

• 综 述 •

双黄连注射液导致类过敏的物质基础及作用机理^{*}

韩依伦, 夏 恒, 段金连, 段为钢[△]

(云南中医药大学中医药学分子生物学重点实验室, 云南 昆明 650500)

摘要: 双黄连注射液由金银花、黄芩、连翘制备而成,可清热解毒、宣散风热,作用迅速,有良好的生物利用度,临床上治疗上呼吸道感染、肺炎、扁桃体炎等病症,均取得了良好的效果。近年中药注射剂所致不良反应显著增多,双黄连注射液所导致的不良反应总是排列在首位,其不良反应涉及人体多个系统和器官,如皮肤、消化系统、心血管等系统的损伤,严重者甚至会发生过敏性休克。目前双黄连注射液致敏原因尚存争议,本文从中医理论、物质基础、类过敏反应的机制等方面综述,对其导致类过敏的原因进行讨论,以求为增加双黄连注射液的安全性提供建议。

关键词: 双黄连注射液;类过敏反应;大分子;物质基础;作用机理

中图分类号: R286; R259 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2020)05-0090-08

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2020.05.016

Material Basis and Mechanism of Anaphylactoid Induced by Shuanghuanglian Injection

HAN Yilun, XIA Heng, DUAN Jinlian, DUAN Weigang

(Key Laboratory of Molecular Biology for Sinomedicine, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

ABSTRACT: Shuanghuanglian injection is a Chinese formula prepared from three Traditional Chinese Medicines (TCMs) including *Lonicera Japonica* (Jinyinhua), *Radix Scutellariae* (Huangqin) and *Fructus Forsythiae* (Lianqiao), which can clear heat and detoxify, disperse wind and heat, act quickly, have good bioavailability, and have good results in the treatment of upper respiratory tract infection, pneumonia, tonsillitis and other diseases. In recent years, the adverse reactions caused by traditional Chinese medicine injection have increased significantly, and the adverse reactions caused by Shuanghuanglian injection are always in the first place. the adverse reactions involve the injury of many systems and organs of the human body, such as skin, digestive system, cardiovascular system and so on. In severe cases, anaphylactic shock may even occur. At present, the cause of sensitization of Shuanghuanglian injection is still controversial. This article will review the theory of traditional Chinese medicine, the material basis, the mechanism of anaphylactoid and other aspects, and discuss the causes of anaphylactoid, in order to provide suggestions for increasing the safety of Shuanghuanglian injection.

KEY WORDS: Shuanghuanglian injection; anaphylactoid reaction; macromolecule; material basis; action mechanism

1 双黄连注射液导致过敏的中医理论

1.1 双黄连注射液导致过敏的中医病理病机 中医学中“正气”代表人体正常机能及所产生的各种维护健康的能力,“邪气”泛指各种致病因素,疾病发生发展过程中,邪气侵害和正气虚弱都必不可少。卫气作为正气的一部分,常护卫于皮肤表面抵抗外邪^[1]。人

体脏腑功能正常时,卫气对外固密,抵抗外邪。既然中药注射液可导致过敏反应,可以认为其中含有邪气并通过静脉注射、肌肉注射等人为手段,突破皮肤,跳过了卫气的部分防御功能,给予了外邪入侵的机会。

一般感染外邪,邪从皮毛而入,先中于卫,然后由卫入营,由营而入腑,由腑入脏,注射液中邪气跳

收稿日期: 2020-08-03

^{*} 基金项目: 国家自然科学基金项目(81560645);云南省中医药联合专项重点项目(编号:2017FF117-032)

第一作者简介: 韩依伦(1995-),男,在读硕士研究生,研究方向:中药注射剂安全性提高。

[△]通信作者: 段为钢, E-mail: deardwg@126.com

过卫,直接入营分,营主血脉,行于脉中,邪气侵犯血脉,外不得透达,内不得疏泄,郁闭肌腠,则皮肤瘙痒,皮疹生出,发生过敏^[2],简单来说,人体平时腠理较为密闭,可抵抗外邪入侵,当注射剂中的邪气人为的注射入肌表后,由于腠理较密,反而使外邪并无向外的出路,郁闭在肌表则就会导致皮肤过敏性疾病的发生,严重者,病邪向人体内部入侵,如从脏腑辨证的角度来看,病邪入心,则胸闷,心痛,入脾胃则腹泻呕吐,从温病学的角度来看,风邪侵袭腠理,入里化热,热入营血,血热妄行,溢于皮肤,导致患者斑疹隐隐,更有甚者,还会导致厥证的发生,如临床上突发的过敏性休克。

