

## 药物超敏检测方法的研究进展

凌晓静, 魏继福\*

江苏省肿瘤医院//江苏省肿瘤防治研究所//南京医科大学附属肿瘤医院药学部, 江苏南京 210009

**摘要:** 过敏性疾病的发病率逐年增高, 不仅会使患者的生活质量下降, 也给国家带来了巨大的社会和经济压力。药物作为主要的致敏物质来源之一, 是引起致死性超敏反应的重要原因。药物超敏反应(DHRs)的正确诊断对患者和医疗保健都是非常重要的, 决定能否维持原有一线治疗方案不变。现有DHRs的诊断主要基于详细的临床病史, 并且结合体内试验和(或)体外实验的结果进行综合判断。然而, 现有DHRs的诊断存在程序复杂、耗时, 需要训练有素的人员, 缺乏标准化药物、标准化体内试验和体外实验的操作流程等诸多限制, 这都阻碍了DHRs的确切诊断。该文概述了目前临床上可获得的DHRs诊断方法以及它们存在的局限, 并就现有问题指出后续的研究方向。

**关键词:** 药物超敏; 基因检测; 超敏反应; 皮肤试验

**DOI:** 10.20227/j.cnki.2096-3610.2025.02.003

## The research progress of detection methods for drug hypersensitivity

LING Xiaojing, WEI Jifu\*

Department of Pharmacology, Jiangsu Cancer Hospital//Jiangsu Institute of Cancer Research//The Affiliated Cancer Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210009, China

**Abstract:** The incidence of allergic diseases is increasing year by year, which not only results in a decrease in the quality of life for allergic patients but also causes enormous social and economic burdens on the country. Drugs, being one of the main sources of allergens, are an important cause of life-threatening hypersensitivity reactions. Correct diagnosis of drug hypersensitivity reactions (DHRs) is crucial for both allergic patients and healthcare providers, as it determines whether to maintain the existing first-line treatment. The current diagnosis for DHRs relies on the detailed clinical history, combined with the results of *in vivo* and/or *in vitro* tests. However, the currently available diagnostic methods for DHRs have many limitations, such as complex and time-consuming procedures, the need for well-trained professionals, a lack of standardized drugs, and standardized operating procedures for *in vivo* and *in vitro* tests, all of which hinder the accurate diagnosis of DHRs. The review will provide an overview of the currently available diagnostic methods for DHRs in clinical practice and their existing problems, subsequently point out future research directions based on these issues.

**Key words:** drug hypersensitivity; genetic testing; hypersensitivity; skin test

药物超敏反应(DHRs)是机体暴露于治疗剂量药物时引起的一种不良反应<sup>[1]</sup>, 近几十年内其发病率不断增加<sup>[2]</sup>。药物作为主要的致敏物质之一, 是引发致死性超敏反应的重要原因<sup>[3]</sup>。目前DHRs诊断是基于临床病史, 体内试验和(或)体外实验的结果综合判断, 其正确诊断可为患者临床用药提供安

全保障, 降低患者临床用药风险。然而, 目前DHRs的诊断存在程序复杂、耗时, 缺乏训练有素的人员、标准化的药物及操作流程等<sup>[4]</sup>, 这都阻碍了DHRs的确切诊断。本文将概述目前DHRs诊断现有的方法以及局限, 并就现有局限概述解决措施以及指出后续的发展方向。

收稿日期: 2024-09-01

基金项目: 国家自然科学基金(82271814), 江苏省科技计划专项基金(重点研发计划社会发展)(BE2023782)

作者简介: 凌晓静, 硕士, 初级药师, E-mail: 329007352@qq.com

通信作者: 魏继福, 博士, 教授, E-mail: weijifu@njmu.edu.cn

## 1 DHRs的分类

DHRs按照发生机制可分为免疫学和非免疫学介导。免疫学引起的DHRs根据Gell和Coombs可分为4大类:其中I、II和III型DHRs是抗体介导的,IV型超敏反应是T细胞介导的,DHRs主要以I和IV型最为常见<sup>[5-6]</sup>。非免疫学引起的超敏反应也称为非过敏性超敏反应,包括肥大细胞(mast cells, MCs)和(或)嗜碱性粒细胞的直接激活、药物特异质反应和细胞因子释放反应等<sup>[7-8]</sup>,如目前被批准用于临床的阳离子药物(氟喹诺酮类抗菌药物、神经肌肉阻断药物、阿片类药物、抗抑郁药和放射性造影剂等)均能够通过非IgE依赖途径直接激活MCs引起DHRs<sup>[9]</sup>。此外,也可按照暴露于药物后DHRs的发生时间可将其分为速发型超敏反应(I-DHRs)和迟发型药物超敏反应(NI-DHRs)。I-DHRs通常是指暴露于药物后1~6 h内出现的不良反应,部分患者可立即发生,半小时内达高峰<sup>[5]</sup>,主要包括IgE引起的I型超敏反应以及非过敏性药物超敏反应<sup>[8]</sup>。NI-DHRs则为暴露于药物6 h后到数天甚至数月发生的不良反应,主要通过抗体和(或)T细胞介导<sup>[5, 8]</sup>。然而,临床上因个体因素和药物代谢时间差异的存在,I-DHRs可以延迟发作而NI-DHRs也可能会提前发生<sup>[10]</sup>。

## 2 DHRs的诊断方法

DHRs的诊断主要基于详细的临床病史,并且结合体内试验和(或)体外实验的结果进行综合判断。体内试验是指使患者再次暴露于潜在致敏药物中,观察患者出现的各种临床表现和局部反应的一种试验<sup>[11]</sup>,主要包括皮肤试验(skin test, ST)和药物激发试验(drug provocation test, DPT)<sup>[17]</sup>;体外实验包括对风险基因、体液(如血液、尿液等)中特异性生物标志物以及基于超敏反应效应细胞开展的功能学分析,如嗜碱性粒细胞激发实验(basophil activation test, BAT)、肥大细胞激发实验(mast cell activation test, MAT)以及淋巴细胞转化实验(lymphocyte transformation test, LTT)等<sup>[12]</sup>。DHRs的诊断流程见图1。

### 2.1 临床病史

DHRs的诊断首先基于详细的临床病史,包括反应发生时的临床表现、基础疾病和伴随因素,潜在致敏药物的特征(包括用药后反应的发生时间、

停药后相关症状是否消失、该药物之前是否有类似的报道等)以及患者基本信息、既往药物过敏史和家族过敏史<sup>[11, 13]</sup>。尽管基于临床病史判断存在局限,但其是后续检测方法选择的重要参考依据<sup>[4]</sup>。

