

# モルモットアレルギー性鼻炎モデルの 鼻閉症状に対するオロパタジンと フェキソフェナジン/プソイドエフェドリンの薬効評価

協和発酵キリン株式会社 開発研究所

松本千佳 原田大輔 池田よしみ  
松村義和 天野徹 小林克也

---

## THE EFFECTS OF OLOPATADINE AND FEXOFENADINE/PSEUDOEPHEDRINE ON NASAL OBSTRUCTION IN A GUINEA PIG MODEL OF ALLERGIC RHINITIS

Chika MATSUMOTO, Daisuke HARADA, Yoshimi IKEDA,  
Yoshikazu MATSUMURA, Toru AMANO and Katsuya KOBAYASHI

Development Research Laboratories, Kyowa Hakko Kirin Co., Ltd.  
1188, Shimotogari, Nagaizumi-cho, Sunto-gun, Shizuoka, 411-8731, Japan

### Abstract

**Background:** The main symptoms of allergic rhinitis are sneezing, rhinorrhea and nasal obstruction. Olopatadine hydrochloride (olopatadine), an anti-allergic agent with histamine H<sub>1</sub> receptor antagonistic activity and the combination drug of fexofenadine hydrochloride (fexofenadine), an anti-allergic agent with histamine H<sub>1</sub> receptor antagonistic activity, and pseudoephedrine hydrochloride (pseudoephedrine), a decongestant, are prescribed for patients with allergic rhinitis and ameliorate the nasal symptoms of allergic rhinitis including nasal obstruction. In the present study, we compared the efficacy of olopatadine alone and the combination of fexofenadine and pseudoephedrine on nasal obstruction in a guinea pig model of ovalbumin (OVA)-induced allergic rhinitis.

**Method:** Histamine-induced plasma extravasation model in the dorsal skin of anesthetized guinea pigs was used to determine the doses of olopatadine and fexofenadine for evaluating their effects on nasal obstruction, and doses showed over 90% inhibition in this model were selected. Pseudoephedrine was administered at a double dose of the dose of fexofenadine in a similar way used in clinical practice.

OVA-induced allergic rhinitis model in guinea pigs was used to compare the efficacy of olopatadine and fexofenadine/pseudoephedrine combination on nasal obstruction. Guinea pigs sensitized with OVA were challenged by intranasal instillation of OVA. Olopatadine and fexofenadine/pseudoephedrine were orally administered 1 hour before the OVA challenge. Nasal airway resistance was measured at 15 minutes after the OVA challenge as immediate nasal airway response and 4, 5, 6 and 7 hours after the OVA challenge as late nasal airway response.

**Result:** Olopatadine at doses of 0.01, 0.1, 1, 10 mg/kg and fexofenadine at doses of 0.1, 1, 10, 100 mg/kg inhibited the histamine-induced plasma extravasation by 11, 62, 95, 97% and - 15, 17, 91, 95%, respectively. Therefore, 1 mg/kg of olopatadine, 10 mg/kg of fexofenadine and 20 mg/kg of pseudoephedrine were used for evaluation of their effects on nasal obstruction. Olopatadine and fexofenadine/pseudoephedrine combination significantly inhibited the immediate nasal airway response by 53.5 and 52.7%, and strongly inhibited the late nasal airway response by 85.2 and 78.4%, respectively.

**Conclusion:** These results indicate that olopatadine exhibits equivalent efficacy to fexofenadine/pseudoephedrine combination on nasal obstruction in OVA-induced allergic rhinitis in guinea pigs.

**Key words:** Allergic rhinitis, nasal obstruction, olopatadine hydrochloride

## はじめに

花粉症をはじめとするアレルギー性鼻炎は、くしゃみ、鼻汁、鼻閉を主症状とする疾患である。一般に抗ヒスタミン薬のうち第一世代抗ヒスタミン薬は、くしゃみ、鼻汁に対して改善効果を示すものの、鼻閉に対する効果が劣ることが知られている<sup>1)</sup>。一方、ヒスタミンH<sub>1</sub>受容体拮抗作用に加えて炎症性細胞からのケミカルメディエーター遊離抑制作用を併せ持つ第二世代抗ヒスタミン薬は、全般改善度や鼻閉に対し、第一世代抗ヒスタミン薬よりも高い改善効果を示すことが知られている<sup>2)</sup>。実際、第二世代抗ヒスタミン薬であるオロパタジン塩酸塩（オロパタジンと略す）は、くしゃみや鼻汁のみならず鼻閉に対しても顕著な改善効果を示すことが知られている<sup>3)</sup>。

