



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103040860 A

(43) 申请公布日 2013.04.17

(21) 申请号 201210499300.X

A61P 1/00(2006.01)

(22) 申请日 2012.11.29

A61P 1/16(2006.01)

(71) 申请人 刘学武

A61P 1/18(2006.01)

地址 100124 北京市朝阳区青年路国美第一
城 2 号院 6 号楼 1 单元 3101 室

A61P 11/00(2006.01)

(72) 发明人 刘学武

A61P 13/12(2006.01)

(74) 专利代理机构 北京天悦专利代理事务所

A61P 13/08(2006.01)

(普通合伙) 11311

A61P 19/08(2006.01)

代理人 田明 王瑛

A61P 9/14(2006.01)

(51) Int. Cl.

A61P 27/16(2006.01)

A61K 33/00(2006.01)

A61P 37/08(2006.01)

A61P 17/00(2006.01)

A61P 37/02(2006.01)

A61P 9/10(2006.01)

A61P 31/00(2006.01)

A61P 25/02(2006.01)

A61P 25/16(2006.01)

A61P 9/00(2006.01)

A61P 1/04(2006.01)

权利要求书 2 页 说明书 43 页

(54) 发明名称

一种启动哺乳动物干细胞的方法及二氧化氯
在制备用于启动哺乳动物干细胞的药物的应用

(57) 摘要

本发明提供了一种启动哺乳动物体内干细胞增殖、迁移和分化的方法，该方法包括：制备含二氧化氯的干细胞启动剂以及对哺乳动物目标组织给予所述干细胞启动剂的步骤，其中所述干细胞启动剂被给予哺乳动物目标组织时提供有效量的二氧化氯。本发明还提供了二氧化氯在制备用于启动干细胞增殖、迁移和分化药物中的应用。本发明的方法适用范围广，适用于各种需要利用干细胞组织再生能力和免疫调节能力治疗疾病或促使损伤器官、组织再生的机体中干细胞的增殖、迁移和分化的启动；此外，采用本发明的方法能快速、且适度地启动干细胞的增殖、迁移和分化；本方法副作用很小或者无副作用，并能持续地发挥启动干细胞增殖、迁移和分化的作用。

1. 一种启动哺乳动物干细胞增殖、迁移和分化的方法,其特征在于,该方法包括:制备含二氧化氯的干细胞启动剂以及对哺乳动物目标组织给予所述干细胞启动剂的步骤;其中所述干细胞启动剂被给予哺乳动物目标组织时提供有效量的二氧化氯。

2. 根据权利要求1所述的一种启动哺乳动物干细胞增殖、迁移和分化的方法,其特征在于,制备含二氧化氯的干细胞启动剂的方法为:将二氧化氯气体溶于含酸性pH调节剂的pH值为1.5~6.5的酸性溶液A中,制备500~2900ppm的二氧化氯溶液。

3. 根据权利要求1所述的一种启动哺乳动物干细胞增殖、迁移和分化的方法,其特征在于,制备含二氧化氯的干细胞启动剂的方法为:将二氧化氯前体溶解于水中制备成1%~40%的水溶液,向该水溶液中加入含有酸性pH调节剂的酸性溶液B,调节混合溶液的pH值为1.5~6.5。

4. 根据权利要求1所述的一种启动哺乳动物干细胞增殖、迁移和分化的方法,其特征在于,制备含二氧化氯的干细胞启动剂的方法为:将二氧化氯前体溶解于水中,制成浓度为1%~40%的水溶液C;将酸性pH调节剂溶于水中制备出酸性溶液D;使用前混合溶液C,D,调节混合溶液的pH值为1.5~6.5。

5. 根据权利要求4所述的一种启动哺乳动物干细胞增殖、迁移和分化的方法,其特征在于,二氧化氯前体为亚氯酸钠、亚氯酸钾、亚氯酸锂、亚氯酸钙、亚氯酸镁和亚氯酸钡。

6. 根据权利要求2、3或4所述的一种启动哺乳动物干细胞增殖、迁移和分化的方法,其特征在于,酸性pH调节剂为柠檬酸、乙酸或磷酸二氢钠。

7. 根据权利要求1所述的一种启动哺乳动物干细胞增殖、迁移和分化的方法,其特征在于,干细胞启动剂通过动脉注射、肌肉注射、皮下注射、心内注射、鞘内注射、关节内注射、穿刺注射、直肠给药、鼻腔给药、经皮给药或吸入给药的方式直接给到损伤的器官或组织中。

8. 根据权利要求1所述的一种启动哺乳动物干细胞增殖、迁移和分化的方法,其特征在于,干细胞启动剂制成注射剂、软膏剂、吸入剂、滴鼻剂、洗剂、栓剂、贴剂、糊剂、片剂、口服液、胶囊剂、颗粒剂、冲剂、丸剂或糖浆剂。

9. 二氧化氯在制备用于启动干细胞增殖、迁移和分化的药物中的应用,其中,该药物用于治疗通过启动干细胞增殖、迁移和分化的再生医学所治疗的疾病。

10. 根据权利要求9所述的二氧化氯在制备用于启动干细胞增殖、迁移和分化的药物中的应用,其特征在于,该药物包含权利要求1-8中任一项所述的一种启动哺乳动物干细胞增殖、迁移和分化的方法所采用的干细胞启动剂。

11. 根据权利要求9所述的二氧化氯在制备用于启动干细胞增殖、迁移和分化的药物中的应用,其特征在于,所述干细胞为应用于利用原位组织再生的再生医学中的细胞。

12. 根据权利要求11所述的二氧化氯在制备用于启动干细胞增殖、迁移和分化的药物中的应用,其特征在于,该再生医学是关于皮肤疾病、运动系统疾病、内分泌疾病、呼吸疾病、泌尿科疾病、胃肠疾病、眼科疾病、神经系统疾病、心血管疾病或血管疾病治疗时的损伤组织再生。

13. 根据权利要求12所述的二氧化氯在制备用于启动干细胞增殖、迁移和分化的药物中的应用,其特征在于:

所述皮肤疾病包括烧伤、皮肤溃疡、褥疮、干皮病、糖尿病性皮肤溃疡、雄激素脱发、甲

沟炎、胃肠黏膜糜烂、消化性溃疡、角膜溃疡、牙髓炎、复发性口疮、口腔黏膜溃疡；

所述神经系统疾病包括中风、阿尔茨海默氏病、帕金森氏病、脊髓炎、多发性外周神经病、听力神经损伤；

所述心血管疾病包括心肌梗死、心绞痛、病毒性心肌炎、动脉粥样硬化、瓣膜性心脏病、感染性心内膜炎、心包炎；

所述肠胃疾病包括慢性胃炎、胃溃疡、十二指肠溃疡、阑尾炎、溃疡性结肠炎、肠结核、病毒性肝炎、酒精性肝炎、胰腺炎；

所述呼吸疾病包括细菌性支气管炎、感染性肺炎、吸入性肺炎；

所述泌尿科疾病包括膀胱炎、慢性肾炎综合症、原发性肾小球疾病、肾上腺炎、尿道炎、细菌和非细菌前列腺炎；

所述运动系统疾病包括关节炎、神经外科颅骨切除术后的骨缺损、整形外科肿瘤切除术后的骨缺损、骨折后的骨缺损、软骨炎、软骨缺损；

所述血管疾病包括闭塞性动脉硬化、闭塞性血栓性动脉炎、血栓性静脉炎、血栓形成、深部静脉血栓形成、突发性聋、糖尿病周围神经病变；

所述内分泌疾病包括Ⅱ型糖尿病和糖尿病性足；

所述眼科疾病包括角膜炎、视网膜黄斑病变、青光眼、干眼症、糖尿病性视网膜炎。

14. 根据权利要求 11 所述的二氧化氯在制备用于启动干细胞增殖、迁移和分化的药物中的应用，其特征在于，该再生医学是关于美容整形中的组织再生、外科手术或意外组织损伤的伤口愈合、各种原因导致的炎症性组织的再生、以及各种癌症中的损伤组织的再生。

15. 根据权利要求 9 所述的二氧化氯在制备用于启动干细胞增殖、迁移和分化的药物中的应用，其特征在于，所述用于启动干细胞增殖、迁移和分化的药物是应用于利用干细胞的组织再生能力和免疫调节能力所治疗的疾病。

16. 根据权利要求 15 所述的二氧化氯在制备用于启动干细胞增殖、迁移和分化的药物中的应用，其特征在于，利用干细胞组织再生能力和免疫调节能力治疗的疾病为 I 型过敏反应疾病和自身免疫性疾病。

17. 根据权利要求 16 所述的二氧化氯在制备用于启动干细胞增殖、迁移和分化的药物中的应用，其特征在于：

所述 I 型过敏反应疾病包括过敏性鼻炎、过敏性结膜炎、特应性皮炎、过敏性外源性哮喘、风疹；

所述自身免疫性疾病包括血小板减少性紫癜、白血球减少症、天疱疹、类天疱疹、Graves 病、重症肌无力、荨麻疹性血管炎、全身性红斑狼疮、类风湿关节炎；多动脉炎、接触性皮炎、盘状红斑狼疮、脉管炎、I 型糖尿病、多发性硬化症、银屑病、银屑病关节炎、硬皮病、脑脊髓炎、斑秃、肌萎缩性侧索硬化症、强直性脊柱炎、自身免疫性荨麻疹、大疱性类天疱疮、慢性阻塞性肺病、瘢痕性类天疱疮、疱疹性皮炎、皮肌炎、弥漫性皮肤系统性硬化症、湿疹、过敏性紫癜、特发性炎性脱髓鞘疾病、神经性皮炎、硬化性苔藓、肌萎缩性侧索硬化症、硬皮病、复发性风湿病、结节性多动脉炎、风湿性多肌痛、干燥综合征、白癜风。

18. 根据权利要求 9、12-17 中任一所述的二氧化氯在制备用于启动干细胞增殖、迁移和分化的药物中的应用，其特征在于，该药物在治疗所述疾病的过程中，二氧化氯用于清创和抗感染。

一种启动哺乳动物干细胞的方法及二氧化氯在制备用于启动哺乳动物干细胞的药物的应用

技术领域

[0001] 本发明属于再生医学领域，具体涉及启动哺乳动物体内干细胞增殖、迁移和分化的方法，以及二氧化氯在制备用于启动干细胞增殖、迁移和分化的药物中的应用。

背景技术

[0002] 人类的疾病大致可分为器质性疾病和功能性疾病。在现代医学中，内科治疗主要针对功能性疾病，而外科治疗和内科治疗都可以用于器质性疾病。然而，大多数内科治疗是对症治疗，很多情况下不能根治疾病。此外，外科治疗更多的是侵害性治疗方法，其通过摘除全部或者部分损伤的器官进行，从而导致器官功能的部分或者完全丧失。另一方面，器官移植和人工器官被作为外科治疗的重要替代医疗方法。然而，器官移植存在很多问题，例如技术问题，比如用于抑制排斥反应的免疫抑制剂引起的副作用，以及诸如供体捐献者严重短缺和医疗卫生费用增加等无法替代的普遍问题。此外，在使用人工器官治疗中也存在诸多问题，其中包括技术问题，比如不能代替该器官功能和生物相容性，以及诸如医疗卫生费用增加等社会问题或经济问题。

[0003] 再生医学作为解决这些问题的新的治疗方法现在引起关注。再生医学是指积极利用干细胞、对因疾病或意外事故引起功能失常或功能障碍的器官或组织进行结构再生和功能恢复的治疗方法。根据利用干细胞的方式，再生医学大致分为以下三种类型：

[0004] (1) 从捐献者收集胚胎干细胞、胎盘血液来源单个核细胞、血液来源单个核细胞或者骨髓来源单个核细胞，在体外培养诱导细胞增殖或 / 和分化，并通过移植所选的未分化的干细胞或 / 和已分化的细胞导入患者身体；

[0005] (2) 从该患者身体收集成体干细胞、血液来源单个核细胞或者骨髓来源单个核细胞，在体外培养诱导细胞增殖或 / 和分化，并通过移植将所选的未分化的干细胞或 / 和已分化的细胞导入患者自己的身体；和