DHRs主要表现为皮肤症状,但也可累及其他器官或导致多系统损伤<sup>[11]</sup>。I-DHRs临床表现包括轻微的皮肤潮红和瘙痒,进一步可表现为荨麻疹、血管性水肿、喉头水肿、支气管痉挛、哮喘等,甚至严重过敏反应以及过敏性休克(多器官累及)<sup>[8, 11, 14-15]</sup>。NI-DHRs也通常以皮肤症状为主(临床上以多形性红斑或皮疹常见),当伴随其他系统性损伤的病变(最常累及淋巴结、血液系统和肝脏引起贫血、中性粒细胞减少症、血小板减少症及肝炎等,可危及生命)时被称为药物介导的超敏反应综合征(DIHS)或药物介导的迟发性多器官超敏反应综合征<sup>[11]</sup>。目前DIHS尚无统一的诊断标准,《DIHS诊治专家共识》(中国医师协会皮肤科医师分会变态反应性疾病专业委员会)(2018版)建议当出现以下临床表现或实验室指标异常时应考虑存在DIHS的可能:(1)迟发性皮疹:暴露于药物至皮疹出现时间间隔大于3周;(2)淋巴结肿大:≥2个部位的淋巴结肿大;(3)发热:体温>38℃;(4)内脏损害:丙氨酸氨基转移酶为正常值2倍以上、间质性肾炎、间质性肺炎或心肌炎;(5)血液学异常:白细胞升高或降低,嗜酸性粒细胞 $\geq 1.5 \times 10^9/L$ 或不典型淋巴细胞>5%;(6)复发病程:尽管停用诱发药物并给予治疗,疾病仍出现病情复发或加重<sup>[16]</sup>。符合前5条即可确诊DIHS。

### 2.2 体内检测

2.2.1 ST ST是广泛用于明确是否发生DHRs的诊断方法,它能够用于评估药物之间可能存在的交叉反应或者作为寻找其他安全替代药物的有效手段<sup>[17]</sup>。ST的应用局限主要为大多数药物缺乏确切的试验浓度<sup>[18]</sup>,目前仅有几种青霉素类(阿莫西林、克拉维酸)等药物的商业化诊断产品在部分国家可获得<sup>[19]</sup>。目前ST的操作流程已经被标准化,主要用于I-DHRs尤其是 $\beta$ -内酰胺类抗菌药物引起的超敏反应的诊断<sup>[20]</sup>,对于NI-DHRs的阳性率较低<sup>[21]</sup>。在开始ST前需要常规停用部分药物,包括H1抗组胺药、H2抗组胺药物、丙咪嗪/吩噻嗪以及糖皮质激素等<sup>[11, 22]</sup>。

ST包括SPT、PT和IDT<sup>[17]</sup>。SPT适用于I-DHRs的诊断<sup>[17]</sup>。SPT阳性的判断标准为当试验实施20 min后,潜在致敏药物引起的风团直径至少比阴性对照直径大3 mm,并且周围伴有红斑;该试验通

