·综 述·

钙离子在类过敏机制及评价中的作用

徐梦婕[1,2]，陈华英[2]，邱云良[1,2]*，洪 敏[2]
（1. 中国医药工业研究总院，上海 201203；2. 上海益诺思生物技术股份有限公司，上海 200135）

摘要：钙离子作为重要的第二信使，参与机体各种反应，如与类过敏产生相关的细胞脱颗粒。细胞内钙离子水平改变的过程涉及许多受体、信号通路及钙离子流动通道，但目前研究结果尚不充分。现将总结与类过敏产生相关的细胞膜受体及进一步影响钙离子水平变化的信号通路、钙离子释放通道等，从多方面阐释钙离子在类过敏发生过程中的重要作用。通过了解钙离子在细胞脱颗粒过程中的作用，可以进一步明确药物作用的机制及影响因素，为药物安全性评价提供有效指标，便于早期预测及筛选。

关键词：钙离子；类过敏；G 蛋白偶联受体；信号通路；钙离子通道
中图分类号：R593.1；R34 **文献标志码：**A **文章编号：**1672-9188(2023)02-0178-08
DOI：10.13683/j.wph.2023.02.013

Role of calcium ion in the mechanism of pseudoallergy and non-clinical evaluation

XU Mengjie[1,2], CHEN Huaying[2], QIU Yunliang [1,2]*, HONG Min[2]
(*1. China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203, China; 2. Shanghai Innostar Bio-Tech Co., Ltd., Shanghai 200135, China*)

Abstract: Calcium ion is an important second messengers in a variety of body reactions, such as cell degranulation associated with pseudoallergy. The process of calcium ion change involves many receptors, signal pathways and calcium flow channels, but the research results are not enough. This article summarized the cell membrane receptors related to the development of pseudo-allergy, the signal pathways and calcium release channels that further affect the changes of calcium level, and explain the important role of calcium ion in the development of pseudo-allergy from various aspects. By understanding the role of calcium ions in the process of cell degranulation, to further clarify the mechanism and influencing factors of drug action, in order to provide effective indicators for drug safety evaluation, and facilitate early prediction and screening.

Key words: calcium ion; pseudoallergy; G protein-coupled receptor; signal pathway; calcium flow channel

钙离子在任何与炎症相关的反应中均起着重要作用，是常见的第二信使[1]，其通过多种信号通路参与细胞生长增殖及胞吐分泌介质等生理过程，该过程涉及膜受体、蛋白激酶相关通路等多种成分及路径。

一些药物首次接触机体后短时间内直接作用于炎症效应细胞，导致细胞脱颗粒释放炎症介质，产生类似过敏症状的不良反应，称为“类过敏反应”[2]。虽然类过敏反应的临床症状与药物过敏反应相似，表现为血管性水肿、荨麻疹、支气管痉挛和胃肠道反应以及皮肤潮红、头痛、低血压和休克（shock）等，但其不依赖免疫机制，有明显的剂量依赖性，且发生速度更快[3]。类过敏反应的发生机制尚未完全阐明，现阶段可以理解为某些药物在没有药物特异性免疫球蛋白（immunoglobulin，Ig）E、IgG 或 T 细胞等参与的情况下，直接激活过敏性炎症的效应细胞，

收稿日期：2022-08-16
作者简介：徐梦婕，硕士研究生，研究方向：药理学与毒理学，体外类过敏评价技术及方法的建立。
通信作者：邱云良，研究员，研究方向：新药临床前评价研究。
基金项目：上海市科委实验动物研究领域专项(19140901300)

通过非免疫刺激下的一些机制产生[4]。其可能涉及多种生物学机制，如直接刺激细胞激活 G 蛋白或者相关受体 Mas 相关基因（mas related gene，MRG）家族受体蛋白偶联受体（protein-coupled receptor，PR）X2，刺激补体系统产生级联反应；部分药物引起的类过敏反应则与其本身作用特点相关，如非甾体抗炎药物通过抑制环氧合酶和前列腺素合成引发类过敏反应，阿片类药物通过刺激阿片受体或联合刺激 G 蛋白引发类过敏症状产生。

以上涉及类过敏反应产生的机制，最终均通过细胞内各种信号通路传递信号，导致细胞产生胞吐作用释放炎症颗粒而发挥作用，也称为细胞脱颗粒。细胞内钙动员引起的细胞内钙离子水平的升高是引发脱颗粒发生的先决条件[5]。某些药物作用于细胞表面相应受体，通过各种通路传递信号，提高细胞内钙离子浓度，同时激活细胞膜上的钙离子释放通道，持续诱导细胞脱颗粒的发生。通过了解钙离子在细胞脱颗粒过程中的作用，可以进一步明确药物作用的机制及影响因素，为药物安全性评价提供有效指标，便于早期预测及筛选。

