

塞来昔布对人乳腺癌 SKBR-3 细胞生长的影响

张丽, 黄家君* (重庆医科大学药学院药理学教研室, 重庆市生物化学与分子药理学重点实验室, 重庆 400016)

摘要: 目的 探讨选择性环氧酶-2(COX-2)抑制剂塞来昔布对乳腺癌 SKBR-3 细胞生长的影响及机制。方法 用不同浓度的塞来昔布处理 SKBR-3 细胞后, 采用 CCK-8 法检测塞来昔布对 SKBR-3 细胞增殖活性的影响; 流式细胞仪检测细胞周期; 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测前列腺素 E₂(PGE₂)的释放水平; Western Blot 法测定各浓度塞来昔布刺激 SKBR-3 细胞后 Caspase-3 被酶解激活情况。结果 塞来昔布对 SKBR-3 细胞的增殖抑制作用呈剂量-时间依赖性; 随着塞来昔布浓度的增加, G₀/G₁ 期细胞阻滞, S 期细胞比例明显减少; 塞来昔布明显减少 PGE₂ 的释放水平; Caspase-3 在细胞凋亡早期被激活, 在凋亡晚期则无表达。结论 塞来昔布能有效抑制乳腺癌 SKBR-3 细胞的增殖, 诱导其凋亡; 其作用机制可能与 COX-2 表达下调、抑制 PGE₂ 水平和促进 Caspase-3 的活化有关。

关键词: 乳腺癌; SKBR-3; 塞来昔布; 环氧酶-2(COX-2)

中图分类号: R965.1 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2012)08-0669-05

Influence of Celecoxib on Breast Cancer Cells SKBR-3

ZHANG Li, HUANG Jiajun* (Department of Pharmacology, School of Pharmaceutical Sciences, Chongqing Key Laboratory of Biochemistry and Molecular Pharmacology, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To approach the effect of celecoxib, a selective COX-2 inhibitor, on breast cancer cell growth and its mechanism. **METHODS** CCK-8 assay was adopted to examine the proliferation of SKBR-3 cells treated by different concentrations of celecoxib. Flow cytometry was performed to analyze the cell cycle of SKBR-3. The levels of PGE₂ were measured by ELISA. Western Blot was used to detect the activation states of Caspase-3. **RESULTS** The inhibition of proliferation of SKBR-3 cells *in vitro* by celecoxib was observed in time- and dose-dependent effects. With the increase of celecoxib concentration, the cell cycle was arrested at G₀/G₁, and rate of cells in S-phase was obviously decreased. Levels of PGE₂ were inhibited by celecoxib. Caspase-3 was activated in the early stage of apoptosis, but there was no expression in the late stage of apoptosis. **CONCLUSION** Celecoxib inhibits proliferation of SKBR-3 cells, and induces apoptosis. The mechanism of action may be associated with down-regulation of the expression of COX-2, inhibition of PGE₂ and activation of Caspase-3.

KEY WORDS: breast cancer; SKBR-3 cells; celecoxib; cyclooxygenase-2(COX-2)

乳腺癌是女性的最常见恶性肿瘤之一, 其死亡率已居女性恶性肿瘤的首位。在我国, 乳腺癌的发病率呈明显上升趋势, 并日趋年轻化^[1]。近年流行病学研究表明, 环氧酶-2(COX-2)与乳腺癌的发生和进展密切相关, 选择性 COX-2 抑制剂能有效预防乳腺癌的发生^[2]。但目前 COX-2 抑制剂在肿瘤发生发展过程中的具体作用尚未完全阐明。本实验通过不同浓度塞来昔布作用于乳腺癌 SKBR-3 细胞, 比较细胞增殖抑制率、Caspase-3 表达水平、PGE₂ 释放水平变化, 分析其可能的作用机制, 以为临床用药基础研究提供重要参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

人乳腺癌 SKBR-3 细胞株(中国科学院上海细胞库); 胎牛血清(Gibco, Australia); RPMI 1640 培养基(Gibco, USA); CCK-8 溶液(Cell Counting Kit-8, 上海碧云天公司); 前列腺素 E₂(PGE₂)ELISA 试剂盒(上海晶美生物公司); Western Blot 试剂盒(上海碧云天公司); Caspase-3 单克隆抗体(上海碧云天公司); GAPDH 抗体(上海碧云天公司); 辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠 IgG(H+L) (上海碧云天公司); BCA 蛋白浓度测定试剂盒增强型(上海

基金项目: 重庆市教委资助项目(KJ100308)

