

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2014.14.018

中药上市后再评价专栏

热毒宁注射液过敏反应患者的血清免疫毒理学研究

常艳鹏^{1,2}, 萧伟³, 谢雁鸣^{1*}, 王连心¹, 赵宾江³, 周一飞³, 景娇³, 杨伟¹

(1. 中国中医科学院中医临床基础医学研究所, 北京市东城区东直门内南小街 16 号, 100700; 2. 沈阳市骨科医院; 3. 江苏康缘药业股份有限公司)

基金项目: 国家中医药管理局中医药行业科研专项 (200907001-5-6)

摘要 目的 初步探讨热毒宁注射液过敏反应的可能机理。方法 采用嵌套式巢式病例对照研究的方法, 对使用热毒宁注射液的 3000 例感染性疾病患者进行监测, 对出现过敏反应的患者按 1:4 比例匹配, 匹配因素为性别、年龄 ± 5 岁、用药季节、药品批次等, 另取 4 例健康志愿者, 检测免疫球蛋白 A (IgA)、免疫球蛋白 G (IgG)、血清总补体 C3 (C3)、血清总补体 C4 (C4)、白细胞介素-2 (IL-2)、白细胞介素-4 (IL-4)、白细胞介素-6 (IL-6)、白细胞介素-10 (IL-10)、重组人干扰素 γ (IFN- γ)、总免疫球蛋白 IgE (TIgE)。结果 3000 例使用热毒宁注射液患者中有 2 例出现过敏反应, 根据匹配原则共检测血清样本 14 例, 2 例过敏患者 TIgE 均明显高于正常范围, IL-10、IL-4 均升高, IgA、IgG、C3、C4、IL-2、IFN- γ 均在正常范围内与健康志愿者及匹配患者相比无显著差别, 提示患者机体的免疫应答系统激活。结论 热毒宁注射液过敏反应可能为由 IgE 介导的 I 型过敏反应。

关键词 热毒宁注射液; 过敏反应; 免疫毒理学

药物过敏反应指临床治疗过程中出现的与治疗药物相关的、非预期的、引起相应血清免疫毒理学指标改变的呼吸、循环、中枢神经、消化等系统的临床症状, 可影响患者健康, 甚至危及生命安全。近年来, 中药注射剂的不良反应 (ADR) 问题引起业内外人士的广泛关注, 尤其是其引起的 ADR 以过敏反应为主。热毒宁注射液是临床治疗上呼吸道感染、急性支气管炎常用中药注射剂之一, 近年来有关其 ADR 屡见报道^[1], 其中过敏反应所占比例较大。目前国内上市的中药注射液过敏反应评价方法无法有效地预测中药注射液过敏反应的发生^[2], 有鉴于此, 本研究通过对临床上应用热毒宁注射液后出现过敏反应表现的患者血清免疫毒理学相关指标的检测, 初步探索热毒宁注射液引起过敏反应的可能机理。

1 资料与方法

1.1 试验设计

采取多中心、大样本、前瞻性、注册登记式医

院集中监测, 嵌套式巢式病例对照研究的方法^[3-4]。根据样本量估算^[5]并依据上市后临床试验的要求^[6], 本研究共完成病例 3000 例。

1.2 临床资料

监测 2012 年 9 月至 2013 年 10 月长春中医药大学附属医院、烟台毓璜顶医院、长沙市第一医院、福州市传染病医院、石家庄市第五医院 5 家医院使用热毒宁注射液的住院及门诊感染性疾病患者 3000 例。将监测过程中使用热毒宁注射液发生过敏反应的患者作为过敏组, 未发生不良反应的患者作为对照组, 过敏组和对照组的匹配比为 1:4。匹配因素为: 性别、年龄 ± 5 岁、用药季节、药品批次等。

1.3 定义暴露因素及判断标准

暴露因素: 是否发生过敏反应, 发生了则为病例组、未发生则为对照组。采用美国国立变态反应和感染性疾病研究所 (NIAID) 与食物过敏及急性全身过敏反应联盟 (FAAN) 在第 2 次专题讨论会上制定的急性全身过敏反应的诊断标准^[7]。

