九肽激活肥大细胞致类过敏反应的作用及其机制Δ

陈晓敏*，刘　娜，张丽娜，李友佳#（西安交通大学第二附属医院药学部，西安　710004）

中图分类号　R965　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2023）24-2995-05
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2023.24.07

摘　要　目的　探讨九肽IVQKIKHCF激活肥大细胞引发类过敏反应的作用及潜在机制。**方法**　以人肥大细胞系LAD2为对象，以P物质为阳性对照，通过检测β-氨基己糖苷酶释放率、组胺释放量、炎症因子释放量来考察25、50、100 μmol/L IVQKIKHCF的激活作用；分别以敲低*MrgprX2*的LAD2细胞和Mas相关G蛋白偶联受体X2（MRGPRX2）高表达的人胚胎肾细胞系HEK293（MRGPRX2/HEK293细胞）为对象，通过检测β-氨基己糖苷酶释放率和细胞内钙离子浓度来评价IVQKIKHCF激活作用与MRGPRX2的相关性。**结果**　25、50、100 μmol/L的IVQKIKHCF可显著提高LAD2细胞的β-氨基己糖苷酶释放率和组胺释放量（$P<0.05$），并不同程度地促进肿瘤坏死因子α、白细胞介素8、巨噬细胞炎症蛋白1β、单核细胞趋化蛋白1的释放（$P<0.05$）；敲低*MrgprX2*后，25、50、100 μmol/L的IVQKIKHCF对LAD2细胞β-氨基己糖苷酶释放的促进作用被显著逆转（$P<0.05$），且可升高MRGPRX2/HEK293细胞内的钙离子浓度。**结论**　九肽IVQKIKHCF可通过激活MRGPRX2而促进肥大细胞释放颗粒物质和炎症介质，从而引发类过敏反应。

关键词　九肽；IVQKIKHCF；肥大细胞；类过敏反应；Mas相关G蛋白偶联受体X2

Effects and mechanism of anaphylactoid reaction induced by nonapeptide activating mast cells

CHEN Xiaomin，LIU Na，ZHANG Lina，LI Youjia（Dept. of Pharmacy，the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University，Xi'an 710004，China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To study the effects and potential mechanism of anaphylactoid reaction induced by nonapeptide IVQKIKHCF activating mast cells. **METHODS** Using human mast cell line LAD2 as subject，and substance P as positive control，the activation effects of 25，50 and 100 μmol/L IVQKIKHCF on mast cells were investigated by determining the release rate of β-aminohexosidase，histamine release，and the contents of inflammatory factors；using *MrgprX2*-knockdown LAD2 cells and Mas-related G protein-coupled receptor X2（MRGPRX2）high-expression human embryonic kidney cell line HEK293（MRGPRX2/HEK293 cells）as subject，the correlation between the activation effect of IVQKIKHCF and MRGPRX2 was investigated by determining the release rate of β-aminohexosidase，and intracellular calcium ion concentration. **RESULTS** IVQKIKHCF with 25，50，100 μmol/L could significantly increase the release rate of β-aminohexosidase and histamine release in LAD2 cells（$P<0.05$），and promote the release of tumor necrosis factor-α，interleukin-8，macrophage inflammatory protein-1β and monocyte chemotactic protein-1 to varying degrees（$P<0.05$）. After knocking down *MrgprX2*，the effects of 25，50，100 μmol/L IVQKIKHCF promoting the release of β-aminohexosidase in LAD2 cells were reversed significantly（$P<0.05$），resulting in an increase of calcium ion concentration in MRGPRX2/HEK293 cells. **CONCLUSIONS** Nonapeptide IVQKIKHCF can promote mast cells to release granular matter and inflammatory mediators by activating MRGPRX2 thus inducing anaphylactoid reaction.