中医通常将治病的邪气分为外因,内因,不内外因。其中中药注射剂治病无疑是外因所致,而外邪六淫中又以风邪与皮肤类疾病的关系最为密切^[3],风邪主要具有以下特点:(1)风邪清扬开泄,易袭阳位,发病部位多在人体头面,肌表皮肤处。(2)风性善行而数变,即致病部位具有游移,行无定处的特点,且发病迅速,如风疹(荨麻疹)表现为皮肤瘙痒时作,疹块发无定处,时隐时现。(3)风为百病之长,风邪是侵袭人类致病最多的邪气,终岁常在,发病机会多,且易于其他邪气相互兼合,共同致病。风热侵袭腠理,风寒外侵,导致营卫不和。

当风邪侵入人体之后,会流行于各经腧穴,分散在肉份之间,阻塞人体的气道,与人体卫气相互纠缠,影响卫气的运行,从而导致过敏反应的发生。

综上,风邪致病的特点与双黄连注射液所导致不良反应十分接近,注射液中可能含有风邪等致病因素。

1.2 双黄连注射液中的致敏邪气的可能来源 双黄连注射液由金银花,连翘,黄芩组成,药性均偏于寒凉,中药注射液不同于传统给药方式,未经脾胃运化的作用,将具有偏性的药物注入到人体表面,药物是否会因为自身的寒凉等性质而导致人体过敏反应的发生。目前市场上中药注射液按照功效可分为清热类,活血类,补益类,肿瘤类,其中的药物性味多有不同,但目前市场上各种中药注射剂导致的不良反应几乎都是以皮疹,隐疹等皮肤症状为多^[4-5],显然药物自

身的性味并不是导致双黄连注射液过敏的必然原因。目前的中药注射液制备工艺还并不是很完善,制备的过程中还有不少杂质未去除,这有可能是导致中药注射液发生过敏的一种或多种邪气之一,且这些邪气很有可能主要以风邪为主。

综上所述,中药注射液中大分子杂质可能是以风邪为代表的邪气,将中药注射液注入人体,相当于人为将邪气引入人体,此时无关人体卫外正气强弱,邪气入体自然会引发人体一系列病症,根据其入侵程度及与体内正气交征情况,会导致人体一系列不同症状发生。

2 双黄连注射液导致的过敏反应的类型

2.1 I型过敏反应的机制和类过敏反应的机制 双黄连注射液所致不良反应发生迅速^[6-7],属速发型超敏反应,速发型超敏反应包括I型超敏反应和类过敏反应,多数药物所致过敏为前者,其过程分2个阶段,第一阶段抗原进入机体产生IgE抗体,抗体可专一性的与肥大细胞,嗜碱性粒细胞表面高亲和力受体结合,机体再次接触相同抗原时,细胞迅速活化释放各种活性介质,导致过敏反应的发生。而类过敏首次用药即可发生,不需IgE介导与提前致敏,但其机制目前尚未完全明确,可能与直接或间接刺激机体导致组胺等生物活性物质释放增加有关。

2.2 双黄连注射剂介导的是类过敏反应 因二者临床上的表现相似,并没明确证据表明双黄连注射剂导致的不良反应是I型过敏反应还是类过敏反应,但近年来越来越多的文献与研究表示,双黄连注射液的不不良反应都是发生在患者的首次用药,如杨燕妮等在144例双黄连注射液不良事件中发现其中有136例(94.44%)不良反应是在首次用药^[7]。唐春燕等发现广西壮族自治区ADR监测中心收集的818例双黄连注射剂不良反应中777例(94.99%)是发生在首次用药^[8],王丽娜等通过对66例双黄连注射液导致的过敏性休克进行分析,发现其中58例(87.88%)发生在首次用药^[9]。由此可发现双黄连注射剂所致的过敏反应不良的反应多数不需要提前致敏,一些实验也表明通过双黄连注射液致敏小鼠,并不会导致小鼠体内IgE抗体的产生,且其导致的过敏反应其程度会随着其剂

量的增加而增加^[9-10],由此可推断双黄连注射液的不
良反应为固有免疫引起的类过敏反应。

3 双黄连注射剂中的致敏物质基础

双黄连注射液成分复杂^[11],绿原酸、黄芩苷、连翘
苷是目前纳入双黄连注射液质量标准含量测定的 3
种主要成分,国内外对于双黄连注射液所致过敏反应
的研究都普遍集中在这 3 种物质上。但双黄连注射液
是植物提取物,提取时会带入植物中原生代谢物,如
蛋白质,核酸,鞣酸,多糖等内源性大分子及以脂多糖
为代表的来自药材中的污染性大分子,这些大分子杂
质很可能成为致敏原导致类过敏反应的发生^[12-13]。

3.1 双黄连中的小分子物质 有学者认为免疫原性
物质相对分子质量通常大于 1 万 KD,小于 5 000 KD
的物质免疫原性则很弱^[14]。绿原酸等小分子物质作为
许多中药注射剂中有效成分是否具有致敏性,目前尚
存争议。

