

药物过敏反应的免疫学机制研究进展

刘桦¹, 张佳丽² (1. 北京市隆福医院药剂科, 北京 100010; 首都医科大学附属北京朝阳医院药剂科, 北京 100020)

中图分类号: R967 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2006)04-0284-04

药物不良反应是临床用药过程中遇到的主要问题, 由于免疫系统的参与而导致的药物过敏反应大约占药物不良反应发生率的六分之一, 来自美国的一项报告显示美国每年有23万人因免疫介导的药物过敏反应住院^[1]。免疫机制参与的药物过敏反应临床表现复杂, 涉及皮肤、肝脏、肾脏、心脏和造血系统等多种组织和器官, 药物在体内的分布和代谢的复杂性决定了在新药的筛查过程中很难预测到会有药物不良反应发生。大量的研究显示药物自身的分子结构和化学反应性、免疫细胞和细胞因子、相关基因的多态性以及病毒感染等多种因素影响药物过敏反应的发生。笔者就这些方面的主要研究进展做一阐述。

1 药物诱发过敏反应的分子基础

通常认为药物作为小分子物质 (<1000) 不具有免疫原性, 单独存在不能引起免疫应答。但是进入人体内的药物可直接或经药物代谢酶分解后与蛋白类载体连接而形成半抗原-载体复合物, 进而通过抗原的处理、提呈及免疫细胞的识别、增殖和反应等一系列机制诱发免疫应答的发生。对于有反应活性的药物例如青霉素, 其β-内酰胺环打开后羧基与蛋白质的赖氨酸或组氨酸的氨基结合后形成半抗原-载体复合物, 进入体内的青霉素约有95%通过这样的方式与蛋白质结合。青霉素的代谢产物苯甲基青霉素噻唑是引起免疫应答的主要决定基, 青霉素自身和其酸性水解产物benzylpenilloate及碱性水解产物benzylpenicilloate都是次要决定基^[2]。对于无反应活性的药物如磺胺甲基异噁唑经细胞内酶代谢为羟胺磺胺甲基异噁唑, 后者可以发生自身氧化反应生成亚硝基磺胺甲基异噁唑, 亚硝基磺胺甲基异噁唑与血浆蛋白质及细胞表面的蛋白质结合引起免疫反应^[3]。也有报道认为无反应活性的药物如利多卡因和磺胺甲基异噁唑不经过代谢也可引起药物过敏反应的发生。最近Burkhardt^[4]等对磺胺甲基异噁唑特异性T细胞克隆的研究认为药物可以像超抗原一样, 直接结合到人类白细胞抗原(HLA)上引起T细胞的识别。在日常用药过程中, 交叉过敏反应发生的例子也较常见, 例如对青霉素过敏的患者对头孢菌素的过敏反应发生率也较高, 其原因之一是它们有相同的β-内酰胺环。Zhao等^[5]的研究显示二者有相同的亚甲基侧链也是交叉过敏反应容易发生的主要原因。

2 免疫细胞及细胞因子与药物过敏反应

目前认为抗原诱发的免疫应答需要三种信号参与, 第一信号是MHC限制性抗原与T细胞受体(TCR)之间的相互作用,

若无第二信号的协同作用, 将发生免疫耐受; 第二信号是协同刺激分子与其受体的相互作用以及前炎症细胞因子如IL-2, TNF-α和IFN-γ间接作用于抗原提呈细胞(APC), 上调协同刺激分子的表达; 第三信号是细胞因子的极化直接作用于T细胞导致Th1或Th2反应。T淋巴细胞按照CD分子的不同可以分为CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞两大群。CD4⁺T细胞主要包括辅助型T(Th)细胞, 也有少量细胞毒性T(Tc)细胞和抑制性T(Ts)细胞, Th细胞可分泌多种细胞因子, 按其生成细胞因子的类型和功能又分Th1, Th2和Th3三种亚型。Th1细胞可分泌IL-2, IFN-γ, IL-12等细胞因子, 促进细胞介导的免疫应答和产生IgG2a, IgG2b等抗体。Th2细胞可分泌IL-4, IL-5, IL-10, IL-13等细胞因子, 诱导抗原特异的B细胞分泌IgE和IgG1等抗体, 增强抗体介导的免疫应答。Th3细胞主要分泌TGF-β, 可下调APC及Th1细胞的活性, 主要诱导免疫耐受的生成。Th1型细胞因子促进Th1细胞的分化, 抑制Th2细胞的增殖, 下调Th2细胞的应答反应。而Th2型细胞因子促进Th2细胞分化, 抑制Th1细胞分泌细胞因子。CD8⁺T细胞为Tc和Ts细胞, Tc细胞又被分为Tc1和Tc2两种亚型, 前者主要分泌IFN-γ, 后者则主要分泌IL-4, IL-5和IL-10。

