

# 阴离子交换层析处理对静注人免疫球蛋白（pH4）制品的影响框架构建

井金荣\* 房海涛 杨列清 石 干

山东泰邦生物制品有限公司 山东 泰安 271000

**摘要：**目的：分析阴离子交换层析处理对静注人免疫球蛋白（pH4）制品的影响效果。方法：研究时间：2020.2~2021.2，选择六种批次的静注人免疫球蛋白（pH4），其中三批次采取低温乙醇蛋白分离法（A方法）、其余三批次采用不低温乙醇蛋白分离法联合阴离子交换层析处理（B方法），分析不同方法处理后静注人免疫球蛋白（pH4）制品的相关指标。结果：B方法处理后的静注人免疫球蛋白（pH4）制品IgA水平小于A方法，有统计学意义（ $P < 0.05$ ）；A方法与B方法处理后的静注人免疫球蛋白（pH4）制品质量相关指标差异无统计学意义（ $P > 0.05$ ）。结论：阴离子交换层析处理对静注人免疫球蛋白（pH4）制品后，可促进制品整体质量的提高，为临床的安全使用创造有利条件。

**关键词：**阴离子交换层析处理；静注人免疫球蛋白（pH4）制品；质量；免疫球蛋白A

**DOI：**<https://doi.org/10.37155/2717-5669-0301-9>

静注人免疫球蛋白（pH4）制品在临床较多疾病治疗方面都有重要应用，比如自身免疫性疾病、继发性免疫球蛋白缺陷病、原发性免疫球蛋白缺乏症等<sup>[1]</sup>。静注人免疫球蛋白（pH4）制品来源于人血，尽管制作过程中经过了严格的病原体筛查，并在生产工艺中融入各种灭活病毒措施，但是仍然存在未知病原体传播风险。部分资料显示<sup>[2]</sup>，静注人免疫球蛋白（pH4）制品在使用期间，部分患者会出现心慌、过性头痛等不良反应。基于此，需要持续优化静注人免疫球蛋白（pH4）制品的生产工艺，不断提高静注人免疫球蛋白（pH4）制品质量，保证静注人免疫球蛋白（pH4）制品的使用质量与安全<sup>[3]</sup>。低温乙醇蛋白分离法是静注人免疫球蛋白（pH4）制品的常用生产工艺，随着对生产工艺的研究，部分学者指出通过引入银离子交换层析方法，能够对制品进一步纯化，实现静注人免疫球蛋白（pH4）制品质量的提高<sup>[4]</sup>。为明确阴离子交换层析处理对静注人免疫球蛋白（pH4）制品的影响，本文通过试验分析方法，对常规与优化处理后的工艺方法以及制品质量参数展开分析，相关内容如下。

## 1 材料与方

### 1.1 材料与试剂

本次实验分析中共选择6批次的静注人免疫球蛋白（pH4）制品，其中三种使用低温乙醇蛋白分离法工艺，记作A组，对应批号为S20171101、S20171102以及S20171103；三种使用低温乙醇蛋白分离法联合阴离子交换层析处理，记作B组，对应批号为S20171104、S20171105以及S20171106，通过绵阳红细胞进行抗体活性测定。相关试剂包括：IgA检测试剂盒，抗-HBs检测试剂盒，IgG亚型检测试剂盒，白喉抗体、白喉抗体诊断红细胞悬液、N-糖酰胺酶F、高效液相色谱柱、分光光度计、高效液相色谱分析仪、酶标仪、超高效液相色谱仪、蛋白质荧光光谱仪等。

### 1.2 方法

A组样品采用低温乙醇蛋白分离法，B组样品在低温乙醇蛋白分离法处理基础上采取阴离子交换层析处理方法。对A组与B组样品中的相关项目进行检测分析，包括如下内容：（1）测定相对分子质量大小，通过分子排阻高效液相色谱法完成检测，规范操作可参照《中国药典》，免疫球蛋白分子单体类型根据出峰时间判断，免疫球蛋白分子单体比例则通过峰面积计算；（2）抗心磷脂抗体测定（ACA），指示系统选择免疫溶血反应，溶血率变化则依赖于供试品消耗补体，得到不同样品的抗补体活动，规范操作可参照《中国药典》；（3）检测抗-HBs效价，参照试剂盒说明

\*通讯作者：井金荣，1982.8，汉，男，山东省泰安市，山东泰邦生物制品有限公司，工程师，本科，研究方向：血液制品分离、纯化。

书利用放射免疫法完成检测；（4）检测白喉抗体效价，参照《中国药典》中关于白喉抗体效价的检测方法；（5）检测IgA含量，按照试剂盒说明通过酶联免疫吸附法完成检测；（6）检测Fc段生物学活性，利用表面等离子共振技术检测不同样品与可溶性FcGR1A受体的特异性结合活性。检测期间通过动力学拟合，确定出亲和力常数、结合速率常数、结合速率常数。（7）测定IgG分型，参照试剂盒说明书，通过ELISA方法完成检测；（8）检测N-糖基化类型，通过采用PNGaseF酶切-亲水色谱法完成分析；（9）检测蛋白质二级结构，通过圆二色谱法完成分析；（10）测定蛋白质三级结构，通过蛋白质荧光光谱仪完成检测。上述不同检测参数均由经验丰富人员规范操作，做好各项检测中的质控管理。

