

采用结膜过敏原激发模型评价依匹斯汀滴眼液对桦树花粉过敏性结膜炎患者的疗效

原文标题: Evaluating the efficacy of epinastine ophthalmic solution using a conjunctivitis allergen challenge model in patients with birch pollen allergic conjunctivitis

Allergology International 66 (2017) 338–343; Yoshiaki Tagawa, Kenichi Namba, Yumi Nakazono, Daiju Iwata, Susumu Ishida; 2017

摘要

背景: 依匹斯汀 0.05% 滴眼液对花粉过敏性结膜炎的疗效已在以雪松 (日本柳杉) 花粉作为激发物的结膜过敏原激发试验 (CAC) 中得到证实。本研究采用 CAC 试验考察该滴眼液对桦树花粉结膜炎的疗效。

方法: 本研究纳入 10 名无症状的桦树花粉过敏性结膜炎成人受试者 (男性 8 名、女性 2 名), 平均年龄 41.1 岁。研究在无桦树花粉播散的时期进行。采用双盲方式, 每位受试者一眼滴入依匹斯汀 0.05% 滴眼液, 对侧眼滴入人工泪液。滴药后 5 分钟或 4 小时, 双眼以最佳浓度的桦树花粉进行激发, 随后对眼部瘙痒和结膜充血进行分级评分。在滴药前及花粉激发后 20 分钟采集泪液, 测定组胺水平。

结果: 当于 CAC 前 4 小时预先用药时, 依匹斯汀处理眼的眼部瘙痒评分和睑结膜充血评分显著低于对侧对照眼。在对照眼中, 泪液组胺水平与 CAC 后三个时间点 (3、5、10 分钟) 的平均眼部瘙痒评分之间存在显著相关性, 而在依匹斯汀处理眼中未见此相关性。

结论: 依匹斯汀可有效抑制桦树花粉结膜炎的眼部瘙痒和结膜充血。

关键词: 过敏性结膜炎; 桦树花粉; 结膜过敏原激发; 组胺 H1 受体拮抗剂; 泪液组胺水平。

缩略语: CAC, 结膜过敏原激发试验; SAC, 季节性过敏性结膜炎; H1, 组胺 H1 (受体); OAS, 口腔过敏综合征。

引言

过敏性结膜炎是一种与 I 型变态反应相关的结膜炎性疾病[1], 可分为季节性过敏性结膜炎 (SAC) 和常年性过敏性结膜炎。多种花粉均可成为 SAC 的致病抗原, 花粉种类因地区和季节而异。在日本, 除北海道的北海道以外, 雪松花粉是 SAC 最常见的抗原。在北海道, 桦树花粉是 SAC 最常见的抗原[2], 桦树花粉相关的 SAC 季节持续近一个月, 从 4 月下旬至 6 月初。桦树花粉也是欧洲和北美春季的主要致敏原[3]。

含抗过敏成分的滴眼液是过敏性结膜炎的主要治疗手段。依匹斯汀兼具抗组胺作用 (阻断组胺 H1 受体[4]) 和化学介质稳定作用 (抑制组胺、白三烯等介质的释放[5,6])。一项 III 期研究表明, 在以雪松花粉变应原液进行的 CAC 试验中, 依匹斯汀 0.05% 滴眼液可有效抑制患者的 SAC 症状[7]。据我们所知, 依匹斯汀 0.05% 滴眼液治疗其他抗原所致 SAC 的疗效尚未见研究。本研究在人群中采用桦树花粉进行 CAC 试验, 考察其疗效。

方法

受试者

2014 年 12 月至 2015 年 2 月 (桦树花粉季节之外), 入选 36 名有桦树花粉过敏性结膜炎病史、当时无眼部症状的健康成年志愿者。本研究经北海道大学医院伦理委员会批准 (批准号 014-0193), 并遵循《赫尔辛基宣言》及日本厚生劳动省颁布的《临床研究伦理指南》实施。所有受试者在获得口头及书面研究信息后均签署了书面知情同意书。本研究已在 <https://center.umin.ac.jp> 注册, 注册号 UMIN000015797。