1 促使钙离子变化的上游受体及信号通路

类过敏反应的产生与多种机制相关，其中最常见的是药物直接作用于效应细胞（如肥大细胞、嗜碱性细胞等）的表面受体，这些受体均属于 G 蛋白偶联受体（G protein-coupled receptors，GPCR），位于钙离子释放信号的上游，可通过不同信号通路传递钙离子水平改变信号，最终导致类过敏反应的产生。

1.1 相关受体

1.1.1 MRG 家族受体

MRGPRX2 受体属于 GPCR，在神经细胞、肥大细胞及嗜碱性粒细胞等细胞中表达。早期研究中认为该家族基因与疼痛相关，随着研究不断深入，Porebski 等[6] 发现人源 MRGPRX2 受体及鼠源同类受体 MRGPRB2 是一些药物直接作用于肥大细胞导致细胞脱颗粒的特异性受体，该受体不仅可以被 P 物质以及部分基础促分泌素激活，也能被一系列已上市的肽类药物激活，导致注射部位产生类似过敏的症状[7]，如环丙沙星（ciprofloxacin）、苯磺顺阿曲库铵（cisatracurium besilate）和米库氯铵（mivacurium chloride）等主要是通过作用于 MRGPRX2 受体引起类过敏反应[8—10]。MRGPRX2 作为钙离子传递的上游受体之一，药物与其在细胞膜上结合后，首先激活与受体偶联的 G 蛋白。稍早研究表明，MRGPRX2 主要与百日咳毒素（pertussis toxin，PTX）敏感的 G 蛋白相互作用，以传递钙离子动员和细胞脱颗粒的信号[11]。近期研究表明，在人胚肾细胞 293 转染表达的条件下，MRGPRX2 可与 14 种 Gα 蛋白中的大多数偶联，进而参与下一步的信号传导[12]。

1.1.2 Toll 样受体（Toll-like receptor，TLR）

有学者总结认为，根据特点分析，类过敏反应属于固有免疫反应，中药注射剂等大分子杂质导致的类过敏反应可能是通过 TLR 信号通路作用[13]。TLR 是参与固有免疫的一类模式识别受体，在细胞膜上广泛表达。Subramanian 等[14] 报道称一些用于清除体内病原微生物的肽类物质可通过激活 MRGPRX2 引发肥大细胞趋化及细胞脱颗粒，同时肥大细胞释放的介质促进中性粒细胞募集并释放抗菌肽 LL-37 再次激活 MRGPRX2，该过程还会增加 TLR-4 在细胞表面的表达。也有学者认为，TLR 激活的肥大细胞不会直接引发细胞脱颗粒，而会导致炎症介质释放，主要包括肿瘤坏死因子 -α、白介素（interleukin，IL）-5、IL-6、IL-10 及半胱氨酰白三烯等[15]，这些介质的增多进一步使细胞脱颗粒引发的炎症反应持续。TLR 与细胞内钙离子水平的调节密切相关。Kong 等[16] 通过对相关文献进行整理提出，一些 TLR（如 TLR-2、TLR-3、TLR-4 等）能够通过调控细胞膜和细胞器上的不同钙离子通道及相关钙离子信号通路改变细胞钙离子水平，进而激活炎症效应细胞释放细胞因子；同时，被激活的钙离子信号通路也会继续刺激 TLR 相关的信号通路。

1.1.3 补体系统相关受体

哺乳动物补体系统包含 50 多种组分，广泛存

在于人和其他动物的血清中，控制生理和免疫的多个方面，可通过 3 种不同的途径激活，即经典途径、凝集素途径和替代途径。一些纳米类药物如脂质体类药物紫杉醇（taxol）、两性霉素 B（amphotericin B）及放射性造影剂等已被证实会通过激活补体系统导致类过敏反应[17]。补体激活过程中产生的一些具有炎症介质作用的活性片段 C3a、C5a 属过敏毒素，能够直接刺激肥大细胞及嗜碱性粒细胞膜表面的 GPCR，这些受体通过其偶联的下游信号传导及细胞内钙离子水平来介导细胞脱颗粒及炎症反应的发生[18]。研究显示，C3a 和 C5a 均可诱导人肥大细胞 -1（human mast cell line，HMC-1）中钙离子水平快速升高，钙离子动员有一定的剂量依赖性，但过程短暂，通常在 60 秒内恢复到基本水平，但 C3a 和 C5a 引发钙离子动员后的恢复速度可能不同；研究还证明，PTX 能够部分消除 C3a 介导的 HMC-1 细胞活化，并能完全消除 C5a 介导的活化，表明 G 蛋白参与人肥大细胞中补体活化的信号转导[19]。

