

57-63.

[22] Liu J, Lu Y F, Li W K, *et al.* Mercury sulfides are much less nephrotoxic than mercury chloride and methylmercury in mice [J]. *Toxicol Lett*, 2016, 262: 153-160.

[23] Dong W, Liu J, Wei L X, *et al.* Developmental toxicity from exposure to various forms of mercury compounds in medaka fish (*Oryzias latipes*) embryos[J]. *Peer J*, 2016, 4: e2282.

[24] Carranza-Rosales P, Said-Fernandez S, Sepulveda-Saavedra J, *et al.* Morphologic and functional alterations induced by low doses of mercuric chloride in the kidney OK cell line; ultra-structural evidence for an apoptotic mechanism of damage[J]. *Toxicology*, 2005, 210(2-3): 111-121.

[25] 孟祥东, 严云勤. BCL-2 家族与线粒体对细胞凋亡的调控 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2005, 21(S1): S77-S79.

[26] Ormerod M G, O’ neill C F, Robertson D, *et al.* Cisplatin induces apoptosis in a human ovarian carcinoma cell line without concomitant internucleosomal degradation of DNA[J]. *Exp Cell Res*, 1994, 211(2): 231-237.

[27] Kiefer M C, Brauer M J, Powers V C, *et al.* Modulation of apoptosis by the widely distributed Bcl-2 homologue Bak[J]. *Nature*, 1995, 374(6524): 736-739.

[28] Munoz L E, van Bavel C, Franz S, *et al.* Apoptosis in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus[J]. *Lupus*, 2008, 17(5): 371-375.

[29] Nagata S. Fas ligand-induced apoptosis [J]. *Annu Rev Genet*, 1999, 33: 29-55.

大鼠皮肤类过敏试验的组织学机制

黄怡文, 谢家骏*, 杨艺帆, 陈 锰, 宋艳荣
(上海中医药大学药物安全评价研究中心, 上海 201203)

摘要: **目的** 探索大鼠皮肤类过敏试验的组织学机制。**方法** 大鼠背部脊柱两侧分别皮内注射 C48/80、吐温-80、碘海醇注射液、紫杉醇注射液、注射用血塞通 (冻干)、喜炎平注射液后, 立即尾静脉注射 0.5% 伊文思蓝溶液, 15 min 后麻醉处死, 剪取背部皮肤, 测量蓝斑直径, 取蓝斑皮肤观察肥大细胞形态, 计算脱颗粒率。再采用 Pearson 检验进行相关性分析。**结果** 皮内注射 C48/80、吐温-80、碘海醇注射液、紫杉醇注射液、注射用血塞通 (冻干) 后, 蓝斑直径、肥大细胞脱颗粒率与药物质量浓度 (体积分数) 均呈正相关, 两者之间亦然, 但肥大细胞数均无明显变化 [除 0.8、1.6 mg/mL 注射用血塞通 (冻干) 外]; 皮内注射喜炎平注射液后, 蓝斑直径、肥大细胞数、脱颗粒率均无明显变化 (除质量浓度 5 mg/mL 时蓝斑直径外)。**结论** 大鼠皮肤类过敏试验组织学机制是类过敏阳性物质致皮肤肥大细胞脱颗粒, 其脱颗粒率与阳性物质浓度、皮肤蓝斑直径呈高度正相关, 可作为药物类过敏性及其反应强度评判的一项补充指标。

关键词: 大鼠皮肤类过敏试验; 组织学机制; 肥大细胞

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2019)03-0548-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2019.03.013

Histological mechanisms for rat skin anaphylactoid test

HUANG Yi-wen, XIE Jia-jun*, YANG Yi-fan, CHEN Meng, SONG Yan-rong
(Research Center for Drug Safety Evaluation, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

KEY WORDS: rat skin anaphylactoid test; histological mechanisms; mast cells

研究表明, 在中药注射液静脉注射产生的不良反应中, 类过敏反应居多^[1-2], 它主要通过直接刺激肥大细胞^[3-5]、激活补体^[6-8]等途径致肥大细胞脱颗粒, 并释放组胺等多种活性介质, 进而引发毛细血管扩张、腺体分泌增加、平滑肌收缩等一系列病理变化, 导致皮肤、呼吸道、消化道、甚至全身

