

鉴定药物过敏反应之致敏药物的方法与鉴定套组

技术领域

10 本发明为一种致敏药物的鉴定方法与套组，尤指一种鉴定药物过敏反应之致敏药物的方法与鉴定套组，将淋巴球与可疑药物或其代谢物于体外共同培养形成反应物，藉由定量反应物中颗粒溶解素蛋白、多胜肽或mRNA的含量并与对照值比较，即可鉴定引发药物过敏反应之致敏药物，使本发明系具有单一易执行的技术、快速、经济及高灵敏度和高专一性等优异特点。

15

背景技术

药物过敏反应是一类由药物所引起的、可能致命的免疫性疾病，包括较轻微的皮肤红疹 (maculopapular eruptions, MPE)、重型多形性红斑 (erythema multiforme majus, EMM)，及固定型药疹 (fixed drug eruption, FDE)，到严重并可能致死的严重皮肤药物过敏反应 (severe cutaneous adverse reactions, SCAR)，包括药物疹合并嗜伊红血症及全身症状 (Drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms, DRESS)、史蒂文生-琼森症候群 (Stevens-Johnson syndrome, SJS)，及毒性表皮溶解症 (Toxic epidermal necrolysis, TEN)。

SCAR被认为与药物专一T淋巴球细胞 (drug-specific T cells) 相关。传统的
25 体外检测方法-lymphocyte transformation test (LTT) 目前被普遍应用在检测T细胞调控的药物过敏反应上，此法为一种体外T淋巴球细胞 (T lymphocytes) 活化和增生的细胞培养方法，藉由自病患血液中所分离出之淋巴球进行体外细胞培养，以怀疑之致敏药物进行刺激，一周后测定放射线元素重氢 (^3H) 标帜的thymidine嵌入DNA的量，以反应T淋巴球细胞增生的情形。然而此方法应用于SCAR的灵敏度却
30 非常低，而且对SJS/TEN病患的药物检测LTT常得到阴性结果。此外，放射线分析实验操作需要有经验的技术员和昂贵的仪器、放射线所带来的潜在健康威胁，和有放射线操作执照的人员与被限制的放射线允许操作环境，在在都限制了此项分析方式的实施。

另一种诊断药物过敏反应的方法是利用测定干扰素伽玛 (interferon gamma, IFN- γ)、介白素 (interleukin, IL)-2, 5, 13等细胞激素 (cytokines) 的合成和分泌量。此方法为当T淋巴球细胞活化时，测定细胞培养上清液中cytokine含量，或藉由流式细胞技术 (flow cytometry) 测定细胞内cytokine含量，或藉由聚合酶连

5 锁反应(Polymerase Chain Reaction, PCR)或反转录聚合酶连锁反应(reverse transcription-PCR, RT-PCR)测定细胞内cytokine基因表现量。这些细胞激素虽可用于鉴别药物过敏病患之致敏药物,然其却无药物过敏之专一性,灵敏度也都很低,在临床上使用并不适用。且此方法侦测血球表面的免疫分子需较多的血液检体及利用较昂贵之流式细胞仪、敏感度低、购买试剂的支出增加,及消耗的时间
10 和人力也会增加。

发明人首度发现颗粒溶解素(Granulysin, GNLY)在史帝文生琼森症候群及毒性表皮溶解症中扮演一个导致表皮细胞死亡的重要调节角色。此发现可应用于针对史帝文生琼森症候群及毒性表皮溶解症的诊断及治疗方法(专利号TW I333978)。然而此专利并未揭示如何利用颗粒性溶解素来鉴定造成严重皮肤药物过敏病症的
15 致敏药物之方法。

综上所述,传统LTT方法实为一种仅具有有限灵敏度,且所费不赀的方法。且传统LTT的实施也需仰赖经验丰富的技术人员并持有放射线物质操作证照以及受环境限制。另外由于利用流式细胞仪测细胞内颗粒溶解素仅有低灵敏度的结果,尚需合并其他方法才能鉴定引发SCAR的致敏药物。目前尚未有一种同时具有高灵敏度、高可信度,及低花费的方法用以鉴定引发药物过敏反应之致敏药物,因此,
20 先前技术仍有改善空间。