对于药物过敏反应, 药物及其代谢物引起的T细胞介导的免疫反应也有三种信号的协同作用。基于药物过敏反应的临床表现涉及到多种组织和器官, 大量的研究显示在不同的组织损伤中, 参与反应的T细胞表型和细胞因子轮廓均有所不同。

2.1 药物过敏患者外周血T细胞表型及细胞因子轮廓

Zanni等^[6]报道青霉素、磺胺类药物、利多卡因、卡巴咪嗪和苯妥因过敏患者外周血T细胞克隆(TCCs)主要为CD4⁺和CD8⁺, 表达αβTCR, 对抗原的识别受MHC I, MHC II分子限制, 另有一些利多卡因特异性TCCs表达γδTCR; 青霉素特异性TCCs主要产生Th1细胞因子IFN-γ, 磺胺和利多卡因特异性TCCs主要显示Th0/Th2细胞因子模式。值得一提的是, Brooks等^[7]最近对青霉素与细胞因子相互作用的体外研究显示青霉素虽然不影响单核细胞IFN-γmRNA的表达, 但是可与IFN-γ的赖氨酸或组氨酸结合抑制其免疫调节功能的发挥, 对IL-4或IL-13的免疫调节作用无影响。Chouquet-Kastylevsky^[8]等对SMX引起小鼠迟发性超敏反应的研究也显示对亚硝基-SMX反应的CD4⁺和CD8⁺T细胞产生IFN-γ, 而不产生IL-4, 表现为Th1/Tc1模式。

Hashizume等^[9]对苯巴比妥过敏患者的研究显示,毒性表皮坏死(TEN)、S-J综合症(SJS)、斑丘疹(MPE)的外周血单核细胞(PBMC)中CD4⁺T细胞占优势,剥脱性皮炎患者的PBMC在长期培养后CD8⁺T细胞占优势。来自TEN、SJS的TCCs主要表达CD4⁺表型,只有小部分克隆表达CD8⁺表型,仅有一位SJS患者的TCCs主要为CD8⁺表型。

2.2 过敏性皮肤炎症局部T细胞表型及细胞因子轮廓

Yawalkar等^[10]用免疫组化方法分析药物所致斑丘疹的皮肤活组织切片的T细胞表型及细胞因子模式显示浸润到表皮间的T细胞主要表现为CD4⁺和CD8⁺表型,产生IFN- γ 和IL-12。Teraki等^[11]报道在静息的固定性药疹(Fixed drug eruption, FDE),表皮内的T细胞以CD8⁺为主,主要表达皮肤淋巴细胞相关抗原(CLA), $\alpha 4\beta 1$, CD11a, $\alpha E\beta 7$ 和CD45RA,不表达CD25,细胞内染色显示表皮内的CD8⁺T细胞主要产生IFN- γ 和TNF- α ,在活动性FDE表皮内有大量表达CD25的CD4⁺T细胞浸润,主要产生IL-10,因此认为产生IFN- γ 的效应性CD8⁺T细胞和产生IL-10的调节性CD4⁺T细胞分别参与FDE的发展和恢复。也有实验结果显示FDE患者表皮炎症部位CD8⁺T细胞具CD8⁺CD45RA⁺CD11a⁺CD27⁻CD56⁻表型,与效应性T细胞或记忆性T细胞非常相似。CD8⁺T细胞即使在静息的缺损部位也持续表达CD69,通常情况下CD69以低水平持续表达在固有免疫细胞如NK细胞表面,是早期激活信号,在受到刺激后表达水平可快速上调^[12]。Nassif等^[13]体外检测增效磺胺甲基异噁唑所致毒性表皮坏死水疱液T淋巴细胞主要表达激活的细胞毒性细胞的表型CD8⁺, DR⁺, CLA⁺, CD56⁺以及V β 5.1⁺、V β 13.1⁺TCR。过去一直认为CD56是NK细胞的表面标志,但是最近的研究认为也是高细胞毒性CD8⁺T细胞的标志。Kudva Patel等^[14]报道一名X连锁无丙种球蛋白血症的儿童头顶部曲松皮肤斑贴试验阳性表皮内浸润的单核细胞表达CD4⁺CD7⁺CD45RO⁺表型。总之,参与反应的T细胞表型繁多而复杂,但是每一种表型均代表T细胞具有某项功能。