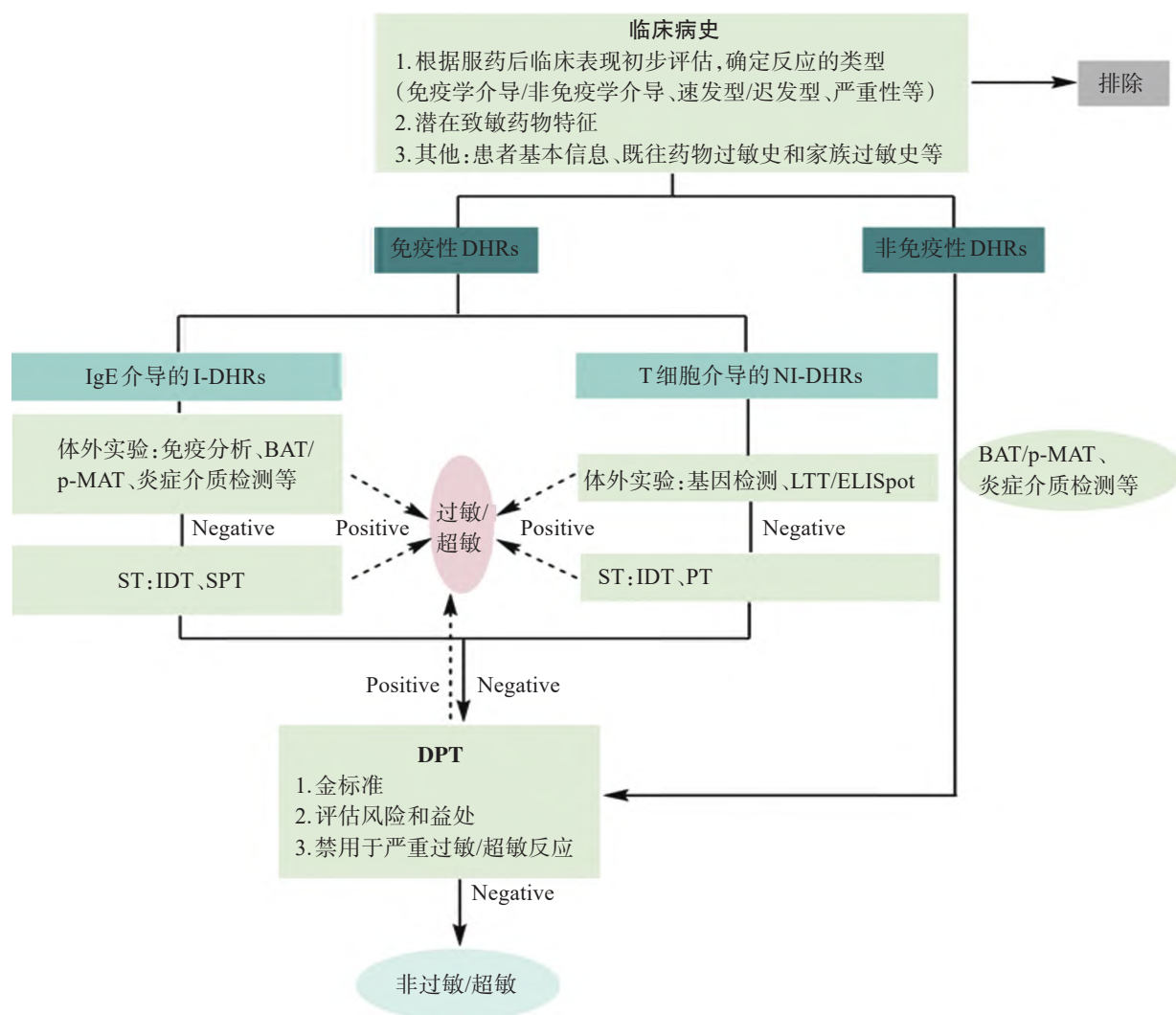


图1 DHRs的诊断流程

p-MAT: 被动肥大细胞激发实验; ELISpot: 酶联免疫斑点实验; SPT: 皮肤点刺试验; PT: 斑贴试验; IDT: 皮内试验。

常以 10 g/L 的组胺作为阳性对照,生理盐水和(或)稀释用的溶剂作为阴性对照<sup>[17]</sup>。SPT 的灵敏度较低,但是具有较好的特异性(98.8%)和阴性预测价值(85.7%)<sup>[23]</sup>。IDT 能够用于 I-DHRs 和 NI-DHRs 的诊断,其对  $\beta$ -内酰胺类抗菌药物、放射性造影剂、肝素、全身麻醉药和铂类化合物的灵敏度较高<sup>[17]</sup>。IDT 一般在前臂掌侧皮内注射约 0.02~0.05 mL 的药液,风团直径在注射后即刻以及注射 20 min 后测量,如果 20 min 后测量的风团直径大于或等于注射后即刻测量直径 3 mm 并且周围伴有红斑则可认为 IDT 阳性;对于 NI-DHRs 应延长时间进行结果判读<sup>[17]</sup>。PT 可作为 NI-DHRs 诊断的有用工具<sup>[24]</sup>,多用于非注射剂型药物或药物辅料引起的 NI-DHRs。PT 在评估急性全身性脓疱病(AGEP)和伴嗜酸性粒细胞增多和全身症状的药物皮疹(DRESS)方面具有良好的灵敏度以及耐受性,而在黄斑丘疹(MPE)

和中毒性表面坏死溶解症(TEN)中的灵敏度较低<sup>[17]</sup>。一项多中心临床研究表明 PT 是识别药物引起的严重皮肤不良反应(AGEP、DRESS、MPE 和 TEN 等)有效且安全的方法<sup>[24-25]</sup>。目前为止,国外或国内 ST 尚缺乏统一的测试浓度标准,在临床实践中药物具体的使用浓度需要结合指南建议,患者的皮肤状态和药物种类等实际情况综合考虑并调整,避免高浓度的测试药物引起的皮肤刺激反应,以获得皮肤试验的最佳试验浓度<sup>[11]</sup>。常见药物 ST 的推荐使用浓度见表 1。

**2.2.2 DPT** DPT 是确定是否存在 DHRs 以及寻找其他安全有效替代药物的金标准<sup>[26]</sup>,其是一种以寻求阴性结果为目的的体内试验。DPT 可以选择口服、鼻腔、吸入或静脉注射等途径,最终取决于潜在致敏药物的给药途径<sup>[4]</sup>。DPT 引发超敏性不良反应的风险通常会较局部的 ST 更高,有研究表明在基于

表1 常见药物ST的推荐使用浓度

| 药物名称   | SPT       | IDT       | PT |
|--------|-----------|-----------|----|
| 青霉素G   | 10 000 UI | 10 000 UI | 5% |
| 阿莫西林   | 20 g/L    | 20 g/L    | 5% |
| 氨苄西林   | 20 g/L    | 20 g/L    | 5% |
| 头孢菌素类  | 2 g/L     | 2 g/L     | 5% |
| 卡铂     | 10 g/L    | 1 g/L     | -  |
| 奥沙利铂   | 1 g/L     | 0.1 g/L   | -  |
| 顺铂     | 1 g/L     | 0.1 g/L   | -  |
| 肝素     | 原液        | 1/10 稀释   | 原液 |
| 阿达木单抗  | 50 g/L    | 50 g/L    | 原液 |
| 依那西普   | 25 g/L    | 5 g/L     | -  |
| 英夫利昔单抗 | 10 g/L    | 10 g/L    | -  |
| 奥马珠单抗  | 1.25 mg/L | 1.25 mg/L | -  |

DPT判断接受抗肿瘤药物治疗的患者是否发生超敏反应时约有30%的受试者出现了严重的超敏反应<sup>[27]</sup>,因此DPT禁用于曾出现致死性超敏反应的患者,且仅在经评估后益处大于风险时才可以开展。DPT的结果判读取决于患者暴露于药物后的主观或客观症状,如果用药后出现明显的超敏反应症状,被视为阳性结果;如未出现任何不良反应则为阴性结果;如果患者用药后出现强烈主观症状但是不能被临床客观检测指标证实,或是服药后引起与超敏反应无关症状时,则视为结果无法判读<sup>[11]</sup>。然而,目前DPT尚无标准化的操作流程,在实际的临床实践中试验剂量、剂量递增间隔和给药天数以及阳性结果判定等方面存在差异<sup>[28]</sup>。因此,后续仍然需要进一步研究以标准化DPT操作流程<sup>[4]</sup>。

### 2.3 体外检测

体内试验判定DHRs是否发生存在评估过程复杂、耗时、成本昂贵以及存在引发致敏反应的风险等局限<sup>[12]</sup>。考虑到体内检测方法存在的局限性,体外实验可作为另一个重要选择和补充有助于促进对DHRs的诊断,且几乎不会对患者产生任何检测风险<sup>[11]</sup>。虽然有许多体外实验可以帮助识别和诊断潜在的DHRs,但只有少数体外实验在DHRs诊断上有足够的证据支持,仍需要进一步的研究提高它们的灵敏度和特异性<sup>[12, 29]</sup>。体外实验通常是检测超敏反应急性期效应细胞表面激活标志物的表达,或检测它们释放的特异性炎症介质从而判断DHRs是否发生,此外部分体外实验有助于识别潜在的致敏药物<sup>[12]</sup>。然而,体外实验也存在一些局限:阴性结果无法排除DHRs的可能同时阳性结果虽然意味着患者对药物存在敏感性,但仍无法明确药物可以引起超

敏反应<sup>[11]</sup>。此外,对于药物代谢产物而非药物本身引起的DHRs则无法通过体外实验进行检测<sup>[11]</sup>。

**2.3.1 基因检测** 人类白细胞抗原(HLA)已经被报道参与了DHRs的病理生理过程<sup>[30]</sup>,具有某些HLA等位基因的患者在暴露于某些药物时严重皮肤不良反应的发生风险显著增加<sup>[31]</sup>。目前已发现某些特定的HLA等位基因的表达与DHRs存在高度遗传相关,如南亚人和欧洲人HLA-B\*15:02/HLA-B\*57:01与卡马西平诱导的史蒂文斯-约翰逊综合征(SJS)/TEN有关<sup>[32]</sup>,此外卡马西平引起的严重皮肤药物不良反应与HLA-B\*15:11、HLA-B\*15:18、HLA-A\*31:01也有关<sup>[11]</sup>;HLA-B\*13:01与复方新诺明/氨苯砜诱导的严重超敏反应有关<sup>[33]</sup>;HLA-B\*57:01与阿巴卡韦引起的超敏反应相关,可用于预测阿巴卡韦超敏反应,其检测灵敏度为45.5%~80.0%,特异性为97.6%~99.0%<sup>[34-37]</sup>;此外,HLA-II类等位基因与I-DHRs有关,包括HLA-DRB5和青霉素过敏有关;HLA-DRB1\*10:01和 $\beta$ -内酰胺类抗菌药物诱导的I-DHRs有关;此外,有研究指出HLA-DRB\*12:01可作为奥沙利铂超敏反应的遗传风险标志物<sup>[38]</sup>。这种带有特定的等位基因人群,暴露于某些药物后通常发生的DHRs类型为T细胞引起的NI-DHRs<sup>[11]</sup>。值得注意的是,HLA等位基因筛查与种族相关,不同的HLA等位基因发生的DHRs临床表型会随着患者所属的种族的不同而不同<sup>[11]</sup>。

