

多组分生化药致敏性评价策略研究进展

吴殷因^{1,2}, 汪玉馨^{2*}, 杨奇涛^{2,3}, 徐鹏³, 张思琦³, 宗卫峰², 孟长虹², 史清水², 陆益红^{1,2*} (1.徐州医科大学药物分析教研室, 徐州 221004; 2.江苏省食品药品监督检验研究院, 南京 210009; 3.中国药科大学, 南京 210009)

摘要: 多组分生化药因来源复杂、物质基础不明, 部分品种临床应用中不良反应率较高而被录入国家重点监控药品目录。虽然其不良反应多涉及过敏样反应, 但是目前对多组分生化药的过敏性研究甚少, 尚未形成完善的过敏性研究评估体系。故本文通过对多组分生化药的特点及近年来国内外复杂机制类药物过敏性研究相关文献进行分析, 阐述了适用于多组分生化药的过敏与类过敏评价策略; 并从体内外 2 个方面对于过敏性研究的手段和技术方法进行分析 and 汇总, 以期多组分生化药的临床应用、安全性研究及生产工艺优化提供参考和依据。

关键词: 多组分生化药; 过敏反应; 评价策略

中图分类号: R969.3

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2021)10-1257-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2021.10.020

引用本文: 吴殷因, 汪玉馨, 杨奇涛, 等. 多组分生化药致敏性评价策略研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(10): 1257-1262.

Advances in the Evaluation Strategy of Allergenicity of Multi-component Biochemical Drugs

WU Yinnan^{1,2}, WANG Yuxin^{2*}, YANG Qitao^{2,3}, XU Peng³, ZHANG Siqi³, ZONG Weifeng², MENG Changhong², SHI Qingshui², LU Yihong^{1,2*} (1. Department of Pharmaceutical Analysis, Xuzhou Medical University, Xuzhou 221004, China; 2. Jiangsu Institute for Food and Drug Control, Nanjing 210009, China; 3. China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

ABSTRACT: The multi-component biochemical drugs are listed in the national key monitoring drugs catalogue because of their complex sources, unknown material basis and high adverse reactions in clinical application of some varieties. Although the adverse reactions are mostly related to anaphylactic reactions, at present, there are few studies on the anaphylaxis of multi-component biochemical drugs, and a complete evaluation system of anaphylactic research has not been formed. Therefore, based on the analysis of the characteristics of multi-component biochemical drugs and the related literature on the allergy research of complex mechanism drugs at home and abroad in recent years, this paper expounds the allergy and pseudoallergy evaluation strategies applicable to multi-component biochemical drugs, and analyzes and summarizes the means and technical methods of allergy research from both *in vivo* and *in vitro*, with a view to the clinical application and safety of multi-component biochemical drugs research and production process optimization to provide reference and basis.

KEYWORDS: multi-component biochemical drugs; allergic reaction; evaluation strategy

2019 年 7 月国家卫生健康委员会发布了《第一批国家重点监控合理用药药品目录(化药及生物制品)》^[1], 目录包含的 20 个药品品种中生化药占 60%, 多组分生化药占 35%, 通过对其中多组分生化药的不良反应进行整理归纳(表 1), 发现其不良反应多涉及过敏样反应, 因此多组分生化药的过敏性研究及监控对临床合理用药具有重要的意义。

1 多组分生化药的过敏质控现状

多组分生化药来源复杂, 提取纯化工艺简单, 有效成分的含量与实际比例具有一定的差异, 各

品种常常难以保证批次间质量完全一致^[2]。仅照搬化学药物的质控方式并不能确保生化药物的质量, 因此现行的化学药品质控要求无法满足生化药终产品的质量及其安全性及有效性需求^[2-4]。

同时, 目前多组分生化药大多收载于国家标准第九册^[5]与国家标准第十六册^[6]中, 很多品种的质量标准并不完善, 安全性研究较少, 部分多组分生化药的质控标准并未将过敏物质项纳入其安全性检查项^[7-8]。国内外对于过敏物质的监测, 也主要是针对 I 型和 IV 型超敏反应, 推荐使用主动皮肤过敏试验(active cutaneous anaphylaxis,