近年、鼻閉に対する作用の増強を目的に、同じく第二世代抗ヒスタミン薬のフェキソフェナジンと血管収縮作用を有する $\alpha$ 交感神経刺激薬である塩酸プソイドエフェドリン（プソイドエフェドリンと略す）の配合剤が、国内で上市された。そこで、オロパタジンの鼻閉に対する効果を検討するために、ovalbumin（OVAと略す）誘発モルモットアレルギー性鼻炎モデルを用いてオロパタジンとフェキソフェナジン/プソイドエフェドリン併用の鼻閉抑制効果を比較した。

## 材料および方法

### 1. 使用動物

ヒスタミン誘発皮膚血漿漏出評価には5週齢、OVA誘発アレルギー性鼻炎評価には3週齢の

Hartley系雄性モルモット（日本エスエルシー）を購入した。動物は、温度19～26℃、湿度30～70%、1日12時間照明の環境下で、市販の固型飼料と飲料水を自由に摂取させ、1週間以上予備飼育した後、外見上異常が認められない個体を実験に用いた。

### 2. 被験物質および試薬

オロパタジン塩酸塩（協和発酵キリン）、フェキソフェナジン塩酸塩（東京化成工業）、塩酸プソイドエフェドリン（東京化成工業）は、0.5 w/v% methylcellulose 溶液（MCと略す；和光純薬工業）により調製した。ヒスタミン二塩酸塩（Sigma-Aldrich）は生理食塩溶液に溶解し、2 mg/mL 溶液を調製した。エバンスブルー（和光純薬工業）は生理食塩溶液に溶解し、1 w/v%のエバンスブルー溶液を調製した。OVA（Sigma-Aldrich）は生理食塩溶液に溶解し、初回感作用として1 mg/mL、追加感作用として10 mg/mL、誘発用として20 mg/mLの濃度に調製した。

### 3. 評価方法

#### (1) ヒスタミン誘発皮膚血漿漏出評価

実験は、以下の10群とし、各群5匹で実施した。

1：Sham群（MCを経口投与、生理食塩溶液を皮内投与）

2：MC群（MCを経口投与、ヒスタミンを皮内投与）

3～6：オロパタジン群（オロパタジン0.01, 0.1, 1, 10 mg/kgを経口投与、ヒスタミンを皮内投与）

7～10：フェキソフェナジン群（フェキソフェナジン0.1, 1, 10, 100 mg/kgを経口投与、

ヒスタミンを皮下内与)

モルモットの背部をバリカンで剃毛後, MC または被験物質を 10 mL/kg の容量で経口投与した。1 時間後, イソフルラン麻酔下で生理食塩溶液あるいは 2 mg/mL のヒスタミン溶液を 0.05 mL/site の容量で皮内投与し, 直ちに 1 w/v% のエバンスブルー溶液を 0.5 mL/body の容量で静脈内投与した。30 分後, イソフルラン麻酔下にて腹部大動静脈を切断することにより放血死させた。致死を確認した後, 背部の皮膚を剥離し, 青いスポットを切り取り, 1 mol/L 水酸化カリウム溶液を添加して, 37°C, 24 時間, 振盪した。ボルテックスにて攪拌し皮膚が溶けていることを確認した後, 0.6 mol/L リン酸とアセトンの混合液 (5 : 13) を加えて色素を抽出した。

皮膚中の漏出色素濃度は, 波長 620 nm の吸光度をマイクロプレートリーダーで測定し, 解析ソフトを用いて算出した。得られた漏出色素濃度から皮膚中の漏出色素量を算出した。

