[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
A61K 38/00 (2006.01)

[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200880011935.2

[43] 公开日 2010 年 2 月 24 日

[11] 公开号 CN 101657210A

[22] 申请日 2008.2.11
[21] 申请号 200880011935.2
[30] 优先权
[32] 2007. 2.13 [33] US [31] 60/900,977
[86] 国际申请 PCT/US2008/001768 2008.2.11
[87] 国际公布 WO2008/100458 英 2008.8.21
[85] 进入国家阶段日期 2009.10.13
[71] 申请人 希克龙制药公司
地址 美国加利福尼亚州
[72] 发明人 伊斯雷尔·里奥斯
辛西娅·塔特希尔
[74] 专利代理机构 隆天国际知识产权代理有限公司
代理人 吴小瑛 吕俊清
权利要求书 2 页 说明书 50 页

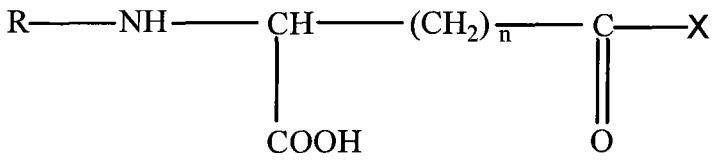
[54] 发明名称

粘膜疾病引起的组织退化、损伤或损害的治疗或预防方法

[57] 摘要

利用免疫调节化合物治疗粘膜疾病。

1. 用于治疗、预防、抑制或减轻由粘膜疾病引起的受试者组织退化、损伤或损害，或者恢复受所述疾病不利影响的受试者组织的治疗方法，其包括向所述受试者施用有效量的式 A 的免疫调节化合物：



（A）

其中，n 为 1 或 2，R 为氢、酰基、烷基或肽片段，X 为芳族氨基酸或杂环氨基酸或者其衍生物。

2. 如权利要求 1 的方法，其中 X 为 L-色氨酸或 D-色氨酸。

3. 如权利要求 1 的方法，其中所述化合物为 SCV-07。

4. 如权利要求 1 的方法，其中所述化合物的施用剂量在约 0.001-2000mg 的范围内。

5. 如权利要求 1 的方法，其中所述化合物的施用剂量在约 0.01-100 mg 的范围内。

6. 如权利要求 1 的方法，其中所述化合物的施用剂量在约 0.1 - 10,000 ug/kg 受试者体重的范围内。

7. 如权利要求 1 的方法，其中所述化合物的施用剂量在约 1-1,000 ug/kg 受试者体重的范围内。

8. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述疾病是由受试者接受的辐射或化疗中的至少一种引起的。

9. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述粘膜包括口腔粘膜或食道粘膜中的至少一种。

10. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述疾病包括粘膜炎或溃疡性损害中的至少一种。

11. 如权利要求 8 的方法，其中所述辐射施用的累积剂量至少为约 15Gy。

12. 如权利要求 8 的方法，其中所述辐射施用的累积剂量至少为约 40Gy。

13. 如权利要求 8 的方法，其中所述辐射施用的累积剂量至少为约 60Gy。

14. 如权利要求 8 所述的方法，其中化疗包括顺铂。

15. 如权利要求 14 的方法，其中所述顺铂的施用剂量在 0.1-50mg/kg 的范围内。

16. 如权利要求 14 的方法，其中所述顺铂的施用剂量为约 5 mg/kg。

粘膜疾病引起的组织退化、损伤或损害的治疗或预防方法

发明背景

相关申请的交叉引用

本申请要求于 2007 年 2 月 13 日提交的美国临时申请第 60/900,977 号的优先权。

发明领域

本发明涉及粘膜疾病的治疗领域。

背景技术

口腔溃疡粘膜炎（Oral ulcerative mucositis）是癌症药物治疗和放疗中常见的疼痛性、剂量限制性毒性。这种疾病被表征为导致形成溃疡性损害的口腔粘膜损坏。在粒细胞减少的患者中，伴有粘膜炎的溃疡是常导致败血症或菌血症的天然口腔细菌的常见入口。在接受抗肿瘤药物治疗的患者中，有三分之一以上发生一定程度的粘膜炎。在接受白血病诱导疗法或者多种骨髓移植预处理方案治疗的患者中，所述粘膜炎发生的频率和严重程度明显增加。在这些个体中，有四分之三以上的患者患有中度至重度粘膜炎并不罕见。中度至重度粘膜炎发生于几乎所有接受头部和颈部肿瘤放疗的患者，并且通常始于 15Gy 的累积辐射量，而后在总剂量达到 60Gy 或以上时加重。

粘膜炎的发展在临床上经历三个阶段：

1. 伴随有疼痛性粘膜红斑的炎症，其可以对局部麻醉剂做出应答。

2. 伴有假膜形成的疼痛性溃疡，以及在骨髓抑制治疗的情况下，为需要抗菌治疗的潜在威胁生命的败血症。疼痛的强度通常需要肠胃外给予麻醉剂镇痛。

3. 自愈，发生在停止抗肿瘤治疗后的约 2-3 周。

粘膜炎的标准治疗主要是姑息疗法，包括使用局部镇痛剂（例如利多卡因，lidocaine）和/或全身施用麻醉剂和抗生素。目前，唯一一种批准用于口腔粘膜炎的治疗剂是 Kepivance（Palifermin），其仅被批准用于在进行治疗恶

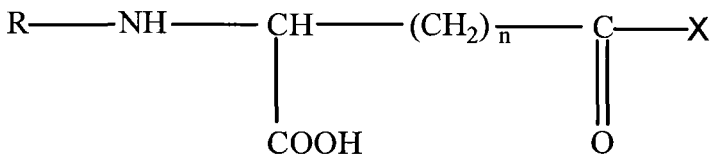
性血液病的造血干细胞移植前接受预处理方案的患者中治疗口腔粘膜炎。

作为生物过程的粘膜炎的复杂性仅在最近才被关注。已经提出所述病症代表口腔粘膜细胞和组织、活性氧、促炎细胞因子、凋亡介体和局部因素（例如唾液和口腔微生物群）间的连续相互作用。尽管上皮细胞退化和损坏最终导致粘膜溃疡，但与辐射诱导的粘膜毒性相关的早期变化似乎发生在内皮和粘膜下层的结缔组织内。对辐射 1 周内粘膜的电子显微镜评估显示出对内皮和结缔组织二者的损害，但没有对上皮的损害。这种损伤可能是由自由基的形成介导的。辐射和化疗两者引发粘膜炎发展的整体机制似乎是类似的。

本领域仍然需要改善粘膜疾病的治疗或预防方法。

发明概述

一方面，本发明提供了治疗、预防、抑制或减轻由粘膜疾病引起的受试者组织退化、损伤或损害，或者恢复受所述疾病不利影响的受试者组织的治疗方法，其包括向所述目标受试者施用有效量的式 A 的免疫调节化合物：



(A)

在式 A 中，n 为 1 或 2，R 为氢、酰基、烷基或肽片段，X 为芳族氨基酸或杂环氨基酸或其衍生物，其中，向所述目标受试者施用所述免疫调节化合物，而不向所述目标受试者施用至少一种所述干扰素。X 优选为 L-色氨酸或 D-色氨酸。本发明还涉及式 A 化合物在制备用于治疗粘膜疾病的药物中的应用。

优选实施方案

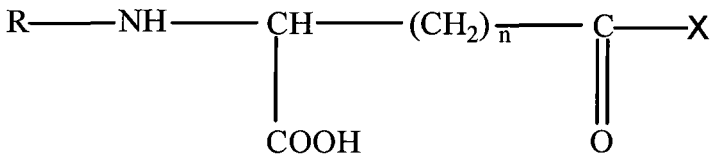
本发明可应用于粘膜疾病或其疾病症状(manifestations)。在优选实施方案中，粘膜疾病由受试者（优选人类患者）的辐射和/或化疗而引起。所述辐射可以是急性辐射或者分次辐射（fractionated radiation）。粘膜疾病可能是辐射和化疗的组合引起的。在某些实施方案中，所述疾病是口腔粘膜疾病和/或食道粘膜疾病，例如粘膜炎(mocositis)和/或溃疡性损害(ulcerative lesions)。

根据一个实施方案，本发明涉及通过向哺乳动物受试者（优选人类患者）施用免疫调节化合物来治疗粘膜炎。

在某些实施方案中，在向患者施用辐射和/或化疗剂之前、期间和/或之后，施用本发明的免疫调节化合物。辐射通常以多种剂量施用，但粘膜疾病发生于几乎所有接受头部和颈部肿瘤放疗的患者，并通常始于 15Gy 的累积辐射量，而后在 60Gy 或以上的总累积剂量时加重。在优选实施方案中，在向患者施用 7-8Gy（例如 7.5Gy）、15Gy、40Gy、60Gy 或更多辐射之前、期间或之后施用本发明的免疫调节化合物。

还可以施用本发明的免疫调节化合物治疗或预防由施用化疗剂（例如顺铂）而引起的粘膜疾病，例如以约 0.1-50 mg/kg·范围内的剂量（例如约 5 mg/kg）施用化疗剂而引起的粘膜疾病。

本发明中使用的免疫调节化合物包括式 A 的免疫调节剂：



（A）

式 A 中，n 为 1 或 2，R 为氢、酰基、烷基或肽片段，X 为芳族氨基酸或杂环氨基酸或者其衍生物。优选 X 为 L-色氨酸或 D-色氨酸。作为“X”的芳族氨基酸或杂环氨基酸的适合衍生物为：酰胺、一个(C_1-C_6)烷基或两个(C_1-C_6)烷基取代的酰胺、芳基酰胺和(C_1-C_6)烷基酯或芳基酯。作为“R”的合适的酰基或烷基为：1 至约 6 个碳的支链或直链烷基基团、2 至约 10 个碳原子的酰基基团以及封端基团（如苄氧羰基和叔丁氧羰基）。优选地，式 A 中显示的 CH 基团的碳具有立体构型，当 n 为 2 时，其立体构型不同于 X 的立体构型。

优选实施方案使用了化合物，如 γ-D-谷氨酰基-L-色氨酸、γ-L-谷氨酰基-L-色氨酸、γ-L-谷氨酰基-N_{in}-甲酰-L-色氨酸、N-甲基-γ-L-谷氨酰基-L-色氨酸、N-乙酰-γ-L-谷氨酰基-L-色氨酸、γ-L-谷氨酰基-D-色氨酸、β-L-天冬氨酰-L-色氨酸和 β-D-天冬氨酰-L-色氨酸。特别优选的实施方案使用了 γ-D-谷氨酰基-L-色氨酸，有时候称为 SCV-07。这些化合物、制备这些化合物的方法、这些化合物的药学上可接受的盐和其药物制剂公开在美国专利第 5,916,878

号中，其通过引用方式并入本文。

SCV-07，即 γ-D-谷氨酰基-L-色氨酸，是具有 γ-谷氨酰基或者 β-天冬氨酰基的这类免疫调节药物中的一员，其由俄罗斯科学家发现，并在美国经 SciClone Pharmaceuticals 公司验证在几个适应症上均具有疗效。SCV-07 在体内和体外具有多种免疫调节活性。SCV-07 提高了 Con-A 诱导的胸腺细胞和淋巴细胞的增殖，增加了 Con-A 诱导的白介素 2（IL-2）的生成和脾脏淋巴细胞的 IL-2 受体的表达，并刺激 Thy-1.2 在骨髓细胞上的表达。在体内，SCV-07 对受 5-FU 免疫抑制的动物和使用绵羊红血细胞的免疫模型具有强免疫促进作用。

式 A 化合物可以以在约 0.001-2000 m g 的范围内的剂量施用，优选剂量约为 0.01-100 mg。可以每周施用一次或多次，优选以天为基础，每天施用一次或多次。可以通过任何合适的方法施用，包括通过注射、定期输注和连续输注等方式经口、鼻、透皮、舌下施用。可通过肌内注射施用，当然也可以使用其它形式的注射和输注，并且也可以采用其它施用形式，如经口或鼻吸入或口服。

剂量还可以以毫克/千克计算，所述剂量在约 0.1-10,000 ug/kg 的范围内，更优选在约 1.0-1000 ug/kg 的范围内。

还包括具有取代、删除、延长、替换或其它修饰部分的生物活性类似物，其具有与 SCV-07 基本相似的生物活性，如与 SCV-07 具有足够同源性，从而通过与 SCV-07 基本相同的活性以基本相同的方式发挥作用的 SCV-07 衍生肽。

在一些实施方案中，所述式 A 化合物存在于药学可接受的液体载体（例如注射用水、生理浓度的盐水或其类似物）中，或者与合适的一种或多种干载体和一种或多种赋形剂一起以片剂的形式存在。

可以通过常规的剂量滴定(dose-titration)试验确定式 A 化合物的有效量。

实施例 1：SCV-07 在治疗仓鼠由急性辐射诱导的口腔粘膜炎中的首次研究

1. 目的

该研究的目的是利用急性辐射诱导的仓鼠口腔粘膜炎疾病模型，对

SCV-07 治疗该疾病的功效进行初步评估。通过皮下注射以每天一次 1ug/kg、10ug/kg 或 100ug/kg 的剂量施用 SCV-07，在辐射前一天开始并持续至辐射后第 16 天，共给药 18 天。在任何治疗组都没有观察到死亡，并且生长速率在统计学上没有显著差异，这表明这些剂量的 SCV-07 得到很好的耐受。在第 - 1 天至第 16 天用 10 ug/kg SCV-07 治疗的动物其第 22 天的粘膜炎评分显示出统计学上的显著降低（P=0.024）。在第-1 天至第 16 天用 100 ug/kg SCV-07 治疗的动物其第 14 天的粘膜炎评分显示出统计学上的显著降低（P=0.025），另外评分为 3 或更高的天数在统计学上显著降低（P=0.029）。这些数据表明，SCV-07 对辐射诱导的粘膜炎的严重程度和病程具有剂量依赖性疗效。

急性辐射模型

已经证明仓鼠的急性辐射模型是提供抗粘膜炎化合物初步评估的一项准确、有效且经济的技术。在这种模型中，粘膜炎的病程得到了很好的定义，并且在辐射后约 14-16 天达到评分峰值。所述急性模型几乎没有全身毒性，几乎不会引起仓鼠死亡，因此可以使用小组（N=7-8）进行初始功效研究。它还用于研究粘膜炎发病机理中的特定机理性要素。对于在所述急性辐射模型中显示有效的分子，还可以在更复杂的分次辐射、化疗或同步治疗模型中对其进行进一步评估。

在这个研究中，在第 0 天施用 40Gy 的急性辐射剂量。在第 12 天至第 28 天，观察到临床上显著的粘膜炎。

2. 研究目的 和概述

研究目的

本研究的目的是评估通过在辐射前一天和辐射至第 16 天之间按不同的皮下注射方案施用的 SCV-07 对由急性辐射诱导的口腔粘膜炎的发病频率、严重程度和持续时间的影响。

研究概述

在第 0 天，向 32 只叙利亚金色仓鼠（Syrian Golden Hamsters）的左侧颊囊施用 40Gy 急性辐射剂量。通过每天一次皮下注射施用测试物。在辐射前一天（第-1 天）开始给药，并持续至第 16 天。从第 6 天开始对粘膜炎进行临床评估，并每隔一天评估持续直至第 28 天。

3. 评估

粘膜炎评估

从第 6 天开始对粘膜炎的等级进行评分，随后每隔一天进行评分，直至第 28 天（包括第 28 天）。根据以下参数，评估与安慰剂相比每种药物治疗对粘膜炎的效果：

各组中的仓鼠患有溃疡粘膜炎（评分≥3）的天数上的差异。

在进行评估的每一天，将各药物治疗组中粘膜炎盲测评分≥3 的动物数量与对照组进行比较。在累积的基础上比较差异，并通过卡方分析(chi-square analysis)确定统计学上的显著性。在这个分析中，将功效定义为与对照组相比，动物组患有溃疡（评分≥3）的天数显著减少。

每日粘膜炎评分的秩和差异(Rank sum differences)

对于每个评估日，利用非参数秩和分析将对照组的评分与治疗组的评分进行比较。如果治疗组从第 6 天至第 28 天中的两天或更多天的评分在统计学上显著降低，则认为是治疗成功。

