

- 2014,9(3):312-314.
- [7] 秦圆方. PCR 技术用于日本血吸虫感染检测研究 [D]. 南京:南京医科大学,2009.
- [8] 周立,梁冰,赵友云,黄露,王业富. 实时荧光定量 PCR 法检测日本血吸虫 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志,2008,26(4):299-301.
- [9] 王本敬. Real-time PCR 检测水体日本血吸虫尾蚴和小鼠感染早期检测的研究 [D]. 苏州:苏州大学,2011.
- [10] 官威. Real-time PCR 检测感染宿主血清日本血吸虫 DNA 水平动态变化及其在血吸虫病诊断和疗效考核中的意义 [D]. 苏州:苏州大学,2013.
- [11] 刘爱平,杨巧林,郭俊杰,等. 巢式 PCR 法检测日本血吸虫低感染度宿主血清 DNA 的研究 [J]. 苏州大学学报:医学版,2010,30(5):915-917.
- [12] Guo JJ, Zheng HJ, Xu J, et al. Sensitive and specific target sequences selected from retrotransposons of *Schistosoma japonicum* for the diagnosis of schistosomiasis [J]. PLoS Negl Trop Dis, 2012,6(3):e1579.
- [13] 童群波,陆绍红,汪天平,等. 巢式 PCR 检测日本血吸虫感染的研究 [J]. 寄生虫与医学昆虫学报,2009,16(4):203-205.
- [14] 李秉鸿. 实时荧光定量检测技术及应用 [J]. 动物医学进展,2003,28(1):4-6.
- [15] 许静. 核酸检测技术在日本血吸虫感染宿主早期诊断及疗效考核中的应用研究 [D]. 苏州:苏州大学,2008.
- [16] 曹仁祺. 日本血吸虫病环介导等温扩增诊断方法的建立和初步应用 [D]. 武汉:华中农业大学,2010.
- [17] 王岑. 环介导等温扩增检测全血日本血吸虫 DNA 的研究 [D]. 南京:南京医科大学,2011.
- [18] 周钧,钱万红,李越希,等. 日本血吸虫检测基因芯片的研制及初步应用 [J]. 江苏医药杂志,2004,30(6):455-456,483.
- [19] 周钧,陶开华,李越希,施正良,等. 基因芯片检测日本血吸虫及其现场应用 [J]. 医学动物防治,2003,19(5):524-527.
- [20] Chang L, Zhong S, Zhao N, et al. Application of genetic deafness gene chip for detection of gene mutation of deafness in pregnant women. [J]. J Otolaryngology, 2014,9(2):347-381.
- [21] Waisberg M, Lobo FP, Cerqueira GC, et al. Microarray analysis of gene expression induced by sexual contact in *Schistosoma mansoni*. [J]. BMC Genomics, 2007,20(8):812-814.
- [22] Hu S, Law PK, Fung MC, et al. Microarray analysis of genes highly expressed in cercarial stage of *Schistosoma japonicum* and the characterization of the antigen Sj20H8. [J]. Acta Trop, 2009, 112(1):26-32.
- [23] 李石柱,郑浩,高婧,等. 2012 年全国血吸虫病疫情通报 [J]. 中国血吸虫病防治杂志,2013,25(6):557-562.
- [24] The TDR Diagnostics Evaluation Expert Panel. Evaluation of diagnostic tests for infectious diseases: general principles.
- [25] Zhou L, Tang J, Zhao Y, et al. A highly sensitive TaqMan real-time PCR assay for early detection of *Schistosoma* species [J]. Acta Trop, 2011,120(1/2):88-94.

(收稿日期:2015-07-28)

• 综 述 •

SIgE 监测对上市后中药注射剂免疫毒理学评价的意义*

顾 敏^{1,2}, 谢雁鸣^{1△}, 赵玉斌^{2▲}, 郭新娥², 王志飞¹

(1. 中国中医科学院中医临床基础研究所, 北京 100700; 2. 石家庄市中医院, 河北石家庄 050000)

关键词: SIgE; TIgE; 中药注射剂; 免疫毒理

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.01.033

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)01-0076-03

上市后中药作为注入性抗原、可溶性抗原,其引起的过敏反应按照修改后的 Coombs 和 Gell 分类属于 I 型超敏反应(变态反应)。I 型超敏反应是上市后中药免疫毒性监测的重点内容,对 I 型超敏反应发生机制、主要参与成分的分析提示免疫球蛋白 IgE 是引发 I 型超敏反应的主要抗体,SIgE 检测是中药注射剂致过敏反应特异性诊断最重要的检测方法之一。