基金项目: 江苏省实验动物协会科研课题(DWXH201902); 大学生创新创业训练计划项目(202010316085S)

作者简介: 吴殷因, 女, 硕士生 Tel: 18252157209 E-mail: wynmrcx@163.com *通信作者: 汪玉馨, 女, 博士, 副主任药师 Tel: (025)86251278 E-mail: wyx_carrie@163.com 陆益红, 女, 博士, 主任药师 Tel: (025)86251220 E-mail: yihonglu@163.com

表 1 第一批国家重点监控合理用药药品目录中多组分生化药的不良反应

Tab. 1 First batch of national key monitoring of adverse reactions of multi-component biochemical drugs in the list of rational drugs

序号	药品名	不良反应
1	脑苷肌肽	过敏反应、药物热、皮疹、癫痫、白细胞减少、单纯疱疹等
2	小牛血清去蛋白	皮肤及全身系统过敏反应、恶心、呕吐、头昏、抽搐、视力模糊和白细胞减少症等
3	曲克芦丁脑蛋白水解物	过敏性皮疹、寒颤、发热等
4	胸腺五肽	皮肤及附件损害、胃肠道系统反应、心血管系统损害、中枢神经系统反应、呼吸系统反应、泌尿系统损害等
5	骨肽	皮肤及附件损害、胃肠系统反应、过敏性休克、神经系统反应、循环系统损害、血液系统损害、关节痛等
6	脑蛋白水解物	皮肤及其附件损害、全身性损害、消化系统反应、呼吸系统不良反应、神经系统反应、心血管系统损害等
7	小牛血去蛋白提取物	皮肤过敏反应、热原反应、中枢神经系统反应、消化系统反应、呼吸道不良反应、过敏性休克等

ACA)、被动皮肤过敏试验 (passive cutaneous anaphylaxis, PCA)、全身主动过敏试验 (active systemic anaphylaxis, ASA) 等试验。如中国药典 2020 年版四部^[9]推荐使用豚鼠 ASA 方法用于过敏物质的检查; 而《药物刺激性、过敏性和溶血性研究技术指导原则》^[10]中是根据药物特点、过敏反应发生机制等方面推荐不同的过敏试验方法, 见表 2。目前国内对于注射剂的过敏反应研究主要采用 ASA 和 PCA。

表 2 《指导原则》推荐使用的过敏项试验方法
Tab. 2 Allergy test methods recommended in the Guiding Principles

过敏类型	制剂	过敏性试验方法
I 型过敏反应	注射剂	ASA、PCA
	透皮吸收剂	ACA
	吸入途径药物	豚鼠吸入诱导和刺激试验
	黏膜给药	结合受试物的特点参照经皮给药过敏性试验方法
II 和 III 型过敏反应	磺胺类制剂	结合在重复给药毒性试验中观察症状、体征、血液系统、免疫系统及相关的病理组织学改变等
IV 型过敏反应试验	经皮给药制剂	豚鼠最大化试验、豚鼠封闭斑贴试验或其他合理的试验方法如小鼠局部淋巴结试验

2 建立预测多组分生化药过敏反应系统方法的必要性

生化药品种多样, 普遍具有来源复杂、提取物不明确、稳定性差、易腐败等特点^[11], 且其生产过程中病毒灭活工艺步骤缺乏、原料控制松懈,

存在安全隐患^[2-3]。多组分生化药注射剂的临床应用皮肤及其附件损害等不良反应发生率较高, 主要表现为由 IgE 等介导的 I 型过敏反应和无需 IgE 等介导的类过敏反应^[12-14]。

