

- (part II) [J]. J Natl Cancer Inst, 1998, 90(21): 1609-1620.
- [4] LU S, YU G, ZHU Y, et al. Cyclooxygenase-2 overexpression in MCF-10 F human breast epithelial cells inhibits proliferation, apoptosis and differentiation, and causes partial transformation [J]. Int J Cancer, 2005, 116(6): 847-852.
- [5] FELDMAN M, MCMAHON A T. Do cyclooxygenase-2 inhibitors provide benefits similar to those of traditional nonsteroidal anti-inflammatory drugs, with less gastrointestinal toxicity [J]. Ann Intern Med, 2000, 132(2): 134-143.
- [6] GARGA, AGGARWAL B B. Nuclear transcription factor-kappa B as a target for cancer drug development [J]. Leukemia, 2002, 16(6): 1053-1068.
- [7] NAKANISHI C, TOI M. Nuclear factor-kappa B inhibitors as sensitizers to anti-cancer drugs [J]. Nat Rev Cancer, 2005, 5(4): 297-309.
- [8] PHILCHENKOV A. Caspases: potential targets for regulating cell death [J]. Cell Mol Med, 2004, 8(4): 432-444.
- [9] KAZUHIKO U I, HIDETAKA M. Cyclooxygenase-2 expression is related to prostaglandin biosynthesis and angiogenesis in human gastric cancer [J]. Clin Cancer Res, 2000, 6(1): 135-138.
- [10] PRESCOTT S M, FITZPATRICK F A. Cyclooxygenase-2 and carcinogenesis [J]. Biochem Biophys Acta, 2000, 1470(2): 69-78.
- [11] KUNDU N, SMYTH M J, SAMSEL L, et al. Cyclooxygenase inhibitors block cell growth, increase ceramide and inhibit cell cycle [J]. Breast Cancer Res Treat, 2002, 76(1): 57-64.
- 收稿日期: 2012-01-06

喘可治注射液引起的过敏反应研究

肖贵南, 孙清萍, 曾秋敏(广东省食品药品检验所, 广州 510180)

摘要: 目的 建立喘可治注射液引起过敏反应的快速检测方法。方法 采用 1 次·d⁻¹、连续 3 d 静脉注射药物致敏豚鼠, 第 8 天以 ELISA 法测定血清 IL-4 和总 IgE; 并与传统的腹腔注射致敏检查方法相比较。结果 3 批喘可治注射液本身不引起豚鼠过敏反应, 但添加 1.5 g·L⁻¹ 绿原酸后进行致敏第 8 天后豚鼠血清 IL-4 和总 IgE 均明显升高, 豚鼠出现了过敏反应, 时间比传统检查方法提早 1~2 周, 且二者结果一致。结论 所建立的新方法可用于快速检测喘可治注射液引起的过敏反应。

关键词: 喘可治注射液; 过敏反应; 快速检测

中图分类号: R965.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2012)08-0673-03

Study on Allergic Reaction Induced by Chuankezhi Injection

XIAO Guinan, SUN Qingping, ZENG Qiumin(Guangdong Institute for Food and Drug Control, Guangzhou 510180, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method of rapid test for allergic reaction induced by Chuankezhi injection(CI). **METHODS** The guinea pigs were sensitized continuously by intravenous injection of drugs once a day for three days, IL-4 and total IgE of serum were detected with ELISA method on the 8th day. The results were compared with traditional method of sensitization by intraperitoneal injection. **RESULTS** The allergic reaction didn't occur on the 8th day after guinea pigs were sensitized by intravenous injection of three batches of CI, but IL-4 and total IgE of serum increased obviously and allergic reaction occurred from the 8th day after sensitized by CI added with 1.5 g·L⁻¹ chlorogenic acid, the onset time of allergy was reduced by 1-2 weeks as compared with traditional method, and the results were in accordance with each other. **CONCLUSION** It provides a new way of rapid test for CI induced allergic reaction.