1 上市后中药免疫毒理学监测背景

上市后中药(中药注射剂)大多由复方组成,其成分十分复杂且有效成分尚不完全清楚,中药注射剂中的动植物蛋白、鞣质等也极易引起变态反应。中药注射剂的药品不良反应(ADR)常涉及多个器官或系统。研究表明,与中药注射剂有关的 ADR,其中 92% 属于变态反应,解决中药注射剂引起的变态反应是中药注射剂研制中的一项重要工作^[1]。目前我国在上市后中药注射剂危险性评估方面的工作与国际趋势和实际需要远不相符,有待完善和发展。因此,建立快速、灵敏的免疫毒理学安全评价的检测方法迫在眉睫。

2 上市后中药免疫毒理学监测内容

2.1 监测内容依据 上市后中药作为注入性抗原和可溶性抗原,其引起的过敏反应按照修改后的 Coombs 和 Gell 分类属于 I 型超敏反应。I 型超敏反应是上市后中药免疫毒性监测的重点内容。

对 I 型超敏反应发生机制、主要参与成分的分析提示免疫球蛋白 IgE 是引发 I 型超敏反应的主要抗体,SIgE 检测是中药注射剂致过敏反应特异性诊断最重要的检测方法之一。

2.2 变态反应的诊断依据 变态反应是指药物及其体内代谢产物作为抗原或半抗原刺激机体而发生的非正常免疫反应。美国国立变态反应和感染性疾病研究所(NIAID)与食物过敏及急性全身过敏反应联盟(FAAN)在第 2 次专题讨论会上制定急性全身过敏反应的诊断标准。包括皮肤过敏反应、呼吸道过敏反应、消化道过敏反等^[2]。应根据这个标准可以准确地对 95% 的患者作出急性全身过敏反应的诊断。临床上根据变应原进入途径分吸入性、摄入性、注入性、接触性等,上市后中药

* 基金项目:重大新药创制子课题项目(2015X09501004-001-009)。 作者简介:顾敏,女,医师,主要从事血液病及中西医结合 MDS 的临床与实验研究。 △ 通讯作者,E-mail:ktzu2014@163.com。 ▲ 共同通讯作者,E-mail:drzhyubin@sina.com。

注射剂作为注入性抗原,相关的 ADR 主要是速发型。其中发生率最高的是以 I 型变态反应(临床表现包括荨麻疹、特应性皮炎、支气管哮喘等)为主的急性变态反应,一般认为与遗传、免疫及对生理、药理介质反应异常有关。也涉及到部分 III 型变态反应(毛细血管变态反应性疾病如过敏性紫癜)^[3]。据统计,374 例中药注射剂 ADR 的发生时间,在用药后数秒至 60 min 之内的有 256 例,占 70%^[1]。根据 NIAID 及 FAAN 关于急性全身过敏反应的诊断标准及修改后的 Coombs 和 Gell 分类可以看出, I 型变态反应应作为上市后中药注射剂免疫毒性监测的重点内容。

2.3 变态反应的生物学本质 I 型变态反应是临床最常见的一种超敏反应,由 IgE 介导,肥大细胞核嗜碱粒细胞等效应细胞以释放生物活性介质的方式参与反应,有明显个体差异和遗传倾向。概而言之, I 型变态反应的发生是以过量免疫球蛋白 E(IgE)抗体产生为特征,也就是由 IgE 抗体介导的变态反应^[4]。

3 TIgE、SIgE 的监测意义

3.1 变态反应中 IgE 的重要性 引起 I 型变态反应的抗原能选择性激活 CD4+Th2 细胞与 B 细胞,诱导产生特异性 IgE 抗体应答的物质。I 型变态反应的发生分两个阶段。在第一阶段,抗原诱发机体产生 IgE 并结合到靶细胞上而致敏,在第二阶段即发敏阶段的速发相反应中,通过桥联反应等方式触发细胞脱颗粒释放血管活性物质,可表现为喉头水肿、肺水肿、全身血容量急剧下降,循环衰竭等一系列血管病变,同时引起多器官平滑肌痉挛,严重时出现支气管持续痉挛和窒息。过敏性休克即指特异性过敏原作用于致敏个体引起的严重的、危及生命的全身性速发型超敏反应,一般通过 IgE 介导的 I 型变态反应机制诱发^[5]。中药注射剂的抗原组分十分复杂,分析变态反应发生机制及主要参与成分,结合实验及文献研究分析提示 SIgE(特异性 IgE)监测对于评估上市后中药注射剂免疫毒理学作用有重要意义。IgE 又称反应素或亲细胞抗体,这一生物活性使其成为早期炎症细胞的抗原受体^[6]。IgE 与相应抗原发生的特异性结合是激活嗜碱性粒细胞、肥大细胞的主要因素之一,由 IgE 导致的局部嗜酸性粒细胞浸润是过敏反应后炎症的主要病理基础。健康者血清中浓度极低且较稳定。发生超敏反应患者血清 IgE 波动较大。IgE 由呼吸道和消化道黏膜固有层中浆细胞产生,是引发 I 型变态反应的主要抗体^[7]。

