

多重作用药物与眼：它们真的能稳定肥大细胞吗？

原文标题：Multiple action agents and the eye: do they really stabilize mast cells?

Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology 2009, 9:454–465; Alessandro Lambiase, Alessandra Micera, Stefano Bonini (意大利罗马)；2009年

摘要

综述目的：氮卓斯汀、依匹斯汀、酮替芬和奥洛他定等多重作用药物近年来被认为兼具抗组胺作用、肥大细胞稳定作用和抗炎作用。因此，这一类药物正迅速成为预防和治疗过敏性结膜炎的一线选择。

近期发现：越来越多的体外研究考察了多重作用药物的肥大细胞稳定效应。多数研究结果一致认为，这些药物能够抑制肥大细胞释放组胺以及包括细胞因子和花生四烯酸代谢产物在内的多种新合成介质。然而，其作用机制尚未完全阐明。大多数临床试验结果以及包括结膜激发模型在内的体内实验研究均支持这些药物具有稳定作用的证据。

总结：多重作用化合物对肥大细胞释放的促炎介质具有不同抑制作用的证据提示，有可能针对过敏反应的不同阶段进行干预，从而有望改善过敏患者的管理。

关键词：氮卓斯汀；依匹斯汀；酮替芬；肥大细胞；奥洛他定

引言

在正常结膜中，肥大细胞通常存在于基底膜下的固有层[1]。在过敏性结膜炎中，固有层中的肥大细胞增多，并最终浸润上皮[2]。肥大细胞是过敏性结膜炎的核心细胞，分为类胰蛋白酶阳性和类胰蛋白酶/胃促胰酶双阳性细胞。类胰蛋白酶/胃促胰酶双阳性肥大细胞是结膜中的主要亚型，可见于95%的健康个体、96%的春季角结膜炎患者和100%的巨乳头性结膜炎患者[3]。

过敏原进入泪膜后，与结膜肥大细胞上的免疫球蛋白E (IgE) 受体结合，引起肥大细胞活化及随后的脱颗粒，释放预成介质和新合成的促炎介质（图1）[4]。预成介质储存于颗粒中，在数分钟内分泌。这些介质包括生物胺（组胺、5-羟色胺）、中性蛋白酶（类胰蛋白酶、胃促胰酶、羧肽酶）、酸性水解酶（ β -氨基己糖苷酶、 β -葡萄糖醛酸酶、 β -D-半乳糖苷酶）、蛋白多糖（肝素、硫酸软骨素）、嗜酸性粒细胞趋化因子（ECF）和中性粒细胞趋化因子（NCF）。组胺被认为是眼部过敏临床体征和症状的主要介质：神经元组胺（H1）受体的活化引起瘙痒，而通过H1/H2受体共同作用于血管内皮细胞，可因血管扩张引起充血，并因液体渗出引起眼睑肿胀和结膜水肿[5]。过敏反应的这一速发相可由多种作用于肥大细胞及组胺和/或组胺受体的药物靶向干预。

新合成介质的合成始于肥大细胞活化之后，其释放发生在数小时之内。这些介质包括干扰素、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子（GM-CSF）、血小板活化因子（PAF）、脂氧合酶和环氧合酶产物（白三烯和前列腺素类），并与黏液分泌增加和细胞浸润相关[6]。肥大细胞来源的细胞因子启动并增强Th2免疫反应，以及多种细胞类型广泛的促炎、促生长和趋化反应。这些介质包括白细胞介素（IL）1、3、4、5、6、8、10、13、16、TNF- α 、GM-CSF、转化生长因子- β (TGF- β)、血小板源性生长因子（PDGF）、血管内皮生长因子（VEGF）、神经生长因子（NGF）、巨噬细胞趋化蛋白-1、活化正常T细胞表达和分泌的调节因子（RANTES）、巨噬细胞抑制蛋白和淋巴细胞趋化因子[7]。细胞因子、趋化因子和生长因子触发炎症事件的级联反应，包括上皮细胞上不同黏附分子（ICAM-1和VCAM-1）表达增加，导致迟发相反应，募集嗜酸性粒细胞和中性粒细胞，造成眼表损伤。

目前已有数类眼科药物可通过抑制过敏性炎症级联反应的特定机制来治疗过敏性结膜炎的临床体征和症状[8]。氮卓斯汀、依匹斯汀、酮替芬和奥洛他定等多重作用药物近年来被认为兼具抗组胺作用、肥大细胞稳定作用和抗炎作用，可作用于多种免疫细胞（图2）[9]。因此，这一类药物正迅速成为过敏性结膜炎预防和治疗的一线选择。事实上，作为抗组胺药，它们拮抗组胺与H1/H2受体的结合，即刻缓解速发相症状

；作为肥大细胞稳定剂，它们抑制肥大细胞脱颗粒；作用于迟发相反应的免疫细胞，它们可减轻眼表损伤。然而，对文献的严格回顾表明，这些多重作用药物的若干作用机制仍属未知。此外，不同化合物对肥大细胞发挥不同作用，支持其稳定结膜肥大细胞效果的数据也存在矛盾。

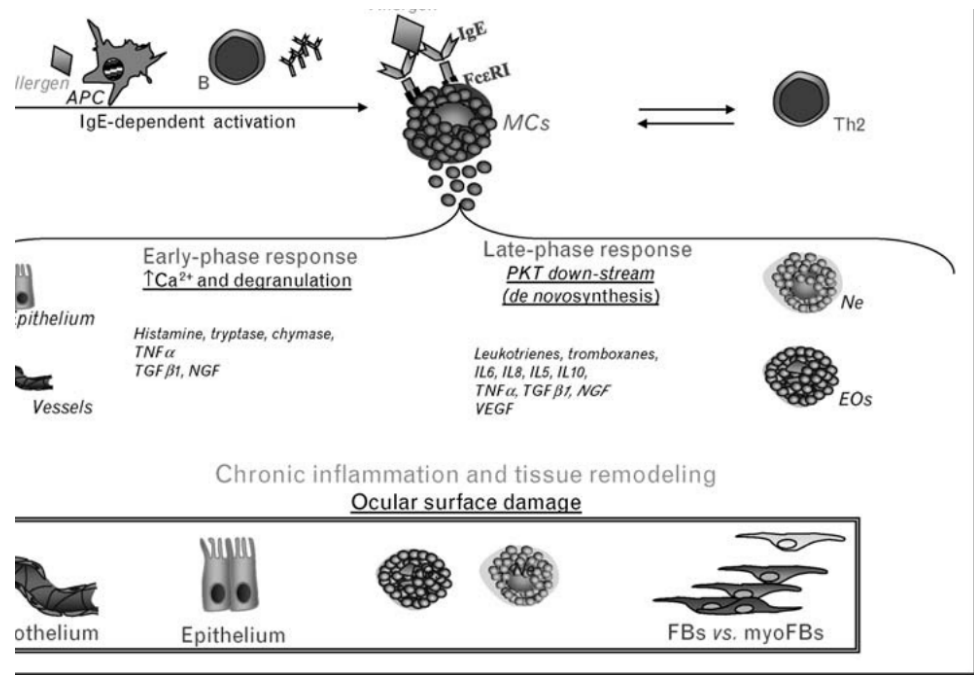


Figure 1: Diagram illustrating the activation of mast cells (MCs) and the resulting early and late phase responses in allergic inflammation. The diagram shows the common IgE-dependent stimulation (referring to sensitization and challenge responses). Early and late-phase products act at different time points on endothelium, epithelium, eosinophils/neutrophils, and fibroblast/myofibroblast remodeling. The chronic mechanism might result in ocular complications and impairments of visual function. IgE = immunoglobulin E; MC = mast cell; NGF = nerve growth factor; VEGF = vascular endothelial growth factor.