1.1.4 凝血系统相关受体

有学者认为，凝血系统参与类过敏发生，致敏物质可能会激活凝血系统的内源性途径，并通过系列级联反应生成凝血酶，激活细胞表面蛋白酶激活受体（protease-activated receptor，PAR），进而导致细胞脱颗粒[20]。PAR 是一类 GPCR，作为凝血系统与炎症之间的联系桥梁，该家族中有 4 种类型的受体，即 PAR1 ～ 4[21]。肥大细胞表达 PAR-1 和 PAR-2，凝血系统激活产生的凝血酶可以直接通过 PAR-1 激活肥大细胞；凝血反应开始后组织因子与Ⅶ因子及Ⅹ因子形成复合物通过 PAR-2 激活肥大细胞，动员钙离子，促进细胞脱颗粒释放组胺等[22]。

1.2 相关的信号通路

细胞膜上的 GPCR 被激活后，会进一步活化与之偶联的 G 蛋白，相应的酶即被激活，然后继续通过相应的信号通路传递至钙离子内质网（endoplasmic reticulum，ER）上的钙库调控钙离子释放。

1.2.1 蛋白激酶相关通路

肌醇脂类物质的可逆磷酸化控制着细胞的多种功能，在各种信号传导中募集和激活各种信号分子，其中磷酸肌醇 3- 激酶（phosphatidylinositide 3-kinase，PI3K）及其下游的丝氨酸苏氨酸激酶（又称“Akt”）组成的 PI3K/Akt 通路的激活可引起一系列反应，包括细胞生长、增殖和转移等，也参与细胞钙离子水平改变的信号传递过程[23—24]。PI3K 由一个调节亚基（P85）和一个催化亚基（P110）组成，当相应的配体与膜受体结合时，P85 被激活开始募集 P110，P110 在细胞膜附近被激活，从而催化细胞膜内表面生成二磷酸磷脂酰肌醇，产生三磷酸磷脂酰肌醇，进而激活 3- 磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 1，使 Akt 磷酸化，组成 PI3K/Akt 通路[25]。已有研究显示，PI3K/Akt 通路与类过敏产生有关。Li 等[26] 研究发现，清开灵能够激活 PI3K 导致类过敏产生。Zhang 等[27] 研究发现，PI3K/Akt 作用于 MRGPRX2 下游，并通过提高细胞内钙离子水平来调节肥大细胞脱颗粒，即当 MRGPRX2 低表达时，LAD2 细胞内钙离子水平的提升受到抑制，而磷酸化 Akt 上调伴随着细胞内钙离子水平的升高，因此证明药物激活 MRGPRX2 后通过 PI3K/Akt 通路调节细胞内钙离子水平。

磷酸肌醇特异性磷脂酶 C（phospholipase C，PLC）在多种细胞中广泛表达，并参与各类生理过程，是钙离子信号通路中的关键蛋白。肌醇三磷酸（inositol triphosphate，IP3）是 PLC 反应的后续产物，PLC 水解 4,5- 二磷酸磷脂酰肌醇产生 IP3 及二酰甘油[28]。细胞内钙库主要依靠 ER 调节，ER 上的受体能接收钙离子的调节信号，其中包括可 IP3 受体，IP3 与 IP3 受体的结合导致钙动员“波”，释放 ER 储存的钙离子，触发细胞脱颗粒[29]。证据表明，细胞表面受体传递钙离子信号导致的细胞脱颗粒与 PLC 相关，例如细胞膜表面的补体受体 C3a 受体的激活诱导 G 蛋白活化，G 蛋白激活磷酸酯酶 C-β，导致细胞内蛋白激酶 C 活化增加和钙离子水平升高[30]。

Wang 等 [31] 研究发现，芍药苷可下调 PLC-γ 介导的钙离子内流及一些关键激酶的磷酸化水平，抑制由 C48/80 导致的类过敏反应。Lu 等 [32] 的研究结果也表明，PLC-γ 是钙离子信号通路的关键蛋白，亦是 MRGPRX2 介导的类过敏信号通路的关键成分。