KEYWORDS　nonapeptide；IVQKIKHCF；mast cell；anaphylactoid reaction；Mas-related G protein-coupled receptor X2

多肽在内分泌、免疫、神经系统等生命活动中发挥了重要作用，目前已有上百种多肽药物获批上市，被广泛用于抗肿瘤、抗病毒、降糖等领域[1-2]。同时，多肽药物因活性高、剂量小、毒副作用少等优点，已成为新药研发的热点之一[3]。尽管多肽药物安全性较高，但仍会引发红肿、皮疹、瘙痒、荨麻疹甚至过敏性休克等多种不良反应，临床仍需予以关注。其中，多肽药物致过敏样症状不属于典型的Ⅰ型超敏反应，其严重程度与药物注射剂量密切相关，且可能与肥大细胞直接活化所致药物类过敏反应相关，如艾塞那肽引起的过敏性休克、万古霉素引起的严重"红人综合征"等[4-6]。

Mas相关G蛋白偶联受体X2（Mas-related G protein-coupled receptor X2，MRGPRX2）是表达于肥大细胞的一类G蛋白偶联受体[7]。研究显示，激活后的MRGPRX2可促使肥大细胞活化，导致胞内钙离子含量迅速升高，并进一步释放颗粒物质和过敏介质，从而引起类过敏反应[8-9]。有研究证实，P物质（substance P，SP）、促分泌素等内源性多肽和阿片类、四氢异喹啉类、

Δ**基金项目**　陕西省科技计划项目（No.2023-JC-QN-0805）

＊**第一作者**　主管药师。研究方向：临床药学、医院药事管理。E-mail：3720415849@126.com

＃**通信作者**　主管药师，硕士。研究方向：临床药学、医院药事管理、药物安全性。E-mail：lyjfanly@163.com

喹诺酮类等小分子药物均可通过直接激活MRGPRX2而引发类过敏反应[10-11]；此外，艾替班特、奥曲肽、西曲瑞克等多肽药物也被证实可通过MRGPRX2激活肥大细胞而引发皮疹、瘙痒甚至过敏性休克等类过敏反应症状，表明MRGPRX2是介导多肽药物致类过敏反应的关键受体[12-13]。

为提高多肽药物的临床安全性、降低多肽药物临床试验的失败率，多项研究针对多肽结构及其激活MRGPRX2的作用进行了评价，发现大多数可激活MRGPRX2的多肽具有相似的序列，包括带正电荷的氨基酸（如赖氨酸、精氨酸）和脂肪族氨基酸（如丙氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸）；同时，这类多肽在pH7.0下通常带正电荷，且所含疏水氨基酸比例较高[14-15]。本课题组前期基于SP等肽类物质开展了一系列结构分析及活性评价，构建了一个小分子肽（十一肽以内）化合物库，并从中发现了一种可激活肥大细胞的九肽IVQKIKHCF[由异亮氨酸（Ile）、缬氨酸（Val）、谷氨酰胺（Gln）、赖氨酸（Lys）、组氨酸（His）、半胱氨酸（Cys）、苯丙氨酸（Phe）组成，即H_2N-Ile-Val-Gln-Lys-Ile-Lys-His-Cys-Phe-COOH]。在此基础上，本研究拟进一步证实IVQKIKHCF对肥大细胞的激活作用是否与MRGPRX2有关，旨在为多肽药物的设计与开发提供实验基础。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括MCO-15AC型CO_2细胞培养箱（日本Sanyo公司）、800TS型酶标仪（美国BioTek公司）、LCMS-8040型三重四极杆液质联用仪（日本Shimadzu公司）、Ti-U型倒置荧光显微镜（日本Nikon公司）等。

1.2 主要药品与试剂

IVQKIKHCF[纯度98%（经高效液相色谱法测定）]由南京肽业生物科技有限公司合成、表征；胎牛血清购自美国Gibco公司；DMEM培养基购自美国Corning公司；StemPro-34培养基购自美国Invitrogen公司；Opti-MEM培养基购自美国HyClone公司；100×青-链霉素双抗购自依科赛生物科技（太仓）有限公司；SP购自西安易飞生物科技有限公司；β-氨基己糖、氘代组胺（内标）均购自美国Sigma-Aldrich公司；Lipofectamine 2000转染试剂、Fluo-3 AM/钙离子荧光探针均购自美国Invitrogen公司；Q5®定点突变试剂盒购自美国NEB公司；人肿瘤坏死因子α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）、白细胞介素8（interleukin-8，IL-8）、巨噬细胞炎症蛋白1β（macrophage inflammatory protein-1β，MIP-1β）、单核细胞趋化蛋白1（monocyte chemotactic protein-1，MCP-1）酶联免疫吸附测定（ELISA）检测试剂盒均购自北京义翘神州生物技术有限公司；*MrgprX2*干扰小RNA（small interfering RNA，siRNA）片段和作为阴性对照的无序siRNA片段均由苏州吉玛基因股份有限公司设计、合成，前者上、下游序列分别为5′-GUACAACAGUGAAUGGAAATT-3′、5′-UUUCCAUUCACUGUUGUACTT-3′，后者上、下游序列分别为5′-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3′、5′-ACGUGACACGUUCGGAGAATT-3′。