[0006] (3) 刺激患者的身体(例如，通过给药、身体锻炼或者物理疗法等)以启动(initiate)存在于该患者损伤器官或组织原位的干细胞(干细胞没有损伤)，和 / 或患者的血液来源或者骨髓来源干细胞，而不在体外培养诱导干细胞的增殖或 / 和分化。将该方法定义为“原位组织再生”。

[0007] 当前再生医学的主流的研究方向为涉及通过细胞移植从外部导入患者身体的方法(即上述第(1)和(2)类的方法)，但在实践中，仍未大规模开展，并且第(1)类方法中会涉及到医学伦理问题。

[0008] 其中将已分化的细胞从外部导入患者身体的方法用于皮肤病学、眼科学和整形外科领域，其目标组织或器官为由一种或极其有限种类细胞所构建的组织或器官(例如，皮肤、骨、软骨、角膜和肌肉组织)。然而，关于由多种类型的细胞所构建的实体器官(例如，心脏、肝、肺、肾和脑)，适宜地调控这些多种类型的已分化细胞行为的技术还没有达到实用水平。

[0009] 另一方面,以下方法为已知的将未分化的细胞从患者身体外部导入的方法:

[0010] 1) 血管新生(angiogenesis) 的治疗方法,其涉及在严重的缺血性疾病和心血管病中从患者身体外部导入干细胞以促进血管新生,并形成新的血管(Weissman IL:Translating stem and progenitor cell biology to the clinic:Barriers and opportunities. Science. 287:1442-1446, 2000)。

[0011] 2) 血管形成(vasculogenesis) 的方法,其利用从患者身体外部导入胚胎干细胞(ES 细胞) (McCloskey KE 等人 :Use of embryonic stem cell-derived endothelial cells as a cell source to generate vessel structures in vitro. Tissue Eng. 11:497-505, 2005)。该方法还没有达到实际应用水平,因为培养 ES 细胞、诱导细胞分化和获得已分化细胞等方法还没有充分建立,并且会涉及到医学伦理问题。

[0012] 3) 自体骨髓移植的方法,其利用从患者身体骨髓分离的骨髓来源单个核细胞,并直接将细胞导入病变部位来形成新的血管(Sato Y 等人, Can a bone marrow cell contribute to organ regeneration? In vivo analysis using transgenic rats with reporter genes. Transplantation Proceedings. 37:273-275, 2005)。该方法存在诸如只能得到少量干细胞、以及因要通过全身麻醉收集大量的骨髓对患者存在身体负担和危险等问题,再者,在调控移植细胞的分化过程中也存在较大的困难。

[0013] 此外,在使用有关从患者身体外部导入干细胞的方法的再生医学中,一个共同的问题是发生并发症的危险,该并发症可归因于移植细胞的过度再生或 / 和过度修复,当然免疫排斥也是引起并发症的一个主要因素。

[0014] 相对而言,利用“原位组织再生”的方法,即刺激本来存在于患者(这里患者的定义为需要一定的医学手段以达至期望目标的人,比如美容的目标,并非意味着在医学上达到患病标准的人)身体内部的干细胞(即,身体内部原有的干细胞,和 / 或来自患者自身血液来源或骨髓来源干细胞)增殖、迁移和分化,再生损伤器官或 / 和组织从而可恢复其功能。

[0015] 已有文献的研究表明具有再生能力的干细胞存在于肝脏、神经系统(尤其中枢神经系统如脑)、皮肤、脂肪组织、视网膜、角膜、骨骼肌甚至是心脏中(Garry DJ 等人 :Ponce de Leon's fountain:stem cells and the regenerating heart. Am J Med Sci. 329(4):190-201, 2005)。目前认为内在干细胞存在于所有器官和组织中(Weissman IL:Translating stem and progenitor cell biology to the clinic:Barriers and opportunities. Science. 287:1442-1446, 2000 ;Garry DJ 等人 :Ponce de Leon's fountain:stem cells and the regenerating heart. Am J Med Sci. 329(4):190-201, 2005)。本领域技术人员基本可以观察到,人体几乎所有的器官或组织的小型伤口都能够愈合,从这点也能基本判断人体内广泛而均匀的分布着干细胞,这些干细胞随时准备修复周围的伤口。当然对于大型伤口(比如距离最短的伤口边沿距离超过 1 厘米),干细胞无法一次性完全修复,伤口愈合只能以部分疤痕代替(多次干细胞疗法可以修复疤痕)。

[0016] 从下面的文献已知内在干细胞或 / 和血液来源或骨髓来源干细胞可分化成不同类型的组织细胞,细胞的分化类型取决于他们所在的不同诱导微环境(niche)条件。如:不同类型的接触细胞、细胞外基质的内容物、诱导微环境条件下所含的细胞因子和生长因子等。例如:

[0017] (i) 当在神经营养因子或者生长因子存在下培养神经干细胞时,它们形成被称为神经球(neurosphere)的单个细胞来源的集落(即,自我复制(self-replication)),并且这些神经球根据不同的诱导微环境分化成神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞(即,多潜能性(multipotency))。此外,当在体外传代培养神经球时,可以从神经球来源的单个细胞形成另一个神经球(Reynolds BA 和 Weiss S:Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system. *Science*. 255:1707-1710, 1992);

[0018] (ii) 尽管当从成年大鼠脊髓得到的神经干细胞被移植到另一成年大鼠的脊髓中时,神经干细胞只能分化成胶质细胞,但他们被移植到海马齿状回时可分化成神经元(Shihabuddin LS 等人:Adult spinal cord stem cells generate neurons after transplantation in the adult dentate gyrus. *The J Neuroscience*. 20:8727-8735, 2000);

[0019] (iii) 将神经干细胞与血管内皮细胞一起培养时,可促进神经干细胞的增值并分化成神经元(Shen Q 等人:Endothelial cells stimulate self-renewal and expand neurogenesis of neural stem cells. *Science*. 304:1338-1440, 2004);

[0020] (iv) 骨髓来源的间充质干细胞(BM-MSCs)被注射在糖尿病小鼠的伤口周围,BM-MSC 能够分化为表皮细胞、细胞角蛋白和腺体细胞,同时,促进血管新生增强毛细血管密度(Yaojiong Wu 等人:Mesenchymal Stem Cells Enhance Wound Healing Through Differentiation and Angiogenesis. *STEM CELLS*. Volume 25, Issue 10, 2648-2659, October 2007)。

[0021] 另一方面,已知的以利用自身组织原有的干细胞再生的再生医学为目的、用于增加内在的干细胞,或 / 和血液来源或者骨髓来源干细胞的促进方法如下:

[0022] ①对脑缺血模型动物给予EGF时,可促进神经干细胞增殖,且梗塞区约20%的损失细胞得到再生(Teramoto T 等人:EGF amplifies the replacement of parvalbumin-expressing striatal interneurons after ischemia. *The J Clinical Investigation*. 111:1125-1132, 2003);

[0023] ②当对动脉硬化患者给予高血脂症药物斯达丁(Statin, 3-羟基-3-甲基-戊二酰辅酶A(HMG-CoA)还原酶抑制剂)时,骨髓来源血液血管干细胞(hemangioblast)或内皮祖细胞在血液中增加(Walter DH 等人:Statins therapy accelerates reendothelialization: A novel effect involving mobilization and incorporation of bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *Circulation*. 105:3017-3024, 2002);

[0024] ③除了上述EGF外,多种生长因子如VEGF、FGF(b-FGF)、PDGF、NGF和HGF,细胞因子如G-CSF、GM-CSF、促红细胞生成素(EPO),和其他生物活性物质如雌激素和脂类等也被报道用于增加干细胞(Takeyama K, Ohto H:PBSC mobilization. *Transfuse Apher Sci* 31:233-243, 2004; Aicher A, Zeiher AM, Dimmeler S:Mobilizing endothelial progenitor cells. *Hypertension* 45:321-325, 2005)。然而,仅有两、三种的上述物质被开发成了药物,如G-CSF和b-FGF。此外G-CSF具有致癌的危险,而b-FGF如在静脉内注射的过程中有血管闭塞这样的副作用的危险。另外,考虑到归因于生长因子靶向多种类型细胞而引起副作用的多样性,VEGF和b-FGF作为具有靶向细胞类型少的生长因子被开发研究,

但在临床研究中还未有得到足够的疗效。此外,EPO 具有包括血压升高的副作用。公开号为 CN101405021A 的中国专利《神经干细胞增殖试剂和神经干细胞分化试剂的连续给药方案》提到神经干细胞增殖试剂例如 hCG (人绒毛膜促性腺激素)、催乳素和 EPO 等在几天内以连续方式低剂量递送给哺乳动物受试者的方法；

[0025] ④早期研究表明，在正常和再生骨髓侵出物中存在可溶性蛋白因子，他们可以或者抑制或者刺激干细胞增殖(综述于:Lord 和 Wright, Blood Cells. 6:581-593, 1980; Wright 和 Lorimore, Cell Tissue Kinet. 20:191-203, 1987; Marshall 和 Lord, Int Rev. Cyt. 167:185-261, 1996)。但是,至今,尚未从按照 Lord 等所述制备的骨髓侵出物中纯化候选干细胞刺激剂；

[0026] ⑤公开号为 CN101278045A 的中国专利《干细胞和 / 或祖细胞的赋活剂》提到用类凝血酶(优选为巴曲酶)作为原位组织干细胞或 / 和祖细胞的赋活剂,从实施例的表述中可以看出,巴曲酶对原位组织内的干细胞有赋活作用。但是该发明仅限于细胞层面的赋活作用的公开,但缺乏理论依据,同时没有看到有广泛的疾病治疗的临床数据。

[0027] 显然,临幊上需要能够通过利用“原位组织再生”的方法,合理而方便的利用身体本身所具有的分布广泛、遍布所有器官组织的干细胞,具体说就是能够启动这些干细胞增殖、迁移和分化的物质,所述物质具有很小或者无副作用,并且能够根据该再生医学所应用的损伤器官或组织的进展状态及程度,快速并适度地发挥作用。

[0028] 干细胞在组织再生过程中发挥主导作用易被本领域技术人员所公认,除此之外,由干细胞主导的组织再生还具有免疫调节的作用,因此本领域技术人员自然地推论出,利用干细胞能够治疗过敏反应(Hypersensitivity)性疾病(包括过敏性疾病(Allergic diseases)和自身免疫性疾病)。

[0029] 过敏反应性疾病的发生机制十分复杂,临幊实践所见往往为混合型,但以某一型为主,如 I 型和 III 型可以同时出现, II 型和 III 型也可同时出现,甚至 II 、 III 、 IV 型也可同时出现。

[0030] 过敏性疾病就是将外来抗原解读为有害的物体(如细菌、病毒、花粉、灰尘等)而产生变态反应,会使免疫细胞中的吞噬细胞开始活化,释出组织胺与前列腺素,组织胺与前列腺素会出现微血管扩张、血管通透性增加、发痒、平滑肌收缩和反射作用等一连串的作用,小则皮肤出现红斑麻疹,重则导致肿胀发热等炎症表征。过敏指的即是这些不正常的反应,也叫 I 型过敏反应(即 Allergy)。I 型过敏反应往往不会发生组织或器官损伤,但是有些 I 型过敏反应变化成慢性症状(即使进行脱敏治疗也不改变症状)或者伴随其他类型过敏反应会造成组织或器官损伤,且不容易愈合。目前临幊上主要使用糖皮质激素、免疫抑制剂等药物进行治疗,如果该过敏反应转成慢性,一般的治疗手段作用不大,需要更为有效的组织再生疗法。

[0031] 自身免疫性疾病组织损伤大多由 II 、 III 、 IV 型过敏反应所致 : 自身抗体的作用 ; 免疫复合物的作用 ; T 细胞的作用 ; 巨噬细胞、NK 细胞的作用。

[0032] 自身免疫性疾病的共同特征 : 存在自身抗体和(或)自身反应性 T 细胞的量与严重程度平行 ; 受累的范围主要是自身抗体或致敏淋巴细胞所针对自身抗原分布部位 ; 可被动转移 ; 多数自身免疫性疾病病因不明 ; 病程迁延,发作和缓解交替 ; 患者女性多见,发病率随年龄增高,有遗传倾向 ; 疾病有重叠现象 ; 用免疫抑制剂治疗有一定的疗效。

