



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201739458 A

(43)公開日：中華民國 106 (2017) 年 11 月 16 日

(21)申請案號：106114364

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 04 月 28 日

(51)Int. Cl.：

A61K31/7105(2006.01)

C07H21/02 (2006.01)

C12N15/11 (2006.01)

C12N5/074 (2010.01)

C12N15/85 (2006.01)

(30)優先權：2016/04/29

美國

62/329,486

2017/04/06

美國

62/482,465

(71)申請人：先進再生醫療科技有限責任公司(美國) ADVANCED REGEN MEDICAL TECHNOLOGIES, LLC (US)

美國

(72)發明人：格雷可 史帝芬 約翰 GRECO, STEVEN JOHN (US)；拉美施瓦 普尼拉 RAMESHWAR, PRANELA (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：22 項 圖式數：3 共 68 頁

(54)名稱

微型 RNA(MICRORNA)組合物及其製造及使用方法

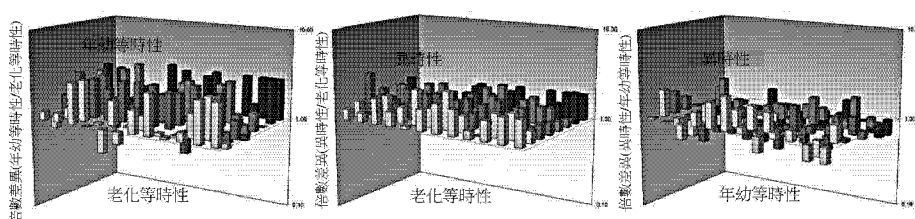
MICRORNA COMPOSITIONS AND METHODS OF MAKING AND USING SAME

(57)摘要

本發明揭示一種包含向個體投與包含經分離微型 RNA 之組合物之方法，該經分離微型 RNA 具有選自由以下組成之群之序列：miR-19a-3p (SEQ ID NO:1)；miR-103a-3p (SEQ ID NO:2)；miR-106b-5p (SEQ ID NO:3)；miR-146a-5p (SEQ ID NO:4)；miR-223-5p (SEQ ID NO:5)；miR-4497 (SEQ ID NO:6)；miR-1303 (SEQ ID NO:7)；miR-619-5p (SEQ ID NO:8)；miR-1273f (SEQ ID NO:9)；miR-7851-3p (SEQ ID NO:10)；其功能變體；及其組合。

A method comprising administering to a subject a composition comprising an isolated microRNA having a sequence selected from the group consisting of miR-19a-3p (SEQ ID NO:1); miR-103a-3p (SEQ ID NO:2); miR-106b-5p (SEQ ID NO:3); miR-146a-5p (SEQ ID NO:4); miR-223-5p (SEQ ID NO:5); miR-4497 (SEQ ID NO:6); miR-1303 (SEQ ID NO:7); miR-619-5p (SEQ ID NO:8); miR-1273f (SEQ ID NO:9); miR-7851-3p (SEQ ID NO:10); a functional variant thereof; and combinations thereof.

指定代表圖：



【圖 3】



201739458

【發明摘要】

申請日: 106/04/28

IPC分類: **A61K 31/7105** (2006.01)
G07H 21/02 (2006.01)
G12N 15/11 (2006.01)
G12N 5/074 (2010.01)
G12N 15/85 (2006.01)

【中文發明名稱】

微型RNA(MICRORNA)組合物及其製造及使用方法

【英文發明名稱】

MICRORNA COMPOSITIONS AND METHODS OF MAKING
AND USING SAME

【中文】

本發明揭示一種包含向個體投與包含經分離微型RNA之組合物之方法，該經分離微型RNA具有選自由以下組成之群之序列：miR-19a-3p (SEQ ID NO:1)；miR-103a-3p (SEQ ID NO:2)；miR-106b-5p (SEQ ID NO:3)；miR-146a-5p (SEQ ID NO:4)；miR-223-5p (SEQ ID NO:5)；miR-4497 (SEQ ID NO:6)；miR-1303 (SEQ ID NO:7)；miR-619-5p (SEQ ID NO:8)；miR-1273f (SEQ ID NO:9)；miR-7851-3p (SEQ ID NO:10)；其功能變體；及其組合。

【英文】

A method comprising administering to a subject a composition comprising an isolated microRNA having a sequence selected from the group consisting of miR-19a-3p (SEQ ID NO:1); miR-103a-3p (SEQ ID NO:2); miR-106b-5p (SEQ ID NO:3); miR-146a-5p (SEQ ID NO:4); miR-223-5p (SEQ ID NO:5); miR-4497 (SEQ ID NO:6); miR-1303 (SEQ ID NO:7); miR-619-5p (SEQ ID NO:8); miR-1273f (SEQ ID NO:9); miR-7851-3p (SEQ ID NO:10); a functional variant thereof; and combinations thereof.

【指定代表圖】

圖3

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

微型RNA(MICRORNA)組合物及其製造及使用方法

【英文發明名稱】

MICRORNA COMPOSITIONS AND METHODS OF MAKING
AND USING SAME

【技術領域】

本發明概言之係關於用於改良及/或修復細胞功能之一或多個態樣之組合物及方法。更特定而言，本發明係關於微型RNA之預防及/或治療使用。

【先前技術】

老化係大部分慢性疾病之重要風險因子且係大多數發病率及發達國家之醫療保健支出之主要因子。與細胞衰老相關之細胞功能降低導致通常與老化哺乳動物細胞相關之病症及功能失調。細胞衰老之強效誘導物係(表觀)基因組壓力，此可係由直接DNA損害、功能失調之端粒、破壞之染色質或強促有絲分裂信號造成。另外，細胞衰老可造成至少部分地由衰老相關分泌因子介導之慢性發炎。

業內持續需要用於改良因一或多種與細胞衰老相關之機制而不利地受影響之細胞功能之組合物及方法。此外，業內持續需要用於改良個體之細胞健康的組合物及方法。

【發明內容】

本文揭示方法，其包含向個體投與組合物，該組合物包含具有選自由以下組成之群之序列的經分離微型RNA：miR-19a-3p (SEQ ID

NO:1) ; miR-103a-3p (SEQ ID NO:2) ; miR-106b-5p (SEQ ID NO:3) ; miR-146a-5p (SEQ ID NO:4) ; miR-223-5p (SEQ ID NO:5) ; miR-4497 (SEQ ID NO:6) ; miR-1303 (SEQ ID NO:7) ; miR-619-5p (SEQ ID NO:8) ; miR-1273f (SEQ ID NO:9) ; miR-7851-3p (SEQ ID NO:10) ; 其功能變體 ; 及其組合。

本文亦揭示製備經修復幹細胞之方法，其包含i)獲得包含成體幹細胞之試樣；ii) 在具有選自由以下組成之群之序列的經分離微型RNA之存在下培養該試樣：miR-19a-3p (SEQ ID NO:1) ; miR-103a-3p (SEQ ID NO:2) ; miR-106b-5p (SEQ ID NO:3) ; miR-146a-5p (SEQ ID NO:4) ; miR-223-5p (SEQ ID NO:5) ; miR-4497 (SEQ ID NO:6) ; miR-1303 (SEQ ID NO:7) ; miR-619-5p (SEQ ID NO:8) ; miR-1273f (SEQ ID NO:9) ; miR-7851-3p (SEQ ID NO:10) ; 其功能變體 ; 及其組合，以產生該等經修復幹細胞；及iii) 自該試樣回收該等經修復幹細胞，其中與成體幹細胞相比時，該等經修復幹細胞之特徵在於一或多種選自由以下組成之群之基因之表現變化高於約1.5倍：C-abl致癌基因-1非受體酪胺酸激酶；V-akt鼠胸腺瘤病毒致癌基因同源物1；醛去氫酶1家族，成員A3；運動失調毛細血管擴張突變；BMI1多梳環指致癌基因；鈣網蛋白；週期蛋白A2；週期蛋白B1；週期蛋白D1；週期蛋白E1；CD44分子，細胞分裂週期25同源物C；週期蛋白依賴型激酶2；週期蛋白依賴型激酶4；週期蛋白依賴型激酶6；週期蛋白依賴型激酶抑制劑1A；週期蛋白依賴型激酶抑制劑1B；週期蛋白依賴型激酶抑制劑1C；週期蛋白依賴型激酶抑制劑2A；週期蛋白依賴型激酶抑制劑2B；週期蛋白依賴型激酶抑制劑2C；及週期蛋白依賴型激酶抑制劑2D。

本文亦揭示製備經修復幹細胞組合物之方法，其包含(i)獲得包含成體幹細胞之細胞試樣；(ii) 將載體構築體引入至成體幹細胞中，該載體構築體含有用於表現具有選自由以下組成之群之序列的經分離微型RNA之核酸序列：miR-19a-3p (SEQ ID NO:1)；miR-103a-3p (SEQ ID NO:2)；miR-106b-5p (SEQ ID NO:3)；miR-146a-5p (SEQ ID NO:4)；miR-223-5p (SEQ ID NO:5)；miR-4497 (SEQ ID NO:6)；miR-1303 (SEQ ID NO:7)；miR-619-5p (SEQ ID NO:8)；miR-1273f (SEQ ID NO:9)；miR-7851-3p (SEQ ID NO:10)；其功能變體；及其組合，以產生經修復幹細胞；及(iii) 回收該等經修復幹細胞。

本文亦揭示醫藥調配物，其包含成體幹細胞，其中該成體幹細胞包含含有啟動子元件之質體，該啟動子元件可操作地鏈接至用於表現具有選自由以下組成之群之序列的微型RNA之寡核苷酸：miR-19a-3p (SEQ ID NO:1)；miR-103a-3p (SEQ ID NO:2)；miR-106b-5p (SEQ ID NO:3)；miR-146a-5p (SEQ ID NO:4)；miR-223-5p (SEQ ID NO:5)；miR-4497 (SEQ ID NO:6)；miR-1303 (SEQ ID NO:7)；miR-619-5p (SEQ ID NO:8)；miR-1273f (SEQ ID NO:9)；miR-7851-3p (SEQ ID NO:10)；其功能變體；及其組合。

本文亦揭示醫藥調配物，其包含選自由以下組成之群之經分離微型RNA：miR-19a-3p (SEQ ID NO:1)；miR-103a-3p (SEQ ID NO:2)；miR-106b-5p (SEQ ID NO:3)；miR-146a-5p (SEQ ID NO:4)；miR-223-5p (SEQ ID NO:5)；miR-4497 (SEQ ID NO:6)；miR-1303 (SEQ ID NO:7)；miR-619-5p (SEQ ID NO:8)；miR-1273f (SEQ ID NO:9)；miR-7851-3p (SEQ ID NO:10)；其功能變體；及其組合。

【圖式簡單說明】

圖1係對細胞試樣進行免疫表現型分析之態樣的圖示。

圖2係transwell共培養裝置之圖示。

圖3係在不同幹細胞群體中所表現之微型RNA的三維胞外體剖析。

【實施方式】

本文闡述局部或全身地增加個體中本文所述類型之微型RNA之量的方法。舉例而言，本發明之方法可包含向個體投與包含一或多種本文所揭示類型之微型RNA之組合物。在另一態樣中，本發明涵蓋方法，其包含將已經改變以表現升高量之本文所揭示微型RNA之細胞引入個體中。在本發明之再一態樣中，方法包含向個體投與經改質以含有升高量之本文所揭示類型之微型RNA之微囊泡(例如，胞外體)。在一個態樣中，微囊泡膜之至少一部分係直接自細胞獲得。另一選擇，微囊泡係合成的。

在本發明之再其他態樣中，方法包含向個體投與經質體載體轉變之細胞，該質體載體提供本文所揭示類型之微型RNA的誘導性或組成性表現。該等方法可係治療性的且使得治療一或多種個體正經歷之不利的醫療病況。在替代中，該等方法本質上可係預防性的。

為更容易地理解本發明，下文首先定義某些術語。以下術語及其他術語之其他定義闡釋於本說明書通篇中。

微型RNA：如本文所用，術語「微型RNA (miRNA)」係指轉錄後調節子，其通常結合至目標信使RNA轉錄物(mRNA)之三個主要非翻譯區(3' UTR)中之互補序列，此通常導致基因靜默。通常，miRNA係短核糖核酸(RNA)分子，例如21或22個核苷酸長或更短。術語「微型RNA」與「miRNA」可互換使用。

微型RNA模擬物：如本文所用，係指合成之非編碼RNA，其能夠進入RNAi路徑並調節基因表現。如本文所用，「合成微型RNA」係指除內源性微型RNA外之任何類型RNA序列。微型RNA模擬物模擬內源性微型RNA之功能且可設計為成熟、雙鏈分子或模擬前體(例如，前體微型RNA (pri- or pre-microRNA))。微型RNA模擬物可包含經改質及未經改質之RNA、DNA、RNA-DNA雜合物或替代核酸化學品。

微囊泡：如本文所用，術語「微囊泡」係指包含源自各種細胞類型之細胞質膜之片段的膜質粒子。通常，微囊泡之直徑(或在粒子不為球體時最大尺寸)介於約10 nm至約5000 nm之間(例如，介於約50 nm與1500 nm之間、介於約75 nm與1500 nm之間、介於約75 nm與1250 nm之間、介於約50 nm與1250 nm之間、介於約30 nm與1000 nm之間、介於約50 nm與1000 nm之間、介於約100 nm與1000 nm之間、介於約50 nm與750 nm之間等)。適用於本發明之微囊泡可藉由膜反轉、胞外分泌、脫落、起泡及/或出芽起源於細胞。取決於生成之方式(例如，膜反轉、胞外分泌、脫落或出芽)，本文所涵蓋之微囊泡可展現不同表面/脂質特性。微囊泡之替代名稱包括(但不限於)胞外體、核外粒體、膜粒子、胞外體樣粒子及凋亡小泡。

個體：如本文中所用，術語「個體」係指人類或任何非人類動物(例如，小鼠、大鼠、兔、狗、貓、牛、豬、綿羊、馬或靈長類動物)。人類包括產前形式及產後形式。在許多態樣中，個體係人類。個體可為患者，其係指呈現給醫療提供者用於診斷或治療疾病之人類。術語「個體(subject)」在本文中可與「個體(individual)」或「患者」互換使用。個體可患有或易患疾病或病症，但可展現或可不展現該疾病或病症之症狀。

治療：如本文所用，係響應於患者所表現或患者可能敏感之疾病、病症或生理學狀況進行之臨床干預。治療之目標包括減輕或阻止症狀、減緩或停止疾病、病症或病況之進展或惡化及/或緩解疾病、病症或病況。

「治療」係指治療性治療或預防或預防性措施中之一或兩者。需要治療之彼等包括已經受疾病或病症或不期望之生理學狀況影響之彼等以及其中欲預防疾病或病症或不期望之生理學狀況之彼等。

有效量：如本文所用，係指足以產生有效或期望生物及/或臨床結果之量。

表現載體：如本文所用，係具有一系列能夠在宿主細胞中轉錄特定基因之指定核酸元件以重組或合成方式生成之核酸構築體。通常，將基因表現置於某些調節元件(例如組成型或誘導型啟動子)之控制下。

可操作地鏈接：如本文所用，係用於闡述調節元件與基因或其編碼區之間之連接。換言之，基因表現通常置於某些調節元件(例如但不限於，組成型或誘導型啟動子、組織特異性調節元件及增強子)之控制下。將基因或編碼區稱為「可操作地鏈接至(operably linked to, operatively linked to)」調節元件或「與調節元件可操作地相關聯」意指基因或編碼區由調節元件控制或影響。