1.3 细胞

人肥大细胞系LAD2细胞由美国国立卫生研究院（National Institutes of Health，NIH）赠予；人胚胎肾细胞系HEK293细胞和高表达MRGPRX2的人胚胎肾细胞系HEK293细胞（MRGPRX2/HEK293细胞）由赛业（广州）生物科技有限公司提供。

2 方法

2.1 细胞培养

将LAD2细胞接种于含有Gln、100×青-链霉素双抗、人干细胞生长因子和StemPro-34营养补液的StemPro-34培养基中，在37 ℃、5%CO_2条件下培养。将HEK293细胞和MRGPRX2/HEK293细胞分别接种于含有胎牛血清和100×青-链霉素双抗的DMEM培养基中，在37 ℃、5%CO_2条件下培养。

2.2 β-氨基己糖苷酶释放率的测定

将LAD2细胞按1×10^5个/孔接种于96孔板（每孔100 μL）中，于37 ℃下培养过夜；以1 500 r/min离心5 min后吸弃上清液，将细胞分为阳性对照组、阴性对照组和不同浓度IVQKIKHCF组，每组设3个复孔。阳性对照组加入3 μmol/L的SP溶液100 μL（以pH7.4的台式缓冲液为溶剂，该浓度的SP具有明显的MRGPRX2激活效应[10]，下同）；阴性对照组加入pH7.4的台式缓冲液100 μL；不同浓度IVQKIKHCF组加入25、50、100 μmol/L的IVQKIKHCF溶液各100 μL（以pH7.4的台式缓冲液为溶剂，浓度依据前期预实验结果设置，下同）。于37 ℃下培养30 min后，以1 500 r/min离心5 min，取各组上清液50 μL，加入1 mmol/L的β-氨基己糖溶液[以0.1 mol/L柠檬酸溶液-0.1 mol/L柠檬酸钠溶液（26∶24，*V*/*V*）为溶剂]50 μL，于37 ℃下孵育90 min后，加入终止液150 μL，于室温下振摇混匀2 min，使用酶标仪于405 nm波长下检测各孔的光密度（OD）值。阴性对照组吸弃剩余上清液，细胞加入Trition-X裂解液轻轻吹打后，以2 000 r/min离心5 min，取细胞裂解上清液50 μL，同法检测其OD值。按下式计算各组细胞的β-氨基己糖苷酶释放率：β-氨基己糖苷酶释放率＝实验组细胞上清液OD值/（阴性对照组上清液OD值+细胞裂解上清液OD值）×100%。

2.3 组胺释放量的测定

将LAD2细胞按1×10^5个/孔接种于96孔板（每孔100 μL）中，于37 ℃下培养过夜；以1 500 r/min离心5

min后吸弃上清液，将细胞分为阳性对照组、阴性对照组和不同浓度IVQKIKHCF组，每组设3个复孔。阳性对照组加入3 μmol/L的SP溶液100 μL；阴性对照组加入台式缓冲液100 μL；不同浓度IVQKIKHCF组加入25、50、100 μmol/L的IVQKIKHCF溶液各100 μL。于37 ℃下培养30 min后，以1 500 r/min离心5 min，取上清液50 μL，加入氘代组胺（内标）溶液100 μL，振荡10 s；于4 ℃下以12 000 r/min离心10 min，吸取上清液50 μL，采用液相色谱-串联质谱法定量分析各组细胞的组胺释放量，具体检测条件和计算方法见已发表文献[16]。