[0033] 自身免疫性疾病指由错误指向机体健康细胞和 / 或组织的免疫细胞引起的任何疾病。自身免疫性疾病的特征为：异常地靶向自身蛋白、自身多肽、自身肽和 / 或其他自身分子的 T 和 B 淋巴细胞造成体内器官、组织或组织类型(例如，皮肤、胰腺、脑、甲状腺或胃肠道)的损伤和 / 或机能失调，从而引起该疾病的临床表现(Marrack et al., Nat Med 7, 899–905, 2001)。自身免疫性疾病包括影响特异组织和 / 或器官的疾病(器官特异性)和影响多组织 和 / 或器官的疾病(非器官特异性疾病)。对于某些疾病而言，这可能部分取决于自身免疫反应是指向局限于特定器官的抗原还是指向广泛分布于机体的抗原。组织特异性自身免疫的表征为选择性靶向单个组织或单一细胞类型。然而，靶向普遍存在的自身蛋白的某些自身免疫性疾病也能影响特异器官。例如，在多肌炎中，自身免疫反应靶向广泛存在的蛋白组氨酰基-tRNA 合成酶，然而主要涉及的临床表现为肌肉的自身免疫性破坏。

[0034] 机体免疫系统具有识别“自己”与“非己”抗原物质的能力，在正常情况下，免疫系统对自身组织抗原不产生免疫应答，或只产生极微弱的免疫应答反应，这种现象称为自身耐受。自身耐受是由免疫系统通过多种机制主动调节来维持的，藉以保证自身组织细胞成分不致遭受免疫反应的攻击而造成损伤。在某些情况下，自身耐受性遭受破坏，免疫系统对自身组织成分产生了明显的免疫应答反应，即在体内产生了针对自身组织成分的抗体或致敏淋巴细胞，称为自身免疫。自身耐受性遭受破坏的机制目前并不完全清楚，不过一些比如病毒、细菌、毒素、某些化学物质及药物等外源性物质引发具有遗传倾向机体的免疫问题起到主要作用。自身免疫在许多情况下是属于生理性的，因为在一定限度内的自身免疫反应有助于清除体内衰老退变或畸变的自身细胞成分，并且对免疫应答反应起着调节作用。只是在自身免疫反应超越了生理的限度或持续时间过久，才会造成自身组织损伤和相应的功能障碍，导致自身免疫性疾病的发生。

[0035] 目前，自身免疫病的常用治疗方法是利用糖皮质激素或使用免疫抑制药物来缓解因免疫系统攻击组织所造成的炎症反应和抑制免疫系统的作用。然而，这些方法都会造成严重的不良反应，如出现严重的感染、骨髓抑制等，而且这些治疗方法只能减缓病情的发展，而非根治疾病。

[0036] 1996 年意大利 Marmont 首先报道用自体骨髓移植 (ABMT) 治疗重症红斑狼疮取得成功后，掀起世界多国应用干细胞治疗自身免疫病的研究热潮，各种干细胞治疗自身免疫病迅速开展起来。比如利用胎盘干细胞治疗自身免疫性疾病(中国专利，公开号：CN101657206A)；利用人体脂肪来源的干细胞治疗 I 型糖尿病(Vikash Chandra 等人：Islet-Like Cell Aggregates Generated from Human Adipose Tissue Derived Stem Cells Ameliorate Experimental Diabetes in Mice. PLoS One. 2011;6(6):e20615. Epub 2011 Jun 7.)；利用神经祖细胞治疗免疫性疾病(Wei Cao 等人：Leukemia Inhibitory Factor Inhibits T Helper 17 Cell Differentiation and Confers Treatment Effects of Neural Progenitor Cell Therapy in Autoimmune Disease, Immunity, Volume 35, Issue 2, 273–284, 11 August 2011)；在肠道内利用肠道祖细胞生成胰岛素分泌细胞治疗 I 型糖尿病(Chutima Talchai 等人：Generation of functional insulin-producing cells in the gut by Foxo1 ablation. Nature Genetics. 44, 406–412 (2012))；利用脐带血干细胞治疗 I 型糖尿病(Yong Zhao, Zhaoshun Jiang, Tingbao Zhao, Mingliang Ye, Chengjin Hu, Zhaohui Yin, et al：“Reversal of type 1 diabetes via islet

beta cell regeneration following immune modulation by cord blood-derived multipotent stem cells." BMC Medicine 2012, 10:3, 10 January 2012.) ;通过静脉注射骨髓间质干细胞治疗自身免疫性重症肌无力(Yu, J 等人 :Intravenous Administration of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Benefits Experimental Autoimmune Myasthenia Gravis Mice Through an Immunomodulatory Action, Scandinavian Journal of Immunology, 2010; 72(3):242) ;利用血源性的干细胞治疗老年动物的多发硬化症(Julia M. Ruckh 等人 :Rejuvenation of Regeneration in the Aging Central Nervous System, Cell Stem Cell, Volume 10, Issue 1, 96-103, 6 January 2012);用骨髓间充质干细胞治疗系统性硬化症,并探索干细胞的免疫调节机制(Kentaro Akiyama 等人 :Mesenchymal-Stem-Cell-Induced Immunoregulation Involves FAS-Ligand-/FAS-Mediated T Cell Apoptosis, Cell Stem Cell, Volume 10, Issue 5, 544-555, 26 April 2012)。

[0037] 通过干细胞治疗自身免疫性疾病主要利用了干细胞的两个作用 :免疫调节作用和组织再生作用。就干细胞免疫调节作用来说,有研究指出,间充质干细胞(Mesenchymal Stromal Cell)具有抑制 T 细胞与 B 细胞的增殖以实现调控机体自身免疫反应的临床效果,而这种免疫调节作用不似临床中常用免疫抑制剂的单分子调控, MSCs 是通过多分子参与、多途径调控及其旁分泌作用实现,并且其免疫调节作用是与机体炎症的微环境相互作用(Pittenger, M. F., Martin, B. J. :Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics. Circ. Res., 2004, 95, 9-20)。另外,干细胞发动的组织再生具有天然的免疫调节能力(因为机体免疫系统识别新组织为“自己”)。

[0038] 当然,目前通过干细胞治疗自身免疫性疾病的方式依然还是通过干细胞移植的方式,没有利用原位组织中的干细胞。

[0039] 二氧化氯是目前国际上公认的新一代的高效、广谱、安全的杀菌、保鲜剂,是氯制剂最理想的替代品,在世界发达国家已得到广泛的应用。美国、西欧、加拿大、日本等发达国家的有关组织如美国环境保护局、食品药品管理局、美国农业部均批准和推荐二氧化氯用于食品、食品加工、制药、医院、公共环境等的消毒、防霉和食品的防腐保鲜等。世界卫生组织(WHO) 和世界粮食组织(FAO) 也已将二氧化氯列为 A1 级安全高效消毒剂。为控制饮水中“三致物质”(致癌、致畸、致突变)的产生,欧美发达国家已广泛应用二氧化氯替代氯气进行饮用水的消毒。但二氧化氯作为药品还未被市场所接受。然而,有部分专利涉及到利用二氧化氯治疗部分疾病的用途(例如, CN102137651A、CN101641104A 和 CN1199633C),这些专利仍然仅是利用二氧化氯的强氧化能力和杀灭皮肤病原微生物的抗感染能力。专利号为 US5750108 提到二氧化氯能够刺激毛囊发育新发,但是由于浓度较低,未发挥二氧化氯的最大能力,因此未见明显生发效果 ;公开号为 CN102441006A 的专利提供了一种包含二氧化氯的外用生发溶液,能够短期内刺激脱发区域长出新发,并提供了可治愈的案例,但是该专利仍然没有发现二氧化氯潜在的启动干细胞的作用机理。

发明内容

[0040] 在对现有技术研究的基础上,本发明的一个目的是提供一种启动哺乳动物体内干细胞增殖、迁移和分化的方法,采用该方法能快速、且适度地启动干细胞的增殖、迁移和分化,并且该方法副作用很小或者无副作用,并能持续地发挥启动干细胞增殖、迁移和分化的

作用。

[0041] 本发明的另一个目的是提供二氧化氯在制备用于启动干细胞增殖、迁移和分化的药物中的应用。根据该应用，用于启动干细胞增殖、迁移和分化的药物中有含二氧化氯的干细胞启动剂，该药物能够启动患者体内本来存在的干细胞的增殖、迁移和分化，能快速而适度地发挥作用，并能持续起到促进作用，且具有很小的副作用或者无副作用，对患者的负担较轻。

[0042] 为达到以上目的，本发明采用的技术方案是：一种启动哺乳动物干细胞增殖、迁移和分化的方法，该方法包括：制备含二氧化氯的干细胞启动剂以及对哺乳动物目标组织给予所述干细胞启动剂的步骤，其中所述干细胞启动剂被给予哺乳动物目标组织时提供有效量的二氧化氯。

[0043] 进一步，制备含二氧化氯的干细胞启动剂的方法为：将二氧化氯气体溶于含酸性 pH 调节剂的 pH 值为 1.5 ~ 6.5 的酸性溶液 A 中，制备 500 ~ 2900ppm 的二氧化氯溶液。

[0044] 进一步，制备含二氧化氯的干细胞启动剂的方法为：将二氧化氯前体溶解于水中制备成 1% ~ 40% 的水溶液，向该水溶液中加入含有酸性 pH 调节剂的酸性溶液 B，调节混合溶液的 pH 值为 1.5 ~ 6.5。

[0045] 进一步，制备含二氧化氯的干细胞启动剂的方法为：将二氧化氯前体溶解于水中，制成浓度为 1% ~ 40% 的水溶液 C；将酸性 pH 调节剂溶于水中制备出酸性溶液 D；使用前混合溶液 C、D，调节混合溶液的 pH 值为 1.5 ~ 6.5。

[0046] 再进一步，二氧化氯前体为亚氯酸钠、亚氯酸钾、亚氯酸锂、亚氯酸钙、亚氯酸镁和亚氯酸钡。

[0047] 再进一步，酸性 pH 调节剂为柠檬酸、乙酸或磷酸二氢钠。

[0048] 进一步，干细胞启动剂通过动脉注射、肌肉注射、皮下注射、心内注射、鞘内注射、关节内注射、穿刺注射、直肠给药、鼻腔给药、经皮给药或吸入给药的方式直接给到损伤的器官或组织中。

[0049] 进一步，干细胞启动剂制成注射剂、软膏剂、吸入剂、滴鼻剂、洗剂、栓剂、贴剂、糊剂、片剂、口服液、胶囊剂、颗粒剂、冲剂、丸剂或糖浆剂。

[0050] 本发明提供了二氧化氯在制备用于启动干细胞增殖、迁移和分化的药物中的应用，其中，该药物用于治疗通过启动干细胞增殖、迁移和分化的再生医学所治疗的疾病。

[0051] 进一步，该药物包含上述启动哺乳动物干细胞增殖、迁移和分化的方法中所采用的干细胞启动剂。

[0052] 进一步，所述干细胞为应用于利用原位组织再生的再生医学中的细胞。

[0053] 再进一步，该再生医学是关于皮肤疾病、运动系统疾病、内分泌疾病、呼吸疾病、泌尿科疾病、肠胃疾病、眼科疾病、神经系统疾病、心血管疾病、血管疾病治疗时的损伤组织再生。

[0054] 更进一步，皮肤疾病包括烧伤、皮肤溃疡、褥疮、干皮病、糖尿病性皮肤溃疡、雄激素脱发、甲沟炎、胃肠黏膜糜烂、消化性溃疡、角膜溃疡、牙髓炎、复发性口疮、口腔黏膜溃疡；所述神经系统疾病包括中风、阿尔茨海默氏病、帕金森氏病、脊髓炎、多发性外周神经病、听力神经损伤；所述心血管疾病包括心肌梗死、心绞痛、病毒性心肌炎、动脉粥样硬化、瓣膜性心脏病、感染性心内膜炎、心包炎；所述肠胃疾病包括慢性胃炎、胃溃疡、十二指肠溃