图1 过敏性炎症中的肥大细胞活化。肥大细胞活化的示意图，从常见的IgE依赖性刺激（致敏与激发）、速发相反应到迟发相反应。速发相和迟发相产物在不同时间点作用于内皮、上皮、嗜酸性粒细胞/中性粒细胞募集以及成纤维细胞/肌成纤维细胞重塑。慢性机制可因角膜损伤导致眼部并发症和视功能损害。IgE=免疫球蛋白E；MC=肥大细胞；NGF=神经生长因子；VEGF=血管内皮生长因子。

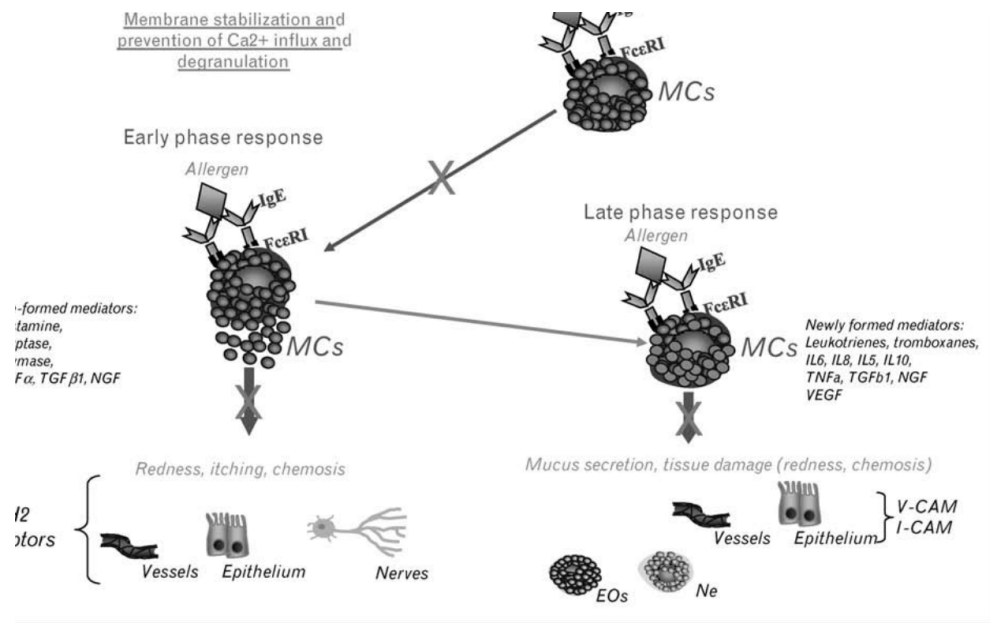


Figure 2: Diagram illustrating the pathways of action of multiple action antiallergic drugs, which include membrane activation and cell degranulation (early phase response) and de-novo synthesis (late-phase reaction). Drugs acting at the membrane level also interfere with the subsequent steps of Ca^{2+} influx and PKT signal transduction pathway. IgE, immunoglobulin E; MC, mast cell; NGF, nerve growth factor; PTK, protein-tyrosine kinase; VEGF, vascular endothelial growth factor.

图2 多重作用抗过敏药物的临床与药理效应。本图总结了多重作用抗过敏药物的作用途径，包括膜活化与细胞脱颗粒（速发相反应）及新合成（迟发相反应）。作用于膜水平的药物还干扰后续的胞内 Ca^{2+} 内流和PTK（蛋白酪氨酸激酶）信号转导途径。IgE=免疫球蛋白E；MC=肥大细胞；NGF=神经生长因子；VEGF=血管内皮生长因子。

体外证据

抗原诱导肥大细胞表面IgE抗体交联，通过Src家族激酶Lyn诱导FceRI亚基酪氨酸磷酸化，随后激活Syk/Zap家族激酶Syk。活化的激酶进一步磷酸化并激活其他酶[磷脂酶C γ 亚型、磷脂酰肌醇-3激酶（PI3K）亚型、蛋白激酶C（PKC）亚型、Bruton酪氨酸激酶（Btk）等]、接头蛋白（T细胞活化连接蛋白、Cbl、Grb2等）以及鸟苷-5'-三磷酸（GTP）交换因子/GTP酶（Vav、Ras、Rho等），继而动员储存的/细胞外Ca²⁺并引起细胞骨架改变，这是细胞内颗粒释放所必需的。这些事件在数秒或数分钟内导致分泌反应，随后产生细胞因子/趋化因子。胞内Ca²⁺升高是这些激酶活化和早期介质分泌的必要步骤[10–12]。肥大细胞稳定剂的一个推测机制是阻断IgE调控的钙通道，使细胞稳定并阻止组胺及相关介质的释放。没有胞内Ca²⁺，组胺囊泡便无法与细胞膜融合而发生脱颗粒。另一方面，抑制胞内Ca²⁺升高可抑制Ca²⁺依赖性PKC——后者对肥大细胞活化同样关键——或抑制胞吐作用，或两者兼有[12–14]。

因此，药物稳定肥大细胞的能力可依赖于体外释放的预成介质和新合成介质的测定[15]。如下文详述，多重作用药物（氮卓斯汀、依匹斯汀、酮替芬和奥洛他定）至少在体外影响肥大细胞活化/脱颗粒的多重选择性机制[16–24,25•]。

氮卓斯汀是一种咪唑啉衍生物，为第二代H₁受体拮抗剂，已证明口服/局部给药后能有效缓解过敏症状[26]。氮卓斯汀抑制速发相过敏反应以及IgE依赖性和IgE非依赖性刺激后大鼠腹腔肥大细胞的组胺释放[27–29]。氮卓斯汀显著抑制人脐血来源肥大细胞（CBMCs）释放组胺、白三烯和PGD₂[18]。氮卓斯汀还抑制类胰蛋白酶和IL6的释放，且该抑制作用似乎强于奥洛他定[7,16,17]。氮卓斯汀以剂量依赖方式抑制人CBMCs及人白血病肥大细胞分泌IL8、TNF- α ，以及程度较轻的IL6[10]。最近一项研究[10]证明，这种对胞吐作用的抑制是通过选择性干扰Ca²⁺内流和核因子- κ B（NF κ B）活化介导的。然而，该研究中受检细胞99%以上含类胰蛋白酶阳性颗粒，仅20%–30%含类胰蛋白酶/胃促胰酶双阳性颗粒，更接近于人肺和胃肠道黏膜中的肥大细胞，而非结膜肥大细胞。Kurosawa等[30]还证明，氮卓斯汀能通过控制磷脂酰肌醇代谢和cAMP生成来抑制大鼠肥大细胞的介质释放。最后，氮卓斯汀抑制中性粒细胞和嗜酸性粒细胞的白三烯合成及超氧化物生成，并下调人结膜中ICAM-1的表达[26,31]。

依美斯汀是相对选择性的H₁受体阻滞剂，对肾上腺素能受体、多巴胺受体或5-羟色胺受体无作用[32]。此外，依美斯汀还具有以下作用：抑制大鼠腹腔肥大细胞IgE介导的组胺释放；抑制豚鼠肥大细胞P物质诱导的组胺释放；抑制LTB₄或PAF诱发的嗜酸性粒细胞迁移；以及强效/选择性地抑制嗜酸性粒细胞趋化[19,32–34]。

依匹斯汀是一种强效的H₁/H₂受体拮抗剂，具有肥大细胞稳定和抗炎特性[9]。依匹斯汀对膜流动性无影响，但它抑制Ca²⁺摄取及从细胞内储存的释放，并在暴露于化合物48/80和P物质的豚鼠皮肤肥大细胞中剂量依赖性地抑制钙调蛋白[35]。依匹斯汀通过目前尚不清楚的机制抑制小鼠肥大细胞经IgE刺激产生VEGF、TNF- α 和角质形成细胞来源趋化因子（IL8的小鼠同源物）[20•]。肥大细胞中FceRI介导的TNF、IL6和IL8转录本表达严格依赖于NF κ B的活化[36,37]。因此，不能排除依匹斯汀通过Ca²⁺非依赖性机制抑制NF κ B活化、从而减少肥大细胞血管生成因子产生的可能性。