本研究为前瞻性、双盲 (双掩蔽)、随机、安慰剂对照、单中心研究 (日本北海道大学医院)。

变应原液

变应原液由桦树花粉提取物甘油溶液（1:20 w/v，Birch Mix PRW，HollisterStier，美国华盛顿州斯波坎）配制。激发试验前，以含硫酸软骨素 1:100 w/v、NaCl 2:10,000 w/v 和甘油 2:100 w/v 的稀释液对提取物进行稀释，配制成不同浓度（25 倍、50 倍、100 倍和 200 倍稀释）的变应原液。

CAC 试验

过敏性结膜炎的临床方法学和分级体系沿用既往报道[7,8]。于第 2 次访视时，为每位受试者个体化确定变应原液的最佳浓度。将变应原液滴入受试者结膜囊内，并按既往研究[7]评估眼部瘙痒以及睑、球结膜充血的严重程度。表 1 列出了眼部过敏症状（眼部瘙痒和结膜充血）的分级标准。

表 1 眼部瘙痒及睑、球结膜充血的分级标准

分级	症状
眼部瘙痒	
0	无
1	间歇性瘙痒
2	持续性瘙痒
3	持续性瘙痒并有揉眼欲望，但不影响正常功能
4	难以忍受（影响受试者正常功能）
睑、球结膜充血	
0	无
1	部分睑/球结膜少数血管扩张
2	整个睑/球结膜多数血管扩张
3	整个睑/球结膜弥漫性发红，无法分辨单根血管

临床试验设计

图 1 为本研究流程概要。在研究期间，受试者被告知不得局部或全身使用糖皮质激素、抗过敏药物、免疫抑制剂或免疫调节治疗；在 CAC 前出现眼部瘙痒、结膜充血等眼部过敏症状的受试者予以剔除。

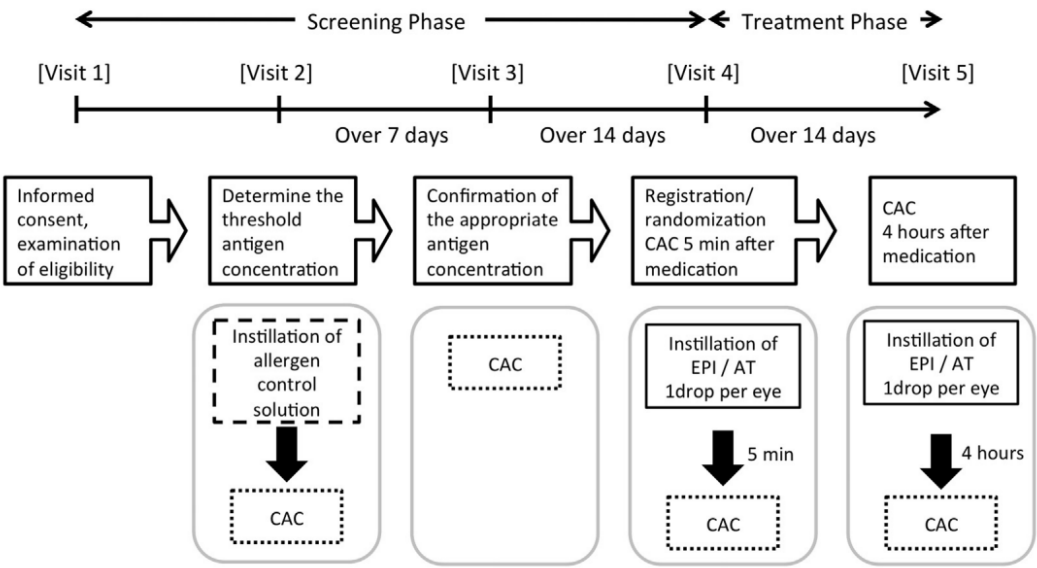


图 1 研究流程概要。CAC，结膜过敏原激发试验；EPI/AT，一眼滴盐酸依匹斯汀 0.05% 滴眼液/对侧眼滴人工泪液。

第 1 次访视：获得书面知情同意后，根据人口学资料（年龄 <20 岁或 >65 岁）及妊娠情况排除受试者。血清桦树花粉特异性免疫球蛋白 E（IgE）检测（ImmunoCAP 放射性变应原吸附试验）阴性的受试者