作者简介: 张丽, 女, 硕士, 初级药师 Tel: 13647684257
Tel: (023)68485038 E-mail: huangjiajun1964@163.com

E-mail: zhangshijli@163.com *通信作者: 黄家君, 男, 博士, 副教授

碧云天公司); 塞来昔布(辉瑞制药公司, 批号: 1000320, 规格: 0.2 g); 二甲基亚砷(DMSO, Sigma 公司)。

1.2 细胞培养和传代

SKBR-3 细胞用含 100 mL·L⁻¹ 胎牛血清的 RPMI 1640 完全培养基, 于 37 °C、5% CO₂ 饱和湿度条件下培养。待细胞生长呈单层铺满瓶底时, 用 2.5 g·L⁻¹ 的胰蛋白酶与 0.2 g·L⁻¹ EDTA 按 1:1 混合, 消化传代。

1.3 分组

塞来昔布溶解于 DMSO, 用无酚红的 RPMI 1640 培养液稀释到所需浓度, 并确保 DMSO 浓度 < 0.1%。实验分为 4 组, 取对数生长期细胞, 分别加入终浓度为 0, 20, 40, 80 μmol·L⁻¹ 的塞来昔布, 继续培养, 在不同时间点收集细胞。

1.4 实验方法

1.4.1 细胞形态观察 在培养皿中培养细胞, 加入不同浓度(20, 40, 80 μmol·L⁻¹)的塞来昔布后继续培养 24 h, 在倒置显微镜下观察细胞形态学变化。

1.4.2 CCK-8 法检测 SKBR-3 细胞增殖抑制情况 取对数生长期的 SKBR-3 细胞, 以 1×10⁵ 个·mL⁻¹ 的密度接种于 96 孔培养板, 每孔 200 μL。贴壁培养 24 h 后换液。4 个实验组加入塞来昔布使其终浓度分别为 0, 20, 40, 80 μmol·L⁻¹, 每一浓度、每个时间点均设 3 个复孔, 继续培养 24, 48 h。设加了细胞培养液、药物和 CCK-8 溶液的孔为调零孔, 其他每孔加入 20 μL CCK-8 溶液, 在细胞培养箱内继续孵育 1 h, 用酶标仪在 450 nm 处测定各孔光密度(OD)值, 按公式: 细胞增殖抑制率(%) = (1 - 实验组 OD 平均值 / 对照组 OD 平均值) × 100% 计算细胞增殖抑制率。

1.4.3 流式细胞仪检测细胞周期 取对数生长期的细胞, 常规消化, 制成单细胞悬液。计数并均以 1×10⁵ 个·mL⁻¹ 接种于培养瓶中, 分别加入不同浓度塞来昔布(0, 20, 40, 80 μmol·L⁻¹), 常规培养 48 h 后, 收集细胞, 制成单细胞悬液, 将细胞悬液加入离心管中, 800 r·min⁻¹ 离心 5 min, 弃上清; 以冰浴 PBS 缓冲液漂洗 2 遍, 沿管壁缓慢加入 4 °C 预冷的 750 mL·L⁻¹ 的冰乙醇重悬细胞, 分装到 1.5 mL 灭菌的 EP 管中, 4 °C 固定过夜; 测试前用 PBS 液漂洗, 离心弃固定液, 每管加入 100 mg·L⁻¹ RNA 酶 1 mL, 置于 37 °C 孵箱中 30 min; 然

后每管中加入 0.125 μg·L⁻¹ 碘化丙啶 1 mL 标记, 低温(2~8 °C)避光静置 30 min, 流式细胞仪进行检测分析, 实验重复 3 次。激发波长为 488 nm。

1.4.4 ELISA 法检测 SKBR-3 细胞前列腺素 E2 (PGE₂) 释放水平 将 SKBR-3 细胞接种于培养瓶, 贴壁后分别加入不同浓度的塞来昔布(0, 20, 40, 80 μmol·L⁻¹)继续孵育 24 h, 收集上清。取 0.5 mL 上清加入 0.1 mL HCl, 1 000 r·min⁻¹ 离心 10 min 收集上清, 再加入 0.1 mL NaOH 中和酸性化的样品。将 200 μL 标准品和样品分别加入相应孔中, 每孔设 3 个复孔, 按 PGE₂ ELISA 试剂盒的步骤进行。在酶联免疫检测分析仪上测定 450 nm 处的吸光度(A 值), 实验重复 3 次。