KEY WORDS: Chuankezhi injection; allergic reaction; rapid test

近年来, 中药注射剂的不良反应逐年增加, 所引起的过敏反应高居不良反应发生率的首位^[1], 而传统的检查方法参照中国药典 2010 年版规定的豚鼠过敏反应检查法, 存在检验周期偏长(2~3 周)、观察指标不够客观等缺陷^[2]。本实验在前期研究的基础上^[3], 以喘可治注射液为例, 试图通过连续静

脉致敏豚鼠建立一种快速新型的药物过敏反应检查方法, 将检测周期缩短 1~2 周。

1 实验材料

1.1 实验动物

Hartley 豚鼠, 280~320 g, 实验动物合格证号: 2008A0026, 实验室温度为 22~25 °C, 湿度为 55%~

基金项目: 广东省食品药品监督管理局药检系统课题(ZA20081208)

作者简介: 肖贵南, 男, 硕士, 主任药师, 硕士 Tel: (020)81853842 E-mail: gzxgn@163.com

70%，购自广东省医学实验动物中心。

1.2 药物与试剂

喘可治注射液 A(批号: 20071102, 每支 2 mL, 记为喘可治 A)、喘可治注射液 B(批号: 20070503, 每支 2 mL, 记为喘可治 B)、喘可治注射液 C(批号: 20070302, 每支 2 mL, 记为喘可治 C)均由广州健心药业有限公司生产; 绿原酸(中国药品生物制品检定所, 批号: 110753-200413, 每支 20 mg); 马血清(广州蕊特生物科技有限公司, 批号: 090318, 每瓶 100 mL); 生理盐水(昆明宇斯药业有限责任公司, 批号: 08070204, 每瓶 100 mL); IL-4 和总 IgE 测定试剂盒由深圳晶美生物工程有限公司提供。

1.3 实验仪器

Elx808 酶标仪由美国 Bio-Tek 公司生产。

2 方法

2.1 传统的腹腔注射药物过敏反应检查方法

取豚鼠随机分为 9 组(生理盐水组、绿原酸组、马血清组、喘可治 A 组、喘可治 A+绿原酸组、喘可治 B 组、喘可治 B+绿原酸组、喘可治 C、喘可治 C+绿原酸组), 每组 6 只, 马血清以生理盐水稀释至 10%, 绿原酸溶解于生理盐水或喘可治注射液(终浓度 $1.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)。各组豚鼠分别于第 0 天、第 2 天、第 4 天腹腔注射供试液 0.5 mL 进行致敏, 第 14 天和第 21 天每组分别取 3 只豚鼠由静脉注射相应供试液 1.0 mL 进行攻击, 记录过敏反应的发生情况。

2.2 静脉注射药物引起 IL-4 和总 IgE 升高及过敏反应的快速检查^[4]

取豚鼠 72 只, 随机分为 9 组, 每组 8 只, ♀ ♂ 各半, 分组及各组供试液浓度同“2.1”项下方法, 各组分别于第 0 天、第 1 天、第 2 天静脉注射上述供试液 0.5 mL 进行致敏, 并于第 8 天每组取豚鼠 8 只, 从静脉各取全血 1 mL(分离血清测定 IL-4 和总 IgE), 再从静脉注射供试液 1.0 mL 进行攻击, 记录过敏反应的发生情况。

2.3 血清 IL-4 和总 IgE 的测定

将分离的血清存放于 -30°C 冰箱, 1 个月内进行 IL-4 和总 IgE 的测定; 采用双抗夹心 ELISA 法, 严格按试剂盒说明书进行操作。

2.4 豚鼠过敏反应的判断标准

参照中国药典 2010 年版附录的判断标准, 观察豚鼠注射供试液进行攻击后 30 min 内有无喷

嚏、抽搐、休克等过敏反应发生。如动物发生竖毛、喷嚏、干呕、连续咳嗽 3 声和呼吸困难等现象中的 2 种或 2 种以上, 或出现抽搐、休克、死亡现象之一者, 判为过敏反应阳性。