亦予以排除。

第 2 次访视：按既往研究[7]进行 CAC 试验。首先将变应原对照液（Allergen Scratch Extract Torii Control Solution，日本鸟居药品，东京）滴入结膜囊，以排除对不含花粉抗原的变应原液出现结膜炎症反应的受试者；随后向每只眼滴入 30 μ L 最低浓度的变应原液。逐级提高变应原浓度，直至 10 分钟内双眼均引出眼部瘙痒评分至少 2 分（持续性瘙痒）且睑、球结膜充血评分均至少 1 分（少数血管扩张）。对每位受试者，能引起上述症状的最低浓度即为 CAC 所用变应原液的最佳浓度。即使在最高浓度变应原液下仍不能出现足够症状（即瘙痒和血管扩张）的受试者，予以剔除。

第 3 次访视：使用第 2 次访视确定的最佳浓度变应原液再次进行 CAC，以确认变应原液激发的可重复性。第 2、3 次访视后，11 名受试者退出研究，其余 10 名受试者进入第 4、5 次访视的随机分组阶段。

第 4 次访视：受试者被随机分配接受一眼滴入依匹斯汀（ALESION 0.05% 滴眼液，日本大阪，参天制药，盐酸依匹斯汀滴眼液），对侧眼滴入人工泪液（Soft Santear，参天制药，日本大阪）。由一名助手遮盖研究药物标签以隐藏其身份；负责向每只眼各滴入一滴研究药物的技术员不参与研究的其他任何环节。滴药后 5 分钟，以最佳抗原浓度（50 倍稀释 [n = 2]、100 倍稀释 [n = 2]、200 倍稀释 [n = 6]）进行 CAC，并评估眼部瘙痒及睑、球结膜充血。

第 5 次访视：滴药后 4 小时进行 CAC，评估同样的眼部过敏症状。

泪液组胺水平

于第 4 次访视，在 CAC 前及激发后 20 分钟，采用 Schirmer 试纸（Color Bar Schirmer，EagleVision，美国田纳西州孟菲斯）采集泪液。与 Schirmer I 试验相同，将试纸置于下睑缘 5 分钟。采用市售酶联免疫吸附测定（ELISA）试剂测定所采集泪液中的组胺水平[9,10]。

统计学分析

目标样本量设定为 10 名受试者：假设两种处理（试验药与人工泪液）后眼部瘙痒评分的差值为 1.4、标准差为 0.9，采用配对 t 检验（双侧、检验水准 5%、检验效能 80%）推算。

主要终点为滴药后 4 小时行 CAC 时，激发后三个时间点（3、5、10 分钟）的平均眼部瘙痒评分。统计学分析采用配对 t 检验，所有检验均以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

受试者特征

在签署书面知情同意的 36 名受试者中，10 名受试者（女性 2 名、男性 8 名，平均年龄 [SD] 41.1 [8.3] 岁）进入第 4、5 次访视的随机试验。受试者被排除的主要原因是血清桦树花粉特异性 IgE 阴性（n = 12）或第 2、3 次访视时过敏反应不充分（n = 9）（图 2）。