3 基因多态性与药物过敏反应

药物过敏反应可以表现为多种症状,但是仅在少数人群中发生,提示遗传因素,也就是基因多态性在药物过敏反应的发生中起重要作用。既然参与药物代谢的酶类以及免疫系统均参与药物过敏反应的发生,因此两者的基因多态性均与药物过敏反应的发生有关。

3.1 药物代谢酶的基因多态性

Zielinska等^[15]通过对TMP-SMX过敏患儿编码N-乙酰转移酶(NAT2)基因的分析发现编码NAT2基因的突变与过敏反应的发生有明显的相关性。也有研究显示对消毒液原料硫汞撒过敏的患者谷胱甘肽S转移酶(GST)M1和T1纯合子基因的缺失频率明显增高。谷胱甘肽系统参与硫汞撒及其分解物的代谢过程,GSTT1和GSTM1的正常表达维持谷胱甘肽的作用,其基因表达的缺失导致硫汞撒的分解产物增多,增加了过敏反应发生的机会^[16]。

3.2 免疫系统的基因多态性

Kawagishi等^[17]报道阿司匹林哮喘(AIA)者编码白三烯C4合酶的启动子区基因A-C的突变频率明显高于对照者。而且突变体C等位基因AIA患者的平均年龄明显低于野生型A纯合子者。白三烯是介导I型超敏反应的主要活性介质,其编码基因的突变可能与其他致病基因共同构成哮喘发生的易感因子。Pimohamed等^[18]对酰胺咪嗪过敏患者HLA基因多态性分析发现严重过敏反应患者TNF- α 启动子-308区等位基因变异频率,HLA-DR3,HLA-DQ2及TNF- α -DR3-DQ2单元型出现频率明显高于过敏反应较轻者和正常对照,提示TNF- α 与HLA-DR3,HLA-DQ2及TNF- α -DR3-DQ2单元型共同决定着过敏反应的严重程度。Ju等^[19]等用PCR-RFLP法检测硫普罗宁过敏患者的HLA-II基因型,结果发现过敏患者DR1/DR4杂合子的出现频率明显增高,DR5的亚型DRB1*1102和DRB1*1201的出现频率也明显增高。Mallal等^[20]的研究认为通过鉴定HLA表型可以预测个体发生药物不良反应的可能性,作者发现澳大利亚的一个人群中对HIV-1逆转录酶抑制剂abacavir超敏反应的发生与单元型HLA-B*5701,HLA-D7及HLA-DQ3有明显的相关性,阳性预测值为100%,阴性预测值为97%,根据这一发现进行筛查使不良反应的发生率从9%下降到2.5%;但是后来的研究发现这一方法不适用于对其他人群的筛查^[1]。另外许多研究显示药物特异性T细胞克隆除了表达 $\alpha\beta$ TCR外,也表达V β 5.1⁺,V β 9⁺和V β 13.1⁺TCR,提示TCR基因的多态性也是决定药物过敏反应发生的因素之一^[21]。

