶:机体正常情况下血液中含类胰蛋白酶,在急性过敏反应中该蛋白酶出现显著性升高。类胰蛋白酶的急性过敏反应阳性反应和阴性反应的预测准确率分别是92.6%、54.3%^[16]。类胰蛋白酶仅由肥大细胞释放,因此其更能反映肥大细胞的脱颗粒反应。(3)IgE:通常I型过敏反应中出现抗原特异性抗体IgE的升高,而类过敏反应则不出现IgE的升高,仅有组胺和类胰蛋白酶的升高。(4)补体:某些药物诱导的过敏反应存在补体激活的免疫应答过程,因此监测血浆补体的变化有助于分析和判断过敏反应的发生,包括与过敏密切相关的C3a、C4a和C5a因子,以及补体复合物TCC、C5b-9和补体经典激活途径活性的相关Bb因子和C4d因子。(5)细胞因子:中药注射剂致过敏反应中常伴有细胞因子IL-4、IL-10、IL-13和TNF- α 等的变化。因此可以通过酶联免疫吸附(ELISA)法检测血清或免疫细胞中细胞因子的变化,以便早期判断过敏反应是否发生^[17]。

2.3 新技术、新方法的应用

2.3.1 流式细胞技术 膜联蛋白(Annexin)-V与脱颗粒肥大细胞特异性结合,与 β -氨基己糖苷酶释放呈正比,表达Annexin的阳性细胞数目反映了肥大细胞脱颗粒的程度。因此,采用流式细胞技术检测Annexin-V可以评价中药注射剂导致的过敏反应。黄路芬等^[18]研究发现不同中药注射剂引起的淋巴结免疫细胞表面分子变化不同,其中鸦胆子组、艾迪组、葛根素组、香丹组、喜炎平组淋巴结中B细胞比例增高,而CD69表达均减少,CD8⁺T细胞表面CD44分子表达均增高。多数中药注射剂可致CD4⁺T细胞表面MHC II分子表达增高。总之,综合分析淋巴细胞表面分子的表达可为中药注射剂过敏性评价提供参考和依据。

2.3.2 易感基因的检测 人类白细胞抗原(HLA)复合体是调控人体特异性免疫应答和决定疾病易感性个体差异的主要基因系统,它与过敏反应性和自身免疫性疾病的发生密切相关。研究发现青霉素过敏反应与特异性IgE和IgG抗体、细胞因子等相关基因相关,主要是IL-4Ra Q576R位点AA基因型。Graves等^[19]研究发现过敏性鼻炎和支气管哮喘两种变态反应与HLA-DRB基因多态性有关。研究证

实在免疫反应基因区(Ir区)内某些基因位点控制对特定变应原的变态反应。Ir区内的HLA、IL-4、IL-10、IL-13和IFN- γ 等基因的多态性可能参与了调控过敏反应中的IgE和IgG抗体的产生。药物过敏、食物过敏以及花粉过敏等存在共同的免疫学基础,因此可以互相借鉴,检测人群的易感基因可能对于控制过敏反应的发生具有重要意义^[20]。

2.3.3 IgG启动子调控评价模型 II型变态反应中药物可诱导特异性IgG的表达。王玉刚等^[21]采用IgG启动子调控绿色荧光蛋白转基因细胞,评价了葛根素、鱼腥草及聚山梨酯80诱导II型变态反应的可能。结果显示葛根素能激活IgG基因的表达,因此推测IgG启动子调控绿色荧光蛋白表达细胞模型能在IgG水平评价药物诱导的II型变态反应。聚山梨酯-80对IgG启动子有抑制作用,受测4个批次的鱼腥草对IgG启动子无激活作用。

3 建议与结语

中药注射剂的过敏反应越来越引起广大研究人员的重视,随着对中药注射剂致过敏反应机制的深入研究,人们认识到中药注射剂诱导机体过敏反应的原因很多,包括药物配伍不当、致敏原的存在、注射剂滴注速度过快以及个体体质不同等^[22]。笔者认为中药注射剂的临床前安全性评价应该从下述几个方面加强研究,以减少和避免上市后不良反应的发生。

3.1 相关监测法规的完善

关于过敏反应的监测,我国及国际相关法规确定了I型过敏反应采用主动皮肤过敏试验、主动全身过敏试验、被动皮肤过敏试验。欧洲医学委员会(EMEA)提出的免疫毒性评价ICH S8的指导原则仅局限于免疫抑制和接触性过敏的评价,不涵盖药物诱导的系统性过敏和自身免疫性疾病^[23]。目前尚无标准的非临床前方法可以预测II型和III型超敏反应,但美国FDA药品评价和研究中心(CDER)认为如果一个病理学发现可以解释免疫反应的结果,则推荐按照“个案分析”的原则进行深入研究。总之,加强中药注射剂临床前安全评价监管及上市后的再评价都是我国药品监管部门应该重视的^[24]。具体的做法包括加强对中药注射剂的风险管理,建立健全ADR监测和安全性评价相关的数据库和信息系统,建立中药注射剂安全性监测哨点等。