酮替芬是一种苯并环庚噻吩类化合物，具有多重作用机制，兼具肥大细胞稳定和抗介质特性，包括强效的H₁受体拮抗作用和白三烯生成抑制作用[9]。在实验和临床条件下，酮替芬可减少抗原诱导的肥大细胞脱颗粒，并减少组胺、蛋白酶、髓过氧化物酶、白三烯、PAF及多种前列腺素的释放。除抗组胺作用外，酮替芬还对肥大细胞膜的钙通透性表现出稳定作用[21,38,39]。与其他多重作用药物相比，酮替芬对刺激后细胞因子合成与分泌（IL8、IL10、TNF- β ）的抑制作用较弱[25•]。最后，酮替芬对组胺释放具有双相作用（低浓度时抑制，较高浓度时促进），该作用已在包括人结膜肥大细胞在内的多种肥大细胞类型中得到证实[25•,40–42]。

盐酸奥洛他定是一种三环类化合物，具有H₁受体拮抗和肥大细胞稳定作用，并对免疫细胞募集具有调节作用[9]。奥洛他定抑制致敏肥大细胞经抗原诱导的组胺、细胞因子、白三烯和前列腺素释放[43,44]。奥洛他定还抑制人结膜含类胰蛋白酶/胃促胰酶肥大细胞IgE介导的组胺和TNF- α 释放，并抑制上皮细胞ICAM-1表达的上调[22–24]。后一作用似乎通过TNF- α 特异性机制介导。抑制肥大细胞活化和降低ICAM-1

表达可减少炎症细胞（嗜酸性粒细胞和中性粒细胞）的募集/浸润。此外，Ikemura等[45]证明，在暴露于钙离子载体的富含中性粒细胞的人多形核白细胞（PMN）中，奥洛他定通过减少膜磷脂释放花生四烯酸（可能通过干扰磷脂酶），抑制白三烯和血栓烷A2的释放以及PAF的形成。奥洛他定还被证明可抑制钙内流，这与人嗜碱性粒细胞系中脱颗粒程度和IL4表达相关[46]。

奈多罗米最初被认为只是一种肥大细胞稳定剂，但因其H1受体拮抗特性及对多种过敏性炎症细胞、肥大细胞和嗜酸性粒细胞的抑制作用，现也被归入多重作用化合物[47,48]。然而，关于奈多罗米抑制中性粒细胞迁移的结果存在矛盾[49,50]。体外研究显示，奈多罗米可消除人结膜上皮人类白细胞抗原（HLA）-DR的表达并减少ICAM-1的表达[51]。此外，奈多罗米抑制致敏豚鼠的速发相和迟发相结膜充血、结膜水肿、眼睑水肿及嗜酸性粒细胞浸润[52]。最后，在眼部过敏原激发模型中，奈多罗米滴眼液可降低泪液中组胺和PGD2的浓度以及分泌IL4的肥大细胞数量[53]。

在最近一项研究中，Galatowicz等[25•]比较了不同多重作用药物对人CBMC和结膜来源肥大细胞的稳定作用。FcεRI刺激的CBMC分泌组胺可被上述所有药物以剂量依赖方式不同程度地抑制，其中奈多罗米是最有效的CBMC稳定剂。所有药物均显著降低TNF-α；除奥洛他定外，所有药物均减少IL5产生；IL8被依匹斯汀和氮卓斯汀抑制；IL10被依匹斯汀和奥洛他定降低；TNF-β被氮卓斯汀和奥洛他定减少。然而，这些数据未能在结膜来源的肥大细胞中得到证实——在该细胞中，依匹斯汀和奥洛他定并未显著减少组胺、IL8和TNF-β的释放。值得强调的是，人结膜肥大细胞的体外研究严重受限于活检标本可回收细胞数量极少。表1总结了多重作用药物稳定作用的体外研究。

表1 氮卓斯汀、依美斯汀、依匹斯汀和奥洛他定对肥大细胞稳定作用的体外研究（原表为横向排版，此处尽力转录重建）

药物	细胞体系	方法学（体外步骤）	对照	体外参数	备注	参考文献
氮卓斯汀	HMC1（人白血病肥大细胞）	药物预孵育1小时；PMA/离子载体孵育24小时	氯雷他定、西替利嗪、雷尼替丁、地塞米松、安慰剂	TNF-α、IL3、IL6、IL8、GM-CSF；胞内[Ca2+]；组胺、类胰蛋白酶	剂量依赖性抑制：TNF-α > IL8 >> IL6 >> IL3；对GM-CSF无影响	[7]
氮卓斯汀	CBMCs（脐血肥大细胞）	细胞预培养72小时	—	—	几乎100%为类胰蛋白酶标记细胞；↓细胞因子产生/释放；↓胞内Ca2+流及NFκB	[10,21,22]
奥洛他定、氮卓斯汀	CBMCs	药物预孵育5分钟；抗IgE刺激6小时；以特异性患者富IgE血清预致敏	色甘酸钠	IL6、TNF-α、IL8、NFκB、胞内[Ca2+]；组胺、LTs、PGD2	几乎全部（>99%）为类胰蛋白酶阳性细胞（25%胃促胰酶阳性细胞）；↓组胺释放及新合成介质的合成/释放；↓胞内[Ca2+]释放/内流	[20•,27,30]
依美斯汀	RtMCs（大鼠肥大细胞）	抗IgE激发	无	组胺	—	[19]
依匹斯汀	MoMCs（小鼠肥大细胞）	P物质刺激的肥大细胞（IgE非依赖性刺激）；卵清蛋白预致敏并激发	无	细胞因子的产生与释放	VEGF和TNF-α完全受抑	[20•,35]
奥洛他定	HuMCs（人结膜肥大细胞）	单分散HuMCs	酮替芬	组胺、类胰蛋白酶、磷脂酰肌醇代谢、PGD2	剂量依赖性抑制	[22–24,40–44]

药物	细胞体系	方法学（体外步骤）	对照	体外参数	备注	参考文献
氮卓斯汀、依匹斯汀、酮替芬、奥洛他定	HuMCs、CBMCs	IgE预致敏并刺激；HuMCs分离后暴露于SCF；CBMCs依次暴露于SCF/IL6及IL3；两种细胞均预致敏并激发	左卡巴斯汀；奈多罗米对比其余所有药物	组胺及细胞因子的产生/分泌	CBMCs为CD34+干细胞来源（类胰蛋白酶/胃促胰酶阳性细胞）；作为肥大细胞稳定剂，无药物优于奈多罗米；不同药物作用存在差异；剂量依赖性↓上清组胺释放	[25••]

注：CBMCs=脐血肥大细胞；GM-CSF=粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子；HMC1=人白血病肥大细胞；HuMCs=人结膜肥大细胞；IgE=免疫球蛋白E；LTs=白三烯；MoMCs=小鼠肥大细胞；MC=肥大细胞；PGD2=前列腺素D2；PMA=佛波醇肉豆蔻酸乙酯；RtMCs=大鼠肥大细胞；SCF=干细胞因子；VEGF=血管内皮生长因子。

动物模型中的证据

所有多重作用药物均已在过敏反应动物模型中进行研究，证明能有效抑制炎症过程的一种或多种机制。在这些体内研究中，难以将肥大细胞稳定作用与抗组胺作用或直接/间接抗炎活性区分开来。然而，仍可从这些体内研究中推断出若干关于肥大细胞稳定作用的有趣数据[25••,54–57,58•]。