有学者认为绿原酸等小分子属于半抗原,可与人
体内蛋白质相结合,形成半抗原-载体复合物,并导致
机体 I 型超敏反应^[15],有研究发现将绿原酸和绿原酸
完全抗原直接刺激肥大细胞模型 RBL-2H3 细胞并
不会引起肥大细胞脱颗粒,而将 RBL-2H3 细胞与绿
原酸或双黄连致敏血清共孵育致敏后,可引起脱颗粒
发生^[16]。帅维维进行比较绿原酸和体外血清外孵后的
绿原酸对 BN 大鼠的致敏性差异,结果发现绿原酸进
入体内后可与血清蛋白结合形成复合物而产生免疫
原性^[17]。汪芳等采用 RBL-2H3 细胞模型,分别用双黄
连注射液、黄芩苷、连翘酯苷 A、绿原酸等处理细胞,
结果发现双黄连注射液、绿原酸及隐绿原酸能直接引
起 RBL-2H3 细胞脱颗粒,并能显著提高细胞内 β -氨
基己糖苷酶和 5-羟色胺的释放^[18]。

也有观点认为小分子物质不会导致过敏反应
的发生,如有学者对 BN 大鼠进行绿原酸被动皮肤过敏
(PCA)和主动全身过敏(ASA)实验,结果发现绿原酸
没有明显的致敏性^[19]。冯宇飞通过体内、外实验观
察双黄连针剂中绿原酸,黄芩苷,连翘苷对肥大细
胞脱颗粒及组胺,类胰蛋白酶的释放作用,发现这 3
种成分均不能引起类过敏反应^[20],也有文献表明高浓
度绿原酸并不会导致过敏,而其提取物中大分子物质

才会致敏^[21]。综上,小分子致敏理论难以统一及证实,
由此可推测是一些非小分子的被我们忽视的某些物
质在起作用。

3.2 双黄连中的大分子物质

3.2.1 大分子物质的来源分析 双黄连注射液作为
生物提取物,其中的来源可能如下:

(1)直接来源:来自植物的原生代谢物,如蛋白
质、缩合鞣质、核酸、多糖、树脂等,这些都是中草药生
长的必需物质或分泌物,属于内源性大分子;另一部
分则来自药材污染如细菌脂多糖、蛋白质^[22]等,可归
为外源性大分子^[23]。

(2)间接来源:双黄连注射液由“水醇法”制备,原
料药经过煮沸,酒精沉淀,杀菌等一系列工序,如加热
提取工艺,溶剂中一些成分可能发生氧化聚合,导致
缩合鞣质的形成。

3.2.2 大分子物质的致敏性 这些大分子中蛋白质、
核酸等可被机体的相应酶降解;多糖和脂多糖虽然可
被网状内皮系统吞噬,或因其水溶性,直接排出体外,
但并不完全;而缩合鞣质等聚合物缺乏相应的降解
酶,很难降解。

药剂颜色可以在一定程度上反映药物的质量,颜
色越深则说明其成分越复杂,通过分子筛技术去除双
黄连注射液中的大分子杂质,可改善其外观质量,且
对主要疗效和物质基础影响甚微,如通过对家兔进行
降温实验,去除大分子物质的注射液其解热作用并不
会降低^[24],经超滤管过滤大分子后,注射液安全性提
高,指纹图谱并无明显变化^[25]。这说明双黄连注射液
中的大分子物质的存在本身是无用甚至是有害的,很
可能是导致过敏反应的物质基础之一。

Lyaton 认为大分子物质才是真正的致敏物质,绿
原酸及其同分异构体广泛的存在于高等植物中,如果
绿原酸会导致过敏反应,那么对于人类的健康将是一
大威胁^[26]。冯文宇等用金银花精、粗提取物注射液对
豚鼠进行主动全身过敏试验,结果发现只有粗提取物
才出现阳性反应,并与注射液中含有蛋白质、树脂、鞣
质等杂质有关^[27]。也有学者通过 RBL-2H3 细胞脱
颗粒模型和 BN 大鼠进行体内、外实验,发现天然药物
注射剂中绿原酸、连翘苷等小分子化合物不能诱导

RBL-2H3 释放组胺和 β -氨基己糖苷酶。而大于 10 kDa 的蛋白质和鞣酸才是主要类过敏成分,且组胺水平会随着试剂的浓度的增加而增加^[27],而其另一项研究也表明在鼻塞通中药注射液中,大于 10kDa 的分子可以诱导类过敏反应的发生^[28]。另一方面,也有研究提出当双黄连注射剂长期放置后,其中的不溶性微粒的增加也导致类过敏反应发生率的上升^[29]。