1.4.5 Western Blot 法分析 Caspase-3 蛋白质的表达 SKBR-3 细胞接种于培养瓶, 在对数生长期分别加入不同浓度(0, 20, 40, 80 μmol·L⁻¹)的塞来昔布处理细胞, 在 0, 2, 4, 6, 8, 16 h 共 5 个时间点收集细胞, 每瓶加入 100 μL SDS 裂解液, 1 μL 蛋白酶抑制剂 PMSF, 于 4 °C 裂解细胞, 并在 4 °C 14 000 r·min⁻¹ 离心 40 min。将上清移至新 EP 管中, 以 BCA 法测定蛋白质浓度。取 50 μg 蛋白质在 15% SDS-聚丙烯酰胺凝胶上进行电泳, 35 V、40 min 湿法电转移至 PVDF 膜上。Western Blot 检测: 5% 脱脂奶粉封闭 1 h, 分别加入 GAPDH 抗体和 Caspase-3 单克隆抗体(1:250)4 °C 过夜, TBST 洗膜 3 次, 每次 10 min, 加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗小鼠 IgG 二抗(1:1 000)室温 1 h, TBST 洗膜 3 次, 每次 10 min, 用超敏 ECL 化学发光试剂显色, 凝胶成像分析系统摄像分析。

1.5 统计学分析

采用 SPSS 17.0 统计软件, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 两样本均数比较采用成组 *t* 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 形态学观察

对照组: 细胞形态饱满, 呈多角形贴壁生长, 核膜、核仁轮廓明显, 细胞间紧密生长。塞来昔布 20 μmol·L⁻¹ 处理细胞 24 h 后细胞几乎无凋亡形态学变化; 40 μmol·L⁻¹ 处理细胞 24 h 后呈现凋亡的形态学变化: 少量细胞变圆, 体积变小, 细胞间隙变大, 细胞形状不规则, 部分漂浮; 80 μmol·L⁻¹ 处理细胞 24 h 后呈现凋亡的形态学变化: 大量细胞变圆变小, 形状不规则, 较多细胞表面出芽,

大量脱落漂浮,胞质浓缩,细胞碎片增多。

2.2 不同浓度塞来昔布对 SKBR-3 细胞的增殖抑制作用

不同浓度(20, 40, 80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的塞来昔布均可抑制 SKBR-3 细胞增殖,而且对 SKBR-3 细胞的抑制作用随着塞来昔布浓度的增加和作用时间的延长而增强,结果见表 1。

表 1 塞来昔布对 SKBR-3 细胞的抑制率($n=3$)

Tab 1 Growth-inhibiting effects of celecoxib on SKBR-3 cells($n=3$)

组别	抑制率/%	
	24 h	48 h
对照组	2.83±1.2	5.07±3.8
塞来昔布 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	10.41±3.3	23.55±1.7
塞来昔布 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	30.24±2.5	48.96±1.9
塞来昔布 80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	42.76±2.8	65.01±3.1

2.3 塞来昔布对 SKBR-3 细胞周期的影响

流式细胞仪结果显示:细胞周期各时相中,20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组与对照组之间的差异无明显统计学意义($P>0.05$),其余各浓度组随着药物浓度的增加, G_0/G_1 期细胞所占的比例明显增多, S 期及 G_2/M 期细胞比例明显下降,与对照组之间的差异均有统计学意义($P<0.05$)。结果见表 2。

表 2 不同浓度塞来昔布对 SKBR-3 细胞周期分布的影响

Tab 2 Effect of celecoxib on cell cycle of SKBR-3 cells by flow cytometry

组别	细胞周期/%		
	G_0/G_1 期	S 期	G_2/M 期
对照组	63.1±0.7	26.1±0.2	10.8±0.6
塞来昔布 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	62.2±0.9	26.0±1.2	11.9±0.6 ¹⁾
塞来昔布 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	68.5±1.9 ¹⁾	21.2±1.2 ¹⁾	10.3±1.0 ¹⁾
塞来昔布 80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	71.6±1.2 ¹⁾	19.4±0.7 ¹⁾	9.0±0.6 ¹⁾

注:与对照组比较,¹⁾ $P<0.05$

Note: Compared with control group,¹⁾ $P<0.05$

2.4 ELISA 法检测塞来昔布对 SKBR-3 细胞 PGE₂ 释放水平的影响

不同浓度(20, 40, 80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的塞来昔布均可明显减少 SKBR-3 细胞 PGE₂ 释放水平,其值分别为(61.46 ± 5.37), (47.66 ± 4.51), (32.74 ± 6.83) $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 。对照组的值为(80.62 ± 7.15) $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$,各组间的差异均有统计学意义($P<0.05$)。结果见图 1。