目前研究者对于复杂成分注射剂的过敏性研究, 主要为中药注射剂, 多组分生化注射剂的过敏性分析尚未受到关注。通过查阅过敏物质筛查的相关文献发现^[15-17], 含复杂成分注射剂, 致敏物质主要是蛋白、多肽、糖原等大分子物质或聚集体, 某些大物质分子可通过改进制剂工艺方法有效去除; 但无法利用工艺去除残存于注射剂中的小分子物质如辅料、药物杂质等, 也容易导致类过敏反应的发生, 这也是复杂成分注射剂致敏原研究的重点及难点之一。

针对 I 型过敏反应, 现行的质量标准推荐使用 ASA、PCA、ACA 等试验方法, 研究表明, 上述 3 种过敏试验方法更适用于大分子物质的过敏性检测, 对于小分子物质缺乏灵敏性, 易产生假阴性结果^[18]。豚鼠淋巴结试验在预测小分子致敏物质时被认为是一种具有前景的方法^[19], 曾应用于生物制品的检测^[20], 但因该方法的机制不清、缺乏公认标准等问题, 并未被广泛使用。类过敏反应的临床表现与过敏反应相似, 且多组分生化注射剂的类过敏反应发生率较高。目前国内外指导文件中均未有成熟的体内类过敏反应评价方法报道^[21], 体外评价则主要根据肥大细胞释放组胺或脱颗粒及补体系统的激活等相关机制构建细胞模型与激活补体模型^[22-24]。因此, 对现有复杂成分机制类药物的致敏性研究方法进行综述, 从而为多组分生化药致敏性评价体系的建立提供参考和依据。

3 多组分生化药致敏性评价参考策略

按照作用机制过敏反应主要可分为速发型、细胞毒型、免疫复合物型、迟发型^[18]4 类。注射剂中较为常见的过敏反应为 I 型过敏反应与类过敏反应, 两者区别在于是否需 IgE 等抗体介导^[13]。

3.1 整体动物模型

3.1.1 I 型过敏反应 I 型过敏反应常用 ASA 和 PCA^[25]进行检测, 豚鼠模型由于敏感性高, 易于致敏, 在中国药典 2020 年版中被推荐作为过敏反应的检测模型。但上述方法作为经典的过敏反应评价方法, 灵敏度不高, 可将高 IgE 表达的 BN 大鼠作为实验对象进行试验, 以提高灵敏度^[26-27]。

小鼠腭窝淋巴结试验以致敏化学物质引起接触部位的淋巴细胞增殖为原理,应用于预测及筛选复杂机制类药物,如中药注射剂、多组分生化药中的小分子致敏物质具有一定的前景^[28-29]。

3.1.2 类过敏反应 近年来,国内外建立整体动物模型用于类过敏的研究时,主要是基于动物行为学变化、血管通透性变化及检测给药前后动物血清中的过敏因子变化来评价类过敏反应的程度^[25]。从行为学的角度观察动物的类过敏症状,孙伟伟等^[30]为探究鱼腥草注射液中增溶剂吐温 80 的质量标准,比较了豚鼠模型、Beagle 犬模型及食蟹猴模型,发现豚鼠模型更适用于依赖 IgE 的药物过敏性评价,Beagle 犬虽对类过敏反应较为敏感,但因个体差异大且缺乏行为学公认标准,需结合体外实验与生化指标进行评价,而食蟹猴较 Beagle 犬反应略差,但反应症状与生化指标结果一致,重复性好。由于这些大型试验动物模型试验费用昂贵,无法大规模应用于对于类过敏的研究中。

近年受到广泛认可的类过敏检测方法中有小鼠耳廓蓝染检测法^[31]、大鼠蓝斑直径法^[32]。其基本原理与血管通透性变化有关,致敏药物进入动物体内,肥大细胞受到刺激释放组胺或其他致敏活性因子;伊文思蓝因血管扩张及毛细血管通透性增加,在体内结合血浆蛋白从血管外组织间隙渗出,出现蓝染或者蓝斑现象。小鼠耳廓蓝染检测法^[33]可通过分析耳廓蓝染的情况及计算伊文思蓝浸出率评价类过敏反应程度。而大鼠蓝斑直径法^[34]将药物皮内注入大鼠后,注射部位因伊文思蓝的渗出而出现蓝斑,造成局部水肿,可根据蓝斑直径大小与伊文思蓝的渗出量反映类过敏的情况。BN 大鼠是具有高 IgE 反应性的动物^[35],致敏后分时段取血,检测各组大鼠的血象变化及血清和血浆中 IgG、IgE 等指标的变化。选用灵敏度较高的动物模型,将形态学观察结合指标检测,能够更加准确直观地评价类过敏的反应程度,为进一步研究和防治类过敏提供理论依据。