### 1.3 观察指标

A组与B组样品对应的各项检测参数分析。

### 1.4 统计学方法

数据分析使用统计学软件包SPSS 20.0，计量资料  $\bar{x} \pm s$  表示，差异性 $t$ 检验， $P < 0.05$ ，差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 相对分子量比较

A组相对分子量（99.6±0.2）%，B组相对分子量（99.8±0.1）%，差异无统计学意义（ $P > 0.05$ ）。

### 2.2 ACA检测结果分析

A组ACA为（5.0±0.3）%，B组ACA为（5.0±0.2）%，差异无统计学意义（ $P > 0.05$ ）。

### 2.3 抗-HBs效价结果分析

A组抗-HBs效价为（48.5±6.3）IU/g，B组抗-HBs效价为（50.5±5.2）IU/g，差异无统计学意义（ $P > 0.05$ ）。

### 2.4 白喉抗体效价结果分析

A组白喉抗体效价为（63.0±0.3）HAU/g，B组白喉抗体效价为（62.5±0.5）HAU/g，差异无统计学意义（ $P > 0.05$ ）。

### 2.5 IgA检测结果分析

A组IgA检测为（480.0±65.30）μg/ml，B组IgA检测为（31.0±3.50）μg/ml，B组显著小于A组，有统计学意义（ $P < 0.05$ ）。

### 2.6 Fc段生物学活性分析

B组Fc段生物学活性中的结合速率常数大于A组，有统计学意义（ $P < 0.05$ ），其余解离速率常数、亲和力常数、分析物最大结合量无统计学意义（ $P > 0.05$ ）。

### 2.7 IgG亚型分布比较

A组与B组样品中对应的IgG亚型分布均处于正常人血清亚型分布范围内，两组样品对应的IgG亚型分布无统计学意义（ $P > 0.05$ ）。

### 2.8 N-糖基化类型比较

A组与B组在G0FGN、Man-6、G2F、G1F-S1、G1F-S2峰面积方面有统计学意义（ $P < 0.05$ ），其余相关N-糖基化类型指标无统计学意义（ $P > 0.05$ ）。

### 2.9 蛋白质二级结构指标分析

A组与B组在α螺旋含量、β折叠含量、β转角含量、无规则卷曲含量方面无统计学意义（ $P > 0.05$ ）。

### 2.10 蛋白质三级结构指标分析

A组：荧光平均发射波长为（337.5±0.6）nm，B组：荧光平均发射波长为（335.1±1.2）nm，无统计学意义（ $P > 0.05$ ）。

## 3 讨论

静注人免疫球蛋白（pH4）制品作为一种生物制品，其含有广谱抗病毒、细菌或其他病原体IgG抗体等，在较多疾病治疗中具有免疫调节与免疫替代作用。不同患者通过静注人免疫球蛋白（pH4）制品的使用，帮助患者提高血液中IgG水平，提高机体抗感染能力，并发挥较好的免疫调节功能<sup>[5]</sup>。

随着静注人免疫球蛋白（pH4）制品使用率的提高，关于其生产工艺的研究也在不断增多。本次研究中通过对静注人免疫球蛋白（pH4）制品在低温乙醇蛋白分离法处理基础上使用阴离子交换层析处理<sup>[6]</sup>，结合对较多因子的检测与分析，工艺改进后在IgA检测结果、部分N—糖基化类型方面有统计学意义，而在其他指标方面无统计学意义，提示阴离子交换层析处理对静注人免疫球蛋白（pH4）制品不会影响较多指标，但是能够改善IgA与N—糖基化类型，增强静注人免疫球蛋白（pH4）制品使用安全性<sup>[7]</sup>。

综上所述，阴离子交换层析处理对静注人免疫球蛋白（pH4）制品后，可促进制品整体质量的提高，为临床的安全使用创造有利条件。

#### 参考文献：

- [1]刘勇,李泽秀,唐良玉,邓靖,张尧,余雨蓉,陈云华,赵学梅.两种高浓度静注人免疫球蛋白中IgA残留量检测方法的验证及比较[J].中国生物制品学杂志,2021,34(12):1477-1481.
- [2]杨永煌,周秋香,陈霞.不同剂量人免疫球蛋白给药治疗新生儿ABO溶血病的临床效果比较[J].临床合理用药杂志,2021,14(35):127-129.
- [3]井云娇.静脉注射人免疫球蛋白治疗急性毛细支气管炎的疗效分析[J].当代医学,2021,27(35):116-118.
- [4]师淑锋,陈新亚,李晶.酪酸梭菌二联活菌散联合静注人免疫球蛋白在治疗新生儿溶血性黄疸中的临床应用[J].数理医药学杂志,2021,34(12):1832-1834.
- [5]冯朴琼,何瑾.静注人免疫球蛋白致过敏性休克1例[J].临床合理用药杂志,2021,14(34):159-160.
- [6]杨俊娜.静注人免疫球蛋白在新生儿感染性肺炎治疗与干预中的效果观察[J].医学理论与实践,2020,33(23):3989-3991.
- [7]刘冬梅,肖智锋,吴秀萍.某儿童医院静注人免疫球蛋白使用情况及其合理性评价[J].抗感染药学,2020,17(11):1594-1598.