收稿日期: 2018-11-20
基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项 (2011ZX09301-009)
作者简介: 黄怡文 (1983—), 女, 实验师, 从事中药毒理学研究与安全性评价。Tel: (021) 51322402, E-mail: hyw@shutcm.edu.cn
* 通信作者: 谢家骏 (1959—), 男, 研究员, 硕士生导师, 从事中药药理毒理学研究与中药新药开发。Tel: (021) 51322395, E-mail: xiejj001@163.com

发生过敏样反应^[9]。目前,检测类过敏的方法有体外细胞、皮肤组织、整体动物试验,其中大鼠皮肤类过敏试验是较常用的评价方法^[10],它不仅具备在体动物试验的属性,而且相对于动物全身类过敏试验具有操作简便、敏感性高、重复性好的特点。为了提高该方法在评定药物类过敏性时的准确性,并克服因受试药物而造成评定结果的假阳性,课题组前期对该方法评定标准进行了研究^[11-12],本实验在此基础上主要从形态学角度出发,对大鼠皮肤类过敏试验的组织学机制进行探索,并就肥大细胞脱颗粒率作为补充指标的可行性进行分析。

1 材料

1.1 动物 清洁级 SD 大鼠,雄性,体质量 250~300 g,购自上海斯莱克实验动物有限公司,生产许可证号 SCXK (沪) 2012-0002,于上海中医药大学实验动物中心清洁级饲养室饲养。大鼠实验期间自由饮水摄食,室内温度 22~25 ℃,相对湿度 45%~70%。

1.2 试药 Compound 48/80 (*N*-甲基-对甲氧基苯乙胺和甲醛缩合产生的聚合物,简称 C48/80,美国 Sigma 公司,批号 086M4 041 V);吐温-80 (聚氧乙烯脱水山梨醇单油酸酯,美国 Fluka 公司,批号 BCBF4 913 V);碘海醇注射液 (扬子江药业集团有限公司,批号 17102561);喜炎平注射液 (江西青峰药业有限公司,批号 2016031003);注射用血塞通 (冻干) (哈尔滨珍宝制药有限公司,批号 F7 070 46a 4);紫杉醇注射液 (北京双鹭药业股份有限公司,批号 20170501)。伊文思蓝 (批号 W20111101)、甲醛 (批号 20161221)、二甲苯 (批号 20140111)、无水乙醇 (批号 20160920)、75% 乙醇 (批号 20150915)、95% 乙醇 (批号 20160612)、甲苯胺蓝 (批号 20161121)、冰醋酸 (批号 20160912) (国药集团化学试剂有限公司);石蜡 (德国 Microm 公司,批号 385243)。

1.3 仪器 全封闭组织脱水机 (VIP-5 型,日本樱花公司);石蜡包埋机 (HistoStar 型,美国

Thermo 公司);全自动染色机 (HMS70 型)、轮转式组织切片机 (HM340E 型) (德国 Microm 公司);双人共览生物显微镜 (BX43 型)、图像拍摄系统 (日本 Olympus 公司)。

2 方法

2.1 分组及给药 30 只大鼠随机分为 5 组,每组 6 只,称定质量后 25% 乌拉坦 (4 mL/kg) 麻醉,背部剃毛 5 cm×8 cm,脊柱两侧皮内注射 (给药位置轮转) 生理盐水 (阴性生理盐水组)、C48/80 (0.062 5、0.25、1、4、16 μg/mL)、吐温-80 (0.5%、1%、2%、4%、8%)、碘海醇注射液 (5.5、21.9、87.5、350 mg/mL)、紫杉醇注射液 (0.75、1.5、3、6 mg/mL)、血栓通注射液 (0.4、0.8、1.6、3.2 mg/mL)、喜炎平注射液 (2.5、5、10、20 mg/mL),50 μL/点,然后立即尾静脉注射 0.5% 伊文思蓝染液 0.5 mL/100 g,15 min 后剪取背部皮肤,测量皮肤内侧蓝斑直径,蓝斑直径>0.5 cm 为类过敏反应阳性。