3.3 大分子物质才是影响双黄连注射剂安全性的主要因素 综上所述,小分子物质与蛋白质结合产生的完全抗原确实会导致类过敏反应的发生,但无证据表明小分子以半抗原形式存在,与机体内血清蛋白结合,形成复合物而致敏,对于小分子致敏性的研究,运用的方法也主要是集中于单体成分或仅注射剂成品的致敏性模型的体内外生物学研究^[17,30],目前的研究方法和手段较为单一,对于单体成分和注射剂成品间的内在关联性和可溯源性不强,而双黄连中的化学成分复杂,具有多靶点的复杂性,各成分间相互作用在体内的反应机制更是难以明确,如有研究通过 HPLC 过滤热毒宁注射液,发现虽然绿原酸会导致过敏,但在未过滤的热毒宁中检测到明显的致敏作用,而超滤的热毒宁没有表现出明显的致敏作用,这表明绿原酸和隐绿原酸作为单独的化合物和混合溶液中的一个组分的致敏作用存在显著差异^[31],所以小分子致敏只是一种潜在性的因素。且中药煎煮剂与双黄连口服剂很少有过敏反应报道,若小分子物质可自发的变成半抗原,就意味着口服也会出现同样的过敏反应,但实际上,通过口服双黄连而导致的过敏反应少有发生,很可能是口服药物时其中大分子物质受到消化道或受到首过效应的影响,变成了小分子,减弱了其致敏性,而静脉注射并不会导致大分子物质的消除。综上,大分子物质很可能是导致双黄连注射液类过敏反应发生的主要原因。

4 双黄连注射剂引起类过敏反应的可能机制

类过敏属固有免疫范畴,且双黄连注射液具有植物提取物特征,其类过敏反应很有可能由病原相关分子模式(PAMP)所激发,PAMP 指某些病原体具有非特异性,高度保守且病原体生存和致病性必要的分子结构,可被固有免疫细胞的模式识别受体(PRR)所识

别。双黄连注射液中含有多种大分子物质,包括核酸、蛋白质、多糖、缩合鞣质等,且中药药材也可能存在细菌、真菌的感染,两者的细胞壁和细胞成分均含有病原相关分子模式,目前市面上的中药注射剂制备过程中并没有将大分子去除的工艺,这些物质很可能作为杂质被带入到中药注射剂成品中。因此双黄连引起的不良反应很可能是由固有免疫中的病原相关分子模式激发的。

4.1 双黄连注射液病原相关分子模式中可能的信号通路 模式识别受体(PRR)是一类表达于固有免疫细胞表面,溶酶体,细胞质中可识别 PAMP/DAMP 的识别分子,与 PAMP/DAMP 结合后,可迅速激活效应细胞,产生快速的生物学反应。

Toll 样受体 (TLRs):TLRs 可以识别病原微生物的高保守结构基序,如脂类,蛋白,核酸类的 PAMP,也可识别炎症或组织损伤时产生的 DAMP,当 TLR 通过识别 PAMP 可以激活 NF- κ B 等转录因子,引起多种细胞因子和趋化因子的合成和分泌,诱发炎症反应并介导巨噬细胞和中性粒细胞向炎症部位浸润^[32]。

甘露糖受体:主要表达于巨噬细胞表面,可识别并结合微生物细胞壁糖蛋白和糖脂组分中的末端甘露糖和岩藻糖残基,由此而介导巨噬细胞的吞噬作用。

清道夫受体:主要表达于巨噬细胞表面,可识别氧化的低密度脂蛋白,革兰氏阳性菌 LTA,革兰氏阴性菌 LPS 和完整的细菌 PAMP。

NOD 样受体(NLR):主要分布在细胞质中,由 3 个结构域构成,C 端 LRR 可以识别并结合细胞质中 PAMP 和 DAMP,中间 NOD 结构可促使 NLR 分子互相聚合,改变构型,N 端效应结构域则向下游传递信号,一旦 LRR 识别受体,则会解除 NOD 结构域寡聚化的抑制,暴露出效应结构域,诱导下游复合物形成。一些 NLR 通过招募和激活炎性半胱氨酸蛋白酶进入炎症小体来发挥作用,而另一些则通过其他途径触发炎症,包括核因子- κ B、丝裂原活化蛋白激酶和调节因子途径^[33-34]。

NLRP 亚家族及炎症小体:NLRP 是 NLR 最大的亚家族,其中以 NLRP3 为代表,其主要表达于巨噬细

胞、外周血白细胞中,受到核酸,细菌代谢物等不同的 PAMP 和 DAMP 刺激后,可通过 PYD-PYD 相互作用募集凋亡相关微粒蛋白(ASC)接头分子,形成含有 NLRP3,ASC,Cardinal 和 caspase-1 的炎症小体,ASC 通过 CARD-CARD 相互作用募集产生 caspase-1,裂解 pro-IL-1 β 和 pro-IL-18,产生炎性细胞因子 IL-1 β 和 IL-18^[35]。目前已鉴定的炎症小体为 NLRP1 炎症小体,NLRP3 炎症小体,IPAF 炎症小体,AIM2 炎症小体,均含有 ASC,caspase 蛋白酶以及 NLR 家族蛋白或 HIN200 家族蛋白,并最终激活 caspase-1,激活炎症反应细胞因子。

