



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106943593 A

(43)申请公布日 2017.07.14

(21)申请号 201710183139.8

(22)申请日 2017.03.24

(71)申请人 浙江中医药大学

地址 310053 浙江省杭州市滨江区滨文路  
548号

(72)发明人 刘伯一 台燕

(74)专利代理机构 杭州求是专利事务有限公  
司 33200

代理人 邱启旺

(51)Int.Cl.

A61K 39/395(2006.01)

A61P 17/04(2006.01)

权利要求书1页 说明书4页 附图2页

(54)发明名称

抗TSLP抗体在制备防治慢性瘙痒药物中的  
应用

(57)摘要

本发明涉及抗瘙痒领域,具体涉及抗TSLP抗体在制备防治慢性瘙痒药物中的应用。经实验证实,本发明涉及的抗TSLP抗体对小鼠变应性接触性皮炎所诱发的慢性瘙痒症状有明显的改善作用,并且在有效治疗剂量下,抗TSLP抗体对小鼠的运动协调能力无显著影响。本发明显示抗TSLP抗体可以作为药物有效成分,进一步用于制备抗瘙痒药物,用于临床治疗慢性瘙痒症,尤其是变应性接触性皮炎所致的慢性瘙痒,并且该抗体对运动协调能力无显著副作用。

1. 抗TSLP抗体在制备防治慢性瘙痒药物中的应用。
2. 根据权利要求1中所述应用,其特征在于,所述的慢性瘙痒为变应性接触性皮炎所致的慢性瘙痒。
3. 根据权利要求1中所述应用,其特征在于,所述的抗TSLP抗体为Mouse TSLP antibody,货号为MAB555。

## 抗TSLP抗体在制备防治慢性瘙痒药物中的应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及治疗慢性瘙痒药物领域,尤其涉及抗TSLP抗体在制备防治慢性瘙痒药物中的应用。

### 背景技术

[0002] 瘙痒是一种使人具有搔抓欲望且不愉快的皮肤感觉,为变应性接触性皮炎(Allergic Contact Dermatitis,以下简称ACD)常见临床症状。ACD是日常生活中十分常见的皮肤疾病,同时也是发病概率较多的一种职业性皮肤病。从世界范围看,每年ACD的发病率多达15-20%。ACD主要临床症状包括皮肤红肿,皮疹、脱皮,水疱、并伴发瘙痒。患者在炎症部位常感到异常瘙痒,引发对患病部位的反复搔抓,严重影响患者情绪及精神状态。过度搔抓往往进一步诱发皮肤炎症,刺激皮肤神经末梢,从而引发更进一步的搔抓,形成“瘙痒-搔抓”恶性循环。更为严重者还会造成皮肤继发感染,需要及时应用局部乃至全身抗生素和激素进行治疗。因此若能有效降低瘙痒,将对提高患者日常生活质量,促进皮炎消退和康复有重要意义。

[0003] 致痒物质可通过作用于外周痒觉神经元表达的相应痒觉受体,激动痒觉神经元,引发痒觉信号(即传入动作电位)产生,痒觉信号进一步通过脊髓丘脑束传递至大脑丘脑部位引发痒感。目前临床针对ACD患者瘙痒症状治疗上,以抗组胺药最常用。但众多研究指出抗组胺药治疗ACD瘙痒症的疗效不佳,并且可以引发头晕、嗜睡、乏力等副作用。组胺虽是体内经典致痒物质,但近期诸多研究揭示组胺非依赖性痒觉通路在介导瘙痒过程也发挥了重要作用。因此,若能以组胺非依赖性痒觉通路为出发点,研发相应抗瘙痒药物,将对治疗ACD所致慢性瘙痒具有重要应用价值和前景。

[0004] 胸腺基质淋巴细胞生成素(thymic stromal lymphopoietin,以下简称TSLP)是一种上皮细胞来源的细胞因子。TSLP可通过作用于由白介素7受体 $\alpha$ 链(IL-7R $\alpha$ )以及TSLP受体(TSLPR)所构成的受体复合物发挥其生物学活性。该因子对树突状细胞活化和诱导淋巴细胞及其亚群的分化、成熟有着重要的调控作用。有研究表明,TSLP在诱发和促进Th2免疫细胞介导的某些变态反应性疾病,包括过敏性哮喘和变应性鼻炎等过程中发挥了重要作用。阻断TSLP信号通路或者通过抗TSLP抗体中和TSLP后,可以显著减少由TH2免疫细胞所介导的炎症反应,缓解过敏性哮喘所造成的呼吸道炎症以及呼吸道高反应性,以及减轻过敏性鼻炎症状。