2.2 蓝染皮肤组织形态学研究 将注射部位皮肤放入 10% 甲醛固定液中固定 48 h 以上,取中心位置约 1 cm×0.5 cm 大小皮肤组织,常规脱水、浸蜡、包埋,切片,二甲苯脱蜡,梯度乙醇置水,甲苯胺蓝染色后封片,显微镜观察肥大细胞形态变化及脱颗粒程度。每只大鼠连续随机计数 5 个高倍视野 (×200) 内肥大细胞总数及脱颗粒数,计算脱颗粒率 (肥大细胞脱颗粒数/肥大细胞总数×100%),并对其与给药浓度质量或蓝斑直径进行相关性分析。

2.3 统计学分析 通过 SPSS 21.0 软件进行处理,计量资料采用 ($\bar{x}\pm s$) 表示,多组间比较采用单因素方差分析,相关性分析采用 Pearson 检验。 $P<0.05$ 表示有显著性差异。

3 结果

3.1 C48/80 对大鼠皮肤蓝斑直径、肥大细胞形态变化的影响

3.1.1 蓝斑直径 分析结果见表 1。

表 1 C48/80 对大鼠皮肤蓝斑直径的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Tab. 1 Effect of C48/80 on blue spot diameter in rat skins ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	质量浓度/(μg·mL ⁻¹)	动物数/只		类过敏性评价
		蓝斑直径≤0.5 cm	蓝斑直径>0.5 cm	
生理盐水组	—	6	0	阴性
C48/80 组	0.062 5	6	0	阴性
C48/80 组	0.25	4	2	阴性-阳性
C48/80 组	1	0	6	阳性
C48/80 组	4	0	6	阳性
C48/80 组	16	0	6	阳性

3.1.2 肥大细胞形态变化 大鼠皮肤组织中的肥大细胞主要分布于表皮、真皮及皮下组织，其中皮下组织中细胞数量相对较多，肥大细胞呈紫红色，背景呈蓝色。生理盐水组大鼠肥大细胞胞膜完整，边界清晰，呈类圆形，未见明显脱颗粒现象，皮下注射 C48/80 后，肥大细胞脱颗粒现象随其质量浓度提高而增加，其中 0.062 5 μg/mL 组偶见脱颗粒，细胞轮廓略不规则，呈深紫红色；0.25 μg/mL 组可见半数或半数以上脱颗粒；1、4 μg/mL 组脱颗粒细胞数占总的 80% 以上，脱出颗粒散在细胞周围，呈边缘不规则长圆形或桑葚形，颜色为紫红色；16 μg/mL 组大量脱颗粒，占比高达 90% 以上，细胞外有大量颗粒存在，部分细胞内颗粒几乎全部脱出，细胞胞浆空虚，细胞形态模糊。见图 1。

3.1.3 相关性分析 各质量浓度 C48/80 蓝斑直径、脱颗粒率均较生理盐水显著增加 ($P<0.01$ ，除 0.062 5 μg/mL 时蓝斑直径外)，但肥大细胞数均无明显变化 ($P>0.05$)，见表 2。相关性分析显示，蓝斑直径、脱颗粒率与 C48/80 质量浓度均呈高度正相关（蓝斑直径 $r=0.863$ ， $P=0.000$ ；脱颗

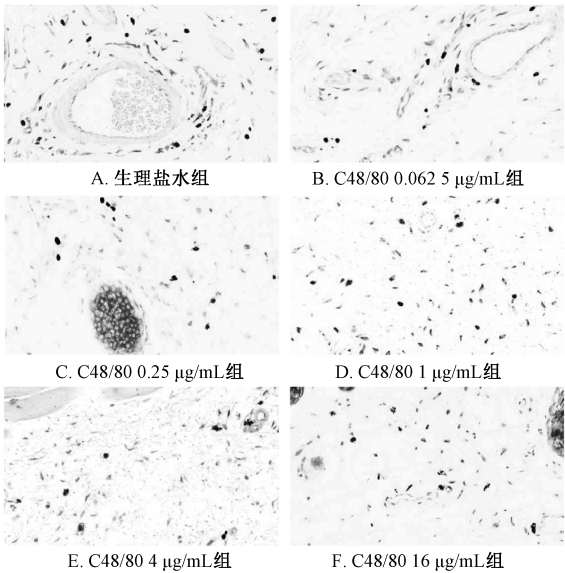


图 1 C48/80 对肥大细胞形态变化的影响（甲苯胺蓝，×200）
Fig. 1 Effects of C48/80 on the morphological changes of mast cells (toluidine blue, ×200)