醫藥上可接受：如本文所用，係指在所用劑量及濃度下對暴露於其之細胞或哺乳動物無毒或具有可接受程度之毒性之載劑、賦形劑或穩定劑，如由熟習此項技術者所確定。生理上可接受之載劑之非限制性實例係水性pH緩衝溶液。生理上可接受之載劑亦可包含以下中之一或多者：抗氧化劑(例如抗壞血酸)、低分子量(小於約10個殘基)多肽、蛋白質(例如血清白蛋白)、明膠、免疫球蛋白、親水性聚合物(例如聚乙烯吡咯啶酮)、

胺基酸、碳水化合物(例如葡萄糖、甘露糖或糊精)、螯合劑(例如EDTA)、糖醇(例如甘露糖醇或山梨糖醇)、形成鹽之相對離子(例如鈉)及非離子型表面活性劑(例如 Tween.TM.、聚乙二醇(PEG)及 Pluronics.TM.)。

經分離：如本文所用，術語「經分離」係指物質及/或實體已經(1)與在初始產生(無論係在自然界中及/或試驗環境中)時與其相關聯之至少一些組分分開、及/或(2) 手動產生、製備及/或製造。經分離之物質及/或實體可分離至少約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、約95%、約98%、約99%、實質上100%或100%初始產生時與其相關聯之其他組分。在一些態樣中，經分離之試劑為大於約80%、約85%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、實質上100%或100%純。如本文所用，若物質實質上不含其他組分，則其係「純的」。如本文所用，術語「經分離細胞」係指不包含於細胞生物體中之細胞。

在一個態樣中，用於本發明之組合物包含一或多種選自由以下組成之群之微型RNA：miR-19a-3p (SEQ ID NO:1)；miR-103a-3p (SEQ ID NO:2)；miR-106b-5p (SEQ ID NO:3)；miR-146a-5p (SEQ ID NO:4)；miR-223-5p (SEQ ID NO:5)；miR-4497 (SEQ ID NO:6)；miR-1303 (SEQ ID NO:7)；miR-619-5p (SEQ ID NO:8)；miR-1273f (SEQ ID NO:9)；miR-7851-3p (SEQ ID NO:10)；其功能變體；及其組合。如本文所用，術語微型RNA序列之「功能變體」係指與天然微型RNA序列不同、但保留微型RNA之一或多種功能特性(例如，特異性微型RNA靶標抑制)之寡核苷酸序列。在一些態樣中，微型RNA序列之功能變體保留微型

RNA之所有功能特性。在某些態樣中，微型RNA之功能變體具有核鹼基序列在約5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100或更多個核鹼基之範圍內與微型RNA或其前體至少約60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致，或其功能變體在嚴格雜交條件下雜交至微型RNA或其前體之互補體。因此，在某些態樣中，功能變體之核鹼基序列可能夠雜交至微型RNA之一或多個靶標序列。

在一些態樣中，本文所揭示微型RNA之功能變體包含與SEQ ID NO:1之至少約65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性；另一選擇與SEQ ID NO:2之至少65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性；另一選擇與SEQ ID NO:3之至少65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性；另一選擇與SEQ ID NO:4之至少65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性；另一選擇與SEQ ID NO:5之至少65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性；另一選擇與SEQ ID NO:6之至少65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性；另一選擇與SEQ ID NO:7之至少65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、

92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性；另一選擇與SEQ ID NO:8之至少65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性；另一選擇與SEQ ID NO:9之至少65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性；或另一選擇與SEQ ID NO:10之至少65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性。

在一些態樣中，本文所揭示微型RNA之功能變體包含與SEQ ID NO:1之65%至約99%序列一致性；另一選擇與SEQ ID NO:2之65%至約99%序列一致性；另一選擇與SEQ ID NO:3之65%至約99%序列一致性；另一選擇與SEQ ID NO:4之65%至約99%序列一致性；另一選擇與SEQ ID NO:5之65%至約99%序列一致性；另一選擇與SEQ ID NO:6之65%至約99%序列一致性；另一選擇與SEQ ID NO:7之65%至約99%序列一致性；另一選擇與SEQ ID NO:8之65%至約99%序列一致性；另一選擇與SEQ ID NO:9之65%至約99%序列一致性；或另一選擇與SEQ ID NO:10之65%至約99%序列一致性。

在一個態樣中，本文所揭示之任何微型RNA在利用時係實質上純的經分離分子。在本文中，實質上純係指在試樣中以重量計為總材料之至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、或超過90%、95%或99%時之微型RNA。因此，舉例而言，以化學方式合成、藉由重組技術產生或藉由已知純化技術分離之微型RNA分子通常將實質上不含其天然相關聯組分。因此，實質上純之微型RNA分子可(例如)藉由自天然源提取；表現編碼微型RNA分子之重組核酸分子；或化學合成來獲

得。

在一個態樣中，本發明之第一方法包含(i) 自個體獲得幹細胞；及(ii) 使所獲得幹細胞與本文所揭示類型之微型RNA締合，以形成經修復細胞。本發明方法可進一步包含將該等經修復細胞引入至個體中。

在本發明之另一態樣中，幹細胞係自個體獲得。在一些態樣中，個體鑑別為具有一或多種與不利醫療病況之發展相關聯之風險因子。在又一態樣中，個體尚未診斷出醫療病況及/或尚未鑑別為具有一或多種與醫療病況之發展相關聯之風險因子。預期，本文所揭示之方法可用於治療患有先前已經或當前正採用之其他療法所針對之醫療病況之個體。進一步預期，在一個態樣中，患者已經歷或當前正經歷一或多種針對與個體將使用本文所揭示之組合物及方法治療之醫療病況不相關之醫療病況之療法。在一個態樣中，個體具有一或多種年齡相關醫療病況。

在本發明之態樣中，個體投與有效量之驅動劑(mobilizer)。在本文中，「驅動劑」或「造血幹細胞或先驅細胞之驅動劑」(可互換使用)係指任何物質，無論其係合成小有機分子、自然衍生之小有機分子、多肽(例如生長因子或群落刺激因子或其活性片段或模擬物)、核酸、碳水化合物、抗體還是用於增強幹細胞自骨髓至周邊血液之遷移的任何其他試劑。此一「驅動劑」可增加周邊血液中幹細胞(例如，造血幹細胞或造血先驅/前體細胞)之數目，因此允許更易於獲得用於本文所揭示方法中之幹細胞源。可利用適用於增加個體中可以收穫之幹細胞數目且與本發明之其他態樣相容之任何驅動劑。在一個態樣中，驅動劑係細胞介素，例如粒細胞群落刺激因子(G-CSF)。適用於本發明之驅動劑之商業實例係NEUPOGEN®(非格司亭(filgrastim))，其係Amgen市售之用於治療嗜中性球減少症之處

方用藥。適用於本發明之驅動劑之另一實例係重組甲硫胺醯人幹細胞因子，其係作為STEMGEN®由Amgen市售。適用於本發明之驅動劑之另一實例係PLERIXAFOR，其係CXCR4趨化介素受體之抑制劑且阻斷其同源配體基質細胞衍生因子-1 α (SCF-1 α)之結合且係作為MOZOBIL®由Genzyme市售。

驅動劑之有效量可由熟習此項技術者依照最佳醫療實踐且慮及各種因素(包括例如且不限於個體之總體健康狀況及身體質量)來確定。

在投與驅動劑之後且在經過適宜時期之後；可自個體收穫細胞試樣。投與驅動劑至個體與收穫細胞試樣之間之時期可有所變化以符合一或多個使用者及/或製程目標。在一個態樣中，投與驅動劑與收穫細胞試樣之間之時期可在約24小時至約10天、另一選擇約48小時至約7天或另一選擇約3天至約5天之範圍內。

如熟習此項技術者所知，幹細胞以在各種器官及組織中鑑別出，包括腦、骨髓、周邊血液、血管、骨骼肌、皮膚、牙齒、心臟、腸、肝臟、卵巢上皮及睪丸。使用包含自己知為幹細胞源之任何組織獲得之幹細胞的細胞試樣實施本發明方法之各個態樣在本發明之範圍內。因此，本發明在一個態樣中涵蓋使用適於幹細胞源之方法自任何組織分離幹細胞。因此，在一些態樣中，本發明之方法包含自未投與本文所揭示類型驅動劑之個體獲得幹細胞。

在一個態樣中，細胞試樣係使用任何適宜方法(例如使用體外療法，例如血球分離)自個體收穫。血球分離係用於僅收集個體血液之特定部分之方法。其係基於血液之離心或快速旋轉工作。建立用於個體血液之路徑並使其連接至血球分離器件。該儀器使用小型幫浦以使血液及流體移動穿

過系統。一個幫浦抽吸血液離開導管之一個臂或一側並將其引導至離心機，在其中將血液分離為紅血球、白血球及血漿層。將一部分白血球層(其包括幹細胞、及少量血漿及紅血球)轉向至收集袋。剩餘血液在導管之另一臂或第二層中返回至個體。在此一態樣中，使用定位於靜脈中之靜脈穿刺針(intravenous needle)在個體之每一臂收穫細胞試樣。血液可自第一靜脈取出，穿過體外循環以分離出感興趣之細胞試樣且剩餘物質可返回至第二靜脈。

在一個態樣中，細胞試樣係直接自骨髓收穫。舉例而言，細胞試樣可自個體之髌嵴收穫。在該等態樣中，骨髓血球分離以獲得細胞試樣可涉及定位個體之後髌嵴之健康照護提供者，隨後實施標準預防措施，例如皮膚消毒及局部麻醉劑之投與。使帶有就位套針(stylet)之適宜針指向髌骨前上棘穿過皮膚及皮下組織緩慢前進。在到達後髌嵴時，可藉由針穿透該區域直至達到足夠深度為止。一旦針處於適當位置，即可移除套針，附接注射器並實施血球分離。

在一個態樣中，實施複數次幹細胞收集(例如，骨髓血球分離)以在細胞試樣中獲得一些使用者及/或製程期望之細胞數目。舉例而言，所收集細胞之數目可在 $1 \times 10^6 - 1.0 \times 10^9$ 個細胞/kg個體重量、另一選擇約 $2 \times 10^6 - 1.0 \times 10^8$ 個細胞/kg個體重量或另一選擇約 $5 \times 10^6 - 1.0 \times 10^8$ 個細胞/kg個體重量之範圍內。如本文所揭示收穫之細胞試樣可未經進一步處理用於本文所揭示之方法中。另一選擇，如本文所揭示收穫之細胞試樣可使用與本文所揭示之組合物及方法相容之任何方法進一步處理。另一選擇，如本文所揭示收穫之細胞試樣在用於本文所揭示之方法及療法之前可儲存一些時間。細胞試樣之儲存可涉及(例如)細胞試樣在生物相容溶液中

之冷凍儲藏以穩定試樣達儲存之持續時間。「生物相容溶液」係指使細胞試樣懸浮用於本文所揭示之細胞修復方法或任何其他隨後使用之溶液。該等生物相容溶液可包括鹽水且可進一步包含其他成分，例如防腐劑、抗菌劑及諸如此類。

在一個態樣中，細胞試樣包含成體幹細胞及/或成體幹細胞材料，其係指既非起源於胚胎亦非衍生自胚胎或胎兒組織之幹細胞或幹細胞材料。在一個態樣中，細胞試樣包含起源於胚胎及/或衍生自胚胎或胎兒組織之幹細胞及/或幹細胞材料。

在一個態樣中，如本文所揭示收穫之細胞試樣在用於本文所揭示之方法之前儲存大於約24小時。另一選擇，如本文所揭示收穫之細胞試樣在用於本文所揭示之方法之前儲存在約1小時至約20年範圍內之時期。另一選擇，如本文所揭示收穫之細胞試樣之儲存可為在約10天至約15年、另一選擇約30天至約10年或另一選擇約30天至約5年範圍內之時期。

如熟習此項技術者所瞭解，如此收穫之細胞試樣包含異質細胞群體。本文所揭示方法之態樣包含鑑別並定量細胞試樣中存在之細胞數目及類型。可採用適於表徵細胞試樣中存在之細胞數目及類型之任何方法。在一個態樣中，細胞試樣係藉由免疫分型來表徵。在本文中，免疫表現型分析係指出於鑑別試樣中各種群體之存在及比例之目的分析異質細胞群體。使用抗體以藉由檢測由該等細胞表現之特定抗原(稱為標誌)來鑑別細胞。在一個態樣中，細胞試樣係藉由免疫表現型分析使用諸如流式細胞術等技術來表徵。在替代態樣總，細胞試樣中所存在各種細胞類型之表徵可使用任何適宜方法(例如反轉錄聚合酶鏈反應(RT-PCR)或免疫細胞化學。

在一個態樣中，細胞試樣所存在之細胞群體或細胞類型係基於一或

多種細胞表面標誌之存在或不存在來鑑別。用於鑑別細胞試樣中之不同細胞群體(例如，細胞類型)之流式細胞術方案之態樣200呈現於圖1中。參見圖1，使細胞試樣210經歷流式細胞術。在一個態樣中，試樣210在第一階段可基於存在或不存在CD45分選為造血細胞220及非造血細胞230。CD45 (亦稱為白血球共同抗原(LCA)、T200、B220、Ly5及蛋白酪胺酸磷酸酶受體C型(PTPRC))係白血球特異性受體樣蛋白酪胺酸磷酸酶家族之跨膜醣蛋白。其表現於所有有核造血細胞上且可覆蓋高達10%之細胞表面積。CD45起到T細胞及B細胞抗原受體信號傳導之調節劑的作用且係細胞生長及細胞分化之調節劑。

在一個態樣中，識別為非造血幹細胞230之CD45-細胞可基於存在或不存在CD105進一步表徵。CD105 (亦稱為內皮醣蛋白(endoglin), HHT1, ORW及SH-1)係位於細胞表面上之I型膜醣蛋白且係TGF β 受體複合物之組分。CD105可在造血及血管生成中起作用。在一個態樣中，為CD45-及CD105+ 240二者之細胞群體表徵為具有間質幹細胞及內皮先驅細胞二者。

在一個態樣中，鑑別為CD45-及CD105+ 240二者之細胞群體可進一步分選為間質幹細胞及內皮先驅細胞。在一個態樣中，間質幹細胞鑑別為CD45-、CD105+、CD29+及CD44+ 250。CD29 (亦稱為血小板GPIIa、整合素 β 1及GP)係與極遲抗原受體相關聯之整合素單元且在細胞黏附中起作用。CD44 (亦稱為ECMR2、H-CAM、Pgp-1、HUTCH-1、Hermes抗原、吞噬細胞醣蛋白I、細胞外基質受體III、GP90淋巴球歸巢/黏附受體及透明質酸受體)在細胞黏附及遷移中起作用。在一個態樣中，內皮先驅細胞鑑別為CD45-、CD105+及CD31+ 260。CD31 (亦稱為PECAM-1、

endoCAM、血小板內皮細胞黏附分子及PECA-1)係在人類中由染色體17上發現之PECAM1基因編碼之蛋白質。認為CD31在細胞黏附、活化及遷移中起作用。

本發明之方法可進一步包含鑑別CD45+細胞220中所存在之不同造血細胞類型。在一個態樣中，在CD45+、CD34+及CD38-之基礎上將細胞群體鑑別為原始造血幹細胞270。在一個態樣中，在CD45+、CD34+及CD38+之基礎上將細胞群體鑑別為造血先驅細胞280。CD34 (亦稱為gp105-120及造血先驅細胞抗原(HPCA-1))係表現於早期造血及血管組織上之單次跨膜唾液黏蛋白家族之成員。認為CD34在中細胞黏附起作用。CD38 (亦稱為ADP核糖基環化酶、T10及環狀ADP核糖水解酶1)係由位於染色體4上之CD38基因編碼之多功能外核苷酸酶。在一個態樣中，細胞群體之至少一部分係CD45+及CD34- 290且鑑別為經分化造血細胞。在此一態樣中，經分化造血細胞290可進一步定義為T-淋巴球300或天然殺手細胞310。T-淋巴球可表徵為CD45+、CD34-及CD3+。CD3 (亦稱為T3)係蛋白質複合物且在T細胞與其他細胞類型之間之細胞黏附中起作用。天然殺手細胞可表徵為CD45+、CD34-及CD56+。CD56 (亦稱為Leu-19、NKH-1及中性細胞黏附分子(NCAM))係可在細胞-細胞黏附、神經突觸生長、突觸可塑性及學習與記憶中起作用之嗜同性結合醣蛋白。