2.4 炎症因子释放量的测定

将LAD2细胞按1×10^5个/孔均匀接种于96孔板（每孔100 μL）中，于37 ℃下培养过夜；以1 500 r/min离心5 min后吸弃上清液，将细胞分为阳性对照组、阴性对照组和不同浓度IVQKIKHCF组，每组设3个复孔。阳性对照组加入3 μmol/L的SP溶液100 μL；阴性对照组加入台式缓冲液100 μL；不同浓度IVQKIKHCF组加入25、50、100 μmol/L的IVQKIKHCF溶液各100 μL。于37 ℃下孵育8 h后，以1 500 r/min离心5 min，取上清液，严格按照相应试剂盒说明书操作，采用ELISA法以酶标仪检测各组细胞上清液中炎症因子（TNF-α、IL-8、MIP-1β、MCP-1）的含量。

2.5 敲低*MrgprX2*对细胞β-氨基己糖苷酶释放率的影响

取*MrgprX2* siRNA片段75 pmol和Lipofectamine 2000转染试剂7.5 μL，分别稀释于Opti-MEM培养基100 μL中，静置2 min后，将上述两者混匀，室温静置15 min；将LAD2细胞以1×10^6个/孔接种于6孔板中，加入*MrgprX2* siRNA和Lipofectamine 2000转染试剂的混合液，混匀，得转染*MrgprX2* siRNA片段的LAD2细胞（KD-LAD2细胞），备用。取无序siRNA片段、Lipofectamine 2000转染试剂和LAD2细胞，同法处理得转染无序siRNA片段的LAD2细胞（NC-LAD2细胞），备用。将上述两种细胞按1×10^5个/孔接种于96孔板（每孔100 μL）中，于37 ℃下培养过夜；以1 500 r/min离心5 min后吸弃上清液，将两种细胞均分为阳性对照组、阴性对照组和不同浓度IVQKIKHCF组，每组设3个复孔。阳性对照组加入3 μmol/L的SP溶液100 μL；阴性对照组加入台式缓冲液100 μL；不同浓度IVQKIKHCF组加入25、50、100 μmol/L的IVQKIKHCF溶液各100 μL。于37 ℃下培养30 min后，按“2.2”项下方法测定并计算各组细胞的β-氨基己糖苷酶释放率。

2.6 细胞内钙离子浓度的检测

将MRGPRX2/HEK293细胞和HEK293细胞按1×10^4个/孔分别接种于96孔板（每孔100 μL）中，于37 ℃下培养过夜，使其贴壁生长。次日，吸弃培养基，加入pH7.4且含5 ng/mL Fluo-3 AM的钙成像缓冲溶液（calcium imaging buffer，CIB），于37 ℃下孵育30 min。吸弃上清液，细胞以CIB清洗2次后，将MRGPRX2/HEK293细胞分为阳性对照组、空白对照组、不同浓度IVQKIKHCF组，将HEK293细胞作为阴性对照组，每组设置3个复孔。阳性对照组加入3 μmol/L的SP溶液100 μL；空白对照组加入CIB 100 μL；不同浓度IVQKIKHCF组加入25、50、100 μmol/L的IVQKIKHCF溶液各100 μL；阴性对照组加入100 μmol/L的IVQKIKHCF溶液100 μL。随后，立即使用倒置荧光显微镜观察各组细胞荧光强度的动态变化情况（每秒拍照1张，共拍照120 s），以反映细胞内钙离子浓度的变化情况。

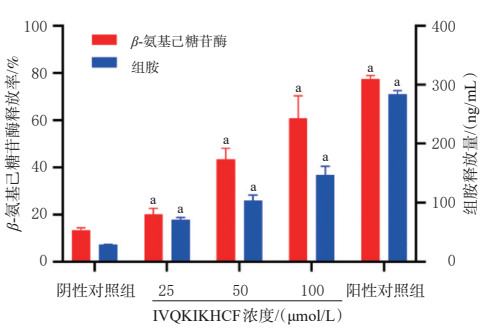
2.7 统计学方法

采用SPSS 18.0软件对数据进行统计分析。所有数据均采用$\bar{x}\pm s$表示，两组样本的比较采用独立样本t检验；多组样本的比较采用单因素方差分析（one-way ANOVA），进一步两两比较采Dunnett's（方差不齐）或LSD-t（方差齐）检验。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 IVQKIKHCF激活LAD2细胞引发脱颗粒反应