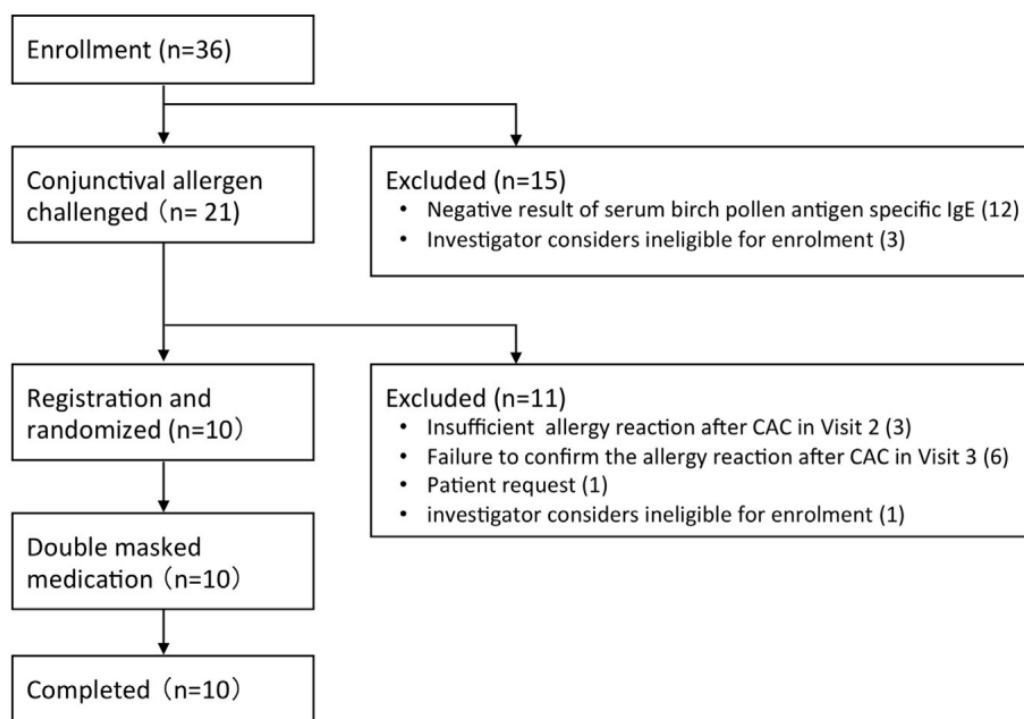


图 2 研究人群流程图。

CAC 前 5 分钟预用药的疗效

第 4 次访视于用药后 5 分钟进行 CAC。CAC 后 3、5、10 分钟的平均 (SD) 眼部瘙痒评分：依匹斯汀处理眼分别为 1.8 (1.2)、1.8 (1.3)、1.6 (1.1)，对照眼分别为 2.5 (1.0)、2.3 (0.7)、2.2 (0.9)。CAC 后 10 分钟，依匹斯汀处理眼的眼部瘙痒评分显著低于对照眼 ($P = 0.024$ ，图 3A)。

CAC 后 10 分钟，依匹斯汀处理眼的睑结膜充血评分亦显著低于对照眼 ($P = 0.037$ ，图 4A)。

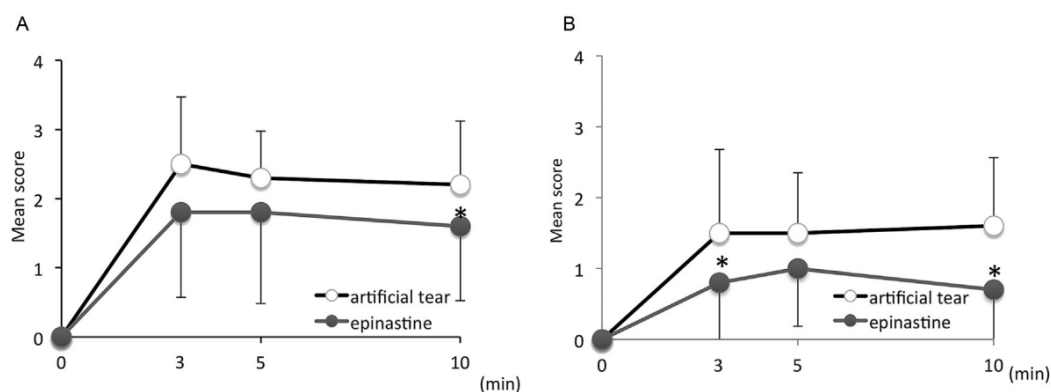


图 3 变应原激发后平均眼部瘙痒评分的时间变化。A：滴药后 5 分钟；B：滴药后 4 小时 ($n = 10$ 名受试者，均值 $\pm$ SD, $*P < 0.05$)。

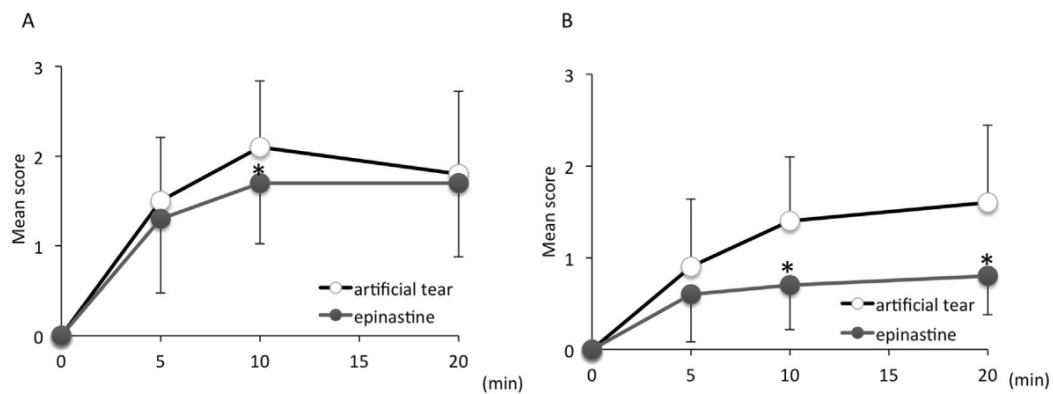


图 4 变应原激发后平均睑结膜充血评分的时间变化。A：滴药后 5 分钟；B：滴药后 4 小时（n = 10 名受试者，均值 $\pm$ SD，*P < 0.05）。