* 通讯作者: datamining5288@163.com, (010) 64014411 转 3302

1.4 血液采集

过敏组与对照组患者本人或其合法代理人在清醒、正常的精神状态下, 签署知情同意书。同时告知患者其供体的隐私权将被严格保密。按照总课题组制定的《血液样本采集、储存流程标准操作流程》进行血清采集、样本保存及冷链运输, 统一由总课题组进行检测。

1.5 检测指标及方法

白细胞介素试剂 (BDCBA Human Th1/Th2 Cytokine Kit II), Becton Dickinson 公司, 批号: 2314785; 抗人 IgA 抗体 [山羊, 批号: 国食药监械(进)字 2009 第 2401572 号]、抗人 IgG 抗体 [山羊, 批号: 国食药监械(进)字 2009 第 2401617 号]、抗人 C3 抗体抗体 [山羊, 国食药监械(进)字 2009 第 2400734 号]、抗人 C4 抗体 [山羊, 国食药监械(进)字 2009 第 2400863 号]、免疫球蛋白 E 检测试剂盒(电化学发光法, 批号: 168340) 均为德国罗氏诊断有限公司产品。免疫比浊法检测免疫球蛋白 A (IgA)、免疫球蛋白 G (IgG)、血清总补体 C3 (C3)、血清总补体 C4 (C4); 流式细胞仪检测白细胞介素-2 (IL-2)、白细胞介素-4 (IL-4)、白细胞介素-6 (IL-6)、白细胞介素-10 (IL-10)、重组人干扰素 γ (IFN- γ); 电化学发光法检测总免疫球蛋白 IgE (TIgE)。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 18.0、SAS 9.2 统计软件, 进行描述性分析。

2 结果

2.1 发生过敏反应患者情况

3000 例患者中共发生 2 例过敏反应, 按照巢式病例对照研究匹配原则, 各匹配 4 例患者, 另采集 4 例健康志愿者的血液样本, 共计 14 例血样。

第 1 例过敏患者为 3 岁 8 个月女童, 因“支气

管肺炎”住院治疗, 患儿有“花粉过敏史”、“咳嗽变异性哮喘病史”, 患儿在应用热毒宁注射液第 3 天开始静脉滴注 10 min 时出现左额部及右下肢出现散在皮疹, 高出皮肤, 风团样, 伴有瘙痒, 停用热毒宁后皮疹消退。

第 2 例过敏患者为 79 岁男性, 因“肺部感染”住院治疗, 曾有“头孢菌素”抗生素过敏史(具体药物不详), 患者发病后会先后应用“头孢替安、莫西沙星、头孢哌酮舒巴坦”等治疗, 入院后当日 15:00-17:00 先后给予哌拉西林他唑巴坦及热毒宁治疗, 患者于 18:00 开始出现皮肤轻度瘙痒, 躯干为主, 无皮疹, 第 2 日上午 8:00 发现全身散在红色斑丘疹, 密集成片, 躯干部居多, 皮肤瘙痒明显。后予地塞米松治疗皮疹消退, 出院 1 周, 随访无皮肤瘙痒、皮疹等不适。患者发生过敏反应后未停用热毒宁。

2.2 第 1 例过敏患者免疫学指标情况

表 1 示, 第 1 例过敏反应患者 TIgE 检测结果明显高于正常范围 0~100 KIU/L, 同时明显高于 4 位健康志愿者及匹配患者 1 及 3 的检测结果, 但低于匹配患者 4 的结果, 考虑与匹配患者 4 疾病为“毛细支气管炎”的原发疾病相关。患者 IgA、IgG、C3、C4、IL-2、IL-6、IFN- γ 均在正常范围内与健康志愿者相比无显著差别, 匹配患者 1 出现 IFN- γ 、IL-6 升高与其发病后免疫系统激活相关; 过敏反应患者 IL-10、IL-4 均升高, 表明机体免疫机制激活。

2.3 第 2 例过敏患者免疫学指标情况

表 2 示, 第 2 例过敏反应患者 TIgE 显著升高, 超出试剂盒检测范围, 表明患者机体处于过敏后的应激状态; 患者 IgA、IgG、C3、C4、IL-2、IFN- γ 均在正常范围内与健康志愿者及匹配患者相比无显著差别; 过敏反应患者 IL-10、IL-6、IL-4 均明显