发明内容

本发明为一种鉴定药物过敏反应之致敏药物的方法,包括下列步骤:步骤一:
25 将生物检体淋巴球细胞与可疑药物或其代谢物于体外共同培养形成反应物;步骤二:检测反应物中颗粒溶解素蛋白、多胜肽或mRNA的表现量并与对照值做比较,若颗粒溶解素蛋白、多胜肽或mRNA的表现量高于对照值1.2倍以上,可判定此可疑药物或其代谢物活化淋巴球的程度较高,系为致敏药物且可能引发药物过敏反应。

上述之对照值系指将生物检体淋巴球培养于培养液或含有溶解药物之溶剂的
30 培养液中之颗粒溶解素表现量数值。

其中,步骤二系为对反应物中颗粒溶解素蛋白或多胜肽以专一性的捕捉抗体及侦测抗体进行反应以检测颗粒溶解素表现量。

其中,步骤二系为对反应物中颗粒溶解素mRNA以具有专一性的寡聚核苷酸引子或探针进行反应以检测颗粒溶解素表现量。

35 其中,捕捉抗体及侦测抗体鉴别反应物中颗粒溶解素表现量之方法为酵素结合免疫吸附分析法或酵素结合免疫斑点分析法。

其中,淋巴球细胞包括来自外围血液细胞或自生物个体中所分离出的体液,较佳来源为外围血液。

5 其中，药物过敏反应包含史蒂文生琼森症候群、毒性表皮溶解症、药物疹合并嗜伊红血症和全身症状、皮肤红疹、重型多形性红斑，及固定型药疹。

其中，致敏药物包含西药、中药、疫苗及可引起T细胞活化之抗原分子。

一种用于鉴定引发药物过敏反应之致敏药物的鉴定套组，包括以下试剂：一检测套组，该检测套组系将一试剂与生物检体淋巴球细胞与可疑药物或其代谢物
10 于体外共同培养形成反应物；一探测套组，将该探测套组与该检测套组形成的反应物进行反应作用，检测反应物中颗粒溶解素蛋白、多胜肽或mRNA表现量，若颗粒溶解素蛋白、多胜肽或mRNA的表现量高于对照值1.2倍以上，可判定此可疑药物或其代谢物为致敏药物。

其中，该探测套组包含对颗粒溶解素有专一性的一种捕捉抗体及一种侦测抗体，以检测反应物中颗粒溶解素蛋白或多胜肽的表现量。
15

其中，该探测套组包含对颗粒溶解素mRNA或基因体DNA有专一性的一对寡聚核苷酸引子或探针，以检测反应物中颗粒溶解素mRNA的表现量。

其中，利用捕捉抗体及侦测抗体鉴别反应物中颗粒溶解素表现量之方法为酵素结合免疫吸附分析法或酵素结合免疫斑点分析法。

20 其中，药物过敏反应包含史蒂文生琼森症候群、毒性表皮溶解症、药物疹合并嗜伊红血症和全身症状、皮肤红疹、重型多形性红斑及固定型药疹。

其中，致敏药物包含西药、中药、疫苗及可引起T细胞活化之抗原分子。

本发明系将淋巴球与可疑药物或其代谢物于体外共同培养形成反应物，以及利用寡聚核苷酸引子、探针、抗颗粒溶解素蛋白或多胜肽的捕捉抗体和侦测抗体
25 与活化之淋巴球细胞所表现的颗粒溶解素进行结合之步骤，其中，体外培养的条件包含可疑致敏药物或其代谢物的浓度、细胞培养液的成分与细胞培养的时间。本发明具有单一易执行的技术、快速、经济，及高灵敏度和高专一性等优异特性。

有关本发明所采用之技术、手段及其功效，兹举较佳实施例并配合图式详细说明于后，相信本发明上述之目的及特征，当可由之得一深入而具体的了解。

30

附图说明

图1：为本发明之检测流程方块示意图。

图2：为本发明之严重皮肤药物过敏病患、耐受性患者及健康受试者的淋巴球细胞与致敏药物/代谢物或耐受性药物于体外培养一周至二周后颗粒溶解素之表现量，其中，颗粒溶解素是经由ELISA所测得；颗粒溶解素的倍数变化计算是将所得的数据除以溶剂对照组数据得知。
35