3.2 体外模型

体外模型具有灵敏快速、简单经济的特点,细胞模型因其稳定传代培养、高效快速的特点,能够完善整体动物模型的不足。在分析手段上,利用液质联用技术对药物中的组胺定性定量是评估其过敏风险较为常见的方法,而质谱也常用于筛查复杂机制药物中的抗过敏成分^[36]。

3.2.1 细胞模型 肥大细胞因其胞质颗粒中含多种炎性介质,是导致过敏样症状发生较为常见的效应细胞,释放后可在靶组织内诱发速发型过敏反应^[37]。I 型超敏反应经抗原诱导 IgE 结合肥大细胞表面亲和力受体,促进花生四烯酸等活性物质的生成诱发肥大细胞脱颗粒,使活性介质在效应部位释放引起过敏反应^[38]。类过敏反应不依赖于 IgE 的介导,机体内的细胞因子^[39]、趋化因子^[40]、补体^[41]等均可在一定程度上直接刺激肥大细胞脱颗粒,而产生类过敏反应。过敏与类过敏反应体外研究模型常采用肥大细胞^[42-43]、大鼠嗜碱性白血细胞 RBL-2H3 系列^[44-45]、人源细胞激活试验^[46]等。

肥大细胞脱颗粒释放炎性介质,组胺、类胰蛋白酶等是肥大细胞预先合成且贮存在颗粒中的介质^[47-48],另一类成分主要包括白三烯、多种细胞因子^[49-50]等。组胺^[51]主要产生于肥大细胞和造血细胞的嗜碱性粒细胞,因半衰期短,反应迅速,常作为早期诊断类过敏反应的指标之一;类胰蛋白酶^[52]因在肥大细胞及嗜碱性颗粒中含量最为丰富,可反映过敏情况。 β -己糖苷酶^[53]因在体外实验中的灵敏度较高,也常作为标记肥大细胞脱颗粒的特异性蛋白之一。郭永超等^[54]在筛选可反映肥大细胞脱颗粒的最优指标时,比较了上述 3 种指标在肥大细胞的释放过程中的差异。结果发现三者虽在肥大细胞中可实现平行释放,但组胺有释放不稳定、重复性差的问题,类胰蛋白酶和 β -己糖苷酶释放度相似,稳定性较高,综合考虑认为类胰蛋白酶更适用于反映肥大细胞脱颗粒的情况。IL-4 因子由肥大细胞等分泌,细胞脱颗粒后被释放。TNF- α 是一种重要的促炎细胞因子^[55],可通过增强血管通透性来发挥抗肿瘤及增加炎症效应等作用^[56-57],白三烯属于肥大细胞脱颗粒过程中的合成炎性介质。这些炎症因子的变化可通过检测血清和细胞上清液来实现,其含量可用于量化肥大细胞脱颗粒^[57]。上述炎性介质和细胞因子的变化均可在一定程度上反映 I 型过敏反应与类过敏反应的情况,但由于 I 型过敏反应需 IgE 介导,因此在研究 I 型过敏反应时检测动物血清中的 IgE、IgG 等指标检测能够更准确全面地评价 I 型过敏反应^[58-59],这也是其在指标检测方面的特别之处。