不仅 PI3K，细胞外调节蛋白激酶（extracellular regulated protein kinases，ERK）在类过敏发生过程中亦有一定研究价值，ERK 包括 ERK1 及 ERK2，可在钙离子水平升高时活化，从而参与细胞脱颗粒的信号传导。Wang 等 [33] 研究报道，ERK1/2 有助于 MRGPRX2 介导的人肥大细胞脱颗粒的发生，ERK 可增强 MRGPRX2 激动剂 P 物质及 C48/80 引发的细胞脱颗粒；此过程还有 G 蛋白及其偶连的钙离子通道参与，虽然 ERK 激活可能需要几个并行的上游信号共同作用，但后续磷酸化 Akt 的出现完全取决于 G 蛋白。

1.2.2 RhoA/Rho 相关激酶（Rho-associated kinase，ROCK）

Ras 蛋白超家族是一类具有鸟苷三磷酸酶活性的蛋白质，因其分子量只有 20 ～ 30 KD 也被称为小 G 蛋白，其中 Rho 家族成员主要参与细胞骨架等的调节 [34]。Rho 家族中研究最多的 3 个成员是 RhoA、Rac 和 CDC42，其中 RhoA 与其下游效应蛋白酶，即 ROCK 组成的 RhoA/ROCK 信号通路通过调整血管通透性及平滑肌收缩等参与过敏和炎症反应 [35]。已有研究证明，RhoA/ROCK 信号通路与类过敏的发生相关。Han 等 [36] 发现，给予青霉素后，在小鼠的耳、肺以及内皮细胞中可观察到 RhoA/ROCK 信号通路的激活。一些针对天然药物中有效成分展开的研究得出类似结论 [37—38]。RhoA/ROCK 参与调控的过程较为复杂，目前认为主要有两种方式，一方面药物刺激受体通过与之偶连的 G 蛋白共同作用刺激 RhoA/ROCK 信号通路，并促进细胞内钙库储存钙离子水平的升高 [39]；另一方面药物通过 Rho/ROCK 信号通路刺激 Rho 酶，进而激活肌球蛋白轻链激酶 ROCK，引起肌球蛋白重排，促进细胞脱颗粒 [40]。但与其他蛋白酶通路不同的是，Rho/ROCK 信号通路可能并非通过直接作用调控肥大细胞及嗜碱性粒细胞钙离子水平，而是通过增加钙调蛋白促进 ER 产生钙离子，而引起细胞内钙离子水平相对增多，从而上调钙离子水平以发挥作用 [41]。

2 钙离子通道的开放

通过细胞膜及信号通路传递导致的细胞内钙离子水平升高通常伴随细胞内储存钙库的耗竭，这将进一步促进钙离子通道的开放。细胞膜上的钙离子通道是跨膜钙离子流动的中介，对于类过敏的效应细胞（肥大细胞及嗜碱性中性粒细胞）来说，钙离子的流入主要依靠非电压依赖的通道，如 Orai 蛋白组成的钙释放激活通道或瞬时受体电位通道（transient receptor potential channel，TRP）家族成员组成的瞬时受体电位钙通道 [42]。

2.1 钙释放激活钙离子通道（calcium release activated calcium channels，CRAC）

ER 和线粒体是激活钙离子通道、调节其功能的重要细胞器，是细胞内的钙库 [43]。非兴奋性细胞中，细胞外钙离子内流直接受 ER 钙库的影响。由细胞内钙库控制开放的通道属于钙库调控通道，现在一些研究称之为 CRAC [44]，该通道能够介导钙库耗竭之后的钙离子内流，使钙离子水平持续升高，完成特定的细胞反应及钙库的重新填充。

CRAC 由两个关键成分组成，即基质相互作用分子（stromal interaction molecule，STIM）和 Orai 蛋白 [45]。研究证明，CRAC 通道的组成蛋白与类过敏反应的发生有关。Occhiuto 等 [46] 的研究数据表明，MRGPRX2/MRGPRB2 介导的肥大细胞脱颗粒与 STIM1 参与的钙库调控钙离子通道开放相关，相关研究成果或能用于类过敏反应的治疗。Chaki 等 [47] 报道，使用 P 物质作为阳性药，作用于人及模型大鼠肥大细胞时，Orai 蛋白参与 MRGPRX2/MRGPRB2 介导的细胞脱颗粒，证明 CRAC 参与类