粒率 $r=0.869$ ， $P=0.000$)，两者之间亦然 ($r=0.937$ ， $P=0.000$)。

表 2 C48/80 对蓝斑直径、肥大细胞数及脱颗粒率的影响 ($\bar{x}\pm s$ ， $n=6$)

Tab. 2 Effects of C48/80 on blue spot diameter, mast cell count and degranulation rate ($\bar{x}\pm s$ ， $n=6$)

组别	质量浓度/(μg·mL ⁻¹)	蓝斑直径/cm	肥大细胞数/个	脱颗粒率/%
生理盐水组	—	0.27±0.05	6.07±2.62	5.5±5.5
C48/80 组	0.062 5	0.28±0.10	6.87±0.94	22.0±9.1 **
C48/80 组	0.25	0.50±0.11 **	9.80±4.43	50.2±16.1 **
C48/80 组	1	0.67±0.05 **	8.93±2.73	83.6±5.8 **
C48/80 组	4	0.77±0.08 **	7.97±2.37	81.6±6.8 **
C48/80 组	16	0.93±0.12 **	7.03±3.06	93.6±7.0 **

注：与生理盐水组比较，** $P<0.01$

3.2 吐温-80 对大鼠皮肤蓝斑直径、肥大细胞脱颗粒的影响 吐温-80 以 0.5%、1%、2%、4%、8% 体积分数皮下注射，分别相当于临床最高用药剂量的 1/2、1、2、4、8 倍，结果见表 3。由表可

知，2%、4%、8% 吐温-80 蓝斑直径，1%、2%、4%、8% 吐温-80 脱颗粒率均较生理盐水显著增加 ($P<0.05$ ， $P<0.01$)，但肥大细胞数均无明显变化 ($P>0.05$)。

表 3 吐温-80 对蓝斑直径、肥大细胞数及脱颗粒率的影响 ($\bar{x}\pm s$ ， $n=6$)

Tab. 3 Effects of Tween-80 on blue spot diameter, mast cell count and degranulation rate ($\bar{x}\pm s$ ， $n=6$)

组别	体积分数/%	临床最高用药剂量倍数/倍	类过敏性评价	蓝斑直径/cm	肥大细胞数/个	脱颗粒率/%
生理盐水组	—	—	阴性	0.32±0.08	6.70±0.99	12.2±5.9
吐温-80 组	0.5	1/2	阴性	0.38±0.16	5.67±2.38	19.3±9.4
吐温-80 组	1	1	阴性-阳性	0.53±0.24	8.20±1.81	37.6±24.7 *
吐温-80 组	2	2	阳性	0.72±0.17 **	10.53±3.71	64.6±13.5 **
吐温-80 组	4	4	阳性	0.80±0.18 **	10.80±7.51	73.7±8.9 **
吐温-80 组	8	8	阳性	1.02±0.21 **	6.67±0.99	89.3±8.6 **

注：与生理盐水组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$

组织形态学检查结果显示，肥大细胞脱颗粒现象随吐温-80 体积分数提高而增加，其中 0.5% 组

胞膜完整，细胞边界清晰，呈类圆形、深紫红色，未见明显脱颗粒现象，与生理盐水组比较无明显差

异;1%组部分皮肤组织可见少量脱颗粒,细胞轮廓略不清晰,呈不规则长圆形;2%组脱颗粒率为50%以上;4%组脱颗粒率为70%左右,细胞内颗粒脱于细胞周围,细胞呈桑葚形、紫红色;8%组脱颗粒率约90%,脱出颗粒散在细胞周围,细胞形态模糊,细胞胞浆空虚。

相关性分析显示,蓝斑直径、脱颗粒率与吐温-80 体积分数均呈高度正相关(蓝斑直径 $r=0.832$, $P=0.000$;脱颗粒率 $r=0.892$, $P=0.000$),两者之间亦然($r=0.929$, $P=0.000$)。

3.3 碘海醇注射液对大鼠皮肤蓝斑直径、肥大细胞脱颗粒的影响 碘海醇注射液以5.5、21.9、87.5、350 mg/mL 质量浓度皮下注射,分别相当于临床最高用药剂量的1/64、1/16、1/4、1 倍,结果见表4。由表可知,21.9、87.5、350 mg/mL 碘海醇注射液蓝斑直径、脱颗粒率均较生理盐水显著