图3：为本发明之严重皮肤药物过敏病患、耐受性患者及健康受试者的淋巴球细胞与致敏药物/代谢物或耐受性药物于体外培养一周至二周后IFN- γ 之表现量，

- 5 其中，IFN- γ 之表现量是经由ELISA所测得；IFN- γ 的倍数变化计算是将所得的数据除以溶剂对照组数据得知。

图4：为本发明之别嘌呤醇引发严重皮肤药物过敏病患之淋巴球细胞与1倍或10倍致敏药物/代谢物或耐受性药物于体外培养一周后，其颗粒溶解素mRNA之表现量，其中，颗粒溶解素mRNA之表现量是经由RT-PCR所测得；颗粒溶解素的倍数变化计算是将所得的数据除以溶剂对照组数据得知。

10

具体实施方式

参阅图1～图4，本发明为一种鉴定药物过敏反应之致敏药物的方法，包括下列步骤：步骤一：将生物检体淋巴球细胞与可疑药物或其代谢物于体外共同培养形成反应物；步骤二：检测反应物中颗粒溶解素蛋白、多胜肽或mRNA的表现量并与对照值做比较，若颗粒溶解素蛋白、多胜肽或mRNA的表现量高于对照值1.2倍以上，可判定此可疑药物或其代谢物活化淋巴球的程度较高，系为致敏药物且可能引发药物过敏反应。

15

上述之对照值系指将生物检体淋巴球培养于培养液或含溶解药物之溶剂的培养液中之颗粒溶解素表现量数值。

20

其中，步骤二系为对反应物中颗粒溶解素蛋白或多胜肽以专一性的捕捉抗体及侦测抗体进行反应以检测颗粒溶解素表现量。

其中，步骤二系为对反应物中颗粒溶解素mRNA以具有专一性寡聚核苷酸引子或探针进行反应以检测颗粒溶解素表现量。

25 其中，致敏药物包含西药、中药、疫苗及可引起T细胞活化之抗原分子。

上述鉴定方法系藉由测量反应物中所表现之颗粒溶解素以鉴定引发药物过敏反应之致敏药物，药物过敏反应包含：史蒂文生-琼森症候群(Stevens-Johnson syndrome, SJS)、毒性表皮溶解症(Toxic epidermal necrolysis, TEN)、药物疹合并嗜伊红血症及全身症状(Drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms, DRESS)、皮肤红疹(maculopapular eruptions, MPE)、重型多形性红斑(erythema multiforme majus, EMM)及固定型药疹(fixed drug eruption, FDE)等。

30

颗粒溶解素蛋白或核酸在淋巴球培养液中之表现与否及其含量，可自受试个体之淋巴球样本与怀疑之致敏药物/代谢物或具耐受性药物共同培养之结果评估。淋巴球包括来自外围血液中之细胞或自生物个体中所分离出的体液，较佳之来源为外围血液。颗粒溶解素表现量能以数种方式测定，包含但未受限于以下方法：测定颗粒溶解素基因转录出的mRNA、基因转译出的蛋白质量，或基因转译出蛋白质之活性。

35

5 反应物中自细胞分离出的mRNA可用杂交或扩增试验侦测，其方法包含但未受限于以下方法：北方墨点分析法(Northern blot analyses)、聚合酶链连锁反应(polymerase chain reaction)，和探针数组(probe arrays)。较佳测定mRNA含量的诊断方法为将分离出之mRNA与核酸分子(探针)接触作用，此核酸分子能与欲测基因之mRNA杂交。本发明中，核酸分子探针可能为具有全基因序列长度的完整颗粒溶解素核酸，或含至少7、15、30、50、100，或250个核苷酸长度之寡聚核苷酸(oligonucleotide)，并能在严格条件下充分与颗粒溶解素mRNA或基因体DNA杂交。

反应物中的颗粒溶解素mRNA含量亦可利用核苷酸扩增技术来测定，如利用反转录聚合酶链连锁反应(RT-PCR)、连接酶连锁反应、自主序列复制系统、transcriptional amplification system、Q-Beta Replicase、rolling circle replication或其他任何方法扩增核苷酸后，再应用已知之技术测定被扩增之分子。如本发明文使用的扩增引子即为一对核酸分子，可黏合至5' 或3' 端之基因区域(分别黏合plus及minus strands，或vice-versa)。一般而言，扩增引子是由10至30个核苷酸分子所组成构成，并可侧向延伸长度为50至200个核苷酸之区域。当具备合适条件和试剂时，此引子即可依其本身核苷酸序列扩增核酸分子。

20 本发明实施例中，包含将对照组样本和某一具侦测颗粒溶解素mRNA或基因体DNA之扩增引子杂交作用，比较颗粒溶解素mRNA或基因体DNA在对照组和测试样本中的表现。