[0005] 虽然抗TSLP抗体对上述疾病具有一定治疗功效,但截至目前,尚未见任何有关利用该抗体治疗慢性瘙痒症的相关应用报道。

### 发明内容

[0006] 本发明的目的是提供抗TSLP抗体的新用途,具体涉及抗TSLP抗体在制备防治慢性瘙痒药物中的应用,尤其是制备防治ACD所致慢性瘙痒症药物中的应用。

[0007] 本发明的目的通过下述技术方案实现:

- [0008] 1. 抗TSLP抗体购自R&D公司(Mouse TSLP antibody, 货号:MAB555);
- [0009] 2. 抗TSLP抗体用于治疗ACD所致慢性瘙痒症的动物实验;
- [0010] 建立ACD所致慢性瘙痒症的小鼠模型, 在模型成功建立后, 选取小鼠后颈部皮肤5个分散的不同部位, 分别经皮下注射抗TSLP抗体, 对照组小鼠则按照上述相同方法, 进行同型对照IgG皮下注射。注射30分钟后, 动物行为学观察抗TSLP抗体对小鼠ACD所致慢性瘙痒行为的影响。
- [0011] 结果显示: 抗TSLP抗体对ACD模型小鼠表现出的慢性瘙痒症状具有显著改善作用。
- [0012] 3. 研究抗TSLP抗体是否对动物运动协调能力产生影响的实验:
- [0013] 鉴于某些抗瘙痒药物(例如传统抗组胺药)能造成嗜睡、头晕和乏力等影响运动协调能力的副作用, 而这些副作用往往会影响药物的临床使用。因此接下来, 我们进一步研究了抗TSLP抗体是否对小鼠的运动协调能力产生影响。
- [0014] 实验选用C57BL/6雄性小鼠, 选取小鼠后颈部皮肤5个分散的不同部位, 分别皮下注射抗TSLP抗体, 对照组小鼠则按照上述方法, 进行同型对照IgG的皮下注射。注射完毕后, 利用小鼠加速滚轮测试法, 观察抗TSLP抗体对小鼠运动协调性的影响。
- [0015] 结果显示: 局部给予抗TSLP抗体对小鼠运动协调能力无明显影响。
- [0016] 本发明经动物实验研究发现局部给予抗TSLP抗体对小鼠ACD模型所致慢性瘙痒症状具有显著的抑制作用, 并且局部给予抗TSLP抗体对小鼠运动协调能力无明显影响。本发明所发现的抗TSLP抗体的这种独特作用可作为药物有效成分, 进一步制备治疗慢性瘙痒, 尤其是ACD所致慢性瘙痒的药物。

### 附图说明

- [0017] 图1(a)是ACD所致小鼠慢性瘙痒模型中在第三次涂抹漆酚(0.5%)的0小时后模型组和对照组的对比统计图, 图1(b)是ACD所致小鼠慢性瘙痒模型中在第三次涂抹漆酚(0.5%)的4小时后模型组和对照组的对比统计图, 其中, \* $p < 0.05$ 和\*\* $p < 0.01$ ;
- [0018] 图2是抗TSLP抗体对涂抹漆酚(0.5%)0小时后, ACD所致小鼠慢性瘙痒行为的影响对比图, 图中\*\* $p < 0.01$ ;
- [0019] 图3是抗TSLP抗体对涂抹漆酚(0.5%)4小时后ACD所致小鼠慢性瘙痒行为的影响对比图, 图中\*\* $p < 0.01$ ;
- [0020] 图4是抗TSLP抗体对小鼠运动协调性的影响对比图, NS是无统计学上的显著差异, 即 $p > 0.05$ 。

### 具体实施方式

- [0021] 下面结合附图和实施例对本发明做进一步的说明。
- [0022] 实施例:
- [0023] 1. 实验动物: 本实验选用SPF级C57BL/6雄性小鼠(购自美国Jackson实验室), 6-8周龄, 任意供水和饮食, 5只小鼠/笼饲养, 其中溶剂组10只, 漆酚组10只; Iso IgG组30只, TSLP中和抗体组30只。
- [0024] 2. 实验试剂配制:
- [0025] ①致敏原配制:

[0026] 2.0%漆酚配制:取漆酚2重量份(PhytoLab,货号:81080,Vestenbergsgreuth,德国)溶于体积比为1:4的丙酮与橄榄油的混合溶剂100重量份,混匀。

[0027] 0.5%漆酚配制:取漆酚0.5重量份,溶于丙酮100重量份,混匀。

[0028] ②抗TSLP抗体和同型对照IgG的配制:将抗TSLP抗体(R&D公司,货号:MAB555)和同型对照IgG(Sigma公司,货号:I4131)用无菌磷酸盐缓冲液配制成500 $\mu$ g/ml溶液。

[0029] 3.慢性瘙痒模型制备:

[0030] 实验选用SPF级C57BL/6雄性小鼠,向小鼠腹部(预先经剃毛处理)涂抹50 $\mu$ l 2.0%漆酚,并于5天后向小鼠后颈部(预先经剃毛处理)涂抹30 $\mu$ l 0.5%漆酚。而对照组小鼠只涂抹相应溶剂丙酮。依此法,每隔一天涂抹一次0.5%漆酚,经3次涂抹后,可建立稳定的小鼠ACD所致慢性瘙痒模型。模型小鼠与对照组小鼠相比,出现明显搔抓行为,并且后颈部皮肤出现明显红肿,脱皮和抓痕等迹象。

[0031] 4.瘙痒行为学观察:

[0032] 首先将小鼠置于有机玻璃制作的观察箱内30分钟,进行环境预适应。在后颈部接受第三次漆酚(0.5%)涂抹后,将小鼠置于观察箱内,利用摄像机从小鼠正上方对小鼠行为进行行为学记录。以小鼠一次或多次利用后爪向颈部搔抓,且搔抓完毕后将后爪放入嘴中或者放回地面定义为一次搔抓行为。瘙痒行为学记录时间段为经漆酚涂抹0与4小时后,每次记录30分钟。

[0033] 5.抗TSLP抗体给药方法:

[0034] 于第三次涂抹漆酚(0.5%)30分钟前,选取小鼠后颈部皮肤5个分散的不同部位,在七氟醚麻醉下,分别皮下注射抗TSLP抗体,每个部位注射剂量20 $\mu$ l,5个位点一共注射100 $\mu$ l,共计50 $\mu$ g抗TSLP抗体。对照组小鼠则参照上述方法,以同样剂量,皮下注射同型对照IgG。

[0035] 6.运动协调性观察:

[0036] 利用加速滚筒法对小鼠进行连续4天适应性训练。加速滚筒转速设定为5分钟内从5转/分钟提升至40转/分钟。在第五天时,在小鼠后颈部5个分散的不同位点,皮下注射抗TSLP抗体,每个部位注射剂量20 $\mu$ l,5各位点一共注射100 $\mu$ l,共计50 $\mu$ g抗TSLP抗体。对照组小鼠则参照上述方法,以同样剂量,皮下注射同型对照IgG。并于注射30分钟后对小鼠运动协调性进行观察,记录从滚筒启动直至其跌落的时程。每只小鼠测量三次,每次间隔5分钟,取三次时程测量的平均值作为最终结果。

[0037] 7.数据分析:

[0038] 实验数据以均数 $\pm$ 标准误(mean $\pm$ SE)表示,利用Origin8.0软件统计并分析。两组间比较采用Student t检验,以 $p < 0.05$ 认为差异具有显著性。

[0039] 结果显示:

[0040] 1)慢性瘙痒模型的建立:

[0041] 经行为学测试发现,在第三次涂抹0.5%漆酚后,ACD模型小鼠表现出明显搔抓行为,且搔抓行为可持续4小时以上(图1(a)和(b)所示),提示慢性瘙痒模型的成功建立。

[0042] 2)抗TSLP抗体对慢性瘙痒症的治疗作用:

[0043] 在第三次涂抹0.5%漆酚的30分钟前,皮下给予抗TSLP抗体共计50 $\mu$ g,对照组给予同等剂量同型对照IgG。结果显示,给与抗TSLP抗体30分钟后,小鼠出现的瘙痒行为得到显