2.5 Western Blot 检测 Caspase-3 蛋白的表达变化在塞来昔布处理的 SKBR-3 细胞中,Caspase-3

蛋白在各浓度时间点都有表达。20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组,各个时间点 Caspase-3 表达量组间及与对照组之间的差异无统计学意义($P>0.05$); 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组,随

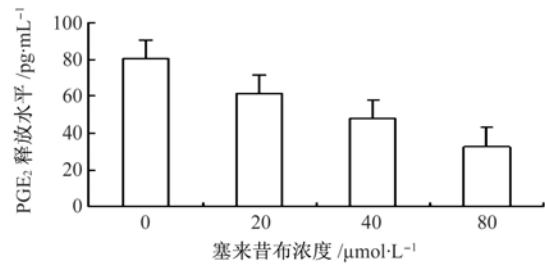


图 1 不同浓度塞来昔布对 SKBR-3 细胞 PGE₂ 释放水平的影响

Fig 1 Effect of Celecoxib on PGE₂ level of SKBR-3 cells by ELISA

作用时间延长,Caspase-3 的亚基逐渐被激活,表达呈上升趋势,与对照组之间的差异有统计学意义($P<0.05$); 80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组,Caspase-3 的亚基表达显著增加,作用 16 h 后 Caspase-3 的表达明显增强,Caspase-3 的亚基表达明显下降甚至无表达,与对照组之间的差异均有统计学意义($P<0.05$)。表明塞来昔布在细胞凋亡早期能促进 Caspase-3 活化,在细胞凋亡晚期 Caspase-3 的活性下降。结果见图 2。

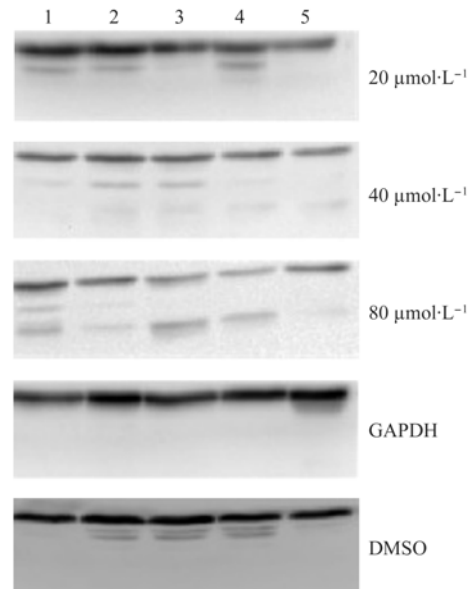


图 2 塞来昔布对 Caspase-3 蛋白表达的影响

1-塞来昔布作用 2 h 组; 2-塞来昔布作用 4 h 组; 3-塞来昔布作用 6 h 组; 4-塞来昔布作用 8 h 组; 5-塞来昔布作用 16 h 组

Fig 2 Effect of celecoxib on expression of Caspase-3 of SKBR3 cells by Western Blot

1-celecoxib 2 h; 2-celecoxib 4 h; 3-celecoxib 6 h; 4-celecoxib 8 h; 5-celecoxib 16 h

3 讨论

乳腺癌是发生在乳房腺上皮组织的一种恶性肿瘤，其发病率及死亡率均居女性恶性肿瘤首位。全世界每年约有 120 万女性被诊断患有乳腺癌；约 50 万妇女死于乳腺癌，占女性所有肿瘤的 18%。乳腺癌 5 年生存率 50%~60%，近 50% 患者治疗后复发转移。早发现、早诊断和早治疗是改善乳腺癌预后的重要因素。

已有研究表明：COX-2 在正常乳腺癌组织中表达水平很低，一般难以检测，仅在病理状态下，受细胞内外许多刺激因素的影响而过表达。在炎症过程中，COX-2 催化前列腺素合成，是一个关键诱导酶。其抑制剂则具有防治肿瘤的作用，许多抗肿瘤药主要通过抑制肿瘤细胞增殖或诱导肿瘤细胞凋亡而发挥作用^[3-4]。

1998 年，FDA 批准了新分子实体塞来昔布在美国上市。作为一种选择性非常高的 COX-2 抑制剂，塞来昔布因其靶向性强、不良反应小、在治疗剂量下对 COX-1 几乎无抑制作用等特点，被很多患者接受^[5]。