据报道，氮卓斯汀通过抑制白三烯C4/D4合成，抑制豚鼠抗组胺药抵抗的、白三烯介导的过敏性支气管收缩[59]。与此观察一致，氮卓斯汀治疗显著抑制致敏豚鼠抗原诱导的白三烯释放和鼻血管通透性增加[60]。此外，Lytinas等[17]证明，氮卓斯汀比奥洛他定更能通过抑制肥大细胞脱颗粒，阻止大鼠皮内注射48/80后的伊文思蓝外渗。此外，氮卓斯汀治疗显著抑制二硝基氟苯激发的致敏小鼠的速发相反应和迟发相反应[后者主要由LTB(4)和PAF介导][61]。

酮替芬也在不同动物模型中得到广泛研究。在通过机械刺激外耳道诱导肥大细胞脱颗粒的大鼠模型中，给予酮替芬显著抑制肥大细胞脱颗粒和组织肿胀[62]。在大鼠中，酮替芬还通过抑制肥大细胞蛋白酶-5的释放，阻断肉芽肿形成和血管生成[63]。然而，在豚鼠组胺诱发的和抗原诱发的结膜炎模型中，酮替芬未能抑制过敏原激发后泪液组胺水平的升高[54]。

依美斯汀在组胺刺激和抗原刺激的结膜炎动物模型中接受了抗过敏活性评价。在该研究中，依美斯汀以浓度依赖方式抑制组胺诱导的结膜血管通透性，与酮替芬相似且强于“单纯”抗组胺药；在被动结膜过敏反应模型中，依美斯汀在抗原激发前给药时显著抑制过敏反应[55]。

依匹斯汀能有效抑制抗大鼠家兔抗血清皮下注射诱导的大鼠足垫肿胀以及豚鼠主动Arthus反应的早期阶段[64]。此外，在抑制二硝基氟苯涂抹、被动皮肤过敏反应和P物质注射诱导的小鼠搔抓行为及皮肤反应方面，依匹斯汀比西替利嗪、特非那定等“单纯”抗组胺化合物更有效[65]。

奥洛他定全身和局部给药均被证明可抑制主动致敏豚鼠的抗原诱发结膜炎[56]。在其他过敏反应动物模型中进行的研究提示，奥洛他定发挥的不仅仅是“单纯”抗组胺作用。口服奥洛他定显著减轻主动致敏大鼠的喷嚏反应、揉鼻反应和鼻血管通透性增加[56,66]——而在该模型中组胺H1受体拮抗剂和白三烯受体拮抗剂均只有部分作用[67]。全身给予奥洛他定显著抑制主动致敏豚鼠鼻炎和哮喘的临床体征，并伴嗜酸性粒细胞浸润减少[44,66,68]。此外，在主动致敏豚鼠鼻内抗原激发后，奥洛他定显著阻止鼻灌洗液中组胺的升高，并倾向于抑制白三烯和TXB2浓度的升高[69]。

最近一项研究[25••]在过敏性结膜炎动物模型中比较了不同多重作用抗过敏药物（依匹斯汀、奥洛他定和奈多罗米）的效果。依匹斯汀、奥洛他定和奈多罗米均显著减轻结膜发红，奈多罗米和依匹斯汀均减少流泪，且仅依匹斯汀减轻眼睑水肿。所有药物均显著减少结膜嗜酸性粒细胞数量，而中性粒细胞计数仅被依匹斯汀选择性降低。与该数据一致，Beauregard等[57]证明，奥洛他定、依匹斯汀、氮卓斯汀和酮替芬

抑制豚鼠组胺诱导的血管通透性长达4小时，而仅奥洛他定的作用在单次局部用药后可持续16小时。然而，这些结果显然与Sanchis等[58•]获得的实验数据相矛盾：后者证明，在卵清白蛋白和氢氧化铝腹腔致敏的豚鼠中，spaglumeric acid和依美斯汀——而非酮替芬、奥洛他定和氮卓斯汀——抑制结膜过敏原激发后的伊文思蓝眼部外渗。表2总结了多重作用药物眼部作用的体内研究。

表2 多重作用药物眼部作用的体内研究（原表为横向排版，此处尽力转录重建）

药物	动物体系	方法学	对照	体内参数	备注	参考文献
氮卓斯汀	豚鼠/大鼠	抗原激发；药物预处理；皮内注射48/80	相互比较	血管通透性、白三烯释放	抑制白三烯C4/D4合成与释放；抑制鼻血管通透性增加及伊文思蓝外渗	[17,59,60,61]
依匹斯汀（与奥洛他定、奈多罗米比较）	小鼠/豚鼠	豚草花粉致敏；局部激发；药物预处理	相互比较	临床评分；结膜免疫染色	依匹斯汀和奥洛他定预处理显著降低临床评分和嗜酸性粒细胞（EO）浸润；仅依匹斯汀降低中性粒细胞（Ne）浸润及眼睑水肿	[25••]
酮替芬	大鼠/豚鼠	外耳道机械刺激致脱颗粒；肉芽肿/血管生成模型；组胺及抗原诱发结膜炎	左卡巴斯汀；amlexanox；氯苯那敏	泪液组胺水平	抑制肥大细胞脱颗粒、组织肿胀及蛋白酶-5释放；未能降低过敏原诱发泪液组胺升高的速率（氯苯那敏同样无效）	[54,62,63]
依美斯汀	豚鼠	组胺诱发及抗原诱发结膜炎；药物预处理	酮替芬；溴苯那敏；氯苯那敏；clemastine；吡拉明；左卡巴斯汀；非尼拉敏；苯海拉明；安他唑啉	血管通透性	与酮替芬等效，且强于其他抗组胺药	[55]
奥洛他定、依匹斯汀、氮卓斯汀、酮替芬	豚鼠	组胺诱发结膜炎（单次局部给药）	相互比较	血管通透性	各药作用长达4小时；仅奥洛他定作用持续16小时	[57]
奥洛他定	豚鼠/大鼠	抗原诱发结膜炎；主动致敏鼻炎模型	酮替芬	血管通透性；临床评分；鼻灌洗液介质	减轻喷嚏、揉鼻及鼻血管通透性；抑制组胺升高，倾向抑制白三烯和TXB2升高	[44,56,66,68,69]
依美斯汀、spaglumeric acid	豚鼠	卵清白蛋白腹腔致敏；结膜囊激发；药物预处理	酮替芬、奥洛他定、氮卓斯汀	血管通透性	依美斯汀和spaglumeric acid显著降低血管通透性；酮替芬、奥洛他定、氮卓斯汀未抑制伊文思蓝外渗	[58•]

注：EO=嗜酸性粒细胞；Ne=中性粒细胞。

患者中的证据

已开展多项临床试验证明多重作用药物改善过敏性结膜炎体征和症状的安全性和有效性。这些药物稳定作用的一些证据也可从临床试验或采用结膜激发试验（CPT）的研究中推断。事实上，由于肥大细胞脱颗粒（通过释放炎症介质）是过敏原激发后结膜细胞浸润的原因，可通过定量CPT后6小时内结膜/泪液中肥大细胞来源的介质和免疫细胞来确定药物肥大细胞稳定作用的程度。

氮卓斯汀已被证明能有效缓解过敏性结膜炎的眼部体征和症状[9,70]，与安慰剂处理眼相比，在特异性过敏原激发后显著减轻瘙痒、结膜发红、流泪和结膜水肿[71]。有趣的是，在一项纳入20例患者的随机、安慰剂对照、双盲、平行组研究[72]中，氮卓斯汀在特异性过敏原激发后的速发相和迟发相反应中显著降低症状评分、炎症细胞数量和ICAM-1表达。氮卓斯汀不同于“单纯”抗组胺药的证据也可从其他过敏性疾病的研究中获得。Pipkorn等[73]采用鼻激发试验证明，氮卓斯汀以及0.2%奥洛他定可抑制鼻部症状及组胺、白蛋白和溶菌酶水平。此外，氮卓斯汀（而非西替利嗪）可改善支气管哮喘并减少支气管活检中活化的嗜酸性粒细胞和淋巴细胞数量，与此前两种药物对体外肥大细胞细胞因子释放作用不同的数据一致[74,75]。然而，过敏性结膜炎患者的临床试验证明左卡巴斯汀与氮卓斯汀的临床疗效相似，但服用氮卓斯汀者改善的患者数量显著更多且起效更快[76,77]。