表 1 第 1 例过敏患者与相匹配受试者免疫学指标情况

指标	正常值	过敏 1	匹配 1	匹配 2	匹配 3	匹配 4	健康 1	健康 2	健康 3	健康 4
TIgE (KIU/L)	0~100	323.60	11.66	334.40	53.33	1020.00	38.92	101.20	11.92	38.50
IgA (g/L)	0.7~4.0	1.23	0.59	1.09	0.25	1.15	3.56	2.93	2.80	3.80
IgG (g/L)	7.0~16.0	7.96	6.94	8.22	5.35	10.19	11.62	13.28	15.07	9.97
C3 (g/L)	0.9~1.8	0.59	1.10	1.16	0.96	0.99	1.26	1.31	1.16	0.76
C4 (g/L)	0.1~0.4	0.34	0.22	0.27	0.25	0.43	0.38	0.39	0.22	0.15
IFN- γ (pg/ml)	1.6~17.3	7.00	82.41	23.93	7.15	6.95	6.66	7.50	7.31	7.36
IL-10 (pg/ml)	2.6~4.9	13.53	70.58	10.43	9.18	2.72	3.62	3.22	2.12	2.44
IL-6 (pg/ml)	1.7~16.6	5.01	159.80	12.93	9.29	4.16	3.01	2.21	1.73	2.25
IL-4 (pg/ml)	0.1~3.0	3.19	2.57	4.04	2.82	3.28	3.93	2.25	2.84	2.71
IL-2 (pg/ml)	1.1~9.8	2.48	3.75	4.72	3.28	2.57	3.68	2.60	3.06	2.91

表 2 第 2 例过敏患者与相匹配受试者免疫学指标情况

指标	正常值	过敏 1	匹配 1	匹配 2	匹配 3	匹配 4	健康 1	健康 2	健康 3	健康 4
TIgE (KIU/L)	0 ~ 100	>2500.00	335.30	151.60	321.30	12.07	38.92	101.20	11.92	38.50
IgA (g/L)	0.7 ~ 4.0	2.59	3.16	1.74	2.87	4.40	3.56	2.93	2.80	3.80
IgG (g/L)	7.0 ~ 16.0	11.76	9.54	8.14	12.68	11.17	11.62	13.28	15.07	9.97
C3 (g/L)	0.9 ~ 1.8	0.88	0.75	0.83	1.27	1.00	1.26	1.31	1.16	0.76
C4 (g/L)	0.1 ~ 0.4	0.24	0.13	0.21	0.26	0.27	0.38	0.39	0.22	0.15
IFN- γ (pg/ml)	1.6 ~ 17.3	10.88	13.99	8.93	5.48	4.90	6.66	7.50	7.31	7.36
IL-10 (pg/ml)	2.6 ~ 4.9	39.92	10.92	7.74	5.18	2.56	3.62	3.22	2.12	2.44
IL-6 (pg/ml)	1.7 ~ 16.6	38.57	21.21	1.68	74.05	4.28	3.01	2.21	1.73	2.25
IL-4 (pg/ml)	0.1 ~ 3.0	3.90	2.39	2.71	1.87	2.67	3.93	2.25	2.84	2.71
IL-2 (pg/ml)	1.1 ~ 9.8	3.55	3.09	3.38	2.66	3.28	3.68	2.60	3.06	2.91

高于正常范围,表明机体免疫机制激活,促进 T 细胞、B 细胞的增殖。综合考虑患者发生的过敏反应为 I 型过敏反应。

3 讨论

变态反应是指机体接触某些抗原,经过初次应答后,再次接触到相同抗原刺激时发生的一种以机体生理功能紊乱或组织细胞损伤为主的特异性免疫应答。变态反应可以分为 I、II、III、IV 型,其中 I 型为临床常见的类型,发生率最高^[8-9]。I 型变态反应又称为过敏反应,主要由 IgE 介导。当过敏原首次进入机体后,引起 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞活化,分化成熟的效应 B 细胞分泌大量的 IgE 抗体。当在抗原再次入侵致敏的机体时,与 IgE 抗体结合,引发一系列的免疫效应,导致 I 型变态反应的发生^[8,10]。有研究发现 IgE 在某些过敏性疾病的发病机制中可能起着重要作用^[11],通过 IgE 的检测能对预测全身性过敏反应和吸入性过敏反应起到一定的作用。