表 4 碘海醇注射液对蓝斑直径、肥大细胞数及脱颗粒率的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Tab. 4 Effects of Iohexol Injection on blue spot diameter, mast cell count and degranulation rate ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	质量浓度/ (mg·mL ⁻¹)	临床最高用药 剂量倍数/倍	类过敏性评价	蓝斑直径/cm	肥大细胞数/个	脱颗粒率/%
生理盐水组	—	—	阴性	0.317±0.075	8.87±3.21	8.9±6.7
C48/80 组	0.015	—	阳性	1.067±0.082 **	9.33±3.50	99.7±0.4 *
碘海醇注射液组	5.5	1/64	阴性	0.317±0.041	9.40±1.84	8.2±4.6
碘海醇注射液组	21.9	1/16	阴性-阳性	0.483±0.147 *	9.53±1.88	29.7±19.9 *
碘海醇注射液组	87.5	1/4	阳性	0.617±0.075 **	9.70±3.15	60.8±7.0 **
碘海醇注射液组	350	1	阳性	0.817±0.041 **	9.97±4.37	79.0±16.2 **

注:与生理盐水组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

3.4 紫杉醇注射液对大鼠皮肤蓝斑直径、肥大细胞脱颗粒的影响 紫杉醇注射液以0.75、1.5、3、6 mg/mL 质量浓度皮下注射,分别相当于临床最高用药剂量的1/4、1/2、1、2 倍,结果见表5。由

表 5 紫杉醇注射液对蓝斑直径、肥大细胞数及脱颗粒率的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Tab. 5 Effects of Paclitaxel Injection on blue spot diameter, mast cell count and degranulation rate ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	质量浓度/ (mg·mL ⁻¹)	临床最高用药 剂量倍数/倍	类过敏性评价	蓝斑直径/cm	肥大细胞数/个	脱颗粒率/%
生理盐水组	—	—	阴性	0.250±0.105	5.43±2.07	7.9±4.8
C48/80 组	0.015	—	阳性	1.067±0.121 **	8.53±2.35 *	96.9±3.2 **
紫杉醇注射液组	0.75	1/4	阳性	0.617±0.098 **	5.97±0.87	51.4±11.8 **
紫杉醇注射液组	1.5	1/2	阳性	0.700±0.089 **	7.13±1.67	63.4±15.3 **
紫杉醇注射液组	3	1	阳性	0.733±0.175 **	6.63±1.36	63.0±13.3 **
紫杉醇注射液组	6	2	阳性	1.000±0.126 **	5.97±1.46	81.4±9.5 **

注:与生理盐水组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

组织形态学检查结果显示,肥大细胞脱颗粒现象随紫杉醇注射液质量浓度提高而增加,其中0.75 mg/mL 组可见50%左右肥大细胞脱颗粒,未脱颗粒细胞呈边界清晰的深紫红色类圆形;1.5、3 mg/mL 组可见60%左右肥大细胞脱颗粒;

增加($P<0.05$, $P<0.01$),但肥大细胞数均无明显变化($P>0.05$)。

组织形态学检查结果显示,肥大细胞脱颗粒现象随碘海醇注射液质量浓度提高而增加,其中5.5 mg/mL组未见明显脱颗粒现象,细胞呈轮廓清晰的深紫红色类圆形,与生理盐水组比较无明显差异;21.9 mg/mL 组部分大鼠少数肥大细胞有脱颗粒现象,细胞边界略不清晰;87.5 mg/mL 组大鼠肥大细胞脱颗粒现象较明显,脱出颗粒散在细胞周围,呈边缘不规则长圆形或桑葚形,颜色为紫红色;350 mg/mL 组大鼠肥大细胞内颗粒大量脱出,部分细胞胞浆空虚。

相关性分析显示,蓝斑直径、脱颗粒率与碘海醇注射液质量浓度均呈高度正相关(蓝斑直径 $r=0.883$, $P=0.000$;脱颗粒率 $r=0.863$, $P=0.000$),两者之间亦然($r=0.958$, $P=0.000$)。