疡、阑尾炎、溃疡性结肠炎、肠结核、病毒性肝炎、酒精性肝炎、胰腺炎；所述呼吸疾病包括细菌性支气管炎、感染性肺炎、吸入性肺炎；所述泌尿科疾病包括膀胱炎、慢性肾炎综合症、原发性肾小球疾病、肾上腺炎、尿道炎、细菌和非细菌前列腺炎；所述运动系统疾病包括关节炎、神经外科颅骨切除术后的骨缺损、整形外科肿瘤切除术后的骨缺损、骨折后的骨缺损、软骨炎、各种关节的软骨缺损；所述血管疾病包括闭塞性动脉硬化、闭塞性血栓性动脉炎、血栓性静脉炎、血栓形成、深部静脉血栓形成、突发性聋、糖尿病周围神经病变；所述内分泌疾病包括Ⅱ型糖尿病和糖尿病性足；所述眼科疾病包括角膜炎、视网膜黄斑病变、青光眼、干眼症、糖尿病性视网膜炎。

[0055] 进一步，该再生医学是关于美容整形中的组织再生、外科手术或意外组织损伤的伤口愈合、各种原因导致的炎症性组织的再生、以及各种癌症中的损伤组织的再生。

[0056] 进一步，所述用于启动干细胞增殖、迁移和分化的药物应用于利用干细胞的组织再生能力和免疫调节能力治疗的疾病。

[0057] 再进一步，利用干细胞组织再生能力和免疫调节能力治疗的疾病为Ⅰ型过敏反应疾病和自身免疫性疾病。

[0058] 更进一步，其中所述Ⅰ型过敏反应疾病包括：过敏性鼻炎、过敏性结膜炎、特应性皮炎、过敏性外源性哮喘、风疹；所述自身免疫性疾病包括血小板减少性紫癜、白血球减少症、天疱疹、类天疱疹、Graves病、重症肌无力、荨麻疹性血管炎、全身性红斑狼疮、类风湿关节炎；多动脉炎、接触性皮炎、盘状红斑狼疮、脉管炎、Ⅰ型糖尿病、多发性硬化症、银屑病、银屑病关节炎、硬皮病、脑脊髓炎、斑秃、肌萎缩性侧索硬化症、强直性脊柱炎、自身免疫性荨麻疹、大疱性类天疱疮、慢性阻塞性肺病、瘢痕性类天疱疮、疱疹性皮炎、皮肌炎、弥漫性皮肤系统性硬化症、湿疹、过敏性紫癜、特发性炎性脱髓鞘疾病、神经性皮炎、硬化性苔藓、肌萎缩性侧索硬化症、硬皮病、复发性风湿病、结节性多动脉炎、风湿性多肌痛、干燥综合征、白癜风。

[0059] 进一步，在治疗上述疾病的过程中，二氧化氯用于清创和抗感染。

[0060] 本发明提供了二氧化氯的新用途，包括两个方面：一方面，本发明提供了一种利用含二氧化氯的干细胞启动剂启动哺乳动物体内干细胞的增殖、迁移和分化的方法，以及对哺乳动物目标组织给予所述干细胞启动剂的步骤；另一方面，提供了二氧化氯在制备用于启动干细胞增殖、迁移和分化的药物中的应用。

[0061] 根据本发明，本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂能够启动干细胞的增殖、迁移和分化。因此本发明可以有利地用于再生医学、特别是利用原位组织中的干细胞的再生医学中。

[0062] 由于使用本发明中含二氧化氯的干细胞启动剂进行的、利用原位组织中的干细胞的再生医学是使用患者身体内本来存在的干细胞，所以不需要从患者身体外部导入细胞。因此，不需要有对身体外部细胞的分离、培养等复杂过程，对患者的负担较轻并且诸如细胞移植期间的感染的危险也不存在，结果使利用原位组织中的干细胞的再生医学优于从患者身体外部导入细胞的再生医学。并且不涉及到医学伦理问题。

[0063] 此外，在使用本发明中含二氧化氯的干细胞启动剂进行的利用原位组织再生的再生医学中，干细胞的启动特异地发生于患者的患病部位(即损伤的器官和/或组织)中，并且该组织再生仅取决于所要求的程度而发生。因此，利用原位组织再生的再生医学不会发生

由患者身体外部导入细胞那样的、传统的再生医学主流方法的细胞移植的过多再生和 / 或过度修复、或由于免疫排斥而引起的并发症危险。

[0064] 再者，本发明中，含二氧化氯的干细胞启动剂具有很小的副作用或者无副作用，能够根据再生医学应用的损伤器官和 / 或损伤组织的进展状态及程度，快速而适度地发挥作用，并且具有持续的干细胞增殖、迁移和分化的促进作用。因此，可以有利地用于再生医学。

[0065] 所以，本发明能够用于再生医学、特别是利用原位组织再生的再生医学中，具有高度的适用性。

具体实施方式

[0066] 下面结合具体实施方式对本发明作进一步描述。

[0067] 在描述本发明的具体实施方式之前，首先对本发明所提供方法的机理进行描述。

[0068] 一份编号为 NCT01341041 的美国临床试验报告(《Chlorine Dioxide Versus Saline for Wound Irrigation》，报告单位为 Rhode Island Hospital)显示，相对于生理盐水，二氧化氯对于一般伤口有如下的作用：加速伤口愈合，减少疤痕形成。在动物身体试验方面，有报道认为二氧化氯对于伤口有快速止血、加速伤口愈合的疗效(金伟等，二氧化氯缓释凝胶促进家兔创面愈合效果的试验研究，《山西医科大学学报》2011 年 42 卷 07 期)。

[0069] 因此，可以肯定的是，伤口愈合是由干细胞发动的，如果组织丢失了干细胞，该组织的任何伤口都不可能愈合。正常的情况下，不需要任何的药物刺激，人体组织的伤口将能得到正常的愈合，根本原因是该组织上的伤口附近存在干细胞，干细胞将通过增值、迁移和分化长出完整的新组织。一旦干细胞的数量或者分化能力不足就会导致伤口愈合过程中产生疤痕或者伤口较长时间不能愈合。比如，I 度烧伤可以自然愈合不留疤痕；II 度烧伤疤痕愈合；III 度烧伤不能自然愈合。

[0070] 成人干细胞(ASCs)被认为是伤口愈合过程中新的组织的来源，包括皮肤伤口愈合、肝再生、肺再生、肾功能修复、角膜上皮愈合、神经再生、心肌病和缺血性脑损伤组织的修复都是由原位组织中的干细胞增殖、迁移和分化来完成的。骨髓间充质干细胞(BM-MSC)已被证明参与伤口愈合的各个阶段(Katherine Lau 等人, Exploring the role of stem cells in cutaneouswound healing, Experimental Dermatology, Volume 18, Issue 11, pages921 - 933, November 2009)。

[0071] 本发明人也发现二氧化氯溶液对于皮肤伤口具有明显的加速愈合能力，并且很少留有疤痕，比如较大炎症性伤口愈合和糖尿病足的伤口愈合。

[0072] 人体组织有损伤后，会产生自适应性疼痛(Adaptive pain)，包括伤害性疼痛和炎症性疼痛(Inflammatory pain)。伤害性疼痛(Nociceptive pain)具有保护机体免受外界的更为严重的伤害，起到保护机体的作用(Clifford J. Woolf, What is this thing called pain?J Clin Invest. 2010 November1;120(11):3742 - 3744)；炎症性疼痛扮演了促进损伤组织愈合的角色(Clifford J. Woolf, Pain:Moving from Symptom Control toward Mechanism-Specific Pharmacologic Management, Annals of Internal Medicine (2004), Volume:140, Issue:6, Pages:441-451)。因此疼痛对于组织损伤的修复是有好处的，而且应该也是通过各种刺激因子促使干细胞分化以再生的方式应对组织损伤。

[0073] 本发明人也发现二氧化氯溶液施用于器官组织上，具有对其产生微型伤口的作

用，并且会引起短时间的疼痛感觉。本发明人认为产生微型伤口，一方面具有清创作用，清除坏死组织；另一方面起到诱导干细胞发动的组织再生作用，而疼痛的刺激促进了这一作用。

[0074] 在观察毛囊细胞再生的过程中，发现在一定程度上，皮肤伤口的恢复伴随着干细胞以一种比较初期的模式分化，有如再生的组织更为年轻。(Katherine Lau 等人 :Exploring the role of stem cells in cutaneouswound healing, Experimental Dermatology, Volume 18, Issue 11, pages921 - 933, November 2009)。在对于小鼠的研究中，人为的伤口愈合过程产生新的毛囊干细胞群落并且能产生新的毛发，同时毛囊干细胞和表皮干细胞都参与伤口愈合过程中的细胞(包括毛囊细胞、皮脂腺细胞等)的形成，其中有干细胞增殖、迁移和分化的过程，这其中 wnt 信号起到了主要作用(ItoM, 等人 :Wnt-dependent de novo hair follicle regeneration in adult mouseskin after wounding. Nature. 2007May 17;447 (7142) :316-20)。

[0075] 本发明人发现合适浓度的二氧化氯溶液用于脱发区域，具有如下的现象：每天外涂二氧化氯溶液，第 3 ~ 5 天左右时间，在抹药区域有伤口状的红斑出现，在仍然有头发的脱发区域长出新头发，而在 20 天左右时间，在全光的脱发区域有新头发出现。唯有干细胞的再生组织能力可以解释这一现象。

[0076] 胎儿的伤口迅速愈合且无疤痕，而成年人伤口愈合难度随着年龄而增加，这可能代表了干细胞的功能状态的变化(Cecilia Roh 等人 :Cutaneous StemCells and Wound Healing, Pediatric Research (2006). 59, 100R-103R)。这同时也说明干细胞再生能力有衰老的可能。干细胞的“微环境”(niche)在衰老导致的干细胞丧失中充当关键角色，干细胞定位在其他细胞的微环境中，众所周知微环境对于干细胞的功能起重要作用。在对果蝇生殖干细胞自我更新的分子机制的研究中，研究人员发现随着干细胞微环境变化，细胞生成了一种在 RNA 翻译成蛋白质中起负性调控作用的 mRNA 分子 let-7, let-7 表达增高将会减少微环境中的活性干细胞数目(Hila Toledano 等人, The let-7 - Imp axis regulates ageing of the Drosophila testis stem-cellniche, Nature (2012) , Published online 23May 2012)。可见，至少在一定程度上，干细胞再生能力的衰老，表现在干细胞数量的减少，而其中微环境所传达的信号起着至关重要的作用。

[0077] 本发明人也发现，同样的伤口(面积和深度相同)，都用二氧化氯溶液处理，60 岁以上的人的愈合能力要显著低于 30 岁以下的人。说明二氧化氯对干细胞的作用与上述理论预测的结果基本一致。

[0078] 根据以上理论及实践的观察，从伤口愈合的角度判断，本发明人发现二氧化氯溶液对组织修复具有明显的促进作用，并且可以看出，新生的组织更为年轻化。

[0079] 二氧化氯得到 5 个电子的氧化还原电位为 1.5，超过氧气的 1.2，由于获得电子能力强，属于强氧化剂。本发明人认为二氧化氯能够促进哺乳动物体内干细胞增殖、迁移和分化依赖两个路径：二氧化氯依靠强氧化能力将破坏普通细胞，类似能够在组织上造成伤口或者清除坏死组织，并产生疼痛，身体将会自动启动干细胞对伤口进行愈合；二氧化氯是一种可以溶于水的气体，和一氧化氮(NO) 和硫化氢(H₂S) 一样，二氧化氯可以作为信号分子，当进入或渗入机体组织后，发挥气体信号分子的特殊能力，启动干细胞进行增殖、迁移和分化来完成组织再生。

[0080] 较多研究支持一氧化氮能够促进伤口愈合(MajidaRizk 等人, Nitric Oxide and Wound Healing. World Journal of Surgery. Volume 28, Number3 (2004), 301-306,), 特别是类似糖尿病患者的慢性伤口愈合(M. B. Witte 等人, Nitric oxide enhances experimental wound healing in diabetes. British Journal of Surgery. Volume 89, Issue 12, pages 1594 - 1601, December 2002)。一氧化氮在酸性条件下得到两个电子的氧化还原电位为 1.6, 和二氧化氯接近, 而且两者均溶于水(前者微溶)。本发明人猜想, 区别于一氧化氮这类内源性的信号分子, 二氧化氯可以作为外源性的信号分子作用于身体, 并且可以作为原位组织再生中的干细胞启动剂。

[0081] 本发明人猜想, 本发明中的含二氧化氯的制剂以合适的方式用于人体原位组织再生, 其作用机理包括如下几个方面:

[0082] 第一、本发明中的含二氧化氯制剂可以清除损伤组织中的坏死部分, 为干细胞发动并完成组织修复提供了空间, 同时由于存在着丰富的空间和组织特异性暗示, 也刺激了身体自动修复损伤组织。另外, 如公开号为 CN101641104A 的中国专利《感染性皮肤和黏膜疾病治疗药》利用二氧化氯具备的广谱的病原性微生物杀灭作用, 用于部分致病微生物引起的皮肤病治疗, 本发明中的二氧化氯制剂可以高效的杀灭病原微生物, 具备清创、防止感染、清除过敏原等外源性物质(本身确是为、和 / 或被免疫系统视为)的作用。

[0083] 第二、本发明中的含二氧化氯制剂可以在损伤组织中产生分布均匀的微型伤口, 并且引起疼痛刺激身体发动各种因子和细胞修复伤口, 并且是以比较初期的模式进行修复, 使修复的组织能恢复如新, 并更为年轻化, 包括恢复被免疫系统识别为“自己”的新组织, 即具备免疫调节能力;

[0084] 第三、本发明中的含二氧化氯制剂, 其中的二氧化氯作为外源性的气体信号分子, 提高干细胞的活性, 通过启动干细胞增值、迁移和分化的方式, 促进对损伤组织的修复工作。除了启动干细胞发动组织再生, 二氧化氯作为气体信号分子还具备直接或通过干细胞而间接发挥免疫调节作用。其中二氧化氯制剂所起的作用应该是复杂而综合的。

[0085] 本发明是基于以上的研究结果, 因此本发明中的含二氧化氯制剂作为干细胞启动剂不仅可以利用干细胞发动的组织再生能力治疗疾病, 而且可以利用干细胞组织再生过程伴随的免疫调节能力治疗疾病, 同时利用了二氧化氯清除坏死组织起到的清创作用和杀灭病原微生物的抗感染作用。

[0086] 学术研究也明确了二氧化氯可以安全的用于人体, 其中, 施来顺和谢朝仁(《稳定性二氧化氯的急性毒性及刺激性试验观察》,《中国消毒学杂志》, 1999 年 16 卷 01 期)得出的试验结论: 稳定性二氧化氯对小鼠经口 LD₅₀ > 10000mg/kg, 属实际无毒物质。其含二氧化氯 9.7 ~ 11.4mg/L 对皮肤和眼睛黏膜 48h 刺激积分为 0, 属无刺激性物质。黄君礼等(《水中二氧化氯及副产物亚氯酸盐和氯酸盐一般毒性研究》,《化工标准·计量·质量》2001 年 03 期)得出的试验结论: 276.5mg/L 的 ClO₂ 水溶液, 200mg/L 的 NaClO₂ 和 NaClO₃ 水溶液以及总浓度为 553mg/L 的 ClO₂ 混合水溶液均为实际无毒水溶液; 276.5mg/L 的 ClO₂、200mg/L 的 NaClO₂ 和 NaClO₃ 水溶液也是无明显蓄积性毒性的水溶液; ClO₂ 混合液对大鼠体重增长和食物利用率没有产生显著性影响($p < 0.05$); 对大鼠血液学指标, 如白细胞计数(WBC)、血红蛋白(Hb) 均未产生影响($p < 0.05$); 对谷丙转氨酶(ALT)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB) 和球蛋白(GLO) 的检测表明, 其对照组和高剂量组雌雄相比无显著性差异($p < 0.05$); 各试验组和

对照组的大鼠肝体比(%)和肾体比(%)经方差分析,各组之间均无明显差别($p<0.05$);病理组织学检查结果显示,各试验组和对照组其肝、肾组织均未见病变。

[0087] 尽管本发明中的目标干细胞的定义在相关技术领域中还没有完全标准化,但是在本说明书中根据已获得共识的概念,将干细胞以下面的形式进行定义。

[0088] 干细胞是具有自我复制(或更新)能力(self-replication)和分化为多种细胞的多潜能性(multipotency)的未分化细胞。干细胞的具体实例包括胚胎干细胞(ES细胞)、胚胎生殖细胞(EG细胞)、成体干细胞、血液血管干细胞(hemangioblast)、神经干细胞、造血干细胞、间充质干细胞和其他细胞的干细胞(包括骨细胞、软骨细胞、肌细胞、心肌细胞、神经元、腱细胞、脂肪细胞、胰腺细胞(pancreocyte)、肝细胞、肾元细胞和毛囊细胞等)。

[0089] 本发明中的干细胞启动剂,其中的分化启动阶段包含由干细胞向下分化至终末期分化细胞的整个过程,即包括了干细胞分化为祖细胞(祖细胞被定义为干细胞的子代细胞,其分化潜能或自我复制能力或二者均更加受限),也包括祖细胞分化为已分化细胞,再到终末期分化细胞的整个过程,或者其中的某一阶段。整个阶段代表了干细胞修复损伤组织的一个通用模式。干细胞在机体内,主导着对于组织的维护(maintenance)和修复(repair)的功能,为了完成这样的功能,其生命周期内运转模式可分为增殖(Proliferation)、迁移(migration)和分化(differentiation)。为了维持机体的正常组织功能,干细胞自我更新和克隆行为的模式相应的表现为 三种:对称分裂,干细胞实现增殖;相邻组织中的干细胞对称分裂并迁移;不对称分裂,干细胞自我更新并且向子代细胞分化(Allon M. Klei 等人:Universal patterns of stem cell fate in cycling adult tissues, Development, August 1, 2011, 138, 3103-3111)。本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂,其中“启动”包含了启动干细胞增殖、迁移和分化等一套维护和修复组织的整个过程,并且不局限于其中某一具体过程。研究表明,已经分化了的细胞或者组织特异性干细胞(tissue-specific stem cell)能够改变其原有表型,显现出其他组织细胞的功能特征,这就是转分化。本发明将干细胞的转分化定义为组织特异性干细胞转变为其他谱系的细胞。如果某一组织特异性的干细胞已经失去了再生该组织的能力,那么要想再生该组织就需要临近的干细胞的转分化。机体组织内,存在着少量的干细胞转分化现象,本发明将该转分化定义包括在干细胞分化的定义之中。

[0090] 存在于成人身体中的干细胞可以根据他们的起源和位置分成内在干细胞、血液来源干细胞和骨髓来源干细胞。

[0091] 将内在干细胞定义为本来存在于特定器官或组织中的具有自我复制能力和多潜能性的细胞,所述器官或组织受到损伤的情况下,所述细胞有助于该器官或组织的再生。这些内在的干细胞的具体实例包括角膜干细胞、心脏干细胞、神经干细胞、血管 EPC 等。从之前的描述中,本领域技术人员亦可以轻易了解到,在人体,几乎所有的器官或组织内均广泛分布着内在干细胞,并且可以用于原位组织再生。

[0092] 将血液来源的干细胞定义为存在于循环血液中的具有自我复制能力和多潜能性的细胞。在器官或组织受到损伤的情况下,所述细胞通过迁移并蓄积在所述器官或组织中,从而有助于该器官或组织的再生。在这种情况下的血液包括外周血液、胎盘血液、动脉血液、静脉血液、来自心脏的血液或者来自眼底的血液。血液来源干细胞的具体实例包括血管 EPC、间充质干细胞等。

[0093] 将骨髓来源干细胞定义为本来存在于骨髓中的具有自我复制能力和多潜能性的细胞，在所述器官或组织受到损伤的情况下，所述细胞通过经由血液循环迁移并蓄积到所述器官或组织中，从而有助于该器官或组织的再生。骨髓来源干细胞的具体事例包括血管EPC、间充质干细胞等。

[0094] 本发明中的干细胞启动剂能够启动这些内在干细胞、血液来源干细胞和 骨髓来源干细胞的每一种的增殖、迁移和分化。

[0095] 此外，干细胞可以分成活化状态细胞(处在该状态的细胞正在进行增殖、迁移和分化)和非活化状态细胞(处在该状态的细胞不在进行增殖、迁移和分化)。但本发明中的干细胞启动剂能够促进活化状态和非活化状态的干细胞进行增殖、迁移和分化。

[0096] 本发明中的干细胞启动剂能够促进干细胞对损伤组织进行修复，并实现再生。这里，将“启动”定义为下面所指的三种作用：

[0097] (a) 启动 (initiate) 或动员 (activate) 干细胞进行增殖。

[0098] (b) 启动 (initiate) 或动员 (activate) 干细胞进行迁移。将迁移定义为干细胞从骨髓、器官或组织移动到循环血液中；从循环血液积蓄到损伤的器官或组织中；或者在器官或组织内部移动。

[0099] (c) 启动 (initiate) 或动员 (activate) 干细胞的分化，包括转分化。

[0100] 本发明所述的含二氧化氯的干细胞启动剂可以单独包含二氧化氯的单一剂型或者包含二氧化氯前体的若干份组合。其中单独包含二氧化氯的单一剂型可以如下地制成：

[0101] 方法 1：向水中添加 PH 调节剂，制成 PH 值为 1.5 ~ 6.5 的酸性水溶液。通过合乎规范，并且浓度在 99.9% 以上二氧化氯气体的制备方式(优选为亚氯酸盐与酸反应)产生二氧化氯气体。通过将该二氧化氯气体向上述酸性水溶液中鼓泡并溶解从而制备 500 ~ 2900ppm 的二氧化氯溶液。该溶液在使用于本发明所述疾病治疗之前，应当避光密闭保存，并一直保存于 4°C ~ 15°C 较低温状态下。该制备含二氧化氯制剂的方法并不要求一定是水溶液，唯有保证在施用于目标组织时能够在目标组织中发挥作用的物质主要为二氧化氯。

[0102] 方法 2：将二氧化氯前体溶解于水中制备 1% ~ 40% 的水溶液。向该水溶液中加入含有 PH 调节剂的酸性溶液(优选为 2% ~ 50% 的柠檬酸溶液)，调节混合溶液的 PH 值为 1.5 ~ 6.5。该溶液在使用于本发明所述疾病治疗之前，应当避光密闭保存，并一直保存于 4°C ~ 15°C 较低温状态下。该制备含二氧化氯制剂的方法并不要求一定是水溶液，唯有保证在施用于目标组织时能够在目标组织中发挥作用的物质主要为二氧化氯。

[0103] 包含二氧化氯前体的若干份组合可以如下地制成：将二氧化氯前体溶解于水中制备 1% ~ 40% 的水溶液，这是第一份溶液；用 PH 调节剂制备出酸性溶液(优选为 2% ~ 50% 的柠檬酸溶液)，这是第二份溶液。在使用于本发明所述疾病治疗之前，现场混合以上溶液，最终混合溶液的 PH 值调整为 1.5 ~ 6.5，待反应产生二氧化氯后，将该溶液施用于目标组织。该制备含二氧化氯制剂的方法并不要求一定是水溶液，唯有保证在施用于目标组织时能够在目标组织中发挥作用的物质主要为二氧化氯。

[0104] 作为能在本发明中使用的二氧化氯前体，可以举出例如亚氯酸碱金属盐、亚氯酸碱土类金属盐。作为亚氯酸碱金属盐，可以举出例如亚氯酸钠、亚氯酸钾、亚氯酸锂；作为亚氯酸碱土类金属盐，可以举出例如亚氯酸钙、亚氯酸镁、亚氯酸钡。

[0105] 其中，不仅从获得容易的理由，而且从二氧化氯活性的持续性优异的观点出发，优

选亚氯酸钠、亚氯酸钾，更优选亚氯酸钠。

[0106] 作为能在本发明中使用的PH调节剂，只要是具有缓冲性的酸就可以很好的使用。

[0107] 作为有机酸或其盐可以举出甲酸、乙酸、丙酸、丁酸、乳酸、丙酮酸、柠檬酸、苹果酸、酒石酸、葡萄糖酸、乙醇酸、富马酸、丙二酸、马来酸、草酸、琥珀酸、丙烯酸、巴豆酸、戊二酸及他们的盐。

[0108] 作为无机酸可以举出磷、硼酸、偏磷酸、焦磷酸、氨基磺酸等。作为无机酸盐，例如可以举出磷酸二氢盐(钠盐、钾盐，下同)、磷酸二氢盐与磷酸氢盐的混合物等、PH调节剂可以单独使用1种，也可以并用2种以上。