#### (2) OVA 誘発アレルギー性鼻炎評価

実験は, 以下の 3 群とし, 各群 5 匹で実施した。

1 : MC 群

2 : フェキソフェナジン 10 mg/kg / プソイドエフェドリン 20 mg/kg 併用群

3 : オロパタジン 1 mg/kg 群

モルモットに OVA (1 mg/body) を背部皮下投与して初回感作 (Day 0) し, Day 7 および Day 14 に OVA (10 mg/mL) を 20  $\mu$ L ずつ両側の鼻腔内に投与して感作した。Day 21 に, 20 mg/mL の OVA を 20  $\mu$ L ずつ両側の鼻腔内に投与することにより鼻閉を誘発した。

Day 21 の鼻閉誘発 1 時間前に 5 mL/kg の容量で, MC 群には MC を, オロパタジン群にはオロパタジン 1 mg/kg を, フェキソフェナジン/プソイドエフェドリン併用群には, フェキソフェナジン 10 mg/kg とプソイドエフェドリン 20 mg/kg を混合し, 経口投与した。

総合呼吸機能測定システムを用い, 鼻閉誘発 1 ~ 2 時間前, 15 分後, 2, 4, 5, 6 および 7 時間後に各 1 回, それぞれ 100 呼吸以上の鼻腔抵抗 (nasal airway resistance, nRaw と記す) を測定し, 100 呼吸分の平均値を各測定時間における個体の nRaw とした。鼻閉誘発 15 分後の nRaw を即時相, 4, 5, 6 および 7 時間後の nRaw を遅発相とした。鼻

閉誘発 2 時間後の nRaw は, 即時相と遅発相の分割確認のため測定した。nRaw の増加率を算出する計算式を以下に示す。

#### (1) nRaw の増加率 (I)

$$\begin{aligned} & \text{各測定時間における nRaw の増加率 (\%)} \\ & = \frac{\text{各測定時間の nRaw} - \text{誘発前の nRaw}}{\text{誘発前の nRaw}} \times 100 \end{aligned}$$

#### (2) 誘発 4 ~ 7 時間後における nRaw の増加率の曲線下面積 (AUC<sub>4-7hr</sub>) (% · hr)

$$\begin{aligned} & \text{AUC}_{4-7hr} = 1/2 (I_{4hr} + 2 \times I_{5hr} + 2 \times I_{6hr} + I_{7hr}) \\ & I_{4-7hr} : \text{誘発 4 ~ 7 時間後における nRaw の増加率} \end{aligned}$$

## 4. データの解析

### (1) ヒスタミン誘発皮膚血漿漏出評価

得られた測定値は, 群ごとに平均値および標準誤差で示した。統計学的解析は, 統計解析ソフト SAS (SAS Institute) にて行った。Sham 群と MC 群との比較は, 初めに F-test を行い, 不等分散の場合は Aspin-Welch test を, 等分散の場合は Student's t-test を行った。また, MC 群と被験物質投与群との比較は, 初めに F-test を行い, 不等分散の場合は Aspin-Welch test を, 等分散の場合は Student's t-test を行った (ただし, Bonferroni 法により多重性を調整した)。P 値が 0.05 未満の場合を有意差ありとした。被験物質の抑制率は以下の式より算出した。

$$\text{抑制率 (\%)} = (\text{MC} - \text{被験物質}) / (\text{MC} - \text{sham}) \times 100$$

### (2) OVA 誘発アレルギー性鼻炎評価

得られた測定値は, 群ごとに平均値および標準誤差で示した。統計学的解析は, 統計解析ソフト SAS (SAS Institute) にて行い, Wilcoxon の順位和検定を実施した (ただし, Bonferroni 法により多重性を調整した)。P 値が 0.05 未満の場合を有意差ありとした。

## 結 果

### 1. ヒスタミン誘発皮膚血漿漏出評価

経口投与において同等の抗ヒスタミン活性を示すオロパタジンとフェキソフェナジンの用量を決定するため, ヒスタミン誘発皮膚血漿漏出反応に対するこれら薬物の作用を検討した。モルモットの背部に 100  $\mu$ g/site のヒスタミンを皮内投与することに