2.5 统计学处理

ELISA 测定数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 11.0 统计软件对数据进行比较分析, 以 $P < 0.05$ 作为差异有统计学意义, 两组数据间差异比较采用 t 检验, 多组数据间差异比较采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 传统的腹腔注射药物过敏反应检查结果

整体豚鼠过敏反应情况: 9 组豚鼠采取隔日腹腔注射致敏规定时间后, 以同种供试液进行攻击, 第 14 天和第 21 天结果一致, 马血清组、绿原酸组各 6 只豚鼠均出现了过敏反应; 喘可治 A、喘可治 B、喘可治 C 组豚鼠未出现过敏反应, 但在添加 $1.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的绿原酸后, 3 组豚鼠均出现了过敏反应, 证实绿原酸和马血清均可作为有效的阳性致敏药物。

3.2 静脉注射药物引起 IL-4 和总 IgE 升高及过敏反应的快速检查

整体豚鼠过敏反应情况: 9 组豚鼠连续 3 次静脉致敏后的第 8 天, 马血清组、绿原酸组各 8 只豚鼠经同种药物激发后均出现了过敏反应; 3 批喘可治注射液组豚鼠(每组各 8 只)激发后未出现过敏反应, 但在添加 $1.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的绿原酸后, 每组 8 只豚鼠均出现了过敏反应。

血清中 IL-4 和总 IgE 测定结果显示: 连续静脉注射致敏后的第 8 天, 与生理盐水组相比: 马血清组、绿原酸组豚鼠血清 IL-4 和总 IgE 均显著升高($P < 0.01$); 3 批喘可治注射液组血清 IL-4 和总 IgE 均无明显升高($P > 0.05$), 但在添加 $1.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的绿原酸后, 豚鼠血清 IL-4 和总 IgE 均显著升高($P < 0.01$), 结果见表 1。IL-4 和总 IgE 升高情况与整体豚鼠过敏反应相平行。

4 讨论

药物引起的过敏反应以速发型过敏反应的危害性最大。IgE 在速发型过敏反应中起重要作用, 而 IL-4 是辅助 T 细胞衍生的一类细胞因子, 是促进 IgE 合成的最主要细胞因子, 过敏原进入体内引起 IL-4 和 IgE 升高并长期存在, 使机体始终处于一个高敏状态, 再次遇到同一过敏原时可导致过敏反应^[5-6]。

表1 静脉致敏法第8天不同组别豚鼠血清中的IL-4和总IgE值($n=8$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Contents of serum IL-4 and total IgE after sensitized by injection of different drugs on the 8th day($n=8$, $\bar{x} \pm s$)

组别	IL-4/ $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$	总IgE/ $\text{IU} \cdot \text{mL}^{-1}$
生理盐水组	94.1 $\pm$ 13.3	44.5 $\pm$ 6.3
马血清组	142.5 $\pm$ 19.2 ¹⁾	109.9 $\pm$ 15.2 ¹⁾
绿原酸组	135.6 $\pm$ 17.4 ¹⁾	93.4 $\pm$ 13.0 ¹⁾
喘可治A组	95.2 $\pm$ 11.3	45.7 $\pm$ 7.0
喘可治A+绿原酸组	147.6 $\pm$ 19.5 ¹⁾	95.8 $\pm$ 11.6 ¹⁾
喘可治B组	93.6 $\pm$ 13.0	45.0 $\pm$ 7.2
喘可治B+绿原酸组	143.9 $\pm$ 14.0 ¹⁾	88.8 $\pm$ 14.6 ¹⁾
喘可治C组	94.4 $\pm$ 11.7	45.0 $\pm$ 5.6
喘可治C+绿原酸组	144.9 $\pm$ 15.1 ¹⁾	94.3 $\pm$ 16.3 ¹⁾