B 细胞产生 IgE 抗体需 T 细胞辅助, Th 细胞又被称为 CD4⁺ 细胞,具有协助体液免疫和细胞免疫的功能,根据其分泌细胞因子的类型不同分为 Th1 和 Th2 两个亚群, Th1 细胞能合成 IL-2、干扰素 γ (IFN- γ)、IL-3、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 和粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF) 等, Th2 能合成 TNF- α 、IL-3、GM-CSF、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、细胞因子合成抑制因子 (SIF) 和 IL-13,两者通过细胞因子相互调节,相互制约^[12]。通过对 IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、IFN- γ 等指标的检测能够在一定程度上反映了机体的细胞免疫状态^[13]。检测与患者过敏反应相关的特异性 IgE 抗体和过敏介质等细胞因子含量对评价药物潜在的致敏倾向和辨别类过敏反应的发生,具有重要参考意义。

临床上使用热毒宁注射液虽然不需要做皮试,但该药成分复杂,金银花的有效成分绿原酸是一种半抗原,是一种常见的致敏物^[14]。并且热毒宁注射液中含有的其他挥发油、有机酸类、三萜皂苷类及黄酮类化合物等成分及药物添加剂通过静脉滴注进入血液后容易形成免疫复合物而引起变态反应,导致过敏症状的发生。结合两例过敏患者的临床表现及血液检测结果提示患者机体的免疫应答系统激活,热毒宁注射液导致人体所发生的过敏反应类型可能为 I 型过敏反应,但由于本研究发生的过敏反应患者较少,能够检测的血液样本有限。为了明确热毒宁注射液的确切过敏反应机理尚需更大样本的前瞻性研究,收集更多的患者及匹配者的血样进行检测。

参考文献

- [1] 许麾,孙建威,许德华. 热毒宁注射液的临床应用 [J]. 海军总医院学报, 2011, 24(4): 223-225.
- [2] 谢雁鸣,赵玉斌,姜俊杰,等. 中药上市后人群免疫毒理学评价检测方案及流程专家共识(征求意见稿) [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(18): 2933-2936.
- [3] 谢雁鸣,廖星,赵玉斌,等. 中药上市后安全性医院集中监测技术规范(征求意见稿) [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(18): 2919-2924.
- [4] 杨薇,谢雁鸣,王永炎. 中医药临床实效研究: 中药注射剂注册登记式医院集中监测方案解读 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(18): 2683-2685.
- [5] 付莹坤,谢雁鸣. 中药上市后临床再评价样本含量估算 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(20): 2904-2906.
- [6] 国家食品药品监督管理局. 生产企业药品重点监测工作指南 [EB/OL]. (2013-03-25) [2014-03-01]. <http://www.sda.gov.cn/WS01/CL0778/79321.html>.
- [7] Sampson HA, Munoz-Furlong A, Campbell RL, et al. Second symposium on the definition and management of anaphylaxis: summary report—Second National Institute of Allergy and Infectious Disease/Food Allergy and Anaphylaxis Network symposium [J]. J Allergy Clin Immunol, 2006,

117(2):391-397.

〔1〕 黄芳华. 绿原酸及其中药注射剂的安全性问题状况分析〔J〕. 中国中药杂志, 2008, 33(22):2716-2719.

〔2〕 刘婷. 鱼腥草注射液的致敏性研究〔J〕. 北京: 中国中医科学院, 2010:22-23.

〔3〕 李欣. 敏康胶囊对 I 型变态反应的治疗作用及机理的研究〔J〕. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2005:7-8.

〔4〕 Erb KJ. Helminths, allergic disorders and IgE-mediated

immune responses: where do we stand?〔J〕. Eur J Immunol, 2007, 37(5):1170-1173.

〔5〕 郭姗姗. 适合评价中药注射液过敏反应的动物模型研究〔J〕. 北京: 中国中医科学院, 2011:29.

〔6〕 张跃文, 乔海灵. 过敏反应与细胞因子及基因多态性〔J〕. 四川生理学杂志, 2003, 25(3):161.

〔7〕 黄帅. 热毒宁注射液致过敏性休克 1 例〔J〕. 齐鲁药事, 2009, 28(9):573.