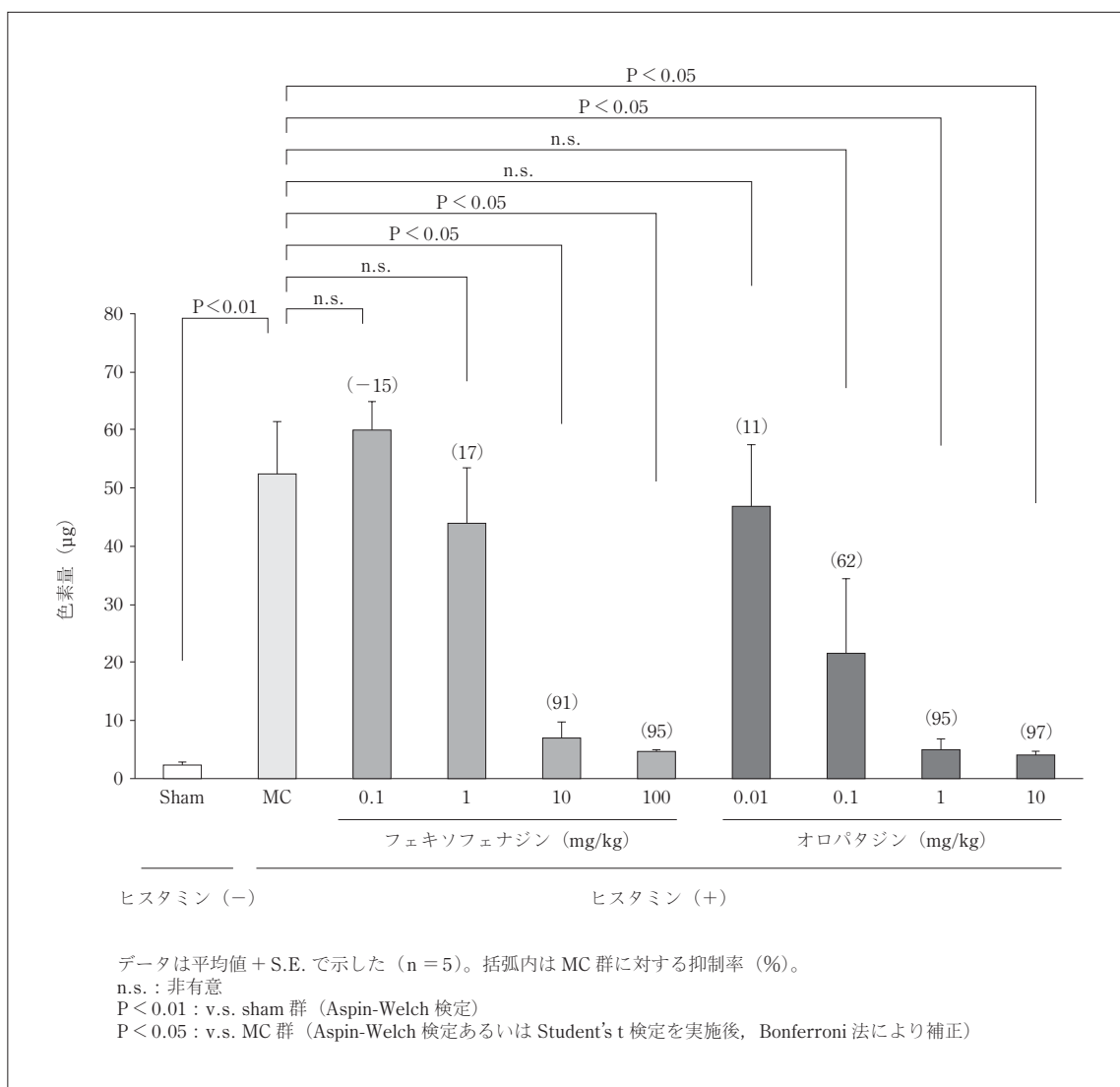


図1 オロパタジンおよびフェキソフェナジンのヒスタミン誘発モルモット皮膚血漿漏出反応に対する抑制効果

よって漏出色素量の有意な増加が認められ、その増加はオロパタジン 1 mg/kg 以上、フェキソフェナジン 10 mg/kg 以上の処置により有意に減少した。血漿漏出に対するオロパタジン 0.01, 0.1, 1, 10 mg/kg 群の抑制率は 11, 62, 95, 97% であった。また、フェキソフェナジン 0.1, 1, 10, 100 mg/kg 群の抑制率は -15, 17, 91, 95% であった (図 1)。以上の結果から、OVA 誘発アレルギー性鼻炎評価に用いる被験物質は、経口投与においてヒスタミン誘発皮膚血漿漏出反応を有意、かつ、90% 以上抑制するオロパタジン 1 mg/kg とフェキソフェナジン 10 mg/kg とした。なお、プソイドエフェドリンは、臨床での用量と同様にフェキソフェナジンの 2 倍量である 20 mg/kg とした。