**2.3.2 生物标志物检测** 在超敏反应的急性期,通过检测血清、血浆、尿液或相关组织中总IgE、特异性IgE(specific IgE, sIgE)、类胰蛋白酶、组胺及其代谢物等特异性标志物作为DHRs诊断的补充依据。

**2.3.2.1 总IgE/sIgE** 相比较于sIgE,总IgE水平不被认为是评估超敏反应的可靠标志物<sup>[22]</sup>。目前sIgE的检测主要是基于免疫分析法,用药物载体偶联物功能化的固相检测血清中药物的sIgE,主要的方法包括荧光免疫分析法(ImmunoCAP, Uppsala, Sweden),其中药物与聚L-赖氨酸共价结合;除了荧光免疫分析法还包括放射免疫分析或者酶联免疫分析,人血清白蛋白、氨基脂肪族间隔物和树状分子结构等也可被用作药物载体;纤维素、琼脂糖或二氧化硅颗粒等被用作固相<sup>[12]</sup>。基于ImmunoCAP的sIgE检测灵敏度通常比较低并与药物类型相关,但是特异性较高<sup>[12]</sup>。有研究指出基于免疫分析的sIgE检测用于 $\beta$ -内酰胺类抗菌药物过敏诊断时,灵敏度与过敏的严重程度、IgE浓度相关<sup>[39]</sup>,特异性与sIgE与总IgE的比值相关<sup>[40-41]</sup>。ImmunoCAP目前仅

适用于部分药物,如 $\beta$ -内酰胺类抗菌药物(阳性率为38%~85%)、神经肌肉阻断药(阳性率为44%~92%)及生物制剂(阳性率为26%~68%)<sup>[12, 42]</sup>。ImmunoCAP在检测生物类似物西妥昔单抗sIgE时的灵敏度为68%~92%,特异性为90%~92%<sup>[43]</sup>。sIgE测定作为体内试验重要的补充,特别适用于既往发生过非常严重DHRs的患者,或存在ST、DPT禁忌的患者<sup>[42]</sup>。然而,sIgE检测不能用于非IgE介导的DHRs的诊断,如绝大多数非甾体抗炎药、放射性造影剂等引起的DHRs<sup>[42]</sup>。

**2.3.2.2 类胰蛋白酶** 类胰蛋白酶为丝氨酸蛋白酶,是预存储于肥大细胞中的促炎介质之一,它的血清水平是诊断超敏最为常用的生物标志物之一<sup>[44]</sup>。目前,类胰蛋白酶的检测主要通过免疫测定法,但是目前缺乏成熟的检测体系,当其血清水平>11.4 mg/L时被认为存在超敏反应<sup>[12]</sup>。一项关于围手术期药物引起的严重超敏反应如过敏性休克的研究表明有66.6%的患者血清类胰蛋白酶水平>13.5 mg/L<sup>[45]</sup>,因此类胰蛋白酶水平能够较好地预测威胁生命的DHRs<sup>[46]</sup>。在急性期测定类胰蛋白酶可用于明确肥大细胞反应,其灵敏度和特异性分别为30.0%~94.1%、92.3%~94.4%<sup>[45, 47]</sup>。由于类胰蛋白酶的半衰期为90~120 min,应于症状出现后30~120 min检测其水平,并与基础水平进行比较<sup>[48]</sup>。

**2.3.2.3 组胺及其代谢物** 组胺为嗜碱性粒细胞和肥大细胞颗粒中释放的主要过敏介质,也是速发型超敏反应中最丰富和最重要的炎症介质,其血浆水平的灵敏度为61%~92%,特异性为51%~91%<sup>[12]</sup>。鉴于血清中组胺的半衰期比较短仅有20 min,因此可选择检测尿液中的组胺代谢产物N-甲基组胺和N-甲基咪唑乙酸,代谢物的半衰期可延长至24 h<sup>[46]</sup>。外周血清中组胺水平可通过放射免疫和酶联免疫吸附方法进行测定,其测定的灵敏度高于类胰蛋白酶<sup>[11]</sup>。

### 2.3.3 细胞分析

**2.3.3.1 皮肤活检** 皮肤活检是指使用组织学、免疫组化和(或)分子生物学方法来检测和定量累积在皮肤中的特异性细胞表面标记物和炎症介质<sup>[12]</sup>。皮肤活检操作简单,此外组织样本可以长时间储存并用于研究不同的细胞亚群和炎症介质<sup>[49]</sup>。然而,皮肤活检不能区分累及皮肤的DHRs和病毒感染引起的皮肤症状以及自身免疫性皮肤病,但是其能够区分正常皮肤以及严重的皮肤药物不良反应如AGEP、MPE、DRESS和SJS/TEN等<sup>[12]</sup>。

**2.3.3.2 细胞过敏原刺激实验** 嗜碱性粒细胞、肥大细胞是I-DHRs的主要效应细胞,T细胞作为NI-DHRs的主要效应细胞,在致敏药物的刺激下它们能够被激活,细胞表面表达激活标志物并释放相关炎症介质引起超敏反应的发生,因此可通过检测在药物刺激下细胞表面特异性标志物表达以及炎症介质释放从而实现DHRs的诊断。细胞过敏原刺激实验见图2。

**2.3.3.2.1 嗜碱性粒细胞** 嗜碱性粒细胞作为速发型超敏反应的主要效应细胞之一,基于其开展的功能性分析实验即BAT可通过流式细胞术检测在药物刺激下嗜碱性粒细胞的活化标志物<sup>[50]</sup>,该检测方法已被用于花粉、食物、毒素和药物等引起的超敏反应诊断。目前BAT尚未常规用于临床实践,但有研究表示其可以作为评估DHRs的辅助手段。BAT通常适用于当常规的体内试验和体外实验分析结果不明确时或与临床病史不一致、或经评估使用上述检测方法存在潜在风险或没有可用的试剂时<sup>[50]</sup>。尽管BAT具有潜在的优势,但它仍然存在一些缺点阻碍了其广泛的应用,包括收集的全血样本尽量在4 h内进行检测,不能实现对无反应患者的诊断以及BAT很难被标准化<sup>[51]</sup>。