体重和存活状态

每天都对所有动物进行称重并记录其存活状态，以评估治疗组之间可能存在的动物体重差异，将其作为由治疗引起的粘膜炎严重程度和/或潜在毒性的指标。

4. 研究的设 计

将 32 只叙利亚金色仓鼠分为 4 组，每组 8 只。在第 0 天使所有动物在其左侧颊囊接受 40Gy 的单剂量急性辐射。这可以通过麻醉动物并将其左侧颊囊外翻，同时用铅屏保护动物其它部位而实现。如表 1 中的详述，通过每天一次皮下注射施用测试物。从第 6 天开始在临床上评估粘膜炎，并每隔一天评估，持续直至第 28 天。

表 1. 研究的设计

组号	动物数	治疗	治疗方案*	体积（mL）
1	8 只雄性	溶剂 (PBS), sc, qd	第-1 天至第 16 天	0.1mL/100g
2	8 只雄性	SCV-07, sc, qd 1 μg/kg,	第-1 天至第 16 天	0.1mL/100g
3	8 只雄性	SCV-07, sc, qd 10 μg/kg	第-1 天至第 16 天	0.1mL/100g
4	8 只雄性	SCV-07, sc, qd 100 μg/kg	第-1 天至第 16 天	0.1mL/100g

*第 0 天在辐射前 30 分钟给药。

5. 材料和方 法

进行研究的场所

在马萨诸塞州剑桥(Cambridge，MA)，经 Biomodels AAALAC 认证的实验室进行研究。该研究得到了 Biomodels IACUC 的正式批准。

动物

使用在研究开始时为 5-6 周龄、平均体重为 85.3g 的雄性 LVG 叙利亚金色仓鼠（Charles River Laboratories）。利用耳号(ear punch)对每只动物进行编号，并以每笼 8 只动物的小组进行圈养。在研究开始前，使动物适应环境。在这个为期 5 天的过程中，每天观察动物以淘汰不健康的动物。

圈养

在提供有过滤空气、温度为 70℉+/-5℉、相对湿度为 50% +/-20%的动物房中进行研究。设定动物房以保持最小为 12-15 的每小时换气量。所述动物房受自动定时器调控，保持 12 小时接通和 12 小时关闭的光/暗循环，没有微光。使用 *Bed-O-Cobs*®垫料。垫料最少每周更换一次。利用市售去污剂清洗笼、盖和瓶子等，并风干。使用市售消毒剂对表面和引入橱内的材料进行消毒。每天清扫地板并每周最少利用市售去污剂拖洗两次。每个月，利用稀释的漂白溶液将墙和笼架擦拭至少一次。对于所有笼舍，均使用具有确定研究、剂量、动物编号和治疗组所必须的适当信息的笼舍卡片或标签进行标记。记录研究过程中的温度和相对湿度，并保留记录。

饮食

使用 Purina Labdiet® 5061 鼠粮饲喂动物，并提供水，供其任意取食。

动物的随机选择和分配

在辐射前，按照预期将动物随意分成 4 个治疗组。通过与个体编号对应的耳号确定每只动物。为了得到更为一致的身份识别，使用耳号编号而非标签，这是因为标签在研究过程中可能会被移动。使用笼舍卡片或标有研究编号（SCI-01）、治疗组编号和动物编号的标签确定每个笼舍。

皮下给药和药物应用

提供粉末状的测试化合物 SCV-07，并在施用前溶于无菌的 PBS 中。制备三种稀释液：100 μg/mL, 10 μg/mL 和 1 μg/mL。通过带有 27G 针的结核菌素注射器，使用对各组适当的 SCV-07 稀释液，以 0.1ml/100g 体重的体积施用药物。在背部或腹部进行皮下注射。

粘膜炎的诱导

利用标准的急性辐射方法诱导粘膜炎。在第 0 天向所有动物施用单剂量辐射（40Gy/剂）。利用 160 千伏电压（15-ma）源在 30cm 的焦距产生辐射，使用 0.35mm Cu 过滤体系硬化(hardened)。以 3.2Gy/分钟的速率靶向辐射左侧颊囊粘膜。在辐射前，用腹膜内注射氯胺酮（Ketamine，160mg/kg）和甲苯噻嗪（Xylazine，8mg/kg）麻醉动物。利用铅屏保护仓鼠身体的其它部位，将左侧颊囊外翻、固定并分离。

粘膜炎评分

在上述研究的过程中，计算粘膜炎评分、体重变化和存活状态。在对粘膜炎进行评估中，采用吸入麻醉剂麻醉动物，将左侧颊囊外翻。通过与经验证的图片判断标准进行比较，对粘膜炎进行目测评分，范围为 0（正常）至 5（严重溃疡）（临床评分）。利用描述的方式，此判断标准的定义如下：

表 2：粘膜炎评分

评分	描述：
0	颊囊完全健康。没有红斑或血管舒张。
1	轻至重度红斑和血管舒张。没有粘膜糜烂。
2	重度红斑和血管舒张。粘膜表面糜烂，产生剥落区。粘膜点彩（stippling）减少。
3	在一个或多个位置形成发白的溃疡。由于假膜，溃疡可能呈黄色/灰色。溃疡的累积面积约为颊囊的 1/4。重度红斑和血管舒张。
4	溃疡的累积面积约为颊囊的 1/2。柔韧性丧失。重度红斑和血管舒张。
5	目测所有颊囊都发生溃疡。柔韧性丧失（仅可从口腔翻出部分颊囊）。

认为 1-2 的评分表示疾病的轻度阶段，而 3-5 的评分表示中度至重度粘膜炎。目测评分后，利用标准技术对每只动物的粘膜进行拍照。在实验总结时，使所有底片显影并随机对照片进行编号。利用上述判断标准，由至少两位经过训练的独立观察员对照片进行盲测分级（盲测评分）。

6. 结果和讨 论

6.1 存活状态

在该研究过程中没有观察到死亡。

6.2 体重变化

对每日平均百分体重变化数据进行评估。在研究过程中，盐水（PBS）处理的对照仓鼠组的平均体重增加值是其初始体重的 70.4%。在研究过程中，在从第-1 天至第 16 天接受 1 ug/kg SCV-07 的组中，仓鼠的平均体重增加值是其初始体重的 68.4%。在研究过程中，在从第-1 天至第 16 天接受 10 ug/kg SCV-07 的组中，仓鼠的平均体重增加值是其初始体重的 70.3%。在研究过程中，在从第-1 天至第 16 天接受 100 ug/kg SCV-07 的组中，仓鼠的平均体重增加值是其初始体重的 82.0%。通过计算每只动物体重增加的曲线下面积（AUC）评估这些差异的显著性，然后利用单向 ANOVA 检验比较不同的治疗组。此分析的结果表明不同治疗组之间没有显著差异（p=0.191）。

6.3 粘膜炎（表 3 和 4）

计算各组的每日平均粘膜炎评分。在盐水处理的对照组，在第 20 天观察到粘膜炎峰值水平，此时的平均评分达到 3.8。从第-1 天至第 16 天接受 1 ug/kg

SCV-07 的组在第 16 天粘膜炎平均评分峰值为 3.8。从第-1 天至第 16 天接受 10 ug/kg SCV-07 的组在第 16 天粘膜炎平均评分峰值为 3.7。从第-1 天至第 16 天接受 100 ug/kg SCV-07 的组在第 18 天粘膜炎平均评分峰值为 3.4。通过计算各组评分为 3 或更高的天数并利用卡方检验比较这些数字来评估在不同治疗组间观察到的差异的显著性。该分析的结果示于表 2 中。盐水处理的对照组仓鼠在所评估的 46.9%的动物日中评分都为 3 或更高。对于在第-1 天至第 16 天接受 1 ug/kg SCV-07 的组，也在所评估的 46.9%的动物日观察到 3 或更高的粘膜炎评分。在第-1 天至第 16 天用 10 ug/kg SCV-07 治疗的组中的仓鼠在 37.5%的动物日具有 3 或更高的评分，但其与对照之间并没有统计学上的显著差异（P=0.079）。在第-1 天至第 16 天用 100 ug/kg SCV-07 治疗的组中，仓鼠在 35.4%的动物日具有 3 或更高的评分，其与对照之间存在统计学上的显著差异（P=0.029）。

利用 Mann-Whitney 秩和分析对粘膜炎评分进行进一步分析，以比较各组的每日评分。这个分析的结果示于表 4 中。在此分析中，通常需要粘膜炎评分显著下降 2 天才能视为粘膜炎明显缓解。相对于盐水对照组，在第-1 天至第 16 天用 1ug/kg SCV-07 治疗的组在研究中任一天都没有显示出统计学上显著的任何症状改善。相对于对照，在第-1 天至第 16 天用 10 ug/kg SCV-07 治疗的组在第 22 天显示出显著的改善(P=0.024)。相对于对照，在第-1 天至第 16 天用 100 ug/kg SCV-07 治疗的组在第 14 天显示出显著的改善(P=0.025)。

组	≥3的天数	<3的天数	总天数	%≥3的天数	与对照组相比的卡方检验	P值
对照组	90	102	192	46.9	-	-
SCV-07 1ug/kg sc 从第-1天至第16天	90	102	192	46.9	0.0105	0.919
SCV-07 10ug/kg sc 从第-1天至第16天	72	120	192	37.5	3.0860	0.079
SCV-07 100ug/kg sc 从第-1天至第16天	68	124	192	35.4	4.7420	0.029

表 3. 各组动物评分为 3 或更高的总天数的卡方分析。这个统计量是溃疡严重程度的计算值，是在临床上具有重要意义的结果。

	天											
比较组	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28
对照 vs SCV-07 1 ug/kg 从第-1天至第16天	0.555	0.775	0.069	0.531	0.234	0.145	0.557	0.373	0.230	0.558	0.554	0.733
对照 vs SCV-07 10 ug/kg 从第-1天至第16天	0.985	0.775	0.372	0.554	0.117	0.265	0.374	0.116	0.024	0.316	0.608	0.361
对照 vs SCV-07 100 ug/kg 从第-1天至第16天	0.555	0.985	0.776	0.261	0.025	0.061	0.112	0.100	0.461	0.192	0.484	0.531

表 4. 利用 Mann-Whtiney 秩和检验，测定所观察的每日粘膜炎评分的组间差异显著性。这个非参数统计量适合于粘膜炎目测评分判断标准。显示了各个计算的 P 值。下划线表示显著改善。

结论

1. 根据死亡率和体重增加的观察结果，在该研究中没有来自 SCV-07 的任何毒性的证据。

2. 在第-1 天至第 16 天用 10 ug/kg SCV-07 治疗的动物在第 22 天的粘膜炎评分显示出与剂量相关的统计学上的显著降低(P=0.024)。

3. 在第-1 天至第 16 天用 100 ug/kg SCV-07 治疗的动物在第 14 天的粘膜炎评分显示出统计学上的显著降低(P=0.025)，另外评分为 3 或更高的动物天数显示出统计学上的显著降低(P=0.029)。

4. 观察到 SCV-07 对粘膜炎的严重程度和病程具有有利的剂量依赖性作用。提高给药频率或使每日单剂量加倍可能增强所观察到的效果。

附表

附表 1-动物体重

		天																												
组	动物	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
1	1	77	80	78	83	85	86	91	92	96	96	98	97	102	102	101	102	101	103	100	107	109	109	112	113	116	115	119	119	121	123
1	2	87	90	92	97	99	101	106	110	113	119	118	119	124	125	125	127	126	125	130	134	140	141	143	146	149	149	153	152	154	158
1	3	89	92	91	96	99	102	107	108	113	115	111	118	126	126	122	123	122	129	123	130	134	135	137	140	142	147	147	148	149	152
1	4	81	82	82	86	87	89	94	96	96	99	102	101	107	107	106	106	106	109	106	115	116	117	119	121	126	125	130	127	131	136
1	5	83	86	86	90	89	91	94	101	99	101	106	102	108	108	108	109	108	110	109	118	119	121	122	124	129	128	131	132	135	137
1	6	82	85	87	92	94	96	99	104	106	106	112	108	110	110	111	110	111	113	113	120	121	121	124	127	128	130	135	135	138	140
1	7	82	93	93	98	102	104	109	113	115	117	120	119	124	127	126	125	127	128	127	137	139	141	143	144	149	149	153	153	156	159
1	8	88	80	79	83	84	86	92	92	97	98	100	100	103	105	104	105	105	108	106	114	117	117	119	123	126	126	129	129	132	135
2	9	78	96	98	100	101	103	109	111	114	116	118	117	122	123	122	123	123	129	126	133	136	137	139	141	143	143	147	148	150	152
2	10	94	86	86	89	91	94	97	99	99	102	104	104	109	110	110	110	110	115	114	118	121	120	122	125	128	129	131	134	135	138
2	11	93	80	79	84	88	90	91	95	96	101	101	100	104	105	104	107	111	112	108	117	118	118	121	123	124	124	129	131	134	135
2	12	79	83	83	86	86	89	94	98	100	103	104	102	105	107	109	111	111	116	112	119	123	122	123	124	130	131	137	133	139	138
2	13	82	86	88	91	93	95	100	105	103	105	107	106	111	114	112	116	117	121	117	125	127	128	131	132	135	133	140	140	144	147
2	14	84	86	88	91	93	96	100	101	104	105	107	106	111	114	111	112	112	115	113	119	120	122	123	125	126	128	131	131	133	136
2	15	79	80	81	84	84	86	91	94	94	97	99	98	105	110	108	110	109	113	108	116	118	119	120	123	125	126	130	130	133	137
2	16	79	81	78	83	84	87	89	93	94	98	100	97	102	105	104	106	106	111	109	115	118	120	121	121	126	125	129	131	132	135
3	17	81	83	84	87	89	92	96	98	100	102	104	103	111	112	111	111	112	116	116	122	124	123	122	123	126	126	132	132	133	137
3	18	87	90	91	94	98	100	105	107	108	111	112	113	117	120	118	115	110	102	107	113	115	117	119	121	122	126	128	130	133	137
3	19	85	87	87	90	92	93	97	98	101	103	105	104	109	109	109	103	101	111	102	107	111	112	113	115	117	120	122	123	120	129
3	20	76	76	76	79	82	84	89	90	92	96	96	96	101	101	100	102	105	107	104	113	116	115	119	119	122	122	127	127	131	134
3	21	90	93	93	96	98	100	103	106	108	109	111	110	113	117	113	110	111	115	111	117	119	120	120	123	125	125	128	129	132	135
3	22	91	95	94	98	100	103	108	109	112	114	116	115	121	124	122	122	120	124	123	130	132	134	136	137	140	139	145	145	149	151
3	23	86	91	91	95	98	100	105	101	109	113	114	115	121	121	121	121	121	124	125	132	137	139	139	141	145	146	146	153	155	137
3	24	91	95	96	100	104	106	113	116	115	120	122	124	129	130	130	129	131	134	133	142	146	147	149	150	155	155	160	161	165	167
4	25	84	87	87	91	93	96	100	103	105	109	111	110	117	119	117	117	116	118	118	124	124	124	123	124	124	124	127	127	129	131
4	26	87	91	98	94	95	98	101	104	105	109	112	111	119	117	115	118	117	120	119	126	126	129	132	134	135	135	138	140	143	147
4	27	97	101	101	108	110	111	119	123	124	127	132	133	137	138	134	139	138	141	142	151	153	154	156	157	161	167	167	175	169	172
4	28	88	95	93	98	101	103	101	115	118	118	124	121	130	131	132	139	138	143	143	152	155	159	159	162	164	167	173	169	175	182
4	29	86	90	86	92	97	100	104	106	108	111	114	115	120	123	121	125	126	129	130	137	139	141	143	147	151	150	156	158	160	166
4	30	84	88	89	92	95	99	106	109	111	115	120	118	129	131	127	132	133	136	136	144	149	148	150	154	156	160	165	165	167	168
4	31	95	100	99	106	109	111	118	119	122	126	127	128	136	137	133	138	139	142	140	148	151	152	153	156	156	157	164	163	164	166
4	32	85	87	89	94	94	97	105	106	108	110	114	113	118	121	118	120	119	125	125	131	134	136	137	138	141	142	147	147	149	152