## 2. OVA 誘発アレルギー性鼻炎評価

アレルギー性鼻炎患者の鼻閉症状は、二相性 (即時相と遅発相) に生じることが報告されており<sup>4)5)</sup>、今回の試験に用いたモルモット OVA 誘発鼻閉モデルにおいても、臨床と同様、二相性の鼻閉反応を確認することができた (図 2)。

本モデルに対するオロパタジンとフェキソフェナジン/プソイドエフェドリン併用の薬効を検討した。即時相の鼻閉症状に関しては、MC 群において nRaw の増加が認められ、その増加はオロパタジンを処置することによって有意に減少した (抑制率; 53.5%)。フェキソフェナジン/プソイドエフェドリン併用群では、MC 群に対して低値を示したものの、統計学的に有意な差はなかった (抑制率; 52.7%)。なお、オロパタジン群とフェキソフェナジン

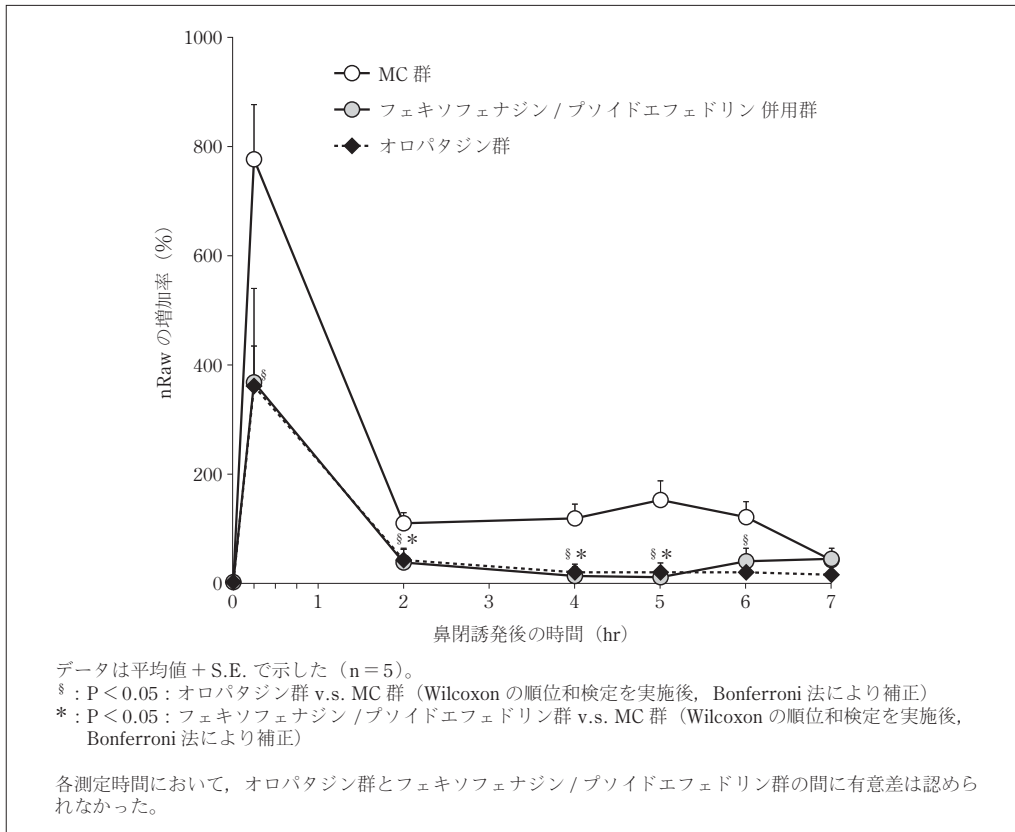


図2 オロパタジンおよびフェキソフェナジン / プソイドエフェドリンのOVA誘発モルモット鼻炎モデルに対する抑制効果：経時変化

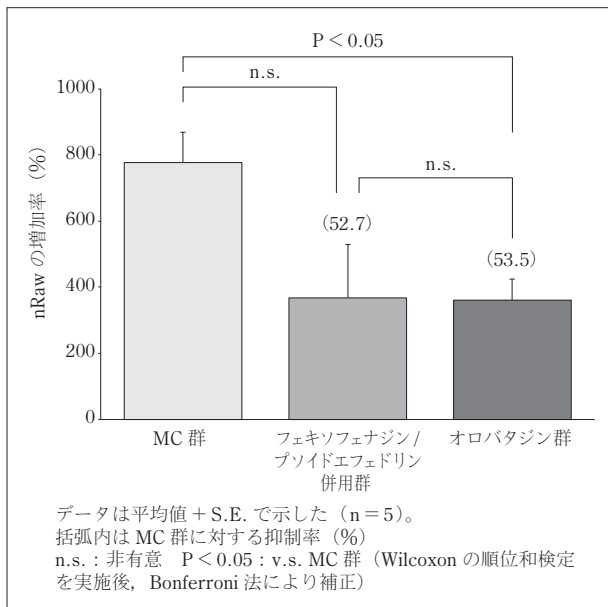


図3 オロパタジンおよびフェキソフェナジン / プソイドエフェドリンのOVA誘発モルモット鼻炎モデルの即時相 (鼻閉誘発15分後) に対する抑制効果

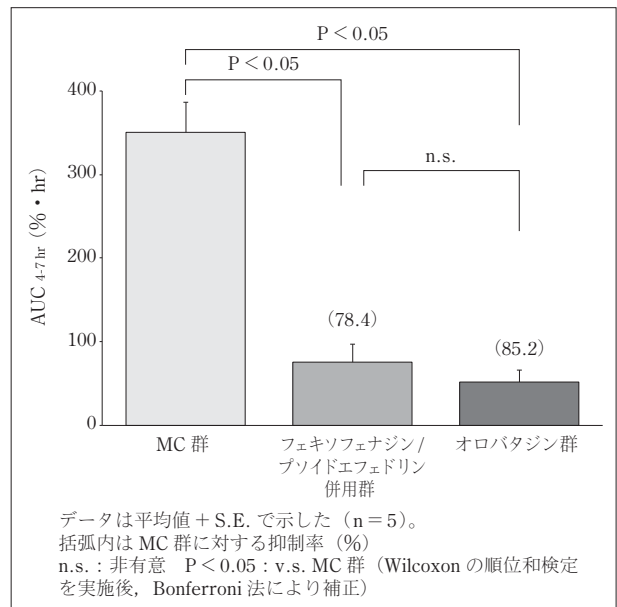


図4 オロパタジンおよびフェキソフェナジン / プソイドエフェドリンのOVA誘発モルモット鼻炎モデルの遅発相 (鼻閉誘発4~7時間後) に対する抑制効果

