(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 116018149 A
(43)申请公布日 2023.04.25

(21)申请号 202180046236.7

(22)申请日 2021.05.07

(30)优先权数据
20173592.5 2020.05.07 EP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.12.28

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2021/062111 2021.05.07

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/224449 EN 2021.11.11

(71)申请人 辛特拉股份公司
地址 瑞典隆德

(72)发明人 E·伦德格伦·阿克兰
S·林德施泰特 C·乌维布兰特
T·拉莫斯·莫雷诺

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
专利代理师 封新琴

(51)Int.Cl.
A61K 35/28(2015.01)

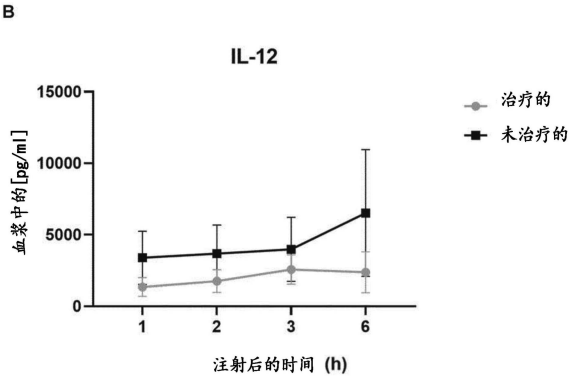
权利要求书5页 说明书19页 附图8页

(54)发明名称

用于治疗呼吸障碍的干细胞

(57)摘要

本发明涉及整合素α10选择的间充质干细胞用于治疗影响呼吸道的呼吸道障碍、疾病和创伤的用途。



CN 116018149 A

1.一种包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物,所述组合物用于治疗呼吸系统的疾病、障碍或创伤和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植结合使用。

2.根据权利要求1所述的用于所述用途的组合物,其中呼吸系统的所述疾病是下呼吸道疾病。

3.根据权利要求1所述的用于所述用途的组合物,其中呼吸系统的所述疾病是主要影响肺间质的呼吸疾病。

4.根据权利要求1所述的用于所述用途的组合物,其中呼吸系统的所述疾病是影响气道的呼吸疾病。

5.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中呼吸系统的所述疾病是主要影响肺间质的疾病,其选自急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、肺水肿、肺嗜酸性粒细胞增多症、特发性间质性肺炎、婴儿期或儿童期特定的原发性间质性肺疾病、与全身性疾病相关的间质性肺疾病、肺泡微结石病、淋巴管平滑肌瘤病以及类脂性肺炎。

6.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中呼吸系统的所述疾病是急性呼吸窘迫综合征(ARDS)和/或相关障碍。

7.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中呼吸系统的所述疾病是ARDS。

8.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中呼吸系统的所述疾病是细胞因子释放综合征(CRS)。

9.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中呼吸系统的所述疾病是细胞因子风暴综合征(CSS)。

10.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中所述ARDS相关疾病是与COVID-19相关的多系统炎性综合征。

11.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中呼吸系统的所述疾病是细胞因子介导的ARDS。

12.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中呼吸系统的所述疾病是新生儿的ARDS/呼吸窘迫综合征。

13.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中呼吸系统的所述疾病是新生儿的呼吸窘迫,如新生儿的呼吸窘迫综合征。

14.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中呼吸系统的所述疾病是由创伤引起的ARDS。

15.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中呼吸系统的所述疾病是由病毒或细菌感染引起的ARDS。

16.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中呼吸系统的所述疾病是由严重急性呼吸综合征冠状病毒2(SARS-CoV-2)/COVID-19引起的ARDS。

17.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中呼吸系统的所述疾病是由任何其他原因引起的ARDS。

18.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中至少60％的所述MSC表达整合素α10亚基。

19.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中至少50％,如至少

55％,如至少60％,如至少65％,如至少70％,如至少75％,如至少80％,如至少85％,如至少90％,如至少95％,如至少96％,如至少97％,如至少98％,如至少99％,如至少100％的所述MSC表达整合素α10亚基。

20.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中所述MSC是MHC II类、CD45、CD34、CD11b和/或CD19阴性。

21.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中所述MSC表达CD73、CD90和/或CD105。

22.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中所述MSC选自间充质干细胞、间充质祖细胞和间充质基质细胞;或其混合物。

23.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中MSC被诱导表达整合素α10亚基。

24.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中将所述MSC在包含哺乳动物血清和FGF-2的培养基中培养。

25.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中将所述MSC在包含血小板裂解物和/或血小板裂解物组分的培养基中培养。

26.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中将所述MSC在包含FGF-2和血小板裂解物和/或血小板裂解物组分的培养基中培养。

27.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中将所述MSC在包含哺乳动物血清和血小板裂解物和/或血小板裂解物组分的培养基中培养。

28.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中将所述MSC在包含TGFβ的培养基中培养。

29.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中将所述MSC在包含FGF2的培养基中培养。

30.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中将所述MSC在包含血小板裂解物和/或血小板裂解物组分的无血清培养基中培养。

31.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中将所述MSC在包含生长因子的无血清培养基中培养。

32.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中将所述MSC在包含生长因子FGF2和/或TGFβ的无血清培养基中培养。

33.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中所述MSC是同种异体或自体的。

34.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中将包含所述MSC的组合物施用于肺或气道中。

35.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中将包含所述MSC的组合物经由注射施用。

36.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中将包含所述MSC的组合物肠胃外施用。

37.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中将包含所述MSC的组合物经由静脉内注射、肌内注射和/或气管内注射或其任何组合施用。

38.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中将包含所述MSC的组合物在具有药学上可接受的赋形剂的细胞悬浮液中施用。

39.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中在手术期间施用包含所述MSC的组合物以修复受损的肺。

40.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中将包含所述MSC的组合物与肺移植结合施用。

41.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中所述哺乳动物是人。

42.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中所述MSC和哺乳动物来自相同物种。

43.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中所述MSC和哺乳动物来自不同物种。

44.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中所述MSC源自脂肪组织、骨髓、滑膜、外周血、脐带血、脐血、华通氏胶和/或羊水。

45.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中所述MSC源自脂肪组织。

46.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中所述MSC源自骨髓。

47.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中所述MSC源自胎儿、新生儿、青少年或成年MSC和/或祖细胞。

48.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中所述MSC不是源自胚细胞或胚胎。

49.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中所述MSC是体外细胞培养物。

50.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中已经用抗整合素α10抗体进行MSC的选择。

51.根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,所述组合物进一步包含抗炎剂和/或免疫调节剂。

52.包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物用于制造治疗呼吸系统的疾病、障碍或创伤的药物的用途和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植结合的用途。

53.一种治疗哺乳动物的呼吸系统的疾病、障碍或创伤的方法,所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

54.一种治疗或促进哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植的方法,所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

55.一种预防哺乳动物中与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的血液凝结的方法,所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

56.一种促进与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的血液动力学稳定性的方法,所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素

α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

57.一种降低与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的对于肌力支持的需要的方法,所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

58.一种改善与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的氧合能力的方法,所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

59.一种预防与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的组织损害例如结构性组织损害的方法,所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

60.一种使与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的组织损害例如结构性组织损害恢复的方法,所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

61.根据权利要求59至60中任一项所述的方法,其中所述组织损害是肺组织损害。

62.根据权利要求59至61中任一项所述的方法,其中所述组织损害是间质组织的损害、肺泡隔的损害、气道的损害、脉管系统的损害和/或神经系统的损害。

63.一种降低与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的嗜中性粒细胞计数的方法,所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

64.一种增加与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的淋巴细胞计数的方法,所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

65.一种减少与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的促炎性细胞因子的方法,所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

66.根据权利要求65所述的方法,其中所述促炎性细胞因子选自白介素12(IL-12)、IL-1β、IL-6和IL-4或其任何组合。

67.根据权利要求65至66中任一项所述的方法,其中减少了血液和/或支气管肺泡灌洗液中的所述促炎性细胞因子。

68.一种增加与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的干扰素-α的方法,所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

69.一种包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物,所述组合物用于在哺乳动物中

-预防血液凝结,

-促进血液动力学稳定性,

-降低对于肌力支持的需要,

-改善氧合能力,

-预防组织损害,例如结构性组织损害,

-使组织损害例如结构性组织损害恢复，

-降低嗜中性粒细胞计数，

-增加淋巴细胞计数，

-减少促炎性细胞因子，和/或

-增加干扰素-α的方法中，

所述血液凝结、血液动力学稳定性、对于肌力支持的需要、氧合能力、组织损害例如结构性组织损害、嗜中性粒细胞计数、淋巴细胞计数、促炎性细胞因子、干扰素-α与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关。

70.根据权利要求69所述的方法，其中所述组织损害是肺组织损害。

71.根据权利要求69至70中任一项所述的方法，其中所述组织损害是间质组织的损害、肺泡隔的损害、气道的损害、脉管系统的损害、肌肉的损害和/或神经系统的损害。

72.根据权利要求69所述的方法，其中所述促炎性细胞因子选自白介素12(IL-12)、IL-1β、IL-6和IL-4或其任何组合。

73.根据权利要求69至72中任一项所述的方法，其中减少了血液和/或支气管肺泡灌洗液中的所述促炎性细胞因子。

用于治疗呼吸障碍的干细胞

技术领域

[0001] 本发明涉及整合素α10选择的间充质干细胞及其在治疗呼吸障碍中的用途。

背景技术

[0002] 存在对于治疗呼吸道障碍(如急性呼吸窘迫综合征(ARDS),一种以肺中的广泛炎症的迅速发作为特征的严重类型的呼吸衰竭)的巨大的未满足的临床需求。ARDS对急救护理患者具有显著影响,并且仍然是一种伴随高死亡率(约为40%)的毁灭性的临床障碍,其中那些幸存者可能经历显著的长期发病。

[0003] 症状包括呼吸短促、快速呼吸和皮肤发蓝。ARDS的直接和间接原因取决于肺是否最初受到影响。直接原因包括肺炎(包括细菌或病毒感染,例如COVID-19引起的)、误吸、吸入性肺损伤、肺挫伤、胸部创伤和近乎溺死。间接原因包括脓毒症、休克、胰腺炎、创伤、心肺转流术或烧伤(Matthay 2019)。较少的ARDS病例与创伤后复苏期间使用的大量液体有关(Casay 2019)。

[0004] ARDS典型地由急性损伤引起,所述急性损伤导致大量的免疫应答和大量免疫介质的释放,即一种被称为细胞因子风暴的现象,其可以影响若干个器官,例如肺(Gonzales 2015)。由于ARDS的特征在于免疫系统的广泛激活,从而对肺组织造成严重损害,因此靶向某些分子或途径的特定药物具有有限的作用。ARDS管理的最新进展主要是在支持性护理中实现的,并且其目的是保护呼吸交换,保持生命并允许医生等待潜在疾病的消退(Prescott2016)。这些策略包括使用保护性机械通气、神经肌肉阻滞剂、俯卧位和保守液体策略。然而,后者并不代表ARDS的真正治疗方法,因为它旨在保持呼吸交换。为了进一步降低死亡率,ARDS的疗法应针对负责肺损伤的炎性机制。然而,迄今为止,还没有药物疗法能够有效地作用于疾病特异性途径或降低死亡率。因此,存在对于用于ARDS和相关疾病的新型治疗的需要。