CAC 前 4 小时预用药的疗效

第 5 次访视于用药后 4 小时进行 CAC。CAC 后 3、5、10 分钟的平均（SD）眼部瘙痒评分：依匹斯汀处理眼分别为 0.8 (0.9)、1.0 (0.8)、0.7 (0.8)，对照眼分别为 1.5 (1.2)、1.5 (0.8)、1.6 (1.0)。CAC 后 3 分钟和 10 分钟，依匹斯汀处理眼的眼部瘙痒评分显著低于对照眼（P = 0.025、0.010，图 3B）。

CAC 后 10 分钟和 20 分钟，依匹斯汀处理眼的平均睑结膜充血评分亦显著低于对照眼（P = 0.045、0.037，图 4B）。

此外，当于 CAC 前 4 小时预用药时，依匹斯汀处理眼三个时间点的平均眼部瘙痒评分（3、5、10 分钟）和平均睑结膜充血评分（5、10、20 分钟）均显著低于对照眼（P = 0.017、0.038，表 2）；而于 CAC 前 5 分钟预用药时，未见显著差异。

表 2 变应原激发后三个时间点的平均眼部瘙痒评分与结膜充血评分（均值 $\pm$ SD）

处理	滴药后 5 分钟 行 CAC：眼部 瘙痒	滴药后 5 分钟 行 CAC：睑结 膜充血	滴药后 5 分钟 行 CAC：球结 膜充血	滴药后 4 小时 行 CAC：眼部 瘙痒	滴药后 4 小时 行 CAC：睑结 膜充血	滴药后 4 小时 行 CAC：球结 膜充血
人工泪液	2.3 $\pm$ 0.8	1.8 $\pm$ 0.7	2.0 $\pm$ 0.7	1.5 $\pm$ 0.8	1.3 $\pm$ 0.7	1.4 $\pm$ 0.8
依匹斯汀	1.7 $\pm$ 1.2	1.6 $\pm$ 0.7	1.7 $\pm$ 0.6	0.8 $\pm$ 0.8*	0.7 $\pm$ 0.4*	0.8 $\pm$ 0.7

注：*P < 0.05。

泪液组胺水平

于药物预处理前及 CAC 后 20 分钟检测泪液组胺浓度。16 只眼（80%）在 CAC 后的组胺水平较预处理前升高。然而，预处理前的平均泪液组胺水平与 CAC 后水平相比无显著差异（图 5）。此外，在对照眼中，泪液组胺水平与 CAC 后三个时间点（3、5、10 分钟）眼部瘙痒评分的均值呈正相关（ $r^2 = 0.5002$ ，P = 0.022，图 6A），而依匹斯汀处理眼中未发现此种相关性（图 6B）。同样，在对照眼中，泪液组胺水平与 CAC 后三个时间点（5、10、20 分钟）睑结膜充血评分的均值亦呈正相关（ $r^2 = 0.4579$ ，P = 0.032，图 7A）。