反应物(淋巴球培养上清液(supernatants))中颗粒溶解素蛋白的含量有许多方法可以分析测定，这些方法包含利用一种会选择性结合颗粒溶解素蛋白或其抗原或其免疫片段之试剂(如抗体)，与样本进行结合后，进而评估样本中颗粒溶解素蛋白含量。其技术包含酵素结合免疫吸附分析法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)、酵素结合免疫斑点分析法(enzyme-linked immunospot (ELISPOT) assays)、免疫沉淀(immunoprecipitations)、免疫荧光(immunofluorescence)、酵素免疫分析(enzyme immunoassay, EIA)、放射免疫分析(radioimmunoassay, RIA)，和西方墨点法(Western blot analysis)。

30 本发明实施例中，进一步包含将对照组检体和某一具侦测颗粒溶解素的抗体接触作用，比较在对照组和测试组检体之颗粒溶解素蛋白表现。此方法进一步包含实验数值与参考值的比较(如，样本在培养液/溶剂的培养)。

本发明也包括鉴定引发药物过敏反应之致敏药物的鉴定套组，包括以下试剂：一检测套组，该检测套组系将一试剂与生物检体淋巴球细胞与可疑药物或其代谢物于体外共同培养形成反应物；一探测套组，将该探测套组与该检测套组形成的反应物进行反应作用，检测该反应物中颗粒溶解素蛋白、多胜肽或mRNA表现量，若颗粒溶解素蛋白、多胜肽或mRNA的表现量高于对照值1.2倍以上，可判定此可疑

5 药物或其代谢物为致敏药物。

其中，该探测套组包含对颗粒溶解素mRNA或基因体DNA有专一性的一对寡聚核苷酸引子或探针，以检测反应物中颗粒溶解素mRNA的表现量。

其中，该探测套组包含对颗粒溶解素有专一性的一种捕捉抗体及一种侦测抗体，以检测反应物中颗粒溶解素蛋白或多胜肽的表现量。

10 其中，利用捕捉抗体及侦测抗体鉴别反应物中颗粒溶解素表现量之方法为酵素结合免疫吸附分析法或酵素结合免疫斑点分析法。

其中，致敏药物包含西药、中药、疫苗及可引起T细胞活化之抗原分子。

本发明文中所描述的鉴别方法，能鉴定在个体中能引发，或有引发药物过敏反应风险之致敏药物，上述之药物过敏反应包含皮肤红疹 (maculopapular
15 eruptions, MPE)、固定型药疹 (fixed drug eruption, FDE)、重型多形性红斑 (erythema multiforme majus, EMM)、严重皮肤药物过敏反应 (severe cutaneous adverse reactions, SCAR)、药物疹合并嗜伊红血症及全身症状 (Drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms, DRESS)、史蒂文生-琼森症候群 (Stevens-Johnson syndrome, SJS)，及毒性表皮溶解症 (Toxic epidermal
20 necrolysis, TEN)。

此方法可进一步包含实验数值与对照值的比较(如，样本在培养液/溶剂的培养)。颗粒溶解素表现结果可自本文所述之任何方法所获得，例如，将反应物中所得核酸与寡聚核苷酸引子或探针接触作用，或是将反应物与抗颗粒溶解素抗体接触作用。

25 本发明申请包含体外共同培养淋巴球与可疑药物或其代谢物，以ELISA或ELISPOT测定其颗粒溶解素表现量或以实时定量 (real-time quantitative) PCR测其颗粒溶解素mRNA之方法。方法步骤如下：自病患全血分离出淋巴球，将淋巴球细胞于37°C与5% CO₂之条件培养于含RPMI-1640培养液之96孔培养盘 (microplates)。另将共同培养之药物或药物代谢物，及耐受性药物皆以培养液稀
30 释至生理治疗浓度 (physiologically therapeutic level)：1倍 (1-fold, 1X)，0.1倍 (0.1-fold, 0.1X)，及10倍 (10-fold, 10X)，共同培养一至二周。