3.2 变态反应中 TIgE(总 IgE)的意义与局限 影响 TIgE 水平的因素包括年龄、性别、种族、寄生虫感染等;引起 TIgE 升高的疾病包括变应性疾病、免疫性疾病、感染、肿瘤等。齐名等^[8]用 ELISA 法检测 51 例支气管哮喘患者 TIgE 及 SIgE 发现,血清 TIgE 在正常范围上限的患者有可能 SIgE 阳性,但未发现血清总 IgE 正常而 SIgE 阳性者,因此提出血清 TIgE 检测结果可作为判断哮喘是否过敏因素引起的初筛试验。江峰等^[9]对 195 例过敏性疾病患者进行血清 SIgE 和 TIgE 检测,同样提出可先做 TIgE 筛查,检测结果为阳性者再进行 SIgE 测定。彭洁雅等^[10]认为出现 SIgE 阳性时 TIgE 不一定也阳性。

3.3 变态反应中 SIgE 的特点及监测意义 研究证实嗜酸性粒细胞的膜上存在 IgE 的 Fc 段受体。IgE 受体位点被亲细胞的 IgE 占据的程度与血清 IgE 的浓度有关。王莲芸等^[11]研究发现哮喘患者血清 TIgE 水平显著高于正常对照组。结果提示对于缓解期患者可检查患者血清中何种变应原 SIgE 含量升高以求病因诊断。刘中国等^[12]的研究也证实检查血清中的

sIgE 可反映支气管哮喘患者对何种变应原过敏。梁桂珍等^[13]采用 Mast 系统检测 1 625 例变态反应性疾病患者,结果显示 83.6% 患者血清中有 1 种或 1 种以上的过敏原 SIgE 呈阳性,其中 75% 对两种以上过敏原呈阳性反应。决定机体对某种特异性抗原起反应的是特异性抗原对应的特异性 IgE, CAP 检测系统是一种以固相载体技术为核心的 IgE 抗体检测技术^[14],尤其用于变应原 SIgE 的检测。SIgE 监测具有特异性高、测定范围广、安全性高、不受操作技术和药物治疗影响的优点。血清 SIgE 测定对于过敏性反应体外诊断确立特异性过敏原以合理应用脱敏等治疗手段有价值,而对治疗的监测和病情准确的判断有待进一步临床观察^[15]。SIgE 作为一种高亲和力亲细胞抗体,其水平并不与患者临床症状及体征的程度有关,原因可能与微量致敏且致敏作用持久有关,而症状的触发是致敏细胞膜上局部结构改变和可能的相邻受体和细胞相互作用的结果,与 IgE 的聚集并无直接关系。

3.4 SIgE 的影响因素和治疗意义 研究表明, I 型变态反应发生与个体遗传过敏体质(特异性体质)关系甚大^[16]。应用中药注射剂发生 I 型变态反应的患者合并既往药物过敏史者远远高于没有过敏史的患者。从某个角度来说,特应性体质是一种潜在的过敏反应状态,其吸入性抗原是哮喘发生和发展的重要触发因素。既然 I 型变态反应的发生是在特应性体质的基础上因变应原的刺激启动气道的高反应性,那么确定变应原可为免疫治疗提供依据和疗效观察指标^[17]。免疫治疗可通过促进封闭性抗体 IgG4 产生,竞争阻断过敏原与效应细胞表面 IgE 结合,从而避免效应细胞激活和组胺释放。刘国钧等^[18]研究发现特异性免疫治疗并不能改变 SIgE 的含量。刘光辉等^[19]研究发现,变应原疫苗脱敏治疗可通过下调血清 IL-4 水平降低血清 SIgE 水平。血清 SIgE 水平的降低使机体对于特异性变应原敏感性降低。李家乐等^[20]研究结果表明小青龙汤能降低血清中 IgE 水平,抑制炎症变态反应,且其抗炎作用具有剂量依赖性。