附表 2-粘膜炎评分

		天											
组	动物	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28
1	1	0	1	1	1	2	3	4	4	3	2	2	1
1	2	0	1	1	1	2	3	4	3	3	3	2	1
1	3	0	1	2	2	3	3	4	3	2	2	2	1
1	4	1	1	1	2	2	3	4	3	3	3	2	1
1	5	0	1	1	2	2	3	4	3	2	2	1	1
1	6	0	0	1	2	2	3	4	3	3	3	3	1
1	7	0	0	1	3	2	3	4	3	3	2	1	1
1	8	0	0	1	2	3	4	4	3	2	2	1	1
2	9	0	1	2	2	3	4	4	3	3	3	2	0
2	10	1	1	1	2	2	3	4	3	3	3	3	1
2	11	0	1	1	2	3	3	4	3	3	2	2	1
2	12	0	0	2	3	3	3	4	3	2	3	2	1
2	13	1	1	3	2	3	3	3	2	2	2	2	1
2	14	0	1	1	2	2	3	4	3	3	3	2	1
2	15	0	1	1	1	2	3	4	4	2	2	2	1
2	16	0	1	1	2	2	3	4	3	2	2	1	1
3	17	1	1	1	2	2	3	4	3	2	2	2	1
3	18	0	0	1	2	3	3	4	3	2	2	2	2
3	19	1	1	1	2	3	3	4	3	2	3	2	1
3	20	1	1	1	2	2	3	3	2	1	2	1	1
3	21	1	1	1	2	2	3	4	3	3	3	3	1
3	22	0	1	1	1	2	3	4	3	2	2	2	1
3	23	0	1	1	2	2	3	4	3	1	2	2	1
3	24	1	1	1	2	2	3	3	3	2	2	1	0
4	25	0	1	1	1	2	3	4	4	4	3	3	1
4	26	0	1	1	2	2	3	4	3	3	2	2	1
4	27	0	0	2	2	2	3	4	3	3	2	3	2
4	28	1	1	1	2	2	3	3	3	2	2	3	3
4	29	0	0	1	2	3	3	4	3	2	2	1	1
4	30	1	1	1	2	2	2	2	1	2	2	1	1
4	31	0	0	1	2	2	3	3	2	1	2	1	1
4	32	1	0	1	2	3	4	4	3	3	2	1	1

实施例 2：SCV-07 在治疗仓鼠由急性辐射诱导的口腔粘膜炎的二次研究

本研究的目的是利用急性辐射诱导的仓鼠口腔粘膜炎疾病模型，对 SCV-07 在治疗该疾病的功效进行初步评估。通过皮下注射以每天一次或两次 1mg/kg 或 100ug/kg 的剂量施用 SCV-07，从辐射前一天开始并持续至辐射后第 20 天，共 22 天。在任何治疗组都没有观察到死亡，并且生长速率在统计学上具有显著增加，这表明这些剂量的 SCV-07 可以得到很好的耐受，并且实际上可以降低与粘膜炎相关的体重减少。在该研究中，对照组仓鼠在所评

估的28.1%的动物日的粘膜炎评分为3或更高。在第-1天至第20天每天一次用100 μg/kg SCV-07治疗的动物，其评分为3或更高的动物天数在统计学上显著降低至6.3%（P<0.001），并且在第14天（P=0.011）、16天（P=0.002）和18天（P=0.001）的单日评分在统计学上显著降低。在第-1天至第20天每天两次用100 μg/kg SCV-07治疗的动物，其评分为3或更高的动物天数在统计学上显著降低至8.9%（P<0.001），并且在第18天（P<0.001）和20天（P=0.003）的单日评分在统计学上显著降低。在第-1天至第20天每天两次用1mg/kg SCV-07治疗的动物，其评分为3或更高的动物天数在统计学上显著降低至12.5%（P<0.001），并且在第16天（P=0.043）、18天（P=0.009）和20天（P=0.007）的单日评分在统计学上显著降低。从第-1天至第20天每天两次用1 mg/kg SCV-07治疗的动物的粘膜炎评分没有显示出任何显著降低。每天一次用100 μg/kg SCV-07治疗的组与每天两次用1 mg/kg SCV-07治疗的组之间，评分为3或更高的动物天数没有统计学上的显著差异（P=0.054）。当比较这两组之间的单日评分时，仅在第14天观察到显著的差异（P=0.005）。这些观察结果表明，每天一次用100 μg/kg SCV-07治疗与每天两次用1mg/kg SCV-07治疗的显著改善非常接近。这个观察结果表明，每天一次100 μg/kg是最接近于本研究和之前SCI-01研究所测剂量中最佳给药剂量的剂量。

介绍

1.1 背景

口腔溃疡粘膜炎是癌症药物治疗和放疗中常见的疼痛性、剂量限制性毒性。这种疾病被表征为导致形成溃疡性病变的口腔粘膜损坏。在粒细胞减少的患者中，伴有粘膜炎的溃疡是常导致败血症或菌血症的天然口腔细菌的常见入口。在接受抗肿瘤药物治疗的患者中，有三分之一以上发生一定程度的粘膜炎。在使用白血病诱导疗法或者多种骨髓移植预处理方案治疗的患者中，所述粘膜炎发生的频率和严重程度明显增加。在这些个体中，有四分之三以上的患者患有中度至重度粘膜炎，这并不罕见。中度至重度粘膜炎发生于几乎所有接受头部和颈部肿瘤放疗的患者，并且通常始于15Gy的累积辐射量，而后在总剂量达到60Gy以上的总剂量时加重。

粘膜炎的发展在临床上经历三个阶段：

1.伴随有疼痛性粘膜红斑的炎症，其可以对局部麻醉剂做出应答。

2.伴有假膜形成的疼痛性溃疡，以及在骨髓抑制治疗的情况下，为需要抗菌治疗的潜在威胁生命的败血症。疼痛的强度通常需要肠胃外麻醉药镇痛。

3.自愈，发生在停止抗肿瘤治疗后的约 2-3 周。

粘膜炎的标准治疗主要是姑息疗法，包括使用局部镇痛剂（例如利多卡因）和/或全身施用麻醉药和抗生素。目前，唯一一种批准用于口腔粘膜炎的治疗剂是 Kepivance（Palifermin），其仅被批准用于在进行治疗恶性血液病的造血干细胞移植前接收预处理方案的患者中治疗口腔粘膜炎。

粘膜炎作为生物过程的复杂性仅在最近才被关注。已经提出所述病症代表口腔粘膜细胞和组织、活性氧、促炎性细胞因子、凋亡介体和局部因素（例如唾液和口腔微生物群）间的连续相互作用。尽管上皮细胞退化和损坏最终导致粘膜溃疡，但与辐射诱导的粘膜毒性相关的早期变化似乎发生在内皮和粘膜下层的结缔组织内。对辐射 1 周内粘膜的电子显微镜评估显示出对内皮和结缔组织二者的损害，但没有对上皮的损害。这种损伤可能是由自由基的形成介导的。辐射和化疗两者引发粘膜炎发展的整体机制似乎是类似的。

1.2 急性辐射模型

已经证明由本课题的主要研究者开发的急性辐射仓鼠模型是提供抗粘膜炎化合物初步评估的一项准确、有效且经济的技术。在这个模型中，粘膜炎的病程得到了很好的定义，并且在辐射后约 14-16 天达到评分峰值。所述急性模型几乎没有全身毒性，几乎不会引起仓鼠死亡，因此可以使用小组（N=7-8）进行初始功效研究。它还用于研究粘膜炎发病机理中的特定机制性要素。对于在所述急性辐射模型中显示有效的分子，还可以在更复杂的分次辐射、化疗或同步治疗模型中对其进行进一步评估。

在这个研究中，在第 0 天施用 40Gy 的急性辐射剂量。在第 12 天至第 28 天，观察到在临床上显著的粘膜炎。

2. 研 究目的和概述

2.1 研究目的

本研究的目的是评估通过在辐射前一天和辐射后第 20 天之间按不同的

皮下注射方案施用的 SCV-07 对由急性辐射诱导的口腔粘膜炎的发病频率、严重程度和持续时间的影响。之前利用 SCV-07 的研究（研究 SCI-01，实施例 1）已经表明，从第-1 天至第 16 天每天一次施用 100 μg/kg 剂量具有一定的抗粘膜炎活性。在这个研究中，从第-1 天至第 20 天每天一次或两次施用 100 μg/kg 和 1mg/kg 的 SCV-07，以观察在之前研究中所见的部分效果是否能够持续。

2.2 研究概述

第 0 天，向 40 只叙利亚金色仓鼠的左侧颊囊施用 40Gy 急性辐射剂量。通过每天一次或两次皮下注射 100 μg/kg 或 1mg/kg 施用测试物 SCV-07。在辐射前一天（第-1 天）开始给药，并持续至第 20 天。从第 6 天开始对粘膜炎进行临床评估，并每隔一天评估，持续直至第 28 天。

3. 评估

3.1 粘膜炎评估

从第 6 天开始对粘膜炎的级别进行评分，随后每隔一天进行评分，直至第 28 天（包括第 28 天）。根据以下参数，评估与安慰剂相比，每种药物治疗对粘膜炎的效果：

3.1.1 各组中的仓鼠在患有溃疡粘膜炎（评分≥3）的天数上的差异。

在进行评估的每一天，将各药物治疗组中粘膜炎盲测评分≥3 的动物数量与对照组进行比较。在累积的基础上比较差异，并通过卡方分析确定统计学上的显著性。在这个分析中，将功效定义为与对照组相比，动物组患有溃疡（评分≥3）的天数显著降低。与此相同的实验还用于评估不同药物治疗组之间的差异。

3.1.2 每日粘膜炎评分的秩和差异

对于每个评估日，利用非参数秩和分析将对照组的评分与治疗组的评分进行比较。如果治疗组从第 6 天至第 28 天中的两天或更多天的评分在统计学上显著降低，则认为是治疗成功。

3.2 体重和存活状态

每天都对所有动物进行称重并记录其存活状态，以评估治疗组之间可能存在的动物体重差异，将其作为由治疗引起的粘膜炎严重程度和/或潜在毒性的指标。

4. 研究设计

将 40 只叙利亚金色仓鼠分为 5 组，每组 8 只。在第 0 天使所有动物在其左侧颊囊接受 40Gy 的单剂量急性辐射。这可以通过麻醉动物并将其左侧颊囊外翻，同时用铅屏保护动物其它部位而实现。根据表 5 的详述，通过每天一次皮下注射施用测试物。在第 6 天开始在临床上评估粘膜炎，并每隔一天评估，持续直至第 28 天。

表 5. SCI-02 研究设计

组号	动物数量	治疗	治疗方案*	体积（mL）
1	8 只雄性	溶剂 (PBS), sc, qd	第-1 天至第 20 天	根据动物体重调整
2	8 只雄性	SCV-07, sc, qd 100 μg/kg,	第-1 天至第 20 天	根据动物体重调整
3	8 只雄性	SCV-07, sc, bid 100 μg/kg,	第-1 天至第 20 天	根据动物体重调整
4	8 只雄性	SCV-07, sc, qd 1.0 mg/kg	第-1 天至第 20 天	根据动物体重调整
5	8 只雄性	SCV-07, sc, bid 1.0 mg/kg	第-1 天至第 20 天	根据动物体重调整

*第 0 天在辐射前 30 分钟给药。

5. 材料和方法

5.1 进行研究的场所

在马萨诸塞州沃特敦（Watertown，MA），经 Biomodel AAALAC 认证的实验室进行研究。该研究得到了 Biomodel IACUC 的证实批准。

5.2 动物

使用在研究开始时为 5-6 周龄、平均体重为 85.3g 的雄性 LVG 叙利亚金色仓鼠（Charles River Laboratories）。利用耳号对每只动物进行编号，并以每笼 8 只动物的小组进行圈养。在研究开始前，使动物适应环境。在这个为期 5 天的过程中，每天观察动物以淘汰不健康的动物。

5.3 圈养

在提供有过滤空气、温度为 70℉+/-5℉、相对湿度为 50% +/-20%的动物房中进行研究。设定动物房以保持最小为 12-15 的每小时换气量。所述动物房受自动定时器调控，保持 12 小时接通和 12 小时关闭的光/暗循环，没有微光。使用 *Bed-O-Cobs*®垫料。垫料最少每周更换一次。利用市售去污剂清洗笼、盖和瓶子等，并风干。使用市售消毒剂对表面和引入橱内的材料进行消毒。每天清扫地板并且每周最少利用市售去污剂拖洗两次。每个月利用稀释的漂白溶液将墙和笼架擦拭至少一次。对于所有笼舍，均使用具有确定研究、剂量、动物编号和治疗组所必须的适当信息的笼舍卡片或标签进行标记。记录研究过程中的温度和相对湿度，并保留记录。

5.4 饮食

使用 Purina Labdiet® 5061 鼠粮饲喂动物，并提供水，供其任意取食。

5.5 动物随机选择和分配

在辐射前，按照预期将动物随意分成 5 个治疗组。通过与个体编号对应的耳号识别每只动物。为了得到更为一致的身份识别，使用耳号编号而非标签，这是因为标签在研究过程中可能会被移动。使用笼舍卡片或标有研究编号（SCI-02）、治疗组编号和动物编号的标签确定每个笼舍。

5.6 皮下给药和药物应用

提供粉末状的测试化合物 SCV-07，并在施用前溶于无菌的 PBS 中。制备三种稀释液：100 μg/mL, 10 μg/mL 和 1 μg/m。通过带有 27G 针的结核菌素注射器，使用对各组适当的 SCV-07 稀释液，以 0.1ml/100g 体重的体积施用药物。在背部或腹部进行皮下注射。

5.7 粘膜炎的诱导

利用标准的急性辐射方法诱导粘膜炎。在第 0 天向所有动物施用单剂量辐射（40Gy/剂）。利用 160 千伏电压（15-ma）源在 30cm 的焦距产生辐射，使用 0.35mm Cu 过滤体系硬化。以 3.2Gy/分钟的速率靶向辐射左侧颊囊粘膜。在辐射前，用腹膜内注射氯胺酮（160mg/kg）和甲苯噻嗪（8mg/kg）麻醉动物。利用铅屏保护仓鼠身体的其它部位，将左侧颊囊外翻，固定并分离。

5.8 粘膜炎评分

在上述研究的过程中，计算粘膜炎评分、体重变化和生存状态。为了对粘膜炎进行评估，利用吸入麻醉剂麻醉动物，并将左侧颊囊外翻。通过与经验证的图片判断标准进行比较，对粘膜炎进行目测评分，范围为 0（正常）至 5（严重溃疡，临床评分）。利用描述的方式，此判断标准的定义如下：

评分	描述：
0	颊囊完全健康。没有红斑或血管舒张
1	轻至重度红斑和血管舒张。没有粘膜糜烂。
2	重度红斑和血管舒张。粘膜表面糜烂，产生剥落区。粘膜点彩减少
3	在一个或多个位置形成发白的溃疡。由于假膜，溃疡可能呈黄色/灰色。溃疡的累积面积约为颊囊的 1/4。重度红斑和血管舒张。
4	溃疡的累积面积约为颊囊的 1/2。柔韧性丧失。重度红斑和血管舒张。
5	目测所有颊囊都发生溃疡。柔韧性丧失（仅可从口腔翻出部分颊囊）。

表 6 SCI-02: 粘膜 炎评分

认为 1-2 的评分表示疾病的轻度阶段，而 3-5 的评分表示中度至重度粘膜炎。目测评分后，利用标准技术对每只动物的粘膜进行拍照。在实验总结时，将所有底片显影并随机对照片进行编号。利用上述判断标准，由至少两位经过训练的独立观察员对照片进行以盲测分级（盲测评分）。

6. 结 果和讨论

6.1 生存状态

在该研究过程中没有观察到死亡。

6.2 体重变化

对每日平均百分体重变化数据进行评估。在研究过程中，盐水处理的对照仓鼠的平均体重增加值是其初始体重的 44.1%。在研究过程中，在从第-1 天至第 20 天每天一次接受 100ug/kg SCV-07 的组中，仓鼠的平均体重增加值是其初始体重的 49.9%。在研究过程中，在从第-1 天至第 20 天每天两次接受 100ug/kg SCV-07 的组中，仓鼠的平均体重增加值是其初始体重的 61.3%。在研究过程中，在从第-1 天至第 20 天每天一次接受 1mg/kg SCV-07 的组中，仓鼠的平均体重增加值是其初始体重的 63.4%。在研究过程中，在从第-1 天至第 20 天每天两次接受 1mg/kg SCV-07 的组中，仓鼠的平均体重增加值是其初始体重的 69.1%。通过计算每只动物体重增加的曲线下面积（AUC）评估这些差异的显著性，然后利用单向 ANOVA 检验比较不同治疗组。该分析的结果表明，SCV-07 治疗组和对照组之间具有显著差异（P=0.012）。每天两次用 100 μg/kg 治疗的组和每天一次用 1 mg/kg SCV-07 治疗的组、每天两次用 1 mg/kg SCV-07 治疗的组的体重增加都显著大于盐水对照组（分别为 P=0.014、P=0.009、P=0.004）。