淋巴球细胞和可疑药物/代谢物共同培养：利用Ficoll-Paque (Pharmacia Fine Chemicals, USA)以密度梯度离心方法将外围血液单核球 (Peripheral blood mononuclear cells, PBMC)自全血样本中分离。PBMC (1.0 x10⁶/well)培养于含10%
35 autologous serum及IL7 (1 ng/ml)之RPMI-1640培养液 (GIBCO Invitrogen, Life Technologies, Carlsbad, CA)之96孔培养盘，于37°C与5% CO₂之条件培养一至二周。共同培养之可疑致敏药物、药物代谢物，及耐受性药物皆以培养液稀释至一倍、十分之一倍或十倍生理治疗浓度 (physiologically therapeutic level)。例

5 如，细胞培养在含oxypurinol (10 µg/mL, 100 µg/mL)，或含病患服用超过三个月未引发药物过敏反应之耐受性药物培养液中。此外，negative control是使用溶解药物之溶剂加在培养液中，而positive control则为加入浓度10 µg/mL phytohemagglutinin (PHA) 的培养液。

颗粒溶解素表现之ELISA定量：培养后上清液于第七及第十四天收取，并以
10 ELISA量测颗粒溶解素。简言之，培养盘(Nunc, Roskilde, Denmark)先以50µg/ml 抗颗粒溶解素单株抗体G011涂覆，再加入含10% FBS之washing buffer (PBS containing 0.1% Tween-20)进行blocking，接下来于室温进行以下一系列反应：加入欲检测之反应物反应两小时；加入1 µg/ml 生物素标记的抗颗粒溶解素单株抗体 G052 于 blocking buffer 反应一小时；2µg/ml horseradish
15 peroxidase-conjugated streptavidin 于washing buffer。两反应间以washing buffer冲洗培养盘。最后，培养盘加入substrate solution containing H₂O₂ 反应，冲洗培养盘后再加入tetramethylbenzidine 反应。颗粒溶解素之分析灵敏度为1.56 ng/ml。此外，样本中IFN-γ 以IFN-γ ELISA kits (Invitrogen, Carlsbad, CA)之分析灵敏度为1.56 pg/ml 。

20 实时定量聚合酶链连锁反应(Quantitative Real-Time RT-PCR)：自培养后之淋巴球细胞分离RNA (Total RNA)。以Light Cycler (Roche molecular Biochemicals)-based master SYBR Green 1 kit 测量颗粒溶解素mRNA含量。其绝对套数将以Matsushita et al. (Matsushita et al. Br J Haematol. 2001 March;112(4):916-26)所述方法确认。以下为方法中所使用的寡聚核苷酸：

25 颗粒溶解素(granulysin)：

5' -TCTCTCGTCTGAGCCC-3' 、

5' -GCAGCATTGGAAACACT-3' ；

β -actin：

5' -ACATCCGCAAAGACCT-3' 、

30 5' -AGGG TGTAACGCAACTA-3' 。

统计分析：淋巴球细胞被可疑药物/代谢物或耐受性药物刺激后，其培养上清液中的颗粒溶解素的倍数变化计算是将所得的数据除以溶剂对照组数据得知。组别间的显著差异则是以单一样本t检定法(one sample t test)或学生氏t检定法(student' s t test)所分析。灵敏度及专一性的计算是根据其标准定义。所有的
35 P值皆为双尾(two-tailed)，P值< 0.05表示此分析具有统计上的显著差异。统计分析是以SPSS software Version 18.0 (SPSS Inc, Chicago, IL)进行。

- 5 为检测颗粒溶解素能否应用于鉴定引发药物过敏反应之致敏药物，本实施例收集了22位严重皮肤药物过敏(severe cutaneous adverse drug reactions)病患，包括：SJS、TEN、DRESS、FDE及EMM等。将其淋巴球细胞与致敏药物或代谢物体外培养刺激一周或二周后，藉由ELISA测量检体中颗粒溶解素及IFN- γ 的含量，比较其灵敏度。数据结果显示颗粒溶解素之灵敏度可达77.3-81.8%；而IFN- γ 之灵敏度
- 10 仅低于20%(Table 1)。因此，本实验证实利用ELISA侦测颗粒溶解素在应用于体外检测药物淋巴球活化试验(granulysin-based drug lymphocyte stimulation test)中具有高度灵敏度，进而可用来鉴定引发药物过敏反应之致敏药物。

	Sensitivity (%)		
	Granulysin	IFN- γ	
1 week	77.3	18.2	$p=2.03 \times 10^{-4}$
2 week	81.8	13.6	$p=1.16 \times 10^{-5}$