鉴于患者的全血样本收集比较困难以及临床检测时限等原因,来源于大鼠嗜碱性白血病(RBL)细胞系的人源化或转染细胞系(RBL SX-38 和 RBL-48),该细胞系表达人IgE高亲和力受体(Fc $\epsilon$ R I)被应用于IgE介导的嗜碱性细胞激活以及后续脱颗粒的机制研究。然而,人源化细胞系的临床应用也存在诸多限制,包括在培养2周左右后它们的IgE结合能力下降<sup>[52]</sup>;这些细胞系通常需要供体血清中高滴度的sIgE和高比例的IgE受体被占据才会达到令人满意的结果<sup>[53]</sup>。存在于患者血清中的人类异种反应性免疫球蛋白IgG会导致细胞死亡和高背景(脱颗粒高达25%),通过稀释血清来降低背景可能导致嗜碱性粒细胞敏化欠佳,从而导致假阴性结果<sup>[54-55]</sup>。总之,基于人源化嗜碱性粒细胞系开展的BAT仍有诸多局限,实现临床常规化检测仍有很长的路要走。

BAT对青霉素类的灵敏度为22.0%~55.0%,对克拉维酸的灵敏度为52.7%,它们均具有良好的特异性为79%~96%<sup>[56]</sup>;对神经肌肉阻断药的灵敏度为64.0%~85.7%,特异性为93.0%~100.0%<sup>[57]</sup>,其中对罗库溴铵的灵敏度较高为91.7%<sup>[58]</sup>;对氟喹诺酮类抗菌药物的灵敏度为36.0%~71.0%,特异性为

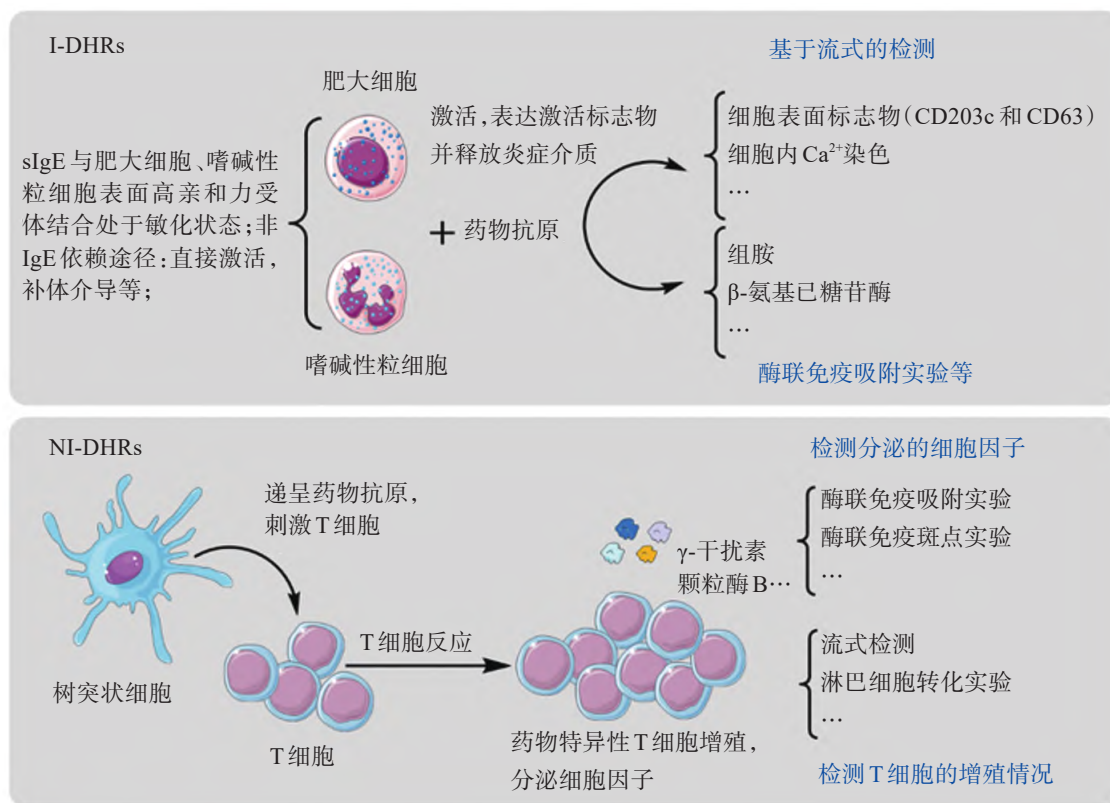


图2 细胞过敏原刺激实验

90.0%<sup>[59]</sup>。BAT被推荐用于 $\beta$ -内酰胺类抗菌药物、神经肌肉阻断药引起的超敏反应诊断,可作为其他体外实验的补充。在一些可能发生危及生命的超敏反应或高风险患者中,BAT被推荐用于包括ST等体内试验之前用于筛选<sup>[12]</sup>。

**2.3.3.2.2 肥大细胞** 组织聚集性MCs被认为是引起速发型超敏反应的另一主要效应细胞,由于组织聚集性的MCs相比于循环聚集性的嗜碱性粒细胞较难被获取,因此通常基于被动敏化的MCs开展功能性分析即p-MAT<sup>[60]</sup>。p-MAT主要依赖于定量检测在药物刺激下激发的MCs释放到上清液中的蛋白酶或炎症介质(如 $\beta$ -氨基己糖苷酶、组胺等)<sup>[61]</sup>。目前人源化或人肥大细胞系较少,有研究指出LAD2细胞系可用于评估花生过敏和检测花生口服免疫治疗的效果,基于LAD2细胞的p-MAT在特异性方面与BAT相当为98%,但诊断花生过敏的灵敏度较低为73%<sup>[62]</sup>。来源于人诱导多能干细胞(iPSCs)的人肥大细胞系iPSC-MCs也可用于p-MAT,但是该细胞系的寿命较短一般最多只能培养8个月,这也限制其在超敏反应诊断上的应用<sup>[63]</sup>。人原代MCs可以在细胞因子如干细胞因子、白介素(interleukin, IL)-3和IL-6等存在下诱导来源于脐带血、骨髓、胎儿肝细胞或外周血单核细胞( $\text{CD}34^{+}/$