过敏反应的发生。STIM1 是一种单程跨膜蛋白，存在于 ER（部分也存在于质膜）中，通过其 EF 手域感知 ER 腔内的钙离子水平。ER 腔内钙减少导致钙库排空，ER 钙离子感器 STIM1 在 ER- 质膜连接处聚集，包含面向 ER 的钙离子结合域，当钙库接近耗竭，这些结构域直接与 CRAC 通道亚单位 Orai1 蛋白结合，以打开钙离子内流通道 [48]。Orai 蛋白是构成 CRAC 通道主要的配基蛋白，Orai1 蛋白及其异源多聚体 Orai2、Orai3 均参与构成钙离子通道 [49]。其中 Orai1 蛋白有助于 MRGPRX2 介导的 LAD2 细胞中的钙离子流入和介质释放；Orai1 蛋白与 Orai3 蛋白形成的二聚体亦有助于细胞颗粒的释放；Orai2 蛋白对脱颗粒的影响最小，且需要注意的是 Orai2 蛋白在人与鼠的表达上有差异 [47]。

2.2 瞬时受体电位钙通道

TRP 为 TRP 蛋白质超家族成员 [50]，由 28 种蛋白组成，可分为 6 个亚家族：典型 TRP（carnical transient receptor potential channel，TRPC）、香草素类 TRP（vanilloid transient receptor potential channel，TRPV）、M 型 TRP（melastatin transient receptor potential channel，TRPM）、锚蛋白 TRP、多囊蛋白 TRP 及粘脂蛋白 TRP 等，这些通道组成成分在炎症细胞中广泛表达 [51]。

近年来，有学者发现，TRP 蛋白可能也参与胞吐及细胞颗粒释放过程，并在肥大细胞的钙离子信号传导和激活中发挥重要作用 [52]。TRPM 家族是 TRP 超家族中最大、最多样化的亚族，共包含 8 个亚型，即 TRPM1 ～ 8，其中 TRPM2 和 TRPM8 可能通过直接刺激钙离子流入来参与细胞脱颗粒及促炎细胞因子的表达；TRPM2 和 TRPM4 通过使膜电位去极化降低钙离子的驱动力来负调节钙离子信号传导；TRPM7 通过其激酶结构域对肥大细胞脱颗粒产生至关重要的影响 [53]。

除了 TRPM，TRP 家族的其他成员亦被发现与细胞脱颗粒相关，如 TRPV 及 TRPC。Patterson 等 [53] 的研究结果表明，TRPC3 通道参与钙离子水平的调节，PLC-γ 与 TRPC3 可形成通道脂质结合复合物以调节钙离子内流，TRPC3 与 PLC-γ 之间的结合位点通过体外结合和酵母 2- 杂交分析映射到 TRPC3 中的一个小肽，形成的 TRPC3-PLC-γ 脂质结合复合物增加胞吐作用，促进细胞脱颗粒释放介质。TRPV4 钙离子通道也与 MRGPRX2 介导的类过敏反应相关，且 TRPV4 通道的激活独立于钙库调控的钙离子通道 [48]。Roy 等 [54] 总结，应用 PTX 处理 MRGPRX2 低表达的人类肥大细胞，可抑制抗菌肽 LL-37 诱导的 TRPV4 表达和肥大细胞脱颗粒，证明 TRPV4 与 MRGPRX2 激活导致的细胞脱颗粒相关，值得进一步研究 [54]。

3 钙离子检测的应用

由于钙离子水平的变化对于细胞脱颗粒来说至关重要。陈梦等 [55] 提出检测细胞内钙离子水平可用于评估药物是否产生类过敏作用。许多涉及类过敏反应的科学探索中，也已将钙离子变化水平作为评判类过敏反应的相关指标。

研究人员能够通过使用荧光显微镜、流式细胞术、荧光光谱和荧光酶标仪来检测细胞内游离钙离子水平的变化，检测中常用荧光探针对钙离子进行标记，如 Fura-、Indo- 和 Fluo- 衍生物等 [56]。王晓波等 [57] 采用流式细胞术测定细胞脱颗粒率和细胞内钙离子荧光强度的变化，采用激光扫描共聚焦显微镜技术检测细胞内钙离子荧光强度以及细胞骨架的变化，结果显示，细胞脱颗粒同时伴随细胞内钙离子荧光强度增加，细胞骨架发生变化。吴秀等 [58] 的研究结果表明，与传统方法相比，检测细胞内钙离子变化水平能更便捷、迅速地检测药物类过敏，用于药物安全性筛查。而在对类过敏机制研究中，尤其是研究药物作用靶点是否为 MRGPRX2 时，常用研究方法是测量细胞内的钙动员，即钙离子内流的情况。Liu[56] 等在对阿片受体激动剂的研究中，利用装载 Fluo3-AM 的 HEK-293-MRGPRX2 细胞进行钙成像观测，发现其均能很好地反映细胞内钙离子水平的变化，从钙离子变化的层面上观察细胞是否脱