发明内容

[0005] 本发明人已经发现,在ARDS的动物模型中,整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)改善血液动力学稳定性和氧合能力以及减少血液凝块形成和肺组织损害。此外,MSC显示出特异性免疫调节和抗炎特性。这使得整合素α10选择的MSC特别适合于减轻呼吸障碍(如ARDS和相关肺并发症)的影响。

[0006] 在一个主要方面,本发明涉及一种包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物,所述组合物用于治疗呼吸系统/呼吸道的一种或多种疾病或创伤;和/或与哺乳动物呼吸道的一个或多个器官或组织的移植结合使用。

[0007] 在另一方面,本公开文本涉及一种治疗哺乳动物的呼吸系统的疾病、障碍或创伤的方法,所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

[0008] 在另一方面,本公开文本涉及一种治疗或促进哺乳动物的呼吸道的器官或组织的

移植的方法,所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

[0009] 在另一方面,本公开文本涉及一种预防哺乳动物中与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的血液凝结的方法,所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

[0010] 在另一方面,本公开文本涉及一种促进与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的血液动力学稳定性的方法,所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

[0011] 在另一方面,本公开文本涉及一种降低与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的对于肌力支持的需要的方法,所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

[0012] 在另一方面,本公开文本涉及一种改善与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的氧合能力的方法,所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

[0013] 在另一方面,本公开文本涉及一种预防与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的组织损害例如结构性组织损害的方法,所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

[0014] 在另一方面,本公开文本涉及一种使与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的组织损害例如结构性组织损害恢复的方法,所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

[0015] 在另一方面,本公开文本涉及一种降低与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的嗜中性粒细胞计数的方法,所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

[0016] 在另一方面,本公开文本涉及一种增加与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的淋巴细胞计数的方法,所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

[0017] 在另一方面,本公开文本涉及一种减少与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的促炎性细胞因子的方法,所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

[0018] 在另一方面,本公开文本涉及一种增加与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的干扰素-α的方法,所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

[0019] 在另一方面,本公开文本涉及一种包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物,所述组合物用于在哺乳动物中

[0020] -预防血液凝结,

[0021] -促进血液动力学稳定性,

[0022] -降低对于肌力支持的需要,

[0023] -改善氧合能力,

[0024] -预防组织损害,例如结构性组织损害,

[0025] -使组织损害例如结构性组织损害恢复，

[0026] -降低嗜中性粒细胞计数，

[0027] -增加淋巴细胞计数，

[0028] -减少促炎性细胞因子，和/或

[0029] -增加干扰素-α的方法中，

[0030] 所述血液凝结、血液动力学稳定性、对于肌力支持的需要、氧合能力、组织损害例如结构性组织损害、嗜中性粒细胞计数、淋巴细胞计数、促炎性细胞因子、干扰素-α与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关。

附图说明

[0031] 图1:MSC治疗的动物所需的更少肌力支持

[0032] 在12只猪中诱导ARDS，并且用整合素α10选择的MSC的静脉内注射液(6只猪)或用具有DMSO的低温保存溶液(6只猪)处理猪。给予肌力支持，如施用去甲肾上腺素以确保实验过程中ARDS模型中的血液动力学稳定性和氧合水平。因此，所施用的去甲肾上腺素的量是确定所述动物中血液动力学稳定性和肺的氧合能力的一种方法。我们发现，与对照组(未治疗)相比，在MSC治疗的动物(治疗)中所施用的去甲肾上腺素的总量显著更少。这表明用整合素α10选择的MSC治疗的动物具有更稳定的血液动力学并且可以确保更好的氧分布。**** 指示$p \leq 0.001$。

[0033] 图2:用MSC治疗改善氧合能力。

[0034] 处理开始后十二小时，我们可以分析三只MSC治疗的猪和三只对照猪的氧合能力。通过分析动脉氧分压(PaO_2)与吸入氧(FIO_2)之间的比率来测量氧容量。结果表明，与对照猪(未治疗)(PaO_2/FIO_2比率:X-X)相比，MSC治疗的猪(治疗)显示出改善的氧合能力(PaO_2/FIO_2比率:21-28)。这表明，与对照动物相比，在MSC治疗的动物中有更好保持的用于气体交换的肺结构。

[0035] 图3:MSC治疗的动物中增加的凝血时间。

[0036] 我们研究了ARDS模型中的凝血(血液凝结)时间，因为凝血是ARDS的主要特征，这导致极端炎性应答。监测在MSC治疗组(圆圈)和未治疗组(正方形)中的凝血时间。所述图展示了在实验的不同阶段的凝结时间(以秒，s为单位)，并显示出MSC治疗组(圆圈)中增加的凝血时间。在整合素α10选择的MSC输注后2h就可以在治疗组中观察到作用，并且这种作用持续至少12h。增加的凝结时间与更少ARDS有关，并且支持整合素α10选择的MSC作为用于ARDS的疗法的治疗作用以及安全性。

[0037] 图4:MSC治疗后肺组织中减少的损害

[0038] 在ARDS研究结束时，在肺的上部、中部和下部(肺叶)采集肺活检物，以研究肺组织的损害程度以及MSC对肺组织结构的作用。结果表明，与对照(未治疗)动物相比，MSC治疗的动物中的肺组织损害更少，证明了MSC在ARDS模型中的治疗作用。上排的代表性图像属于未治疗组，并且下排的代表性图像属于MSC治疗组。所有图像均是以20倍的放大倍率拍摄的(黑色比例尺表示0.1mm;白色比例尺表示0.2mm)。

[0039] 图5:MSC治疗的动物的血液中减少的嗜中性粒细胞。

[0040] A)分析血液中嗜中性粒细胞的数量以确定整合素α10选择的MSC对ARDS猪中的炎

症的作用。结果显示MSC输注(治疗)后减少的嗜中性粒细胞数量,因此表明在治疗组中更少嗜中性粒细胞被募集为肺组织中的炎性应答的一部分。这表明嗜中性粒细胞数量的减少是MSC的重要作用机制之一,其导致更低的炎症程度和更少的肺组织损害。MEAN±S.E.M。$p \leq 0.05$。

[0041] B)显示在动物的外周血中计数的淋巴细胞数量(百万个细胞/ml)的图。简言之,在治疗组中的实验结束时全血中的淋巴细胞计数升高,在输注后9h和10h达到峰值。淋巴细胞是参与对ARDS的应答的重要免疫细胞并且更高数量的淋巴细胞可能指示不太严重的ARDS病例。

[0042] 图6:血浆和支气管肺泡灌洗液(BALF)中的细胞因子支持MSC的免疫调节作用

[0043] 为了进一步研究整合素α10选择的间充质干细胞在ARDS模型中的免疫调节作用机制,在实验过程中的不同时间点采集血液样品和支气管肺泡灌洗液(BALF),并分析不同的相关炎性细胞因子。我们在这里证明了MSC对支持MSC治疗的动物中的免疫调节作用的干扰素-α(IFN-α)以及白介素IL-12、IL-1β和IL-6的影响。

[0044] A)与未治疗的动物相比,在整合素α10选择的MSC输注后1h就在治疗的动物的血浆中检测到更高水平的促炎性细胞因子干扰素-α(IFN-α),并且其持续多于3小时。如显示当输注IFN-α时患有ARDS的患者的死亡率降低的最近一项回顾性研究所示,这种更高的水平可以表明ARDS的更好预后。

[0045] B)与对照(未治疗)动物相比,在MSC输注后1h就在整合素α10选择的MSC治疗的动物的血浆中检测到更低水平的促炎性细胞因子白介素(IL)-12,表明MSC的即刻作用维持8小时。这进一步支持MSC的免疫调节作用,因为这可以指示血液中激活的抗原呈递细胞的更低存在。

[0046] C和D)促炎性白介素IL-1β和IL-6被认为是ARDS发生的关键,与未治疗组相比,完成研究后(结束)它们在MSC治疗的动物的BALF中更低。此外,仅在未治疗动物中IL-1β和IL-6二者与基线相比均显著增加。这可以表明在治疗的动物中朝着促炎性状态(M1)极化的巨噬细胞的更低存在以及总体减弱的肺炎症。

具体实施方式

[0047] 定义

[0048] 如在此使用的,“抗整合素α10抗体”或“抗整合素α10亚基抗体”是指能够识别并至少结合到异源二聚体蛋白整合素α10β1的α10亚基的抗体。这些抗体可以是识别异源二聚体蛋白整合素α10β1的表位的抗体,其中所述表位包含整合素α10和整合素β1亚基两者的氨基酸残基。

[0049] 如在此使用的,“整合素α10”或“整合素alpha10”是指异源二聚体蛋白整合素α10β1的α10亚基。这指示不排除结合到整合素α10亚基从而形成整合素α10β1异源二聚体的四级结构的整合素β1亚基的存在。人类整合素α10链序列是已知的,并且在GenBank™/EBI Data Bank登录号AF074015处可公开获得,并且已在(Camper 1998)中描述。“α(alpha)”和“α”以及“α10”和“α10”是等效术语。

[0050] 如本文所用,单数形式“一个/一种(a)”、“一个/一种(an)”和“所述(the)”包括复数指示物,除非上下文另外明确说明。

[0051] 术语“一些实施方案”可以包括一个或多于一个实施方案。

[0052] 在权利要求和/或说明书中，当在本文各处与术语“包含(comprising)”连用时，词语“一个/一种(a或an)”的使用可以指“一个/一种(one)”，但也与“一个/一种或多个/多种(one or more)”、“至少一个/一种(at least one)”和“一个/一种或超过一个/一种(one or more than one)”的意思一致。

[0053] 如在此使用的，术语“分离”、“分选”和“选择”是指将细胞鉴定为某种细胞类型并且将其与不属于相同的细胞类型或另一种分化状态的细胞分开的行为。此外，这些术语还可以指通过存在特定标记物来鉴定细胞的动作。例如，在本发明中涉及整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)。通常分离是指分开的第一步，其可以例如是机械的，而“选择”是更具特异性的并且例如在抗体的帮助下进行。本领域技术人员将理解“分离”、“分选”或“选择”细胞的程序导致所述细胞的富集。

[0054] 本文使用的术语“整合素α10富集的MSC”与术语“整合素α10^{高}MSC”、“整合素α10选择的间充质干细胞”和“富集的整合素α10^{高}间充质干细胞群体”同义。如实施例1所述，本发明所用的MSC是使用富集表达整合素α10的MSC的程序选择的，例如通过在特异性结合整合素α10的抗体的帮助下选择那些表达整合素α10的MSC。本领域技术人员将理解，针对特定特性选择的细胞(例如表达整合素α10的MSC或整合素α10^{高}MSC)可以形成特定的、均质的细胞群体。

[0055] 如在此使用的，“间充质干细胞”或“MSC”是指由国际细胞治疗协会间充质和组织干细胞委员会所定义的多能基质细胞(参见Dominici M等人，Cytotherapy.8(4):315-7(2006))。当维持在标准培养条件下时，MSC必须具有塑料粘附性，并且必须表达CD105、CD73和CD90，且不表达CD45、CD34、CD14或CD11b、CD79α或CD19和HLA-DR表面分子。MSC必须具有在体外分化为成骨细胞、脂肪细胞或成软骨细胞的能力。