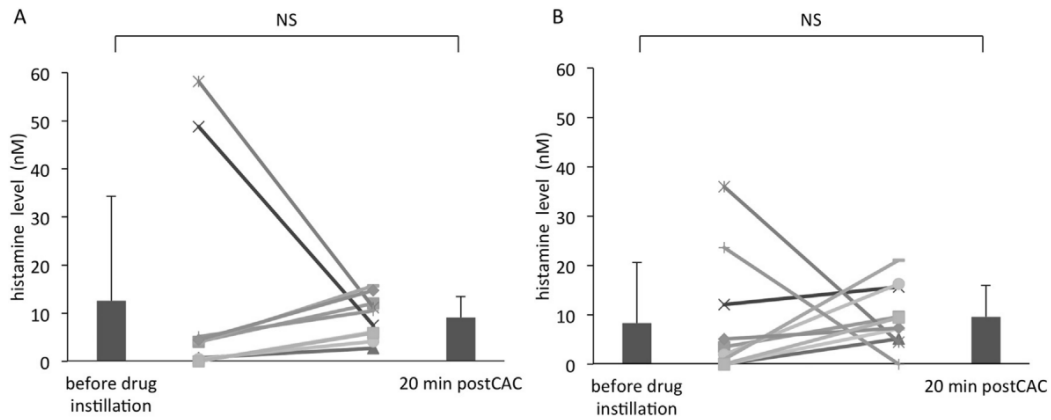


图 5 滴药前及滴药后 5 分钟行 CAC 激发后 20 分钟的泪液组胺水平。A：人工泪液处理眼；B：依匹斯汀处理眼（n = 10 名受试者，均值 ± SD）。

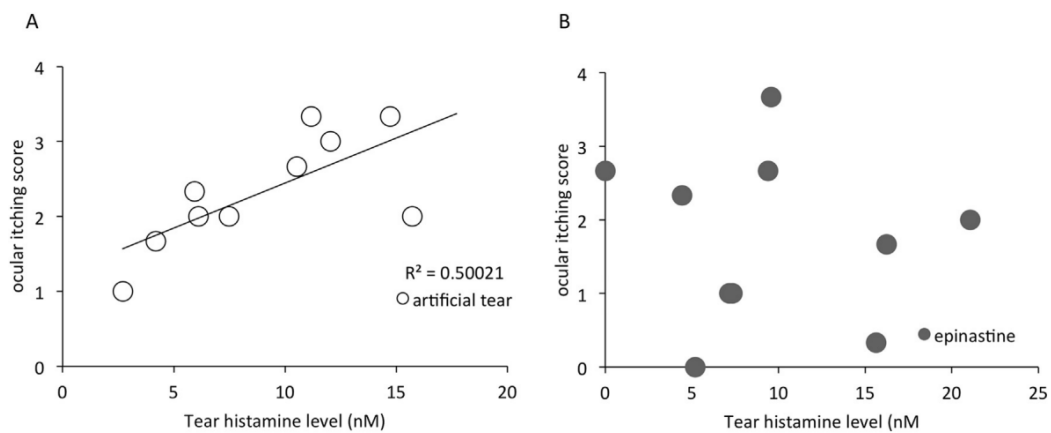


图 6 泪液组胺水平与变应原激发后三个时间点平均眼部瘙痒评分的关系。A：人工泪液处理眼；B：依匹斯汀处理眼（n = 10 名受试者）。

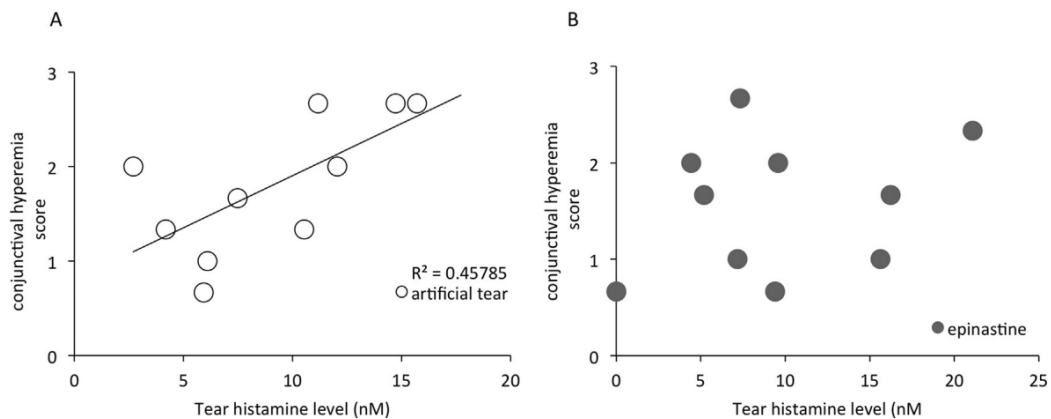


图 7 泪液组胺水平与变应原激发后三个时间点平均睑结膜充血评分的关系。A：人工泪液处理眼；B：依匹斯汀处理眼（n = 10 名受试者）。

讨论

CAC 试验最初由 Abelson MB 等建立[11,12]，此后美国食品药品监督管理局（FDA）和日本药品医疗器械综合机构（PMDA）均认可采用 CAC 试验评价抗组胺滴眼液的疗效。