6.3 粘膜炎（表 7 和 8）

计算每组的每日平均粘膜炎评分。在盐水处理的对照组，在第 18 天观察到粘膜炎峰值水平，此时的平均评分达到 3.0。从第-1 天至第 20 天每天一次接受 100 ug/kg SCV-07 的组在第 16 天的粘膜炎平均评分峰值为 2.2。从第-1 天至第 20 天每天两次接受 100 ug/kg SCV-07 的组在第 14 天和第 16 天的粘膜炎平均评分峰值为 2.5。从第-1 天至第 20 天每天一次接受 1 mg/kg SCV-07 的组在第 14 天的粘膜炎平均评分峰值为 2.9。从第-1 天至第 20 天每天两次接受 1 mg/kg SCV-07 的组在第 14 天的粘膜炎平均评分峰值为 2.6。通过计算各组评分为 3 或更高的天数并利用卡方（χ^2）检验比较这些数字来评估在不同治疗组间观察到的差异的显著性。该分析的结果示于表 7 中。盐水处理的对照组仓鼠在所评估的 28.1%的动物日中评分都为 3 或更高。对于在第-1 天至第 20 天每天一次接受 100 ug/kg SCV-07 的组，在所评估的 6.3%的动物日观察到 3或 更高的粘膜炎评分，这与对照组之间存在统计学上的显著差异（P<0.001）。对于在第-1 天至第 20 天每天两次接受 100 ug/kg SCV-07 的组，在所评估的 8.9%的动物日观察到 3 或更高的粘膜炎评分，这与对照组之间存

在统计学上的显著差异（P<0.001）。对于第-1 天至第 20 天每天一次用 1mg/kg SCV-07 治疗的组，在 28.1%的动物日具有 3 或更高的评分，其与对照组在统计学上没有显著差异（P=1.000）。第-1 天至第 20 天每天两次用 1mg/kg SCV-07 治疗的组，在 12.5%的动物日都具有 3 或更高的评分，其与对照组之间存在统计学上的显著差异（P<0.001)。每天一次用 100 μg/kg SCV-07 治疗的组与每天两次用 1 mg/kg SCV-07 治疗的组之间，评分为 3 或更高的动物天数在统计学上没有显著差异(P=0.054)。

利用 Mann-Whitney 秩和分析对粘膜炎评分进行进一步分析，以比较各组的每日评分。这个分析的结果示于表 8 中。在此分析中，通常需要粘膜炎评分显著下降 2 天才能视为粘膜炎明显缓解。相对于盐水对照组，在第-1 天至第 20 天每天一次用 100ug/kg SCV-07 治疗的组在研究的第 14 天（P=0.011）、第 16 天（P=0.002）和第 18 天（P=0.001）显示统计学上的显著改善。相对于对照，在第-1 天至第 20 天每天两次用 100 ug/kg SCV-07 治疗的组在第 18 天(P<0.001)和第 20 天（P=0.003）显示出显著改善。相对于对照，在第-1 天至第 20 天每天一次用 1 mg/kg SCV-07 治疗的组的粘膜炎在研究中任一天都没有显示任何显著改善。相对于对照，在第-1 天至第 20 天每天两次用 1mg/kg SCV-07 治疗的组在第 16 天(P=0.043)、第 18 天(P=0.009)和第 20 天(P=0.007)显示出显著改善。通过对每天一次用 100 μg/kg SCV-07 治疗的组和每天两次用 1 mg/kg SCV-07 治疗的组进行比较，仅在第 14 天显示出单日的统计学显著差异(P=0.005)。

组	≥3的天数	<3的天数	总天数	%≥3的天数	与对照组相比的卡方检验	P值
溶剂(PBS), qd, sc	54	138	192	28.1	-	-
SCV-07 100 ug/kg, qd, sc	12	180	192	6.3	27.828	<0.001
SCV-07 100 ug/kg, bid, sc	17	175	192	8.9	21.4010	<0.001
SCV-07 1 mg/kg, qd, sc	54	138	192	28.1	0.0000	1.000
SCV-07 1 mg/kg, bid, sc	24	168	192	12.5	12.7360	<0.001

表 7. SCI-02. 各组动物评分为 3 或更高的总天数的卡方分析。这个统计量是溃疡严重程度的计算值，是具有临床重要性的结果。

	天											
比较组	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28
对照 vs SCV-7 100 ug/kg, qd, sc 从第-1天至第20天	0.558	0.985	0.985	0.425	0.011	0.002	0.001	0.092	0.413	0.436	0.555	0.374
对照 vs SCV-7 100 ug/kg, bid, sc 从第-1天至第20天	0.558	0.554	0.985	0.581	0.664	0.204	<0.001	0.003	0.279	0.805	0.775	0.558
对照 vs SCV-7 1 mg/kg, qd, sc 从第-1天至第20天	0.233	0.985	0.985	0.775	0.218	0.662	0.116	0.405	0.404	0.298	0.774	0.895
对照 vs SCV-7 1 mg/kg, bid, sc 从第-1天至第20天	0.072	0.985	0.985	0.805	0.925	0.043	0.009	0.007	0.581	0.985	0.774	0.777
SCV-7 100 ug/kg, qd, sc vs SCV-7 1 mg/kg, bid, sc 从第-1天至第20天	0.233	0.985	0.985	0.279	0.005	0.232	0.335	0.371	0.775	0.370	0.370	0.557

表 8.SCI-02. 利用 Mann-Whitney 秩和检验，测定所观察的每日粘膜炎评分的组间差异显著性。这个非参数统计量适合于粘膜炎目测评分判断标准。显示了各个计算的 P 值。下划线表示显著改善。

7. 结 论

1. 根据死亡率和体重增加的观察结果，在该研究中没有来自 SCV-07 的任何毒性的证据。

2. 与盐水对照组相比，每天两次用 100 μg/ml SCV-07 治疗的组、每天一次用 1 mg/ml SCV-07 治疗的组或每天两次用 1 mg/ml SCV-07 治疗的组的体重增加显著增加（分别为 P=0.014、P=0.009 和 P=0.004）。

3. 在第-1 天至第 20 天每天一次用 100 μg/ml SCV-07 治疗的动物评分为 3 或更高的动物天数显示出统计学上的显著降低（P<0.001），并且在第 14 天（P=0.011）、第 16 天（P=0.002）和第 18 天（P=0.001）的单日评分也显示出统计学的显著降低。

4. 在第-1 天至第 20 天每天两次用 100 ug/kg SCV-07 治疗的动物评分为 3 或更高的动物天数显示出统计学上的显著降低（P<0.001），并且在第 18 天(P<0.001)和第 20 天（P=0.003）的单日评分也显示出统计学上的显著提高。

5. 在第-1 天至第 20 天每天两次用 1mg/kg SCV-07 治疗的动物评分为 3

或更高的动物天数显示出统计学的显著降低（P<0.001），并且在第 16 天（P=0.043）、第 18 天(P=0.009)和第 20 天（P=0.007）的单日评分也显示出统计学的显著提高。

6. 从第-1 天至第 20 天每天两次用 1 mg/kg SCV-07 治疗的动物，其粘膜炎评分没有显示出任何显著降低。

7. 每天一次用 100 μg/kg SCV-07 治疗的组与每天两次用 1 mg/kg SCV-07 治疗的组之间，评分为 3 或更高的动物日数没有统计学上的显著差异(P=0.054)。当比较这两组的单日评分时，仅在第 14 天观察到显著的差异（P=0.005）。这些观察结果表明，每天一次用 100 μg/kg SCV-07 治疗与每天两次用 1mg/kg SCV-07 治疗的显著改善非常接近。

9. 附表

9.1 附表 3-动物体重

组	动物	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
1	1	84.7	84.6	87	89	92	94	96	98	98	102	104	105	107	104	106	105	109	104	102	109	110	113	113	117	118	119	118	118	116
1	2	79.1	79	79	83	88	88	92	91	93	101	101	102	104	105	108	108	112	106	108	116	115	122	122	127	129	129	128	132	126
1	3	84.1	84.3	86	88	93	93	95	97	97	102	104	105	115	105	105	103	107	101	99	107	108	111	111	114	116	119	117	118	114
1	4	81.3	79.1	81	82	84	84	86	89	90	92	90	96	99	97	99	100	105	99	97	105	104	108	125	112	112	114	114	115	111
1	5	84.6	86.9	86	89	93	95	98	100	99	106	108	109	110	109	108	108	112	106	107	113	113	118	121	121	123	125	124	123	123
1	6	90.9	92.3	94	96	99	103	107	108	107	113	113	113	105	113	117	116	120	112	111	120	119	127	127	132	134	134	133	134	132
1	7	80.3	78.5	82	83	86	89	91	92	95	97	100	100	103	99	101	101	105	97	95	105	107	111	113	118	117	121	118	121	120
1	8	85.3	85.2	89	90	95	98	99	100	105	108	108	108	109	109	111	110	1131	107	106	111	118	117	117	121	123	125	123	129	123
2	9	87.6	86.5	92	96	98	102	105	107	108	114	117	109	120	118	124	123	130	122	123	130	124	124	135	142	135	142	137	136	142
2	10	87.2	80.5	86	94	97	99	101	103	105	111	110	103	114	110	116	116	121	117	110	124	117	117	134	130	124	131	127	125	131
2	11	81.6	81.7	86	86	87	88	90	90	94	95	97	90	98	95	98	99	104	98	107	105	98	98	100	108	102	108	116	101	107
2	12	71.9	72.8	75	77	79	79	85	84	85	88	91	88	97	97	101	98	108	101	100	108	102	102	112	120	112	120	104	114	120
2	13	86.2	85.7	91	93	94	95	98	97	99	101	105	98	109	104	110	110	115	109	108	115	108	107	115	122	116	120	118	114	121
2	14	81.9	82.6	86	87	90	90	92	94	94	101	100	95	104	102	106	102	105	100	98	109	103	103	110	118	110	117	115	110	117
2	15	82.7	83.4	88	91	93	95	97	99	100	105	106	101	109	106	110	111	118	111	95	119	111	110	120	128	121	119	118	113	118
2	16	80.4	81.2	90	88	89	92	93	94	98	98	103	99	107	106	111	113	118	117	114	120	114	114	121	128	126	128	129	124	131
3	17	77.1	77.1	80	83	79	84	91	91	85	98	100	99	101	97	103	104	107	108	111	111	114	117	110	122	115	126	122	129	127
3	18	75	75.8	82	81	81	82	85	85	81	90	92	91	92	88	94	94	98	100	101	102	105	108	105	110	112	114	111	117	117
3	19	86.6	86.1	93	94	92	98	102	105	99	113	115	117	120	116	121	127	134	133	138	136	140	141	136	145	147	150	145	153	151
3	20	80.2	79.1	86	89	84	86	93	95	89	100	103	102	104	101	105	106	113	110	115	112	114	116	112	117	119	121	119	123	120
3	21	81.7	81	87	90	85	89	92	94	87	98	100	100	104	99	105	104	109	106	109	109	110	112	105	114	120	116	114	119	118
3	22	82	80.3	86	89	85	89	92	95	88	99	102	102	104	100	106	105	110	112	114	114	118	118	112	122	124	124	122	129	126
3	23	80.8	80.8	87	90	89	93	101	100	93	107	107	108	115	108	113	114	119	119	123	123	126	129	120	134	136	137	135	141	139
3	24	83	80.7	88	94	85	94	102	102	95	110	113	113	118	117	120	121	126	128	130	131	133	137	127	140	142	143	142	147	146
4	25	85.2	84.3	86	89	93	92	98	98	100	106	105	107	109	108	110	107	113	114	116	116	120	119	113	123	126	126	126	129	133
4	26	88.7	89.4	94	98	100	101	104	107	108	113	114	116	119	118	121	120	126	127	125	130	133	136	136	139	142	142	144	145	147
4	27	83.4	84.9	86	90	92	93	97	97	98	102	103	105	105	105	108	105	111	114	115	115	118	122	114	126	127	129	130	132	135
4	28	72.4	75.7	77	79	81	81	85	85	86	90	92	93	94	94	93	91	93	94	96	95	98	99	99	104	103	105	105	107	111
4	29	72.3	75.8	77	78	83	82	87	91	91	99	99	102	103	104	105	106	110	114	111	115	119	121	112	125	127	129	130	130	134
4	30	90.6	94	96	99	101	104	109	111	109	115	116	115	103	118	120	120	125	126	120	129	131	133	124	134	135	138	138	138	139
4	31	75.9	77.5	79	82	84	85	89	91	91	98	99	100	117	103	105	105	112	112	114	115	117	118	112	120	123	127	127	128	131
4	32	84.8	86.4	91	95	99	98	103	104	102	109	111	111	116	116	118	116	122	123	124	122	124	128	119	130	131	133	131	132	135
5	33	90.1	87.6	89	93	94	98	106	106	107	112	113	113	117	118	119	118	125	125	128	131	130	136	134	137	135	142	145	148	150
5	34	76.5	77.3	78	79	81	81	83	86	87	90	91	90	92	93	117	99	103	104	106	106	107	109	113	115	113	120	117	121	123
5	35	87.5	89.6	91	95	98	98	105	106	109	114	116	118	122	119	95	120	127	127	129	130	130	133	133	137	135	141	141	144	147
5	36	81	82.8	84	89	96	93	101	100	101	106	107	107	110	113	122	114	120	122	125	124	127	132	131	136	135	140	141	144	147
5	37	74.7	74.2	83	79	81	85	87	88	91	95	97	98	99	99	100	99	105	104	106	107	109	111	110	115	112	118	120	124	126
5	38	79.8	81.8	81	87	90	90	94	96	98	104	104	105	109	108	112	112	115	118	120	121	121	124	124	129	129	132	133	137	139
5	39	77.3	76.6	75	85	87	88	90	92	94	97	99	99	102	103	106	107	112	113	115	115	117	120	120	125	127	131	132	133	137
5	40	80.1	78.8	80	83	86	86	95	96	97	99	102	100	102	102	104	104	108	107	109	111	111	114	113	117	116	121	123	124	125

9.2 附表 4-粘膜炎评分

		天											
组	动物	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28
1	1	0	1	2	2	2	3	4	3	2	2	2	2
1	1	0	1	1	2	2	3	4	3	2	2	2	1
1	2	0	1	2	3	3	3	3	2	2	1	1	1
1	2	0	1	1	3	3	3	3	2	2	2	2	1
1	3	0	1	2	2	3	3	3	3	2	2	2	2
1	3	0	1	1	2	3	3	3	3	2	2	2	1
1	4	0	1	2	2	1	1	2	1	1	1	2	2
1	4	0	1	1	1	2	1	2	2	2	2	2	1
1	5	0	1	2	2	3	3	3	3	2	2	2	2
1	5	0	1	1	2	3	3	3	3	2	2	2	1
1	6	1	1	2	2	2	3	3	3	2	2	2	2
1	6	1	1	1	2	2	3	3	3	2	2	2	1
1	7	1	1	2	2	3	3	3	2	2	2	2	2
1	7	1	1	1	2	3	3	3	2	2	2	2	1
1	8	1	1	2	2	3	3	3	3	3	3	2	2
1	8	1	1	1	2	3	3	3	3	3	3	2	2
2	9	1	1	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1
2	9	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1
2	10	1	1	2	3	2	2	2	2	2	2	2	2
2	10	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1
2	11	1	1	2	2	2	2	3	3	2	2	1	2
2	11	1	1	1	2	2	2	3	3	2	2	2	1
2	12	0	1	2	2	2	2	1	2	2	1	2	1
2	12	0	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1
2	13	0	1	2	2	2	2	1	1	1	1	2	1
2	13	0	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	1
2	14	0	1	2	2	3	3	3	3	2	2	2	2
2	14	0	1	1	1	2	3	3	3	2	2	2	1
2	15	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
2	15	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1
2	16	0	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2
2	16	0	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	1
3	17	0	1	2	2	2	3	2	2	1	2	2	1
3	17	0	1	1	2	2	3	2	2	2	2	2	1
3	18	1	1	2	2	3	3	3	2	2	2	2	2
3	18	1	1	1	2	3	3	2	2	2	2	2	1
3	19	1	1	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1
3	19	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1
3	20	1	1	2	2	3	3	2	2	2	2	2	2
3	20	1	1	1	2	3	3	2	2	2	2	2	1
3	21	1	1	2	2	2	3	2	1	1	2	2	2
3	21	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1
3	22	0	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2
3	22	0	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1
3	23	0	0	2	2	3	2	2	2	2	2	2	2
3	23	0	0	1	2	3	2	2	2	2	2	2	1
3	24	0	1	2	2	3	3	2	2	2	2	2	2
3	24	0	1	1	2	3	3	2	2	2	2	2	1