[0056] 如本文使用的术语“呼吸系统的疾病、障碍或创伤”是指参与呼吸的系统，并且是指呼吸系统的一个或多个部分的任何故障。呼吸系统(也称为呼吸道、呼吸器、通气系统)包括例如、，支气管、细支气管、呼吸细支气管、肺泡管、肺泡囊和肺泡(有时称为下呼吸道)以及气管、喉部、咽部、鼻腔和鼻旁窦(有时称为上呼吸道)。

[0057] 如本文使用的术语“ARDS(急性呼吸窘迫综合征)”是威胁生命的炎症，通常伴有肺水肿，其导致严重的呼吸衰竭。ARDS是肺损伤的临床综合征，伴有由在严重的生理学损伤之后发生的强烈的、通常广泛的肺炎症引起的缺氧性呼吸衰竭。

[0058] 如本文使用的术语“脓毒症”是指定义为“继发于感染的全身性炎性应答综合征(SIRS)”的病症。这种病症的特征在于由微生物、优选细菌或真菌，由寄生虫或由病毒或朊病毒引起的明显感染。如本文使用的术语“脓毒症”包括伴随脓毒症的最后阶段的脓毒症，以及“严重脓毒症”、“脓毒性休克”和“脓毒症的并发症”(例如，多器官功能障碍综合征(MODS)、弥散性血管内凝血(DIC)、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)和急性肾衰竭(AKI))的发作，并且包括脓毒症的所有阶段。

[0059] 如本文使用的“预防”(“Preventing”或“Prevention”)包括延迟或阻止疾病、障碍或病症的发作。

[0060] 如本文所用的术语“疾病”、“障碍”、“创伤”和“综合征”以及其他类似的术语如“病症”在本公开文本中可以被理解为同义词，并且是指非功能性、病理性、非生理学和/或扰乱

状态。

[0061] 疾病适应证

[0062] 在一个方面,本公开文本涉及一种包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物,所述组合物用于治疗呼吸系统的疾病、障碍或创伤和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植结合使用。

[0063] 在本公开文本的一些实施方案中,呼吸系统的所述疾病是下呼吸道疾病。

[0064] 在本公开文本的一些实施方案中,呼吸系统的所述疾病是主要影响肺间质的呼吸疾病。

[0065] 在本公开文本的一些实施方案中,呼吸系统的所述疾病是影响气道的呼吸疾病。

[0066] 在本公开文本的一些实施方案中,呼吸系统的所述疾病是主要影响肺间质的疾病,其选自急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、肺水肿、肺嗜酸性粒细胞增多症、特发性间质性肺炎、婴儿期或儿童期特定的原发性间质性肺疾病、与全身性疾病相关的间质性肺疾病、肺泡微结石病、淋巴管平滑肌瘤病以及类脂性肺炎。

[0067] 如实施例中所示,本文公开的整合素α10选择的MSC展现出抗炎性和免疫调节特性,并且可以用于减轻、预防和或治疗与ARDS相关的症状。本领域技术人员将理解,与ARDS相关的疾病或障碍也可以通过本文公开的整合素α10选择的MSC来治疗。例如,与ARDS相关的疾病或障碍,如细胞因子释放综合征(CRS)、细胞因子风暴综合征(CSS)和与COVID-19相关的多系统炎性综合征;或影响新生儿(例如但不限于早产婴儿)的并发症可能影响呼吸系统(例如肺)并且可以用本文公开的整合素α10选择的MSC治疗。细胞因子风暴和细胞因子释放综合征是威胁生命的全身性炎性综合征,其涉及可能由例如各种疗法、病原体、癌症、自身免疫性病症和单基因障碍触发的升高的循环细胞因子水平和免疫细胞过度激活。

[0068] 在本公开文本的一些实施方案中,呼吸系统的所述疾病是急性呼吸窘迫综合征(ARDS)和/或相关障碍。

[0069] 在本公开文本的一些实施方案中,呼吸系统的所述疾病是ARDS。

[0070] 可以使用本文公开的组合物治疗的呼吸系统的疾病、障碍或综合征可以例如是与ARDS相关的障碍。

[0071] 因此,在本公开文本的一些实施方案中,呼吸系统的所述疾病是细胞因子释放综合征(CRS)。

[0072] 在本公开文本的一些实施方案中,呼吸系统的所述疾病是细胞因子风暴综合征(CSS)。

[0073] 在本公开文本的一些实施方案中,所述ARDS相关疾病是与COVID-19相关的多系统炎性综合征。

[0074] 在本公开文本的一些实施方案中,呼吸系统的所述疾病是细胞因子介导的ARDS。

[0075] 在本公开文本的一些实施方案中,呼吸系统的所述疾病是新生儿的ARDS/呼吸窘迫综合征。

[0076] 在本公开文本的一些实施方案中,呼吸系统的所述疾病是新生儿的呼吸窘迫,如新生儿的呼吸窘迫综合征。

[0077] 根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的组合物,呼吸系统的所述疾病是由创伤引起的ARDS。

[0078] 在本公开文本的一些实施方案中,呼吸系统的所述疾病是由病毒或细菌感染引起的ARDS。例如,由严重急性呼吸综合征冠状病毒2(SARS CoV 2)引起的病毒感染可能导致ARDS。

[0079] 应理解,ARDS可能有若干个潜在病因。然而,无论病因如何,ARDS是由临床参数(例如,尽管施用补充供氧但仍有严重低氧血症、双侧肺浸润和降低的肺顺应性)定义的公认的临床综合征。若干个可测量的因素(例如细胞因子)被怀疑或已知涉及ARDS的病理学。本领域技术人员将理解,整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)可以用于治疗由不同种类的潜在病因触发的ARDS。本文包含的例子阐明了公认的ARDS的动物模型,并且本领域技术人员将理解本领域已知的其他模型可以用于评价本文公开的MSC的功效。

[0080] ARDS的常见病因是脓毒症,并且在许多情况下,ARDS是最终导致患有脓毒症的患者死亡的病症。因此,由于本文公开的整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)显示出治疗ARDS的功效,因此所述细胞可以用于治疗ARDS的潜在病因,例如脓毒症。

[0081] ARDS的另一个病因是严重急性呼吸综合征冠状病毒2(SARS-CoV-2)/COVID-19,并且ARDS可能是最终导致患有COVID-19的患者死亡的病症。因此,由于本文公开的整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)显示出治疗ARDS的功效,因此所述细胞可以用于治疗ARDS的潜在病因,例如COVID-19。

[0082] 因此,在本公开文本的一些实施方案中,呼吸系统的所述疾病是由严重急性呼吸综合征冠状病毒2(SARS-CoV-2)/COVID-19引起的ARDS。

[0083] 在本公开文本的一些实施方案中,呼吸系统的所述疾病是由任何其他病因引起的ARDS。

[0084] ARDS所涉及的疾病机制(如促炎性细胞因子的增加和细胞变化、尤其与免疫细胞有关的细胞变化)也可能参与涉及例如在肺移植的环境中移植的器官或组织的排斥反应的机制。因此,本文公开的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物可以用于预防或治疗与器官移植(例如肺移植)相关的障碍。

[0085] 因此,本公开文本的一些实施方案涉及包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物在治疗与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植(例如肺移植)相关的疾病、障碍或创伤中的用途。

[0086] MSC特征和制造

[0087] 在本公开文本的一些实施方案中,至少60%的MSC表达整合素α10亚基。

[0088] 实施例1描述了一种制造本公开文本中提供的整合素α10选择的MSC的方法。整合素α10选择的MSC的关键优势在于它们是使用整合素α10蛋白表达的标准进行选择的,因此是均质的MSC培养物和/或群体。这些细胞已被证明展现出干细胞标记物的稳健表达,参见例如WO 2018/138322。本领域技术人员将知道,可以使用若干种用于选择细胞并由此富集细胞的方法。在本发明中,在分离/选择程序期间富集整合素α10高MSC。为此,可以使用抗整合素α10抗体。MSC分离和选择可以如WO 2018/138322中所述进行。

[0089] 如实施例1中所公开的,在选择阶段,所选择的MSC(其是使用抗整合素α10抗体通过整合素α10的表达进行选择的)表达整合素α10(表达整合素α10的MSC可以被称为整合素α$10^{高}$MSC)。更具体地,所选择的细胞是表达异二聚体整合素alpha10 beta1(α10β1)的MSC,因为整合素α10亚基与整合素β1亚基一起表达。所述选择阶段之后是扩增阶段,其中每个所选

择的MSC的整合素α10表达都可以变化，即，并非所有MSC都可以在扩增期间的所有时间以及因此在施用时表达整合素α10。然而，在向患者施用MSC时，至少50％的所施用的细胞表达整合素α10亚基。

[0090] 在本公开文本的一些实施方案中，至少50％，如至少55％，如至少60％，如至少65％，如至少70％，如至少75％，如至少80％，如至少85％，如至少90％，如至少95％，如至少96％，如至少97％，如至少98％，如至少99％，如至少100％的MSC表达整合素α10亚基。