SP和25～100 μmol/L的IVQKIKHCF均可显著提高LAD2细胞的β-氨基己糖苷酶释放率和组胺释放量（$P<0.05$），其中β-氨基己糖苷酶的平均释放率由25 μmol/L IVQKIKHCF组的19.92%升高至100 μmol/L IVQKIKHCF组的60.69%，组胺的平均释放量由25 μmol/L IVQKIKHCF组的71.23 ng/mL升高至100 μmol/L IVQKIKHCF组的146.87 ng/mL，均有一定的剂量依赖趋势。结果见图1。



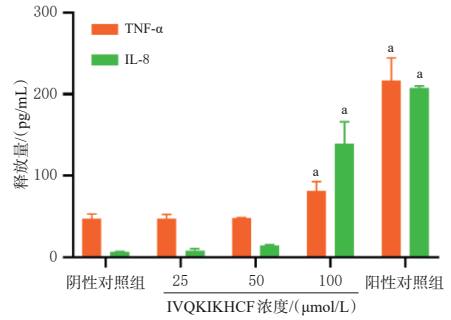
a：与阴性对照组比较，$P<0.05$。

图1 各组LAD2细胞的β-氨基己糖苷酶、组胺释放情况（$n=3$）

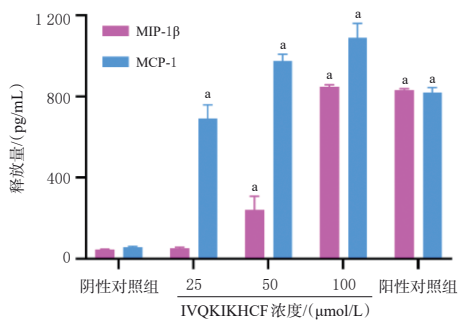
3.2 IVQKIKHCF激活LAD2细胞释放炎症因子

与阴性对照组比较，100 μmol/L IVQKIKHCF组和阳性对照组细胞上清液中TNF-α、IL-8含量，50、100 μmol/L IVQKIKHCF组和阳性对照组细胞上清液中

MIP-1β含量，以及各药物组细胞上清液中MCP-1含量均显著升高（$P<0.05$），其中IL-8、MIP-1β、MCP-1含量的变化有一定的浓度依赖趋势。结果见图2。



A. TNF-α和IL-8



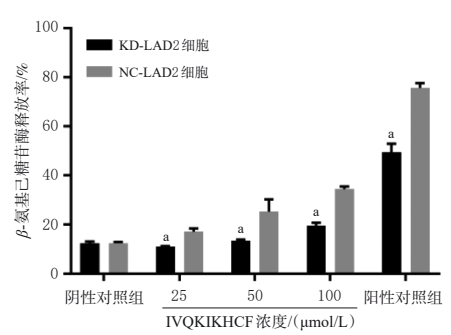
B. MIP-1β和MCP-1

a：与阴性对照组比较，$P<0.05$。

图2　各组LAD2细胞的炎症因子释放情况（$n=3$）

3.3　IVQKIKHCF对*MrgprX2*敲低LAD2细胞的激活作用减弱

与NC-LAD2细胞比较，IVQKIKHCF对KD-LAD2细胞的激活作用明显减弱，其β-氨基己糖苷酶释放率显著降低（$P<0.05$），提示IVQKIKHCF可能通过MRGPRX2激活LAD2细胞而引发脱颗粒反应。结果见图3。