3.2.2 液质联用检测 高效液相色谱-质谱联用技术(LC-MS)因灵敏度高、快速高效等优势在分析检

测方面应用广泛。与常规液相分析技术相比, LC-MS 技术更适用于筛选某些药物中的致敏或抗敏成分。为测定中成药和保健品中的抗过敏化学成分, 金朦娜等^[60]建立了超高效液相色谱串联质谱(UPLC-MS/MS)技术方法测定了中成药和保健食品中 16 种非法添加抗过敏类药物, 发现此方法具有高选择性、高灵敏度的适用于中成药及保健食品中非法添加抗过敏类药物化学成分的定量测定。将细胞模型与液质技术联用的方法也是目前筛查药物抗过敏成分的最新技术, 将细胞膜键合到硅胶上作为固定相, 该方法可筛选出与细胞膜上受体相互作用的过敏物质^[61]。韩省力等^[62]结合细胞模型建立了细胞膜色谱在线 HPLC-MS 系统, 用于筛查双黄连注射液中的潜在致敏成分, 发现黄芩苷被认为具有潜在致敏性, 随后经体外细胞脱颗粒试验验证其致敏活性。

4 总结与展望

多组分生化药在临床广泛应用的同时, 过敏反应是不可忽视的隐患, 为保障患者用药的安全性, 减少不良反应的发生, 建议参考目前对于复杂机制类药物(如中药注射剂)的过敏评价方法, 结合多组分生化药的特点, 对临床上有风险的品种进行研究和剖析。基于多组分生化药存在组分复杂, 多数药物物质基础不明确, 致敏机制不尽相同的特点, 探索高效、灵敏、可靠的评价方法和监测指标, 建立有效的体内外结合评价模型, 形成全面系统的评估策略对多组分生化药过敏及类过敏性的预测和评估尤为重要, 同时这也将为多组分生化药生产工艺的优化提供方向, 对临床合理用药具有重大意义。

REFERENCES

- [1] 国家卫生健康委员会. 关于印发第一批国家重点监控合理用药药品目录(化药及生物制品)的通知[EB/OL]. (2019-07-01)[2019-08-11]. <http://www.nhc.gov.cn/zyygi/s7659/201907/d356ce8a4ba1461ca66c544724dff5e.shtml>
- [2] 霍秀敏, 罗建辉. 生化药物质量控制研究中应注意的问题[J]. 药品评价, 2005(2): 98-101.
- [3] HUANG Y. Discussion on quality control of biochemical medicine source[J]. Shanghai Med Pharm J(上海医药), 2017, 38(15): 52-54.
- [4] 国家药品监督管理局. 总局关于发布《药品生产质量管理规范(2010 年修订)》生化药品附录的公告(2017 年第 29 号)[EB/OL]. (2017-03-16)[2019-08-04]. <http://www.nmpa.gov.cn/WS04/CL2138/300305.html>.
- [5] 国家药典委员会. 国家药品标准化学药品地方标准上升国