/ プソイドエフェドリン併用群の間に有意な差は認められなかった (図3)。

遅発相の鼻閉症状に関しては, MC 群において

AUC<sub>4-7hr</sub> の増加が認められ, その増加はオロパタジン処置 (抑制率; 85.2%) およびフェキソフェナジン / プソイドエフェドリン併用処置 (抑制率; 78.4

%)によって有意に減少した。なお、オロパタジン群とフェキソフェナジン/プソイドエフェドリン併用群の間に有意な差は認められなかった(図4)。

以上の結果から、オロパタジンは、フェキソフェナジン/プソイドエフェドリン併用と同程度の鼻閉抑制作用を有することが示唆された。

## 考 察

アレルギー性鼻炎患者で認められる鼻閉反応は、二相性(即時相と遅発相)に生じることが報告されている<sup>4)5)</sup>。即時相は感作された肥満細胞上のIgEに抗原が結合し、肥満細胞から様々なケミカルメディエーターが遊離することによって生じる。ヒスタミンやペプチドロイコトリエン(p-LTsと略す)が血管に作用すると、血管透過性の亢進や静脈叢の血管拡張を介して鼻閉が生じる。遅発相においては、種々の炎症細胞動員因子[p-LTs, トロンボキサン(TXと略す), インターロイキン8, エオタキシンなど]を介して好酸球を代表とする様々な炎症細胞が鼻粘膜に浸潤する。さらに、これらの浸潤した炎症細胞がサイトカインやケモカインを放出して鼻粘膜の腫脹を引き起こすことにより、鼻閉症状が発症する<sup>4)5)</sup>。