天

组	动物	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28
4	25	1	1	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3
4	25	1	1	1	2	3	3	3	3	3	3	2	1
4	26	0	1	2	2	3	3	3	3	3	3	2	2
4	26	0	1	1	2	3	3	3	3	3	3	2	1
4	27	1	1	2	2	3	3	3	3	3	3	2	2
4	27	1	1	1	2	3	3	3	2	2	2	2	1
4	28	0	1	2	2	3	3	3	2	2	2	2	2
4	28	0	1	1	2	3	3	3	3	2	2	2	1
4	29	1	1	2	2	3	3	3	3	2	2	2	2
4	29	1	1	1	2	3	3	3	2	2	2	2	1
4	30	0	1	2	2	3	2	2	2	2	2	2	2
4	30	0	1	1	2	3	2	2	2	2	2	2	1
4	31	1	1	2	2	3	3	2	2	2	2	2	2
4	31	1	1	1	2	3	3	2	2	2	2	2	1
4	32	1	1	2	2	2	2	2	1	1	1	1	2
4	32	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1
5	33	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
5	33	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1
5	34	1	1	2	2	3	2	2	2	2	2	2	2
5	34	1	1	1	2	3	2	2	2	2	2	2	1
5	35	1	1	2	2	3	3	3	2	2	2	2	2
5	35	1	1	1	2	3	3	3	2	2	2	2	1
5	36	0	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1
5	36	0	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1
5	37	0	1	2	2	3	2	2	2	2	2	2	2
5	37	0	1	1	2	3	2	2	2	1	2	2	1
5	38	1	1	2	2	3	2	2	2	2	2	2	2
5	38	1	1	1	2	3	2	2	2	2	2	2	1
5	39	1	1	2	2	2	3	3	2	2	2	2	2
5	39	1	1	1	2	2	3	3	2	2	2	2	1
5	40	1	1	2	3	3	3	3	2	2	2	2	2
5	40	1	1	1	3	3	3	3	2	2	2	2	1

实施例 3：

SCV-07 在治疗仓鼠由分次辐射诱导的口腔粘膜炎中的作用功效的研究

1. 介绍

1.1 背景

已经发现 KGF-1 和其他 FGF 家族成员在 BDF-1 中诱导口腔和食道粘膜表面的上皮增厚。人们认为 SCV-07 和衍生的 SCV-07 肽具有可能与 KGF-1 重叠的机制，并且发现了它们在其他粘膜损伤模型中的保护作用。

口腔溃疡粘膜炎是癌症药物治疗和放疗中常见的疼痛性、剂量限制性毒性。这种疾病被表征为导致形成溃疡性病变的口腔粘膜损坏。在粒细胞减少的患者中，伴有粘膜炎的溃疡是常导致败血症或菌血症的天然口腔细菌的常见入口。在接受抗肿瘤药物治疗的患者中，有三分之一以上发生一定程度的粘膜炎。在使用白血病诱导疗法或者多种骨髓移植预处理方案治疗的患者中，所述粘膜炎的发生频率和严重程度明显增加。在这些个体中，有四分之三以上的患者患有中度至重度粘膜炎并不罕见。中度至重度粘膜炎发生于几乎所有接受头部和颈部肿瘤放疗的患者中，并且通常始于 15Gy 的累积辐射量，而后在总剂量达到 60Gy 或以上时加重。

粘膜炎的发展在临床上经历三个阶段：

1. 疼痛性红斑，其通常可以由局部麻醉剂或非镇静性镇痛剂控制。

2. 常伴有假膜形成的疼痛性溃疡。在并发性骨髓抑制(concomitant myelosuppression)的情况下，由口腔起源的菌血症或败血症并不罕见。疼痛的强度通常需要麻醉药镇痛，常为肠胃外施用。

3. 自愈，发生在停止抗肿瘤治疗后的约 2-3 周。

目前，唯一批准用于预防和/或治疗粘膜炎的生物物质或药物是 Kepivance（palifermin）。Kepivance 的应用限于为治疗恶性血液病而接受干细胞移植的患者的粘膜炎。因此，粘膜炎的标准疗法由舒缓性洗剂(palliative rinses)组成，例如盐水、碳酸氢盐溶液、漱口液、局部镇痛剂（例如利多卡因）和/或全身施用的麻醉药。

粘膜炎作为生物过程的复杂性仅在最近才被关注。已经提出所述病症代表口腔粘膜细胞和组织、活性氧、促炎性细胞因子、凋亡介体、多个信号通

路和局部因素（例如唾液和口腔微生物群）间的连续相互作用。尽管上皮细胞退化和损坏最终导致粘膜溃疡，但与辐射诱导的粘膜毒性相关的早期变化似乎发生在内皮和粘膜下层的结缔组织内。辐射和化疗两者引发粘膜炎发展的整体机制似乎是类似的。

1.2 分次辐射模型

已经证明由本课题的主要研究者开发的分次辐射仓鼠模型是提供对抗粘膜炎化合物初步评估的一项准确、有效且经济的技术。在这个模型中，在第0、1、2、3、7、8、9和10天使仓鼠左侧颊囊接受8个7.5Gy的剂量，而在急性辐射研究中在第0天使用40Gy的单剂量。使用这个辐射方案的基本原理是它更加接近于癌症患者接受放疗的临床过程。在这个模型中，粘膜炎的病程得到了很好的定义，并在辐射后约14-16天达到粘膜炎评分峰值。分次辐射模型的死亡率（通常来自麻醉剂的副作用）稍高于急性辐射模型中观察到的死亡率，因此组的大小提高（至每组10只）以进行实验。

2. 研究目的和概述

2.1 研究目的

本研究的目的是评估皮下注射施用的SCV-07对由分次辐射方法诱导的口腔粘膜炎的发病频率、严重程度和持续时间的影响。

2.2 研究概述

在第0、1、2、3、6、7、8和9天对40只雄性叙利亚金色仓鼠的左侧颊囊施用8剂7.5Gy的辐射。这通过麻醉动物并将其左侧颊囊外翻，同时用铅屏保护动物身体的其他部位而完成。如表9中的详述，通过每天一次皮下注射施用测试物。从第7天开始，对粘膜炎进行临床评估，并每隔一天评估，持续到第35天。施用表9所列的测试物，第1组和第2组从第-1天至第29天给药，第3组仅在辐射日给药，第4组在第-15天至第29天之间的非辐射日（第-1天、第4天、第5天和第10-29天）给药。

3. 评估

3.1 粘膜炎评估

从第6天开始对粘膜炎的级别进行评分，随后每隔一天进行评分，直至第34天（包括第34天）。根据以下参数，评估与安慰剂相比，每种药物治

疗对粘膜炎的效果：

3.1.1 各组仓鼠具有溃疡粘膜炎（评分 ≥ 3）的不同天数的差异。

在进行评估的每一天，将各药物治疗组中粘膜炎盲测评分≥3 的动物数量与对照组进行比较。在累积的基础上比较差异，并通过卡方分析确定统计学上的显著性。在这个分析中，将功效定义为与对照组相比，动物组患有溃疡（评分 ≥ 3）的天数显著降低。

3.1.2 每日粘膜炎评分的秩和差异

对于每个评估日，利用非参数秩和分析将对照组的评分与治疗组的评分进行比较。如果治疗组从第 6 天至第 28 天中的两天或更多天的评分在统计学上显著降低，则认为是治疗成功。

3.2 体重和生存状态

每天都对所有动物进行称重并记录其生存状态，以评估治疗组间可能存在的动物体重差异，其作为由治疗引起的粘膜炎严重程度和/或潜在毒性的指标。

4. 研究设计

在第 0、1、2、3、6、7、8 和 9 天对 40 只雄性叙利亚金色仓鼠的左侧颊囊施用 8 个 7.5Gy 的剂量辐射。这通过麻醉动物并将其左侧颊囊外翻，同时用铅屏保护动物身体的其他部位而完成。如表 9 中的详述，上午 8 点通过皮下注射施用测试物，每天一次。从第 6 天开始对粘膜炎进行临床评估，并每隔一天进行一次直至第 34 天。施用表 9 所列的测试物，第 1 组和第 2 组从第 -1 天至第 29 天给药，第 3 组仅在辐射日（第 0-3 天和第 6-10 天）给药，第 4 组在第-1 天至第 29 天之间的非辐射日（第-1 天、第 4 天至第 5 天和第 10-29 天）给药。

表 9. SCI-03. 研 究设计

组号	动物数	治疗	治疗方案	给药次数
1	10 只雄性	溶剂对照组	从第-1 天至第 29 天	31
2	10 只雄性	SCV-07 100 μg/kg	从第-1 天至第 29 天	31
3	10 只雄性	SCV-07 100 μg/kg	第 0 天至第 3 天 和第 6 天至第 9 天	8
4	10 只雄性	SCV-07 100 μg/kg	第-1、4、5 天， 第 10 天至第 29 天	23

第 0、1、2、3、6、7、8 和 9 天在辐射前约 30 分钟注射 SCV-07。

5. 材料和方 法

5.1 进行研究的场所

在马萨诸塞州沃特敦，经 Biomodels AAALAC 认可的实验室进行研究。

5.2 动物

使用在研究开始时为 5-6 周龄、平均体重为 85.3g 的雄性 LVG 叙利亚金色仓鼠（Charles River Laboratories）。利用耳号对每只动物进行编号，并以每笼约 10 只动物的小组进行圈养。在研究开始前，使动物适应环境 5 天，并在此期间，每天观察动物以淘汰不健康的动物。

5.3 圈养

在提供有过滤空气、温度为 70℉+/-5℉、相对湿度为 50% +/-20%的动物房中进行研究。设定动物房以保持最小为 12-15 的每小时换气量。所述动物房受自动定时器调控，保持 12 小时接通和 12 小时关闭的光/暗循环，没有微光。使用 *Bed-O-Cobs*®垫料，垫料最少每周更换一次。利用市售去污剂清洗笼、盖和瓶子等，并风干。使用市售消毒剂对表面和引入橱内的材料进行消毒。每天清扫地板并且每周最少利用市售去污剂拖洗两次。每个月利用稀释的漂白溶液将墙和笼架擦拭最少一次。对于所有笼舍，均使用具有确定研究、剂量、动物编号和治疗组所必须的适当信息的笼舍卡片或标签进行标记。记录研究过程中的温度和相对湿度，并保留记录。

5.4 饮食

使用 Purina Labdiet® 5061 鼠粮饲喂动物，并提供水，供其任意取食。

5.5 动物随机选择和分配

在辐射前，按照预期将动物随意分成 4 个治疗组。通过与个体编号对应的耳号识别每只动物。为了得到更为一致的身份识别，使用耳号编号而非标签，这是因为标签在研究过程中可能会被移动。使用笼舍卡片或标有研究编号（SCI-03）、治疗组编号和动物编号的标签确定每个笼舍。

5.6 皮下给药和药物应用

提供粉末状的测试化合物人 SCV-07 肽，并在施用前溶于无菌的 PBS 中。通过具有 27G 针的结核毒素注射器施用 0.1 体积的药物。在背部或腹部进行皮下注射。

5.7 粘膜炎诱导

利用 Philips 160kVp（千伏电压）（18.75-ma）X 射线源在 30cm 的焦距产生辐射，并使用 3.0mm 的硬化 Al 过滤体系。以 3.32Gy/分钟的速率靶向辐射左侧颊囊粘膜。带有 Victoreen530 型剂量计的所述源标度表明施用速率为 28.57 nC/分钟。利用这个标度，每只动物每个时间点在每个辐射剂量接受的能量约为 64.5nC（纳库仑）。在辐射前，用腹膜内注射氯胺酮(160mg/kg)和甲苯噻嗪(8 mg/kg)麻醉动物。利用铅屏，将左侧颊囊外翻、固定并分离。

5.8 粘膜炎评分

在上述研究的过程中，计算粘膜炎评分、体重变化和生存状态。为了对粘膜炎进行评估，利用吸入麻醉剂麻醉动物，并将左侧颊囊外翻。通过与经验证的图片判断标准进行比较，对粘膜炎进行目测评分，范围为 0（正常）至 5（严重溃疡，临床评分）。利用描述的方式，此判断标准的定义如下：

表 10 SCI-03：粘膜炎评分

评分	描述：
0	颊囊完全健康。没有红斑或血管舒张。
1	轻至重度红斑和血管舒张。没有粘膜糜烂。
2	重度红斑和血管舒张。粘膜表面糜烂，产生剥落区，但没有明显的溃疡。粘膜点彩减少。
3	在一个或多个位置形成发白的溃疡。由于假膜，溃疡可能呈黄色/灰色。溃疡的累积面积约为颊囊的 1/4。重度红斑和血管舒张。
4	溃疡的累积面积约为颊囊的 1/2。柔韧性丧失。重度红斑和血管舒张。
5	目测所有颊囊都发生溃疡。柔韧性丧失（仅可从口腔翻出部分颊囊）。

认为 1-2 的评分表示疾病的轻度阶段，而 3-5 的评分表示中度至重度粘膜炎。目测评分后，利用标准技术对每只动物的粘膜进行拍照。在实验总结时，将所有底片显影并随机对照片进行编号。利用上述判断标准，由至少有两位经过训练的独立观察员对照片进行以盲测分级（盲测评分）。

6. 结果

6.1 存活状态

在该研究中，对照组在第 8 天由于辐射所需的麻醉而发生一例死亡。

6.2 体重变化

研究组之间的体重变化没有显著性差异。对每日平均百分体重变化数据进行评估。在研究过程中，盐水处理的对照仓鼠的平均体重增加值为其初始体重的 76.3%。在研究过程中，在从第-1 天至第 29 天接受 100ug/kg SCV-07 的组中，仓鼠的平均体重增加值为其初始体重的 80.7%。在研究过程中，在辐射日接受 100ug/kg SCV-07 的组中，仓鼠的平均体重增加值仅为其初始体重的 66.3%。在研究过程中，在第-1 天、第 4 天、第 5 天和第 10-29 天接受 100ug/kg SCV-07 的组中，仓鼠的平均体重增加值为其初始体重的 69.7%。通过计算每只动物体重增加的曲线下面积（AUC）评估这些差异的显著性，然后利用单向 ANOVA 检验比较不同治疗组。这个分析的结果表明不同治疗组之间没有显著差异（P=0.490）。