4 药物过敏反应皮肤受损的机制

皮肤是药物过敏反应的主要受害对象,皮肤受损的临床表现复杂,病情严重程度变异范围较大。通常认为皮肤作为抵御外界侵袭的主要屏障,其免疫系统处于低水平的激活状态,因此容易发生对无毒性小分子物质的免疫应答,成为药物过敏反应的发生场所,而身体的其他部分缺少这种激活状态,因此对外源性抗原有较强的耐受性。同时皮肤内可能有参与药物代谢的酶类,经酶代谢的药物产物半抗原化真皮的蛋白质,激活附近的淋巴结内的CD4⁺和CD8⁺T细胞,激活的CD4⁺和CD8⁺T细胞表达皮肤淋巴细胞相关抗原(CLA),同时表达细胞因子、穿孔素和颗粒酶B,可以定向迁移到真皮和表皮交界处,通过一系列机制导致角质层细胞溶解和坏死。Mizukawa等^[12]认为FDE患者表皮炎症部位CD8⁺T细胞在受到刺激后可迅速获得有效的细胞毒性,立即产生高水平的IFN- γ 。IFN- γ 协同其他细胞因子如TNF- α 通过诱导凋亡相关蛋白如Fas和肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL)等而导致广泛的表皮损伤。同时表皮内的T淋巴细胞通过产生IFN- γ ,可以刺激其他固有免疫细胞如巨噬细胞产生大量的TNF- α ,表皮内T细胞可能在固有免疫细胞协同作用下发挥细胞毒作用。对过敏性接触性皮炎(ACD)的研究显示,皮肤的反应主要是由穿孔素-颗粒酶B系统介导的,穿孔素和颗粒酶B是细胞介导细胞毒反应的重要介质,这些细胞毒性颗粒蛋白储存在自然杀伤细胞和细胞毒性T淋巴细胞

(CTLs)的分泌性溶酶体内,当角质层细胞提呈抗原给 CD4⁺和 CD8⁺ CTLs而激活这些细胞后,通过出胞作用释放的穿孔素和颗粒酶 B协同作用杀死靶细胞。穿孔素使细胞膜出现孔隙导致细胞发生渗透性溶解,颗粒酶 B从孔隙进入细胞内,降解 DNA。ACD中穿孔素和颗粒酶 B的表达水平以及表达二者的 CTLs的数量明显高于牛皮癣,提示穿孔素 颗粒酶 B系统介导的细胞毒机制在 ACD的发病中起独特的作用^[22]。对增效磺胺甲基异噁唑所致毒性表皮坏死水疱液 CD8⁺ T淋巴细胞细胞毒性功能的体外研究也显示 CD8⁺ T淋巴细胞主要通过穿孔素 颗粒酶系统发挥溶细胞作用,与 Fas和 TRAIL无关,但是不能排除体内尤其是广泛的表皮细胞溶解时有 Fas和 TRAIL的参与^[13]。Posadas等^[23]检测了来自药物过敏反应 MPE、剥脱性皮炎、SJS和 TEN的外周血和水疱液的单核细胞 TNF- α 、穿孔素、颗粒酶 B和 FasL的表达情况,结果发现在皮肤的急性病变期,TNF- α 、穿孔素和颗粒酶 B明显增高,并且与疾病的严重程度有高度的相关性;FasL仅表达于来自 SJS和 TEN的细胞。因此认为不仅是 Fas/FasL相互作用介导的细胞凋亡,穿孔素和颗粒酶 B介导的细胞毒性反应在这些过敏反应的发生过程中也发挥重要作用。Abe等^[24]报道 TEN和 SJS的角质层细胞坏死的主要机理是外周血单核细胞分泌高水平的 sFasL与角质层细胞表面的 Fas相互作用导致了细胞的坏死。