在一個態樣中，細胞試樣可使用本文所揭示之方法表徵。該等表徵可導致鑑別細胞試樣中之細胞群體，其包括(但不限於)非造血細胞、間質幹細胞、內皮先驅細胞、造血細胞、原始造血幹細胞、造血先驅細胞、經分化造血細胞、T-淋巴球、天然殺手細胞或其組合。預期本文所述之表面標誌代表一種鑑別細胞試樣內存在之細胞群體之方法。如一般熟習此項技

術者所瞭解，可利用除本文所揭示以外之許多標誌及標誌組合來鑑別並表徵細胞試樣內存在之細胞群體。此外，細胞試樣中所存在各種細胞群體之鑑別可以本文所述之程度實施，可包括確定其他表面標誌之存在或不存在，可利用較本文所揭示少之標誌，或可實施至較小程度，使得鑑別細胞試樣內較少細胞群體。在一個態樣中，一種方法包含排除細胞試樣中所存在不同細胞群體之鑑別。

在一個態樣中，細胞試樣可進一步基於細胞試樣中所存在衰老細胞及非衰老細胞之數目表徵。在本文中，非衰老細胞係指保留分裂多次之能力而不顯示複製性衰老之細胞。在本文中，衰老細胞係指儘管持續具有生存力及代謝活性、但長期喪失增殖能力之細胞。

衰老細胞可使用各種度量鑑別，其包括例如增殖之喪失、形態變化、減小之端粒長度、增加之S- β -GAL活性、衰老相關之異染色質斑(SAHF)產生、增加之衰老相關之分泌因子(SASF)產生、增加之活性含氧物(ROS)產生、增加之DNA損害、降低之伴護蛋白(chaperone)介導之自噬或其組合。預期本文所述各種度量之變化係相對於確定為非衰老細胞之可比細胞類型來評估。或者，細胞試樣之特性可與相應非衰老細胞中分析度量所確立之文獻值比較。

非衰老細胞之特徵可在於其端粒長度及細胞中所存在端粒酶活性之程度。借助非限制性實例，細胞試樣中存在之非衰老細胞之特徵可在於端粒長度大於或等於約4千鹼基、另一選擇4.5千鹼基或另一選擇5千鹼基。熟習此項技術者應瞭解，指示非衰老細胞之端粒長度可視細胞類型而變化。因此，對於特定細胞類型，非衰老細胞之端粒長度特性可藉由例行試驗確定。

在一個態樣中，本文所揭示類型之細胞試樣包含大於90%非衰老細胞、另一選擇大於91%非衰老細胞、另一選擇大於92%非衰老細胞、另一選擇大於93%非衰老細胞、另一選擇大於94%非衰老細胞、另一選擇大於95%非衰老細胞、另一選擇大於96%非衰老細胞、另一選擇大於97%非衰老細胞、另一選擇大於98%非衰老細胞或另一選擇大於99%非衰老細胞。非衰老細胞之百分比係基於試樣中所存在細胞之總數。在一個態樣中，細胞試樣基於試樣中所存在細胞之總數包含約90%非衰老細胞至約99%非衰老細胞。

在一些態樣中，細胞試樣中存在之非衰老細胞可使用任何適宜方法鑑別。在該等態樣中，非衰老細胞可使用與本發明相容之任何適宜方法與衰老細胞分離，以獲得包含非衰老細胞、基本上由其組成或由其組成之細胞試樣。預期該等方法可經延伸以進一步界定存在或不存在特定細胞表面標誌之非衰老細胞群體且產生包含特定類型之非衰老細胞(例如，非衰老間質幹細胞、非衰老天然殺手細胞)、基本上由其組成或由其組成之細胞試樣。

在一個態樣中，可針對一或多種與細胞衰老相關聯之基因及/或蛋白質之表現程度對細胞試樣進行分析。該等分析可使用本文所揭示類型細胞之修復生物標誌蛋白質組(RBPP)及/或修復生物標誌基因表現組(RBGEP)來實施。

在一個態樣中，**RBPP**包含複數個針對與細胞老化及衰老有關之因子的抗體探針。舉例而言，**RBPP**可包含大於5個抗體探針、另一選擇大於10個抗體探針或另一選擇大於20個抗體探針。在一個態樣中，**RBPP**包含10至15個抗體探針。適用於本發明之**RBPP**的實例係包含一或多個針對表

1中所列示蛋白質之抗體探針之蛋白質陣列組(命名為RBPP-X1)：

表1

名稱	亦稱為	命名
顆粒性白血球群落刺激因子	群落刺激因子3	G-CSF
趨化介素配體26	伊紅趨素-3、巨噬細胞發炎性蛋白4- α , 胸腺基質趨化因子及IMAC	CCL26
肝細胞生長因子	肝細胞擴散因子(HSF)，	HGF
胰島素樣生長因子結合蛋白1	胎盤蛋白12 (PP12)	IGFBP-1
胰島素樣生長因子結合蛋白4		IGFBP-4
胰島素樣生長因子結合蛋白6		IGFBP-6
胰島素樣生長因子 β	分解代謝產物	IL- β
巨噬細胞發炎性蛋白3 (MIP3A)	趨化介素配體20、肝活化調節性趨化介素(LARC)	MIP-3 α
幹細胞因子	KIT配體、KL、青灰因子(steel factor)	SCF
胸腺及活化調節性趨化介素	趨化介素配體17 (CCL17)，	TARC
轉變生長因子 β 1		TGF- β 1
腫瘤壞死因子受體超家族成員1A		sTNFR1
血管內皮生長因子		VEGF

在一個態樣中，RBGEP可包含大於5個基因探針、另一選擇大於10個基因探針或另一選擇大於20個基因探針。在一個態樣中，RBGEP包含10至15個基因探針。在一些態樣中，RBGEP包含針對與細胞週期或p53途徑之調節有關之因子(例如 IFBP3、CSC25C、ABL1、CDKN2B、ALDH1A3、SIRT1、ING1、CITED2、CDKN1C或其組合)的基因探針。

RBGEP可進一步包含用於與發炎過程之調節相關聯之因子(例如CDKN1A、IRF3、EGR1、IFNG、CDKN1B、NFKB1、SERPING2、IGFBP7、IRF7或其組合)的基因探針。RBGEP可進一步包含用於與DNA損害有關過程之調節相關聯之因子(例如PCNA、TERT、TP53BP1或其組合)的基因探針。RBGEP可進一步包含用於與氧化性壓力相關聯之因子(例如PRKCD、SOD1、NOX4或其組合)的基因探針。RBGEP可進一步包含用於與細胞衰老相關聯之因子(例如CDKN2A、CDK6、TWIST、ATM、CCND1、ETS2、RBL2、BMI1、ETS1或其組合)的基因探針。RBGEP可進一步包含用於與MAPK途徑相關聯之因子(例如HRAS、MAP2K3或其組合)的基因探針。RBGEP可進一步包含用於與細胞骨架功能相關聯之因子(例如VIM、PIK3CA、THBS1或其組合)的基因探針。RBGEP可進一步包含用於與p16效應物途徑相關聯之因子(例如TBX3、TBX2或其組合)的基因探針。RBGEP可進一步包含用於與胰島素信號傳導相關聯之因子(例如IGFBP5)的基因探針。RBGEP可進一步包含用於與細胞黏附相關聯之因子(例如CDL3A1、CD44、TGFB1A、CDL1A1、TGFB1或其組合)的基因探針。RBGEP可進一步包含用於與p53效應物途徑相關聯之因子(例如E2F1、MYC或其組合)的基因探針。適用於本發明之RBGEP(命名為RBGEP-X1)的實例係包含一或多個針對表2中所列示蛋白質之cDNA之基因組：

表2

基因	所編碼之蛋白
IGFBP3	胰島素樣生長因子結合蛋白3
HRAS	轉變蛋白p21
PRKCD	蛋白激酶C δ

AKT1	α 絲胺酸/蘇胺酸蛋白激酶
CHEK2	檢查點激酶2
MAPK14	促分裂原活化蛋白激酶14
IGF1	胰島素樣生長因子
TWIST1	Twist相關蛋白1
CDC25C	M相誘導磷酸酶3
CCNA2	週期蛋白A2
CDK5	細胞分裂蛋白激酶6
CCNE1	G1/S-特異性週期蛋白E1
CHEK1	檢查點激酶1

在一個態樣中，使至少一部分細胞試樣經歷利用**RBPP-X1**陣列之蛋白質陣列分析、使用**RBGEP-X1**陣列之基因表現分析或二者。在替代態樣中，至少一部分細胞試樣經歷利用任何適宜蛋白質及/或基因陣列之蛋白質陣列分析、基因表現分析或二者。

在一個態樣中，細胞試樣經歷至少一種分析技術以表徵細胞試樣之品質。在本文中，細胞試樣之「品質」係指用於表徵試樣之細胞健康的因子且包括多個參數，例如試樣中所存在細胞之數目及類型；試樣中衰老細胞與非衰老細胞之比率；一組基因及/或蛋白質生物標誌之表現程度；試樣中細胞之平均端粒長度；試樣中細胞之天然免疫功能之狀態或其組合。端粒長度可使用任何適宜方法(例如，末端限制性片段(**TRF**)分析)來測定。天然免疫功能可使用任何適宜方法(例如⁵¹Cr細胞毒性釋放天然殺手細胞分析)來評價。細胞試樣品質可為試樣中之細胞用以改良及/或修復細胞試樣中之細胞的一或多種細胞功能之能力的評估。細胞試樣品質可為試樣中之細胞當經歷本文所揭示之組合物及方法時用以展現改良及/或修復一或多種細胞功能之能力的評估。

細胞試樣品質可指派在1至10範圍內之數值，其中具有可修復或可改良細胞功能之試樣具有10之值，且細胞功能未能明顯改良及/或修復之試樣具有1之值。舉例而言，以下因素中之每一者可於細胞試樣品質之表徵中正加權：相對較長端粒長度；促衰老基因及/或蛋白質之中等表現程度；及大於約90%非衰老細胞之百分比。展現該等特性之受體細胞試樣可給予10之試樣品質值。

利用本文所揭示之品質度量(例如，端粒長度、非衰老細胞之百分比)，本發明之態樣包含評價細胞試樣之品質及鑑別適用於所揭示方法中之試樣。舉例而言，品質值小於3之細胞試樣可視為不適用於本發明所揭示之方法中。應瞭解，品質值可基於用於評估細胞試樣品質之任何數量之度量來指派。因此，基於用於進行品質值之指派的參數，與具體品質值相關聯之特性可不同。

在一些態樣中，將已經歷本文所述之定性和定量表徵中之一或多者之細胞試樣進一步處理以提供一些使用者及/或製程期望之含有預定細胞類型及數量之試樣。

在一個態樣中，本發明之方法進一步包含使自個體獲得之幹細胞與本文所揭示類型之微型RNA締合。舉例而言，所獲得幹細胞可在本文所揭示類型之微型RNA之存在下使用在約1 nM至約1000 nM、另一選擇約10 nM至約500 nM或另一選擇約30 nM至約300 nM範圍內之量之微型RNA培養。舉例而言，所獲得幹細胞可在適當培養基中在本文所揭示類型之微型RNA之存在下培養約24小時至約6週、另一選擇約1週至約5週或另一選擇約2週至約4週之範圍內的時期。在本文中，培養基(亦稱為生長培養基)係指含有適當營養物以支撐細胞生長之液體或凝膠。適宜培養基

可由熟習此項技術者利用本發明之益處選擇。所獲得幹細胞之培養可在標準組織培養條件(例如具有10%胎牛血清(Sigma)之RPMI-1640 (Sigma)或STEMSPAN ACF (Stem Cell Technologies))下實施。

在替代態樣中，本發明方法包含將能夠誘導性或組成性表現一或多種本文所揭示類型之微型RNA之載體引入至幹細胞。舉例而言，可表現形式之微型RNA可位於載體上，例如質體、黏接質體、噬菌體質體、病毒及其他原子病毒或細菌源之媒介。在一個態樣中，本文所揭示類型之微型RNA中之一或多者位於進一步包含一或多個活體內表現元件(例如啟動子元件、增強子元件及選擇元件)之載體上。在一個態樣中，表現本文所揭示類型之微型RNA之基因序列可操作地鏈接至載體之一或多個元件，例如鏈接至啟動子元件。將微型RNA引入至幹細胞可經由用於將載體引入細胞(例如，基因轉移)之任何適宜方法(例如轉染及轉導)來實施。所獲得幹細胞一旦與本文所揭示類型之微型RNA締合(例如，經由培養或載體引入)，其即經修復並命名為經修復細胞(RC)。

在一個態樣中，本發明涵蓋利用本文所揭示之微型RNA及/或RC作為組合物用於投與給需要其之個體。在一個態樣中，微型RNA及/或RC可係局部或全身投與給個體之醫藥調配物之組分。在一個態樣中，本文所揭示類型之微型RNA與媒劑(例如奈米粒子、微胞、脂質體、非離子表面活性泡囊(niosome)、微球、環糊精及諸如此類)聯合使用。在一個態樣中，該等媒劑進一步包含一或多種成分以將載劑或媒劑引導至個體之特定細胞、組織或器官。

在一個態樣中，將RC局部或全身地投與給需要其之個體。本文所揭示之治療方法通稱為細胞修復，其中使自個體取出並使用本文之方法及組

合物修復之細胞返回至該個體。在一個態樣中，此揭示內容涵蓋使用本文所揭示之方法及組合物處理自第一個體取出之成體幹細胞並將經處理細胞(即，RC)投與給第二個體。此替代態樣稱為授受性細胞修復療法。亦涵蓋，在本發明之細胞修復療法及/或授受性細胞修復療法之另一態樣中，將RC引入至實際年齡不同於提供幹細胞之個體的個體。在本文中，RC及無細胞組合物統稱為修復劑(RAG)。

在一些態樣中，投與RAG之適當途徑係基於各種因素選擇，例如醫療病況之類型、基本病因、病況之嚴重性等。適宜投與途徑包括(但不限於)經口、經靜脈內、經直腸、噴霧、非經腸、經眼、經肺、經黏膜、經皮、經陰道、經眼睛、經鼻及局部投與。另外，僅舉例而言，非經腸遞送包括肌內、皮下、靜脈內、髓內注射、以及鞘內、直接心室內、腹膜腔內、淋巴內及鼻內注射。