RIG-I 样受体(RLR)家族:RLR 存在于绝大多数的组织细胞中,可以识别细胞质内的 RNA 病毒,目前已知的 RLR 有视黄酸诱导基因 I (RIG-I)、黑色素瘤分化相关抗原 5、遗传学和生理学实验室蛋白 2 (LGP2),其中 RIG-I 主要识别 5' 端带有三磷酸基团的 RNA 和短的 dsRNA,MDA-5 可识别较长的 dsRNA 病毒,而 LGP2 具有负向调节 RIG-I 的功能,可以阻碍 RIG-I 识别病毒。当 RLR 被病毒激活后,可通过下游信号级联,从而诱导 I 型干扰素和促炎细胞因子的产生^[36-37]。

DNA 识别受体家族:这些受体在许多组织,淋巴细胞,巨噬细胞中都高度表达,DNA 依赖的干扰素调节因子激活物(DAI)可以直接结合双链 DNA,诱导 I 型干扰素的产生,但其与 DNA 的序列并无关系,且小于 100 bp 的 DNA 也几乎没有激活作用;黑色素瘤缺失因子 2(AIM2)介导半胱氨酸蛋白酶-1 对细胞质双链 DNA 的激活,AIM2 在胞浆中表达,随着半胱氨酸蛋白酶-1 的募集和激活会导致 AIM2 炎症小体的形成,进而诱导促炎性细胞因子的分泌,DNA 依赖性 RNA 聚合酶 III (Pol III)也可以介导胞质 DNA 的识别并诱导 IFN- β ,最终激活固有免疫应答,清除病毒^[38]。

4.2 损伤的主要方式

4.2.1 直接刺激肥大细胞和嗜碱性粒细胞 肥大细胞与嗜碱性粒细胞细胞质内都含有大量的嗜碱性颗粒,受致敏原刺激后,释放预储存的介质,产生脱颗粒作用,释放如组胺、蛋白酶等生物活性介质进入细胞外液,导致血管通透性增加、平滑肌收缩和黏液腺分泌

增多等过敏样症状。常见的是过敏反应是 IgE 介导的,而在非 IgE 依赖途径中,补体片段 C3a,细胞因子,病原体相关分子模式等都可直接刺激肥大细胞脱颗粒^[39-40],通过静脉注射,在外周血液中循环的大分子变应原也可以直接激活血管周围的肥大细胞,可迅速有效地引发过敏反应^[41]。如有实验证明,中药注射液可通过直接刺激小鼠肥大细胞脱颗粒释放内源性组胺,从而导致类过敏反应^[42]。其作用途径与 IgE 介导的“经典途径”不同,并非通过传统免疫性反应的受体 Fc ϵ R I 启动信号转导,在肥大细胞的表面存在着多种受体,促使肥大细胞脱颗粒有 2 个至关重要的事件,一是胞质内钙离子浓度的升高^[43],如另一个则是蛋白激酶 C(PKC)的激活,大量的 G 蛋白偶联受体存在于肥大细胞表面,非免疫性介导的致敏原能够绕过传统的受体直接激活 G 蛋白传递信号,引起肥大细胞的脱颗粒,在接受到不同的激活方式后肥大细胞会脱颗粒并释放过敏介质或炎性因子,如近年来发现肥大细胞上有一种 G 蛋白偶联受体(MRGPRX2)被非免疫性的致敏原激活后可引起肥大细胞内钙离子浓度升高,进而导致肥大细胞的脱颗粒,通过抑制 MRGPRX2 激活,可减弱类过敏反应^[44],且对 MRGPRX2 基因敲除的肥大细胞模型及小鼠进行体内外的过敏试验后,发现肥大细胞的脱颗粒能力明显降低^[45-46]。

4.2.2 激活补体系统途径 补体是固有免疫中一类可溶性模式识别分子,广泛参与机体抗微生物防御反应以及免疫调节,当补体被激活时,会产生酶促级联反应,继而产生大量活化的酶分子,过度激活可引起肥大细胞脱颗粒,产生炎症介质,发生类过敏反应^[47]。

补体的 3 条活化途径:

(1)经典途径:是抗原抗体复合物结合 C1q 所启动的活化途径,免疫复合物作为其主要激活物质,是适应性免疫应答的主要效应机制之一,类过敏反应较少涉及。

(2)旁路系统:不依赖于抗原抗体复合物,越过 C1,C2,C4 直接从 C3 开始激活完成一系列的级联反应,B 因子与病原微生物表面的 C3b 结合为 C3bB,在 D 因子和备解素参与下,形成 C3 转化酶 (C3bBb 或

