

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200810047453.4

[43] 公开日 2008年10月29日

[11] 公开号 CN 101293100A

[22] 申请日 2008.4.20

[21] 申请号 200810047453.4

[71] 申请人 邹先进

地址 448001 湖北省荆门市象山大道67号市  
一医药理科

[72] 发明人 邹先进 丁 莉

[74] 专利代理机构 荆门市首创专利事务所

代理人 谭建文

权利要求书1页 说明书3页

[54] 发明名称

p16INK4a 抗体用于治疗宫颈癌

[57] 摘要

p16INK4a 抗体用于治疗宫颈癌，其特征在于将 p16INK4a 抗体用来治疗宫颈癌。优点是：用 p16INK4a 抗体药物靶向治疗宫颈癌，在动物模型中已经获得成功。将人宫颈癌组织接种于 SCID 鼠背部皮下，给予背部注射鼠 p16INK4a 抗体治疗，结果显示，给予 p16INK4a 抗体治疗组肿瘤体积比对照组小，差异有显著性。证明 p16INK4a 抗体药物能够有效治疗宫颈癌。现有的技术能够较容易地生产 p16INK4a 的抗体，它们特异性高且缺乏对人类的免疫遗传性，不易被宿主的免疫系统攻击。它是小分子蛋白，易于渗透进入肿瘤细胞。

1、p16INK4a 抗体用于治疗宫颈癌，其特征在于将 p16INK4a 抗体用来治疗宫颈癌。

## p16INK4a 抗体用于治疗宫颈癌

### 技术领域

本发明涉及治疗宫颈癌药物领域。

### 背景技术

宫颈癌的发生是由于人类乳头状瘤病毒感染引起的，高危型人类乳头状瘤病毒感染宫颈上皮后与宿主细胞基因整合，经过一系列的生物反应，导致 p16INK4a 在宫颈癌及宫颈上皮内瘤变的病灶细胞中过度表达，而在正常的宫颈上皮中不表达，是宫颈癌及宫颈上皮内瘤变的特异性生物标志物。近几年国内外均将 p16INK4a 抗体用于宫颈癌的诊断，能预测高级别宫颈上皮内瘤。目前国内外尚未有 p16INK4a 抗体药物治疗宫颈癌的报道。

### 发明内容

本发明的目的就是提供 p16INK4a 抗体的新用途。

本发明是将 p16INK4a 抗体用来治疗宫颈癌。

本发明的优点是：用 p16INK4a 抗体药物靶向治疗宫颈癌，在动物模型中已经获得成功。我们在无菌条件下将人宫颈癌组织接种于 SCID 鼠背部皮下，一次接种 11 只，成功建立人宫颈癌联合免疫缺陷鼠荷瘤模型。接种 50 天后测量 11 只小鼠肿瘤体积差异无显著性。随机取其中 6 只作为实验组给予背部注射鼠 p16INK4a 抗体治疗，另外 5 只注射生理盐水作为对照组。结果显示，给予 p16INK4a 抗体治疗组肿瘤体积比对照组小，差异有显著性。证明 p16INK4a 抗体药物能够有效治疗宫颈癌。现有的技术能够较容易地生产 p16INK4a 的抗体，它们特异性高且缺乏对人类的免疫遗传性，不易被宿主的免疫系统攻击。它是小分子蛋白，易于渗透进入肿瘤细胞。

### 具体实施方式

一、材料与方法：

1. 主要材料及动物来源：新鲜宫颈癌组织来自一位晚期宫颈癌患者手术切除标本，术前未接受任何抗癌治疗，宫颈组织病理诊断为宫颈中分化鳞状细胞癌。雌性联合免疫缺陷鼠（SCID鼠）购自中山医科大学实验动物中心，清洁级，饲养在无特定病原体环境中，所用饲料、饮水及垫料均经高压灭菌处理。

2. 药物处理：将市售的 p16INK4a 抗体置于 4℃ 高速离心 1 小时，收集上清到无菌离心管中，加入适量的无菌 PBS 和鼠血清，使抗体浓度为 1mg/ml，鼠血清终浓度为 0.05%。

3. 人宫颈癌荷瘤鼠模型的建立：在无菌条件下，将新鲜宫颈癌组织浸泡于 RPMI-1640 细胞培养液中，在超净台中清除血块和坏死组织，尽量剪碎肿瘤组织。用戊巴比妥腹腔注射麻醉小鼠然后固定于操作板上，背部碘酒消毒备皮，并做一条长约 0.5cm 的小口，将准备好的肿瘤组织种植于背部皮下，无菌丝线缝合，一次接种 11 只。

4. p16INK4a 抗体药物治疗宫颈癌荷瘤鼠：肿瘤组织种植 25 天后在 SCID 鼠后背部可触及明显肿瘤生长。将荷瘤鼠随机分为 2 组进行肿瘤局部注射治疗：对照组 5 只，给予安慰剂（加入鼠血清的 PBS）；治疗组 6 只，给予 p16INK4a 抗体药物治疗。治疗方案：每次于肿瘤局部注射药物或安慰剂 200 $\mu$ l，隔天一次，4 次为一个疗程，间歇一周后进行第二个疗程治疗。

5. 疗效观察：每天观察荷瘤鼠状态，3~4 天一次测量肿瘤大小，按照公式“ $V = \pi / 6 \times \text{长} \times \text{宽} \times \text{高}$ ”估算肿瘤体积。记录荷瘤鼠生存时间。

6. 统计学分析：数据以  $M \pm SD$  表示。采用 SPSS10.0 统计软件进行分析，以  $p < 0.05$  为差异具有显著性， $p < 0.01$  为差异具有高度显著性。

## 二、实验结果：

1. 成瘤率：11 只小鼠全部成活，成瘤率为 100%。肿瘤组织种植 25 天时，在 SCID 鼠后背部可触及明显肿瘤生长。将荷瘤鼠随机分

为 2 组，对照组 5 只和治疗组 6 只，肿瘤体积差异无显著性 ( $p=0.465$ )。

2. 肿瘤生长体积：测量肿瘤种植 60 天时肿瘤体积，治疗组 ( $337.98 \pm 21.28$ )  $\text{mm}^3$  明显小于对照组 ( $511.48 \pm 19.94$ )  $\text{mm}^3$ ，差异有高度显著性 ( $p=0.000$ )。测量肿瘤种植 85 天时肿瘤体积，治疗组 ( $1289.90 \pm 157.56$ )  $\text{mm}^3$  明显小于对照组 ( $2678.75 \pm 148.64$ )  $\text{mm}^3$ ，差异有高度显著性 ( $p=0.000$ )。

3. 小鼠存活时间：从肿瘤种植之日开始计算，对照组存活时间平均为 ( $92.0 \pm 3.2$ ) 天，治疗组存活时间为 ( $142.0 \pm 4.8$ ) 天，两者相比差异有高度显著性 ( $p=0.000$ )。

### 三、结论：

实验表明，给予 p16INK4a 抗体局部注射治疗人宫颈癌荷瘤鼠，治疗组肿瘤体积比对照组小，差异具有高度显著性 ( $p=0.000$ )；治疗组存活时间比对照组明显延长，差异具有高度显著性 ( $p=0.000$ )。证明 p16INK4a 抗体药物能够有效治疗宫颈癌，延长其生存时间。