在一些態樣中，RAG經調配用於經口投與，例如藉由將活性劑(例如，RC)與(例如)醫藥上可接受之載劑或賦形劑組合。在各個態樣中，將RAG (例如無細胞組合物)調配成口服劑型，該等劑型包括(僅舉例而言)錠劑、粉劑、丸劑、糖衣錠、膠囊、液體、凝膠、糖漿、酏劑、漿液、懸浮液及諸如此類。

在其他態樣中，RAG局部投與。局部投與可尤其用於治療或預防由損傷或手術造成之結疤。RAG可調配成各種可局部投與之組合物，例如溶液、懸浮液、洗劑、凝膠、糊劑、藥用棉棒、藥膏、乳霜或軟膏。該等醫藥組合物視情況含有增溶劑、穩定劑、張力增強劑、緩衝劑及防腐劑。

在一些態樣中，RAG經調配用於經皮投與。經皮調配物可採用經皮遞送器件及經皮遞送貼片且可係溶解及/或分散於聚合物或黏結劑中之親

脂性乳液或經緩衝水溶液。在各個態樣中，該等貼片經構造用於連續、脈衝式或隨選即用地(on demand)遞送醫藥藥劑。在額外態樣中，**RAG**之經皮遞送係借助電離子透入貼片及諸如此類完成。在某些態樣中，經皮貼片提供**RAG**之受控遞送。在特定態樣中，吸收速率係藉由使用速率控制膜或藉由將化合物捕集於聚合物基質或凝膠中來減緩。在替代態樣中，吸收增強劑用於增加吸收。吸收增強劑或載劑包括幫助穿過皮膚之可吸收醫藥上可接受之溶劑。舉例而言，在一個態樣中，經皮器件可呈繃帶形式，其包含背襯部件、含有**RAG**視情況連同載劑之儲液器、視情況用於以受控及預定速率經長時期將化合物遞送至宿主皮膚之速率控制屏障以及用以將器件固定至皮膚之構件。

在其他態樣中，**RAG**經調配用於藉由吸入投與。適用藉由吸入投與之各種形式包括(但不限於)氣溶膠、薄霧或粉劑。**RAG**方便地以氣溶膠噴霧形式遞送，該氣溶膠噴霧係借助於適宜推進劑(例如，二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳或其他適宜氣體)自加壓包或噴霧器呈遞。在特定態樣中，加壓氣溶膠之劑量單位係藉由提供閥以遞送計量量來確定。在某些態樣中，用於吸入器或吹入器之(例如，僅舉例說明)明膠之膠囊及藥筒經調配含有**RAG**與適宜粉末基質(例如乳糖或澱粉)之粉末混合物。

如上所論述，涵蓋可用於治療特定病況或遞送至特定細胞、組織、器官等之其他投與途徑。投與**RAG**之方式可包括(但不限於)輸注。全身性地，亦可包括(例如)藉由幫浦、靜脈留置管或彈丸注射。彈丸注射可包括皮下、肌肉或腹膜腔途徑。

如本文所用，片語「全身投與」或「全身性投與」意指本發明化合

物、組合物、藥物或其他材料之投與使得其進入個體之系統且因此經歷新陳代謝及其他類似過程，例如皮下投與。

在其他態樣中，**RAG**係借助(例如但不限於)注射、植入、移植或皮上局部投與。舉例而言，**RAG**可鄰近個體之傷口位點投與並起到緩解與傷口相關之症狀或增加傷口癒合之速率。**RAG**之投與可以與本文所揭示之組合物相容且符合一或多個使用者及/或製程目標之任何方式實施。

在另一態樣中，**RAG**可經調配用於投與個體以改良個體之總體健康狀況。該等改良可藉由定量評價個體之一或多個生理或心理學參數來鑑別。在替代中，該等改良可藉由定性評價個體之一或多個生理或心理學參數來鑑別。

在替代態樣中，投與 **RAG** 之個體可投與認為有益於醫療病況之治療的額外活性劑。該等額外活性劑可和投與 **RAG** 時一起投與。額外活性劑之實例包括(但不限於)：(a) 抗菌劑、(b) 類固醇(例如，氫化可體松(hydrocortisone)、曲安西龍(triamcinolone))；(c) 止痛藥(例如，阿司匹靈(aspirin)、NSAID 及局部麻醉劑)；(d) 消炎劑；(e) 生長因子；(f) 細胞介素；(g) 激素；或(h)其組合。該等額外活性劑亦可以治療有效量存在。

用於與**RAG**一起投與之額外活性劑之實例包括(但不限於)麻醉劑、安眠藥、鎮靜劑及睡眠誘導劑、抗精神病藥、抗抑鬱藥、抗過敏藥、抗心絞痛藥、抗關節炎藥、平喘劑、抗糖尿病藥、止瀉藥、抗驚厥藥、抗痛風藥、抗組胺藥、止癢劑、催吐藥、止吐劑、鎮痙劑、食慾抑制藥、神經活性物質、神經傳遞質促效劑、拮抗劑、受體阻斷劑及再攝取調節劑、 β 腎上腺素阻斷劑、鈣通道阻斷劑、二硫龍(disulfuram)及類二硫龍藥物、肌

肉鬆弛劑、鎮痛藥、退熱劑、刺激劑、抗膽鹼酯酶劑、擬副交感神經劑、
 激素、抗凝血劑、抗血栓藥、溶血栓藥、免疫球蛋白、免疫阻抑劑、激素
 促效劑/拮抗劑、維他命(vitamins)、抗微生物劑、抗腫瘤藥、製酸劑、消
 化劑、緩瀉劑、瀉藥、防腐劑、利尿劑、消毒劑、殺真菌劑、殺體外寄生
 蟲劑、抗寄生蟲藥、重金屬、重金屬拮抗劑、螯合劑、氣體及蒸氣、生物
 鹼、鹽、離子、自泌素、洋地黃(digitalis)、強心苷、抗心律不整劑、抗
 高血壓藥、血管舒張劑、血管收縮劑、抗毒蕈鹼類藥、神經節刺激劑、神
 經節阻斷劑、神經肌肉阻斷劑、腎上腺素能神經抑制劑、抗氧化劑、維他
 命、化妝品、消炎劑、傷口護理產品、抗凝血劑、抗腫瘤劑、抗血管形成
 劑、麻醉劑、抗原劑、傷口癒合劑、植物提取物、生長因子、軟化劑、濕
 潤劑、排斥/抗排斥藥物、殺精子劑、調理劑、抗細菌劑、抗真菌劑、抗
 病毒劑、抗生素、鎮靜劑、降膽固醇藥物、鎮咳藥、組胺阻斷藥物、單胺
 氧化酶抑制劑或其組合。

適於與RAG一起使用之特定化合物包括(但不限於)磺胺嘧啶銀、製
 黴素(Nystatin)、製黴素/曲安西龍、枯草桿菌(Bacitracin)、硝糠脞
 (nitrofurazone)、硝基呋喃妥因(nitrofurantoin)、多黏菌素(例如，柯利黴
 素(Colistin)、表面素(Surfactin)、多黏菌素E及多黏菌素B)、道克斯黴素
 (doxycycline)、抗微生物肽(例如，天然及合成起源)、NEOSPORIN[®]
 (即，枯草桿菌、多黏菌素B及新黴素(Neomycin))、POLYSPORIN[®]
 (即，枯草桿菌及多黏菌素B)。額外抗菌劑包括局部抗菌劑(即，防腐
 劑)，其實例包括銀鹽、碘、苯紮氯銨(benzalkonium chloride)、酒精、過
 氧化氫、洛赫西定(chlorhexidine)、乙醯胺酚(acetaminophen)；鹽酸阿芬
 他尼(Alfentanil Hydrochloride)；胺基苯甲酸鉀；胺基苯甲酸鈉；阿尼多

昔(Anidoxime)；阿尼利定(Anileridine)；鹽酸阿尼利定；鹽酸阿尼洛泮(Anilopam Hydrochloride)；阿尼羅酸(Anirolac)；安替比林(Antipyrine)；阿司匹靈；苯惡洛芬(Benoxaprofen)；鹽酸苳達明(Benzydamine Hydrochloride)；鹽酸比西發定(Bicifadine Hydrochloride)；鹽酸布芬太尼(Brifentanil Hydrochloride)；馬來酸溴朵林(Bromadoline Maleate)；溴芬酸(Bromfenac Sodium)；鹽酸丁丙諾非(Buprenorphine Hydrochloride)；布他西丁(Butacetin)；布替西雷(Butixirate)；布托啡諾(Butorphanol)；酒石酸布托啡諾；卡巴咪嗪(Carbamazepine)；卡巴匹林鈣(Carbaspirin Calcium)；鹽酸卡比芬(Carbiphen Hydrochloride)；檸檬酸卡芬太尼(Carfentanil Citrate)；琥珀酸環丙法多(Ciprefadol Succinate)；西拉馬多(Ciramadol)；鹽酸西拉馬多；氯尼舍林(Clonixeril)；氯尼克辛(Clonixin)；可待因(Codeine)；磷酸可待因；硫酸可待因；鹽酸柯洛呋酮(Conorphone Hydrochloride)；環佐辛(Cyclazocine)；鹽酸右奧沙屈(Dexoxadrol Hydrochloride)；右培美酸(Dexpemedolac)；地佐辛(Dezocine)；二氟尼柳(Diflunisal)；重酒石酸二氫可待因(Dihydrocodeine Bitartrate)；二甲法登(Dimefadane)；安乃近(Dipyrone)；鹽酸多匹可明(Doxpicomine Hydrochloride)；胺甲茛酮(Drinidene)；鹽酸依那朵林(Enadoline Hydrochloride)；依匹唑(Epirizole)；酒石酸麥角胺(Ergotamine Tartrate)；鹽酸依託沙秦(Ethoxazene Hydrochloride)；依託芬那酯(Etofenamate)；丁香酚(Eugenol)；非諾洛芬(Fenoprofen)；非諾洛芬鈣；檸檬酸芬太尼(Fentanyl Citrate)；夫洛非寧(Floctafenine)；氟苯沙酸(Flufenisal)；氟尼辛(Flunixin)；氟尼辛葡甲胺；馬來酸氟吡汀(Flupirtine Maleate)；氟

丙嗪宗(Fluproquazone)；鹽酸氟朵林(Fluradoline Hydrochloride)；氟比洛芬(Flurbiprofen)；鹽酸二氫嗎啡酮(Hydromorphone Hydrochloride)；異丁芬酸(Ibufenac)；吲哚布洛芬(Indoprofen)；凱他佐辛(Ketazocine)；酮啡諾(Ketorfanol)；三木甲胺克妥洛(Ketorolac Tromethamine)；鹽酸來替米特(Letimide Hydrochloride)；左醋美沙朵(Levomethadyl Acetate)；鹽酸左醋美沙朵；鹽酸左南曲多(Levonantradol Hydrochloride)；羥甲左嗎南酒石酸(Levorphanol Tartrate)；鹽酸洛非咪唑(Lofemizole Hydrochloride)；草酸洛芬太尼(Lofentanil Oxalate)；洛西那朵(Lorcinadol)；氯諾昔康(Lomoxicam)；柳酸鎂；甲芬那酸(Mefenamic Acid)；鹽酸美納比坦(Menabitan Hydrochloride)；鹽酸哌替啶(Meperidine Hydrochloride)；鹽酸美普他酚(Meptazinol Hydrochloride)；鹽酸美沙酮(Methadone Hydrochloride)；乙醯美沙酮(Methadyl Acetate)；甲氧夫啉(Methopholine)；甲氧異丁嗪(Methotrimeprazine)；乙酸美克法胺(Metkephamid Acetate)；鹽酸米姆本(Mimbane Hydrochloride)；鹽酸米芬太尼(Mirfentanil Hydrochloride)；嗎啉那宗(Molinazone)；硫酸嗎啡(Morphine Sulfate)；莫沙佐辛(Moxazocine)；鹽酸納比坦(Nabitan Hydrochloride)；鹽酸納布啡(Nalbuphine Hydrochloride)；鹽酸納美酮(Nalmexone Hydrochloride)；納莫雷特(Namoxyrate)；鹽酸南曲朵(Nantradol Hydrochloride)；萘普生(Naproxen)；萘普生鈉；萘普索(Naproxol)；鹽酸奈福泮(Nefopam Hydrochloride)；鹽酸奈西利定(Nexeridine Hydrochloride)；鹽酸諾美沙朵(Noracymethadol Hydrochloride)；鹽酸奧芬太尼(Ocfentanil Hydrochloride)；奧他醯胺(Octazamide)；奧伐尼

(Olvanil)；富馬酸奧昔托隆(Oxetorone Fumarate)；經考酮(Oxycodone)；鹽酸經考酮；對苯二甲酸經考酮；鹽酸經嗎啡酮(Oxymorphone Hydrochloride)；培美酸(Pemedolac)；戊嗎酮(Pentamorphone)；噴他佐辛(Pentazocine)；鹽酸噴他佐辛；乳酸噴他佐辛；鹽酸非那吡啶(Phenazopyridine Hydrochloride)；鹽酸非尼拉朵(Phenylramidol Hydrochloride)；鹽酸哌西那朵(Picenadol Hydrochloride)；匹那朵林(Pinadoline)；吡非尼酮(Pirfenidone)；吡羅昔康乙醇胺(Piroxicam Olamine)；馬來酸普拉朵林(Pravadoline Maleate)；鹽酸普地利定(Prodilidine Hydrochloride)；鹽酸普羅法朵(Profadol Hydrochloride)；富馬酸哌丙吡胺(Propirarn Fumarate)；鹽酸丙氧芬(Propoxyphene Hydrochloride)；萘磺酸丙氧芬(Propoxyphene Napsylate)；普羅沙唑(Proxazole)；檸檬酸普羅沙唑；普羅啡烷酒石酸(Proxorphan Tartrate)；鹽酸吡咯利芬(Pyrroliphen Hydrochloride)；鹽酸瑞芬太尼(Remifentanil Hydrochloride)；柳膽來司(Salcolex)；馬來酸沙乙醯胺(Salethamide Maleate)；柳醯胺(Salicylamide)；柳酸葡甲胺；雙柳酸酯(Salsalate)；柳酸鈉；甲磺酸螺朵林(Spiradoline Mesylate)；舒芬太尼(Sufentanil)；檸檬酸舒芬太尼；他美辛(Talmetacin)；他尼氟酯(Talniflumate)；他洛柳酯(Talosalate)；琥珀酸他紮朵林(Tazadolene Succinate)；特丁非隆(Tebufelone)；四氫甲吲胺(Tetrydamine)；替呋拉酸鈉(Tifurac Sodium)；鹽酸替利定(Tilidine Hydrochloride)；硫平酸(Tiopinac)；甲磺酸托那佐辛(Tonazocine Mesylate)；鹽酸曲馬朵(Tramadol Hydrochloride)；鹽酸曲芬太尼(Trefentanil Hydrochloride)；三乙醇胺(Trolamine)；鹽酸維拉朵林(Veradoline Hydrochloride)；鹽酸