依美斯汀在急性过敏性结膜炎的CPT模型中显著减轻瘙痒，且在过敏原激发后3和10分钟缓解发红和瘙痒方面比奈多罗米更有效[78]。在CPT研究中，依美斯汀在减轻眼部瘙痒方面显著优于左卡巴斯汀，在控制结膜发红方面与之相当[79]。此外，在一项纳入222例患者的双盲、随机研究[80]中，依美斯汀滴眼液在预防和治疗成人及儿童过敏性结膜炎的体征和症状方面比左卡巴斯汀滴眼液更有效。这些结果被其他比较依美斯汀与左卡巴斯汀治疗过敏性结膜炎患者效果的临床试验所证实[81,82]。

在一项纳入67例过敏性结膜炎患者的随机、双盲、溶媒对照研究[83]中，依匹斯汀在特异性过敏原激发后显著减轻眼部瘙痒、眼睑肿胀、结膜水肿以及结膜、巩膜表层和睫状充血。此外，一项环境临床试验[84]显示，依匹斯汀滴眼液治疗在缓解眼部瘙痒和充血方面与左卡巴斯汀相似或更优。

酮替芬多年来一直作为抗过敏药用于支气管哮喘、特应性皮炎、季节性或常年性鼻炎、过敏性结膜炎、急性或慢性荨麻疹及食物过敏的管理[38]。在过敏性结膜炎患者的大型临床研究[85,86]中，酮替芬在过敏原激发后抑制眼部瘙痒和充血方面比安慰剂更有效。酮替芬滴眼液治疗所引起的体征和症状改善与ICAM、CD29+和eotaxin+上皮细胞等炎症标志物表达的降低相关[87,88]。

然而，酮替芬未能抑制鼻部过敏原激发诱导的组胺、白三烯和激肽产生[89]。此外，Phillips等[90]证明酮替芬对过敏原诱发的皮肤风团的抑制作用弱于对组胺诱发风团的作用，提示酮替芬不具有额外的肥大细胞稳定作用——至少对人皮肤肥大细胞而言如此。

此外，基于所研究的不同过敏性疾病，关于酮替芬肥大细胞稳定作用的数据存在矛盾。事实上，尽管酮替芬可减轻冷荨麻疹患者的临床严重程度并抑制寒冷诱发的组胺释放[91]，Mallet等[92]却证明酮替芬治疗不能降低肥大细胞增多症患者尿中的组胺及其代谢物。然而可以设想，肥大细胞增多症患者肥大细胞的组胺释放调节可能不同于冷荨麻疹患者或过敏性结膜炎患者的结膜肥大细胞。事实上，众所周知，与局部或全身给药的“单纯”抗组胺药相比，酮替芬在控制过敏性结膜炎患者的体征和症状方面更有效[93,94]。

已证明奥洛他定在缓解瘙痒和发红方面显著优于安慰剂。两项双盲、随机、安慰剂对照研究[96,97]显示，奥洛他定分别在98例和169例过敏性结膜炎患者中，于给药后即刻和8小时显著有效预防瘙痒和发红。随后一项采用CPT的研究[98]证实了奥洛他定减轻过敏性结膜炎患者体征和症状（包括瘙痒和发红）的积极作用。该研究中，奥洛他定的临床疗效与过敏原激发后泪液组胺水平、结膜免疫细胞（包括嗜酸性粒细胞、中性粒细胞和淋巴细胞）数量及ICAM-1表达的显著降低相关（与安慰剂相比）。该研究结果支持体外证据，即奥洛他定在过敏患者眼中将肥大细胞稳定作用与抗组胺活性相结合。事实上，体征和症状的减轻很可能是由于结膜肥大细胞介质释放减少，但不能排除因抑制结膜上皮细胞组胺受体而产生的抗炎作用。与这些结果一致，已证明奥洛他定滴眼液治疗优于局部或全身给药的“单纯”抗组胺药[99,100]。表3总结了多重作用药物肥大细胞稳定作用的临床证据。

表3 患者体内多重作用的证据

药物	疾病	方法学	对照	体内参数	备注	参考文献
氮卓斯汀	SAC	CPT；随机、双盲、平行组	安慰剂	临床参数；炎症细胞数量；ICAM-1表达	对所有评估参数均有效	[72]
氮卓斯汀	SAC	14天治疗；开放研究、平行组	左卡巴斯汀	临床参数	氮卓斯汀组应答者显著更多	[76]

药物	疾病	方法学	对照	体内参数	备注	参考文献
氮卓斯汀	SAC	14天治疗；随机、多中心、平行组	安慰剂（双盲）；左卡巴斯汀（开放）	临床参数	氮卓斯汀优于安慰剂，与左卡巴斯汀等效	[77]
依美斯汀	SAC/PAC	CPT；随机、双盲、对侧眼对照	安慰剂；左卡巴斯汀	临床参数	止痒优于左卡巴斯汀	[79]
依美斯汀	SAC/PAC	6周治疗；随机、双盲、多中心、平行组	左卡巴斯汀	临床参数	依美斯汀优于左卡巴斯汀	[80]
依美斯汀	SAC/PAC	42天治疗；随机、双盲、平行组	左卡巴斯汀	临床参数	依美斯汀在控制结膜水肿、发红、瘙痒、眼睑肿胀方面优于左卡巴斯汀	[81]
依美斯汀	SAC	42天治疗；随机、双盲、平行组	左卡巴斯汀	临床参数	依美斯汀在控制结膜水肿、眼睑肿胀、发红、瘙痒方面优于左卡巴斯汀	[82]
依匹斯汀	SAC	8周治疗；随机、双盲、平行组	安慰剂；左卡巴斯汀	临床参数	与左卡巴斯汀等效	[84]
酮替芬	SAC/PAC	30天治疗；开放、无对照	基线	临床参数	体征和症状改善，伴CD29和eotaxin表达降低	[87]
酮替芬	SAC	30天治疗；随机、双盲、平行组	安慰剂；奥洛他定	临床参数；上皮ICAM-1、VCAM-1、HLA-DR、CD29表达	两药对所有评估参数均有效	[88]
酮替芬	SAC	4周治疗；随机、双盲、多中心、平行组	安慰剂；左卡巴斯汀	临床参数	酮替芬优于左卡巴斯汀	[93]
酮替芬	SAC	CPT；随机、双盲、平行组	全身用地氯雷他定	临床参数	酮替芬在控制瘙痒和发红方面更有效	[94]
奥洛他定	SAC	CPT；随机、双盲、对侧眼对照	安慰剂	临床参数；泪液组胺水平、免疫细胞数量、上皮ICAM-1/CD54表达	对所有评估参数均有效	[98]
奥洛他定	SAC/PAC	CPT；随机、双盲、对侧眼对照	左卡巴斯汀	临床参数	止痒和减轻发红优于左卡巴斯汀	[99]