表一、二十二位严重皮肤药物过敏反应病患(SCAR)之淋巴球细胞经药物刺激一至二周后，以ELISA测量计算其释放之颗粒溶解素及IFN- γ 之灵敏度比较结果。

- 15 本发明文进一步检验颗粒溶解素用于鉴定引发药物过敏反应之致敏药物的专一性。为证实在本评估方法中，仅有药物过敏病患之淋巴球与致敏药物/代谢物经体外培养后，其颗粒溶解素表现量会增加，而药物耐受性病患及健康受试者之淋巴球并不会由此现象，本实施例收集了11位药物耐受性病患及10位健康受试者，将其淋巴球细胞与其耐受性药物或代谢物体外培养刺激一周或两周后，藉由ELISA
- 20 测量检体中生物检体颗粒溶解素及IFN- γ 的含量，比较其专一性。数据结果显示，在耐受性病患试验中，培养一周后颗粒溶解素的专一性可达95.7%，而IFN- γ 之专一性仅有76.2%；培养二周后颗粒溶解素的专一性为92.9%，IFN- γ 之专一性为77.8%(Table 2)。至于健康受试者部分，培养二周后颗粒溶解素的专一性为86.7%；IFN- γ 的专一性为75.6%(Table 2)。因此，本实验证实利用ELISA侦测颗粒溶解素在应
- 25 用于体外检测药物淋巴球活化试验(granulysin-based drug lymphocyte stimulation test)中具有高度专一性，进而可用来鉴定引发药物过敏反应之致敏药物。

Specificity (%)	
Tolerant control	Healthy control

	1 week	2 week	1 week	2 week
Granulysin	95.7	92.9	-	86.7
IFN- γ	76.2	77.8	-	75.6

5 表二、十一位药物耐受性病患与十位健康受试者之淋巴球细胞经耐受性药物刺激一至二周后，以ELISA测量计算其释放之颗粒溶解素及IFN- γ 之专一性比较结果。

严重皮肤药物过敏病患、耐受性患者及健康受试者的淋巴球细胞与致敏药物/代谢物或耐受性药物于体外培养刺激一周至二周后，以ELISA测量其颗粒溶解素及
 10 IFN- γ 的表现量显示如图2、3。结果显示严重皮肤药物过敏病患的淋巴球细胞在经过致敏药物/代谢物刺激后，颗粒溶解素的表现明显增加，而耐受性患者及健康受试者则无显著性差异(图2A及图2B)。虽然在部分严重皮肤药物过敏病患的淋巴球细胞经刺激后，IFN- γ 的表现量也有上升(图3A及图3B)，但也仅止于少数案例，并不足以作为具特异性之生物标志。因此，此结果再次指出利用ELISA侦测颗粒溶解素在应用于体外检测药物淋巴球活化试验(granulysin-based drug
 15 lymphocyte stimulation test)以鉴定引发药物过敏反应之致敏药物为最佳方法。

参阅图4，在mRNA层面，本实施例收集了3位别嘌呤醇引发严重皮肤药物过敏之病患，将其淋巴球分别与1倍或10倍致敏药物/代谢物或其他耐受性药物共同体
 20 体外培养一周后，利用RT-PCR测量其颗粒溶解素mRNA的表现量。结果同样显示不论是1倍或10倍致敏药物/代谢物刺激后，颗粒溶解素具有较佳之灵敏度(66.7%)及较佳之专一性(100%)。

上述所有实施例得知，颗粒溶解素(利用RT-PCR或ELISA侦测其表现)应用在体外检测药物淋巴球活化试验(granulysin-based drug lymphocyte stimulation
 25 test)具有高度灵敏性及专一性，进而可用来鉴定引发药物过敏反应之致敏药物。本发明提供了体外检测药物淋巴球活化试验测量颗粒溶解素mRNA及蛋白表现量的方法；并也提供了用于体外检测药物淋巴球活化试验(granulysin-based drug lymphocyte stimulation test)测量颗粒溶解素mRNA及蛋白表现量之套组或试剂盒，其中包括可用来侦测颗粒溶解素mRNA的引子及探针，及可辨识颗粒溶解素的抗体。

30 前文系针对本发明之较佳实施例为本发明之技术特征进行具体之说明；惟，熟悉此项技术之人士当可在不脱离本发明之精神与原则下对本发明进行变更与修改，而该等变更与修改，皆应涵盖于如下申请专利范围所界定之范畴中。