今回、オロパタジンは、OVA誘発モルモットアレルギー性鼻炎モデルにおいて、即時相および遅発相の鼻閉反応を強力に抑制した。オロパタジンは、DNP-ascaris誘発モルモットアレルギー性鼻炎モデルにおいても、ヒスタミンの関与の大きいくしゃみ反応および鼻掻き行動のみならず、二相性の鼻閉反応をも強力に抑制することが報告されている<sup>2)</sup>。他の第二世代抗ヒスタミン薬は、くしゃみ反応および鼻掻き行動を抑制するにもかかわらず、鼻閉反応に対する抑制作用は認められていないことから、オロパタジンによる鼻閉反応抑制作用はヒスタミンH<sub>1</sub>受容体拮抗以外の作用の寄与も大きいと考えられる。DNP-ascaris誘発モルモットアレルギー性鼻炎モデルにおいては、鼻閉反応に関与するp-LTsが鼻腔中で増加し、オロパタジンはこれらの増加を抑制することが示されている<sup>6)</sup>。OVA誘発モルモットアレルギー性鼻炎モデルにおいても、鼻閉反応に関与するTXB<sub>2</sub>が鼻腔中で増加し、オロパタジンはこれらの増加を抑制することが報告されている<sup>7)</sup>。また、神経ペプチドは鼻閉反応の要因となる血管拡張

や血管透過性亢進に関与することが知られており<sup>8)9)</sup>、各種神経ペプチド受容体拮抗薬がDNP-ascaris誘発モルモットアレルギー性鼻炎モデルにおける鼻閉反応を抑制する<sup>10)</sup>。オロパタジンは、知覚神経ペプチドが関与する摘出モルモット気管支標本の電気刺激誘発収縮や、知覚神経活性化を介した反応であるカプサイシン誘発くしゃみ反応を抑制する<sup>11)12)</sup>。さらに、鼻粘膜の血管透過性亢進作用を有する血管内皮細胞増殖因子(VEGFと略す)が、OVA誘発ラットアレルギー性鼻炎モデルの鼻腔中で増加し、オロパタジンはこの増加を抑制することが示されている<sup>13)14)</sup>。以上のことより、オロパタジンは鼻閉に関与するp-LTs, TXB<sub>2</sub>, 神経ペプチドやVEGFの遊離を抑制することによって鼻閉反応を強力に抑制したと考えられる。

近年、アレルギー性鼻炎において鼻閉による睡眠障害が注目されており、鼻閉改善効果の高い薬剤が求められている<sup>15)</sup>。今回、フェキソフェナジン/プソイドエフェドリンの併用とオロパタジン単剤の鼻閉に対する効果は同程度であった。DNP-ascaris誘発モルモットアレルギー性鼻炎モデルにおいて、今回と同用量のフェキソフェナジンが、単剤では強い鼻閉改善効果を示さないことが報告されていることから<sup>2)</sup>、今回、フェキソフェナジン/プソイドエフェドリン併用により認められた鼻閉改善作用はプソイドエフェドリンの寄与が大きいと推察される。プソイドエフェドリンは、交感神経を刺激して鼻粘膜の血管平滑筋を収縮させることで鼻粘膜の腫脹を抑制し、鼻閉を改善すると考えられており、ブタクサ誘発イヌ鼻閉モデルでは抗原誘発鼻腔容積の減少をほぼ完全に抑制する<sup>16)</sup>。ただし、プソイドエフェドリンの服用により、約10%のアレルギー性鼻炎患者で不眠が認められているため、睡眠への影響は否定できない<sup>17)</sup>。