$\text{CD}113^{+}$ )分化成熟为MCs而获得<sup>[64]</sup>,但是上述样本较难获得。

被动敏化的人培养MCs能够被用于研究IgE依赖性的MCs激活,相关研究表明相比于sIgE检测、SPT和BAT,p-MAT在区分有或无临床反应性花生过敏患者方面的诊断准确性更好<sup>[61]</sup>。此外,该研究也表明p-MAT不仅能用于蛋白质过敏原如花粉、食物和毒素等引起的超敏反应的诊断,也可以用于DHRs的诊断<sup>[61]</sup>。MCs表达Mas相关G蛋白偶联受体,该受体在非免疫速发型超敏反应特别是非免疫I-DHRs中具有重要的作用,可用于潜在致敏药物直接刺激MCs进行相关机制研究<sup>[65]</sup>。一项基于p-MAT和BAT诊断罗库溴铵超敏反应的研究提示,在无法开展BAT或在ST、sIgE检测结果不确定时,p-MAT可以替代BAT诊断罗库溴铵引起的超敏反应<sup>[66]</sup>。p-MAT作为一种极富潜力的诊断方法,特别是在常规体内试验和体外实验不可用或检测结果不确定的情况下可作为额外选择和重要的补充,但是仍需要大量研究寻找稳定的人MCs系为后续标准化p-MAT奠定基础。

**2.3.3.2.3 T细胞** LTT作为T细胞引起IV型超敏反应的体外诊断方法之一,该实验是基于药物特异性记忆T细胞的存在,在致敏药物的再次刺激下这些

T细胞能够增殖,通过检测特异性T细胞的增殖情况进而评估机体对药物的反应<sup>[67]</sup>。该试验通常是在临床症状消失后和类固醇激素治疗结束至少4周后进行<sup>[67]</sup>。LTT灵敏度和特异性不定,分别约为27.0%~88.8%和63.0%~100.0%,它们主要取决于致敏药物的类别(通常在 $\beta$ -内酰胺类抗菌药物、抗惊厥药物中较高)和临床症状<sup>[68-70]</sup>,其在MPE、AGEP和DRESS中的灵敏度较高,但在SJS/TEN中的灵敏度较低<sup>[11]</sup>。

ELISpot主要用于检测在致敏药物或其代谢物刺激下药物反应性T细胞释放相关细胞因子和细胞毒性标记物的含量<sup>[71]</sup>。药物反应性T细胞在反应数年后仍能够被检测,ELISpot具有较高的灵敏度当每百万外周血单个核细胞中含有100~256个细胞因子和细胞毒性标记物的分泌细胞即能够被检测故其适用于高通量筛选<sup>[72]</sup>。基于 $\gamma$ -干扰素的ELISpot被用于 $\beta$ -内酰胺类抗菌药物引起的NI-DHRs诊断;基于颗粒酶B的ELISpot被推荐用于非速发型超敏反应的细胞毒性机制研究;为了提高检测的准确性,可以同时检测两种或两种以上的细胞因子<sup>[73-74]</sup>。

### 3 结语

实现DHRs的确切诊断有助于为患者临床用药提供安全保障,降低患者临床用药风险。尽管目前体内试验以及体外实验在DHRs诊断上发挥了重要的作用,但是尚存在诸多局限,如缺乏标准化药物、操作流程以及结果评价标准,可靠的诊断标志物以及高灵敏度、特异性诊断方法等,这均是将来需要重点研究的。此外,DHRs的诊断需要结合临床病史、体内试验和(或)体外实验的结果进行综合判断,在具体病例中需要基于患者的具体情况综合考虑选择哪些检测方法,如何组合体内试验和(或)体外实验以及在DHRs急性期何时进行检测等,这些都将需要大规模临床试验进一步研究并明确。

#### 参考文献:

- [1] MAYORGA C, FERNANDEZ T D, MONTAÑEZ M I, et al. Recent developments and highlights in drug hypersensitivity[J]. *Allergy*, 2019, 74 (12): 2368-2381.
- [2] TORRES M J, DOÑA I. Drug hypersensitivity: past, present and future[J]. *Allergy*, 2024, 79 (3): 549-551.
- [3] JERSCHOW E, LIN R Y, SCAPEROTTI M M, et al. Fatal anaphylaxis in the United States, 1999-2010: temporal patterns and demographic associations[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2014, 134 (6): 1318-1328.
- [4] ARIZA A, MAYORGA C, BOGAS G, et al. Advances and novel developments in drug hypersensitivity diagnosis[J]. *Allergy*, 2020, 75 (12): 3112-3123.
- [5] DYKEWICZ M S, LAM J K. Drug hypersensitivity reactions[J]. *Med Clin North Am*, 2020, 104 (1): 109-128.
- [6] LABELLA M, DE SANTA MARÍA R S, BOGAS G, et al. Drug-induced anaphylaxis[J]. *Curr Pharm Des*, 2023, 29 (3): 196-208.
- [7] DEMOLY P, ADKINSON N F, BROCKOW K, et al. International consensus on drug allergy[J]. *Allergy*, 2014, 69 (4): 420-437.
- [8] 中国抗癌协会肿瘤整体评估专业委员会,福建省抗癌协会癌痛专业委员会,奥沙利铂超敏反应全程管理中国专家共识(2024年版)[J]. *中国癌症杂志*, 2024, 34 (8): 785-806.
- [9] CHOMPUNUD N A, AYUDHYA C, ALI H. Mas-related G protein-coupled receptor-X2 and its role in non-immunoglobulin E-mediated drug hypersensitivity[J]. *Immunol Allergy Clin North Am*, 2022, 42 (2): 269-284.
- [10] BIRCHER A J, SCHERER HOFMEIER K. Drug hypersensitivity reactions: inconsistency in the use of the classification of immediate and nonimmediate reactions[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2012, 129 (1): 263-264.
- [11] 中华预防医学会过敏病预防与控制专业委员会预防食物药物过敏学组. 药物过敏诊断和预防方案中国专家共识[J]. *中华预防医学杂志*, 2022, 56 (6): 682-706.
- [12] MAYORGA C, CELIK G, ROUZAIRE P, et al. In vitro tests for drug hypersensitivity reactions: an ENDA/EAACI drug allergy interest group position paper[J]. *Allergy*, 2016, 71 (8): 1103-1134.
- [13] BROCKOW K, ARDERN-JONES M R, MOCKENHAUPT M, et al. EAACI position paper on how to classify cutaneous manifestations of drug hypersensitivity[J]. *Allergy*, 2019, 74 (1): 14-27.
- [14] 辛文秀, 黄萍, 卢晓阳, 等. 紫杉醇制剂超敏反应预处理指导意见[J]. *中国现代应用药学*, 2019, 36 (8): 1023-1027.
- [15] 李丰, 刘碧波, 黎庆芬. 120例头孢曲松钠不良反应分析[J]. *广东医学院学报*, 2011, 29 (2): 181-184.
- [16] 中国医师协会皮肤科医师分会变态反应性疾病专业委员会. 药物超敏反应综合征诊治专家共识[J]. *中华皮肤科杂志*, 2018, 51 (11): 787-790.
- [17] BARBAUD A, ROMANO A. Skin testing approaches for immediate and delayed hypersensitivity reactions[J]. *Immunol Allergy Clin North Am*, 2022, 42 (2): 307-322.
- [18] PHILLIPS E. J, BIGLIARDI P, BIRCHER A J, et al. Controversies in drug allergy: testing for delayed reactions[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2019, 143 (1): 66-73.