維立洛洋(Verilopam Hydrochloride)；伏拉佐辛(Volazocine)；甲磺酸佐爾啡諾(Xorphanol Mesylate)；鹽酸甲苯噻嗪(Xylazine Hydrochloride)；甲磺酸澤來索興(Zenazocine Mesylate)；佐美酸鈉(Zomepirac Sodium)；珠卡賽辛(Zucapsaicin)；鹽酸阿夫唑嗪(Afluzosin Hydrochloride)；阿利帕胺(Alipamide)；阿爾噻嗪(Althiazide)；鹽酸氨喹新(Amiquinsin Hydrochloride)；苯磺酸氨氯地平(Amlodipine Besylate)；馬來酸氨氯地平；乙酸阿那立肽(Anaritide Acetate)；馬來酸阿替丙嗪(Atiprosin Maleate)；貝磷地爾(Belfosdil)；貝米曲啶(Bemitradine)；苯磺酸苯達洛爾(Bendacalol Mesylate)；苄氟噻嗪(Bendroflumethiazide)；苄噻嗪(Benzthiazide)；鹽酸倍他洛爾(Betaxolol Hydrochloride)；硫酸苄甲胍(Bethanidine Sulfate)；鹽酸貝凡洛爾(Bevantolol Hydrochloride)；鹽酸二氯地爾(Biclodil Hydrochloride)；比索洛爾(Bisoprolol)；富馬酸比索洛爾；鹽酸布新洛爾(Bucindolol Hydrochloride)；丁吡可胺(Bupicomide)；布噻嗪(Buthiazide)；坎沙曲(Candoxatril)；坎沙曲拉(Candoxatrilat)；卡托普利(Captopril)；卡維地洛(Carvedilol)；西羅普利(Ceronapril)；氯噻嗪鈉(Chlorothiazide Sodium)；西氯他寧(Cicletanine)；西拉普利(Cilazapril)；可樂定(Clonidine)；鹽酸可樂定；氯帕胺(Clopamide)；環戊噻嗪(Cyclopenthiazide)；環噻嗪(Cyclothiazide)；達羅地平(Darodipine)；硫酸異喹胍(Debrisoquin Sulfate)；鹽酸地拉普利(Delapril Hydrochloride)；硫米齊特(Diapamide)；二氮嗪(Diazoxide)；鹽酸地來洛爾(Dilevalol Hydrochloride)；蘋果酸地爾硫卓(Diltiazem Malate)；地替吉侖(Ditekiren)；甲磺酸多沙唑嗪(Doxazosin Mesylate)；依卡曲爾

(Ecadotril)；馬來酸依那普利(Enalapril Maleate)；依那普利拉(Enalaprilat)；依那吉侖(Enalkiren)；甲磺酸恩屈嗪(Endralazine Mesylate)；依匹噻嗪(Epithiazide)；依普沙坦(Eprosartan)；甲磺酸依普沙坦；甲磺酸非諾多泮(Fenoldopam Mesylate)；馬來酸夫那地洛(Flavodilol Maleate)；氟地平(Flordipine)；氟司喹南(Flosequinan)；福辛普利鈉(Fosinopril Sodium)；福辛普利拉(Fosinoprilat)；胍那苳(Guanabenz)；乙酸胍那苳；硫酸胍那克林(Guanacline Sulfate)；硫酸胍那決爾(Guanadrel Sulfate)；胍西定(Guancydine)；單硫酸胍乙啶(Guanethidine Monosulfate)；硫酸胍乙啶；鹽酸胍法辛(Guanfacine Hydrochloride)；硫酸胍尼索嗪(Guanisoquin Sulfate)；硫酸胍氯酚(Guanoclor Sulfate)；鹽酸胍諾克汀(Guanoctine Hydrochloride)；胍諾沙苳(Guanoxabenz)；硫酸胍生(Guanoxan Sulfate)；硫酸胍諾西芬(Guanoxyfen Sulfate)；鹽酸肼苯噻嗪(Hydralazine Hydrochloride)；肼苯噻嗪磺化二乙烯苯-乙烯苯共聚物(Hydralazine Polistirex)；氫氟甲噻(Hydroflumethiazide)；茛達立酮(Indacrinone)；吲達帕胺(Indapamide)；鹽酸吲哚普利(Indolapril Hydrochloride)；吲哚拉明(Indoramin)；鹽酸吲哚拉明；鹽酸吲哚瑞酯(Indorenate Hydrochloride)；拉西地平(Lacidipine)；來尼喹新(Leniquinsin)；拉馬克啉(Levcromakalim)；賴諾普利(Lisinopril)；鹽酸洛非西定(Lofexidine Hydrochloride)；洛沙坦鉀(Losartan Potassium)；鹽酸洛硫嗪(Losulazine Hydrochloride)；美布氨酯(Mebutamate)；鹽酸美卡拉明(Mecamylamine Hydrochloride)；美沙洛爾(Medroxalol)；鹽酸美沙洛爾；美沙噻嗪(Methalthiazide)；甲氯噻嗪(Methyclothiazide)；甲基多巴

(Methyldopa)；鹽酸甲基多巴酯(Methyldopate Hydrochloride)；美替洛爾(Metipranolol)；美托拉宗(Metolazone)；富馬酸美托洛爾(Metoprolol Fumarate)；琥珀酸美托洛爾；甲酪胺酸(Metyrosine)；米諾地爾(Minoxidil)；馬來酸莫那匹爾(Monatepil Maleate)；莫唑胺(Muzolimine)；奈比洛爾(Nebivolol)；尼群地平(Nitrendipine)；奧福寧(Ofornine)；鹽酸帕吉林(Pargyline Hydrochloride)；帕佐昔特(Pazoxide)；鹽酸帕蘭司林(Pelanserine Hydrochloride)；叔丁胺培哌普利(Perindopril Erbumine)；鹽酸酚苄明(Phenoxybenzamine Hydrochloride)；吡那地爾(Pinacidil)；匹伏普利(Pivopril)；泊利噻嗪(Polythiazide)；鹽酸哌唑嗪(Prazosin Hydrochloride)；普米洛爾(Primidolol)；鹽酸普齊洛爾(Prizidilol Hydrochloride)；鹽酸喹那普利(Quinapril Hydrochloride)；喹那普拉(Quinaprilat)；鹽酸喹唑嗪(Quinazosin Hydrochloride)；鹽酸喹洛雷(Quinelorane Hydrochloride)；鹽酸喹吡羅(Quinpirole Hydrochloride)；奎紐溴鉍(Quinuclidine Bromide)；雷米普利(Ramipril)；蛇根木(Rauwolfia Serpentina)；利血平(Reserpine)；沙普立沙坦鉀(Saprisartan Potassium)；乙酸沙拉新(Saralasin Acetate)；硝普鈉(Sodium Nitroprusside)；鹽酸硫氧洛爾(Sulfinalol Hydrochloride)；他索沙坦(Tasosartan)；鹽酸替魯地平(Teludipine Hydrochloride)；鹽酸替莫普利(Temocapril Hydrochloride)；鹽酸特拉唑嗪(Terazosin Hydrochloride)；特拉吉侖(Terlakiren)；噻美尼定(Tiamenidine)；鹽酸噻美尼定；替尼酸(Ticrynafene)；替大麻酚(Tinabitol)；硫達唑嗪(Tiodazosin)；鹽酸噻戊托辛(Tipentosin Hydrochloride)；三氯甲噻嗪(Trichlormethiazide)；鹽酸

曲馬唑啉(Trimazosin Hydrochloride)；樟腦磺酸咪噻吩(Trimethaphan Camsylate)；鹽酸曲莫沙明(Trimoxamine Hydrochloride)；曲帕胺(Tripamide)；希帕胺(Xipamide)；鹽酸佔吉侖(Zankiren Hydrochloride)；精胺酸佐芬普利拉(Zofenoprilat Arginine)；阿氯芬酸(Alclofenac)；二丙酸阿氯米松(Alclometasone Dipropionate)；阿孕奈德(Algestone Acetonide)； α 澱粉酶；安西法爾(Amcinafal)；安西非特(Amcinafide)；氨芬酸鈉(Amfenac Sodium)；鹽酸氨普立糖(Amiprilose Hydrochloride)；阿那白滯素(Anakinra)；阿尼羅酸(Anirolac)；阿尼紮芬(Anitrazafen)；阿紮丙宗(Apazone)；巴柳氮二鈉(Balsalazide Disodium)；苳達酸(Bendazac)；苯惡洛芬；鹽酸苳達明；鳳梨蛋白酶(Bromelains)；溴哌莫(Broperamole)；布地奈德(Budesonide)；卡布洛芬(Carprofen)；環洛芬(Cicloprofen)；辛噴他宗(Cintazone)；克利洛芬(Cliprofen)；丙酸氯倍他索(Clobetasol Propionate)；丁酸氯倍他松(Clobetasone Butyrate)；氯吡酸(Clopirac)；丙酸氯硫卡松(Cloticasone Propionate)；乙酸三氟米松(Cormethasone Acetate)；可托多松(Cortodoxone)；地夫可特(Deflazacort)；地奈德(Desonide)；去羥米松(Desoximetasone)；二丙酸地塞米松(Dexamethasone Dipropionate)；雙氯芬酸鉀(Diclofenac Potassium)；雙氯芬酸鈉；二乙酸雙氟拉松(Diflorasone Diacetate)；二氟米酮鈉(Diflumidone Sodium)；二氟尼柳(Diflunisal)；二氟潑尼酯(Difluprednate)；地弗他酮(Diftalone)；二甲亞砷；羥西奈德(Drocinonide)；恩甲羥松(Endrysone)；恩莫單抗(Enlimomab)；依諾利康鈉(Enolicam Sodium)；依匹唑(Epirizole)；依託度酸(Etodolac)；依託芬那酯(Etofenamate)；聯苯乙酸(Felbinac)；非那

莫(Fenamole)；芬布芬(Fenbufen)；芬氯酸(Fenclofenac)；苯克洛酸(Fenclorac)；芬多沙(Fendosal)；奮匹帕隆(Fenpipalone)；芬替酸(Fentiazac)；夫拉紫酮(Flazalone)；氟紫可特(Fluazacort)；氟芬那酸(Flufenamic Acid)；氟魯咪唑(Flumizole)；乙酸氟尼縮松(Flunisolide Acetate)；氟尼辛；氟尼辛葡甲胺；氟考丁酯(Fluocortin Butyl)；乙酸氟米龍(Fluorometholone Acetate)；氟喹宗(Fluquazone)；氟比洛芬(Flurbiprofen)；氟瑞托芬(Fluretofen)；丙酸氟替卡松(Fluticasone Propionate)；呋喃洛芬(Furaprofen)；呋羅布芬(Furobufen)；哈西奈德(Halcinonide)；丙酸烏倍他索(Halobetasol Propionate)；乙酸鹵潑尼松(Halopredone Acetate)；異丁芬酸(Ibufenac)；布洛芬(Ibuprofen)；布洛芬鋁；皮考布洛芬(Ibuprofen Piconol)；伊洛達普(Ilonidap)；吲哚美辛(Indomethacin)；吲哚美辛鈉；吲哚布洛芬(Indoprofen)；吲哚克索(Indoxole)；吲四唑(Intrazole)；乙酸異氟潑尼龍(Isoflupredone Acetate)；伊索克酸(Isoxepac)；伊索昔康(Isoxicam)；酮洛芬(Ketoprofen)；鹽酸洛非咪唑；氯諾昔康(Lornoxicam)；依碳酸氯替潑諾(Loteprednol Etabonate)；甲氯芬那酸鈉(Meclofenamate Sodium)；甲氯芬那酸(Meclofenamic Acid)；甲氯松二丁酯(Meclorisone Dibutyrate)；甲芬那酸(Mefenamic Acid)；美沙拉嗪(Mesalamine)；美西拉宗(Meseclazone)；磺庚甲潑尼龍(Methylprednisolone Suleptanate)；嗎尼氟酯(Momiflumate)；萘丁美酮(Nabumetone)；萘普生(Naproxen)；萘普生鈉；萘普索(Naproxol)；尼馬宗(Nimazone)；奧沙拉秦鈉(Olsalazine Sodium)；奧古蛋白(Orgotein)；奧帕諾辛(Orpanoxin)；奧沙普秦(Oxaprozin)；羥布宗(Oxyphenbutazone)；鹽酸瑞尼托林(Paranyline

Hydrochloride)；戊聚硫鈉(Pentosan Polysulfate Sodium)；甘油保泰松鈉(Phenbutazone Sodium Glycerate)；吡非尼酮(Pirfenidone)；吡羅昔康(Piroxicam)；肉桂酸吡羅昔康；吡羅昔康乙醇胺(Piroxicam Olamine)；吡洛芬(Pirprofen)；潑那紮特(Prednazate)；普立非酮(Prifelone)；普羅度酸(Prodolic Acid)；普羅喹宗(Proquazone)；普羅沙唑(Proxazole)；檸檬酸普羅沙唑；利美索龍(Rimexolone)；氯馬紮利(Romazarit)；柳膽來司；沙那西定(Salnacedin)；雙柳酸酯；血根氯鉍(Sanguinarium Chloride)；司克拉宗(Seclazone)；絲美辛(Sermetacin)；舒多昔康(Sudoxicam)；舒林酸(Sulindac)；舒洛芬(Suprofen)；他美辛(Talmetacin)；他尼氟酯(Talniflumate)；他洛柳酯(Talosalate)；特丁非隆(Tebufelone)；替尼達普(Tenidap)；替尼達普鈉；替諾昔康(Tenoxicam)；替昔康(Tesicam)；替昔米德(Tesimide)；四氫甲吲胺；硫平酸(Tiopinac)；特戊酸氫化可的松(Tixocortol Pivalate)；托美汀(Tolmetin)；托美汀鈉；三氯奈德(Triclonide)；三氟米酯(Triflumidate)；齊多美辛(Zidometacin)；佐美酸鈉(Zomepirac Sodium)或其組合。

儘管本文所提供之組合物主要關於適於道德性投與人類之物質，但熟習此項技術者應理解，該等組合物一般適於投與所有種類之動物。本文所揭示類型適於投與人類之組合物(即RAGs)為使該組合物適於投與各種動物之修改可由可利用例行試驗(若有)設計並實施該等修改之一般熟練獸醫藥理學家以本揭示之利益完成。預期投與本發明醫藥組合物之個體包括(但不限於)人類及其他靈長類動物；哺乳動物，包括商業相關的哺乳動物，例如牛、豬、馬及綿羊；伴侶動物，例如貓及狗；及鳥類，包括商業

相關的鳥類，例如雞、鴨、鵝及火雞。

在一個態樣中，**RAG**調配成用於局部投與之形式，例如乳霜、洗劑、精華液(**serums**)、粉劑、軟膏或滴劑。用於局部投與之**RAG**調配物亦可含有醫藥上可接受之載劑、保濕劑(**moisturizers**)、油、脂肪、蠟、表面活性劑、增稠劑、抗氧化劑、黏度穩定劑、螯合劑、緩衝劑、防腐劑、香料、顏料、低碳烷醇、濕潤劑(**humectants**)、潤滑劑(**emollients**)、分散劑、防曬劑(例如輻射阻隔化合物或**UV**阻隔劑)、抗細菌劑、抗真菌劑、消毒劑、維他命、抗生素、抗痤瘡劑，以及對局部用組合物之活性無顯著不利效應之其他適宜物質，或其組合。可用於包含經修復細胞之組合物中之非限制例示性醫藥上可接受之載劑可包括水、水與水可混溶性溶劑(例如低碳烷醇或植物油)之混合物、及水溶性眼科可接受之無毒聚合物(例如纖維素衍生物，諸如甲基纖維素)、甘油、丙二醇、對羥基苯甲酸甲酯、海藻酸鹽、硬脂酸甘油酯、**PEG-100**硬脂酸酯、十六烷醇、對羥基苯甲酸丙酯、對羥基苯甲酸丁酯、山梨糖醇、聚乙氧基化去水山梨糖醇單硬脂酸酯(**TWEEN**[®])、白礦脂(**VASELINE**[®])、三乙醇胺、鵝鵝油、蘆薈提取物、羊毛脂、可可脂、**LIPODERM**[®]基質及諸如此類或其組合。在一個態樣中，經調配用於局部投與之**RAG**可施加至皮膚之一或多個區域，包括臉部、手部及頸部。