注：CPT=结膜激发试验；PAC=常年性过敏性鼻炎；SAC=季节性过敏性鼻炎。

结论

体外和体内实验数据以及临床试验均支持以下证据：多重作用抗过敏药物可在不同水平影响过敏反应——抑制组胺受体、抑制肥大细胞介质（包括组胺和细胞因子）的释放，以及对免疫细胞发挥直接/间接作用。然而，大多数体外研究是在脐血来源肥大细胞或白血病肥大细胞上进行的，它们与结膜肥大细胞存在显著差异。有趣的是，多重作用药物以不同方式抑制肥大细胞新合成介质的释放。这些稳定作用的机制尚未完全阐明，但不同药物的选择性作用为更特异地靶向过敏反应的不同阶段开辟了新的前景。然而，一项在翼状胬肉来源结膜肥大细胞上进行的体外研究未能证明多重作用药物对结膜肥大细胞有显著的稳定作用。另一方面，包括结膜炎在内的不同过敏性疾病动物模型显示，多重作用药物可对肥大细胞发挥稳定作用。采用结膜过敏原激发试验进行的人体研究也提示这些药物具有显著的肥大细胞稳定活性。在临床试验中，多重作用药物优于抗组胺药和肥大细胞稳定剂两者的疗效进一步支持了这些分子具有多重作用的概念。事实上，多重作用药物不仅比全身和局部“单纯”抗组胺药起效更快、缓解更佳，而且作用持续时间更长，提

示组胺受体阻断、抑制肥大细胞介质释放和调节免疫细胞募集/活化的联合作用。

参考文献

- of special interest; •• of outstanding interest. 1. Bielory L. Allergic and immunologic disorders of the eye. Part I: immunology of the eye. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 106:805–816.
- 2. Tsubota K, Takamura E, Hasegawa T, Kobayashi T. Detection by brush cytology of mast cells and eosinophils in allergic and vernal conjunctivitis. *Cornea* 1991; 10:525–531.
- 3. Irani AM, Butrus SI, Tabbara KF, Schwartz LB. Human conjunctival mast cells: distribution of MCT and MCTC in vernal conjunctivitis and giant papillary conjunctivitis. *J Allergy Clin Immunol* 1990; 86:34–40.
- 4. Leonardi A. Emerging drugs for ocular allergy. *Expert Opin Emerg Drugs* 2005; 10:505–520.
- 5. Leonardi A. Role of histamine in allergic conjunctivitis. *Acta Ophthalmol Scand* 2000; 78 (Suppl):18–21.
- 6. Woodward DF, Hawley SB, Williams LS, et al. Studies on the ocular pharmacology of prostaglandin D₂. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990; 31:138–146.
- 7. Lippert U, Moller A, Welker P, et al. Inhibition of cytokine secretion from human leukemic mast cells and basophils by H₁- and H₂-receptor antagonists. *Exp Dermatol* 2000; 9:118–124.
- 8. Bielory L. Ocular allergy guidelines: a practical treatment algorithm. *Drugs* 2002; 62:1611–1634.
- 9. Bielory L, Lien KW, Bigelsen S. Efficacy and tolerability of newer antihistamines in the treatment of allergic conjunctivitis. *Drugs* 2005; 65:215–228.
- 10. Kempuraj D, Huang M, Kandere-Grzybowska K, et al. Azelastine inhibits secretion of IL-6, TNF-alpha and IL-8 as well as NF-kappaB activation and intracellular calcium ion levels in normal human mast cells. *Int Arch Allergy Immunol* 2003; 132:231–239.
- 11. Saito H, Ebisawa M, Tachimoto H, et al. Selective growth of human mast cells induced by Steel factor, IL-6, and prostaglandin E₂ from cord blood mononuclear cells. *J Immunol* 1996; 157:343–350.
- 12. Kimata M, Shichijo M, Miura T, et al. Ca²⁺ and protein kinase C signaling for histamine and sulfidoleukotrienes released from human cultured mast cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 257:895–900.
- 13. Kimata M, Inagaki N, Nagai H. Effects of luteolin and other flavonoids on IgE-mediated allergic reactions. *Planta Med* 2000; 66:25–29.
- 14. Douglas WW. Involvement of calcium in exocytosis and the exocytosis–vesiculation sequence. *Biochem Soc Symp* 1974; 39:1–28.
- 15. Schwartz LB, Lewis RA, Seldin D, Austen KF. Acid hydrolases and tryptase from secretory granules of dispersed human lung mast cells. *J Immunol* 1981; 126:1290–1294.
- 16. Kempuraj D, Huang M, Kandere K, et al. Azelastine is more potent than olopatadine in inhibiting interleukin-6 and tryptase release from human umbilical cord blood-derived cultured mast cells. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2002; 88:501–506.
- 17. Lytinas M, Kempuraj D, Huang M, et al. Azelastine's inhibition of histamine and tryptase release from human umbilical cord blood-derived cultured mast cells as well as rat skin mast

cell-induced vascular permeability: comparison with olopatadine. *Allergy Asthma Proc* 2002;23:45–51.

18. Shichijo M, Inagaki N, Nakai N, et al. The effects of antiasthma drugs on mediator release from cultured human mast cells. *Clin Exp Allergy* 1998; 28:1228–1236.

19. Saito T, Hagihara A, Igarashi N, et al. Inhibitory effects of emedastine difumarate on histamine release. *Jpn J Pharmacol* 1993; 62:137–143.

20••. Asano K, Furuta A, Kanai K, et al. Inhibition of angiogenic factor production from murine mast cells by an antiallergic agent (epinastine hydrochloride) in vitro. *Mediators Inflamm* 2008; 2008:265095.

21. Sharif NA, Xu SX, Miller ST, et al. Characterization of the ocular antiallergic and antihistaminic effects of olopatadine (AL-4943A), a novel drug for treating ocular allergic diseases. *J Pharmacol Exp Ther* 1996; 278:1252–1261.

22. Yanni JM, Miller ST, Gamache DA, et al. Comparative effects of topical ocular antiallergy drugs on human conjunctival mast cells. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1997; 79:541–545.

23. Cook EB, Stahl JL, Barney NP, Graziano FM. Olopatadine inhibits TNF α release from human conjunctival mast cells. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2000; 84:504–508.

24. Cook EB, Stahl JL, Barney NP, Graziano FM. Olopatadine inhibits antiimmunoglobulin E-stimulated conjunctival mast cell upregulation of ICAM-1 expression on conjunctival epithelial cells. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2001; 87:424–429.

25••. Galatowicz G, Ajayi Y, Stern ME, Calder VL. Ocular antiallergic compounds selectively inhibit human mast cell cytokines in vitro and conjunctival cell infiltration in vivo. *Clin Exp Allergy* 2007; 37:1648–1656.

26. McTavish D, Sorkin EM. Azelastine: a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential. *Drugs* 1989; 38:778–800.

27. Chand N, Pillar J, Diamantis W, et al. Inhibition of calcium ionophore (A23187)-stimulated histamine release from rat peritoneal mast cells by azelastine: implications for its mode of action. *Eur J Pharmacol* 1983; 96:227–233.

28. Chand N, Pillar J, Diamantis W, Sofia RD. Inhibition of IgE-mediated allergic histamine release from rat peritoneal mast cells by azelastine and selected antiallergic drugs. *Agents Actions* 1985; 16:318–322.

29. Fields DA, Pillar J, Diamantis W, et al. Inhibition by azelastine of nonallergic histamine release from rat peritoneal mast cells. *J Allergy Clin Immunol* 1984; 73:400–403.

30. Kurosawa M, Okayama Y, Kobayashi S. Inhibitory effect of adenine nucleotides and antiallergic drugs on phosphorylation of phosphatidylinositol in rat mast cell granules. *Allergy* 1989; 44:576–581.

31. Busse W, Randlev B, Sedgwick J. The effect of azelastine on neutrophil and eosinophil generation of superoxide. *J Allergy Clin Immunol* 1989; 83:400–405.

32. Sharif NA, Su SX, Yanni JM. Emedastine: a potent, high affinity histamine H₁-receptor-selective antagonist for ocular use – receptor binding and second messenger studies. *J Ocul Pharmacol* 1994; 10:653–664.