Research on Serum Immune Toxicology in Patients Allergic to Reduning Injection

CHANG Yanpeng^{1,2}, XIAO Wei³, XIE Yanming¹, WANG Lianxin¹, ZHAO Binjiang³, ZHOU Yifei³, JING Jiao³, YANG Wei¹

(1. China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700; 2. Shenyang Orthopaedic Hospital; 3. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd.)

ABSTRACT Objective To study the possible mechanism of allergic reactions of Reduning Injection. **Methods**

An embedded nested case-control study was conducted. Totally 3 000 patients with infectious diseases used Reduning Injection were monitored. The allergic patients were matched at a ratio of 1 to 4 by taking gender, age $\pm$ 5 years, medication season and drug batch as the matching factors. Four healthy volunteers were selected. The levels of immunoglobulin A (IgA), immunoglobulin G (IgG), complement 3 (C3), complement 4 (C4), interleukin-2 (IL-2), interleukin-4 (IL-4), interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10), interferon- γ (IFN- γ) and total immunoglobulin E (TlgE) were detected. **Results** There were 2 allergic patients. Fourteen serum samples were detected according to the matching principle. The level of TlgE in 2 allergic patients was significantly higher than the normal. The levels of IL-10 and IL-4 in 2 allergic patients were increased. The levels of IgA, IgG, C3, C4, IL-2 and IFN- γ were within the normal, with no significant difference between the healthy volunteers and matched patients. The results showed that the immune response system was activated in the patients. **Conclusion** The allergic reactions of Reduning Injection may be IgE-mediated type I allergic reactions.

Keywords Reduning Injection; allergic reactions; immune toxicology

(收稿日期: 2014-03-03; 修回日期: 2014-04-21)

编辑: 邓 媛

当飞利肝宁胶囊临床应用及基础研究有奖征文活动通知

病毒性肝炎、药物性肝炎、脂肪肝等肝脏疾病严重威胁人们的身体健康, 已成为当前重大公共卫生问题。消除传染性肝炎、防治肝损伤以及治疗肝病的合理用药, 已经成为肝病防治领域的共同心声和行动。当飞利肝宁胶囊是由“肝炎草”当药与保肝药水飞蓟精组方而成的抗炎保肝中成药, 具有保护肝细胞膜及线粒体, 减轻肝细胞变性、坏死及炎症反应, 减轻肝脏脂质沉积, 改善胰岛素抵抗及抗脂质过氧化作用。为了更好地探索当飞利肝宁胶囊抗炎保肝作用机理及对各类肝损伤患者的有效影响, 完善肝病防治方案, 中华中医药学会内科肝胆病专业委员会、中医杂志社、《中国脂肪肝防治与康复网》将联合开展“开启新视野, 成就肝健康”当飞利肝宁胶囊临床应用及基础研究有奖征文活动。具体要求如下。

一、征文内容: 1. 当飞利肝宁胶囊在抗炎保肝方面的临床应用、基础研究的论著、荟萃分析、合理用药方案研究等; 2. 当药的药学研究、生物学研究、文献研究及基础理论研究等。二、论文要求: 1. 文章力求立意新颖、设计严格、数据完整, 具有新颖性和指导性; 2. 内容具有严谨性和科学性, 论点鲜明、论证充分、逻辑严谨, 结果真实可靠; 3. 文章应符合学术期刊论文发表的要求, 要求未公开发表及未在全国性会议上交流。三、投稿方式: 请将文章以 word 格式发至征文专用邮箱: jtcmen@163.com。四、征文截止日期: 2015 年 3 月 31 日。五、评选规则: 所有论文由中华中医药学会内科肝胆病专业委员会和中医杂志社邀请相关专家组成评选委员会进行评选, 结果将公布在《中医杂志》、《中西医结合肝病杂志》、《胃肠病学和肝病杂志》及《中国脂肪肝防治与康复网》。六、奖项设置: 特等奖 1 名, 支持科研基金 20000 元; 一等奖 3 名, 支持科研基金 10000 元; 二等奖 8 名, 支持科研基金 8000 元; 三等奖 15 名, 支持科研基金 5000 元; 纪念奖若干, 支持科研基金 1000 元。特等奖论文将推荐在 SCI 期刊发表, 一至三等奖符合发表要求论文将推荐发表在国内专业期刊上, 优秀科研成果将邀请参加全国性学术大会报告及交流。