C3bBbP),并通过 C3 正反馈放大环路,产生更多 C3 转化酶和 C3b,形成 C5 转化酶(C3bBbC3b 或 C3bnBb)。

(3)MBL 途径:由 MBL 通过糖识别区(CRD)识别病原微生物表面的糖结构,活化 MBL 相关丝氨酸蛋白酶-1,直接裂解 C3 形成 C3 转化酶(C3bBb),参与并加强旁路途径。MBL 途径和旁路途径都是由病原微生物激活,这两种途径在双黄连注射剂所导致的类过敏反应中可能起到关键的作用。

3 条途径的共同点在于最终形成 C3 转化酶,释放 C3a,C5a 过敏毒素。二者是具有炎症介质作用的活性片段,可与肥大细胞或嗜碱性粒细胞表面的 C3aR 和 C5aR 结合,使细胞脱颗粒,发生类过敏反应。已有实验证明通过抑制 C3a,C5a 可以明显降低双黄连类过敏反应程度^[48]。

检测指标:补体系统最终产生 C5b-9 可与玻璃连接蛋白形成无活性复合体 SC5b-9,是补体系统 3 条途径共同产物,可以直接测定其来观察补体系统的激活情况,如有实验表明生脉及参麦注射液可以激活补体系统,导致 SC5b-9 的含量升高^[49-50],并引发类过敏反应;不同的途径中也有一些具有特征性的产物,补体因子 C4d 是补体经典途径的产物,由 C4 裂解产生,可持久存在,是经典途径的代表性指标;旁路途径中,Bb 由 B 因子裂解而来,是旁路途径别于其余 2 条路径的代表性指标,也有实验表明人血清与吐温 80 孵育,可使 Bb 因子释放量增加,并推测类过敏可能与旁路途径有关^[51]。

4.2.3 凝血系统与激肽系统 血浆中的凝血系统,激肽系统,与补体系统具有共同的激活物,如脂多糖等可以激活凝血因子 XII(FXII),进而活化凝血,激肽系统。

FXII 可启动内源性凝血级联反应并产生纤维蛋白多肽和凝血酶,前者可引起血管通透性的增加及白细胞的趋化,后者可以识别肥大细胞表面的蛋白激酶受体-1,3,4 激活信号转导通路,促使肥大细胞释放多种活性物质,FXII 还可触发促炎激肽释放系统,导致血管扩张剂缓激肽的释放,促使肥大细胞脱颗粒^[52-53]。

对于凝血途径和激肽系统,其代表性指标尚需深入研究,但可根据机体发生类过敏反应后纤溶蛋白及机体的异常变化来判断其是否参与,如血液粘稠度^[54]。

5 展望

中药注射剂作为中医药与现代科技结合的产物,起效十分迅速,也便于贮存携带,具有很好的临床应用价值,尽管目前会导致不良反应的发生,但不能因噎废食,无论是从传统中医学的角度还是现代医学的角度来看,去除双黄连注射液中的邪气,提高其安全性问题,才是首要问题。中药注射液中具有多种大分子杂质,结合本课题组的前期研究^[55],通过分子筛技术将这些大分子去除,其主要疗效并不会降低,且可以提高中药注射剂的外观质量及稳定性,在一定程度上提高其安全性,降低不良反应的发生^[25]。并且我们推测双黄连注射液所致的类过敏反应的机制,很有可能是因为其中的大分子杂质激活了人体的病原相关分子模式(PAMP)或损伤相关分子模式(DAMP)所致,目前尚需对此做出进一步的研究。

参考文献:

- [1] 周东浩,夏菲菲,刘震超,等.《黄帝内经》卫气防御作用特性概览[J]. 中国中医基础医学杂志,2019,25(5):573-574.
- [2] 陶飞翔,刘冰梅. 治荨麻疹当分内风外风[J]. 中国民间疗法,2020,28(4):11-12.
- [3] 王倩,蔡念宁,周冬梅,等. 运用赵炳南经验从寒热辨治荨麻疹探析[J]. 北京中医药,2020,39(4):348-350.
- [4] 王茜. 中药注射液不良反应 213 例分析[J]. 临床合理用药杂志,2019,12(19):13-14.
- [5] 杨荣英. 五种常用中药注射液的不良反应分析[J]. 海峡药学,2017,29(1):209-211.
- [6] 王丽娜. 双黄连注射剂致过敏性休克 66 例文献分析[J]. 中国医院用药评价与分析,2010,10(4):368-370.
- [7] 杨燕妮,冯雪梅,何海明,等. 144 例双黄连注射剂不良反应/事件报告分析[J]. 广东药学院学报,2014,30(2):210-213.
- [8] 唐春燕,曾立威,林昊,等. 广西 2009 年双黄连注射剂不良反应/不良事件报告分析[J]. 中国药房,2010,21(16):