[0091] 在本公开文本的一些实施方案中，所述MSC是MHC II类、CD45、CD34、CD11b和/或CD19阴性。

[0092] 在本公开文本的一些实施方案中，所述MSC表达CD73、CD90和/或CD105。

[0093] 在本公开文本的一些实施方案中，所述MSC选自间充质干细胞、间充质祖细胞和间充质基质细胞或其混合物。

[0094] 在本公开文本的一些实施方案中，所述MSC被诱导表达整合素α10亚基。

[0095] 在本公开文本的一些实施方案中，将所述MSC在包含哺乳动物血清和FGF-2的培养基中培养。

[0096] 在本公开文本的一些实施方案中，将所述MSC在包含血小板裂解物和/或血小板裂解物组分的培养基中培养。

[0097] 在本公开文本的一些实施方案中，将MSC在包含FGF-2和血小板裂解物和/或血小板裂解物组分的培养基中培养。

[0098] 在本公开文本的一些实施方案中，将所述MSC在包含哺乳动物血清和血小板裂解物和/或血小板裂解物组分的培养基中培养。

[0099] 在本公开文本的一些实施方案中，将所述MSC在包含TGFβ的培养基中培养。

[0100] 在本公开文本的一些实施方案中，将所述MSC在包含FGF2的培养基中培养。

[0101] 在本公开文本的一些实施方案中，将所述MSC在包含血小板裂解物和/或血小板裂解物组分的无血清培养基中培养。

[0102] 在本公开文本的一些实施方案中，将所述MSC在包含生长因子的无血清培养基中培养。

[0103] 在本公开文本的一些实施方案中，将所述MSC在包含生长因子FGF2和/或TGFβ的无血清培养基中培养。

[0104] 在本公开文本的一些实施方案中，所述MSC是同种异体或自体的。

[0105] 在本公开文本的一些实施方案中，所述MSC和哺乳动物来自相同物种。

[0106] 在本公开文本的一些实施方案中，所述MSC和哺乳动物来自不同物种。

[0107] 在本公开文本的一些实施方案中，所述MSC源自脂肪组织、骨髓、滑膜、外周血、脐带血、脐血、华通氏胶和/或羊水。

[0108] 本领域技术人员将理解，本文所公开的用于选择整合素α10选择的MSC的程序也将适用于从本领域已知的其他来源选择MSC。

[0109] 在本公开文本的一些实施方案中，所述MSC源自脂肪组织。

[0110] 在本公开文本的一些实施方案中，所述MSC源自骨髓。

[0111] 在本公开文本的一些实施方案中，所述MSC源自胎儿、新生儿、青少年或成年MSC和/或祖细胞。

[0112] 在本公开文本的一些实施方案中,所述MSC不是源自胚细胞或胚胎。

[0113] 在本公开文本的一些实施方案中,所述MSC是体外细胞培养物。

[0114] 在本公开文本的一些实施方案中,已经用抗整合素α10抗体进行MSC的选择。

[0115] 施用

[0116] 在本公开文本的一些实施方案中,将包含所述整合素α10选择的MSC的组合物施用于肺或气道中。

[0117] 在本公开文本的一些实施方案中,其中将包含所述整合素α10选择的MSC的组合物经由注射施用。

[0118] 本领域技术人员将知道本领域已知的用于施用整合素α10选择的MSC的其他方法。

[0119] 在本公开文本的一些实施方案中,将包含所述整合素α10选择的MSC的组合物肠胃外施用。

[0120] 因此,可以局部施用根据本公开文本所述的用于所述用途的包含整合素α10选择的MSC的组合物以穿过待给予整合素α10选择的MSC的动物的任何粘膜。

[0121] 在本公开文本的一些实施方案中,将包含整合素α10选择的MSC的组合物经由静脉内注射、肌内注射和/或气管内注射或其任何组合施用。

[0122] 在本公开文本的一些实施方案中,在施用之前将整合素α10选择的MSC配制成细胞聚集体。

[0123] 在本公开文本的一些实施方案中,将包含所述整合素α10选择的MSC的组合物在具有药学上可接受的赋形剂的细胞悬浮液中施用。

[0124] 在本公开文本的一些实施方案中,在手术期间施用包含所述整合素α10选择的MSC的组合物以修复受损的肺。

[0125] 在本公开文本的一些实施方案中,将包含所述整合素α10选择的MSC的组合物与肺移植结合施用。

[0126] 在本公开文本的一些实施方案中,所述哺乳动物是人。

[0127] 在本公开文本的一些实施方案中,所述哺乳动物是人、马、矮种马、公牛、驴、骡、骆驼科动物、猫、狗、猪或牛。

[0128] 在本公开文本的一些实施方案中,所述整合素α10选择的MSC和哺乳动物来自相同物种。

[0129] 在本公开文本的一些实施方案中,所述整合素α10选择的MSC和哺乳动物来自不同物种。

[0130] 在本公开文本的一些实施方案中,所述整合素α10选择的MSC源自脂肪组织、骨髓、滑膜、外周血、脐带血、脐血、华通氏胶和/或羊水。

[0131] 在本公开文本的一些实施方案中,所述整合素α10选择的MSC源自脂肪组织。

[0132] 在本公开文本的一些实施方案中,所述整合素α10选择的MSC源自骨髓。

[0133] 在本公开文本的一些实施方案中,所述整合素α10选择的MSC源自胎儿、新生儿、青少年或成年MSC和/或祖细胞。

[0134] 在本公开文本的一些实施方案中,所述整合素α10选择的MSC不是源自胚细胞或胚胎。

[0135] 在本公开文本的一些实施方案中,所述整合素α10选择的MSC是体外细胞培养物。

[0136] 在本公开文本的一些实施方案中，已经用抗整合素α10抗体进行整合素α10选择的MSC的选择。

[0137] 在本公开文本的一些实施方案中，包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物进一步包含抗炎剂和/或免疫调节剂。

[0138] 在另一方面，本公开文本涉及包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物用于制造治疗呼吸系统的疾病、障碍或创伤的药物的用途和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植结合的用途。

[0139] 方法

[0140] 在另一方面，本公开文本涉及一种治疗哺乳动物的呼吸系统的疾病、障碍或创伤的方法，所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

[0141] 在另一方面，本公开文本涉及一种治疗或促进哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植的方法，所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

[0142] 在另一方面，本公开文本涉及一种预防哺乳动物中与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的血液凝结的方法，所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

[0143] 在另一方面，本公开文本涉及一种促进与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的血液动力学稳定性的方法，所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

[0144] 在另一方面，本公开文本涉及一种降低与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的对于肌力支持的需要的方法，所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

[0145] 在另一方面，本公开文本涉及一种改善与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的氧合能力的方法，所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

[0146] 在另一方面，本公开文本涉及一种预防与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的组织损害例如结构性组织损害的方法，所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

[0147] 在另一方面，本公开文本涉及一种使与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的组织损害例如结构性组织损害恢复的方法，所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

[0148] 在本公开文本的一些实施方案中，要通过所公开的方法预防或恢复的组织损害是肺组织损害。

[0149] 在本公开文本的一些实施方案中，要通过所公开的方法预防或恢复的组织损害是间质组织的损害、肺泡隔的损害、气道的损害、脉管系统的损害和/或神经系统的损害。

[0150] 在另一方面，本公开文本涉及一种降低与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的嗜中性粒细胞计数的方法，所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

[0151] 在另一方面，本公开文本涉及一种增加与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的淋巴细胞计数的方法，所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

[0152] 在另一方面，本公开文本涉及一种减少与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的促炎性细胞因子的方法，所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

[0153] 在本公开文本的一些实施方案中，要通过所公开的方法减少的促炎性细胞因子选自白介素12(IL-12)、IL-1β、IL-6和IL-4或其任何组合。

[0154] 在本公开文本的一些实施方案中，减少了血液和/或支气管肺泡灌洗液中要通过所公开的方法减少的促炎性细胞因子。

[0155] 在另一方面，本公开文本涉及一种增加与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的干扰素-α的方法，所述方法包括施用治疗有效量的包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物。

[0156] 在另一方面，本公开文本涉及一种包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物，所述组合物用于在哺乳动物中

[0157] -预防血液凝结，

[0158] -促进血液动力学稳定性，

[0159] -降低对于肌力支持的需要，

[0160] -改善氧合能力，

[0161] -预防组织损害，例如结构性组织损害，

[0162] -使组织损害例如结构性组织损害恢复，

[0163] -降低嗜中性粒细胞计数，

[0164] -增加淋巴细胞计数，

[0165] -减少促炎性细胞因子，和/或

[0166] -增加干扰素-α的方法中，

[0167] 所述血液凝结、血液动力学稳定性、对于肌力支持的需要、氧合能力、组织损害例如结构性组织损害、嗜中性粒细胞计数、淋巴细胞计数、促炎性细胞因子、干扰素-α与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关。

[0168] 本公开文本的一些实施方案涉及一种包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物，所述组合物用于预防哺乳动物中与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的血液凝结的方法中。

[0169] 本公开文本的一些实施方案涉及一种包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物，所述组合物用于促进哺乳动物中与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的血液动力学稳定性的方法中。

[0170] 本公开文本的一些实施方案涉及一种包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物，所述组合物用于降低哺乳动物中与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的对于肌力支持的需要的方法中。

[0171] 本公开文本的一些实施方案涉及一种包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物，所述组合物用于改善哺乳动物中与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺

乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的氧合能力的方法中。

[0172] 本公开文本的一些实施方案涉及一种包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物,所述组合物用于预防哺乳动物中与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的组织损害例如结构性组织损害的方法中。

[0173] 本公开文本的一些实施方案涉及一种包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物,所述组合物用于使哺乳动物中与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的组织损害例如结构性组织损害恢复的方法中。

[0174] 本公开文本的一些实施方案涉及一种包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物,所述组合物用于降低哺乳动物中与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的嗜中性粒细胞计数的方法中。

[0175] 本公开文本的一些实施方案涉及一种包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物,所述组合物用于增加哺乳动物中与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的淋巴细胞计数的方法中。

[0176] 本公开文本的一些实施方案涉及一种包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物,所述组合物用于减少哺乳动物中与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的促炎性细胞因子的方法中。

[0177] 本公开文本的一些实施方案涉及一种包含整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)的组合物,所述组合物用于增加哺乳动物中与呼吸系统的疾病、障碍或创伤相关和/或与哺乳动物的呼吸道的器官或组织的移植相关的干扰素-α的方法中。

[0178] 在本公开文本的一些实施方案中,所述组织损害是肺组织损害。

[0179] 在本公开文本的一些实施方案中,所述组织损害是间质组织的损害、肺泡隔的损害、气道的损害、脉管系统的损害、肌肉的损害和/或神经系统的损害。

[0180] 根据权利要求69所述的方法,其中所述促炎性细胞因子选自白介素12(IL-12)、IL-1β、IL-6和IL-4或其任何组合。

[0181] 在本公开文本的一些实施方案中,减少了血液和/或支气管肺泡灌洗液中的所述促炎性细胞因子。

[0182] 实施例

[0183] 实施例1:整合素α10富集的MSC的产生

[0184] 目标

[0185] 本实施例阐明了整合素α10选择的MSC如何分离、选择、扩增和储存直到在治疗模型中使用。

[0186] 材料与方法:

[0187] 从人或动物脂肪供体组织或其他含MSC的来源分离整合素α10选择的间充质干细胞(MSC)。分离/消化脂肪组织,并将脂肪来源的基质血管级分(SVF)重悬于MSC扩增培养基中,并接种至细胞培养瓶中以使MSC粘附在塑料上并增殖。

[0188] 如通过流式细胞仪测量,分析塑料粘附细胞的细胞表面标记物CD73、CD90和CD105的阳性表达(≥95%)以及CD45、CD34、CD11b、CD19和HLA-DR的阴性表达(≤2%)。该特定抗原表达标准也是国际细胞治疗协会(International Society for Cellular Therapy)设定的MSC定义的一部分(Dominici 2006)。将MSC制剂在MSC扩增培养基的单层培养物中扩

增,并使用特异性结合整合素α10(从而识别完整受体整合素alpha10beta1,即整合素α10β1)的抗体和磁珠分离来选择表达整合素α10的MSC或者通过FACS细胞分选来选择表达整合素α10的MSC。进一步扩增整合素α10选择的MSC,检查定义的MSC抗原的细胞表面表达,此外证明了三系分化能力。将α10选择的MSC在低温保存培养基中冷冻,并保持冷冻直至使用。

[0189] 结果:

[0190] 所述程序产生了整合素α10选择的MSC,将其扩增并在可用于施用(例如静脉内施用)的小瓶中冷冻。

[0191] 结论

[0192] 制造过程生成满足定义人MSC的最小标准的α10选择的MSC,并且可以应用于细胞疗法中。

[0193] 实施例2:在猪ARDS模型中证明整合素α10选择的MSC治疗的功效和安全性

[0194] 目标

[0195] 这些实验的目标是证明和评价整合素α10选择的MSC在经验证的猪模型中对ARDS的治疗作用以及整合素α10选择的MSC的动脉内输注的安全性。

[0196] 材料与方法

[0197] 使用十二只平均体重为35.83±4.79kg的猪。施加全身麻醉,并在耳垂中放置外周静脉导管,并进行气管内插管且用未加湿的空气进行机械通气。调整通气以将二氧化碳水平($PaCO_2$)维持在33与41mmHg之间。

[0198] 为了诱导ARDS,稀释来自革兰氏阴性细菌大肠杆菌(Escherichia coli)的脂多糖(LPS),并将其经由气管内(ET)安装和经由肺动脉施用。