33. el-Shazly AE, Masuyama K, Samejima Y, et al. Inhibition of human eosinophil chemotaxis in vitro by the antiallergic agent emedastine difumarate. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 1996; 18:587–595.
34. Andoh T, Kuraishi Y. Involvement of blockade of leukotriene B(4) action in antipruritic effects of emedastine in mice. *Eur J Pharmacol* 2000; 406:149–152.
35. Kamei C, Akagi M, Mio M, et al. Antiallergic effect of epinastine (WAL 801 CL) on immediate hypersensitivity reactions. (I): elucidation of the mechanism for histamine release inhibition. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 1992; 14:191–205.
36. Klemm S, Ruland J. Inflammatory signal transduction from the Fc epsilon RI to NF-kappa B. *Immunobiology* 2006; 211:815–820.
37. Shin HY, Kim SH, Jeong HJ, et al. Epigallocatechin-3-gallate inhibits secretion of TNF-alpha, IL-6 and IL-8 through the attenuation of ERK and NF-kappaB in HMC-1 cells. *Int Arch Allergy Immunol* 2007; 142:335–344.
38. Grant SM, Goa KL, Fitton A, Sorkin EM. Ketotifen: a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in asthma and allergic disorders. *Drugs* 1990; 40:412–448.
39. Schoch C. In vitro inhibition of human conjunctival mast-cell degranulation by ketotifen. *J Ocul Pharmacol Ther* 2003; 19:75–81.
40. Brockman H, Graff G, Spellman J, Yanni J. A comparison of the effects of olopatadine and ketotifen on model membranes. *Acta Ophthalmol Scand* 2000; 230 (Suppl):10–15.
41. Truneh A, White JR, Pearce FL. Effect of ketotifen and oxatamide on histamine secretion from mast cells. *Agents Actions* 1982; 12:206–209.
42. Brockman HL, Momsen MM, Knudtson JR, et al. Interactions of olopatadine and selected antihistamines with model and natural membranes. *Ocul Immunol Inflamm* 2003; 11:247–268.
43. Rosenwasser LJ, O'Brien T, Weyne J. Mast cell stabilization and antihistamine effects of olopatadine ophthalmic solution: a review of preclinical and clinical research. *Curr Med Res Opin* 2005; 21:1377–1387.
44. Ohmori K, Hasegawa K, Tamura T, et al. Properties of olopatadine hydrochloride, a new antiallergic/antihistaminic drug. *Arzneimittelforschung* 2004; 54:809–829.
45. Ikemura T, Manabe H, Sasaki Y, et al. KW-4679, an antiallergic drug, inhibits the production of inflammatory lipids in human polymorphonuclear leukocytes and guinea pig eosinophils. *Int Arch Allergy Immunol* 1996; 110:57–63.
46. Matsubara M, Masaki S, Ohmori K, et al. Differential regulation of IL-4 expression and degranulation by antiallergic olopatadine in rat basophilic leukemia (RBL-2H3) cells. *Biochem Pharmacol* 2004; 67:1315–1326.
47. Corin RE. Nedocromil sodium: a review of the evidence for a dual mechanism of action. *Clin Exp Allergy* 2000; 30:461–468.
48. Gonzalez JP, Brogden RN. Nedocromil sodium: a preliminary review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy in the treatment of reversible obstructive airways disease. *Drugs* 1987; 34:560–577.

49. e Silva PM, Martins MA, Castro-Faria-Neto HC, et al. Nedocromil sodium prevents in vivo generation of the eosinophilotactic substance induced by PAF but fails to antagonize its effects. *Br J Pharmacol* 1992; 105:436–440.
50. Carolan EJ, Casale TB. Effects of nedocromil sodium and WEB 2086 on chemoattractant-stimulated neutrophil migration through cellular and noncellular barriers. *Ann Allergy* 1992; 69:323–328.
51. Diebold Y, Calonge M, Carretero V, et al. Expression of ICAM-1 and HLA-DR by human conjunctival epithelial cultured cells and modulation by nedocromil sodium. *J Ocul Pharmacol Ther* 1998; 14:517–531.
52. Hoyos L, Norris A, Vargaftig BB. Effects of nedocromil sodium on antigen-induced conjunctivitis in guinea pigs. *Adv Ther* 2000; 17:1–6.
53. Ahluwalia P, Anderson DF, Wilson SJ, et al. Nedocromil sodium and levocabastine reduce the symptoms of conjunctival allergen challenge by different mechanisms. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108:449–454.
54. Kamei C, Izushi K, Nakamura S. Effects of certain antiallergic drugs on experimental conjunctivitis in guinea pigs. *Biol Pharm Bull* 1995; 18:1518–1521.
55. Yanni JM, Stephens DJ, Parnell DW, Spellman JM. Preclinical efficacy of emedastine, a potent, selective histamine H1 antagonist for topical ocular use. *J Ocul Pharmacol* 1994; 10:665–675.
56. Kamei C, Sugimoto Y, Nakamura S, Zhong C. Effect of (Z)-11-[3-(dimethylamino) propylidene]-6,11-dihydrodibenz[b,e]oxepin-2-acetic acid hydrochloride on experimental allergic conjunctivitis and rhinitis in rats and guinea pigs. *Arzneimittelforschung* 1995; 45:1005–1008.
57. Beauregard C, Stephens D, Roberts L, et al. Duration of action of topical antiallergy drugs in a Guinea pig model of histamine-induced conjunctival vascular permeability. *J Ocul Pharmacol Ther* 2007; 23:315–320.
58. Sanchis-Merino ME, Montero JA, Ruiz-Moreno JM, et al. Comparative efficacy of topical antihistamines in an animal model of early phase allergic conjunctivitis. *Exp Eye Res* 2008; 86:791–797.
59. Chand N, Harrison JE, Rooney SM, et al. Inhibition of passive cutaneous anaphylaxis (PCA) by azelastine: dissociation of its antiallergic activities from antihistaminic and antiserotonin properties. *Int J Immunopharmacol* 1985; 7:833–838.
60. Shirasaki H, Asakura K, Sohma S, Kataura A. Inhibitory effects of azelastine on nasal allergic responses in sensitized guinea pigs. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1992; 249:279–282.
61. Satoh T, Tahara E, Yamada T, et al. Differential effect of antiallergic drugs on IgE-mediated cutaneous reaction in passively sensitized mice. *Pharmacology* 2000; 60:97–104.
62. Berger G, Berger R, Goldberg A. Ketotifen induced inhibition of histamine release in a non-IgE model of middle ear effusion. *Pediatr Allergy Immunol* 2006; 17:43–48.
63. Russo A, Russo G, Peticca M, et al. Inhibition of granuloma-associated angiogenesis by controlling mast cell mediator release: role of mast cell protease-5. *Br J Pharmacol* 2005; 145:24–33.
64. Kamei C, Izushi K, Adachi Y, et al. Inhibitory effect of epinastine on the type II-IV allergic reactions in mice, rats and guinea pigs. *Arzneimittelforschung* 1991; 41:1150–1153.