表可知,各质量浓度紫杉醇注射液蓝斑直径、脱颗粒率均较生理盐水显著增加($P<0.01$),但肥大细胞数均无明显变化($P>0.05$)。

6 mg/mL组脱颗粒数占总数的80%左右,脱颗粒细胞呈轮廓不清晰的长圆形或桑葚形,部分细胞内颗粒大量脱出,细胞胞浆空虚。

相关性分析显示,蓝斑直径、脱颗粒率与紫杉醇注射液质量浓度均呈高度正相关(蓝斑直径 $r=$

0.846, $P = 0.000$; 脱颗粒率 $r = 0.820$, $P = 0.000$), 两者之间亦然 ($r=0.923$, $P=0.000$)。

3.5 注射用血塞通 (冻干) 对大鼠皮肤蓝斑直径、肥大细胞脱颗粒的影响 注射用血塞通 (冻干) 以 0.4、0.8、1.6、3.2 mg/mL 质量浓度皮下注射, 分别相当于临床最高用药剂量的 1/4、1/2、1、2 倍, 结果见表 6。由表可知, 各质量浓度注射用血塞通 (冻干) 蓝斑直径、脱颗粒率均较生理盐水显著增加 ($P<0.01$), 并且 0.8、1.6 mg/mL 时肥大细胞数也显著增加 ($P<0.05$)。

表 6 注射用血塞通 (冻干) 对蓝斑直径、肥大细胞数及脱颗粒率的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Tab. 6 Effects of Xuesaitong Freeze-dried Powder for Injection on blue spot diameter, mast cell count and degranulation rate ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	质量浓度/ (mg·mL ⁻¹)	临床最高用药 剂量倍数/倍	类过敏性评价	蓝斑直径/cm	肥大细胞数/个	脱颗粒率/%
生理盐水组	—	—	阴性	0.25±0.15	4.67±0.60	18.7±11.7
C48/80 组	0.015	—	阳性	1.02±0.04**	4.40±1.36	88.8±12.3**
注射用血塞通(冻干)组	0.4	1/4	阳性	0.75±0.16**	7.57±2.99	77.6±20.5**
注射用血塞通(冻干)组	0.8	1/2	阳性	0.78±0.08**	6.67±2.24*	74.0±20.7**
注射用血塞通(冻干)组	1.6	1	阳性	0.83±0.14**	7.53±1.81*	76.5±18.0**
注射用血塞通(冻干)组	3.2	2	阳性	0.85±0.35**	5.70±1.21	86.0±21.7**

注:与生理盐水组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

3.6 喜炎平注射液对大鼠皮肤蓝斑直径、肥大细胞脱颗粒的影响 喜炎平注射液以 2.5、5、10、20 mg/mL 质量浓度皮下注射, 分别相当于临床最高用药剂量的 1/2、1、2、4 倍, 结果见表 7。由表可知, 仅 5 mg/mL 喜炎平注射液蓝斑直径显著减少 ($P<0.05$), 而肥大细胞数、脱颗粒率均无明

组织形态学检查结果显示, 注射用血塞通 (冻干) 各质量浓度组肥大细胞脱颗粒现象与生理盐水组比较均较显著, 其中 0.4、0.8、1.6 mg/mL 组脱颗粒率均在 50% 以上; 3.2 mg/mL 组脱颗粒率接近 80%, 肥大细胞边界不清晰, 细胞外有大量颗粒存在, 呈不规则长圆形、桑葚形。

相关性分析显示, 蓝斑直径、脱颗粒率与注射用血塞通 (冻干) 质量浓度均呈正相关 (蓝斑直径 $r = 0.604$, $P = 0.000$; 脱颗粒率 $r = 0.582$, $P = 0.001$), 两者之间亦然 ($r=0.552$, $P=0.000$)。

表 7 喜炎平注射液对蓝斑直径、肥大细胞数及脱颗粒率的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Tab. 7 Effects of Xiyanping Injection on blue spot diameter, mast cell count and degranulation rate ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	质量浓度/ (mg·mL ⁻¹)	临床最高用药 剂量倍数/倍	类过敏性评价	蓝斑直径/cm	肥大细胞数/个	脱颗粒率/%
生理盐水组	—	—	阴性	0.32±0.13	5.80±1.73	9.0±10.2
C48/80 组	0.015	—	阳性	0.98±0.13**	7.03±2.92	97.2±4.3**
喜炎平注射液组	2.5	1/2	阴性	0.30±0.14	5.70±2.42	5.4±1.7
喜炎平注射液组	5	1	阴性	0.17±0.08*	5.90±1.34	5.6±3.6
喜炎平注射液组	10	2	阴性	0.38±0.10	6.97±1.73	7.8±4.8
喜炎平注射液组	20	4	阴性	0.20±0.09	7.80±3.43	8.7±6.1