- 家标准第九册[M]. 北京: 国家药典委员会, 2002.
- [6] 国家药品监督管理局, 国家药典委员会. 国家药品标准化学药品地方标准上升国家标准第十六册[M]. 北京: 国家药典委员会, 2003.
- [7] 国家药品监督管理局. 关于发布化学药品注射剂和多组分生化药注射剂基本技术要求的通知(国食药监注〔2008〕7 号)[EB/OL]. (2008-01-10)[2019-09-08]. <http://www.nmpa.gov.cn/WS04/CL2196/323287.html>.
- [8] CHEN S, SHI J. The quality control of low molecular weight heparin[J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2018, 27(3): 285-289.
- [9] 中国药典. 四部[S]. 2020: 183.
- [10] 国家食品药品监督管理局. 化学药物刺激性、过敏性和溶血性研究技术指导原则[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2006.
- [11] ZHENG L X, SHI F L, LYU J, et al. Quality evaluation strategies and technical key points of biochemical injection[J]. Her Med(医药导报), 2019, 38(7): 874-879.
- [12] LI D H, MA X K, CAO J H, et al. The risk reassessment and countermeasures for the drugs reported in adverse drug reaction information bulletin of China[J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2018, 38(6): 577-583.
- [13] ZANG Q C, JIN H T, ABLIZ Z, et al. Research progress in analytical methods of allergenic components in injection[J]. Chin J Pharmacovigil(中国药物警戒), 2018, 15(4): 216-220.
- [14] GUPTA N, AGARWAL P, SACHDEV A, et al. Allergy testing-an overview[J]. Indian Pediatr, 2019, 56(11): 951-957.
- [15] TANG H L. Investigation and study on the production process parameters Kang'ai injection[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2018.
- [16] WEN W, HE F Y, LIU W L, et al. Screening of Shuanghuanglian Injection allergenic ingredients based on immune fingerprint[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2019, 44(8): 1588-1595.
- [17] XIE Q Y, WANG Z, MENG Q G. Evaluation on safety of traditional Chinese medicine injection and virtual screening on potential allergen[J]. China J Tradit Chin Med Pharm(中华中医药杂志), 2015, 30(8): 2661-2664.
- [18] TANG H L, LIU Y, XIE S X, et al. Mechanism and evaluation methods of Chinese medicine injection induced allergic hypersensitivity reactions and pseudoallergic reactions[J]. Chin J Integr Tradit West Med(中国中西医结合杂志), 2018, 38(4): 508-512.
- [19] CAI S J, FUJINO M, LU L N, et al. *In vivo* priming of T cells with *in vitro* pulsed dendritic cells: Popliteal lymph node assay[J]. BIO-PROTOCOL, 2017, 7(17). Doi: 10.21769/bioprotoc.2531.
- [20] MA Y K, GAO M, JIA Q W. Allergic test study of freeze-dried rabies vaccine(hamster kidney cell) for human use[J]. Food Drug(食品与药品), 2017, 19(5): 310-313.
- [21] CHEN M, LI W, WANG X, et al. Progress in research of the mechanism and preclinical evaluation of drug pseudoallergy[J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2017, 26(1): 51-59.
- [22] KOZMA G T, MÉSZÁROS T, VASHEGYI I, et al. Pseudo-anaphylaxis to polyethylene glycol(PEG)-coated