6.3 粘膜炎（表 11 和 12）

对照动物之间粘膜炎发展的动力学和严重程度与预期的一致。

计算每组的每日平均粘膜炎评分。在盐水处理的对照组，在第 19 天出现为 3.2 的粘膜炎平均评分峰值。从第-1 天至第 29 天接受 SCV-07 的组在第 19 天出现为 3.3 的粘膜炎平均评分峰值。在辐射日（第 0-3 天和第 6-9 天）接受 SCV-07 的组在第 17 天出现为 3.0 的粘膜炎平均评分峰值。在第 1、4、5 天和第 10-29 天接受 SCV-07 的组在第 17、19 和 23 天出现为 2.9 的粘膜炎平均评分峰值。通过计算各组评分为 3 或更高的天数并利用卡方（χ^2）检验比较这些数字来评估在不同治疗组间观察到的差异的显著性。该分析的结果示于表 11 中。盐水处理的对照组仓鼠在所评估的 36%的动物日评分都为 3 或更高。从第-1 天至第 29 天接受 SCV-07 的组中，在所评估的 32.7%的动物日观察到 3 以上的粘膜炎评分，其与对照组之间并没有统计学上的显著差异（P=0.448）。对于在第 0-3 天和第 6-9 天接受 SCV-07 的组，在所评估的 24%的动物日观察到 3 或更高的粘膜炎评分，这与对照组之间存在统计学上的显著差异(P=0.002)。对于在第-1、4、5 和第 10-29 天接受 SCV-07 的组，在所评估的 30.7%的动物日观察到 3 或更高的粘膜炎评分，其与对照组之间并没有统计学上的显著差异(P=0.204)。利用 Mann-Whitney 秩和分析对粘膜炎评分进行进一步分析，以比较各组的每日评分。这个分析的结果示于表 12 中。在此分析中，通常需要粘膜炎评分显著下降 2 天才能视为粘膜炎明显缓解。在第-1 天至第 29 天用 SCV-07 治疗的组在第 29 天（P=0.004）、第 31 天（P=0.017）和第 33 天（P=0.002）明显好于盐水对照。在第 0-3 天和第 6-9 天用 SCV-07 治疗的组在第 21 天（P=0.047）、第 23 天(P<0.001)、第 25 天（P=0.009）、第 29 天(P<0.001)、第 31 天（P=0.015）和第 33 天(P<0.001)明显好于盐水对照。在第-1、4、5 天和第 10-29 天用 SCV-07 治疗的组在第 29 天(P<0.001)、第 31 天(P=0.004)和第 33 天(P<0.001)明显好于盐水对照。

组	≥3的天数	<3的天数	总天数	%≥3的天数	与对照组比较的卡方检验	P值
溶剂 (PBS), qd, sc 从第-1天至第29天	98	174	272	36.0	-	-
SCV-07 100 ug/kg, qd, sc 从第-1天至第29天	98	202	300	32.7	0.575	0.448
SCV-07 100 ug/kg, qd, sc 从第0-3天至第6-9天	72	228	300	24.0	0.3160	0.002
SCV-07 100 ug/kg, qd, sc 从第-1, 4, 5天至第10-29天	92	208	300	30.7	0.2300	0.204

表 11.SCI-03. 各组动物评分为 3 或更高的总天数的卡方分析。这个统计量是溃疡严重程度的计算值，是具有临床重要性的结果。

	天														
比较组	7	9	11	13	15	17	19	21	23	25	27	29	31	33	35
对照 vs SCV-7 100 ug/kg, qd, sc 从第-1天至第29天	0.989	0.295	0.526	0.297	0.490	0.988	0.608	0.129	0.062	0.781	0.526	0.004	0.017	0.002	0.872
对照 vs SCV-7 100 ug/kg, qd, sc 从第0-3天至第6-9天	0.989	0.296	0.244	0.080	0.490	0.988	0.115	0.047	<0.001	0.009	0.224	<0.001	0.015	<0.001	0.872
对照 vs SCV-7 100 ug/kg, qd, sc 从第-1, 4, 5天至第10-29天	0.989	0.605	0.918	0.406	0.164	0.605	0.115	0.129	0.648	0.420	0.528	<0.001	0.004	<0.001	0.490

表 12.SCI-03.利用 Mann-Whitney 秩和检验，测定所观察的每日粘膜炎评分的组间差异显著性。这个非参数统计量适合于粘膜炎目测评分判断标准。显示了各个计算的 P 值。下划线表示粘膜炎评分相对于对照的显著降低。

7. 结论

1. 根据死亡率和体重增加的观察结果，在该研究中没有来自 SCV-07 的任何毒性的证据。

2. 在辐射日(第 0-3 天和第 6-9 天)用 100 μg/kg 人 SCV-07 治疗的动物显示出粘膜炎评分为 3 或更高的天数在统计学上显著降低(P=0.002)，在第 21 天(P=0.047)、第 23 天(P<0.001)、第 25 天(P=0.009)、第 29 天(P<0.001)、第 31 天(P=0.015)和第 33 天(P<0.001)的粘膜炎评分显著降低。这个结果表明，SCV-07 可有效降低粘膜炎的整体严重程度，从而可以促进粘膜炎损伤的消退。

3. 在第-1 天至第 29 天或者在非辐射日（第-1、4、5 和第 10-29 天）用 SCV-07 治疗的仓鼠并未显示出评分为 3 或更高的动物天数的显著降低，但却在第 29、31 和 33 天显示出粘膜炎评分的显著降低。

4. 以施用辐射的方案为基础比较 SCV-07 的功效可以了解其某些作用机

制，但仍需要进一步评估。实际上，在非辐射日施用药物的 SCV-07 方案并不像预期的一样有效，尤其对于在连续多日治疗的动物更是如此。另外，所有用 SCV-07 治疗的动物在研究晚期的应答都相同，这一观察结果表明 SCV-07 在辐射诱导的粘膜炎的整体发病机理和消退中发挥多重作用。

9. 附表

9.1 附表 5-动物体重

		天																																		
组	动物	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
1	1	82	87	86	88	89	89	94	95	98	97	100.8	103	105	108	109	110	110	112	115	115	117	119	120	122	124	125	126	130	130	132	132	135	137	137	141	143	144
1	2	78	82	81	84	87	85	91	94	95	Dead																											
1	3	79	79	77	76	75	75	77	77	79	80	82.2	85	85	89	88	87	86	86	89	90	95	95	97	98	101	101	102	106	108	107	108	111	114	115	119	118	120
1	4	88	92	93	96	98	99	103	107	108	107	113.9	116	116	120	121	123	122	124	125	126	129	130	128	130	133	131	131	134	135	138	136	138	138	139	143	142	143
1	5	77	80	79	84	88	86	91	93	90	88	96	96	96	97	98	98	98	100	104	105	106	109	113	114	117	120	121	126	129	129	128	134	135	137	142	143	142
1	6	83	85	90	91	95	94	90	100	100	101	106.1	107	109	112	113	114	115	115	118	120	123	126	128	130	132	138	138	144	147	146	147	152	155	155	160	159	159
1	7	76	78	78	79	81	83	98	88	90	89	93.4	95	93	96	98	98	99	99	102	103	109	111	111	111	116	118	118	124	123	125	125	130	131	133	137	138	137
1	8	73	76	75	76	77	78	84	86	86	87	90.5	93	97	98	99	101	103	102	103	103	110	109	110	112	115	115	117	121	122	123	121	126	129	129	133	131	134
1	9	81	86	87	88	87	90	94	99	98	100	104.4	105	108	111	113	113	114	114	119	120	124	128	126	129	132	132	134	138	139	140	140	145	146	147	151	155	153
1	10	79	83	84	82	84	80	88	90	91	90	93.7	95	95	97	96	97	95	100	102	105	105	109	110	110	113	114	115	118	119	121	120	122	124	125	129	131	133
2	11	82	86	89	78	77	80	83	88	88	89	94.5	95	98	100	103	104	104	105	108	108	113	114	116	117	120	122	123	129	131	134	132	136	138	141	146	145	146
2	12	80	82	82	83	86	85	88	92	91	90	93.4	92	95	96	97	96	97	99	100	98	104	105	107	108	111	113	113	117	116	118	118	122	124	126	131	130	131
2	13	82	84	84	87	88	88	92	94	93	94	98.3	100	99	103	104	106	105	107	108	109	114	116	117	119	120	124	124	129	130	130	130	137	138	141	136	145	136
2	14	73	77	76	79	79	82	84	87	87	87	90.6	92	96	97	97	98	99	99	101	103	107	109	110	112	114	116	117	121	124	124	123	128	131	120	145	136	145
2	15	82	87	89	92	95	95	98	102	102	103	108.5	108	110	114	115	116	117	117	120	120	124	126	127	127	130	132	132	137	138	139	139	142	143	143	147	146	147
2	16	83	85	88	91	94	93	97	102	99	99	103.5	105	107	111	111	109	108	109	111	113	116	117	122	123	126	128	128	132	133	135	134	138	142	142	148	147	148
2	17	81	82	83	87	88	87	91	95	93	95	99.7	97	101	104	106	105	107	106	107	118	122	121	126	127	130	130	132	136	137	140	140	144	146	147	152	153	154
2	18	76	77	76	80	79	79	84	86	85	87	88.2	92	92	95	94	95	94	96	97	98	102	103	104	105	108	111	110	114	115	114	114	120	121	122	125	125	127
2	19	84	87	87	88	90	91	94	98	100	98	102.3	104	104	107	108	108	108	111	110	113	115	116	119	120	120	123	126	129	130	133	133	137	139	139	144	147	146
2	20	69	70	74	76	75	76	79	79	84	84	88.6	90	94	97	98	98	98	99	103	106	108	111	118	117	118	120	121	124	126	131	127	133	138	138	144	146	147
3	21	87	92	92	97	94	95	100	104	106	103	110.6	111	112	102	114	113	112	113	118	117	122	123	124	127	127	128	128	131	133	134	132	135	138	139	143	143	144
3	22	76	78	79	80	80	82	85	89	90	88	94.6	95	96	110	101	100	100	103	106	109	112	114	115	114	121	122	121	124	125	127	126	130	132	133	136	136	137
3	23	93	98	95	102	104	102	108	111	115	113	117.4	119	122	125	124	125	126	129	132	137	138	141	141	144	152	148	150	153	158	158	158	162	165	165	172	171	170
3	24	78	82	79	80	82	81	85	88	89	88	92.6	93	95	97	98	99	97	97	100	101	105	107	108	108	113	114	115	119	119	122	122	126	128	128	133	134	135
3	25	80	84	82	85	84	86	88	90	91	93	94.4	96	99	101	103	100	102	101	104	104	108	109	108	112	113	115	116	117	119	121	120	122	123	124	127	127	128
3	26	87	89	86	88	86	86	89	91	89	90	93.7	95	97	98	101	100	101	100	101	102	106	108	109	111	113	115	116	122	119	121	122	125	128	130	133	133	135
3	27	84	87	87	88	89	88	93	97	97	97	101.7	103	104	103	109	112	111	113	115	108	111	112	114	115	118	120	121	124	124	125	126	129	131	131	132	134	134
3	28	80	82	83	84	88	85	88	94	93	94	97.5	98	99	99	105	103	105	106	106	108	113	114	114	118	120	121	122	120	126	128	128	132	134	134	140	138	140
3	29	79	79	78	81	83	83	87	89	90	88	91.6	94	94	96	96	97	96	99	102	104	107	107	109	111	114	115	114	119	122	120	121	125	125	128	131	131	132
3	30	76	76	73	74	76	74	77	78	78	78	79.2	80	81	84	84	84	82	85	86	87	90	90	93	93	96	95	95	97	97	100	99	102	104	103	107	107	110
4	31	80	84	85	89	90	93	94	96	97	98	101.2	102	104	105	107	105	106	109	111	112	118	118	120	124	124	123	125	126	129	131	131	133	136	138	141	140	141
4	32	85	88	90	91	94	94	99	102	103	105	110.3	110	112	116	116	116	116	117	117	114	120	121	124	124	127	128	131	134	134	136	134	138	142	142	146	147	146
4	33	82	85	82	96	87	85	89	92	93	91	95.3	95	96	97	97	96	96	96	96	95	98	99	101	102	105	107	108	110	114	114	112	116	118	119	122	122	124
4	34	87	89	87	90	86	91	97	99	101	103	108.6	110	110	115	117	118	120	122	123	122	128	128	131	133	135	138	139	142	143	145	146	150	152	153	158	157	158
4	35	84	89	90	92	97	97	104	107	110	108	111.7	114	115	117	119	121	122	124	127	127	132	133	136	134	137	138	140	143	144	146	144	149	151	152	157	158	159
4	36	85	90	89	91	94	96	98	101	103	102	104.7	108	107	109	110	110	111	112	113	115	119	118	120	122	123	124	128	128	131	131	131	136	136	138	141	140	141
4	37	87	91	91	92	94	95	98	101	102	102	106.7	108	109	112	113	113	113	113	114	113	118	118	119	120	120	123	122	123	127	128	128	132	134	134	137	139	140
4	38	89	94	92	97	98	99	106	106	109	106	110.6	112	114	115	117	117	119	121	122	121	127	128	131	133	135	135	137	139	140	142	142	146	150	149	154	153	154
4	39	70	73	72	73	73	73	76	79	78	79	80.7	80	78	82	81	83	83	86	87	88	92	92	94	95	97	99	98	100	102	103	102	105	108	109	112	112	113
4	40	81	87	86	85	88	87	87	90	92	89	90.6	89	90	93	88	88	89	94	97	98	102	104	109	109	111	112	113	118	121	122	118	126	126	129	132	133	134

9.2 附表 6-粘膜炎评分

		天数														
组	动物	7	9	11	13	15	17	19	21	23	25	27	29	31	33	35
1	1	0	1	1	1	2	3	4	3	3	3	3	2	2	2	1
1	1	0	1	1	1	2	3	4	3	3	3	3	2	2	2	1
1	2	0	dead													
1	2	0														
1	3	0	1	1	2	3	3	4	3	3	2	2	2	2	2	1
1	3	0	1	1	2	3	3	4	3	3	2	2	2	2	2	1
1	4	0	1	1	2	3	3	3	3	3	2	2	1	1	2	1
1	4	0	1	1	2	3	3	3	3	3	2	2	1	1	2	1
1	5	0	1	2	2	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	1
1	5	0	1	2	2	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	1
1	6	0	1	1	2	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	1
1	6	0	1	1	2	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	1
1	7	0	1	1	2	3	3	3	3	3	2	2	1	1	1	0
1	7	0	1	1	2	3	3	3	3	3	2	2	1	1	1	0
1	8	0	1	1	1	2	3	3	4	4	3	2	2	1	1	0
1	8	0	1	1	1	2	3	3	4	4	3	2	2	1	1	0
1	9	0	1	1	1	2	3	3	3	3	2	2	1	0	1	0
1	9	0	1	1	1	2	3	3	3	3	2	2	1	0	1	0
1	10	0	1	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	1
1	10	0	1	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	1
2	11	0	1	1	2	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	1
2	11	0	1	1	2	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	1
2	12	0	0	1	3	3	3	3	3	3	2	2	1	0	1	0
2	12	0	0	1	3	3	3	3	3	3	2	2	1	0	1	0
2	13	0	1	1	2	3	3	4	3	2	2	2	1	1	1	0
2	13	0	1	1	2	3	3	4	3	2	2	2	1	1	1	0
2	14	0	1	1	2	3	3	4	3	3	3	2	1	1	1	1
2	14	0	1	1	2	3	3	4	3	3	3	2	1	1	1	1
2	15	0	1	1	2	2	3	3	3	2	3	2	1	1	1	1
2	15	0	1	1	2	2	3	3	3	2	3	2	1	1	1	1
2	16	0	1	1	2	3	3	4	3	3	3	2	1	1	1	1
2	16	0	1	1	2	3	3	4	3	3	3	2	1	1	1	1
2	17	0	1	1	1	3	3	2	2	3	2	2	1	0	0	0
2	17	0	1	1	1	3	3	2	2	3	2	2	1	0	0	0
2	18	0	1	1	1	2	3	3	3	2	3	2	0	1	1	1
2	18	0	1	1	1	2	3	3	3	2	3	2	0	1	1	1
2	19	0	0	2	2	3	3	3	3	3	2	2	1	1	1	1
2	19	0	0	2	2	3	3	3	3	3	2	2	1	1	1	1
2	20	0	1	1	2	3	3	4	2	2	2	2	1	1	1	1
2	20	0	1	1	2	3	3	4	2	2	2	2	1	1	1	1