颗粒。

4 结语

钙离子作为重要的第二信使，与细胞脱颗粒密切相关。现有研究显示，细胞脱颗粒过程中钙离子水平变化主要涉及两个过程，一是药物刺激细胞受体后通过一些信号传递至 ER 钙库引发钙库排空，细胞内钙离子水平迅速升高引发细胞脱颗粒；二是细胞内钙库排空以后触发细胞表面的一些钙离子通道，细胞外钙离子逐步进入胞内，引发进一步的细胞脱颗粒。相关的信号通路有蛋白激酶相关的 PI3K/Alt、PLC-IP3 受体及 Rho 家族的 Rho/ROCK 等，这些通路往往交互作用，将信号传达至 ER 的钙库中。释放钙离子信号产生以后，随着细胞内钙离子耗尽，通过 STAM-Orai1 组成的钙离子通道的开放介导细胞外钙离子内流，导致脱颗粒反应的持续发生。作为类过敏导致细胞脱颗粒的一个重要评价指标，钙离子水平的检测可提示类过敏产生的风险，目前常用的检测技术包括荧光共聚焦显微镜、钙成像及流式细胞术等。应用相关技术可对药物进行筛查，以保障药物的安全性。

参考文献：

[1] Patergnani S, Danese A, Bouhamida E, *et al*. Various aspects of calcium signaling in the regulation of apoptosis, autophagy, cell proliferation, and cancer[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(21): 8323.

[2] Wang H, Wang HS, Liu ZP. Agents that induce pseudo-allergic reaction[J]. Drug Discov Ther, 2011, 5(5): 211-219.

[3] Rajan TV. The Gall-Coombs classification of hypersensitivity reactions: a re-interpretation[J]. Trends Immunol, 2003, 24(7): 376-379.

[4] Pichler WJ, Hausmann O. Classification of drug hypersensitivity into allergic, P-I, and pseudo-allergic forms[J]. Int Arch Allergy Immunol, 2016, 171(3-4): 166-179.

[5] Grimbaldeston MA. Mast cell-MrgprB2: sensing secretagogues or a means to overreact?[J]. Immunol Cell Biol, 2015, 93(3): 221-223.

[6] 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.

[7] McNeil BD, 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.

[8] Zhang B, Li Q, Shi C, *et al*. Drug-induced pseudoallergy: a review of the causes and mechanisms[J]. Pharmacology, 2018, 101(1-2): 104-110.

[9] Kumar M, Duraisamy K, Chow BKC. Unlocking the non-IgE-mediated pseudo-allergic reaction puzzle with mas-related G-protein coupled receptor member X2(MRGPRX2)[J]. Cells, 2021, 10(5): 1033.

[10] Che D, Rui L, Cao J, *et al*. Cisatracurium induces mast cell activation and pseudo-allergic reactions via MRGPRX2[J]. Int Immunopharmacol, 2018, 62: 244-250.

[11] Ferry X, Eichwald V, Daeffler L, *et al*. Activation of βγ subunits of Gi2 and Gi3 proteins by basic secretagogues induces exocytosis through phospholipase Cβ and arachidonate release through phospholipase Cγ in mast cells[J]. J Immunol, 2001, 167(9): 4805-4813.

[12] Cao C, Kang HJ, Singh I, *et al*. Structure, function and pharmacology of human itch GPCRs[J]. Nature, 2021, 600(7887): 170-175.

[13] 段为钢, 张陆勇. 中药注射剂大分子杂质与类过敏反应: 线索与原理[J]. 云南中医学院学报, 2020, 43(1): 93-97.

[14] 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.

[15] 江玉翠, 叶凡, 杜莹, 等. 肥大细胞激活相关受体及其功能研究进展[J]. 生理学报, 2019, 71(4): 645-656.

[16] Kong F, You H, Zheng K, *et al*. The crosstalk between pattern-recognition receptor signaling and calcium signaling[J]. Int J Biol Macromol, 2021, 192: 745-756.