- 1501-1504.
- [9] HAN J,ZHAO Y,ZHANG Y,et al. RhoA/ROCK Signaling pathway mediates Shuanghuanglian Injection -induced pseudo-allergic reactions[J]. *Front Pharmacol*,2018,9:87.
- [10] 李彦林. 双黄连注射液致敏反应特征及致敏标志物研究[D]. 北京:北京协和医学院,2016.
- [11] 卞婷婷,安益强,汤道权,等. HPLC 法同时测定双黄连冻干粉中 11 个成分的含量 [J]. *药物分析杂志*,2012,32(1):52-56.
- [12] 殷华,柯瑾,段为钢. 中药注射剂大分子物质是活性成分还是杂质?[J]. *医学争鸣*,2018,9(2):26-30.
- [13] 殷华,李月,司季青,等. 4 种中药注射剂大分子富集液的重复给药毒性实验研究 [J]. *云南中医学院学报*,2017,40(4):14-20.
- [14] 袁丽燕,刘屏,胡园,等. 不同偶联率绿原酸全抗原的免疫原性研究 [J]. *中国中药杂志*,2010,35(20):2756-2759.
- [15] 何洲,屈会化,王雪茜,等. 绿原酸作为半抗原的致敏性研究[J]. *北京中医药大学学报*,2010,33(10):667-669.
- [16] 彭博,贺蓉,徐启华,等. RBL-2H3 和 P815 细胞用于建立体外肥大细胞脱颗粒模型比较研究(英文)[J]. *中国天然药物*,2011,9(3):227-231.
- [17] 帅维维,朱丹凤,蒋宝平,等. 绿原酸对 BN 大鼠的致敏性研究[J]. *时珍国医国药*,2019,30(7):1566-1568.
- [18] 汪芳,李存玉,郑云枫,等. 双黄连注射液中 8 种主要成分对 RBL-2H3 细胞的影响 [J]. *中成药*,2016,38(7):1615-1617.
- [19] 李恒华,罗超利,黄崇刚,等. 绿原酸的致敏作用研究[J]. *中国药房*,2015,26(13):1766-1769.
- [20] 冯宇飞,井中旭,王艳宏,等. 双黄连粉针 3 种主要有效成分致动物类过敏性实验研究[J]. *中医药学报*,2014,42(2):33-36.
- [21] 冯文字,刘明华,肖顺汉,等. 金银花精提取物与粗提取物注射液的主动全身过敏试验研究 [J]. *时珍国医国药*,2008,19(12):2847-2848.
- [22] 段金连,李月,张路梅,等. 中药注射剂中药材的微生物污染(英文)[J]. *云南中医学院学报*,2019,42(4):1-8.
- [23] 云宇,王蕾,段为钢. 从机体处理物质的方式认识代谢和免疫的一致性[J]. *医学争鸣*,2017,8(1):24-27.
- [24] 柯瑾,张陆勇,殷华,等. 大分子物质对中药注射剂的安
全性影响[J]. *中成药*,2014,36(4):855-859.
- [25] 李月,段金连,白雯,等. 大分子物质对中药注射剂外观颜色的影响[J]. *中医药导报*,2018,24(23):43-48.
- [26] LAYTON L L,PANZANI R,CORTESE T A. Coffee -reaginic human sera tested in human volunteers and macaque monkeys. Absence of reactions to chlorogenic acid [J]. *Int Arch Allergy Appl Immunol*,1968,33(5):417-427.
- [27] XU Y,LIU C,DOU D,et al. Evaluation of anaphylactoid constituents in vitro and in vivo [J]. *Int Immunopharmacol*,2017,43:79-84.
- [28] XU Y,DOU D,RAN X,et al. Integrative analysis of proteomics and metabolomics of anaphylactoid reaction induced by Xuesaitong injection [J]. *J Chromatogr A*,2015,1416:103-111.
- [29] 易艳,梁爱华,李春英,等. 溶媒及配制后存放时间对注射用双黄连类过敏反应的影响 [J]. *中国中药杂志*,2015,40(14):2723-2726.
- [30] 胡宗苗,张恩户,刘继平,等. 双黄连注射剂中连翘酯苷 A 致敏家兔后血清中特异性抗体的测定 [J]. *中成药*,2016,38(9):2045-2048.
- [31] WANG F,LI C Y,ZHENG Y F,et al. Identification of the allergenic ingredients in Reduning Injection by ultrafiltration and high-performance liquid chromatography [J]. *J Immunol Res*,2016,2016:4895672.
- [32] TAGHAVI M,KHOSRAVI A,MORTAZ E,et al. Role of pathogen-associated molecular patterns (PAMPS)in immune responses to fungal infections[J]. *Eur J Pharmacol*,2017,808:8-13.
- [33] ZHONG Y,KINIO A,SALEH M. Functions of NOD-like receptors in human diseases[J]. *Front Immunol*,2013,4:333.
- [34] MEUNIER E,BROZ P. Evolutionary convergence and divergence in NLR function and structure [J]. *Trends Immunol*,2017,38(10):744-757.
- [35] MANGAN M S J,OLHAVA E J,ROUSH W R,et al. Targeting the NLRP3 inflammasome in inflammatory diseases[J]. *Nat Rev Drug Discov*,2018,17(9):688.
- [36] EISENACHER K,KRUG A. Regulation of RLR-mediated innate immune signaling--it is all about keeping the