[0109] 从使用于人体安全方面的考虑，PH调节剂优选为柠檬酸、乙酸和磷酸二氢钠，更优选为柠檬酸。

[0110] 另外，二氧化氯液剂的最终PH值优选为1.5～5.5，更优选为1.5～3.5。

[0111] 本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂优选为液剂。

[0112] 本发明中的干细胞启动剂的药剂量因患者的年龄、体重、疾病性质和状况而变化。但是在成人的情况下，例如为每日1毫克至5000毫克的二氧化氯，优选为每日1毫克至1000毫克的二氧化氯。

[0113] 本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂可以通过多种方式给药。含二氧化氯的干细胞启动剂可以全身性地给药，如通过静脉内、动脉内或腹膜内给药；也可以局部患处的直接给药，该方法可以通过透皮、穿刺等方法直达患处给药。

[0114] 本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂的给药方式，可以通过任何一种能到达预期组织的途径给药，比如，可以经由静脉点滴、静脉注射、动脉注射、肌肉注射、皮下注射、皮内注射、心内注射、腹腔注射、鞘内注射、关节内注射、穿刺注射、直肠给药、舌下给药、鼻腔给药、经皮给药、吸入或者局部给药到损伤的器官或组织等，但不限于这些。

[0115] 通过以上方式给药时，因目标组织的大小，本发明中的干细胞启动剂的有效量范围为每日0.1～500mg/kg二氧化氯，有时候目标组织用面积更容易表述，则本发明中的干细胞启动剂的有效范围为每日0.1～500mg/100cm²二氧化氯，按所述剂量给药时，至少10天后有效。

[0116] 无论如何，本发明所述的含二氧化氯的干细胞启动剂，唯有保证在适用于目标有效剂量的二氧化氯以合适方式进入目标中，发挥干细胞启动作用，而不限于任何形式、方式和步骤，及其他辅助性物质的帮助。

[0117] 《中国药典制剂通则》中的任何制剂都能够作为本发明中的干细胞启动剂的剂型。本发明方法中的干细胞启动剂作为药物的剂型的实例包括直接用于体内的注射剂(包括混悬液、乳剂)；软膏剂(包括油脂性软膏、乳剂型软膏(霜)、水溶性软膏等)、吸入剂、液剂制剂(包括滴眼剂、滴鼻剂等)、栓剂、贴剂、糊剂、洗剂等外用剂；或片剂(包括糖衣、薄膜、胶衣)、液体制剂、胶囊剂、颗粒剂、散剂(包括细粒级)、丸剂、糖浆剂、含片等。这些制剂可按照中国药典制剂通则的方法进行制备。

[0118] 此外，本发明方法中的干细胞启动剂给药时还可以包括可药用的固态或液态载体或介入治疗材料。作为可药用的固态或液态载体，可列举溶剂、稳定剂、助溶解剂、乳化剂、悬浊剂、缓冲剂、等渗剂、着色剂、基质、增稠剂、赋形剂、润滑剂、粘合剂、崩解剂、包衣剂、矫味剂、调理剂、发泡剂、高吸水性树脂、表面活性剂、渗透促进剂和PH调节剂等，但并不限于

这些。

[0119] 具体实例包括去离子水、乳糖、白糖、果糖、葡萄糖、甘露糖、山梨糖醇等糖或糖醇；结晶纤维素、甲基纤维素、乙基纤维素、羟丙基纤维素、低取代羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯、醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯、羟甲基纤维素、羟甲基纤维素钙、羟甲基纤维素钠、交联羟甲基纤维素钠、羟甲基乙基纤维素、乙酸邻苯二酸纤维素 等纤维素及其相关衍生物；玉米淀粉、小麦淀粉、米淀粉、马铃薯淀粉、环糊精、支链淀粉等点功夫及其相关衍生物；琼脂、藻酸钠、阿拉伯胶、明胶、胶原、虫胶、黄薯胶、黄原胶等天然高分子(海藻类、植物粘质、蛋白质等)；聚乙烯吡咯烷酮、氨基烷基甲基丙烯酸共聚物、甲基丙烯酸共聚物、羟基乙烯基共聚物、聚乙烯醇、二甲基聚硅氧烷等合成高分子；橄榄油、可可油、巴西棕榈蜡、牛油、硬化油、大豆油、芝麻油、山茶油、亚麻籽油、石蜡、液体石蜡、黄蜂蜡、白色凡士林、椰子油、微晶蜡等油脂类；硬脂酸、硬脂酸铝、硬脂酸钙、硬脂酸镁、柠檬酸三乙酯、三乙酯甘油酯、中链脂肪酸三甘油酯、硬脂、肉豆蔻酸异丙酯等脂肪酸及其衍生物；乙醇、甘油、硬脂醇、鲸蜡醇、丙二醇、聚乙二醇等醇和多元醇；氧化锌、磷酸氢钙、沉降碳酸钙、合成硅酸铝、硅酸酐、高岭土、干燥氢氧化铝凝胶、合成水滑石、氧化钛、滑石、膨润土、硅酸铝镁、硫酸铝钾、次没食子酸铋、次水杨酸铋、乳酸钙、柠檬酸钠、氯化钠、碳酸氢钠等无机物质和金属盐化合物；蔗糖脂肪酸酯、硬脂酸聚羟基氧酯、氢化蓖麻油聚氧乙烯醚、聚氧乙烯聚氧丙烯二醇、倍伴油酸脱水山梨醇酯、三油酸脱水山梨醇酯、单硬脂酸脱水山梨醇酯、但棕榈酸脱水山梨醇酯、单月桂酸脱水山梨醇酯、聚山梨醇酯、单硬脂酸甘油酯、十二烷基硫酸钠、聚桂醇等表面活性剂；二甲基亚砜及其类似物、氮酮类化合物、吡咯酮衍生物、醇类化合物及脂肪酸类化合物等渗透促进剂；色素；香料等。但并不限于这些。

[0120] 介入治疗材料的实例包括注射器、支架、人工血管、穿刺注射器、导管、球囊等，但并不限于这些。

[0121] 本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂在给药前，可以依据给药方式而施用麻醉剂，如巴比妥酸盐等注射型麻醉剂、一氧化二氮等吸入型麻醉剂、利多卡因等表面麻醉剂等，但并不限于这些。

[0122] 本发明中的干细胞启动剂可以应用于具有干细胞的哺乳动物，哺乳动物的具体实例包括人、猴、狗、猪、猫、兔、大鼠和小鼠。其中，人是优选者。

[0123] 身体系统中的绝大多数终末期细胞是短命的，必须在生命期间连续更换，这其中，干细胞起到最重要的发动作用(通过已分化细胞的增殖，不需要干细胞，也可以达到这样的效果，但是不可能长期持续下去)；除了身体内正常的细胞更换，其他意外或偶发性的组织创伤，都需要干细胞发动的组织再生来弥补，这一过程能够被损伤过程诱导。然而，在生长中的或成年的哺乳动物体中，在很大程度上失去了构造出或者在组织受损的情况下再生出在结构和功能上完整的组织的能力。这就是疾病产生的最主要原因。

[0124] 再生医学的主要目标，就是利用干细胞的增殖、迁移和分化来使组织再生以达到修复受损的组织和器官，特别是针对那些通过自然再生过程不足以有效修复的组织和器官。

[0125] 目前的研究已经发现，哺乳动物身体中，包括神经组织和心脏组织在内的所有组织和器官均分布存在着各类干细胞。即可以说，目前认为内在干细胞存在于所有器官和组织中(Weissman IL:Translating stem and progenitor cell biology to the

clinic:Barriers and opportunities. Science. 287:1442–1446, 2000 ;Garry DJ 等人 :Ponce de Leon's fountain:stem cells and the regenerating heart. Am J Med Sci. 329(4):190–201, 2005)。在应用干细胞疗法的再生医学领域中,几乎身体所有的组织均有得以再生的案例(Stem Cell Antholgy, Edited by Bruce M. Carlson, 2010, Elsevier Inc.)。本领域技术人员不需要花费创造性的劳动就可以概括出,如果能够启动 (initiate) 或动员 (activate) 身体内的干细胞进行增值、迁移和分化,在损伤组织特异性环境的诱导下,可以再生出几乎所有的身体组织(依受损组织程度而言),因而可以治愈几乎所有的组织损伤或功能性障碍的疾病。

[0126] 本发明的直接目的是提供一种启动干细胞的增殖、迁移和分化的方法,因而可以间接地用于治疗需要利用干细胞的组织再生能力和免疫调节能力进行治疗的疾病,所述疾病包括以下两个类型:第一、单纯利用干细胞的组织再生能力的可治疗疾病;二、利用干细胞的组织再生能力和免疫调节能力的可治疗疾病。特别说明的是,在治疗上述两类疾病的过程中,也利用到了本发明中的干细胞启动剂的特有性质(比如二氧化氯强氧化性所起到的杀灭微生物和清除坏死组织的作用),并且在说明本发明中的干细胞启动剂作为药物的使用范围中存在上述两类疾病的重复。

[0127] 以下说明第一类疾病(单纯利用干细胞的组织再生能力的可治疗疾病)的类型。对于该类疾病,本领域技术人员不需要花费创造性的劳动就可以概括出,应用干细胞疗法的再生医学领域,所述疾病均可以治疗,并且治疗机理均为启动损伤组织中的正常干细胞(包括内在干细胞、血液来源干细胞和骨髓来源干细胞)增殖、迁移和分化以再生功能如新的组织,从而实现修复病变组织和器官。

[0128] 对于再生医学所应用疾病(损伤的器官或组织)的原因、类型或程度没有具体限制。下面是这些疾病的具体实例(在具体疾病归类上有部分重复)。

[0129] 皮肤疾病:

[0130] 创伤、烧伤、放射损伤、冻疮、紫外线损伤、电休克、外伤、皮肤溃疡、褥疮、接触性皮炎、大疱性皮炎、干皮病、糖尿病性皮肤溃疡、自体致敏性皮炎、大疱性表皮松解症、光照性皮肤病、慢性色素性紫癜(Schamberg 氏病)、口腔黏膜损伤、口炎、口周皮炎、皮肤老化症状、雄激素脱发、甲沟炎、嵌甲(unguis incarnates)、胃肠黏膜糜烂、消化性溃疡、角膜糜烂、角膜溃疡、龋齿、牙髓炎、边缘性牙周炎、各种慢性鼻炎、花粉病、复发性口疮、内口口疮、口臭、口腔黏膜咬伤、舌咬伤、口腔黏膜灼伤和口腔黏膜溃疡等,但不限于这些。

[0131] 神经系统疾病:

[0132] 中风、阿尔茨海默氏病、帕金森氏病、各种中枢神经系统疾病(例如,脊髓炎)、各种外周神经疾病(例如,多发性外周神经病)、各种原因造成的神经损伤疾病(例如,听力神经损伤)、脊髓病和各种类型的脑炎等,但不限于这些。

[0133] 心血管疾病:

[0134] 心肌梗死、心绞痛、不稳定心绞痛、各种类型的心肌炎(例如,病毒性心肌炎)、急性心机能不全、慢性心机能不全、动脉粥样硬化、高血压、类风湿性心脏病、心律不齐、瓣膜性心脏病、感染性心内膜炎、心包炎、经皮冠状动脉介入和 PTCA 后再狭窄和再阻塞等,但不限于这些。

[0135] 肠胃疾病:

[0136] 食管炎、急性胃炎、慢性胃炎、胃溃疡、十二指肠溃疡、阑尾炎、各种类型结肠炎(例如,溃疡性结肠炎)、肠结核、病毒性肝炎、酒精性肝炎、药物诱导的肝炎、脂肪肝、肝硬变、胰腺炎和各种类型的胃肠癌(例如,肝癌、结肠癌和胃癌)的外科手术引起的器官病症等,但不限于这些。

[0137] 呼吸疾病:

[0138] 各种类型的支气管炎(例如,细菌性支气管炎)、感染性肺炎、吸入性肺炎、肺栓塞、气胸和肺功能不全等,但不限于这些。

[0139] 泌尿科疾病:

[0140] 膀胱炎、各种类型的肾炎(例如,慢性肾炎综合症、原发性肾小球疾病)、肾上腺炎、尿道炎、细菌和非细菌前列腺炎、高血压性肾病、糖尿病肾病和肾机能不全等,但不限于这些。

[0141] 运动系统疾病:

[0142] 各种类型的关节炎(例如,类风湿性关节炎)、肌萎缩(例如,肌萎缩性侧索硬化症)、神经外科颅骨切除术后的骨缺损、整形外科肿瘤切除术后的骨缺损、骨折后的骨缺损、牙科学领域牙周变性引起的骨缺损、软骨炎、各种关节的软骨缺损、各种损伤(例如、外伤或畸变)引起的腱损伤等,但不限于这些。

[0143] 血管疾病:

[0144] 各种类型的动脉病(例如,闭塞性动脉硬化(ASO))、伯格氏病(闭塞性血栓性动脉炎(TAO))、各种类型的静脉病(例如,血栓性静脉炎)、血栓形成、循环障碍、深部静脉血栓形成(DVT)、伴随着外周循环障碍的各种类型的疾病(例如,突发性聋和振动病)和血管成形术后的再狭窄和再阻塞等,但不限于这些。

[0145] 内分泌疾病:

[0146] 糖尿病及其并发症(例如,糖尿病周围神经病变、糖尿病性足和糖尿病性溃疡)、高脂血症、甲状腺炎和肥胖症等,但不限于这些。

[0147] 眼科疾病:

[0148] 各种类型的角膜炎(例如,碱性或者酸性化合物引起的角膜炎和外伤性角膜炎)、各种视网膜病症(例如,视网膜黄斑病变)、视神经损伤类疾病(例如,青光眼)、干眼症和糖尿病性视网膜炎等,但不限于这些。

[0149] 其他疾病:

[0150] 美容整形中的组织再生、外科手术或意外组织损伤的伤口愈合、各种原因导致的炎症性组织的再生、以及各种癌症中的损伤组织的再生。

[0151] 本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂作为药物可以优先应用于患有皮肤病、运动系统疾病、内分泌疾病、呼吸疾病、泌尿科疾病、胃肠疾病、眼科疾病、神经系统疾病、心血管疾病和血管疾病治疗时的组织再生。

[0152] 以下说明第二类疾病(利用干细胞的组织再生能力和免疫调节能力的可治疗疾病的类型。对于该类疾病,本领域技术人员不需要花费创造性的劳动就可以概括出,应用干细胞疗法的再生医学领域,所述疾病均可以治疗,并且治疗机理均为启动损伤组织中的正常干细胞(包括内在干细胞、血液来源干细胞和骨髓来源干细胞)增殖、迁移和分化以再生功能如新的组织,并实现对免疫系统的耐受,从而实现修复病变组织和器官。

[0153] 本发明人非常意外地发现,本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂对过敏反应性疾病,特别是自身免疫性疾病具有肯定的疗效。

[0154] 在本发明的具体适用范围中,过敏反应疾病包括 I 型过敏反应疾病、II 型过敏反应疾病、III型过敏反应疾病、IV型过敏反应疾病。

[0155] I 型过敏反应疾病又名速发型过敏反应。I 型过敏反应由 IgE 介导。速发型过敏反应是由抗原与 IgE 在肥大细胞或嗜碱性粒细胞上结合引起的。特应性疾病在 I 型过敏反应疾病的意义内,例如,但不限于过敏性鼻炎、过敏性结膜炎、特应性皮炎、过敏性外源性哮喘、风疹、全身性过敏症等、由 I 型过敏反应引起的过敏症是严重的过敏反应,危及生命。

[0156] II 型过敏反应或细胞毒性过敏反应涉及由抗体、补体和 / 或细胞机制介导的细胞溶解作用。抗细胞结合抗原的抗体通过激活补体或促进噬菌作用而破坏细胞。本发明适用范围中的 II 型过敏反应疾病包括例如库姆氏阳性溶血性贫血、抗体诱导的血小板减少性紫癜、白血球减少症、天疱疹、类天疱疹、古德帕斯切综合征和恶性贫血。另外包括冷凝集素综合征、Graves 病、重症肌无力、嗜睡症、德维奇综合征、神经性肌强直、风湿热、荨麻疹性血管炎、熊猫症候群、胎儿成红细胞增多症。

[0157] III型过敏反应疾病涉及其中抗体与抗原形成免疫复合物的反应。循环复合物激活补体,黏附在血红球细胞上,红血球细胞再在脾中被吞噬,之后复合物离开循环系统,触发组织间腺发炎。这种反应称为 Arthus 反应。另一种情况是复合物被递呈抗原的巨噬细胞所吞噬,释放出细胞因子,激活 B 和 T 细胞。IgE、IgA、IgG 和 IgM 都与抗原形成复合物。III型过敏反应通常因免疫复合物沉积于组织、特别是沉积于皮肤、关节和肾上所致。人肾小球性肾炎大部分病例是慢性免疫复合物肾炎。本发明适用范围中的III型过敏反应疾病包括例如由血清、药物或病毒性肝炎抗原引起的血清病、全身性红斑狼疮、类风湿关节炎、多动脉炎、冷球蛋白血症、过敏性肺炎、支气管肺曲菌病、急性肾小球性肾炎、慢性膜增生性肾小球性肾炎。另外还包括接触性皮炎、盘状红斑狼疮、美尼尔氏症、亚急性细菌性心内膜炎、脉管炎。

[0158] IV型过敏反应疾病涉及细胞介导的反应,一般要 12 小时或以上的时间才发生。IV型过敏反应疾病可包括炎症,结果可能是慢性炎症疾病。IV型过敏反应又名迟发型过敏反应或 DTH。一旦 T 细胞经过首次接触被致敏后,进行第二次攻击就会发生迟发型过敏反应。这个反应是一种局部炎症反应,在临幊上需要 2 ~ 3 天才发生。本发明适用范围中的IV型过敏反应疾病包括腹腔疾病、I 型糖尿病、格林 - 巴利综合征(GBS)、桥本氏脑病、桥本氏甲状腺炎、多发性硬化症、斜视眼阵挛 - 肌阵挛综合征(OMS)、副肿瘤性小脑变性、银屑病、银屑病关节炎、结节瘤、硬皮病、巨细胞动脉炎、溃疡性结肠炎。

[0159] 过敏反应性疾病的发生机制十分复杂。临幊实践所见往往为混合型,但以某一型为主,如 I 型和III型可以同时出现,II 型和III型也可同时出现,甚至 II、III、IV型也可同时出现。

[0160] 另外,自身免疫性疾病又涵盖了大部分过敏反应性疾病,并且包括了一些临幊上病因不明的类似过敏反应疾病。在本发明中,将无法归类于某一类型的过敏反应疾病或者病因不明的类似过敏反应的临幊疾病归类于其他自身免疫性疾病,都包括在本发明适用范围内。

[0161] 本发明适用范围中其他自身免疫性疾病包括:脑脊髓炎、阿狄森氏病、丙种球蛋

白血症、斑秃、肌萎缩性侧索硬化症、强直性脊柱炎、抗磷脂综合征、抗合成酶抗体综合征、自身免疫性再生障碍性贫血、自身免疫性心肌病、自身免疫性肠病、自身免疫性肝炎、自身免疫性内耳病、自身免疫性淋巴增生综合征、自身免疫性周围神经病、自身免疫性胰腺炎、自身免疫性多内分泌腺病综合征、自身免疫性黄体酮皮炎、自身免疫性荨麻疹、自身免疫性荨麻疹、BALO 同心圆硬化、白塞氏病、血栓闭塞性脉管炎、比克斯塔夫脑炎、布劳综合征、大疱性类天疱疮、Castleman 病、南美锥虫病、慢性炎症性脱髓鞘性多发性神经病、慢性复发性多灶性骨髓炎、慢性阻塞性肺病、Churg-Strauss 综合征、瘢痕性类天疱疮、科根综合征、补体成分缺乏症、颅动脉炎、CREST 综合征、库欣综合征、皮肤白细胞脉管炎、恶性萎缩性丘疹病、Dercum 氏病、疱疹性皮炎、皮肌炎、弥漫性皮肤系统性硬化症、德雷斯勒氏综合征、药物性狼疮、湿疹、子宫内膜异位症、附着点炎相关的关节炎、嗜酸性筋膜炎、嗜酸细胞性胃肠炎、获得性大疱性表皮松解、结节性红斑、冷球蛋白血症、埃文氏综合征、纤维化性肺泡炎、胃炎、胃肠类天疱疮、巨细胞动脉炎、过敏性紫癜、妊娠性类天疱疮、化脓性汗腺炎、Hughes-Stovin 综合征、免疫球蛋白低下、特发性炎性脱髓鞘疾病、包涵体肌炎、慢性炎症性脱髓鞘性多发性神经病、间质性膀胱炎、幼年类风湿关节炎、兰伯特 - 伊顿肌无力综合征、川崎综合征、白细胞脉管炎、扁平苔藓、神经性皮炎、硬化性苔藓、线状 IgA 病、肌萎缩性侧索硬化症、马吉德综合征、混合性结缔组织病、硬皮病、微观结节性多动脉炎、格林 - 巴利综合征、玫瑰苔藓等痘蚧、肌炎、Ord 氏甲状腺炎、复发性风湿病、阵发性睡眠性血红蛋白尿、帕里伯格综合征、急性臂丛神经病变、中间葡萄膜炎、静脉周脑脊髓炎、POEMS 综合征、结节性多动脉炎、风湿性多肌痛、多发性肌炎、原发性胆汁性肝硬化、原发性硬化性胆管炎、进展性病变、坏疽性脓皮病、纯红细胞再生障碍、慢性局灶性脑炎、雷诺氏现象、复发性多软骨、反应性关节炎、腹膜后纤维化、不宁腿综合征、自身免疫性多内分泌腺病综合征 2 型、施尼茨勒综合征、巩膜炎、干燥综合征、僵人综合征、交感性眼炎、大动脉炎、Susac 综合征、西德纳姆氏舞蹈病、Sweet 综合征、Tolosa-Hunt 综合征、横贯性脊髓炎、未分化结缔组织病、白癜风、韦格纳肉芽肿。

[0162] 本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂作为药物可以优先应用于引起器官损伤的 I 型过敏反应疾病和自身免疫性疾病的治疗。

[0163] 除了上面列出的两类疾病外,用于能够通过启动干细胞增殖、迁移和分化治疗疾病的再生医学(即,再生损伤器官和损伤组织)中的干细胞也是本发明方法中含二氧化氯的干细胞启动剂作为药物的使用对象。此外,对于再生医学应用疾病的进展状态也没有具体限制。

[0164] 此外,本发明中的干细胞启动剂作为药物能够根据再生医学应用的损伤器官和 / 或损伤组织的进展状况及程度、快速而适度地发挥作用。

[0165] 再者,本发明中的干细胞启动剂作为药物治疗相关疾病时的副作用很小或者无副作用。

[0166] 此外,本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂对原位组织再生中的干细胞能够持续地发挥作用。

[0167] 本发明中的干细胞启动剂作为药物治疗相关疾病时,可以利用二氧化氯清除坏死组织的清创作用和杀灭病原微生物的抗感染作用。

[0168] 本发明相关的实施例描述如下。

[0169] 在大部分情况下,可使用可选的技术。这些实施例用来详细说明本发明,但是本发明不局限于这些实施例。

[0170] 实施例 1

[0171] 本实施例用于说明含二氧化氯的干细胞启动剂作为药物用于治疗雄激素脱发。

[0172] 药物制备:用去离子水配置浓度为 7.47% 亚氯酸钠和 1.59% 氯化钠的混合溶液,制备出第一份溶液;用去离子水配置浓度为 16.7% 的柠檬酸溶液,制备出第二份溶液。

[0173] 用法用量:分别从不同份溶液的容器中取出相同体积的溶液,放入事先准备好的大小合适的玻璃或塑料杯中,等待溶液混合静止 3~5 分钟,再用 0.22 μm 的双层滤膜过滤,用棉签沾液涂抹脱发区域,再等待 1~2 小时后,用水清洗头部,一天一次。按照疗程使用,第一个疗程 15~25 天,停药 2~5 个月,然后开始第二个疗程,自第二个疗程开始用药 10~15 天,再停药 2~5 个月,再用下一个疗程。

[0174] 有 42 位男性脱发患者和 1 名女性脱发患者(年龄分布为 22~68 岁)作为自愿者使用该药物(以下简称为用药),情况如表 1 所示。

[0175] 表 1

[0176]