注:与生理盐水组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

4 讨论

大鼠皮肤类过敏试验是指将能引起类过敏的物质注入大鼠皮内, 刺激皮肤肥大细胞脱颗粒, 释放活性物质, 使局部毛细血管通透性增高, 同时静脉注射生物染料伊文思蓝随血浆白蛋白由毛细血管内渗出至血管外, 导致注射部位皮肤蓝染, 然后通过测定皮肤注射部位蓝斑直径大小对受试药可能引起的类过敏性进行评定, 该方法由于操作简便、检测敏感性强、重复性好而在业内受到一定关注。但由

显变化 ($P>0.05$)。

组织形态学检查结果显示, 喜炎平注射液各质量浓度组均未见明显肥大细胞脱颗粒现象, 细胞边界清晰, 呈深紫色类圆形, 与生理盐水组无明显差异。

于在具体操作过程中将受试物刺入皮内的针头角度及深浅与技术操作人员个体习惯及随意性密切相关, 可导致蓝斑直径大小和深浅有着明显差异, 从而对以蓝斑直径为类过敏性评价标准的结果造成一定影响^[11], 同时由于蓝斑直径是基于扩血管机制所致, 故同样具有扩张毛细血管通透性的受试药物 (如活血化瘀药) 采用该方法时可能会产生假阳性结果^[12]。因此, 本实验应用组织形态学检测手段, 观察给药部位皮肤组织中肥大细胞脱颗粒状况, 分

析脱颗粒率、功能反应（蓝斑直径）、给药浓度三者之间的相关性，探索大鼠皮肤类过敏反应的组织学机制，同时评价给药部位皮肤组织中肥大细胞脱颗粒率作为评定类过敏性补充指标的可行性。

首先，选用公认的致类过敏反应阳性物质 Compound 48/80（C48/80）进行考察。

在此基础上，再选用中药注射液常用辅料吐温-80、西药制剂碘海醇注射液、中药单一成分制剂紫杉醇注射液、中药复合成分制剂注射用血塞通（冻干）及喜炎平注射液进行考察。结果，吐温-80 体积分数在 1% 时开始出现肥大细胞脱颗现象，2%~8% 时大量脱颗粒，其阳性反应体积分数与前期报道^[13-14]一致，蓝斑直径、脱颗粒率与其体积分数均呈高度正相关，两者之间亦然；碘海醇注射液为临床常用造影剂，其致过敏样休克甚至死亡的事件有多篇报道^[15-19]，本实验发现其质量浓度相当于临床最高用药剂量的 1/16 倍时可出现肥大细胞脱颗现象，1/4~1 倍时大量脱颗粒，蓝斑直径、脱颗粒率与其质量浓度均呈高度正相关，两者之间亦然；紫杉醇注射液为乳腺癌、卵巢癌等治疗的常用药物，临床常有类过敏反应发生^[20]，其类过敏反应发生机制可能是通过激活补体系统和直接刺激两方面导致肥大细胞脱颗粒释放活性物质^[21]，本实验发现其质量浓度相当于临床最高用药剂量的 1/4、1/2、1、2 倍时均显示出较强的致类过敏性，蓝斑直径、脱颗粒率与其质量浓度均呈高度正相关，两者之间亦然；注射用血塞通（冻干）具有活血祛瘀、通脉活络功效，临床主要用于治疗动脉粥样硬化性血栓性脑梗塞、脑栓塞等疾病，本实验发现其质量浓度相当于临床最高用药剂量的 1/4、1/2、1、2 倍时均出现较明显肥大细胞脱颗粒现象，蓝斑直径、脱颗粒率与其质量浓度均呈正相关，两者之间亦然；喜炎平注射液具有清热解毒、止咳止痢功效，临床主要用于质量支气管炎、扁桃体炎、细菌性痢疾等疾病，本实验发现其质量浓度相当于临床最高用药剂量的 1/2、1、2、4 倍时均未出现明显肥大细胞脱颗粒、蓝斑直径增加现象，虽然它为 国家食品药品监督管理局发布《药品不良反应信息通报》第 48 期提示的能引起严重过敏反应的 药物，但至今未见有文献确证其临床不良反应由类过敏反应所致的证据，本研究结果亦然，故是否因过敏或类过敏所致需作进一步探讨。