65. Inagaki N, Nagao M, Nakamura N, et al. Evaluation of antiscratch properties of oxatamide and epinastine in mice. *Eur J Pharmacol* 2000; 400:73–79.
66. Kaise T, Ohmori K, Sakakura Y, Ukai K. The effect of KW-4679, an antiallergic drug, on experimental allergic rhinitis in guinea pigs: effects on nasal blockage. *Jpn J Pharmacol* 1995; 69:435–438.
67. Howarth PH. Mediators of nasal blockage in allergic rhinitis. *Allergy* 1997; 52:12–18.
68. Ohmori K, Ishii H, Sasaki Y, et al. Effects of KW-4679, a new orally active antiallergic drug, on antigen-induced bronchial hyperresponsiveness, airway inflammation and immediate and late asthmatic responses in guinea pigs. *Int Arch Allergy Immunol* 1996; 110:64–72.
69. Miyake K, Horikoshi K, Ikeda Y, et al. Effects of olopatadine hydrochloride on the increase of histamine and peptide-leukotrienes concentrations in nasal lavage fluid following the antigen-antibody reaction in actively sensitized guinea pigs. *Jpn J Pharmacol* 2001; 85:453–456.
70. Canonica GW, Ciprandi G, Petzold U, et al. Topical azelastine in perennial allergic conjunctivitis. *Curr Med Res Opin* 2003; 19:321–329.
71. Friedlaender MH, Harris J, LaVallee N, et al. Evaluation of the onset and duration of effect of azelastine eye drops (0.05%) versus placebo in patients with allergic conjunctivitis using an allergen challenge model. *Ophthalmology* 2000; 107:2152–2157.
72. Ciprandi G, Buscaglia S, Catrullo A, et al. Azelastine eye drops reduce and prevent allergic conjunctival reaction and exert antiallergic activity. *Clin Exp Allergy* 1997; 27:182–191.
73. Pipkorn P, Costantini C, Reynolds C, et al. The effects of the nasal antihistamines olopatadine and azelastine in nasal allergen provocation. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2008; 101:82–89.
74. Hoshino M, Nakamura Y. The effect of azelastine on the infiltration of inflammatory cells into the bronchial mucosa and clinical changes in patients with bronchial asthma. *Int Arch Allergy Immunol* 1997; 114:285–292.
75. Zweiman B, Atkins PC, Moskovitz A, et al. Cellular inflammatory responses during immediate, developing, and established late-phase allergic cutaneous reactions: effects of cetirizine. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100:341–347.
76. Giede C, Metzenauer P, Petzold U, Ellers-Lenz B. Comparison of azelastine eye drops with levocabastine eye drops in the treatment of seasonal allergic conjunctivitis. *Curr Med Res Opin* 2000; 16:153–163.
77. Sabbah A, Marzetto M. Azelastine eye drops in the treatment of seasonal allergic conjunctivitis or rhinoconjunctivitis in young children. *Curr Med Res Opin* 1998; 14:161–170.
78. Orfeo V, Vardaro A, Lena P, et al. Comparison of emedastine 0.05% or nedocromil sodium 2% eye drops and placebo in controlling local reactions in subjects with allergic conjunctivitis. *Eur J Ophthalmol* 2002; 12:262–266.
79. Netland PA, Leahy C, Krenzer KL. Emedastine ophthalmic solution 0.05% versus levocabastine ophthalmic suspension 0.05% in the treatment of allergic conjunctivitis using the conjunctival allergen challenge model. *Am J Ophthalmol* 2000; 130:717–723.
80. Verin P, Easty DL, Secchi A, et al. Clinical evaluation of twice-daily emedastine 0.05% eye drops (Emadine eye drops) versus levocabastine 0.05% eye drops in patients with allergic conjunctivitis. *Am J Ophthalmol* 2001; 131:691–698.

81. Secchi A, Ciprandi G, Leonardi A, et al. Safety and efficacy comparison of emedastine 0.05% ophthalmic solution compared to levocabastine 0.05% ophthalmic suspension in pediatric subjects with allergic conjunctivitis. Emadine Study Group. *Acta Ophthalmol Scand* 2000; 230 (Suppl):42–47.

82. Secchi A, Leonardi A, Discepolo M, et al. An efficacy and tolerance comparison of emedastine difumarate 0.05% and levocabastine hydrochloride 0.05%: reducing chemosis and eyelid swelling in subjects with seasonal allergic conjunctivitis. Emadine Study Group. *Acta Ophthalmol Scand* 2000; (Suppl):48–51.

83. Abelson MB, Gomes P, Crampton HJ, et al. Efficacy and tolerability of ophthalmic epinastine assessed using the conjunctival antigen challenge model in patients with a history of allergic conjunctivitis. *Clin Ther* 2004; 26:35–47.

84. Whitcup SM, Bradford R, Lue J, et al. Efficacy and tolerability of ophthalmic epinastine: a randomized, double-masked, parallel-group, active- and vehicle-controlled environmental trial in patients with seasonal allergic conjunctivitis. *Clin Ther* 2004; 26:29–34.

85. Abelson MB, Chapin MJ, Kapik BM, Shams NB. Efficacy of ketotifen fumarate 0.025% ophthalmic solution compared with placebo in the conjunctival allergen challenge model. *Arch Ophthalmol* 2003; 121:626–630.

86. Torkildsen GL, Abelson MB, Gomes PJ. Bioequivalence of two formulations of ketotifen fumarate ophthalmic solution: a single-center, randomized, double-masked conjunctival allergen challenge investigation in allergic conjunctivitis. *Clin Ther* 2008; 30:1272–1282.

87. Martin AP, Urrets-Zavalía J, Berra A, et al. The effect of ketotifen on inflammatory markers in allergic conjunctivitis: an open, uncontrolled study. *BMC Ophthalmol* 2003; 3:2.

88. Avunduk AM, Tekelioglu Y, Turk A, Akyol N. Comparison of the effects of ketotifen fumarate 0.025% and olopatadine HCl 0.1% ophthalmic solutions in seasonal allergic conjunctivitis: a 30-day, randomized, double-masked, artificial tear substitute-controlled trial. *Clin Ther* 2005; 27:1392–1402.

89. Naclerio RM. The effect of antihistamines on the immediate allergic response: a comparative review. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1993; 108:723–730.

90. Phillips MJ, Meyrick Thomas RH, Moodley I, Davies RJ. A comparison of the in vivo effects of ketotifen, clemastine, chlorpheniramine and sodium cromoglycate on histamine and allergen induced weals in human skin. *Br J Clin Pharmacol* 1983; 15:277–286.

91. Huston DP, Bressler RB, Kaliner M, et al. Prevention of mast-cell degranulation by ketotifen in patients with physical urticarias. *Ann Intern Med* 1986; 104:507–510.

92. Mallet AI, Norris P, Rendell NB, et al. The effect of disodium cromoglycate and ketotifen on the excretion of histamine and N tau-methylimidazole acetic acid in urine of patients with mastocytosis. *Br J Clin Pharmacol* 1989; 27:88–91.

93. Kidd M, McKenzie SH, Steven I, et al. Efficacy and safety of ketotifen eye drops in the treatment of seasonal allergic conjunctivitis. *Br J Ophthalmol* 2003; 87:1206–1211.

94. Crampton HJ. Comparison of ketotifen fumarate ophthalmic solution alone, desloratadine alone, and their combination for inhibition of the signs and symptoms of seasonal allergic rhinoconjunctivitis in the conjunctival allergen challenge model: a double-masked, placebo- and active-controlled trial. *Clin Ther* 2003; 25:1975–1987.

95. Abelson MB. A review of olopatadine for the treatment of ocular allergy. *Expert Opin Pharmacother* 2004; 5:1979–1994.

96. Abelson MB. Evaluation of olopatadine, a new ophthalmic antiallergic agent with dual activity, using the conjunctival allergen challenge model. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1998; 81:211–218.

97. Abelson MB, Spitalny L. Combined analysis of two studies using the conjunctival allergen challenge model to evaluate olopatadine hydrochloride, a new ophthalmic antiallergic agent with dual activity. *Am J Ophthalmol* 1998; 125:797–804.

98. Leonardi A, Abelson MB. Double-masked, randomized, placebo-controlled clinical study of the mast cell-stabilizing effects of treatment with olopatadine in the conjunctival allergen challenge model in humans. *Clin Ther* 2003; 25:2539–2552.

99. Abelson MB, Greiner JV. Comparative efficacy of olopatadine 0.1% ophthalmic solution versus levocabastine 0.05% ophthalmic suspension using the conjunctival allergen challenge model. *Curr Med Res Opin* 2004; 20:1953–1958.

100. Abelson MB, Lanier RQ. The added benefit of local Patanol therapy when combined with systemic Claritin for the inhibition of ocular itching in the conjunctival antigen challenge model. *Acta Ophthalmol Scand* 1999; (Suppl):53–56.