[17] Szebeni J. Complement activation-related pseudoallergy: a stress reaction in blood triggered by nanomedicines and biologicals[J]. Mol Immunol, 2014, 61(2): 163-173.

[18] Vandendriessche S, Cambier S, Proost P, *et al*. Complement receptors and their role in leukocyte recruitment and phagocytosis[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 624025.

[19] Hartmann K, Henz BM, Krüger-Krasagakes S, *et al*. C3a and C5a stimulate chemotaxis of human mast cells[J]. Blood,

1997, 89(8): 2863-2870.

[20] 杨艺帆, 谢家骏, 陈锰, 等. 中药注射剂类过敏反应机制的研究进展[J]. 中成药, 2019, 41(8): 1935-1940.

[21] Dugina TN, Kiseleva EV, Chistov IV, *et al*. Receptors of the PAR family as a link between blood coagulation and inflammation[J]. Biochemistry (Mosc), 2002, 67(1): 65-74.

[22] Tedeschi A, Kolkhir P, Asero R, *et al*. Chronic urticaria and coagulation: pathophysiological and clinical aspects[J]. Allergy, 2014, 69(6): 683-691.

[23] Fruman DA, Chiu H, Hopkins BD, *et al*. The PI3K pathway in human disease[J]. Cell, 2017, 170(4): 605-635.

[24] Lee MY, Luciano AK, Ackah E, *et al*. Endothelial Akt1 mediates angiogenesis by phosphorylating multiple angiogenic substrates[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2014, 111(35): 12865-12870.

[25] Ersahin T, Tuncbag N, Cetin-Atalay R. The PI3K/AKT/mTOR interactive pathway[J]. Mol Biosyst, 2015, 11(7): 1946-1954.

[26] Li Q, Zhang L, Gu L, *et al*. Pseudo-allergic reaction caused by Qingkailing injection partially via the PI3K-Rac1 signaling pathway in RBL-2H3 cells[J]. Toxicol Res (Camb), 2019, 8(3): 353-360.

[27] Zhang F, Hong F, Wang L, *et al*. MrgprX2 regulates mast cell degranulation through PI3K/AKT and PLCγ signaling in pseudo-allergic reactions[J]. Int Immunopharmacol, 2022, 102: 108389.

[28] Xu M, Zhu B, Cao X, *et al*. OSBP-related protein 5L maintains intracellular IP3/Ca^{2+} signaling and proliferation in T cells by facilitating PIP2 hydrolysis[J]. J Immunol, 2020, 204(5): 1134-1145.

[29] Gambardella J, Morelli MB, Wang X, *et al*. The discovery and development of IP3 receptor modulators: an update[J]. Expert Opin Drug Discov, 2021, 16(6): 709-718.

[30] Carpenter G, Hernández-Sotomayor SM, Nishibe S, *et al*. Growth factor phosphorylation of PLC-γ1[J]. Ciba Found Symp, 1992, 164: 223-233.

[31] Wang J, Zhang Y, Wang J, *et al*. Paeoniflorin inhibits MRGPRX2-mediated pseudo-allergic reaction via calcium signaling pathway[J]. Phytother Res, 2020, 34(2): 401-408.

[32] Lu ZF, Min J, Wu XC, *et al*. Andrographolide inhibits secretagogue-induced pseudo-allergic reaction[J]. J Asian Nat Prod Res, 2020, 22(11): 1065-1077.

[33] Wang Z, Franke K, Bal G, *et al*. MRGPRX2-mediated degranulation of human skin mast cells requires the operation of Gαi, Gαq, Ca^{2+} channels, ERK1/2 and PI3K – interconnection between early and late signaling[J]. Cells, 2022, 11(6): 953.

[34] Hall A. Rho family GTPases[J]. Biochem Soc Trans, 2012, 40(6): 1378-1382.

[35] Amano M, Nakayama M, Kaibuchi K. Rho-kinase/ROCK: a key regulator of the cytoskeleton and cell polarity[J]. Cytoskeleton (Hoboken), 2010, 67(9): 545-554.

[36] Han J, Yi Y, Li C, *et al*. Involvement of histamine and Rho-ROCK in penicillin immediate hypersensitivity reactions[J]. Sci Rep, 2016, 6(1): 1-14.

[37] 韩佳寅. Rho-ROCK信号通路在青霉素和双黄连注射液类过敏反应中的作用研究[D]. 北京: 中国中医科学院, 2017.