参考文献：

[1] 王德才，张 玲，李爱珍. 中药注射剂致死死亡 39 例文献分

析[J]. 药物流行病学杂志，2004，13(2)：77-80.

[2] Szebeni J. Complement activation-related pseudoallergy: a new class of drug-induced acute immune toxicity[J]. *Toxicology*, 2005, 216(2-3)：106-121.

[3] Hashimoto T, Ohata H, Momose K, *et al.* Lysophosphatidic acid induces histamine release from mast cells and skin fragments[J]. *Pharmacology*, 2005, 75(1)：13-20.

[4] Ferry X, Brehin S, Kamel R, *et al.* G protein-dependent activation of mast cell by peptides and basic secretagogues[J]. *Pep-tides*, 2002, 23(8)：1507-1515.

[5] Palomäki V A, Laitinen J T. The basic secretagogue compound 48/80 activates G proteins indirectly via stimulation of phospho-lipase *D*-lysophosphatidic acid receptor axis and 5-HT1A receptors in rat brain sections[J]. *Br J Pharmacol*, 2006, 147(6)：596-606.

[6] Walport M J. Advances in immunology: Complement (First of two parts) [J]. *New Engl J Med*, 2001, 344(14)：1058-1066.

[7] Walport M J. Advances in immunology: Complement (Second of two parts) [J]. *New Engl J Med*, 2001, 344(15)：1140-1144.

[8] Hugli T E, Müller-Eberhard H J. Anaphylatoxins: C3a and C5a[J]. *Adv Immunol*, 1978, 26：1-53.

[9] Metz M, Siebenhaar F, Maurer M. Mast cell functions in the innate skin immune system[J]. *Immunobiology*, 2008, 213(3-4)：251-260.

[10] 梁爱华，赵 雍，李春英，等. 药物类过敏反应的临床前评价方法研究（Ⅱ）——大鼠皮肤类过敏试验[J]. 中国中药杂志，2012，37(13)：1871-1874.

[11] 张立波，谢家骏，易娟娟，等. 大鼠皮肤类过敏试验的方法学研究及适用性考察[J]. 中国中医药信息杂志，2014，21(2)：67-71.

[12] 康黎静，谢家骏，易娟娟，等. 若干药物的大鼠皮肤类过敏试验[J]. 中成药，2014，36(10)：2033-2036.

[13] 李 畅，涂家生. 聚山梨酯 80 组分与其溶血性的关系[J]. 中国药科大学学报，2012，43(3)：231-235.

[14] 陈 健，罗利雄，邓永忠. 药物辅料致临床异常现象的案例分析与讨论[J]. 实用药物与临床，2012，15(8)：510-511.

[15] 高荣敏，侯远鑫. 碘海醇注射液静脉注射致过敏性休克 1 例[J]. 中南药学，2018，16(6)：880.

[16] 唐青萍. 碘海醇注射液致过敏性休克死亡 1 例[J]. 中国药师，2017，20(10)：1830-1831.

[17] 段美玲，熊 娇，郑添允. 2 例碘海醇过敏性休克的抢救体会[J]. 当代护士（上旬刊），2016(3)：139-140.

[18] 谭秀艳，李中东，时文娟. 碘海醇致过敏性休克 1 例[J]. 中国临床药学杂志，2016，25(3)：160.

[19] 付 燕，刘红娜，侯云生. 碘海醇注射液致过敏性休克 [J]. 临床误诊误治，2014，27(10)：66.

[20] 李运景. 紫杉醇注射液致严重不良反应分析[J]. 中国现代药物应用，2007，1(6)：3-5.

[21] 马宏图，睢凤英. 中药注射剂安全性与类过敏反应[J]. 中国医院药学杂志，2009，29(10)：838-840.