オロパタジンは、第一世代抗ヒスタミン薬と異なりくしゃみや鼻汁のみならず鼻閉に対しても顕著な改善効果を示すことが知られている<sup>3)</sup>。今回の試験においても、オロパタジンが鼻閉症状を強力に抑制することが示された。オロパタジンの高い鼻閉改善効果は、ヒスタミンH<sub>1</sub>受容体拮抗作用だけでは説明できず、ケミカルメディエーター遊離抑制作用や知覚神経活性化抑制作用の寄与も大きいと考えられる。今後、鼻腔中の各種ケミカルメディエーターを

測定することにより、オロパタジンの作用機序をより詳細に解析する予定である。

#### 参 考 文 献

- 1) 奥田 稔, 大塚博邦, 福田 諭, 他: 通年性鼻アレルギーに対するHC20-511 (Ketotifen) とClemastine fumarateとの二重盲検比較試験による臨床的検討. 耳鼻咽喉科展望 **26** (補4): 347-84, 1983.
- 2) 三宅貴代美, 貝瀬俊彦, 浦山直子, 他: 抗アレルギー薬塩酸オロパタジン (アレロック®) のアレルギー性鼻炎での鼻閉改善作用: 既存抗アレルギー薬との比較と作用機序. アレルギーの臨床 **23**: 63-75, 2003.
- 3) 奥田 稔, 高坂知節, 三宅浩郷, 他: KW-4679 (Olopatadine hydrochloride) の通年性アレルギー性鼻炎に対する臨床評価—Oxatomideを対照薬とした二重盲検比較試験—. 耳鼻と臨床 **42**: 633-58, 1996.
- 4) 増山敬祐: 通年性アレルギー性鼻炎の病態とそれに基づく薬物療法. 山梨医学科学誌 **18**: 37-45, 2003.
- 5) 竹中 洋: アレルギー性鼻炎に対する免疫療法の位置づけ. 日耳鼻 **110**: 768-71, 2007.
- 6) 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 **85**: 453-6, 2001.
- 7) Kaise T, Akamatsu Y, Ohmori K, et al: Effects of olopatadine hydrochloride on the release of thromboxane B<sub>2</sub> and histamine from nasal mucosa after antigen-antibody reaction in guinea pigs. Allergol Int **50**: 337-41, 2001.
- 8) Baraniuk JN, Kaliner M: Neuropeptides and nasal secretion. Am J Physiol **261**: L223-35, 1991.
- 9) Braunstein G, Fajac I, Lacronique J, et al: Clinical and inflammatory responses to exogenous tachykinins in allergic rhinitis. Am Rev Respir Dis **144**: 630-5, 1991.
- 10) Kaise T, Akamatsu Y, Ikemura T, et al: Involvement of neuropeptides in the allergic nasal obstruction in guinea pigs. Jpn J Pharmacol **86**: 196-202, 2001.
- 11) Ikemura T, Okamura K, Sasaki Y, et al: KW-4679-induced inhibition of tachykininergic contraction in the guinea-pig bronchi by prejunctional inhibition of peripheral sensory nerves. Br J Pharmacol **117**: 967-73, 1996.
- 12) Kaise T, Akamatsu Y, Ohmori K, et al: Inhibitory effect of olopatadine hydrochloride on the sneezing response induced by intranasal capsaicin challenge in guinea pigs. Jpn J Pharmacol **86**: 258-61, 2001.
- 13) Matsune S, Ohori J, Yoshifuku K, et al: Effect of vascular endothelial growth factor on nasal vascular permeability. Laryngoscope **120**: 844-8, 2010.
- 14) Tamura T: Investigation of the antiallergic activity of olopatadine on rhinitis induced by intranasal instillation of antigen in sensitized rats using thermography. Asia Pac Allergy **1**: 138-44, 2011.
- 15) 千葉伸太郎: アレルギー性鼻炎と睡眠障害. 薬局 **62**: 37-42, 2011.
- 16) Rudolph K, Bice DE, Hey JA, et al: A model of allergic nasal congestion in dogs sensitized to ragweed. Am J Rhinol **17**: 227-32, 2003.
- 17) Grosclaude M, Mees K, Pinelli ME, et al: Cetirizine and pseudoephedrine retard, given alone or in combination, in patients with seasonal allergic rhinitis. Rhinology **35**: 67-73, 1997.