在日本，迄今 CAC 试验仅使用过雪松花粉[13,14]。本研究以桦树花粉作为抗原。据我们所知，这是全球首个在 CAC 试验中使用桦树花粉的研究。桦树花粉是西北欧（包括瑞典、芬兰、英国、德国、比利时、瑞士、奥地利）以及北美和加拿大春季的主要致敏原[15]。在瑞典和芬兰，约 15% 的人群易发生桦树花粉

过敏[3]，该过敏已被视为一个社会问题。桦树花粉过敏者可表现为哮喘、鼻炎和结膜炎。

桦树花粉还可诱发口腔过敏综合征（OAS）[16]。部分桦树花粉过敏者同时对苹果、桃、樱桃等多种水果过敏。OAS 被认为是由分子模拟引起的交叉免疫反应所致[17]。OAS 不仅是日本北海道、也是瑞典、芬兰等其他国家的重要问题。OAS 的患病率凸显了开展桦树花粉过敏研究的必要性。

依匹斯汀滴眼液已上市，其疗效在以雪松花粉进行的 CAC 试验的 III 期研究中得到证实[7]。我们采用了与既往 III 期研究几乎相同的方案进行 CAC 试验，不同之处在于：1) 激发抗原——既往研究为“雪松”花粉，本研究为“桦树”花粉；2) 滴药至抗原激发的间隔——既往研究为“15 分钟”，本研究为“5 分钟”。本研究同样显示，依匹斯汀滴眼液可有效抑制桦树花粉诱发的过敏性结膜炎。早期研究报道了抗原激发前 15 分钟给予依匹斯汀的疗效[7,18]。本研究在抗原激发前 5 分钟给予依匹斯汀滴眼液，以评估该药的速效性。结果显示其具有中等程度的疗效，且其疗效弱于抗原激发前 4 小时给药。因此，可以认为依匹斯汀滴眼液具有温和的速效作用。

既往研究报道，CAC 试验中泪液组胺浓度会升高[10]。本研究中，80% 的受试者在变应原激发后组胺浓度升高，且对照组泪液组胺浓度与眼部瘙痒评分呈正相关；而在依匹斯汀组，泪液组胺浓度与眼部瘙痒评分之间无相关性。依匹斯汀具有阻断 H1 受体的作用。组胺浓度与眼部瘙痒评分之间相关性的缺失，可能正是由于依匹斯汀的 H1 受体阻断作用——即使泪液中组胺浓度较高，该药仍能抑制眼部瘙痒。既往研究亦报道，在对照眼中泪液组胺浓度与过敏症状严重程度相关，而在经抗组胺滴眼液处理的眼中则与症状严重程度不相关[19]。尽管该研究为季节性观察研究而非激发试验，其结果仍与本研究相符。

在本研究中，依匹斯汀滴眼液预处理对变应原激发后的泪液组胺浓度无影响。一项早期研究中，患者预先使用抗组胺滴眼液 5 天后，变应原激发后观察到较低的泪液组胺水平[10]。本研究仅在变应原激发前 5 分钟或 4 小时单剂量预滴依匹斯汀滴眼液。要确定滴眼液抑制组胺释放（即肥大细胞脱颗粒）的潜力，可能需要更长时间的预用药。

依匹斯汀还被认为可作为反向激动剂，下调 H1 受体的基因表达活性[20,21]。本研究仅采用了依匹斯汀滴眼液单次预用药。如果延长预用药时间，其抑制眼部症状的能力很可能更强。

致谢

本研究在北海道大学与参天制药株式会社的合作研究协议框架下完成，并由参天制药株式会社（日本大阪）资助。

利益冲突

KN 获得参天制药的研究资助。YN 为参天制药雇员。其余作者声明无利益冲突。

作者贡献

YT、KN 和 YN 设计了研究并撰写手稿。YT 和 KN 参与研究的实施、统计学分析及结果解读。DI 完成了随机化和掩蔽。DI 和 SI 对研究设计提出了重要建议。全体作者均阅读并批准了最终手稿。

参考文献

1. Takamura E, Uchio E, Ebihara N, Ohno S, Ohashi Y, Okamoto S, et al. Japanese guideline for allergic conjunctival diseases. *Allergol Int* 2011;60:191-203.
2. Abe Y, Yanai M, Nagato T, Ogino T, Harabuchi Y. [Clinical analysis of allergic rhinitis (pollinosis) in Hokkaido]. *[Jpn J Allergol]* 2005;54:59-67 (in Japanese).
3. D'Amato G, Spieksma FT, Liccardi G, Jäger S, Russo M, Kontou-Fili K, et al. Pollen-related allergy in Europe. *Allergy* 1998;53:567-78.