注:与生理盐水组比较, ¹⁾ $P<0.01$

Note: Compared with NS group, ¹⁾ $P<0.01$

法定判断药物引起过敏反应的方法主要为豚鼠主动过敏反应检查法,存在检验周期偏长(2~3周)、观察指标不够客观等缺陷,不利于迅速得出结论。

3批喘可治注射液验证实验结果表明:单纯隔日腹腔或连续静脉注射喘可治注射液均不引起过敏反应,但在添加 $1.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的绿原酸后,可诱发豚鼠出现过敏反应,过敏反应症状与相应组别豚

鼠连续静脉致敏第8天的血清IL-4和总IgE升高的时效相平行,证实绿原酸可能在药物引起的过敏反应中起到一定的作用,且所建立的连续静脉注射致敏检测方法比传统的隔日腹腔注射致敏法引起过敏反应的检测时间可提早1~2周,且二者结果一致。

REFERENCES

- [1] LI H J, OU Y C, ZUO X C, et al. Review of ARDs of ready-made Chinese drugs in the first OTC list [J]. J China Pharm(中国药房), 2001, 12(4): 249-251.
- [2] Ch.P(2010)Vol II(中国药典 2010年版. 二部) [S]. 2010: Appendix 116.
- [3] XIAO G N, SHENG Y M, CHEN H A, et al. Effect of detection index of IL-4 and IgE on rapid examination of drug-induced allergic reaction [J]. J China Pharm(中国药房), 2010, 21(21): 1946-1948.
- [4] XIAO G N, SHENG Y M, CHENG Z H, et al. Rapid test for allergic reaction induced by cerebroprotein hydrolysate injection [J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2010, 30(15): 7-10.
- [5] PULLERITS T. Cytokine modulation for anti-allergic treatment [J]. Curr Pharm Des, 2002, 8(20): 1845-1853.
- [6] BETTIOL J, SELE J, HENKET M, et al. Cytokine production from sputum cells after allergenic challenge in IgE-mediated asthma [J]. Allergy, 2002, 57(12): 1145-1150.

收稿日期: 2011-11-16

FGF21对HepG2细胞TGF- β 信号通路的影响

江松敏, 蔡琳*, 朱婷婷, 施立华, 金岑, 夏清海(温州医学院药学院, 浙江 温州 325035)

摘要: 目的 研究 FGF21 对 TGF- β /Smads 信号通路中相关蛋白和 mRNA 表达的影响。方法 采用 Western blot 法检测 HepG2 cells 的 TGF- β 1, TGF- β R II, Smad 2, 3, 4, 7 的蛋白表达水平和采用 Q-PCR 方法检测 HepG2 cells 的 TGF- β 1, TGF- β R II, Smad 2, 3, 4, 7 的 mRNA 表达水平。结果 在不同 FGF21 浓度下, TGF- β 1, TGF- β R II, Smad 2, 3, 4, 7 蛋白和 mRNA 表达水平不同($P<0.05$)。结论 FGF21 通过促进 TGF- β 信号通路中的信号分子或受体的表达, 或者通过下调此信号通路的阻断分子而抑制肿瘤发生。

关键词: FGF21; HepG2 细胞; Smad

中图分类号: R965.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2012)08-0675-04

Effect of FGF21 in TGF- β Signaling Pathway of HepG2 Cells

JIANG Songmin, CAI Lin*, ZHU Tingting, SHI Lihua, JIN Qin, XIA Qinghai(School of Pharmacy, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the effects of FGF21 on relative proteins and mRNA expression involved in

基金项目: 浙江省教育厅科研项目(Y200907097)

作者简介: 江松敏, 男, 硕士生 Tel: 13958827005 E-mail: 314527759@qq.com *通信作者: 蔡琳, 女, 博士, 副教授 Tel: 15058323373 E-mail: cailin33@126.com