著缓解(图2所示),并且抗TSLP抗体的抗瘙痒作用可持续到4小时以后(图3所示)。

[0044] 3) 抗TSLP抗体对小鼠运动协调能力的影响:

[0045] 抗TSLP抗体组小鼠,皮下给予抗TSLP抗体共计50 $\mu$ g,对照组小鼠给予同等剂量的同型对照IgG。给药30分钟后,利用加速滚筒法检验小鼠的运动协调能力。结果显示,抗TSLP抗体组小鼠从加速滚筒上的坠落时间与同型对照IgG组无显著差别,提示抗TSLP抗体在有效治疗剂量下对小鼠运动协调能力无显著影响(图4所示)。

[0046] 本发明的实验结果证实,局部给予抗TSLP抗体可以显著缓解实验动物表现的慢性瘙痒症状,并且抗慢性瘙痒的效应持久。申请人所发现的抗TSLP抗体的这一独特抗慢性瘙痒的治疗作用区别于以往报道中所提到的这种抗体的治疗用途。此外,本发明还首次发现抗TSLP抗体在使用过程中,并不影响实验动物的运动协调能力,这一特点明显优于传统治疗瘙痒症的抗组胺药物。因此上述实验证据提示,本发明的抗TSLP抗体抗慢性瘙痒作用,可以作为药物有效成分,进一步制备抗慢性瘙痒症的药物。