- [19] ROMANO A, ATANASKOVIC-MARKOVIC M, BARBAUD A, et al. Towards a more precise diagnosis of hypersensitivity to beta-lactams-an EAACI position paper[J]. *Allergy*, 2020, 75 (6): 1300-1315.
- [20] BLANCA M, ROMANO A, TORRES M J, et al. Update on the evaluation of hypersensitivity reactions to betalactams[J]. *Allergy*, 2009, 64 (2): 183-193.
- [21] ROMANO A, BLANCA M, TORRES M. J, et al. Diagnosis of nonimmediate reactions to beta-lactam antibiotics [J]. *Allergy*, 2004, 59 (11): 1153-1160.
- [22] ANSOTEGUI I J, MELIOLI G, CANONICA G W, et al. IgE allergy diagnostics and other relevant tests in allergy, a world allergy organization position paper[J]. *World Allergy Organ J*, 2020, 13 (2): 100080.
- [23] INDRADAT S, VESKITKUL J, PACHARN P, et al. Provocation proven drug allergy in Thai children with adverse drug reactions[J]. *Asian Pac J Allergy Immunol*, 2016, 34 (1): 59-64.
- [24] ZINN Z, GAYAM S, CHELLIAH M P, et al. Patch testing for nonimmediate cutaneous adverse drug reactions[J]. *J Am Acad Dermatol*, 2018, 78 (2): 421-423.
- [25] BARBAUD A, COLLET E, MILPIED B, et al. A multi-centre study to determine the value and safety of drug patch tests for the three main classes of severe cutaneous adverse drug reactions[J]. *Br J Dermatol*, 2013, 168 (3): 555-562.
- [26] GRACIA-BARA M T, MORENO E, LAFFOND E, et al. Tolerability of iobitridol in patients with non-immediate hypersensitivity reactions to iodinated contrast media[J]. *Allergy*, 2019, 74 (1): 195-197.
- [27] MADRIGAL-BURGALETA R, BERNAL-RUBIO L, BERGES-GIMENO M P, et al. A large single-hospital experience using drug provocation testing and rapid drug desensitization in hypersensitivity to antineoplastic and biological agents[J]. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 2019, 7 (2): 618-632.
- [28] TORRES M J, CELIK G E, WHITAKER P, et al. A EAACI drug allergy interest group survey on how European allergy specialists deal with  $\beta$ -lactam allergy[J]. *Allergy*, 2019, 74 (6): 1052-1062.
- [29] BROCKOW K. Medical algorithm: diagnosis and treatment of radiocontrast media hypersensitivity[J]. *Allergy*, 2020, 75 (5): 1278-1280.
- [30] PAN R Y, DAO R L, HUNG S I, et al. Pharmacogenomic advances in the prediction and prevention of cutaneous idiosyncratic drug reactions[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2017, 102 (1): 86-97.
- [31] KHAN D A, Pharmacogenomics and adverse drug reactions: primetime and not ready for primetime tests[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2016, 138 (4): 943-955.
- [32] MOCKENHAUPT M, WANG C W, HUNG S I, et al. HLA-B\*57:01 confers genetic susceptibility to carbamazepine-induced SJS/TEN in Europeans[J]. *Allergy*, 2019, 74 (11): 2227-2230.
- [33] CHEN W T, WANG C W, LU C W, et al. The function of HLA-B\*13:01 involved in the pathomechanism of dapsone-induced severe cutaneous adverse reactions[J]. *J Invest Dermatol*, 2018, 138 (7): 1546-1554.
- [34] MALLAL S, NOLAN D, WITT C, et al. Association between presence of HLA-B\*5701, HLA-DR7, and HLA-DQ3 and hypersensitivity to HIV-1 reverse-transcriptase inhibitor abacavir[J]. *Lancet*, 2002, 359 (9308): 727-732.
- [35] OUSSALAH A, MAYORGA C, BLANCA M, et al. Genetic variants associated with drugs-induced immediate hypersensitivity reactions: a PRISMA-compliant systematic review[J]. *Allergy*, 2016, 71 (4): 443-462.
- [36] GUÉANT J L, ROMANO A, CORNEJO-GARCIA J A, et al. HLA-DRA variants predict penicillin allergy in genome-wide fine-mapping genotyping[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2015, 135 (1): 253-259.
- [37] NICOLETTI P, CARR D F, BARRETT S, et al. Beta-lactam-induced immediate hypersensitivity reactions: a genome-wide association study of a deeply phenotyped cohort[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2021, 147 (5): 1830-1837.
- [38] HSU H C, CHUNG W H, LIN Y C, et al. Clinical characteristics and genetic HLA marker for patients with oxaliplatin-induced adverse drug reactions[J]. *Allergol Int*, 2024, 73 (4): 580-586.
- [39] FONTAINE C, MAYORGA C, BOUSQUET P J, et al. Relevance of the determination of serum-specific IgE antibodies in the diagnosis of immediate beta-lactam allergy[J]. *Allergy*, 2007, 62 (1): 47-52.
- [40] VULTAGGIO A, MATUCCI A, VIRGILI G, et al. Influence of total serum IgE levels on the in vitro detection of beta-lactams-specific IgE antibodies[J]. *Clin Exp Allergy*, 2009, 39 (6): 838-844.
- [41] VULTAGGIO A, VIRGILI G, GAETA F, et al. High serum  $\beta$ -lactams specific/total IgE ratio is associated with immediate reactions to  $\beta$ -lactams antibiotics[J]. *PLoS One*, 2015, 10 (4): e0121857.
- [42] BROCKOW K. Detection of drug-specific immunoglobulin E (IgE) and acute mediator release for the diagnosis of immediate drug hypersensitivity reactions[J]. *J Immunol Methods*, 2021, 496: 113101.
- [43] CHUNG C H, MIRAKHUR B, CHAN E, et al. Cetuximab-induced anaphylaxis and IgE specific for galactose- $\alpha$ -1, 3-galactose[J]. *N Engl J Med*, 2008, 358 (11): 1109-1117.