3.2 临床前安全性评价方法的选择

提高和促进新的过敏反应评价技术的开展和应

用, 是未来中药注射剂临床前安全性评价的发展方向。笔者认为在传统动物实验的基础上, 根据药物的作用特点选择其他评价过敏反应的实验进行综合评价。受试物可能会造成 II 或 VI 型变态反应时, 应该增加 II 或 VI 型变态反应实验, 必要时增加抗体滴度的测定等。此外, 随着分子生物学技术的发展, 可以利用基因组学技术、流式细胞学技术以及多种细胞因子检测技术等开展中药注射剂的临床前安全性评价。

3.3 敏感动物的选择

通常过敏试验采用豚鼠进行, 但是该种属与人存在巨大差异, 因此该动物的实验数据外推至人时风险较大。补充敏感动物如 Beagle 犬或 BN 大鼠进行试验, 或者增加与过敏反应密切相关的检测指标(组胺、类胰蛋白酶、IgE、C3a、C4a 因子、Annexin-V 等), 可能会在临床前安全性评价中做到早期预测、早期发现中药注射剂所致的过敏反应。

3.4 其他

中药注射剂临床前安全性评价中还应该注意动物实验中给药剂量、给药速度。临床上常发现某些中药注射剂的过敏反应是首次给药后发生的, 患者缺乏致敏过程, 即无抗原抗体反应。通常该类现象是由中药注射剂给药浓度过高或给药速度过快造成的。因此, 临床前动物实验中应考虑给药剂量及给药速度与过敏反应间的相关性。此外, 临床前研究中还要注意中药注射剂主要成分及主要成分代谢产物的研究。一旦发现可能存在的过敏原, 则需要对主要成分及其代谢产物进行深入研究。

参考文献

- [1] 李连达, 李贻奎, 张金艳. 中药注射剂安全性研究的关键问题 [J]. 河南中医, 2008, 28(1): 1-3.
- [2] 鄢丹, 张少锋, 骆骄阳, 等. 符合中药注射剂特点的增溶辅料筛选模式与实践 [J]. 中草药, 2011, 42(5): 833-836.
- [3] 程芳, 刘兆平. 中药注射剂安全性评价与关键技术的研究 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(8): 1052-1054.
- [4] 杨臻峥. 2012 年上半年国家药品监督管理局公告要求加强安全性管理的药品 [J]. 药坛快讯, 2012, 36(7): 336-337.
- [5] 高素珍, 张志刚. 浅析中药注射剂不良反应发生原因及防治措施 [J]. 中国药房, 2008, 19(18): 1439-1440.
- [6] 郭姗姗. 适合评价中药注射液过敏反应的动物模型研究 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2011.
- [7] 丁玉峰. 中药注射剂引起的变态反应及其影响因素 [J]. 中华中医学杂志, 2007, 31(4): 244-246.
- [8] 肖贵南, 程朝辉, 陈浩桢. 中药注射剂引起的过敏反应及其检测技术 [J]. 广东药学院学报, 2009, 25(6): 636-638.
- [9] Simons F E. Anaphylaxis [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2008, 121(suppl 2): S402-S407.
- [10] 严光焰, 卜迁, 岑小波. 中药注射剂非临床前安全性评价方法概述 [J]. 中国药物警戒, 2011, 8(3): 161-164.
- [11] 张玉生, 史艳秋, 王建华, 等. 中药注射剂过敏反应非临床评价方法 [J]. 中草药, 2009, 40(2): 313-315.
- [12] 郭姗姗, 王意忠, 张毅, 等. BN 大鼠和豚鼠评价双黄连注射液的过敏反应 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2009, 23(2): 128-133.
- [13] 郭姗姗, 王意忠, 金亚宏, 等. BN 大鼠用于评价中药注射液速发型过敏反应模型的建立及适用性评价 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(14): 1845-1849.
- [14] 梁爱华, 李春英, 刘婷, 等. 中药注射剂的类过敏实验动物模型和实验方法研究 [J]. 世界科学技术: 中医药现代化, 2010, 12(6): 998-1004.
- [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] William A, Laxenaire M C, Alla F, et al. Anaphylactic and anaphylactoid reactions occurring during anesthesia in France in 1999—2000 [J]. *Anesthesiology*, 2003, 99(3): 536-545.
- [17] Choi Y H, Yan G H. Silibin in attenuates mast cell mediated anaphylaxis-like reactions [J]. *Bio Pharm Bull*, 2009, 32(5): 868-875.
- [18] 黄路芬, 王青, 董燕, 等. 中药注射剂对免疫细胞表面分子的影响 [J]. 药物不良反应杂志, 2012, 14(1): 20-25.
- [19] Graves P E, Kabesch M, Halonen M, et al. A cluster of seven tightly linked polymorphisms in the IL-13 gene is associated with total serum IgE levels in three populations of white children [J]. *Allergy Clin Immunol*, 2000, 105(3): 506-513.
- [20] 赵玉斌, 肖颖, 谢雁鸣, 等. 双黄连注射液过敏原研究进展及其重要致敏原的易感基因研究策略 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(8): 1106-1108.
- [21] 王玉刚, 李乐乐, 雷帆, 等. IgG 启动子探针对中药注射剂进行临床前安全性评价的研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(1): 76-79.
- [22] 张海霞. 172 种中药注射剂不良反应分析与原因探讨 [J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(2): 367-370.
- [23] Descotes J. Safety immunopharmacology: evaluation of the adverse potential of pharmaceuticals on the immune system [J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2012, 66(2): 79-83.