- liposomes: Roles of anti-PEG IgM and complement activation in a porcine model of human infusion reactions[J]. ACS Nano, 2019, 13(8): 9315-9324.
- [23] KAWAI J, MORI K, HIRASAWA N. *Grifola frondosa* extract and ergosterol reduce allergic reactions in an allergy mouse model by suppressing the degranulation of mast cells[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2019, 83(12): 2280-2287.
- [24] MORIWAKI M, IWAMOTO K, ISHII K, et al. Case of anaphylaxis to lansoprazole confirmed by histamine release test and oral provocation test[J]. J Dermatol, 2019, 46(4): e124-e125.
- [25] ZHANG F, WANG L, QI J, et al. Research progress of the evaluation model of pseudoallergic reactions induced by traditional Chinese medicine injection[J]. Strait Pharm J(海峡药学), 2019, 31(9): 10-13.
- [26] ZHANG Y H, ZHANG J F, WAN M X, et al. Sensitization research of Salvianolic Acids for Injection on BN rat model[J]. Drug Eval Res(药物评价研究), 2020, 43(8): 1565-1569.
- [27] SHUAI W W, ZHU D E, JANG B P, et al. A study of chlorogenic acid to anaphylactic reaction of BN rat[J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2019, 30(7): 1566-1568.
- [28] LIN L, FAN X Y, LI E C, et al. Potential immunotoxicity of three traditional Chinese medicines using the popliteal lymph node assay in mice[J]. Carcinog Teratog Mutagen(癌变·畸变·突变), 2018, 30(4): 275-278, 285.
- [29] LIU Z H, YAO J C, SUN R, et al. Assessment of immunosensitizing potential of Shuanghuanglian for injection using reporter antigen popliteal lymph node assay[J]. Chin J Pharmacovigil(中国药物警戒), 2017, 14(1): 4-9.
- [30] SUN W W, LI Y K, ZHANG J Y, et al. Experimental study on *Macaca fascicularis* anaphylactoid reactions induced by *Houttuynia cordata* injection[J]. J Tradit Chin Med(中医杂志), 2011, 52(9): 773-775.
- [31] WAN M X, SONG M Z, LI Z, et al. Quality control study on Yiqi Fumai Lyophilized Injection for Mouse ear blue staining pseudo-allergic reactions[J]. Drug Eval Res(药物评价研究), 2018, 41(3): 405-410, 428.
- [32] 张立波, 易娟娟, 赵琳, 等. 大鼠皮肤类过敏试验方法学[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2013, 27(3): 570.
- [33] LIANG A H, LI C Y, YI Y, et al. Methodology for preclinical assay of pseudoallergy of injectable drugs(I)—mouse model for assay of pseudoallergy induced by injections[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2012, 37(13): 1865-1870.
- [34] LIANG A H, ZHAO Y, LI C Y, et al. Methodology for preclinical assay of pseudoallergy of injectable drugs(II)—rat model for assay of cutaneous pseudoallergy induced by injections[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2012, 37(13): 1871-1874.
- [35] WANG Y X, YIN M, MA T, et al. Establishment of a rice protein sensitization animal model based on BN rat[J]. Sci Technol Food Ind(食品工业科技), 2017, 38(5): 345-349.
- [36] GAO Y Y, JIANG Y, CHEN G C, et al. A sensitive and rapid UPLC-MS/MS method for determination of monosaccharides and anti-allergic effect of the polysaccharides extracted from *Saposhnikovia Radix*[J]. Molecules, 2018, 23(8): 1924.
- [37] MAGRONE T, MAGRONE M, JIRILLO E. Mast cells as a double edged sword in immunity: Disorders of mast cell activation and therapeutic management. second of two parts[J]. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets, 2020, 20(5): 670-686.
- [38] KIM H S, KAWAKAMI Y, KASAKURA K, et al. Recent advances in mast cell activation and regulation[J]. F1000 Res, 2020(9): 196. Doi: 10.12688/f1000research.22037.1.
- [39] CAO J, MA P, XUE W, et al. RBL-2H3 cell model based on VAMP-8-EGFP protein for rapid detection of different allergens[J]. Acta Biochim Biophys Sin: Shanghai, 2018, 50(12): 1297-1300.
- [40] BANDO K, KUROISHI T, SUGAWARA S, et al. Interleukin-1 and histamine are essential for inducing nickel allergy in mice[J]. Clin Exp Allergy, 2019, 49(10): 1362-1373.
- [41] MACDOUGALL I C, VERNON K. Complement activation-related pseudo-allergy: A fresh look at hypersensitivity reactions to intravenous iron[J]. Am J Nephrol, 2017, 45(1): 60-62.
- [42] NAKAMURA T, YOSHIDA N, YAMANOI Y, et al. Eucalyptus oil reduces allergic reactions and suppresses mast cell degranulation by downregulating IgE-FcεRI signaling [J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 20940. Doi: 10.1038/s41598-020-77039-5.
- [43] TSVILOVSKYY V, SOLIS-LOPEZ A, ÖHLENSCHLÄGER K, et al. Isolation of peritoneum-derived mast cells and their functional characterization with Ca²⁺-imaging and degranulation assays[J]. JoVE, 2018(137): 1-10.
- [44] ARAKAWA T, OKUBO H, MAE M, et al. Seleno-L-methionine suppresses immunoglobulin E-mediated allergic response in RBL-2H3 cells[J]. Biol Pharm Bull, 2019, 42(7): 1179-1184.
- [45] HADA M, NISHI K, ISHIDA M, et al. Inhibitory effect of aqueous extract of *Cuminum cyminum* L. seed on degranulation of RBL-2H3 cells and passive cutaneous anaphylaxis reaction in mice[J]. Cytotechnology, 2019, 71(2): 599-609.
- [46] SANG J, CHEN S H, MENG H, et al. Study on the application of *in vitro* human cell line activation test with Chinese medicine injection[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2018, 35(7): 975-979.
- [47] QIN S L. Cell-based phenotypic screenig of mast cell degranulation unveils kinetic perturbations of agents targeting phosphorylation[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2017.
- [48] ZHENG Q Q, DONG T T, LI S G, et al. Degranulation and anti-inflammatory effects of shikimic acid in *Chaenomeles speciosa* on peritoneal mast cells in rats[J]. Chin J Immunol(中国免疫学杂志), 2017, 33(7): 1035-1038.
- [49] WANG Y H, FAN J, LUAN N, et al. Effects of Baijiezi powder and its disassembled formula on the Ig-E, IL-4, IFN-γ and TNF-α in allergic asthmatic rats[J]. Chin Pharm J(中国药理学杂志), 2019, 54(18): 1491-1496.
- [50] AGUZZI C, MARINELLI O, ZEPPA L, et al. Evaluation of anti-inflammatory and immunoregulatory activities of Stimunex® and Stimunex D3® in human monocytes/