在一個態樣中，本文所揭示方法產生預防性、緩解性、治癒性或其組合之療法。本文所揭示類型之方法及組合物可用於治療各種涉及細胞功能及存活力降低之醫療病況，例如包括神經病症之年齡相關之醫療病況；自體免疫疾病；傳染病；癌症及與輻射過度曝露相關聯之病症(慢性或急性)。

預期本文所揭示之方法及組合物可產生具有增加之與經改良細胞健康相關聯之基因表現同時伴隨降低之與不利細胞事件相關聯之基因表現之經修復細胞。在一些態樣中，本文所揭示之方法及組合物使得與有益細胞事件相關聯之基因表現增加。

舉例而言，本文所揭示方法使得與獲得其之成體幹細胞相比時**RC**對於一或多種選自由以下組成之群之基因之表現樣式的變化大於約1.5倍：**C-abl**致癌基因-1非受體酪胺酸激酶；**V-akt**鼠胸腺瘤病毒致癌基因同源物1；醛去氫酶1家族，成員A3；運動失調毛細血管擴張突變；**BMI1**多梳環指致癌基因；鈣網蛋白；週期蛋白A2；週期蛋白B1；週期蛋白D1；週期蛋白E1；**CD44**分子，細胞分裂週期25同源物C；週期蛋白依賴型激酶2；週期蛋白依賴型激酶4；週期蛋白依賴型激酶6；週期蛋白依賴型激酶抑制劑1A；週期蛋白依賴型激酶抑制劑1B；週期蛋白依賴型激酶抑制劑1C；週期蛋白依賴型激酶抑制劑2A；週期蛋白依賴型激酶抑制劑2B；週期蛋白依賴型激酶抑制劑2C；及週期蛋白依賴型激酶抑制劑2D。

在另一態樣中，**RC**之特徵可在於群落形成能力之增加等於或大於約5%或另一選擇等於或大於約10%，如藉由群落形成分析所量測。

在另一態樣中，**RC**之特徵可在於細胞毒性之增加等於或大於約5%或另一選擇等於或大於約10%，如藉由天然殺手細胞之數目所量測。

在另一態樣中，**RC**之特徵可在於利用抗**CD3**及抗**CD25**單株抗體刺激後T細胞活化標誌之增加等於或大於約5%或另一選擇等於或大於約10%，如藉由活化標誌**CD25**表現之增加所量測。

在另一態樣中，將本文所揭示類型之**RAG**投與至個體可導致周邊血液骨髓系細胞:淋巴系細胞比率與引入**RAG**之前個體之周邊血液骨髓系細

胞:淋巴系細胞比率相比降低約0.5:1至約0.05:1、另一選擇約0.25:1至約0.02:1或另一選擇約0.75:1至約0.1:1。淋巴系細胞包括T、B及天然殺手(NK)細胞，而巨核細胞及紅血球(MegE)以及粒細胞及巨噬細胞(GM)屬骨髓系。周邊血液骨髓系細胞:淋巴系細胞比率可使用任何適宜方法(例如針對CD33+對CD3+CD19細胞之血液表現型分析)測定。

在另一態樣中，將本文所揭示類型之RAG投與個體可導致周邊血液CD4+:CD8+ T細胞比率與引入RAG之前個體之周邊血液CD4+:CD8+ T細胞比率相比增加約1:1至約3:1、另一選擇約0.5:1至約1:1或另一選擇約0.75:1至約2:1。周邊血液CD4+/CD8+ T細胞比率量測T輔助細胞與細胞毒性T細胞之比率。降低之CD4+/CD8+比率與老化相關聯且係免疫衰老之指標。

在另一態樣中，將本文所揭示類型之RAG投與個體可導致周邊血液T細胞含量與引入RAG之前個體之周邊血液T細胞含量相比時增加等於或大於約5%或另一選擇等於或大於約10%，如藉由CD3+細胞之量所量測。

在某些態樣中，將治療有效劑量之RAG遞送至個體。治療有效劑量將使用各種因素(例如，個體之體重)測定且可進一步(例如)基於醫療病況之嚴重性或時期修改。預期使用本文所揭示之組合物及方法所觀察到細胞功能之改良將維護對細胞及/或組織及/或器官及/或器官系統及/或有機體作為整體之功能的積極生理效應。在一個態樣中，細胞功能之改良導致減輕個體正經歷不利醫療病況之治療效應。

在一個態樣中，正投與本文所揭示類型RAG之個體可隨後監測一段時期。個體之監測可包含定性及定量評價個體之總體健康狀況及/或醫療病況。在一些態樣中，個體可投與RAG任何多次。舉例而言，已投與第

一RAG之個體可展現個體之總體健康狀況及/或醫療病況之定量及/或定性改良達一段時間。隨後，個體可經歷其總體健康狀況及/或醫療病況之一些下降且投與另一治療有效量之第二RAG。預期第一RAG之組合物可與第二RAG之組合物相同。另一選擇，第一RAG之組合物可不同於第二RAG之組合物。

在一些態樣中，個體之評價包含基於本文所揭示之分析(例如，天然殺手分析、端粒長度、基因及蛋白質生物標誌陣列)測定。在該等態樣中，個體可提供細胞試樣並如本文所揭示評價試樣之品質。在一些態樣中，在修復後某一時間點之細胞試樣品質值可與修復前之細胞試樣品質值相比較且利用此資訊來評估是否需要額外治療。舉例而言，細胞試樣修復前品質值為5之個體在修復製程之後長達約1年之時期具有9之細胞試樣修復後品質值。1.5年後個體之修復後細胞試樣品質值可降至7，而3年後該值可為5。在該等情形中，個體可投與另一RAG。

實例

提供以下實例來說明本發明。該等實例並不意欲限制本發明之範圍且其不應如此解釋。

實例1

藉由將供體個體之成體幹細胞(即，供體細胞)置於transwell總成之上部室同時將受體個體之成體幹細胞(即，受體細胞)置於下部室來實施一系列transwell實驗。參見圖2，transwell培養系統400包含具有可透過表面之插入件410，該可透過表面允許供體細胞攝取並分泌分子於transwell之底及/或頂表面上。transwell插入件410包含具有0.4 μm 孔大小之可透過膜。至少一部分供體細胞試樣420施加於transwell插入件410，同時受體

細胞試樣430位於具有適當量培養基之transwell培養系統之下部隔室內。

供體個體之平均實際年齡為25年，而受體個體之平均實際年齡為61年，使得供體個體之細胞稱為幼稚細胞且受體細胞稱為成熟細胞。如本文所述在transwell中在幼稚細胞之存在下培養後之受體細胞稱為異時性細胞。向transwell培養物中添加胞外體生源之藥理抑制劑GW4869 (3.5 μM) 或胞外體組裝之抑制劑BCI-137 (10 μM)。BCI-137係細胞可透過之無毒性二側氧基四氫喹啉化合物，其模擬尿苷且與Argonaute-2之miRNA結合域可逆地相互作用，而GW4869係天然神經磷脂酶之細胞可透過非競爭性抑制劑，其不會影響酸性神經磷脂酶活性。在初始接種時(第0天)及再次在第3天將抑制劑添加至transwell培養物。

收集胞外體並量化以確定抑制劑對胞外體產生之效應，同時分析自胞外體提取之RNA以確定胞外體消耗及RNA消耗之量。結果呈現於下表3中。

表3

抑制劑	胞外體產生 (胞外體數量× 10 ⁸)	ExoRNA SNORD68之 倍數變化	ExoRNA SNORD95之 倍數變化
無	710	1	1
BCI-137 (10 μM)	604	0.24	0.33
GW4869 (3.5 μM)	558	0.43	0.67

SNORD68 及 SNORD95 係小分子 RNA。結果亦證實 BCI-137 及 GW4869二者有效消耗自異時性培養物收穫之胞外體中之miRNA。抑制劑對細胞功能之效應的進一步分析係藉由測定總細胞活力、CD34+細胞活力

及CD34+細胞擴增之程度來評估。結果證實抑制劑GW4869之添加對CD34+細胞似乎有毒，而BCI-137對幼稚或成熟細胞健康未引起效應。結果證實利用BCI-137抑制增加CD34+成熟細胞之分化潛能，但降低CD34+異時性細胞之分化。結果表明，成熟胞外體及其伴隨RNA對成熟細胞功能具有有害效應。而且，胞外體及其伴隨RNA涉及授受性細胞修復療法之機制，此乃因BCI-137之抑制阻斷修復效應。

實例2

將自幼稚細胞或異時性細胞收穫之胞外體添加至成熟細胞(10百萬)並隨後培養七天。表4報告培養3天及7天後總血細胞、幹細胞功能、CD34+細胞之細胞擴增及細胞活力之結果。

表4

天	細胞培養類型	胞外體處理類型	胞外體劑量對培養物×10 ⁶ 計數	CD34+分化(# CFU-GM)	總血細胞活力	CD34+細胞擴增(細胞%)	CD34+細胞活力
3	A/A	Y/Y	1	230	89.82	0.51	74.03
7	A/A	Y/Y	10	208	83	0.41	59.22
3	A/A	Y/Y	1	128	90.62	0.55	64.83
7	A/A	Y/Y	10	150	81.39	0.49	50.82
3	A/A	A/A	1	166	90.87	0.51	78.72
7	A/A	A/A	10	102	84.74	0.4	66.78
3	A/A	A/A	1	220	90.91	0.47	80.09
7	A/A	A/A	10	56	84.82	0.3	57.63
3	A/A	A/Y	1	246	90.4	0.41	77.81
7	A/A	A/Y	10	164	84.64	0.28	64.86
3	A/A	A/Y	1	28	90.05	0.49	75.38
7	A/A	A/Y	10	296	85.18	0.29	73.8

3	Y/Y	N/A	N/A	200	86.88	0.5	67.2
7	Y/Y	N/A	N/A	198	90.57	0.11	50.54
3	A/A	N/A	N/A	76	90.03	0.46	78.3
7	A/A	N/A	N/A	38	66.87	0.11	69.51
3	A/Y	N/A	N/A	104	93.4	0.49	79.74
7	A/Y	N/A	N/A	234	69.68	0.15	46.15

結果證實，7天培養之後增加補充有幼稚或異時性胞外體之老化等時性培養之群落形成潛能。1百萬幼稚胞外體/10百萬成熟細胞之劑量當與10百萬幼稚胞外體/10百萬成熟細胞之劑量相比時顯示具有改良結果。而且，7天培養之後，在補充有胞外體之所有試樣中均觀察到CD34+細胞頻率增加。結果亦證實，在補充有幼稚胞外體之所有培養物中均觀察到總細胞活力增加。數據表明，授受性細胞修復療法在不存在transwell培養之情形中係可能的。

實例3

研究可負責影響細胞修復之微型RNA的身份。自五個個體獲得幹細胞。個體R1、R2及R3係年齡大於60歲之受體個體。個體D1及D2係在獲得組合物時之年齡小於30歲之供體個體。在利用非格司亭動員後自個體獲得組合物且利用用於獲得組合物之標準方案。藉由流式細胞術及群落形成分析利用標準方案分析所獲得組合物之品質。實施本文所揭示類型之Transwell實驗並將供體組合物置於transwell總成之上部室，而受體組合物置於transwell總成之下部室且在3天或7天時分析組合物。自胞外體提取總RNA，純化並轉換為cDNA用於使用自Qiagen購得之MIFINDER qPCR ARRAY探測84種miRNA。使用幹細胞之新鮮培養物確認候選微型RNA且進一步在幼稚、成熟及異時性細胞中細胞內驗證。

測定胞外體產生之量及胞外體RNA含量且結果呈現於表5中。

表5

細胞類型	胞外體產生 (胞外體數量× 10 ⁸)	胞外體RNA含量 (總RNA/胞外體) (ng ⁻⁸)
成熟	512	96
幼稚	288	267
異時性	405	120

84種常見表現微型RNA之胞外體剖析作為所研究不同群體之間之比較呈現於圖3。圖表表明在老化對年幼細胞中胞外體微型RNA包裝中之顯著差異。

結果亦鑑別出其行動可影響授受性細胞修復療法之過程的第一組胞外體微型RNA候選物。特定地，miR-146a、miR-103a、miR-106a及miR-19a經驗證為在陣列之相對定量後展現有統計顯著性之趨勢之胞外體候選物。miR-19a在異時性對成熟幹細胞群體中證實統計顯著性，其中p<0.05。表6提供每一所鑑別miR之總體及細胞內微型RNA產生之量的相對變化。

表6

細胞試樣	miR-146a 倍數變化		miR-103a倍數 變化		miR-106b倍數 變化		miR-19a倍數 變化	
	總量	IC	總量	IC	總量	IC	總量	IC
成熟	1	1	1	1	1	1	1	1
幼稚	1.23	1.32	1.03	1.89	1.41	2.42	1.57	3.70
異時性	1.56	1.60	1.79	0.58	1.27	0.61	1.24	1.54

涉及促進授受性細胞修復療法之候選微型RNA係miR-146a、miR-103a、miR-106a及miR-19a。候選微型RNA之組合係以60 nM之總濃度使用CD34+細胞人類核轉染套組(Lonza)及人類CD34+細胞方案轉染於成熟

血細胞中，並與siRNA媒劑對照相比來評價對CD34+幹細胞活力及群落形成之效應。而且，miR-103a、miR-106b及miR-19a之微型RNA組合以90 nM之總濃度使用P3初代細胞4D核轉染X套組(Lonza)及人類T細胞高效率方案轉染於成熟血細胞中，並與siRNA媒劑對照相比來評價對T細胞活化及細胞介導之細胞毒性之效應。來自該等研究之數據呈現於表7中。

表7

處理類型	CD34+ 細胞活 力%	CD34+分 化(# CFU- GM)	CD4+ T 細胞%	CD8+T 細胞%	% CD4+ T細胞活 化	% CD8+ T 細胞活 化	細胞毒 性 (目標 細胞溶 解%)
無處理	41	84	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
siRNA媒劑	37	98	4.4	1.2	89.8	92.6	42
miR-103a miR-106b miR-19a	49	230	12.6	2.5	95.1	95.3	46
miR-103a miR-106b miR-19a miR-146a	32	248	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
miR-103a miR-106b miR-146a	38	212	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
miR-103a miR-19a miR-146a	42	218	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
miR-106b miR-19a miR-146a	37	146	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

實例4

所鑑別涉及促進授受性細胞修復療法之其他候選微型RNA係miR-

1303、miR-7851-3p、miR-223、miR-4497、miR-619-5p及miR-1273f。將該等其他候選微型RNA之組合以60 nM之總濃度使用CD34+細胞人類核轉染套組(Lonza)及人類CD34+細胞方案核轉染於成熟血細胞中，並與siRNA媒劑對照相比來評價對CD34+群落形成之效應。來自該等研究之數據呈現於表8中。