5 病毒感染与药物过敏反应

已经知道感染 EBV和 HIV者容易发生药物过敏反应,目前认为病毒感染对免疫系统的刺激导致 APC对药物的提呈过程加强是主要原因,进入机体内的病毒通过一系列机制促使免疫细胞释放高水平的 IFN- γ ,IFN- γ 使专职 APC上 MHCII分子或其他协同刺激 黏附分子的表达水平上调,因而加大了对药物的提呈作用,增加 T细胞识别和增殖的机会。当病毒感染急性期结束后,活性细胞因子 IFN- γ 的水平随之下降,APC的抗原提呈能力也下降,这时如果继续给药可能不会发生药物过敏反应,因为抗原提呈的条件未达到标准,不足以刺激药物反应性 T细胞。这一被称为“免疫激活”的假说也可以解释活动性 SLE患者易发生药物变态反应的现象^[25]。

另外,病毒感染对肝脏等器官的破坏使其对药物的减毒功能下降也是病毒感染者易发生药物过敏反应的主要原因。SMX的羟胺代谢产物通过自身氧化作用转变为亚硝基-SMX,这一代谢产物在具有细胞毒性的同时还能与血浆蛋白质和淋巴细胞及角质层细胞表面的蛋白质结合,诱发药物过敏反应。硫醇类化合物如谷胱甘肽和半胱氨酸可以使亚硝基-SMX转化为羟胺代谢产物或 SMX,而 HIV患者硫醇类化合物减少,破坏了解毒作用和生物活性作用(bioactivation)之间的平衡,导致亚硝基-SMX的水平升高,因而增加了药物过敏反应发生的机会^[26]。

综上所述,药物过敏反应的发生受多种因素的影响,对药物过敏反应的研究主要集中于药物的化学组成和代谢产物对免疫系统的影响及药物特异性 T细胞表型和功能方面。

关于药物立体结构对药物过敏反应的影响方面的研究报道较少,同时还没有完善的预测药物过敏反应的方法,因此从这两方面着手进行广泛而系统的研究将有助于进一步了解药物过敏反应发生的机制并为临床用药提供有力的指导。

参考文献

- [1] Sicherer SH. Advances in anaphylaxis and hypersensitivity reactions to foods, drugs, and insect venom [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2003, 111(3): S829-S834.
- [2] Levine B, Redmond A. Minor haptenic determinant-specific reactions of penicillin hypersensitivity in man [J]. *Int Arch Allergy Appl Immunol*, 1969, 35: 445-455.
- [3] Pichler WJ. Modes of presentation of chemical neoantigens to the immune system [J]. *Toxicology*, 2002, 181-182: 49-54.
- [4] Burkhardt C, Britschgi M, Strasser I, *et al*. Non-covalent presentation of sulfamethoxazole to human CD4⁺ T cells is independent of distinct human leucocyte antigen-bound peptides [J]. *Clin Exp Allergy*, 2002, 32(11): 1635-1643.
- [5] Zhao Z, Baldo BA, Rimmer J. beta-Lactam allergenic determinants: fine structural recognition of a cross-reacting determinant on benzylpenicillin and cephalothin [J]. *Clin Exp Allergy*, 2002, 32(11): 1644-1650.
- [6] Zanni MP, Mauri-Hellweg D, Brander C, *et al*. Characterization of lidocaine-specific T cells [J]. *J Immunol*, 1997, 158(3): 1139-1148.
- [7] Brooks BM, Thomas AL, Coleman JW. Benzylpenicillin differentially conjugates to IFN-gamma, TNF-alpha, IL-1 beta, IL-4 and IL-13 but selectively reduces IFN-gamma activity [J]. *Clin Exp Immunol*, 2003, 131(2): 268-274.
- [8] Choquet-Kastylevsky G, Santolaria N, Tedone R, *et al*. Induction of delayed-type hypersensitivity to sulfamethoxazole in mice: role of metabolites [J]. *Toxicol Lett*, 2001, 119: 183-192.
- [9] Hashizume H, Takigawa M, Tokura Y. Characterization of drug-specific T cells in phenobarbital-induced eruption [J]. *J Immunol*, 2002, 168(10): 5359-5368.
- [10] Yawalkar N, Egli F, Hari Y, *et al*. Infiltration of cytotoxic T cells in drug-induced cutaneous eruptions [J]. *Clin Exp Allergy*, 2000, 30(6): 847-855.
- [11] Teraki Y, Shiohara T. IFN-gamma-producing effector CD8⁺ T cells and IL-10-producing regulatory CD4⁺ T cells in fixed drug eruption [J]. *Allergy Clin Immunol*, 2003, 112(3): 609-615.
- [12] Mizukawa Y, Yamazaki Y, Teraki Y, *et al*. Direct evidence for interferon-gamma production by effector-memory-type intraepidermal T cells residing at an effector site of immunopathology in fixed drug eruption [J]. *Pathol*, 2002, 161(4): 1337-1347.
- [13] Nassif A, Bensussan A, Dorothee G, *et al*. Drug specific cytotoxic T-cells in the skin lesions of a patient with toxic epidermal necrolysis [J]. *Invest Dermatol*, 2002, 118(4): 728-733.
- [14] Kudva-Patel V, White E, Kamani R, *et al*. Drug reaction to ceftriazone in a child with X-linked agammaglobulinemia [J]. *Allergy Clin Immunol*, 2002, 109: 888-889.
- [15] Zielinska E, Niewiarowski W, Bodalski J, *et al*. Genotyping of the arylamine N-acetyltransferase polymorphism in the prediction of idiosyncratic reactions to trimethoprim-sulfamethoxazole in infants [J]. *Pharm World Sci*, 1998, 20(3): 123-130.