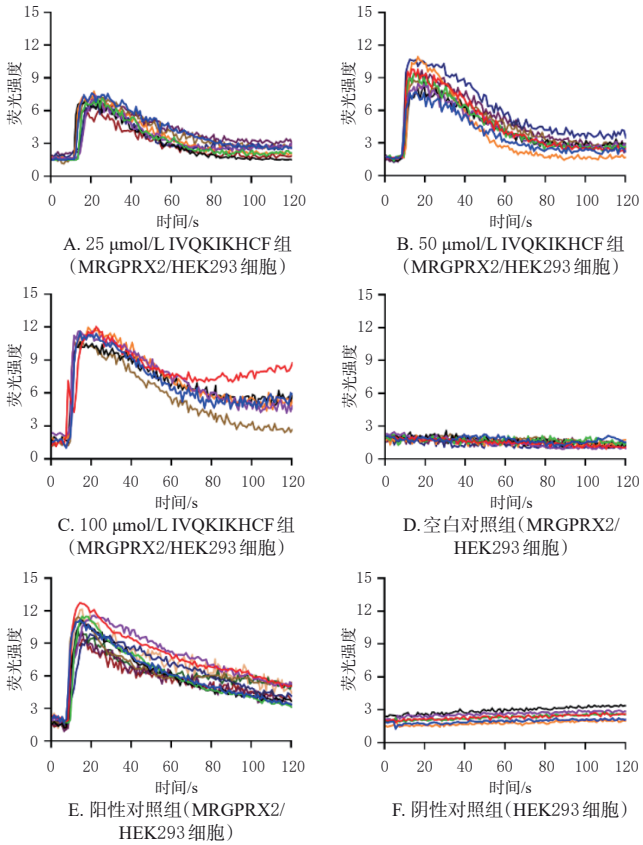


a：与同浓度NC-LAD2细胞比较，$P<0.05$。

图3　各组NC-LAD2细胞和KD-LAD2细胞的β-氨基己糖苷酶释放情况（$n=3$）

3.4　IVQKIKHCF引起MRGPRX2/HEK293细胞内钙离子浓度升高

与SP类似，在25～100 μmol/L的IVQKIKHCF作用下，MRGPRX2/HEK293细胞内钙离子的浓度逐渐升高，且有一定的浓度依赖趋势；但CIB无法升高细胞内的钙离子浓度，同时100 μmol/L的IVQKIKHCF亦无法激活HEK293细胞的钙动员，进一步表明IVQKIKHCF可通过激活MRGPRX2而引起细胞内钙离子浓度升高。结果见图4（图中，每条钙成像曲线反映的是单个细胞的钙离子浓度变化情况）。



A. 25 μmol/L IVQKIKHCF组（MRGPRX2/HEK293细胞）

B. 50 μmol/L IVQKIKHCF组（MRGPRX2/HEK293细胞）

C. 100 μmol/L IVQKIKHCF组（MRGPRX2/HEK293细胞）

D. 空白对照组（MRGPRX2/HEK293细胞）

E. 阳性对照组（MRGPRX2/HEK293细胞）

F. 阴性对照组（HEK293细胞）

图4　各组MRGPRX2/HEK293细胞和HEK293细胞的钙成像曲线

4　讨论

研究指出，MRGPRX2介导的药物过敏反应广泛存在于各类临床药物中，包括抗生素、阿片类镇痛药、肌肉松弛剂等。研究显示，多肽类药物也可激活MRGPRX2，引发类过敏反应，严重者可导致患者休克或死亡[4—6]。因此，研究多肽激活MRGPRX2的潜在机制，可有效促进多肽药物的开发，对提高其临床安全性具有重要意义。

β-氨基己糖苷酶是肥大细胞内预合成的代表性颗粒物质[17]，组胺、TNF-α、MIP-1β、MCP-1则是肥大细胞释放的重要过敏介质[8—9]，上述指标在过敏性疾病的发生发展过程中均具有重要作用。研究指出，药物作用于MRGPRX2后可激活肥大细胞，肥大细胞可释放上述颗粒物质和过敏介质，从而诱发类过敏反应，且上述指标的释放量与肥大细胞的激活程度呈正相关，故研究者常通过上述指标的高低来评价药物对肥大细胞及MRGPRX2激活效应的强弱[8—9,17]。本研究结果显示，25～100 μmol/L的IVQKIKHCF可显著促进LAD2细胞释放β-氨基己糖苷酶和组胺，且上述作用有一定的浓度依赖趋势；同时，IVQKIKHCF可不同程度地增加LAD2

细胞中TNF-α、IL-8、MIP-1β、MCP-1的释放。

与NC-LAD2细胞比较，IVQKIKHCF对KD-LAD2细胞（即敲低*MrgprX2*的LAD2细胞）的激活作用明显减弱，其β-氨基己糖苷酶释放率显著降低，提示IVQKIKHCF可能通过MRGPRX2激活LAD2细胞而引发脱颗粒反应；进一步钙成像实验证实，IVQKIKHCF与MRGPRX2激动剂SP具有相似的效果，可显著升高MRGPRX2/HEK293细胞内的钙离子浓度，且有一定的浓度依赖趋势，但IVQKIKHCF对阴性对照HEK293细胞内的钙离子浓度无明显影响，初步证实IVQKIKHCF是通过MRGPRX2而激活细胞的钙动员。研究指出，钙离子浓度升高可导致LAD2细胞释放颗粒物质、炎症因子及过敏介质，发生类过敏反应，上述过程均直接与MRGPRX2的激活作用相关[10]。