4. Fügner A, Bechtel WD, Kuhn FJ, Mierau J. In vitro and in vivo studies of the non-sedating antihistamine epinastine. *Arzneimittelforschung* 1988;38:1446-53.
5. Tasaka K, Akagi M, Izushi K, Aoki I. Antiallergic effect of epinastine: the elucidation of the mechanism. *Pharmacometrics* 1990;39:365-73.
6. Matsushita N, Aritake K, Takada A, Hizue M, Hayashi K, Mitsui K, et al. Pharmacological studies on the novel antiallergic drug HQL-79: II. elucidation of mechanisms for antiallergic and antiasthmatic effects. *Jpn J Pharmacol* 1998;78:11-22.
7. Fujishima H, Ohashi Y, Takamura E. Efficacy of epinastine hydrochloride ophthalmic solution in allergic conjunctivitis by conjunctival cedar pollen allergen challenge. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2014;113:476-81.
8. Abelson MB, Chambers WA, Smith LM. Conjunctival allergen challenge: a clinical approach to studying allergic conjunctivitis. *Arch Ophthalmol* 1990;108:84-8.
9. Hon YY, Jusko WJ, Zhou HH, Chen GL, Guo D, Zhou G, et al. Endogenous histamine and cortisol levels in subjects with different histamine N-methyltransferase C314T genotypes: a pilot study. *Mol Diagn Ther* 2006;10:109-14.
10. 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;25:2539-52.
11. Abelson MB. Comparison of the conjunctival allergen challenge model with the environmental model of allergic conjunctivitis. *Acta Ophthalmol Scand* 1999;228:38-42.
12. Abelson MB, Loeffler O. Conjunctival allergen challenge: models in the investigation of ocular allergy. *Curr Allergy Asthma Rep* 2003;3:363-8.
13. Takamura E, Nomura K, Fujishima H, Fukagawa K, Satake Y, Fukada Y, et al. Efficacy of levocabastine hydrochloride ophthalmic suspension in the conjunctival allergen challenge test in Japanese subjects with seasonal allergic conjunctivitis. *Allergol Int* 2006;55:157-65.
14. Fukushima A, Ebihara N. Efficacy of olopatadine versus epinastine for treating allergic conjunctivitis caused by Japanese cedar pollen: a double-blind randomized controlled trial. *Adv Ther* 2014;31:1045-58.
15. Emberlin J, Detandt M. Responses in the start of Betula (birch) pollen seasons to recent changes in spring temperatures across Europe. *Int J Biometeorol* 2003;47:113-5.
16. Kondo Yasuto, Urisu Atsuo. Oral allergy syndrome. *Allergol Int* 2009;58:485-91.
17. Sekerkova A, Polackova M. Detection of Bet v1, Bet v2 and Bet v4 specific IgE antibodies in the sera of children and adult patients allergic to birch pollen: evaluation of different IgE reactivity profiles depending on age and local sensitization. *Int Arch Allergy Immunol* 2011;154:278-85.
18. Abelson MB, Gomes P, Crampton HJ, Schiffman RM, Bradford RR, Whitcup SM. 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.
19. Shimura M, Yasuda K, Miyazawa A, Otani T, Nakazawa T. Pre-seasonal treatment with topical olopatadine suppresses the clinical symptoms of seasonal allergic conjunctivitis. *Am J Ophthalmol* 2011;151:697-702.

20. Mizuguchi H, Ono S, Hattori M, Sasaki Y, Fukui H. Usefulness of HeLa cells to evaluate inverse agonistic activity of antihistamines. *Int Immunopharmacol* 2013;15:539-43.

21. Mizuguchi H, Hatano M, Matsushita C, Umehara H, Kuroda W, Kitamura Y, et al. Repeated pre-treatment with antihistamines suppresses [corrected] transcriptional up-regulations of histamine H(1) receptor and interleukin-4 genes in toluene-2,4-diisocyanate-sensitized rats. *J Pharmacol Sci* 2008;108:480-6.