		天数														
组	动物	7	9	11	13	15	17	19	21	23	25	27	29	31	33	35
3	21	0	1	1	2	3	3	3	3	2	2	2	1	2	1	1
3	21	0	1	1	2	3	3	3	3	2	2	2	1	2	1	1
3	22	0	2	1	2	3	3	3	2	2	2	2	0	0	0	0
3	22	0	2	1	2	3	3	3	2	2	2	2	0	0	0	0
3	23	0	0	1	2	3	3	3	2	2	2	2	1	0	1	1
3	23	0	0	1	2	3	3	3	2	2	2	2	1	0	1	1
3	24	0	1	1	2	3	3	3	3	2	2	2	1	1	1	1
3	24	0	1	1	2	3	3	3	3	2	2	2	1	1	1	1
3	25	0	1	1	2	3	3	3	3	2	2	2	1	1	1	1
3	25	0	1	1	2	3	3	3	3	2	2	2	1	1	1	1
3	26	0	0	1	2	2	3	3	3	2	2	2	1	1	1	1
3	26	0	0	1	2	2	3	3	3	2	2	2	1	1	1	1
3	27	0	1	1	2	3	3	3	3	3	2	2	1	1	1	1
3	27	0	1	1	2	3	3	3	3	3	2	2	1	1	1	1
3	28	0	1	1	2	3	3	3	3	3	2	2	1	0	1	0
3	28	0	1	1	2	3	3	3	3	3	2	2	1	0	1	0
3	29	0	0	1	2	3	3	3	3	2	2	2	1	2	1	1
3	29	0	0	1	2	3	3	3	3	2	2	2	1	2	1	1
3	30	0	1	1	2	2	3	2	2	2	1	2	0	0	0	0
3	30	0	1	1	2	2	3	2	2	2	1	2	0	0	0	0
4	31	0	0	1	2	3	3	3	3	3	2	2	1	0	1	0
4	31	0	0	1	2	3	3	3	3	3	2	2	1	0	1	0
4	32	0	1	1	2	2	3	3	2	2	3	2	0	1	1	1
4	32	0	1	1	2	2	3	3	2	2	3	2	0	1	1	1
4	33	0	1	1	2	2	3	3	3	3	2	2	0	1	1	1
4	33	0	1	1	2	2	3	3	3	3	2	2	0	1	1	1
4	34	0	1	1	1	2	2	3	3	3	3	2	2	2	2	1
4	34	0	1	1	1	2	2	3	3	3	3	2	2	2	2	1
4	35	0	1	2	2	3	3	3	3	3	3	2	1	0	1	1
4	35	0	1	2	2	3	3	3	3	3	3	2	1	0	1	1
4	36	0	1	1	2	2	3	3	3	3	3	2	1	1	1	1
4	36	0	1	1	2	2	3	3	3	3	3	2	1	1	1	1
4	37	0	1	1	1	2	3	3	3	3	3	2	0	1	1	1
4	37	0	1	1	1	2	3	3	3	3	3	2	0	1	1	1
4	38	0	1	1	2	2	3	3	3	3	3	3	1	1	1	1
4	38	0	1	1	2	2	3	3	3	3	3	3	1	1	1	1
4	39	0	1	1	2	3	3	3	3	3	2	2	1	0	0	0
4	39	0	1	1	2	3	3	3	3	3	2	2	1	0	0	0
4	40	0	1	2	2	3	3	2	2	3	2	2	1	0	0	0
4	40	0	1	2	2	3	3	2	2	3	2	2	1	0	0	0

实施例 4：

SCV-07 在治疗仓鼠由顺铂和急性辐射组合诱导的口腔粘膜炎中的研究

介绍

之前利用 SCV-07 的研究表明，在由急性辐射和分次辐射诱导的口腔粘膜炎疾病仓鼠模型中 SCV-07 均可有效治疗所述疾病。在这个研究中，在由化疗和辐射组合诱导的口腔粘膜炎仓鼠模型中，具体在采用顺铂和辐射组合诱导的口腔粘膜炎仓鼠模型中，评估 SCV-07 的功效。

方法

将 40 只金色叙利亚仓鼠按照预期随机分成大小相等的四个组。通过在第 -1 天施用 5mg/kg 的单个剂量顺铂并在第 0 天施用 35Gy 的单个剂量辐射，在金色叙利亚仓鼠的左侧颊囊诱导粘膜炎。从第-1 天开始并每天一次持续至第 20 天，通过皮下注射以 10μg/kg、100μg/kg 或 1mg/kg 的剂量施用 100μL 体积的 SCV-07。每天对动物活动和体重进行评估。从第 6 天开始并持续在研究过程中每隔一天进行评估，利用标准评分 6 点判断标准对口腔粘膜炎进行评估。在整个研究过程中，利用卡方检验对评分为≥3 的溃疡粘膜炎的天数进行评估，并利用秩和检验对每日单组评分进行评估。

结果

在所有试验组中，用 SCV-07 治疗的动物的粘膜炎均受到有利的作用。重度粘膜炎从溶剂对照组中所评估的 50%动物日降低至 SCV-07 治疗动物中的约 30%。在疾病过程的后期阶段，粘膜炎达到峰值之后，可以观察到最显著的影响。没有观察到各组之间在体重变化上的显著差异。在试验过程中没有动物死亡。

结论

1. 根据死亡率和体重增加的观察结果，在该研究中没有来自 SCV-07 的任何毒性的证据。

2. 在第-1 天至第 20 天利用 10 μg/kg SCV-07 治疗的动物显示出粘膜炎评

分为 3 或更高的天数在统计学上的显著降低（P<0.001），并且在第 22 天（P=0.010）、第 24 天（P=0.022）、第 26 天（P=0.015）和第 28 天（P<0.001）的粘膜炎评分显著降低。

3. 在第-1 天至第 20 天利用 100 μg/kg SCV-07 治疗的动物显示出粘膜炎评分为 3或更高 的天数在统计学上的显著降低（P<0.001），并且在第 6天（P=0.015）、第 22 天（P=0.003）、第 24 天（P=0.005）、第 26 天（P<0.001）和第 28 天（P<0.001）的粘膜炎评分显著降低。

4. 在第-1 天至第 20 天利用 1mg/kg SCV-07 治疗的动物显示出粘膜炎评分为 3 或更高的天数在统计学上的显著降低（P<0.001），并且在第 6 天（P=0.015）、第 20 天（P=0.029）、第 22 天（P=0.012）、第 24 天（P=0.001）、第 26 天（P=0.003）和第 28 天（P<0.001）的粘膜炎评分显著降低。

1.1 背景

已经发现 KGF-1 和其他 FGF 家族成员在 BDF-1 中诱导口腔和食管粘膜表面的上皮增厚。认为 SCV-07 和衍生的 SCV-07 肽具有可能与 KGF-1 重叠的机制，并且发现了它们在其他粘膜损伤模型中的保护作用。

口腔溃疡粘膜炎是癌症药物治疗和放疗中常见的疼痛性、剂量限制性毒性。这种疾病被表征为导致形成溃疡性病变的口腔粘膜损坏。在粒细胞减少的患者中，伴有粘膜炎的溃疡是常导致败血症或菌血症的天然口腔细菌的常见入口。在接受抗肿瘤药物治疗的患者中，有三分之一以上发生一定程度的粘膜炎。在使用白血病诱导疗法或者多种骨髓移植预处理方案治疗的患者中，所述粘膜炎的发生频率和严重程度明显增加。在这些个体中，有四分之三以上的患者患有中度至重度粘膜炎并不罕见。中度至重度粘膜炎发生于几乎所有接受头部和颈部肿瘤放疗的患者中，并且通常始于 15Gy 的累积辐射量，而后在总剂量达到 60Gy 或以上时加重。

粘膜炎的发展在临床上经历三个阶段：

1. 疼痛性红斑，其通常可以由局部麻醉剂或非麻醉镇痛剂控制。

2. 常伴有假膜形成的疼痛性溃疡。在并发性骨髓抑制的情况下，由口腔起源的菌血症或败血症并不罕见。疼痛的强度通常需要麻醉药镇痛，常为肠胃外施用。

3. 自愈，发生在停止抗肿瘤治疗后的约 2-3 周。

目前，唯一批准用于预防和/或治疗粘膜炎的生物物质或药物是 Kepivance（palifermin）。Kepivance 的应用限于为治疗恶性血液病而接受干细胞移植的患者的粘膜炎。因此，粘膜炎的标准疗法由舒缓性洗剂组成，例如盐水、碳酸氢盐溶液、漱口液、局部镇痛剂（例如利多卡因）和/或全身施用的麻醉药。

粘膜炎作为生物过程的复杂性仅在最近才被关注。已经提出所述病症代表口腔粘膜细胞和组织、活性氧、促炎性细胞因子、凋亡介体、多个信号通路和局部因素（例如唾液和口腔微生物群）间的连续相互作用。尽管上皮细胞退化和损坏最终导致粘膜溃疡，但与辐射诱导的粘膜毒性相关的早期变化似乎发生在内皮和粘膜下层的结缔组织内。辐射和化疗两者引发粘膜炎发展的整体机制似乎是类似的。

1.2 利用顺铂的口腔粘膜炎化学-辐射模型。

已经证明由本课题的主要研究者开发的化学-辐射仓鼠口腔粘膜炎模型是提供对抗粘膜炎化合物初步评估的一项准确、有效且经济的技术。在这个模型中，仓鼠在第-1 天接受 5 mg/kg 的单剂量顺铂，接着在第 0 天在左侧颊囊接受 35Gy 的单剂量辐射，而在急性辐射研究中在第 0 天使用 40Gy 的单剂量。该模型中的粘膜炎病程与急性辐射模型非常类似，并在辐射后约 16-18 天达到粘膜炎评分峰值。

2. 研究目的和概述

2.1 研究目的

本研究的目的是评估皮下注射施用的 SCV-07 对由分次辐射方法诱导的口腔粘膜炎的发病频率、严重程度和持续时间的影响。

2.2 研究概述

仓鼠在第-1 天通过腹膜内注射接收 5 mg/kg 的单剂量顺铂，然后在第 0 天在左侧颊囊接收 35Gy 的单剂量辐射。这通过麻醉动物并将其左侧颊囊外翻，同时用铅屏保护动物其它部位而实现。如表 13 的详述，通过每天一次皮下注射施用测试物。在第 6 天开始，对粘膜炎进行临床评估，并每隔一天评

估，持续至第 28 天。从第-1 天至第 20 天施用测试物。

3. 评估

3.1 粘膜炎评估

从第 6 天开始对粘膜炎的级别进行评分，随后每隔一天进行评分，直至第 28 天（包括第 28 天）。根据以下参数，评估与安慰剂相比，每种药物治疗对粘膜炎的效果：

3.1.1 各组仓鼠具有溃疡粘膜炎（评分 ≥ 3）的不同天数的差异。

在进行评估的每一天，将各药物治疗组中粘膜炎盲测评分≥3 的动物数量与对照组进行比较。在累积的基础上比较差异，并通过卡方分析确定统计学上的显著性。在这个分析中，将功效定义为与对照组相比，动物组患有溃疡（评分 ≥ 3）的天数显著降低。

3.1.2 每日粘膜炎评分的秩和差异

对于每个评估日，利用非参数秩和分析将对照组的评分与治疗组的评分进行比较。如果治疗组从第 6 天至第 28 天中的两天或更多天的评分在统计学上显著降低，则认为是治疗成功。

3.2 重量和生存状态

每天都对所有动物进行称重并记录其生存状态，以评估治疗组间可能存在的动物体重差异，将其作为由治疗引起的粘膜炎严重程度和/或潜在毒性的指标。

4. 研究设计

40 只雄性叙利亚金色仓鼠在第-1 天通过腹膜内注射接受 5 mg/kg 顺铂。在第 0 天，向所有动物的左侧颊囊施用 35Gy 的急性辐射剂量。这通过麻醉动物并将左侧颊囊外翻，同时用铅屏保护动物其它部位而实现。如表 13 中的详述，通过皮下注射施用测试物，每天一次。在第 6 天开始，对粘膜炎进行临床评估，并每隔一天进行评估直至第 28 天。

表 13. SCI-04. 研究 设计

组	动物数	顺铂	辐射	治疗	治疗方案*	体积（mL）
1	10 只雄性	5 mg/kg, 第-1 天	35 Gy, 第 0 天	溶剂 (PBS), sc, qd	第-1 天至第 20 天	根据动物体重调整
2	10 只雄性	5 mg/kg, 第-1 天	35 Gy, 第 0 天	SCV-07, sc, qd, 10 μg/kg,	第-1 天至第 20 天	根据动物体重调整
3	10 只雄性	5mg/kg, 第-1 天	35 Gy, 第 0 天	SCV-07, sc, qd, 100 μg/kg,	第-1 天至第 20 天	根据动物体重调整
4	10 只雄性	5 mg/kg, 第-1 天	35 Gy, 第 0 天	SCV-07, sc, qd, 1.0 mg/kg	第-1 天至第 20 天	根据动物体重调整

*第 0 天在辐射前 30 分钟进行给药。

5. 材料和方 法

5.1 进行研究的场所

在马萨诸塞州沃特敦，经 Biomodels AAALAC 认可的实验室进行研究。该研究得到了 Biomodels IACUC 的的正式批准，IACUC 批准号 07-0620-01。

5.2 动物

使用在研究开始时为 5-6 周龄、平均体重为 90g 的雄性 LVG 叙利亚金色仓鼠（Charles River Laboratories）。利用耳号对每只动物进行编号，并以每笼约 10 只动物的小组进行圈养。在研究开始前，使动物适应环境 5 天，并在此期间，每天观察动物以淘汰不健康的动物。

5.3 圈养

在提供有过滤空气、温度为 70℉+/-5℉、相对湿度为 50% +/-20%的动物房中进行研究。设定动物房以保持最小为 12-15 的每小时换气量。所述动物房受自动定时器调控，保持 12 小时接通和 12 小时关闭的光/暗循环，没有微光。使用 *Bed-O-Cobs*®垫料。垫料最少每周更换一次。利用市售去污剂清洗笼、盖和瓶子等，并风干。使用市售消毒剂对表面和引入橱内的材料进行消毒。每天清扫地板并且每周最少利用市售去污剂拖洗两次。每个月利用稀释的漂白溶液将墙和笼架擦拭最少一次。对于所有笼舍，均使用具有确定研究、剂量、动物编号和治疗组所必须的适当信息的笼舍卡片或标签进行标记。记录研究过程中的温度和相对湿度，并保留记录。

5.4 饮食

使用 Purina Labdiet® 5061 鼠粮饲喂动物，并提供水，供其任意取食。

5.5 动物随机选择和分配

在辐射前，按照预期将动物随意分成 4 个治疗组。通过与个体编号对应的耳号识别每只动物。为了得到更为一致的身份识别，使用耳号编号而非标签，这是因为标签在研究过程中可能会被移动。使用笼舍卡片或标有研究编号（SCI-04）、治疗组编号和动物编号标的标签确定每个笼舍。

5.6 皮下给药和药物应用

提供粉末状的测试化合物人 SCV-07 肽，并在施用前溶于无菌的 PBS 中。利用具有 27G 针的结核毒素注射器施用 0.1 体积的药物。在背部或腹部进行皮下注射。

5.7 粘膜炎诱导

在这个研究中，用顺铂和辐射的组合诱导粘膜炎。在第-1 天单次注射（IP）施用 5 mg/kg 顺铂。在第 0 天施用 35Gy 的单焦点辐射剂量。利用 Philips 160kVp（千伏电压）（18.75-ma）X-射线源在 30cm 的焦距产生辐射，并使用 3.0mm 硬化 Al 过滤体系。以 3.32Gy/分钟的速率靶向辐射左侧颊囊。带有

Victoreen 模型 530 剂量计的所述源标度表明施用速率为 28.57 nC/分钟。利用这个标度，每只动物在每个辐射剂量接受的剂量约为 688.6nC（纳库仑）。在辐射前，利用腹膜注射氯胺酮(160mg/kg)和甲苯噻嗪(8 mg/kg)麻醉动物。利用铅屏，将左侧颊囊外翻、固定并进行分离。

5.8 粘膜炎评分

在上述研究的过程中，计算粘膜炎评分、体重变化和生存状态。为了对粘膜炎进行评估，利用吸入麻醉剂麻醉动物，并将左侧颊囊外翻。通过与经验证的图片判断标准进行比较，对粘膜炎进行目测评分，范围为 0（正常）至 5（严重溃疡，临床评分）。利用描述的方式，此判断标准的定义如下：

表 14 SCI-04：粘膜炎评分

评分	描述：
0	颊囊完全健康。没有红斑或血管舒张。
1	轻至重度红斑和血管舒张。没有粘膜糜烂。
2	重度红斑和血管舒张。粘膜表面糜烂，产生剥落区，但没有明显溃疡。粘膜点彩减少。
3	在一个或多个位置形成发白的溃疡。由于假膜，溃疡可能呈黄色/灰色。溃疡的累积面积约为颊囊的 1/4。重度红斑和血管舒张。
4	溃疡的累积面积约为颊囊的 1/2。柔韧性丧失。重度红斑和血管舒张。
5	目测所有颊囊都发生溃疡。柔韧性丧失（仅可从口腔翻出部分颊囊）。