参考文献

- [1] 王永炎,杜晓曦,谢雁鸣. 中药注射剂临床安全评价指南[M]. 北京:人民卫生出版社,2013:11-13.
- [2] 谢雁鸣. 中医药临床评价方法研究与实践[M]. 北京:人民卫生出版社,2014:34.
- [3] 郝艾芹. 588 例变态反应性疾病患者过敏原体外检测机分析[J]. 疾病监测与控制杂志,2012,6(3):174-175.
- [4] 马春雷,安军,赵军,等. 新疆伊犁地区 400 例哈萨克族变应性皮肤病患者血清过敏原特异性 IgE 抗体检测与分析[J]. 皮肤病与性病,2013,35(3):128-129.
- [5] 康熙雄. 临床免疫学[M]. 北京:人民卫生出版社,2010:79-81.
- [6] 王易. 免疫学导论[M]. 上海:上海中医药大学出版社,2007:29-31.
- [7] 龚非力. 医学免疫学[M]. 北京:科学出版社,2004:34-36.
- [8] 齐名,王艾丽,虞伟,等. 51 例支气管哮喘患者特异性 IgE 检测结果分析[J]. 江西医学检验,1997,15(1):24-26.
- [9] 江峰,谢美华,罗燕春,等. 血清 SIgE 和 TIgE 检测对过敏性疾病的诊断价值[J]. 福建医药杂志,2009,31(2):106-107.
- [10] 彭洁雅,孙宝清,郑佩燕. ALLERG-O-LIQ 系统检测 TIgE 和 sIgE 对过敏性疾病的诊断价值[J]. 实用医学杂志,2013,29(4):633-635.
- [11] 王莲芸,乔中东,赵嘉惠,等. VCAM-1 和 ECP 在支气管哮喘发病中作用机制的研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志,2001,21(1):105-107.

[12] 刘中国,王艳燕,莲芸,等. 支气管哮喘血清 E-选择素与 IgE 的相关性研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2001, 21(4): 431-434.

[13] 梁桂珍,李放娟,侯穗波,等. 1625 例变态反应性疾病过敏原检测结果分析[J]. 实用临床医学, 2005, 6(1): 14-16.

[14] 孟昭和,沈霞,黎明,等. CAP 系统检测在变应性鼻炎的临床应用[J]. 中国中西医结合耳鼻喉科杂志, 1999, 7(1): 18-19.

[15] 王莉,李力,李增齐,等. 过敏性鼻炎患者血清 sIgE 和 ECP 水平的关系探讨[J]. 西北国防医学杂志, 1999, 20(3): 199-200.

[16] 谢龙山,余保平,余秀兰. 尘螨刺激对特应质母亲的新生儿脐血单个核细胞分泌特异性 IgE 的影响[J]. 广东医学, 2005, 26(4): 493-496.

[17] 邵莉,朱丽君,许以平. 变应原特异性 IgE 抗体和 ECP 测定在哮喘中的意义[J]. 上海第二医科大学学报, 2002, 22(3): 254-259.

[18] 刘国钧,凡启军,高金建,等. 儿童过敏性鼻炎特异性免疫治疗过程中 IL-10、TGF- β 1 和 sIgE 的变化及其与疗效的关系[J]. 医学研究杂志, 2013, 42(1): 115-117.

[19] 刘光辉,祝戎飞,王忠喜. 尘螨变应原疫苗对变应性哮喘的脱敏作用[J]. 医药导报, 2004, 23(5): 543-545.

[20] 李家乐,陈宝田. 小青龙汤抗过敏性鼻炎的实验研究[J]. 热带医学杂志, 2011, 11(2): 131-133.

(收稿日期:2015-07-28)

• 综 述 •

Tau 蛋白与创伤性颅脑损伤

王玉飞 综述,杨晓莉,郑静晨 审核
(武警总医院检验科,北京 100039)

关键词: Tau 蛋白; 创伤性颅脑损伤; 生物标志物

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.01.034

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)01-0078-03

创伤性颅脑损伤(TBI)已成为当今社会威胁人类生命的主要疾病之一,准确判断 TBI 后脑损害严重程度并评估预后对于临床治疗十分重要。目前的临床和影像学技术尚不能准确评估脑损伤程度,也难以判断预后,仍需要探索新的辅助手段,寻找简便易行的观察指标是研究颅脑外伤的一个重要课题。近年来对 TBI 的基础研究较多,神经系统中一些特异性蛋白与 TBI 的相关性研究有很大的进展。Tau 蛋白是一种神经元微管相关蛋白,具有促进微管蛋白聚合成微管和稳定微管结构的作用。已有研究结果显示, Tau 蛋白可作为 TBI 的生物标志物,用于 TBI 病情严重程度及预后的判断,具有重要的临床意义。