表8

實驗編號1		實驗編號2	
處理	CD34+分化 (# CFU-GM)	處理	CD34+分化 (# CFU-GM)
無處理	10	無處理	38
siRNA媒劑	20	siRNA媒劑	31
miR-223	10	miR-223, miR-4497, miR-1303	37
miR-4497	20	miR-619-5p, miR-1273f, miR-7851-3p	2.5
miR-1303	32	miR-4497, miR-619-5p, miR-7851-3p	57
miR-619-5p	46	miR-223, miR-1303, 1273f	12
miR-1273f	9	N/A	N/A
miR-7851-3p	14	N/A	N/A
miR-223, miR-4497, miR-1303, miR-619-5p, miR-1273f, miR-7851-3p	4	N/A	N/A

提供以下枚舉態樣作為非限制性實例。

第一態樣，其係方法，其包含向個體投與包含具有選自由以下組成

之群之序列的經分離微型RNA之組合物：miR-19a-3p (SEQ ID NO:1)；miR-103a-3p (SEQ ID NO:2)；miR-106b-5p (SEQ ID NO:3)；miR-146a-5p (SEQ ID NO:4)；miR-223-5p (SEQ ID NO:5)；miR-4497 (SEQ ID NO:6)；miR-1303 (SEQ ID NO:7)；miR-619-5p (SEQ ID NO:8)；miR-1273f (SEQ ID NO:9)；miR-7851-3p (SEQ ID NO:10)；其功能變體；及其組合。

第二態樣，其係第一態樣之方法，其中該經分離微型RNA係選自由以下組成之群：與SEQ ID NO:1具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:2具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:3具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:4具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:5具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:6具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:7具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:8具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:9具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:10具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；及其組合。

第三態樣，其係第一至第二態樣中任一者之方法，其中該經分離微型RNA係包含以下之模擬物：與SEQ ID NO:1具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:2具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:3具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:4具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:5具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:6具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:7具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ

ID NO:8具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:9具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:10具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；及其組合。

第四態樣，其係第一態樣之方法，其中該組合物包含miR-19a-3p (SEQ ID NO:1)；miR-103a-3p (SEQ ID NO:2)；miR-106b-5p (SEQ ID NO:3)；miR-146a-5p (SEQ ID NO:4)；其功能變體；或其組合。

第五態樣，其係第一態樣之方法，其中該組合物包含miR-19a-3p (SEQ ID NO:1)；其模擬物、其功能變體或其組合。

第六態樣，其係第一至第五態樣中任一者之方法，其中該組合物進一步包含媒劑。

第七態樣，其係第六態樣之方法，其中該媒劑包含奈米粒子、細胞、脂質體、非離子表面活性泡囊、微球、環糊精或其組合。

第八態樣，其係製備經修復幹細胞之方法，其包含i)獲得包含成體幹細胞之試樣；ii) 在具有選自由以下組成之群之序列的經分離微型RNA之存在下培養該試樣：miR-19a-3p (SEQ ID NO:1)；miR-103a-3p (SEQ ID NO:2)；miR-106b-5p (SEQ ID NO:3)；miR-146a-5p (SEQ ID NO:4)；miR-223-5p (SEQ ID NO:5)；miR-4497 (SEQ ID NO:6)；miR-1303 (SEQ ID NO:7)；miR-619-5p (SEQ ID NO:8)；miR-1273f (SEQ ID NO:9)；miR-7851-3p (SEQ ID NO:10)；其功能變體；及其組合，以產生該等經修復幹細胞；及iii) 自該試樣回收該等經修復幹細胞，其中與成體幹細胞相比時，該等經修復幹細胞之特徵在於一或多種選自由以下組成之群之基因之表現變化高於約1.5倍：C-abl致癌基因-1非受體酪胺酸激酶；V-akt鼠胸腺瘤病毒致癌基因同源物1；醛去氫酶1家族，成員A3；運動失

調毛細血管擴張突變；BMI1多梳環指致癌基因；鈣網蛋白；週期蛋白A2；週期蛋白B1；週期蛋白D1；週期蛋白E1；CD44分子，細胞分裂週期25同源物C；週期蛋白依賴型激酶2；週期蛋白依賴型激酶4；週期蛋白依賴型激酶6；週期蛋白依賴型激酶抑制劑1A；週期蛋白依賴型激酶抑制劑1B；週期蛋白依賴型激酶抑制劑1C；週期蛋白依賴型激酶抑制劑2A；週期蛋白依賴型激酶抑制劑2B；週期蛋白依賴型激酶抑制劑2C；及週期蛋白依賴型激酶抑制劑2D。

第九態樣，其係第八態樣之方法，其進一步包含使該等經修復細胞與載劑、賦形劑、穩定劑、抗氧化劑、多肽、蛋白質、親水性聚合物、胺基酸、碳水化合物、螯合劑、糖醇、形成鹽之相對離子、非離子型表面活性劑或其組合接觸，以形成醫藥調配物。

第十態樣，其係第八至第九態樣之方法，其進一步包含將該醫藥調配物投與給需要其之個體。

第十一態樣，其係第十態樣之方法，其中該患者之周邊血液骨髓系細胞:淋巴系細胞比率與投與該醫藥調配物之前個體之周邊血液骨髓系細胞:淋巴系細胞比率相比時降低約0.5:1至約0.05:1。

第十二態樣，其係第十至第十一態樣中任一者之方法，其中該患者之周邊血液CD4+:CD8+ T細胞比率與投與該醫藥調配物之前個體之周邊血液CD4+:CD8+ T細胞比率降低約1:1至約3:1。

第十三態樣，其係製備經修復幹細胞組合物之方法，其包含(i)獲得包含成體幹細胞之細胞試樣；(ii)將載體構築體引入至成體幹細胞中，該載體構築體含有用於表現具有選自由以下組成之群之序列的經分離微型RNA之核酸序列：miR-19a-3p (SEQ ID NO:1)；miR-103a-3p (SEQ ID

NO:2) ; miR-106b-5p (SEQ ID NO:3) ; miR-146a-5p (SEQ ID NO:4) ; miR-223-5p (SEQ ID NO:5) ; miR-4497 (SEQ ID NO:6) ; miR-1303 (SEQ ID NO:7) ; miR-619-5p (SEQ ID NO:8) ; miR-1273f (SEQ ID NO:9) ; miR-7851-3p (SEQ ID NO:10) ; 其功能變體 ; 及其組合 , 以產生經修復幹細胞 ; 及(iii) 回收該等經修復幹細胞。

第十四態樣 , 其係第十三態樣之方法 , 其中該載體包含可操作地鏈接至微型RNA之啟動子序列。

第十五態樣 , 其係第十三至第十四態樣中任一者之方法 , 其中該等經修復幹細胞組成性地表現該經分離微型RNA。

第十六態樣 , 其係第十三至第十四態樣中任一者之方法 , 其中該等經修復幹細胞誘導性地表現該經分離微型RNA。

第十七態樣 , 其係第十三至第十六中任一者之方法 , 其進一步包含將該等經修復幹細胞投與給需要其之個體。

第十八態樣 , 其係包含成體幹細胞之醫藥調配物 , 其中該成體幹細胞包含含有啟動子元件之質體 , 該啟動子元件可操作地鏈接至用於表現具有選自由以下組成之群之序列的微型RNA之寡核苷酸 : miR-19a-3p (SEQ ID NO:1) ; miR-103a-3p (SEQ ID NO:2) ; miR-106b-5p (SEQ ID NO:3) ; miR-146a-5p (SEQ ID NO:4) ; miR-223-5p (SEQ ID NO:5) ; miR-4497 (SEQ ID NO:6) ; miR-1303 (SEQ ID NO:7) ; miR-619-5p (SEQ ID NO:8) ; miR-1273f (SEQ ID NO:9) ; miR-7851-3p (SEQ ID NO:10) ; 其功能變體 ; 及其組合。

第十九態樣 , 其係包含選自由以下組成之群之經分離微型RNA之醫藥調配物 : miR-19a-3p (SEQ ID NO:1) ; miR-103a-3p (SEQ ID NO:2) ;

miR-106b-5p (SEQ ID NO:3) ; miR-146a-5p (SEQ ID NO:4) ; miR-223-5p (SEQ ID NO:5) ; miR-4497 (SEQ ID NO:6) ; miR-1303 (SEQ ID NO:7) ; miR-619-5p (SEQ ID NO:8) ; miR-1273f (SEQ ID NO:9) ; miR-7851-3p (SEQ ID NO:10) ; 其功能變體 ; 及其組合。

第二十態樣，其係第十九態樣之調配物，其中該等經分離微型RNA 包含 miR-4497 (SEQ ID NO:6) ; miR-619-5p (SEQ ID NO:8) ; miR-7851-3p (SEQ ID NO:10) ; 其功能變體 ; 或其組合。

第二十一態樣，其係第十八至第二十態樣中任一者之調配物，其進一步包含載劑、賦形劑、穩定劑、抗氧化劑、多肽、蛋白質、親水性聚合物、胺基酸、碳水化合物、螯合劑、糖醇、形成鹽之相對離子、非離子型表面活性劑或其組合，以形成該醫藥調配物。

第二十二態樣，其係包含第十八至第二十一態樣中任一者之調配物的套組。

出於此申請案之任何美國國家申請階段之目的，本揭示內容中所提及之所有公開案及專利以其全文引用的方式併入本文中，用於闡述及揭示彼等公開案中所述可與本揭示內容之方法聯合使用之構想及方法。提供上文及整個文本中所討論之所有公開案及專利僅為了其在本申請案申請日期之前之公開內容。本文中之任何內容均不應解釋為承認該揭示內容由於先前發明而有資格先於本發明。

除非另有指示，否則當揭示或主張任一類型之範圍時(例如，碳原子數、莫耳比、溫度及諸如此類之範圍)，意欲揭示或主張可合理地涵蓋此一範圍之個別地每一可能數值，包括其中所涵蓋之任一子範圍。此外，當揭示或主張申請人意欲反映可合理地涵蓋此一範圍之個別地每一可能數值

之值範圍時，申請案亦意欲揭示範圍以反映其中所涵蓋之任何及所有子範圍及子範圍之組合之揭示且可與其中所涵蓋之任何及所有子範圍及子範圍之組合之揭示互換使用。因此，若出於任何原因，申請人選擇主張保護小於公開內容之整個範圍，例如，用於說明申請人在提交申請案時未意識到之參考文獻，申請人保留限定或排除任何此組之任一個別成員(包括該組內之任何子範圍或子範圍之組合)之權利。

在美國專利及商標局(United States Patent and Trademark Office)之前之任何申請中，提供本申請案之摘要用於滿足37 C.F.R. § 1.72之要求及在37 C.F.R. § 1.72(b)中闡述之目的「使美國專利及商標局以及公眾能夠通常自粗略檢閱快速確定技術揭示內容之本質及要點」。因此，此申請案之摘要並不意欲用於解釋請求項之範圍或限制在此所揭示主題之範圍。此外，本文中可採用之任何標題亦並不意欲用於解釋請求項之範圍或限制在此所揭示主題之範圍。用以闡述另外指示為建設性或預言性之實例的過去式的任何使用並不意欲反映該建設性或預言性實例已實際上實施。

序列表

序列： SEQ ID NO:1

<213> 生物體名稱：人類

<400> 前導序列串：

ugugcaaauc uaugcaaaac uga 23

<212>類型：RNA

<211>長度：23

序列名稱：miR-19a

序列；SEQ ID NO:2

<213> 生物體名稱：人類

<400> 前導序列串：

agcagcauuu acagggcuau ga 22

<212>類型：RNA

<211>長度：22

序列名稱：miR-103A

序列；SEQ ID NO:3

<213> 生物體名稱：人類

<400> 前導序列串：

uaaagugcug acagugcaga u 21

<212>類型：RNA

<211>長度：21

序列名稱：miR-106b

序列；SEQ ID NO:4

<213> 生物體名稱：人類

<400> 前導序列串：

gagaacgaac caggg 15

<212> 類型：DNA

<211>長度：15

序列名稱：miR-146A

序列；SEQ ID NO:5

<213> 生物體名稱：人類

<400> 前導序列串：

cguguauuug acaagcugag uu 22

<212>類型：RNA

<211>長度：22

序列名稱：miR-223

序列；SEQ ID NO:6

<213> 生物體名稱：人類

<400> 前導序列串：

cuccgggacg gcugggc 17

<212>類型：RNA

<211>長度：17

序列名稱：miR-4497

序列；SEQ ID NO:7

<213> 生物體名稱：人類

<213> 生物體名稱：人類

<400> 前導序列串：

uuuagagacg gggucuugcu cu 22

<212>類型：RNA

<211>長度：22

序列名稱：miR-1303

序列；SEQ ID NO:8

<213> 生物體名稱：人類

<400> 前導序列串：

gcugggauua caggcaugag cc 22

<212>類型：RNA

<211>長度：22

序列名稱：miR-619

序列；SEQ ID NO:9

<213> 生物體名稱：人類

<400> 前導序列串：

ggagauaggag guugcagug 19

<212>類型：RNA

<211>長度：19

序列名稱：miR-1273f

序列；SEQ ID NO:10

<213> 生物體名稱：人類

<400> 前導序列串：

uaccugggag acugagguug ga 22

<212>類型：RNA

<211>長度：22

序列名稱：miR-7851

【符號說明】

- 200 流式細胞術方案之態樣
- 210 細胞試樣/試樣
- 220 造血細胞/CD45+細胞
- 230 非造血細胞/非造血幹細胞
- 240 CD45-及CD105+

250	CD45-、CD105+、CD29+及CD44+
260	CD45-、CD105+及CD31+
270	原始造血幹細胞
280	造血先驅細胞
290	CD45+及CD34-/經分化造血細胞
300	T-淋巴球
310	天然殺手細胞
400	transwell培養系統
410	插入件/transwell插入件
420	供體細胞試樣
430	受體細胞試樣
440	可溶性因子/粒子

【序列表】

<110>	美商先進再生醫療科技有限責任公司	
<120>	微型RNA(MICRORNA)組合物及其製造及使用方法	
<130>	ARMT-MICRORNAPCT	
<160>	10	
<170>	PatentIn version 3.5	
<210>	1	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	智人	
<400>	1	
	ugugcaaauc uaugcaaaac uga	23
<210>	2	
<211>	22	
<212>	RNA	
<213>	智人	
<400>	2	
	agcagcauuu acagggcuau ga	22
<210>	3	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	智人	
<400>	3	
	uaaagugcug acagugcaga u	21
<210>	4	
<211>	15	
<212>	RNA	
<213>	智人	
<400>	4	
	gagaacgaac caggg	15
<210>	5	
<211>	22	
<212>	RNA	
<213>	智人	
<400>	5	
	cguguauuug acaagcugag uu	22
<210>	6	
<211>	17	
<212>	RNA	
<213>	智人	
<400>	6	
	cuccgggacg gcugggc	17
<210>	7	

<211>	22	
<212>	RNA	
<213>	智人	
<400>	7	
uuuagagacg	gggucuugcu	cu22
<210>	8	
<211>	22	
<212>	RNA	
<213>	智人	
<400>	8	
gcugggauua	caggcaugag	cc22
<210>	9	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	智人	
<400>	9	
ggagauggag	guugcagug	19
<210>	10	
<211>	22	
<212>	RNA	
<213>	智人	
<400>	10	
uaccugggag	acugagguug	ga22