[0199] 在整个研究期,持续监测血浆中的血液动力学、气体交换、肌力支持的需要、补液的需要、尿量、细胞因子应答和凝血级联反应。收集肺组织进行RNA测序和免疫组织化学分析。

[0200] 测量血液动力学参数、血液气体和血液凝结时间(使用ROTEM仪器),以确认和监测猪ARDS模型,并评估输注的整合素α10选择的MSC的临床效果。根据柏林定义使用氧气的分压(PaO_2)与吸入氧气分数FIO_2的比率来定义不同的ARDS阶段。建立ARDS后,将猪随机分组至整合素α10选择的MSC治疗(500万个MSC/kg,静脉内给予)或用含有5%-10%DMSO的cryomedium假处理。在实验结束时,通过从所有肺叶的胸骨切开术从右叶采集肺活检物。在我们的模型中,苏木精和伊红(H&E)染色的肺活检物用于确认严重肺损害的发作以及输注的MSC对保持肺完整性的影响。

[0201] 结果

[0202] 血液动力学稳定性/肌力支持的需要的分析

[0203] 给予肌力支持,如施用去甲肾上腺素以确保实验过程中ARDS模型中的血液动力学稳定性和氧合水平。我们发现,与对照组相比,在整合素α10选择的MSC治疗的动物中所施用的去甲肾上腺素的总量显著更少,这表明用整合素α10选择的MSC治疗的动物具有更稳定的血液动力学参数并且可以确保更好的氧分布(图1)。

[0204] 氧合能力的分析

[0205] 与更少施用去甲肾上腺素相一致,血液气体值也证实了在整合素α10选择的MSC治疗的ARDS动物中氧合能力升高。我们能够分析12小时后三只整合素α10选择的MSC治疗的动

物和三只对照动物中的氧合作用。我们发现，与对照动物相比，整合素α10选择的MSC治疗的动物具有改善的氧合能力，从而支持了整合素α10选择的MSC的治疗作用(图2)。

[0206] 凝血时间的分析

[0207] 凝血和血凝块的形成是ARDS中常见且巨大的医学问题。因此，我们研究了在ARDS研究过程中输注的整合素α10选择的MSC对凝血(血液凝结)时间的影响。我们发现，与对照动物相比，在整合素α10选择的MSC治疗的动物中的凝结时间显著减少。在2小时后已经看到效果，并且从3h及更晚开始明显(图3)。血液凝块时间形成的显著降低是重要的功效参数，并且也证明了静脉内施用整合素α10选择的MSC的安全性。这些结果支持整合素α10选择的MSC的输注作为预防ARDS中凝块形成(该病理学的主要标志之一)的有效治疗方法(Frantzeskaki 2017)。

[0208] 组织学

[0209] 分析了来自上、中、下叶的肺组织切片的苏木精和伊红(H&E)染色，以比较整合素α10选择的MSC治疗的猪与未治疗的猪之间的肺组织结构。我们发现对照动物中的肺组织严重破坏，并且整合素α10选择的MSC治疗组中肺组织的损害显著更少以及肺结构保持得更好(图4)。所述结果与上述血液动力学和氧合能力的临床结果一致，并且清楚地证明了整合素α10选择的MSC在ARDS模型中的治疗作用。

[0210] 结论

[0211] 通过比较整合素α10选择的MSC治疗的猪与安慰剂治疗的猪，建立了整合素α10选择的MSC在动物模型中的安全性和功效。我们已经发现，在临床相关的猪ARDS模型中整合素α10选择的MSC对ARDS具有治疗作用。静脉内施用的整合素α10选择的MSC能够改善血液动力学、肺氧合，减少血液凝块形成以及保持肺组织结构的完整性。

[0212] 实施例3：在猪ARDS模型中证明整合素α10选择的MSC的抗炎性和免疫调节作用目标

[0213] 研究整合素α10选择的MSC在猪ARDS模型中的治疗作用之下的作用机制。例如，研究了抗炎性和/或免疫调节作用。

[0214] 材料与方法

[0215] 在ARDS研究期间的不同时间点从整合素α10选择的MSC治疗的猪和对照猪收集血液样品，以分析血浆中的嗜中性粒细胞的数量以及不同的促炎性细胞因子和抗炎性细胞因子的浓度。使用测量9种细胞因子的多路化免疫测定试剂盒在不同时间点对血浆和支气管肺泡灌洗液(BAL)中的细胞因子水平进行分析。分析不同时间点外周血单个核细胞(PBMC)中观察到的免疫表型可以反映细胞因子谱，因此可能与研究期间的“临床”结局相关。来自肺的活检物可以用于了解病理生理学及其隔室浸润细胞。还在研究开始和结束时收集了支气管肺泡灌洗液(BALF)样品。通过Sysmex分析嗜中性粒细胞和淋巴细胞的数量，并使用细胞因子特异性抗体Luminex通过多路化测定测量不同细胞因子的浓度。

[0216] 结果

[0217] 嗜中性粒细胞和淋巴细胞计数的分析

[0218] 在ARDS研究期间的不同时间点，分析了血液样品中嗜中性粒细胞和淋巴细胞的数量。我们发现，与对照动物相比，MSC治疗的动物中的嗜中性粒细胞计数更低，这表明整合素α10选择的MSC的免疫调节和抗炎性作用。1小时后已经观察到整合素α10选择的MSC治疗的

动物与未治疗的动物之间的差异，然后这种差异随时间增加(图5A)。淋巴细胞计数的分析显示，在治疗8小时后，在整合素α10选择的MSC治疗的动物中淋巴细胞增加，但在未治疗的动物中淋巴细胞没有增加(图5B)。对ARDS患者的回顾性分析支持了这一发现，其中更高的淋巴细胞计数与更高的存活率相关(Song 2020)。

[0219] 来自血液和BALF的促炎性细胞因子的分析

[0220] 与对照动物相比，在整合素α10选择的MSC治疗的动物中以更低的浓度在血浆中检测到若干种促炎性细胞因子(包括白介素12(IL-12)、IL-1β和IL-6)。在输注整合素α10选择的MSC后1h就观察到差异，表明了整合素α10选择的MSC的即刻免疫调节作用。与对照动物相比，在MSC输注后1h就在整合素α10选择的MSC治疗的动物的血浆中检测到更低水平的促炎性细胞因子白介素(IL)-12，表明MSC的即刻作用维持至少6小时(图6B)。这进一步支持MSC的免疫调节作用，因为这可以指示血液中激活的抗原呈递细胞的更低存在(Dorman 2000)。

[0221] 此外，与未治疗的动物相比，1h后在整合素α10选择的MSC治疗的动物中干扰素-α(IFN-α)的水平升高(图6A)，并且在整合素α10选择的MSC输注后维持数小时。有趣的是，IFN-α的水平升高已被证明与ARDS患者中的疾病的更好预后相关(Wang 2020)。

[0222] 在研究结束时，我们还分析了BALF中细胞因子的水平。结果表明，在未治疗的动物中BALF促炎性细胞因子IL-1β(IL-1b)和IL-6显著增加，这与治疗的动物相反(图6C、图6D)。这可以表明朝着促炎性状态极化的巨噬细胞的更低存在以及总体减弱的肺炎症(McGonagle 2020)。

[0223] 通过研究在治疗的动物与未治疗的动物中的炎性标记物和免疫应答谱，获得了在整合素α10选择的MSC的抗炎性或免疫调节作用之下的机制方面的重要见解。应理解，如实施例2和3中所示的本研究的结果也可以在较大的猪(例如60-70kg的猪)中以及在其他已建立的ARDS和相关病症模型中得到证实。

[0224] 结论：

[0225] 我们发现，在严重ARDS的猪模型中输注整合素α10选择的MSC导致血液中减少的嗜中性粒细胞数量以及血浆和BALF中减少的促炎性细胞因子水平。这表明整合素α10选择的MSC在ARDS模型中具有抗炎性和免疫调节作用，这可能代表了在整合素α10选择的MSC治疗的动物中观察到的涉及改善的血液动力学和保持的肺完整性和功能的作用机制。在整合素α10选择的MSC治疗的动物中，血浆中更低水平的循环细胞因子表明发生细胞因子风暴(这是ARDS的特征)的风险更低(Hojyo 2000)，因此表明较不严重的ARDS进展。

[0226] 参考文献

[0227] Camper,Hellman,Lundgren-Akerlund;J Biol Chem.1998 Aug 7;273(32):20383-9;Isolation,cloning,and sequence analysis of the integrin subunit alpha10,a beta1-associated collagen binding integrin expressed on chondrocytes.

[0228] Casey,Semler,Rice;Semin Respir Crit Care Med.2019 Feb;40(1):57-65;Fluid Management in Acute Respiratory Distress Syndrome.

[0229] Dominici,M.,Le Blanc,K.,Mueller,I.,Slaper-Cortenbach,I.,Marini,F.C.,and Krause,D.S.(2006).Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells.The international society for cellular therapy position

statement.Cytotherapy 8,315-317.

[0230] Dorman,Holland;Cytokine Growth Factor Rev.2000Dec;11(4):321-33;Interferon-gamma and interleukin-12 pathway defects and human disease.

[0231] Frantzeskaki,Armaganidis,Orfanos;Respiration.2017;93(3):212-225.doi:10.1159/000453002.Epub 2016 Dec 21,Immunothrombosis in Acute Respiratory Distress Syndrome:Cross Talks between Inflammation and Coagulation.

[0232] Gonzales,Lucas,Verin;Austin J Vasc Med.2015 Jun 4;2(1):1009;The Acute Respiratory Distress Syndrome:Mechanisms and Perspective Therapeutic Approaches.

[0233] Hojyo,Uchida,Tanaka,Hasebe,Tanaka,Murakami and Hirano;Cytokine Growth Factor Rev.2000 Dec;11(4):321-33;Interferon-gamma and interleukin-12 pathway defects and human disease.

[0234] Matthay;Nat Rev Dis Primers.2019 Mar 14;5(1):18;Acute respiratory distress syndrome.

[0235] McGonagle,Sharif,O'Regan,Bridgewood;Autoimmun Rev;2020 Jun;19(6):102537.doi:10.1016/j.autrev.2020.102537.The Role of Cytokines including Interleukin-6in COVID-19 induced Pneumonia and Macrophage Activation Syndrome-Like Disease.

[0236] Prescott;Am J Respir Crit Care Med.2016 Jul 15;194(2):147-55;Toward Smarter Lumping and Smarter Splitting:Rethinking Strategies for Sepsis and Acute Respiratory Distress Syndrome Clinical Trial Design.

[0237] Song,Liu,Lu,Luo,Peng,Chen;BMC Pulm Med.2020 Apr 23;20(1):102;Prognostic factors for ARDS:clinical,physiological and atypical immunodeficiency.

[0238] Wang,N.et al.Retrospective multicenter cohort study shows early interferon therapy is associated with favorable clinical responses in COVID-19 patients.Cell Host Microbe https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.07.005(2020).