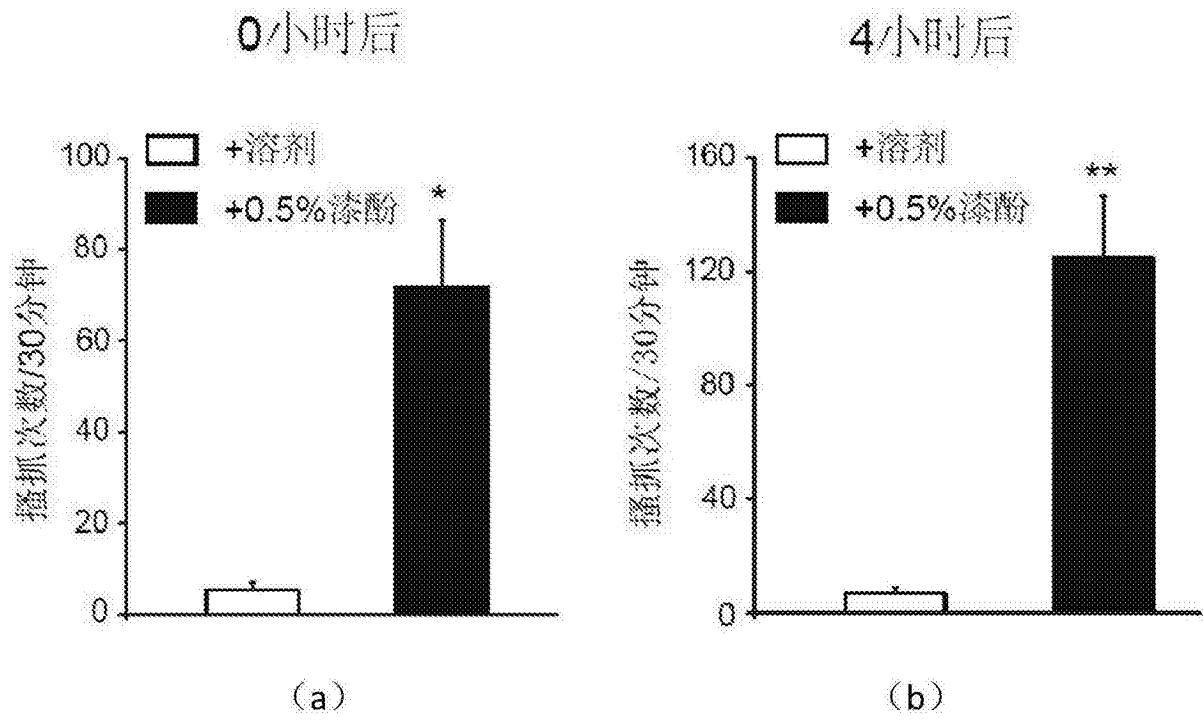


图1

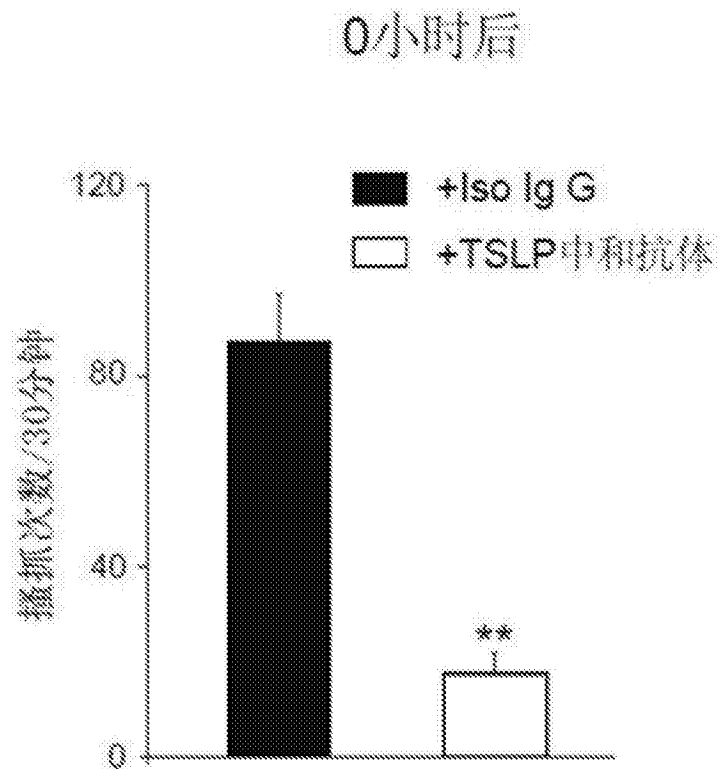


图2

4小时后

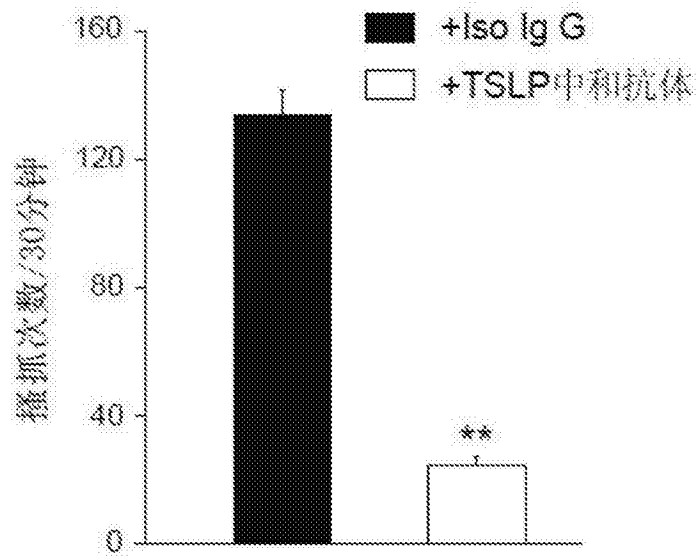


图3

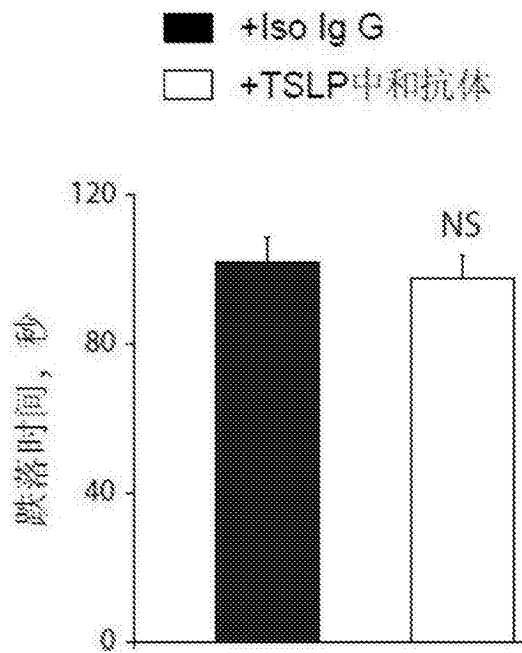


图4