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種組合物之用途，其用於製造用於改良及/或修復個體中一或多種細胞功能之藥劑，其中該組合物包含具有選自由以下組成之群之序列的經分離微型RNA：miR-19a-3p (SEQ ID NO:1)；miR-103a-3p (SEQ ID NO:2)；miR-106b-5p (SEQ ID NO:3)；miR-146a-5p (SEQ ID NO:4)；miR-223-5p (SEQ ID NO:5)；miR-4497 (SEQ ID NO:6)；miR-1303 (SEQ ID NO:7)；miR-619-5p (SEQ ID NO:8)；miR-1273f (SEQ ID NO:9)；miR-7851-3p (SEQ ID NO:10)；其功能變體；及其組合。

【第2項】

如請求項1之用途，其中該經分離微型RNA係選自由以下組成之群：與SEQ ID NO:1具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:2具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:3具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:4具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:5具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:6具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:7具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:8具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:9具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:10具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；及其組合。

【第3項】

如請求項1之用途，其中該經分離微型RNA係包含以下之模擬物：與SEQ ID NO:1具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:2具

有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:3具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:4具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:5具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:6具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:7具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:8具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:9具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；與SEQ ID NO:10具有至少約65%序列一致性之寡核苷酸；及其組合。

【第4項】

如請求項1之用途，其中該組合物包含miR-19a-3p (SEQ ID NO:1)；miR-103a-3p (SEQ ID NO:2)；miR-106b-5p (SEQ ID NO:3)；miR-146a-5p (SEQ ID NO:4)；其功能變體；或其組合。

【第5項】

如請求項1之用途，其中該組合物包含miR-19a-3p (SEQ ID NO:1)；其模擬物、其功能變體或其組合。

【第6項】

如請求項1至5中任一項之用途，其中該組合物進一步包含媒劑。

【第7項】

如請求項6之用途，其中該媒劑包含奈米粒子、微胞、脂質體、非離子表面活性泡囊(niosomes)、微球、環糊精或其組合。

【第8項】

一種製備經修復幹細胞之方法，其包含：

- i) 獲得包含成體幹細胞之試樣；

ii) 該試樣在具有選自由以下組成之群之序列的經分離微型RNA之存在下培養：miR-19a-3p (SEQ ID NO:1)；miR-103a-3p (SEQ ID NO:2)；miR-106b-5p (SEQ ID NO:3)；miR-146a-5p (SEQ ID NO:4)；miR-223-5p (SEQ ID NO:5)；miR-4497 (SEQ ID NO:6)；miR-1303 (SEQ ID NO:7)；miR-619-5p (SEQ ID NO:8)；miR-1273f (SEQ ID NO:9)；miR-7851-3p (SEQ ID NO:10)；其功能變體；及其組合，以產生該等經修復幹細胞；及

iii) 自該試樣回收該等經修復幹細胞，其中與該等成體幹細胞相比時，該等經修復幹細胞之特徵在於一或多種選自由以下組成之群之基因之表現變化高於約1.5倍：C-abl致癌基因-1非受體酪胺酸激酶；V-akt鼠胸腺瘤病毒致癌基因同源物1；醛去氫酶1家族，成員A3；運動失調毛細血管擴張突變；BMI1多梳環指致癌基因；鈣網蛋白(calreticulin)；週期蛋白A2；週期蛋白B1；週期蛋白D1；週期蛋白E1；CD44分子，細胞分裂週期25同源物C；週期蛋白依賴型激酶2；週期蛋白依賴型激酶4；週期蛋白依賴型激酶6；週期蛋白依賴型激酶抑制劑1A；週期蛋白依賴型激酶抑制劑1B；週期蛋白依賴型激酶抑制劑1C；週期蛋白依賴型激酶抑制劑2A；週期蛋白依賴型激酶抑制劑2B；週期蛋白依賴型激酶抑制劑2C；及週期蛋白依賴型激酶抑制劑2D。

【第9項】

如請求項8之方法，其進一步包含使該等經修復細胞與載劑、賦形劑、穩定劑、抗氧化劑、多肽、蛋白質、親水性聚合物、胺基酸、碳水化合物、螯合劑、糖醇、形成鹽之相對離子、非離子型表面活性劑或其組合

接觸以形成醫藥調配物。

【第10項】

如請求項8之方法，其中該等經修復幹細胞用於投與需要之個體。

【第11項】

如請求項10之方法，其中該個體之周邊血液骨髓系細胞:淋巴系細胞比率(myeloid:lymphoid ratio)與在投與該醫藥調配物之前該個體之周邊血液骨髓系細胞:淋巴系細胞比率相比時降低約0.5:1至約0.05:1。

【第12項】

如請求項10至11中任一項之方法，其中該個體之周邊血液CD4+:CD8+ T細胞比率與在投與該醫藥調配物之前該個體之周邊血液CD4+:CD8+ T細胞比率相比時增加約1:1至約3:1。

【第13項】

一種製備經修復幹細胞組合物之方法，其包含：

(i) 獲得包含成體幹細胞之細胞試樣；

(ii) 將載體構築體引入該等成體幹細胞中，該載體構築體含有用於表現具有選自由以下組成之群之序列的經分離微型RNA之核酸序列：miR-19a-3p (SEQ ID NO:1)；miR-103a-3p (SEQ ID NO:2)；miR-106b-5p (SEQ ID NO:3)；miR-146a-5p (SEQ ID NO:4)；miR-223-5p (SEQ ID NO:5)；miR-4497 (SEQ ID NO:6)；miR-1303 (SEQ ID NO:7)；miR-619-5p (SEQ ID NO:8)；miR-1273f (SEQ ID NO:9)；miR-7851-3p (SEQ ID NO:10)；其功能變體；及其組合，以產生經修復幹細胞；及

(iii) 回收該等經修復幹細胞。

【第14項】

如請求項13之方法，其中該載體包含啟動子序列可操作地鏈接至該微型RNA。

【第15項】

如請求項13至14中任一項之方法，其中該等經修復幹細胞組成性地表現該經分離微型RNA。

【第16項】

如請求項13至14中任一項之方法，其中該等經修復幹細胞誘導性地表現該經分離微型RNA。

【第17項】

如請求項13至14中任一項之方法，其中該等經修復幹細胞用於投與需要之個體。

【第18項】

一種醫藥調配物，其包含成體幹細胞，其中該成體幹細胞包含質體，該質體含有啟動子元件可操作地鏈接至用於表現具有選自由以下組成之群之序列的微型RNA之寡核苷酸：miR-19a-3p (SEQ ID NO:1)；miR-103a-3p (SEQ ID NO:2)；miR-106b-5p (SEQ ID NO:3)；miR-146a-5p (SEQ ID NO:4)；miR-223-5p (SEQ ID NO:5)；miR-4497 (SEQ ID NO:6)；miR-1303 (SEQ ID NO:7)；miR-619-5p (SEQ ID NO:8)；miR-1273f (SEQ ID NO:9)；miR-7851-3p (SEQ ID NO:10)；其功能變體；及其組合。

【第19項】

一種醫藥調配物，其包含選自由以下組成之群之經分離微型RNA：

miR-19a-3p (SEQ ID NO:1) ; miR-103a-3p (SEQ ID NO:2) ; miR-106b-5p (SEQ ID NO:3) ; miR-146a-5p (SEQ ID NO:4) ; miR-223-5p (SEQ ID NO:5) ; miR-4497 (SEQ ID NO:6) ; miR-1303 (SEQ ID NO:7) ; miR-619-5p (SEQ ID NO:8) ; miR-1273f (SEQ ID NO:9) ; miR-7851-3p (SEQ ID NO:10) ; 其功能變體 ; 及其組合。

【第20項】

如請求項19之調配物，其中該等經分離微型RNA包含miR-4497 (SEQ ID NO:6) ; miR-619-5p (SEQ ID NO:8) ; miR-7851-3p (SEQ ID NO:10) ; 其功能變體 ; 或其組合。

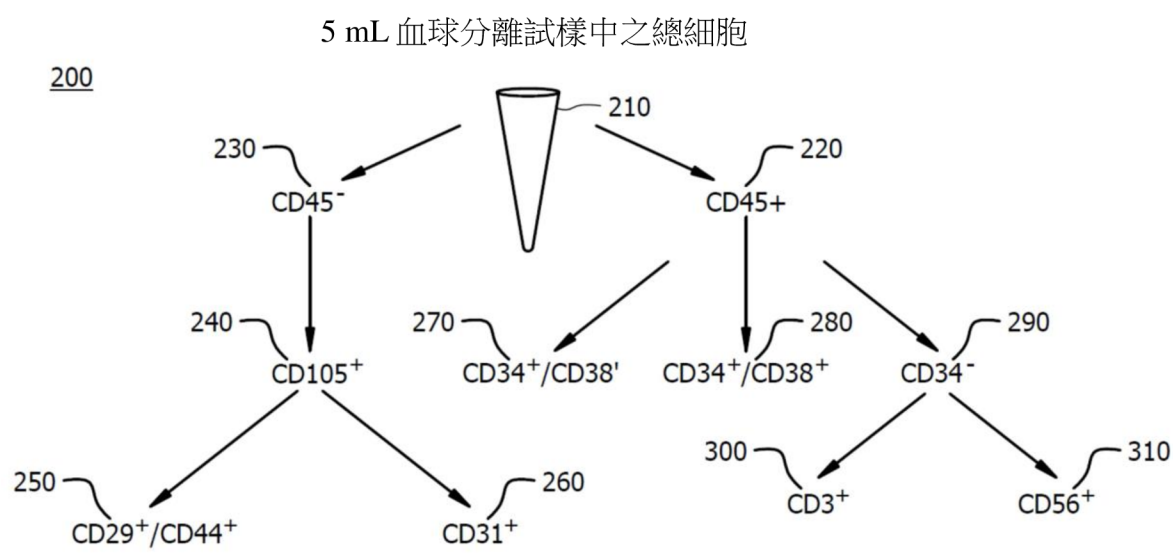
【第21項】

如請求項18至20中任一項之調配物，其進一步包含載劑、賦形劑、穩定劑、抗氧化劑、多肽、蛋白質、親水性聚合物、胺基酸、碳水化合物、螯合劑、糖醇、形成鹽之相對離子、非離子型表面活性劑或其組合，以形成該醫藥調配物。

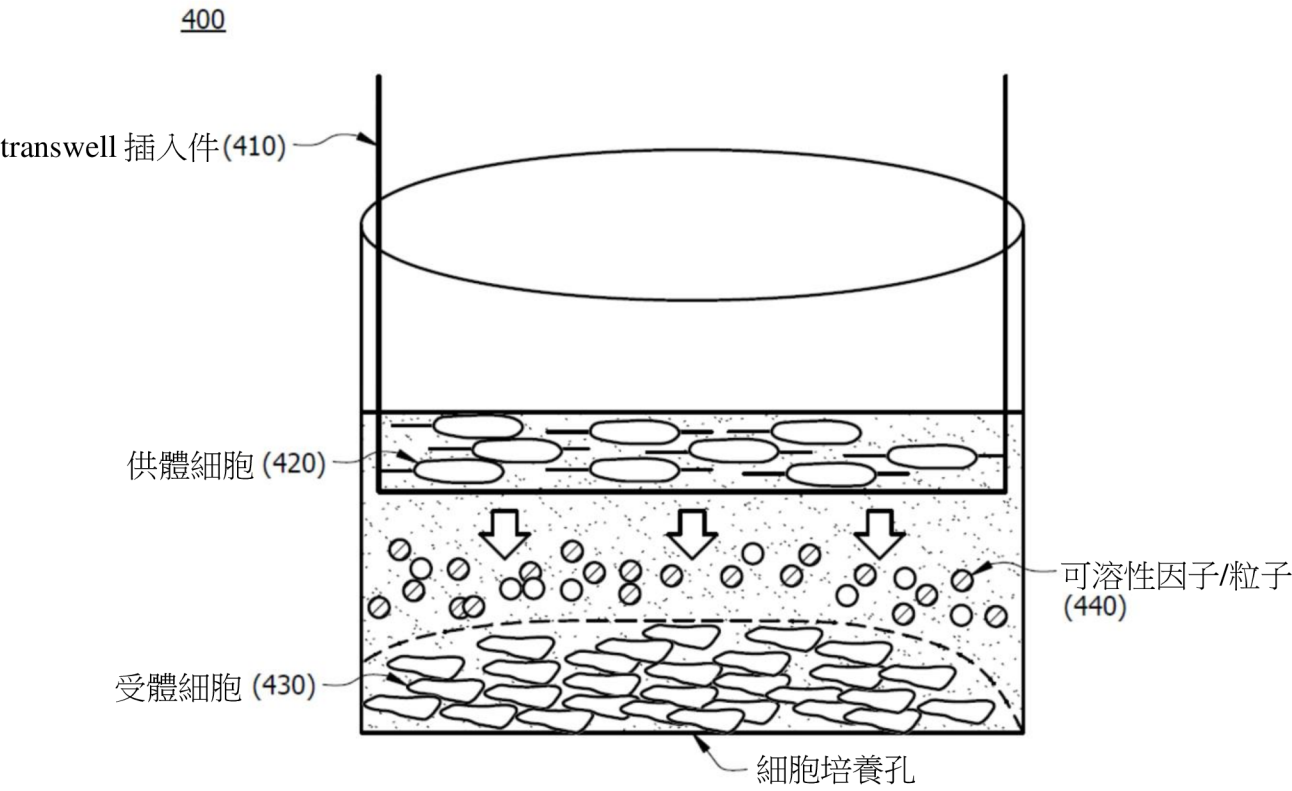
【第22項】

一種套組，其包含如請求項18至21中任一項之調配物。

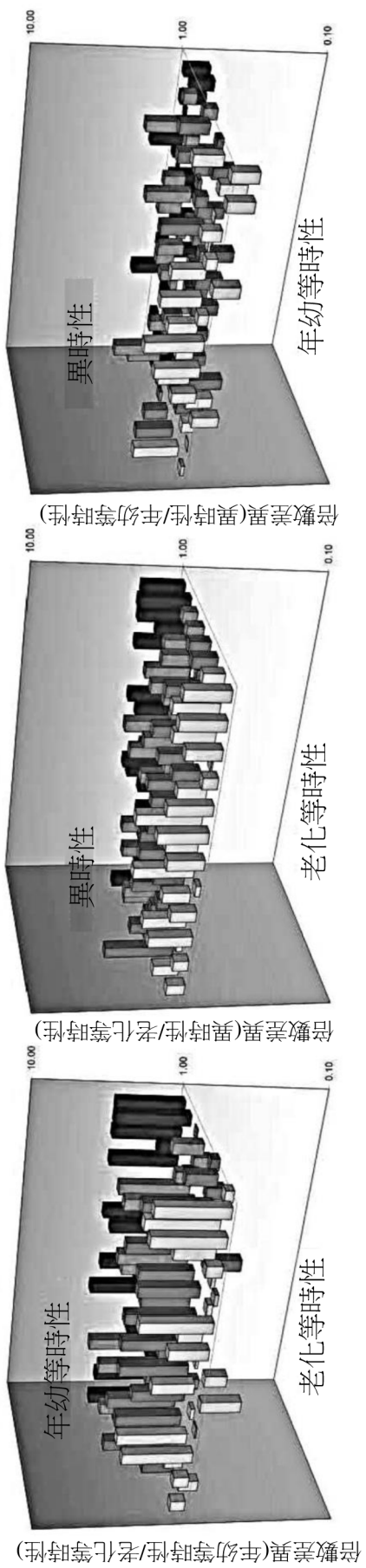
【發明圖式】



【圖1】



【圖2】



【圖 3】