1 Tau 蛋白的结构与功能

Tau 蛋白属于微管相关蛋白家族,主要存在于神经元细胞的轴突。此外, Tau 蛋白也可在树突中发挥生理作用^[1]。人 Tau 蛋白位于 17 号染色体长臂 2 区 1 带(17q21),含有 16 个外显子。根据 Tau 蛋白与微管的相互作用和/或它们的氨基酸性质,可将 Tau 分子分为 3 个结构域: N 末端酸性区,脯氨酸富含区和 C 末端功能区。C 末端是与微管蛋白的结合部位,也称为“结合区”。脯氨酸富含区含有大量的磷酸化位点,可与包含 SH3 结构域的蛋白相互作用。N 末端酸性区又称为“突出区域”,可与其他细胞骨架及细胞膜骨架结合。在健康成人脑,因编码基因 mRNA 的翻译后修饰不同, Tau 蛋白可形成 6 种同功异构体。这 6 种异构体主要表现为 N 端插入序列数目的不同(0N/1N/2N)以及微管结合重复区(3R/4R)数目的差异,每个异构体含有 3(3R)或 4 个(4R)可与微管结合的重复区域。

Tau 蛋白的主要功能:(1)结合微管等细胞骨架蛋白,促进微管形成。Tau 蛋白结合的微管蛋白可作为微管组装早期的核心,进而促进其他微管蛋白在此核心上延伸聚集形成微管。(2)维持已形成微管的稳定性,降低微管蛋白的解离,并诱导微管成束。(3)与其他蛋白相互作用,包括蛋白磷酸酶、酪氨酸激

酶、Ser/Thr 蛋白激酶等, Tau 蛋白可调节这些蛋白的定位和功能^[2]。此外, Tau 蛋白还在神经系统的生成和轴突的信息传递中也起着重要的作用。

2 Tau 蛋白与颅脑损伤

2.1 Tau 蛋白可作为颅脑损伤严重程度及预后评估的指标

Tau 蛋白是一种存在于神经细胞内的蛋白,在轴突处浓度最高。正常情况下,血清和脑脊液中 Tau 蛋白的浓度极低。轴突损伤是 TBI 中比较常见的一种损伤形式,也是 TBI 预后不良的主要原因之一,可导致长期的脑功能受损。轴突受到损伤后 Tau 蛋白则会从神经细胞释放入脑脊液中。脑挫裂伤、弥漫性轴索损伤等原发性颅脑损伤和脑水肿等继发性颅脑损伤也可导致神经细胞坏死、崩解, Tau 蛋白可释放入细胞间隙和脑脊液中。同时,血脑屏障的破坏和通透性改变可使某些蛋白成分易通过血脑屏障释放入血液和脑脊液中,导致脑损伤患者的血清和脑脊液中 Tau 蛋白浓度升高。这为脑损伤后检测脑脊液和血液中 Tau 蛋白的浓度提供了理论依据。Zemlan 等^[3]对 15 例急性弥漫性轴索损伤患者脑脊液中的 Tau 蛋白浓度进行了检测。与对照组相比,脑损伤患者脑脊液中 Tau 蛋白浓度增加了 1 000 倍以上,而且 Tau 蛋白浓度与损伤的严重程度呈正相关。研究表明,脑脊液中 Tau 蛋白的浓度可以反映脑损伤的严重程度。Franz 等^[4]观察 29 例重度 TBI 患者伤后不同时间点脑脊液中 Tau 蛋白的浓度,发现 Tau 蛋白在创伤后很快升高,到第 2 周时达高峰,然后开始缓慢下降,伤后 6 周时 Tau 蛋白水平恢复到正常。Tau 蛋白的动态变化可能反映了脑损伤后不同的病理生理情况。除了可用于判断颅脑损伤的严重程度, Tau 蛋白还可用于 TBI 患者的预后评估。Ost 等^[5]对 39 例重度 TBI 患者进行前瞻性研究,根据受试者脑脊液 Tau 蛋白浓度与格拉斯哥预后评分制成的受试者工作特征曲线分析显示,伤后 2~3 d 脑脊液 Tau 蛋白水平大于 702 pg/mL 判断预后不良和良好的灵敏度为 83%,特异度为 69%,伤后 2~3 d 脑脊液 Tau 蛋白水平大于 2 126 pg/mL 判断死亡和