- macrophages stimulated with LPS or IL-4/IL-13[J]. Biomed Pharmacother, 2020(132): 1-9.
- [51] OHTSU H. Progress in allergy signal research on mast cells: The role of histamine in immunological and cardiovascular disease and the transporting system of histamine in the cell[J]. J Pharmacol Sci, 2008, 106(3): 347-353.
- [52] KHOURY P, LYONS J J. Mast cell activation in the context of elevated basal serum tryptase: Genetics and presentations[J]. Curr Allergy Asthma Rep, 2019, 19(12): 55. Doi: 10.1007/s11882-019-0887-x.
- [53] LIN L. *In vitro* Immunotoxicity evaluation of 5-HMF and its dimer OMBF using RBL-2H3 cells and immunogenicity of three tradition Chinese medicine injections using PLNA[D]. Beijing: Chinese Academy of Medical Sciences Peking Union Medical College, 2018.
- [54] GUO Y C, LI Z X, LIN H. Investigation on the relationship among histamine, tryptase and β -hexosaminidase in the process of mast cell degranulation[J]. Chin J Cell Mol Immunol(细胞与分子免疫学杂志), 2009, 25(12): 1073-1075.
- [55] SHIRLEY D, MCHALE C, GOMEZ G. Resveratrol preferentially inhibits IgE-dependent PGD2 biosynthesis but enhances TNF production from human skin mast cells[J]. Biochim Biophys Acta, 2016, 1860(4): 678-685.
- [56] JIA Y L, LI S G, LIU W, et al. Effects of total saponins of *Chaenomeles speciosa* on degranulation ratio of RBL-2H3 mast cells[J]. Her Med(医药导报), 2016, 35(8): 819-822.
- [57] YI Y, LI C Y, ZHANG Y S, et al. Evaluation and study of pseudo-allergic reactions of three kinds of traditional Chinese medicine injections and its mechanisms[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2015, 40(14): 2711-2716.
- [58] SUN N. Study on potential allergenicity of food proteins and the mechanism of food allergy using cell model[D]. Beijing: China Agricultural University, 2015.
- [59] ZHANG L. Experiment study on the detection of serum allergen specific IgE by liquichip technology[D]. Tianjin: Tianjin Medical University, 2016.
- [60] JIN M N, PENG Y, WANG X X, et al. Determination of 16 anti-allergic drugs in Chinese traditional patent medicine and health food by UPLC[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2019, 36(2): 186-190.
- [61] LIN Y Y, JIA Q Q, SUN W, et al. Cell membrane chromatography coupled with online HPLC-ESI-IT-TOF-MS system to screen anti-anaphylactoid components from Fructus Xanthii[J]. Central South Pharm(中南药学), 2019, 17(9): 1397-1401.
- [62] 韩省力, 张涛, 黄静, 等. RBL-2H3/CMC-HPLC/MS 联用法筛选红花中抗过敏成分[C]//中国化学会首届全国质谱分析学术研讨会论文集. 北京, 2014: 74.
- 收稿日期: 2020-08-19
(本文责编: 沈倩)