[0239] 项

[0240] 1.一种包含富集的整合素α10^{高}间充质干细胞(MSC)群体的组合物,所述组合物用于治疗呼吸系统的一种或多种疾病或创伤和/或与哺乳动物的呼吸道的一个或多个器官或组织的移植结合使用。

[0241] 2.根据项1所述的组合物,其中呼吸系统的所述疾病是主要影响肺间质的呼吸疾病。

[0242] 3.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中呼吸系统的所述疾病是急性呼吸窘迫综合征(ARDS)和相关障碍。

[0243] 4.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中呼吸系统的所述疾病是ARDS。

[0244] 5.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中呼吸系统的所述疾病

是细胞因子释放综合征(CRS)。

[0245] 6.根据前述项中任一项所述的组合物,其中呼吸系统的所述疾病是细胞因子风暴综合征(CSS)。

[0246] 7.根据前述项中任一项所述的组合物,其中呼吸系统的所述疾病是细胞因子介导的ARDS。

[0247] 8.根据前述项中任一项所述的组合物,其中呼吸系统的所述疾病是新生儿的ARDS/呼吸窘迫综合征。

[0248] 9.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中呼吸系统的所述疾病是由创伤引起的ARDS。

[0249] 10.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中呼吸系统的所述疾病是由病毒或细菌感染引起的ARDS。

[0250] 11.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中呼吸系统的所述疾病是由严重急性呼吸综合征冠状病毒2(SARS-CoV-2)/COVID-19引起的ARDS。

[0251] 12.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中呼吸系统的所述疾病是由任何其他原因引起的ARDS。

[0252] 13.根据前述项中任一项所述的组合物,其中所述MSC群体的至少60%的细胞表达整合素α10亚基。

[0253] 14.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中至少50%,如至少55%,如至少60%,如至少65%,如至少70%,如至少75%,如至少80%,如至少85%,如至少90%,如至少95%,如至少96%,如至少97%,如至少98%,如至少99%,如至少100%的包含在所述富集的间充质干细胞(MSC)群体中的总细胞表达整合素α10亚基。

[0254] 15.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中所述MSC是MHC II阴性和/或CD45阴性。

[0255] 16.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中所述MSC表达CD44、CD90和CD105。

[0256] 17.根据前述项中任一项所述的组合物,其中所述MSC选自间充质干细胞、间充质祖细胞和间充质基质细胞;或其混合物。

[0257] 18.根据前述项中任一项所述的组合物,其中所述细胞被诱导表达整合素α10亚基。

[0258] 19.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中将所述细胞在包含哺乳动物血清和FGF-2的培养基中培养。

[0259] 20.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中将所述细胞在包含血小板裂解物和/或血小板裂解物组分的培养基中培养。

[0260] 21.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中将所述细胞在包含FGF-2和血小板裂解物和/或血小板裂解物组分的培养基中培养。

[0261] 22.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中将所述细胞在包含哺乳动物血清和血小板裂解物和/或血小板裂解物组分的培养基中培养。

[0262] 23.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中将所述细胞在包含TGFβ的培养基中培养。

[0263] 24.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中将所述细胞在包含血小板裂解物和/或血小板裂解物组分的无血清培养基中培养。

[0264] 25.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中将所述细胞在包含生长因子的无血清培养基中培养。

[0265] 26.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中将所述细胞在包含生长因子FGF2和/或TGFβ的无血清培养基中培养。

[0266] 27.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中所述MSC是同种异体或自体的。

[0267] 28.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中将所述MSC施用于肺或气道中。

[0268] 29.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中将所述MSC群体经由注射施用。

[0269] 30.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中将所述MSC群体在具有药学上可接受的赋形剂的细胞悬浮液中施用。

[0270] 31.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中在施用之前将所述MSC群体配制成细胞聚集体。

[0271] 32.根据前述项中任一项所述的组合物,其中在手术期间施用所述MSC群体以修复受损的肺。

[0272] 33.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中将所述MSC群体与肺移植结合施用。

[0273] 34.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中所述哺乳动物是人、马、矮种马、公牛、驴、骡、骆驼科动物、猫、狗、猪或牛。

[0274] 35.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中所述哺乳动物是人。

[0275] 36.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中所述MSC和哺乳动物来自相同物种。

[0276] 37.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中所述MSC和哺乳动物来自不同物种。

[0277] 38.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中所述MSC源自脂肪组织、骨髓、滑膜、外周血、脐带血、脐血、华通氏胶和/或羊水。

[0278] 39.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中所述MSC源自脂肪组织。

[0279] 40.根据项76至85中任一项所述的用途或方法,其中所述MSC源自骨髓。

[0280] 41.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中所述细胞源自胎儿、新生儿、青少年或成年MSC和/或祖细胞。

[0281] 42.根据前述项中任一项所述的组合物,其中所述细胞不是源自胚细胞或胚胎。

[0282] 43.根据前述项中任一项所述的组合物,其中所述细胞群体是体外细胞培养物。

[0283] 44.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,其中已经用抗整合素α10抗体进行所述富集。