认为 1-2 的评分代表疾病的轻度阶段，而 3-5 的评分表示中度至重度粘膜炎。目测评分后，利用标准技术对每只动物的粘膜进行拍照。在实验总结时，将所有底片显影并随机对照片进行编号。利用上述判断标准，由至少有两位经过训练的独立观察员对照片进行以盲测分级（盲测评分）。

6. 结果和讨 论

6.1 生存状态

在这个研究中没有观察到死亡。

6.2 体重变化

研究组之间的体重变化没有显著性差异。对每日平均百分体重变化数据进行评估。在研究过程中，盐水处理的对照仓鼠的平均体重增加值为其初始体重的 46.5%。在研究过程中，在从第-1 天至第 20 天接受 10ug/kg SCV-07 的组中，仓鼠的平均体重增加值为其初始体重的 51.3%。在研究过程中，在从第-1 天至第 20 天接受 100ug/kg SCV-07 的组中，仓鼠的平均体重增加值为其初始体重的 46.7%。在研究过程中，在从第-1 天至第 20 天接受 1mg/kg SCV-07 的组中，仓鼠的平均体重增加值为其初始体重的 48.8%。通过计算每只动物体重增加的曲线下面积（AUC）评估这些差异的显著性，然后利用单向 ANOVA 检验比较不同的治疗组。这个分析的结果表明不同治疗组之间没有显著差异（P=0.663）。

6.3 粘膜炎（表 15 和 16）

对照动物之间粘膜炎发展的动力学和严重程度与预期的一致。

计算每组的每日平均粘膜炎评分。在盐水处理的对照组，在第 18 天出现为 3.1 的粘膜炎平均评分峰值。从第-1 天至第 20 天接受 10ug/kg SCV-07 的组在第 16 天出现为 2.9 的粘膜炎平均评分峰值。从第-1 天至第 20 天接受 100ug/kg SCV-07 的组在第 14 天和第 16 天出现为 2.8 的粘膜炎平均评分峰值。在第-1 天至第 20 天接受 1 mg/kg SCV-07 的组在第 16 天出现为 3.2 的粘膜炎平均评分峰值。通过计算各组评分为 3 或更高的天数并利用卡方（χ^2）检验比较这些数字来评估在不同治疗组间观察到的差异的显著性。该分析的结果示于表 15 中。盐水处理的对照组仓鼠在所评估的 50%的动物日评分都为 3 或更高。从第-1 天至第 20 天接受 10 μg/kg SCV-07 的组中，在所评估的 34.2%的动物日观察到 3 或更高的粘膜炎评分，其与对照组之间并没有统计学上的显著差异（P<0.001）。从第-1 天至第 20 天接受 100 μg/kg SCV-07 的组中，在所评估的 29.2%的动物日观察到 3 或更高的粘膜炎评分，其与对照组之间存在统计学上的显著差异（P<0.001）。从第-1 天至第 20 天接受 100 μg/kg SCV-07 的组中，在所评估的 30.8%的动物日观察到 3 或更高的粘膜炎评分，其与对照组之间并没有统计学上的显著差异（P<0.001）。利用 Mann-Whitney 秩和分析对粘膜炎评分进行进一步分析，以比较各组的每日评分。这个分析的结果示于表 16 中。在此分析中，通常需要粘膜炎评分显著下降 2 天才能视

为粘膜炎明显缓解。与盐水对照相比，在第-1 天至第 20 天用 10 μg/kg SCV-07 治疗的组在第 22 天（P=0.010）、第 24 天（P=0.022）、第 26 天（P=0.015）和第 28 天（P<0.001）的粘膜炎明显较少。与盐水对照相比，在第-1 天至第 20 天用 100 μg/kg SCV-07 治疗的组在第 6 天（P=0.015）、第 22 天（P=0.003）、第 24 天（P=0.005）、第 26 天（P<0.001）和第 28 天（P<0.001）的粘膜炎明显较少。与盐水对照相比，在第-1 天至第 20 天用 1mg/kg SCV-07 治疗的组在第 6 天（P=0.015）、第 20 天（P=0.029）、第 22 天（P=0.012）、第 24 天（P=0.001）、第 26 天（P=0.003）和第 28 天（P<0.001）的粘膜炎明显较少。

组	≥3的天数	<3的天数	总天数	%≥3的天数	与对照组相比的卡方检验	P值
溶剂，qd, sc 第-1天至第20	120	120	240	50.0	-	-
SCV-07 10 ug/kg, qd, sc 第-1天至第20	82	158	240	34.2	11.702	<0.001
SCV-07 100 ug/kg, qd, sc 第-1天至第20	70	170	240	29.2	20.9160	<0.001
SCV-07 1 mg/kg, qd, sc 第-1天至第20	74	166	240	30.8	17.5190	<0.001

表 15. SCI-04 各组动物评分为 3 或更高的总天数的卡方分析。这个统计量是溃疡严重程度的计算值，是具有临床重要性的结果。

	天											
比较组	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28
对照 vs SCV-7 10 ug/kg, qd, sc 第-1天至第20天	0.296	0.422	0.393	0.560	0.271	0.488	0.179	0.100	0.010	0.022	0.015	<0.001
对照 vs SCV-7 100 ug/kg, qd, sc 第-1天至第20天	0.015	0.422	0.510	0.957	0.506	0.248	0.100	0.455	0.003	0.005	<0.001	<0.001
对照 vs SCV-7 1 mg/kg, qd, sc 第-1天至第20天	0.015	0.282	0.146	0.924	0.506	0.634	0.112	0.029	0.012	0.001	0.003	<0.001

表 16.SCI-04. 利用 Mann-Whitney 秩和检验，测定所观察的每日粘膜炎

评分的组间差异显著性。这个非参数统计量适合于粘膜炎目测评分判断标准。显示了各个计算的 P 值。下划线表示粘膜炎评分相对于对照的显著降低。

7. 结论

1. 根据死亡率和体重增加的观察结果，在该研究中没有来自 SCV-07 的任何毒性的证据。

2. 从第-1 天至第 20 天利用 10 μg/kg SCV-07 治疗的动物显示出粘膜炎评分为 3 或更高的天数在统计学上的显著降低(P<0.001)，并且在第 22 天（P=0.010）、第 24 天（P=0.022）、第 26 天（P=0.015）和第 28 天(P<0.001)的粘膜炎评分显著降低。

3. 从第-1 天至第 20 天利用 100 μg/kg SCV-07 治疗的动物显示出粘膜炎评分为 3 或更高的天数在统计学上显著降低(P<0.001)，并且在第 6 天（P=0.015）、第 22 天（P=0.003）、第 24 天（P=0.005）、第 26 天(P<0.001)和第 28 天(P<0.001)的粘膜炎评分显著降低。

4. 从第- 1 天至第 20 天利用 1mg/kg SCV-07 治疗的动物显示出粘膜炎评分为 3 或更高的天数在统计学上显著降低(P<0.001)，并且在第 6 天(P=0.015)、第 20 天 (P=0.029)、第 22 天(P=0.012)、第 24 天(P=0.001)、第 26 天(P=0.003)和第 28 天(P<0.001)的粘膜炎评分显著降低。

9. 附表

9.1 附表 7-动物体重

		天																												
组	动物	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
1	1	105	104	100	103	106	108	111	111	113	113	115	116	118	121	119	121	119	121	124	125	126	127	130	133	133	137	137	138	139	140
1	2	88	86	83	89	92	94	96	97	101	103	106	105	104	103	104	108	112	110	117	116	120	121	124	125	123	131	134	136	135	139
1	3	90	92	88	91	95	99	101	103	104	92	105	109	109	108	107	109	112	117	116	117	118	120	126	127	129	131	132	135	134	138
1	4	87	86	83	87	90	93	96	98	100	102	105	106	106	109	109	110	110	109	113	115	115	115	121	120	121	126	126	129	129	133
1	5	106	101	99	105	107	111	113	113	117	118	120	122	120	121	120	124	123	125	129	129	129	130	133	136	135	141	141	143	144	144
1	6	82	83	79	82	84	86	87	89	90	97	96	97	97	98	96	95	95	96	97	99	99	100	102	107	104	106	107	108	109	111
1	7	86	85	84	85	88	90	93	94	95	97	98	99	100	101	103	104	103	104	107	107	108	108	111	113	113	115	118	120	120	122
1	8	82	81	78	83	86	89	92	93	98	105	105	103	103	107	106	107	108	109	113	115	115	115	119	122	123	125	127	128	129	132
1	9	90	89	91	93	95	101	101	103	104	106	107	111	112	113	114	118	118	117	122	123	123	126	128	130	131	134	135	136	138	138
1	10	108	109	104	105	110	112	117	118	120	122	123	126	128	129	124	126	126	128	131	134	134	135	137	139	141	144	147	148	148	151
2	11	77	77	74	78	82	83	86	88	90	92	94	96	98	98	98	99	99	100	103	103	105	104	108	110	110	114	115	117	117	119
2	12	101	102	101	104	111	113	112	114	117	121	122	125	125	128	128	130	132	132	136	137	138	137	141	144	143	148	150	151	152	156
2	13	85	84	83	89	93	95	98	101	103	106	106	112	111	111	112	115	117	119	123	125	125	127	130	133	133	139	139	140	145	146
2	14	82	80	80	86	88	90	93	96	98	101	102	105	105	107	108	109	109	109	112	113	113	115	117	120	121	123	124	126	127	130
2	15	76	77	76	77	79	82	83	84	86	88	91	90	92	91	90	91	93	92	96	98	100	100	103	104	104	105	108	109	110	113
2	16	94	94	91	94	98	101	103	106	108	109	108	109	109	109	108	111	112	112	117	117	118	118	121	122	123	126	126	129	128	132
2	17	74	72	70	77	79	76	81	79	80	83	83	85	87	88	88	90	90	90	96	97	99	101	105	104	106	109	113	114	114	117
2	18	80	78	75	78	81	85	85	89	89	92	92	94	95	94	95	96	97	96	103	102	101	109	105	108	108	111	112	116	114	116
2	19	91	90	87	90	91	93	94	94	97	98	98	100	100	97	98	99	98	99	100	104	103	104	106	107	108	111	113	115	113	115
2	20	92	92	90	95	96	99	100	102	105	106	108	110	111	113	114	114	115	117	121	122	123	123	127	131	129	134	136	137	138	143
3	21	87	84	87	90	94	98	99	98	100	103	106	111	109	111	111	110	109	110	112	114	115	118	117	123	123	128	127	130	130	133
3	22	81	80	75	77	81	84	86	88	87	90	91	95	95	98	96	97	97	98	100	102	103	104	107	109	108	113	112	115	112	117
3	23	85	86	83	86	88	91	93	96	95	98	96	101	100	102	102	103	103	103	106	107	110	110	113	114	113	117	117	123	119	123
3	24	104	102	99	102	106	109	113	112	116	118	118	123	123	126	127	130	131	132	134	134	140	139	142	146	146	146	148	149	149	154
3	25	78	76	73	76	82	83	84	84	87	90	89	95	94	92	92	95	95	97	99	101	101	105	106	108	106	113	115	118	116	120
3	26	92	91	88	90	91	92	95	95	96	98	98	100	100	101	100	100	110	101	103	104	105	106	106	109	109	112	112	113	113	116
3	27	103	103	102	100	108	110	115	118	119	120	120	124	124	127	125	128	128	128	129	132	134	136	138	139	138	141	143	146	146	149
3	28	96	96	91	90	101	114	105	106	107	108	111	113	114	117	116	116	116	117	119	120	123	123	126	128	128	131	133	132	133	137
3	29	83	82	84	87	91	91	94	94	97	98	97	103	101	102	102	101	103	105	106	108	112	112	117	118	117	123	123	125	126	130
3	30	77	78	74	76	78	79	81	83	86	88	88	92	94	93	94	94	95	97	100	101	102	102	104	107	107	111	114	116	115	118
4	31	97	96	94	98	103	106	108	110	111	112	112	113	111	113	113	114	112	113	114	116	117	120	121	123	124	130	130	133	133	136
4	32	96	96	93	95	99	103	104	106	109	110	111	113	113	113	114	113	123	116	118	119	119	122	123	125	124	129	130	132	133	136
4	33	93	91	89	90	94	100	101	103	107	110	110	114	115	114	113	113	112	114	117	119	122	122	126	129	128	133	137	138	138	141
4	34	87	85	85	89	92	96	98	103	104	120	107	109	112	113	113	115	116	116	120	120	123	122	125	126	127	129	131	131	131	133
4	35	100	96	97	101	106	108	111	115	118	105	121	124	122	126	124	124	114	123	127	130	130	132	137	141	139	142	147	147	145	150
4	36	88	88	85	87	93	96	99	103	105	108	109	113	114	118	120	121	118	119	120	123	123	125	128	130	129	134	136	139	137	142
4	37	104	102	104	108	114	115	120	119	123	125	127	128	127	127	122	125	125	128	131	132	134	135	139	143	143	145	148	150	150	153
4	38	97	96	93	93	98	103	105	107	110	113	113	116	116	116	115	114	115	115	119	119	121	122	123	125	126	128	130	133	132	135
4	39	88	88	83	85	93	93	95	95	98	100	102	104	102	104	104	103	105	107	110	112	114	114	115	117	116	119	123	126	125	130
4	40	99	97	99	101	107	107	112	113	115	117	118	120	123	125	125	127	125	128	131	134	135	133	138	142	144	148	149	152	151	155

9.2 附表 8-粘膜炎评分

		天											
组	动物	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28
1	1	2	0	1	2	3	3	3	3	3	3	3	3
1	1	1	0	1	2	3	3	3	3	3	3	3	3
1	2	1	1	2	3	3	3	3	3	3	2	2	2
1	2	0	0	2	3	3	3	4	3	3	2	2	2
1	3	2	1	2	3	4	4	3	3	3	3	3	3
1	3	1	1	2	3	3	4	3	3	3	3	3	3
1	4	0	0	1	2	2	3	3	3	3	3	3	3
1	4	0	0	1	2	2	3	3	3	3	3	3	3
1	5	2	1	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3
1	5	1	1	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3
1	6	1	0	1	2	3	3	3	3	3	2	2	2
1	6	0	0	1	2	3	3	3	3	3	2	2	2
1	7	0	0	1	1	2	2	2	2	2	2	1	1
1	7	0	0	0	1	2	2	2	2	2	2	1	1
1	8	1	0	1	2	3	3	3	3	3	2	2	2
1	8	0	0	1	2	3	3	4	3	3	2	2	2
1	9	0	0	1	3	3	3	3	3	3	2	2	1
1	9	0	0	1	3	3	3	3	3	2	2	2	1
1	10	0	0	1	2	4	3	4	3	3	3	2	2
1	10	0	0	0	2	4	4	4	3	3	3	2	2
2	11	0	0	1	2	2	3	2	3	2	2	1	0
2	11	0	0	1	2	2	3	2	3	2	1	1	0
2	12	1	0	2	2	2	2	2	2	1	1	1	0
2	12	0	0	1	2	2	2	2	2	1	1	1	0
2	13	1	0	1	3	3	3	3	2	2	2	1	0
2	13	0	0	1	3	3	3	3	1	2	2	1	0
2	14	1	0	1	2	2	3	3	3	3	3	3	2
2	14	0	0	1	2	2	3	3	3	3	3	3	2
2	15	1	0	1	2	3	3	3	3	3	2	2	1
2	15	0	0	1	2	3	3	3	3	3	2	1	1
2	16	1	1	2	3	3	2	2	2	1	1	1	0
2	16	0	0	2	3	3	2	2	2	1	1	1	1
2	17	1	0	2	3	3	4	3	3	2	2	2	1
2	17	0	0	2	3	3	4	3	3	2	2	2	1
2	18	0	0	2	2	3	3	3	2	2	3	1	1
2	18	0	0	1	2	3	3	3	2	2	3	1	1
2	19	0	0	1	3	3	3	4	3	3	2	3	3
2	19	0	0	1	3	3	3	4	3	3	2	3	3
2	20	0	1	2	2	3	3	3	3	3	2	2	2
2	20	0	0	2	2	3	3	3	3	3	2	2	1