[38] Han J, Zhang Y, Pan C, *et al*. Forsythoside A and forsythoside B contribute to Shuanghuanglian injection-induced pseudoallergic reactions through the Rho-ROCK signaling pathway[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(24): 6266.

[39] Wright DB, Tripathi S, Sikarwar A, *et al*. Regulation of GPCR-mediated smooth muscle contraction: implications for asthma and pulmonary hypertension[J]. Pulm Pharmacol Ther, 2013, 26(1): 121-131.

[40] Futosi K, Fodor S, Mócsai A. Reprint of neutrophil cell surface receptors and their intracellular signal transduction pathways[J]. Int Immunopharmacol, 2013, 17(4): 1185-1197.

[41] 韩佳寅, 易艳, 梁爱华, 等. Rho/ROCK信号通路研究进展[J]. 药学报, 2016, 51(6): 853-859.

[42] Kozak JA, Rychkov G. Electrophysiological methods for recording CRAC and TRPV5/6 channels[M]. // Kozak JA, Putney Jr JW. Calcium Entry Channels in Non-Excitable Cells, Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis, 2018: 1-24.

[43] Parekh AB. Regulation of CRAC channels by Ca^{2+}-dependent inactivation[J]. Cell Calcium, 2017, 63: 20-23.

[44] 陈晓芳, 李丛鑫, 王鹏业, 等. 钙释放激活钙离子通道的发现及研究现状[J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 2009, 37(6): 103-107.

[45] Mullins FM, Park CY, Dolmetsch RE, *et al*. STIM1 and calmodulin interact with Orai1 to induce Ca^{2+}-dependent inactivation of CRAC channels[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106(36): 15495-15500.

[46] Occhiuto CJ, Kammala AK, Yang C, *et al*. Store-operated calcium entry via STIM1 contributes to MRGPRX2 induced mast cell functions[J]. Front Immunol, 2020, 10: 3143.

[47] Chaki S, Alkanfari I, Roy S, *et al*. Inhibition of orai channel function regulates Mas-related G protein-coupled receptor-mediated responses in Mast cells[J]. Front Immunol, 2022, 12: 803335.

[48] Woo JS, Srikanth S, Gwack Y. Modulation of Orai1 and STIM1 by cellular factors[M]. // Kozak JA, Putney Jr JW. Calcium Entry Channels in Non-Excitable Cells, Boca Raton(FL): CRC Press/Taylor & Francis, 2018: 73-92.

[49] Hoth M, Niemeyer BA. The neglected CRAC proteins: Orai2, Orai3, and STIM2[J]. Curr Top Membr, 2013, 71: 237-271.

[50] 贾振华, 黄渊, 唐景峰, 等. TRP通道超家族的基本特征及其与疾病的关系[J]. 生命科学, 2020, 32(9): 903-914.

[51] Huang Y, Fliegert R, Guse AH, *et al*. A structural overview of the ion channels of the TRPM family[J]. Cell Calcium, 2020, 85: 102111.

[52] Zierler S, Hampe S, Nadolni W. TRPM channels as potential therapeutic targets against pro-inflammatory diseases[J]. Cell Calcium, 2017, 67: 105-115.

[53] Patterson RL, van Rossum DB, Nikolaidis N, *et al*. Phospholipase C-γ: diverse roles in receptor-mediated calcium signaling[J]. Trends Biochem Sci, 2005, 30(12): 688-697.

[54] Roy S, Ayudhya CCN, Thapaliya M, *et al*. Multifaceted MRGPRX2: new insight into the role of mast cells in health and disease[J]. J Allergy Clin Immunol, 2021, 148(2): 293-308.

[55] 陈梦, 李伟, 王雪, 等. 药物类过敏反应发生机制及临床前评价方法研究进展[J]. 中国新药杂志, 2017, 26(1): 51-59.

[56] Liu R, Wang J, Zhao T, *et al*. Relationship between MRGPRX2 and pethidine hydrochloride-or fentanyl citrate-induced LAD2 cell degranulation[J]. J Pharm Pharmacol, 2018, 70(12): 1596-1605.

[57] 王晓波, 韩静, 刘珍清, 等. 清开灵注射液致RBL-2H3细胞脱颗粒过程与钙离子相关性研究[J]. 北京中医药大学学报, 2013, 36(12): 829-832.

[58] 吴秀, 江益平, 李娜, 等. 钙离子变化应用于中药注射剂类过敏性评价的可行性研究[J]. 中药药理与临床, 2016, 32(4): 150-153.

(编辑：王　佳)