[0284] 45.根据前述项中任一项所述的用于所述用途的组合物,所述组合物进一步包含

抗炎剂。

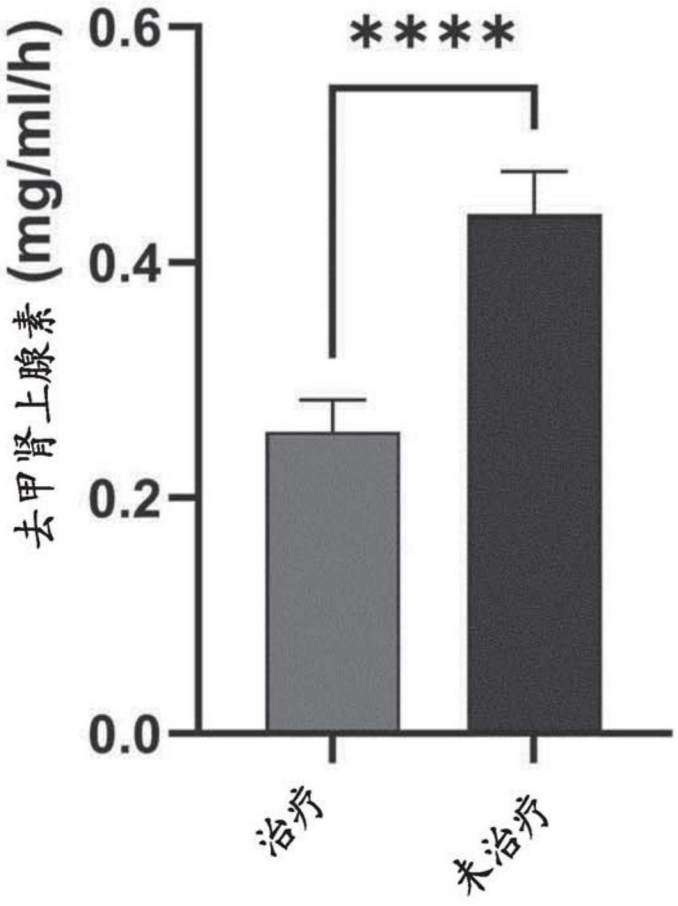


图1

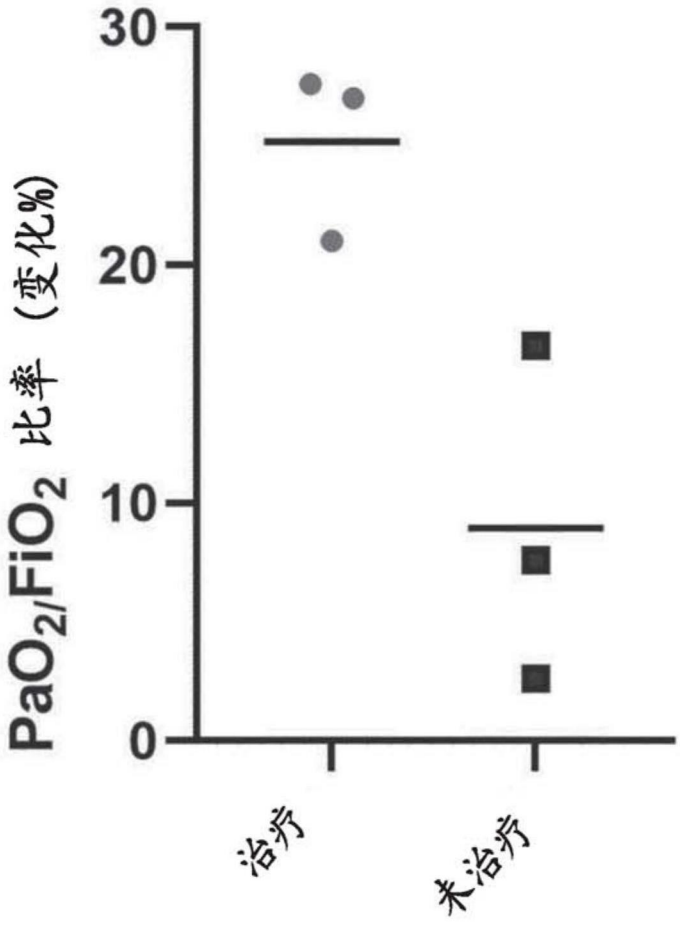


图2

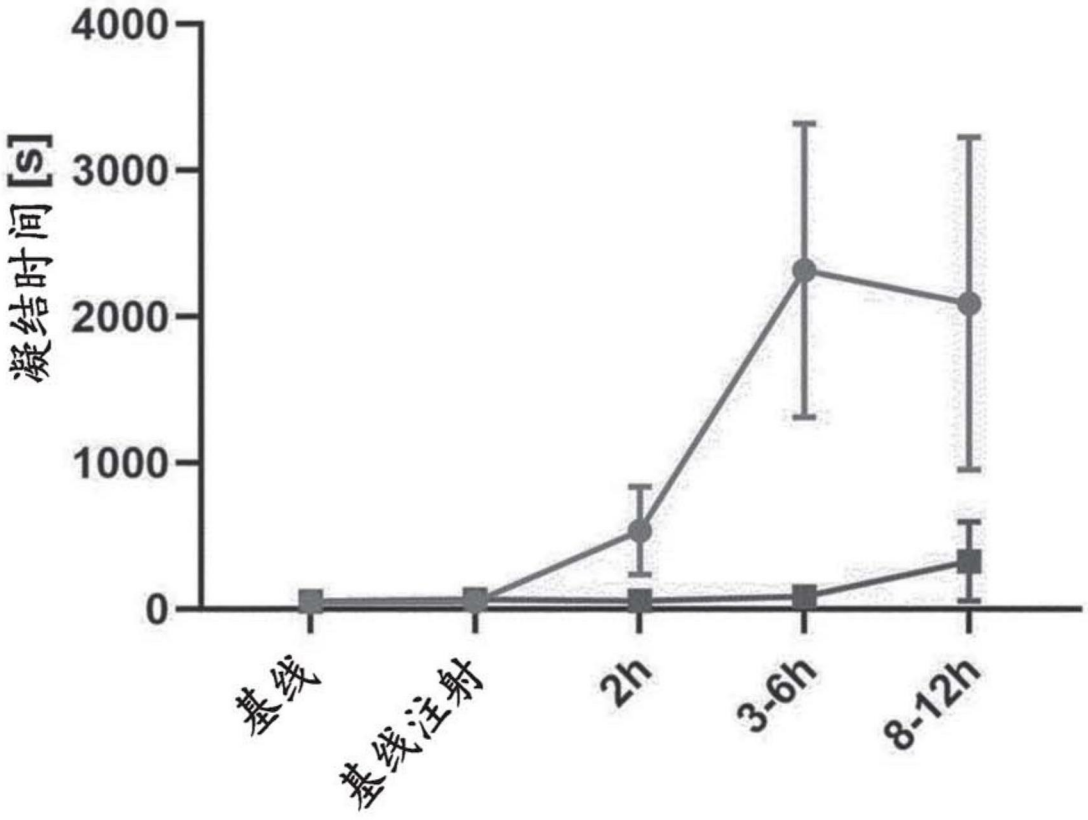


图3

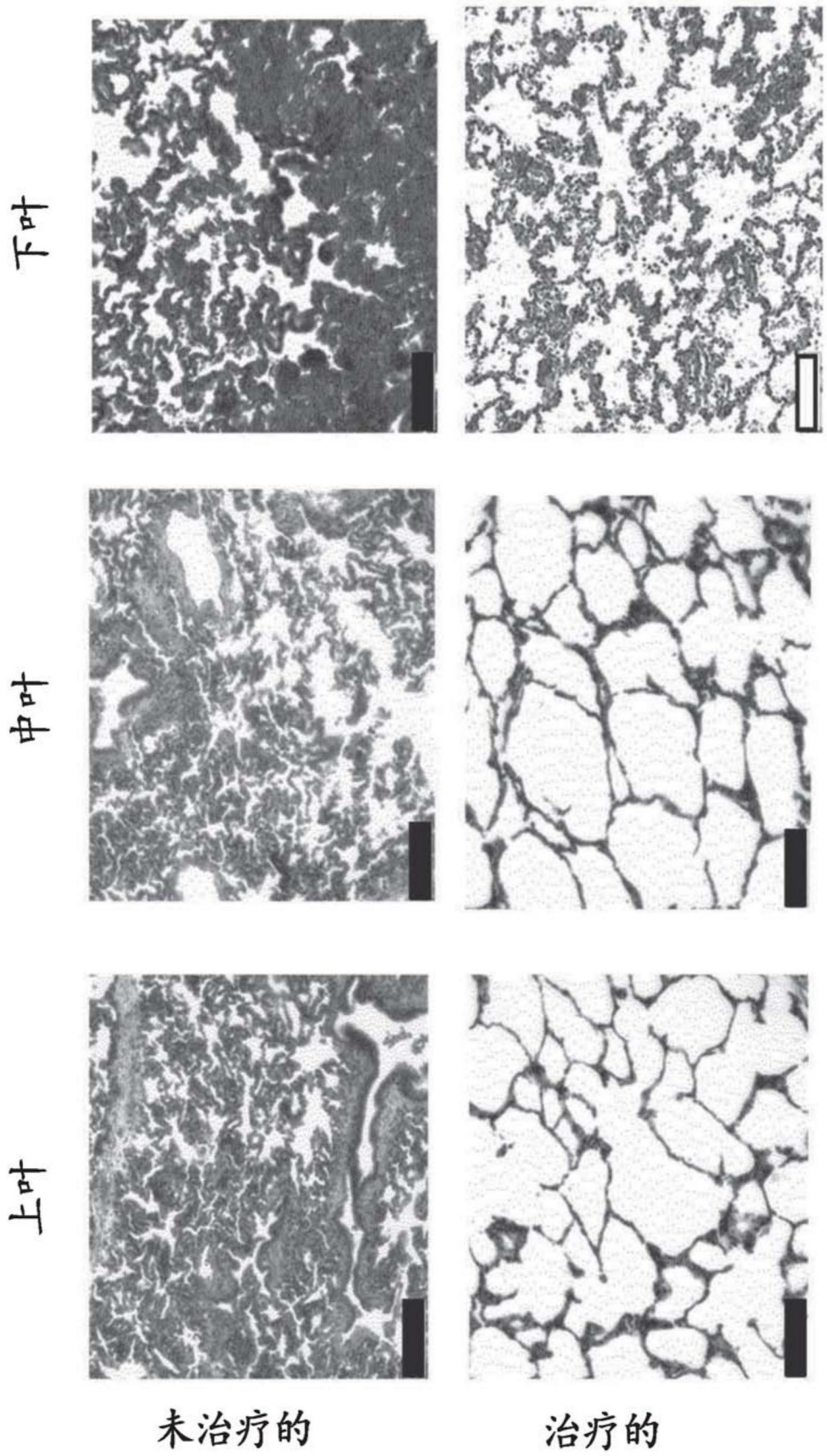


图4

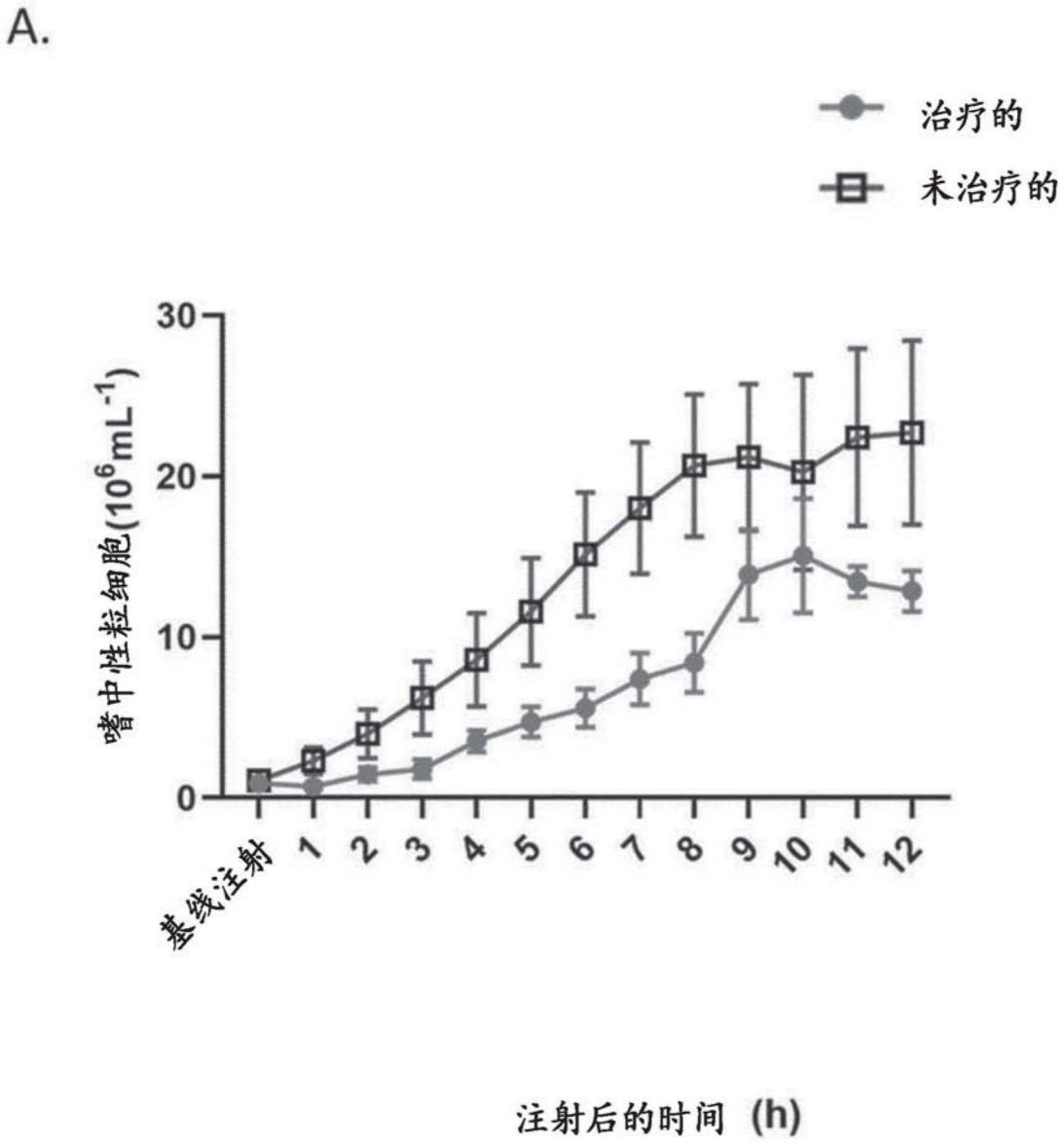

A.
治疗的
未治疗的
嗜中性粒细胞(10^6mL^{-1})
30
20
10
0
基线注射
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
注射后的时间 (h)

图5

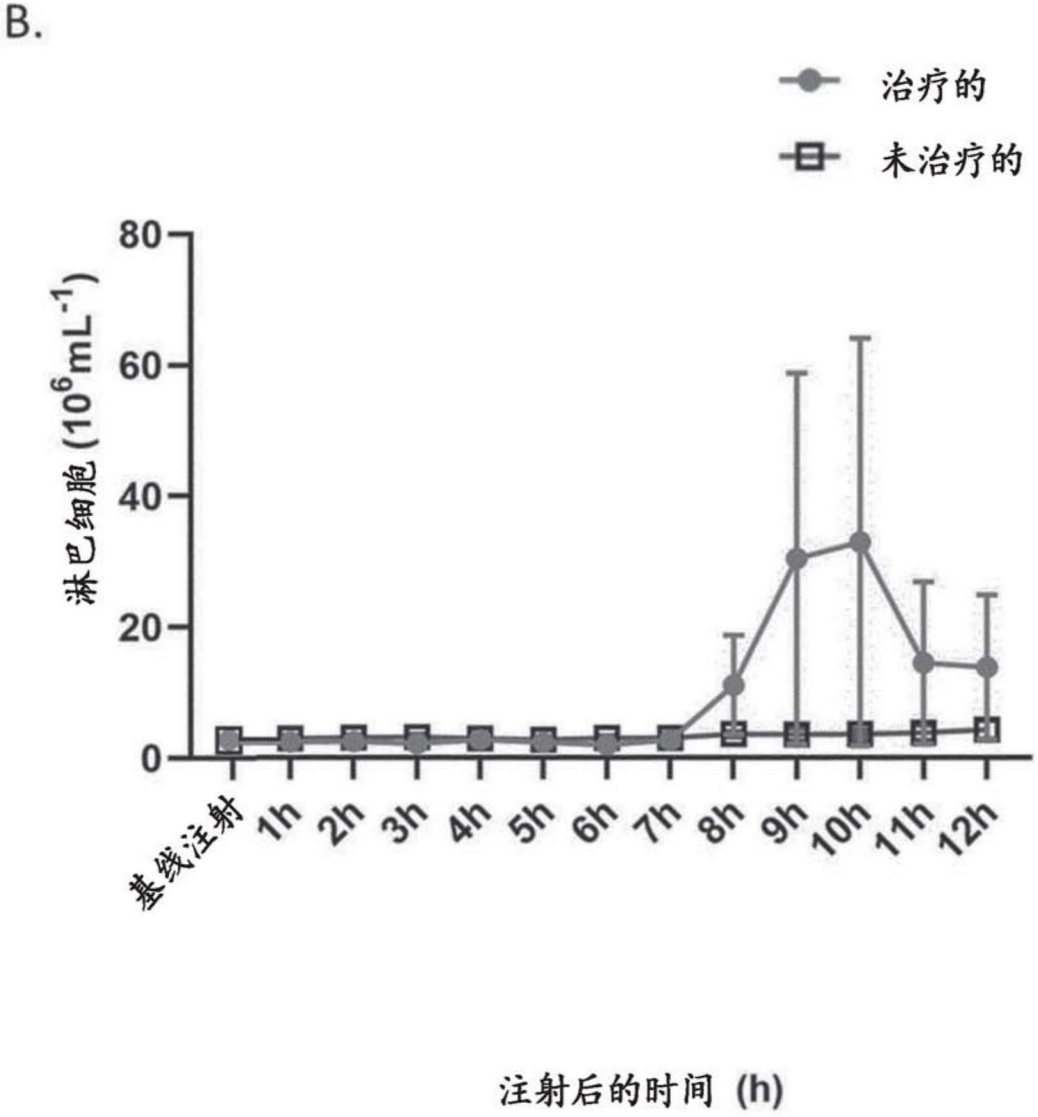

B.
治疗的
未治疗的
80
60
40
20
0