综上所述，九肽IVQKIKHCF可通过MRGPRX2激活肥大细胞LAD2，释放颗粒物质和炎症介质，从而引发类过敏反应。在多肽药物研发时应注意上述结构。

参考文献

[1] MUTTENTHALER M, KING G F, ADAMS D J, et al. Trends in peptide drug discovery[J]. Nat Rev Drug Discov, 2021, 20(4): 309-325.

[2] 邓丹，明鑫，尹锦，等. 基于净效益回归框架的胰岛素类似物与人胰岛素治疗2型糖尿病的成本-效果分析[J]. 中国药房，2020，31(23)：2877-2881.
DENG D, MING X, YIN J, et al. Cost-effectiveness analysis of insulin analogues and human insulin in the treatment of type 2 diabetes mellitus based on net-benefit regression framework[J]. China Pharm, 2020, 31(23): 2877-2881.

[3] FOSGERAU K, HOFFMANN T. Peptide therapeutics: current status and future directions[J]. Drug Discov Today, 2015, 20(1): 122-128.

[4] LIU X J, ZHAI A H, ZHANG B. A case report of severe adverse reaction of exenatide: anaphylactic shock[J]. Medicine, 2022, 101(39): e30805.

[5] ALVAREZ-ARANGO S, YERNENI S, TANG O, et al. Vancomycin hypersensitivity reactions documented in electronic health records[J]. J Allergy Clin Immunol Pract, 2021, 9(2): 906-912.

[6] 殷娜，张云芳. 我院动物骨多肽类药物致不良反应96例分析[J]. 中国药房，2017，28(23)：3217-3219.
YIN N, ZHANG Y F. Analysis of 96 cases of ADR induced by animal bone polypeptide medicine in our hospital[J]. China Pharm, 2017, 28(23): 3217-3219.

[7] ROY S, CHOMPUNUD NA AYUDHYA C, 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.

[8] THANGAM E B, JEMIMA E A, SINGH H, et al. The role of histamine and histamine receptors in mast cell-mediated allergy and inflammation: the hunt for new therapeutic targets[J]. Front Immunol, 2018, 9: 1873.

[9] GALLI S J, NAKAE S, TSAI M. Mast cells in the development of adaptive immune responses[J]. Nat Immunol, 2005, 6(2): 135-142.

[10] MCNEIL B D, PUNDIR P, MEEKER S, et al. Identification of a mast-cell-specific receptor crucial for pseudoallergic drug reactions[J]. Nature, 2015, 519(7542): 237-241.

[11] 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.

[12] ALKANFARI I, GUPTA K, JAHAN T, et al. Naturally occurring missense MRGPRX2 variants display loss of function phenotype for mast cell degranulation in response to substance P, hemokinin-1, human β-defensin-3, and icatibant[J]. J Immunol, 2018, 201(2): 343-349.

[13] LANSU K, KARPIAK J, LIU J, et al. In silico design of novel probes for the atypical opioid receptor MRGPRX2 [J]. Nat Chem Biol, 2017, 13(5): 529-536.

[14] LU L, RAJ S, ARIZMENDI N, et al. Identification of short peptide sequences that activate human mast cells via Mas-related G-protein coupled receptor member X2[J]. Acta Biomater, 2021, 136: 159-169.

[15] LU L, KULKA M, UNSWORTH L D. Peptide-mediated mast cell activation: ligand similarities for receptor recognition and protease-induced regulation[J]. J Leukoc Biol, 2017, 102(2): 237-251.

[16] HAN S L, LV Y N, KONG L Y, et al. Use of the relative release index for histamine in LAD2 cells to evaluate the potential anaphylactoid effects of drugs[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 13714.

[17] FUKUISHI N, MURAKAMI S, OHNO A, et al. Does β-hexosaminidase function only as a degranulation indicator in mast cells? The primary role of β-hexosaminidase in mast cell granules[J]. J Immunol, 2014, 193(4): 1886-1894.

（收稿日期：2023-07-04　修回日期：2023-10-24）
（编辑：张元媛）