近年的实验研究及临床试验表明，塞来昔布除抗炎的主要作用外，其抗肿瘤作用也非常明确，对多种上皮癌均有抑制作用；但至今为止，其作用机制还不十分清楚。它对乳腺癌的作用机制，目前主要有以下观点：①对多种类型的肿瘤细胞均有抑制生长并诱导凋亡的作用^[5]，可能与其抑制核因子- κ B(nuclear factor-kappa B, NF- κ B)的活化有关。NF- κ B 的活化是大多数肿瘤耐药机制的中心环节，NF- κ B 是一类核转录因子，由 P₅₀ 和 P₆₅ 两个亚基组成；通常情况下，它位于细胞质中并与抑制亚基 I κ B 结合，处于未激活状态。当细胞受到外界各种因素刺激后，I κ B 经磷酸化而降解，失去 I κ B 抑制作用的 P₅₀/P₆₅ 遂转入细胞核中，处于激活状态，可与其下游基因启动子相结合，使目的基因激活，启动转录过程。NF- κ B 的目标启动基因包括 COX-2^[6]。塞来昔布可以通过抑制 NF- κ B 的活化发挥其诱导细胞凋亡的作用^[7]。在 Caspase 级联反应的下游，Caspase-3 被激活成亚基，裂解相应的细胞骨架和核结构，导致在凋亡晚期细胞皱缩、DNA 断裂。Caspase-3 能促进细胞凋亡^[8]。本研究用不同浓度(20, 40, 80 μ mol·L⁻¹)塞来昔布作用于 SKBR-3 细胞后，结果表明：①塞来昔布在细胞凋亡早期促进 Caspase-3 活化，在细

胞凋亡晚期 Caspase-3 的活性下降。②在肿瘤形成的早期阶段，肿瘤患者的 PGE₂ 水平可显著升高，PGE₂ 增加的同时伴有 COX-2 的过度表达，已证实 PGE₂ 在肿瘤的生长和增殖、抗凋亡及血管生成中发挥着重要的生物学作用^[9]。Prescott 等则认为塞来昔布可能通过抑制 COX-2 的活性，减少 PGE₂ 的合成，从而减少 bcl-2、H-ras、K-ras 等肿瘤基因表达，并通过旁分泌效应作用于周围细胞，实现对乳腺癌细胞生长的抑制作用^[10]。COX-2 作为其选择性抑制剂的靶目标，在与药物结合后，可影响 PGE₂ 合成，这可能是 NSAIDs 抑制肿瘤作用的主要机制。本研究也证实 SKBR-3 细胞中 PGE₂ 释放水平与塞来昔布浓度呈负相关。③Kundu 等^[11]认为 COX-2 抑制剂能够抑制乳腺癌细胞的生长，可能是其抑制了细胞的循环过程和增加了神经酰胺的水平。本研究的流式细胞分析结果显示：细胞周期各时相中，随着塞来昔布浓度的增加，G₀/G₁ 期细胞比例逐渐增加，S 期及 G₂/M 期细胞比例逐渐减少。另外，塞来昔布还可抑制肿瘤血管生成；抑制肿瘤细胞的侵袭和转移；促进细胞的免疫监测及肿瘤杀伤功能；原癌基因的激活和抑癌基因的缺失或突变；减少雌二醇的合成等。

综上所述，本研究通过不同浓度塞来昔布处理 SKBR-3 细胞后，采用 CCK-8 法检测其对 SKBR-3 细胞增殖活性的影响；用流式细胞仪检测细胞周期；ELISA 法检测 PGE₂ 的释放水平；Western Blot 法测定细胞 Caspase-3 被酶解激活情况，证实了塞来昔布可有效抑制乳腺癌细胞 SKBR-3 的增殖，并诱导其凋亡，其作用效果与剂量、作用时间呈正相关。本研究的结果不仅与其他研究结论相符，还详细探讨了不同浓度的塞来昔布在不同时间点对 SKBR-3 细胞抑制率、细胞周期和细胞凋亡趋势的影响；但详尽的作用机制仍不甚清楚，有待于进一步研究。

REFERENCES

- [1] ZHANG W, PAN Y L. Recombinant human endostatin combined with vinorelbine-cisplatin chemotherapy in treatment of human breast cancer xenograft in nude mice [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2011, 28(12): 1085-1090.
- [2] HARRIS R E, ALSHAFIE G A, ABOU-ISSA H, et al. Chemoprevention of breast cancer in rats by celecoxib, a cyclooxygenase 2 inhibitor [J]. Cancer Res, 2000, 60(8): 2101-2013.
- [3] TAKETO M M. Cyclooxygenase-2 inhibitors in tumorigenesis

- (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, 硕导 Tel: (020)81853842 E-mail: gzxn@163.com