淋巴细胞 (10^6mL^{-1})
基线注射
1h
2h
3h
4h
5h
6h
7h
8h
9h
10h
11h
12h
注射后的时间 (h)

图5,续

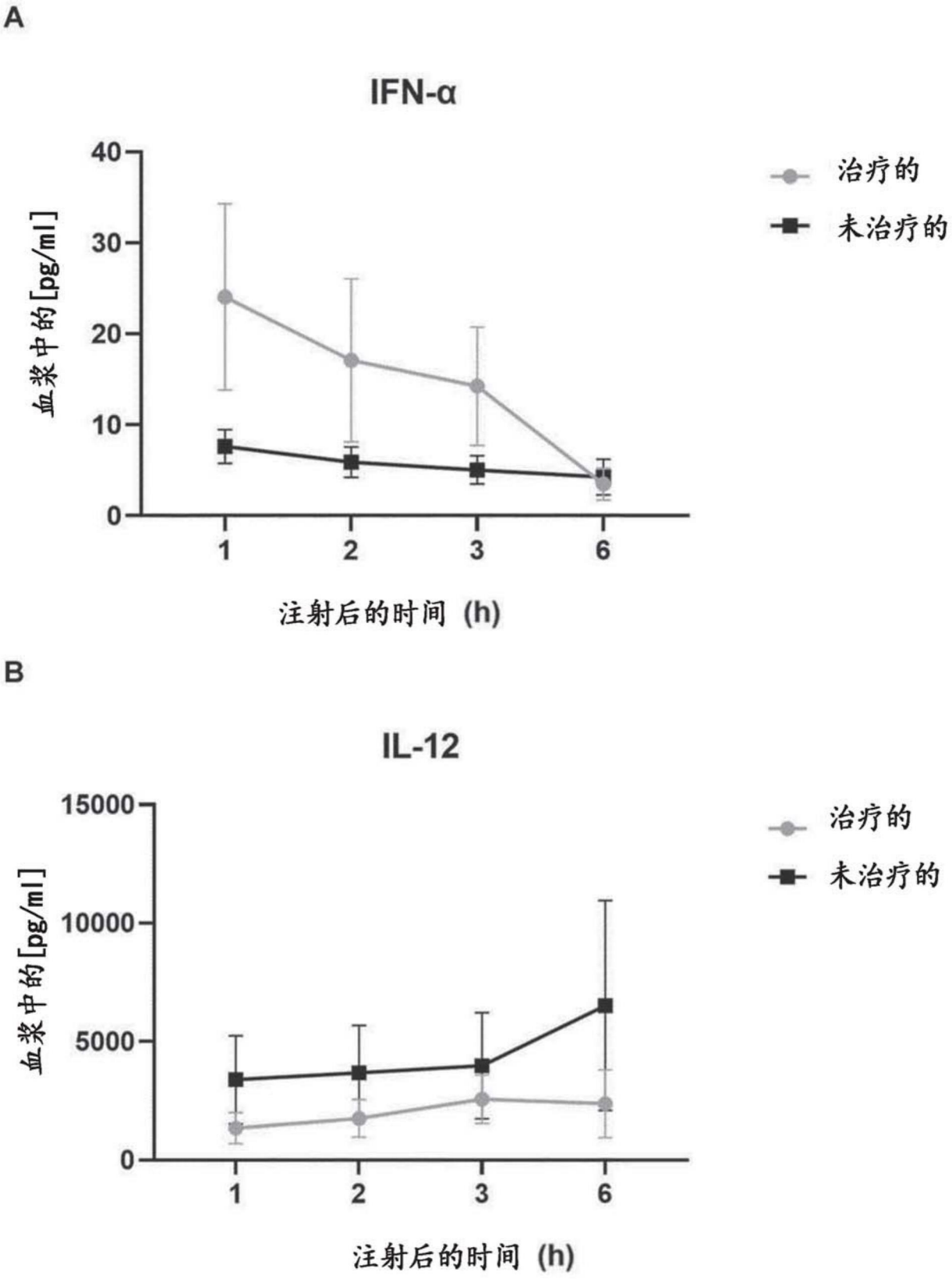
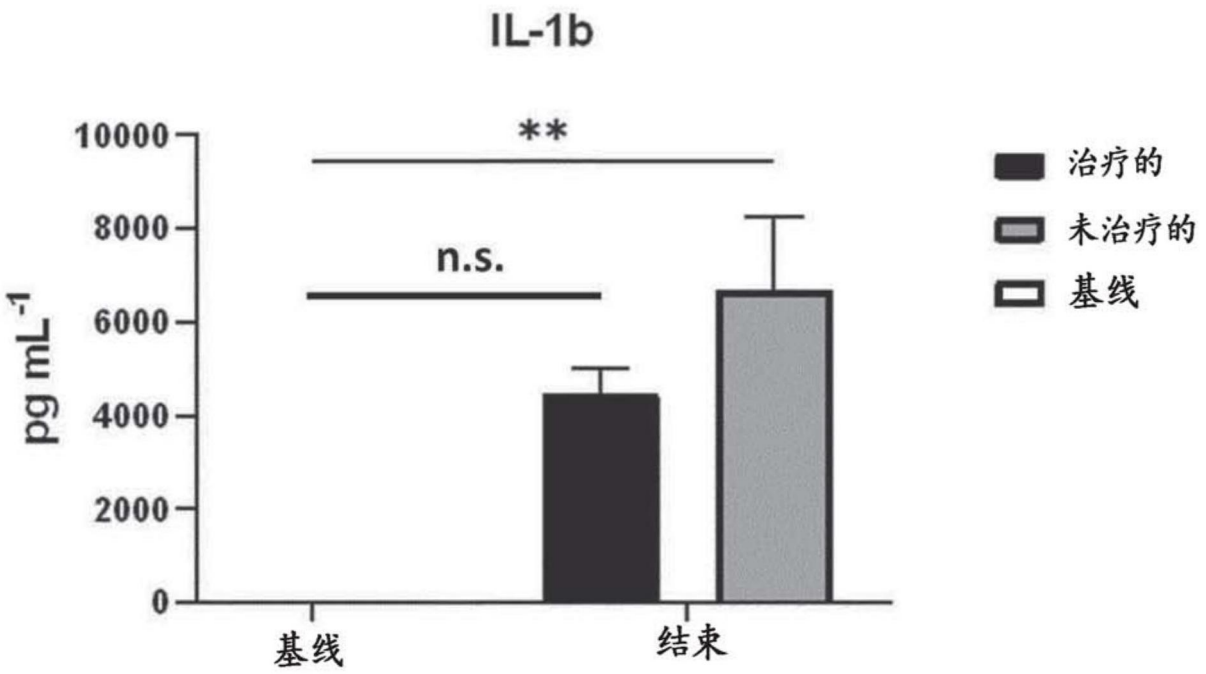

A
IFN-α
血浆中的[pg/ml]
40
30
20
10
0
1
2
3
6
注射后的时间 (h)
治疗的
未治疗的
B
IL-12
血浆中的[pg/ml]
15000
10000
5000
0
1
2
3
6
注射后的时间 (h)
治疗的
未治疗的

图6

C


IL-1b
**
n.s.
10000
8000
6000
4000
2000
0
pg mL-1
基线
结束
治疗的
未治疗的
基线

D

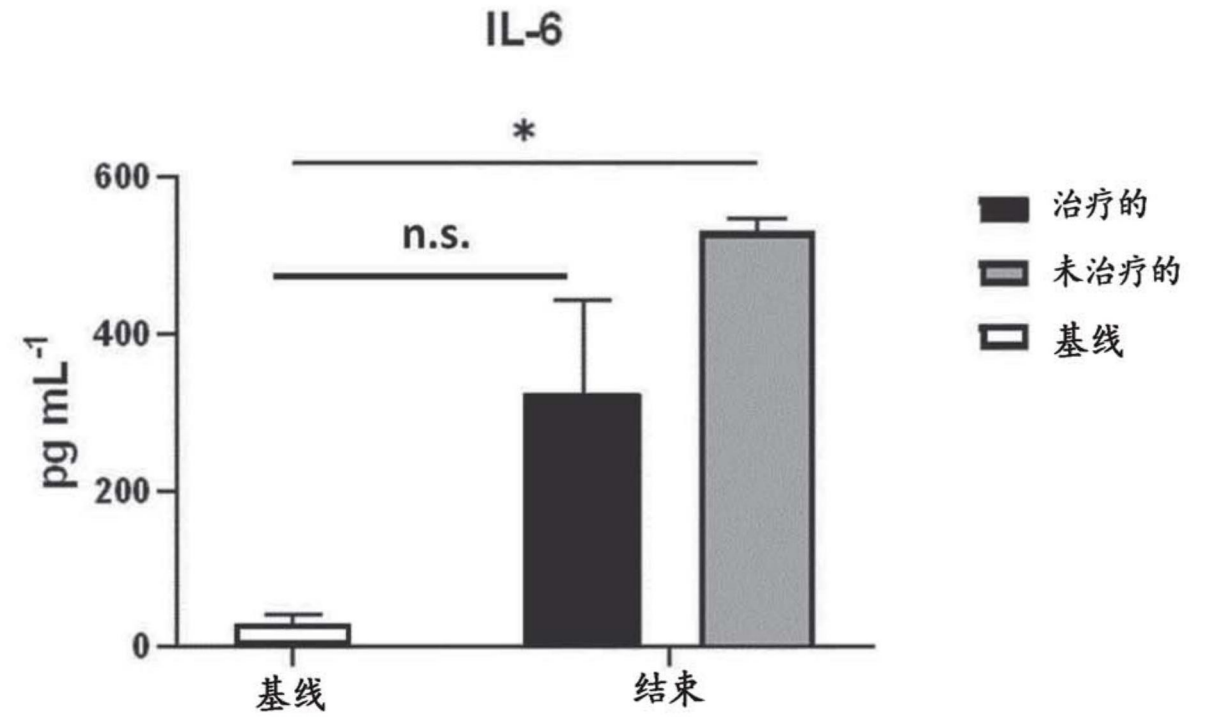

IL-6
*
n.s.
600
400
200
0
pg mL-1
基线
结束
治疗的
未治疗的
基线

图6,续