- balance[J]. *Eur J Cell Biol*, 2012, 91(1): 36–47.
- [37] MATSUMIYA T, IMAIZUMI T, YOSHIDA H, et al. Antiviral signaling through retinoic acid-inducible gene-I-like receptors [J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2011, 59(1): 41–48.
- [38] VILAYSANE A, MURUVE D A. The innate immune response to DNA [J]. *Semin Immunol*, 2009, 21 (4): 208–214.
- [39] SZE BENI J, MUGGIA F, GABIZON A, et al. Activation of complement by therapeutic liposomes and other lipid excipient-based therapeutic products: prediction and prevention [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2011, 63 (12): 1020–1030.
- [40] MCNEIL B D, PUNDIR P, MEEKER S, et al. Identification of a mast-cell-specific receptor crucial for pseudo-allergic drug reactions [J]. *Nature*, 2015, 519 (7542): 237–241.
- [41] LIHUA L, YOSHIKAWA S, OHTA T, et al. Large particulate allergens can elicit mast cell-mediated anaphylaxis without exit from blood vessels as efficiently as do small soluble allergens [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 467(1): 70–75.
- [42] 潘卫松, 刘肃, 符路娣, 等. 中药注射剂降压物质检查结果与类过敏反应的相关性研究 [J]. *药物分析杂志*, 2015, 35(8): 1346–1353.
- [43] 韩森, 李城, 魏佩煌, 等. 注射用双黄连诱发肥大细胞脱颗粒的早期生物学效应 [J]. *环球中医药*, 2018, 11(6): 842–845.
- [44] DING Y, CHE D, LI C, et al. Quercetin inhibits Mrg-prx2-induced pseudo-allergic reaction via PLC γ -IP3R related Ca²⁺ fluctuations [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 66: 185–197.
- [45] ZHANG T, CHE D, LIU R, et al. Typical antimicrobials induce mast cell degranulation and anaphylactoid reactions via MRGPRX2 and its murine homologue MRG-PRB2[J]. *Eur J Immunol*, 2017, 47(11): 1949–1958.
- [46] SUBRAMANIAN H, GUPTA K, ALI H. Roles of Mas-related G protein-coupled receptor X2 on mast cell-mediated host defense, pseudoallergic drug reactions, and chronic inflammatory diseases [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2016, 138(3): 700–710.
- [47] QIU S, LIU Z, HOU L, et al. Complement activation associated with polysorbate 80 in beagle dogs [J]. *Int Immunopharmacol*, 2013, 15(1): 144–149.
- [48] GAO Y, HOU R, HAN Y, et al. Shuang-Huang-Lian injection induces an immediate hypersensitivity reaction via C5a but not IgE[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 3572.
- [49] WEISZHAR Z, CZUCZ J, REVESZ C, et al. Complement activation by polyethoxylated pharmaceutical surfactants: Cremophor-EL, Tween-80 and Tween-20 [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2012, 45(4): 492–498.
- [50] 刘雪莹, 刘春琰, 徐煜彬, 等. 生脉及参麦注射液对人血清补体系统类过敏评价[J]. *辽宁中医杂志*, 2017, 44(3): 571–573.
- [51] 张嘉, 李贻奎, 李连达, 等. 补体系统激活在吐温 80 导致类过敏反应中的作用 [J]. *毒理学杂志*, 2009, 23(6): 457–459.
- [52] BENDER L, WEIDMANN H, ROSE-JOHN S, et al. Factor XII-driven inflammatory reactions with implications for anaphylaxis[J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1115.
- [53] CORBIER A, LE BERRE N, RAMPE D, et al. Oversulfated chondroitin sulfate and OSCS-contaminated heparin cause dose- and route-dependent hemodynamic effects in the rat[J]. *Toxicol Sci*, 2011, 121(2): 417–427.
- [54] 徐煜彬, 窦德强. 中药注射剂类过敏研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2015, 40(14): 2765–2773.
- [55] 云宇, 侯肖霖, 殷华, 等. 4 种去大分子中药注射剂的稳定性研究[J]. *云南中医学院学报*, 2016, 39(4): 20–25.