- [44] GOLDEN D B K, WANG J, WASERMAN S, et al. Anaphylaxis: a 2023 practice parameter update[J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2024, 132 (2): 124-176.
- [45] DYBENDAL T, GUTTORMSEN A B, ELSAYED S, et al. Screening for mast cell tryptase and serum IgE antibodies in 18 patients with anaphylactic shock during general anaesthesia[J]. *Acta Anaesthesiol Scand*, 2003, 47 (10): 1211-1218.
- [46] ARIZA A, TORRES M J, MORENO-AGUILAR C, et al. Early biomarkers for severe drug hypersensitivity reactions[J]. *Curr Pharm Des*, 2019, 25 (36): 3829-3839.
- [47] BERROA F, LAFUENTE A, JAVALOYES G, et al. The usefulness of plasma histamine and different tryptase cut-off points in the diagnosis of perianaesthetic hypersensitivity reactions[J]. *Clin Exp Allergy*, 2014, 44 (2): 270-277.
- [48] VITTE J. Human mast cell tryptase in biology and medicine[J]. *Mol Immunol*, 2015, 63 (1): 18-24.
- [49] PAULMANN M, MOCKENHAUPT M. Severe drug-induced skin reactions: clinical features, diagnosis, etiology, and therapy[J]. *J Dtsch Dermatol Ges*, 2015, 13 (7): 625-645.
- [50] SANTOS A F, ALPAN O, HOFFMANN H J. Basophil activation test: mechanisms and considerations for use in clinical trials and clinical practice[J]. *Allergy*, 2021, 76 (8): 2420-2432.
- [51] GLÄSSNER A, WURPTS G, RÖSELER S, et al. In vitro detection of T cell sensitization by interferon- $\gamma$  secretion in immediate-type drug allergy[J]. *Clin Exp Allergy*, 2023, 53 (2): 222-225.
- [52] PASSANTE E. Mast cell and basophil cell lines: a compendium[J]. *Methods Mol Biol*, 2020, 2163: 127-144.
- [53] FALCONE F H, ALCOCER M J, OKAMOTO-UCHIDA Y, et al. Use of humanized rat basophilic leukemia reporter cell lines as a diagnostic tool for detection of allergen-specific IgE in allergic patients: time for a reappraisal?[J]. *Curr Allergy Asthma Rep*, 2015, 15 (11): 67.
- [54] WAN D, WANG X, NAKAMURA R, et al. Use of humanized RBL reporter systems for the detection of allergen-specific IgE sensitization in human serum[J]. *Methods Mol Biol*, 2020, 2163: 145-153.
- [55] PALMER G W, DIBBERN D A, JR BURKS A W, et al. Comparative potency of Ara h 1 and Ara h 2 in immunochemical and functional assays of allergenicity[J]. *Clin Immunol*, 2005, 115 (3): 302-312.
- [56] SANZ M L, GAMBOA P M, ANTÉPARA I, et al. Flow cytometric basophil activation test by detection of CD63 expression in patients with immediate-type reactions to betalactam antibiotics[J]. *Clin Exp Allergy*, 2002, 32 (2): 277-286.
- [57] KVEDARIENE V, KAMEY S, RYCKWAERT Y, et al. Diagnosis of neuromuscular blocking agent hypersensitivity reactions using cytofluorimetric analysis of basophils[J]. *Allergy*, 2006, 61 (3): 311-315.
- [58] EBO D G, BRIDTS C H, HAGENDORENS M M, et al. Flow-assisted diagnostic management of anaphylaxis from rocuronium bromide[J]. *Allergy*, 2006, 61 (8): 935-939.
- [59] BEN SAID B, BERARD F, BIENVENU J, et al. Usefulness of basophil activation tests for the diagnosis of IgE-mediated allergy to quinolones[J]. *Allergy*, 2010, 65 (4): 535-536.
- [60] EBO D G, BRIDTS C H, MERTENS C H, et al. Principles, potential and limitations of ex vivo basophil activation by flow cytometry in allergology: a narrative review[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2021, 147 (4): 1143-1153.
- [61] BAHRI R, CUSTOVIC A, KOROSEC P, et al. Mast cell activation test in the diagnosis of allergic disease and anaphylaxis[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2018, 142 (2): 485-496.
- [62] SANTOS A F, COUTO-FRANCISCO N, BÉCARES N, et al. A novel human mast cell activation test for peanut allergy [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2018, 142 (2): 689-691.
- [63] IGARASHI A, EBIHARA Y, KUMAGAI T, et al. Mast cells derived from human induced pluripotent stem cells are useful for allergen tests[J]. *Allergol Int*, 2018, 67 (2): 234-242.
- [64] ELST J, VAN DER POORTEN M M, VAN GASSE A L, et al. Mast cell activation tests by flow cytometry: a new diagnostic asset? [J]. *Clin Exp Allergy*, 2021, 51 (11): 1482-1500.
- [65] POREBSKI G, KWIECIEN K, PAWICA M, et al. Mas-related G protein-coupled receptor-X2 (MRGPRX2) in drug hypersensitivity reactions[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 3027.
- [66] ELST J, VAN HOUTDT M, VAN DER POORTEN M M, et al. Comparison of the passive mast cell activation test with the basophil activation test for diagnosis of perioperative rocuronium hypersensitivity[J]. *Br J Anaesth*, 2024, 132 (3): 483-490.
- [67] BELLÓN T, LERMA V, GUIJARRO J, et al. LTT and HLA testing as diagnostic tools in Spanish vancomycin-induced DRESS cases: a case-control study[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 959321.
- [68] HARI Y, FRUTIG-SCHNYDER K, HURNI M, et al. T cell involvement in cutaneous drug eruptions[J]. *Clin Exp Allergy*, 2001, 31 (9): 1398-1408.
- [69] SCHNYDER B, PICHLER W J. Skin and laboratory tests in amoxicillin- and penicillin-induced morbilliform skin eruption[J]. *Clin Exp Allergy*, 2000, 30 (4): 590-595.

- [70] THONG B Y, MIRAKIAN R, CASTELLS M, et al. A world allergy organization international survey on diagnostic procedures and therapies in drug allergy/hypersensitivity[J]. *World Allergy Organ J*, 2011, 4 (12): 257-270.
- [71] ESSER S, JABLONKA R, HEINEMANN F M, et al. Detection of abacavir hypersensitivity by ELISpot method [J]. *Inflamm Allergy Drug Targets*, 2012, 11 (3): 227-234.
- [72] FU M, GAO Y, PAN Y, et al. Recovered patients with Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis maintain long-lived IFN- $\gamma$  and sFasL memory response[J]. *PLoS One*, 2012, 7 (9): e45516.
- [73] POREBSKI G, PECARIC-PETKOVIC T, GROUX-KELLER M, et al. In vitro drug causality assessment in Stevens-Johnson syndrome-alternatives for lymphocyte transformation test[J]. *Clin Exp Allergy*, 2013, 43 (9): 1027-1037.
- [74] TANVARASETHEE B, BURANAPRADITKUN S, KLAEWSONGKRAM J. The potential of using enzyme-linked immunospot to diagnose cephalosporin-induced maculopapular exanthems[J]. *Acta Derm Venereol*, 2013, 93 (1): 66-69.

(责任编辑:刘建滔)