(下转第 297 页)

- [16] Westphal GA, Schnuch A, Schulz TG, *et al.* Homozygous gene deletions of the glutathione S-transferases M1 and T1 are associated with thimerosal sensitization [J]. *Int Arch Occup Environ Health*, 2000, 73(6): 384-388.
- [17] Kawagishi Y, Mita H, Taniguchi M, *et al.* Leukotriene C4 synthase promoter polymorphism in Japanese patients with aspirin-induced asthma [J]. *Allergy Clin Immunol*, 2002, 109(6): 936-942.
- [18] Pimohamed M, Lin K, Chadwick D, *et al.* TNF-alpha promoter region gene polymorphisms in carbamazepine-hypersensitive patients [J]. *Neurology*, 2001, 56(7): 890-896.
- [19] Ju LY, Paolozzi L, Delecoeuillie G, *et al.* A possible linkage of HLA-DRB haplotypes with Tiopronin intolerance in rheumatoid arthritis [J]. *Clin Exp Rheumatol*, 1994, 12(3): 249-254.
- [20] Mallal S, Nolan D, Witt C, *et al.* Association between presence of HLA-B* 5701, HLA-DR7, and HLA-DQ3 and hypersensitivity to HIV-1 reverse-transcriptase inhibitor abacavir [J]. *Lancet*, 2002, 359(9308): 727-732.
- [21] Naibitt DJ, Farrell J, Wong G, *et al.* Characterization of drug-specific T cells in lamotrigine hypersensitivity [J]. *Allergy Clin Immunol*, 2003, 111(6): 1393-1403.
- [22] Yawalkar N, Hunger RE, Buri C, *et al.* A comparative study of the expression of cytotoxic proteins in allergic contact dermatitis and psoriasis: spongiotic skin lesions in allergic contact dermatitis are highly infiltrated by T cells expressing perforin and granzyme B [J]. *Pathol*, 2001, 158(3): 803-808.
- [23] Posadas SJ, Padial A, Torres MJ, *et al.* Delayed reactions to drug show levels of perfins, granzyme B, and Fas-L to be related to disease severity [J]. *Allergy Clin Immunol*, 2002, 109: 155-161.
- [24] Abe R, Shimizu T, Shibaki A, *et al.* Toxic epidermal necrolysis and Stevens-Johnson syndrome are induced by soluble Fas ligand [J]. *Pathol*, 2003, 162(5): 1515-1520.
- [25] Pichler WJ. Predictive drug allergy testing: an alternative viewpoint [J]. *Toxicology*, 2001, 158(1-2): 31-41.
- [26] Naibitt DJ, Vilar J, Stalford A, *et al.* Plasma cysteine deficiency and decreased reduction of nitrososulphamethoxazole with HIV infection [J]. *AIDS Res Hum Retrov*, 2000, 16: 1929-1938.

收稿日期: 2005-01-19