具体效果人数	有效比例	效果描述
42	98%	用药后 3~5 天脱发区域长出新头发,用手摸类似胡茬感觉,肉眼可见,是粗壮的健康头发。
43	100%	用药后 2~6 天,脱发区域加速掉发,细头发首先掉,脱发越严重的,掉的越多。4 级以上脱发者,6 天以后,原脱发区域头发可能全部掉光。
40	93%	用药 15~25 天后肉眼可见新的头发持续长出。轻度脱发者,发迹线明显前移。

[0177]

35	81%	用药 1 个疗程,停药 2~5 个月后,用肉眼可以判断头发恢复至上一个级别。比如 2 级恢复到 1 级,4 级恢复到 3 级。1~2 个月后,开始第二个疗程,用肉眼可以判断头发恢复再上一个级别。
----	-----	---

[0178] 用药 5 分钟开始,使用者描述有刺痛感,持续时间大约 15~30 分钟;在连续用药 3 天左右,用药区域产生微型的伤口,外观表现为成片的红斑,类似伤口出血凝固,出现红斑(伤口)的区域新生头发密度更高,也更粗。

[0179] 在头顶中心(头旋之前,区域 1)、头顶与前额上中间(区域 2)、前额上(区域 3)、前额两侧(区域 4)四个区域选择直径在 2.54 厘米的圆形区域(5.1 平方厘米)通过数码照片分别计算用药第一个疗程后 10 天(时间 1)、1 个月(时间 2)、2 个月(时间 3)、用药第二个疗程后 2 个月(时间 4)、用药第三个疗程后 2 个月的头发(时间 5),并且分别与用药前的头发数量对比,计算比值,得到不同区域头发密度增加比值,见表 2。

[0180] 表 2

[0181]

	时间 1	时间 2	时间 3	时间 4	时间 5
区域 1	123%	137%	154%	196%	354%
区域 2	117%	129%	142%	185%	402%
区域 3	133%	134%	153%	201%	396%
区域 4	102%	157%	163%	260%	433%

[0182] P<0.001, n=43

[0183] 从表 1、表 2 的结果可以看出, 使用本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂作为药物对于脱发治疗具有显著效果, 远超非那雄胺和米诺地尔等传统治疗药物, 根本原因是解决了脱发的关键问题, 那就是脱发区域的干细胞在转化为祖细胞的过程中出现了问题, 以至于干细胞不能分化出足够的毛囊细胞(Luis A. Garza 等人, Bald scalp in men with androgenetic alopecia retains hair follicle stem cells but lacks CD200-rich and CD34-positive hair follicle progenitor cells. J Clin Invest. 2011 February 1; 121(2):613–622.)。本发明中, 含二氧化氯的干细胞启动剂正是促进毛囊干细胞通过增殖、迁移和分化产生更多的毛囊祖细胞以及以后的毛囊细胞, 从而显著地生出新的头发。

[0184] 其中, 在酸性条件下的二氧化氯溶液能够对皮肤产生刺激性, 产生微型伤口, 而在这些伤口比较集中的区域, 生发效果也较其他区域更为明显, 可能说明溶液渗透的充分, 更能发挥二氧化氯的干细胞促活能力; 或者也可能说明产生伤口, 伤口愈合, 其中的干细胞将以比较原始的程序分化, 从而生产更多的新头发(本来应该有的)。在一般的情况下, 毛囊干细胞并不会分化为表皮细胞, 用于人体皮肤的自然更新, 但是一旦皮肤有了伤口, 此时的毛囊干细胞将迅速增殖、迁移和分化以完成伤口的愈合, 在此过程中, 发现毛囊干细胞参与了表皮的再生(Ito M, Liu Y, Yang Z, Nguyen J, Liang F, Morris RJ et al :Stem cells in the hair follicle bulge contribute to wound healing, but not to homeostasis of the epidermis. Nat Med. 11:1351–4. 2005)。而且, 毛囊干细胞能够加速伤口愈合, 而如果没有毛囊干细胞, 伤口愈合的时间将出现明显的延迟(Abigail K Langton 等人: An Extended Epidermal Response Heals Cutaneous Wounds in the Absence of a Hair Follicle Stem Cell Contribution. Journal of Investigative Dermatology. 128, 1311–1318, 2008)。在本实施例中, 没有看到伤口愈合延迟, 相反愈合的速度很快, 在结合其他方面考虑, 可以判断, 由于药水对头皮产生了伤口, 毛囊干细胞几乎全面地参与了伤口修复、头发新生的过程。在对于小鼠的研究中, 人为的伤口愈合过程产生新的毛囊干细胞群落并且能产生新的毛发, 同时毛囊干细胞和表皮干细胞都参与伤口愈合过程中的细胞(包括毛囊细胞、皮脂腺细胞等)的形成, 其中有干细胞增殖、迁移和分化的过程, 这其中 wnt 信号起到了主要作用(Ito M, 等人. Wnt-dependent de novo hair follicle regeneration in adult mouse skin after wounding. Nature. 2007, May 17; 447(7142):316–20)。根据观察结果看, 结合现有文献的理论分析, 可见, 本发明中含二氧化氯的干细胞启动剂能够促进各种干细胞进行增殖、迁移和分化以完成对于伤口的愈合、头发的再生等组织再生过程。另一方面, 大部分使用者在 2 ~ 3 天能生出新的头发, 只能用干细胞的分化来解释, 这和一般小型伤口愈合的时间基本一致。

[0185] 根据本实施例, 本领域技术人员可以概括出, 本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂或由其作为主要成分制备出来的药物可以用于治疗各类皮肤疾病, 并且治疗机理均为

启动干细胞以促进组织再生,修复病变组织和器官。

[0186] 实施例 2

[0187] 在本实施例中,含二氧化氯的干细胞启动剂作为药物被使用于患有一种血管病—下肢深静脉血栓形成(下肢 DVT)的患者,以说明含二氧化氯的干细胞启动剂对外周血液中 CD34 阳性细胞、CD34 阳性 /CD31 阳性细胞和血管内皮钙黏附蛋白阳性细胞(VE-Cadherin) 阳性细胞的启动作用,以及含二氧化氯的干细胞启动剂对血栓损伤血管的再生作用。

[0188] 另外,已知那些在外周血液中存在的、被认为是 CD 34 阳性单个核细胞的细胞是血管 EPC 和间充质干细胞(Zhao Y 等人 :A human peripheral bloodmonocyte-derived subset acts as pluripotentstem cells. ProcNatlAcadSci USA. 100:2426-31, 2003)。因此,可以说本实施例中评价的外周血液中的 CD34 阳性单个核细胞是血管 EPC 和间充质干细胞。

[0189] 此外,已知内皮祖细胞表达标志物为 CD34 (Michejda M:Which stemcells should be used for transplantation?Fetal DiagnTher. 19:2-8, 2004;Fadini GP 等人 :Circulating endothelial progenitor cells are reducedin peripheral vascular complications of type 2 diabetes mellitus. J American college of cardiology. 45:1449-1457, 2005 ;Kuwana M 等人 :Human circulating CD14⁺ monocytes as a source of progenitors thatexhibit Mesenchymal cell differentiation. J Leukoc Biol 74:833-845, 2003) 和 CD31 (Asahara T 等人 :Isolation of putative progenitorendothelial cells for angiogenesis. Science 275:964-967, 1997;HristovM,Weber C:Endothelial progenitor cells:characterization, pathophysiology, and possible clinical relevance. J Cell Mol Med8:498-508, 2004)。还有,在血管 EPC 中,已知处于分化进展阶段,并能够黏附到血管状态的血管EPC也可表达血管内皮钙黏附蛋白(Hristov M,WeberC:Endothelial progenitor cells:characterization, pathophysiology, and possible clinical relevance. J Cell Mol Med. 8:498-508, 2004)。因此,可以说在本实施例中评价的外周血液中的 CD34 阳性 /CD31 阳性单个核细胞和血管内皮钙黏附蛋白阳性单个核细胞是血管 EPC。

[0190] 试验方法 :

[0191] (1) 试验对象

[0192] 试验对象由年龄 59 ~ 76 岁(平均 67.2 岁)的 14 名男性和 6 名女性下肢 DVT 患者组成。患者均为单侧肢体患病。在进行临床试验前,向所有试验对象解释该临床试验的目的,并得到他们的同意。

[0193] (2) 药物制备方法

[0194] 用去离子水配置浓度为 7.47% 亚氯酸钠和 1.59% 氯化钠的混合溶液,制备出第一份溶液;用去离子水配置浓度为 16.7% 的柠檬酸溶液,制备出第二份溶液。分别从不同份溶液的容器中取出相同体积的溶液,混合,等待溶液混合静止 3 ~ 5 分钟,用生理盐水稀释 5 倍,再用 0.22 μm 的双层滤膜过滤,马上装入注射器。制备一次使用一次。

[0195] (3) 给药方法

[0196] 上述方法配置出的二氧化氯溶液被连续 14 天通过经患肢对侧股(患病侧)动脉穿刺注射,剂量为每人每天 10ml。在每次注射前,应用 2% 利多卡因 2ml ~ 5ml,在穿刺点沿预

穿刺道浸润麻醉。

[0197] (4) 血液采样

[0198] 使用低分子量肝素抗凝剂,于给药前(起始给药前)和给药后第 7 天和第 14 天,从每位患者的前臂肘正中静脉收集 5ml 外周血液。收集的血液立刻保存在 4 摄氏度下,并在收集后 6 小时内测量。在给药前和给药后第 7 天从所有 20 例下肢 DVT 患者收集血液,而在给药后第 14 天从 20 例下肢 DVT 患者中的 15 例收集血液。

[0199] (5) 外周血液单个核细胞的分离

[0200] 于上述试验方法(4)中得到的 5ml 血液中加入 2.5ml 淋巴细胞分离液—制备悬浮液。在 460×g 条件下离心悬浮液后,回收中间细胞层作为外周血液来源单个核细胞。所得单个核细胞总数为每例患者约 $5 \sim 6 \times 10^6$ 个细胞。将所得的单个核细胞悬浮在磷酸缓冲盐水(PBS)中,制备成浓度为 2×10^6 个细胞/ml 的细胞悬液。

[0201] (6) CD34 阳性单个核细胞的分离

[0202] 使用流式细胞仪通过免疫荧光染色分离 CD34 阳性单个核细胞。于上述使用方法(5)中得到的 100 μl 单个核细胞悬液中加入 20 μl 藻红蛋白标记的抗 CD34 抗体,并使其在 4°C 下及黑暗条件下培养 30 分钟,接着,分离 CD34 阳性单个核细胞并通过流式细胞仪计数。根据下面的公式计算单个核细胞中 CD34 阳性单个核细胞的比率(%):

[0203] CD34 阳性单个核细胞(%) = (CD34 阳性单个核细胞数 / 单个核细胞总数) × 100

[0204] (7) CD34 阳性 /CD31 阳性单个核细胞的分离

[0205] 使用流式细胞仪,通过双重免疫荧光染色分离 CD34/CD31 阳性单个核细胞。于上述试验方法(5)中得到的 100 μl 单个核细胞悬液中加入 20 μl 藻红蛋白标记的抗 CD34 抗体和 20 μl FITC 标记的抗 CD31 抗体,并使其在 4°C 下及黑暗条件下培养 30 分钟。接着,分离 CD34/CD31 阳性单个核细胞并通过流式细胞仪计数。根据下面的公式计算单个核细胞中 CD34/CD31 阳性单个核细胞的比率(%):

[0206] CD34 阳性 /CD31 阳性单个核细胞(%) = (CD34 阳性 /CD31 阳性单个核细胞数 / 单个核细胞总数) × 100

[0207] (8) 血管内皮钙黏附蛋白阳性单个核细胞的分离

[0208] 使用流式细胞仪,通过免疫荧光染色分离血管内皮钙黏附蛋白阳性单个核细胞。于上述试验方法(5)中得到的 100 μl 单个核细胞悬液中加入 20 μl FITC 标记的抗 VE 钙黏附蛋白抗体,并使其在 4°C 下及黑暗条件下培养 30 分钟。接着分离 VE 钙黏附蛋白阳性单个核细胞并通过流式细胞仪计数。根据下面的公式计算单个核细胞中 VE 钙黏附蛋白阳性单个核细胞的比率(%):

[0209] 血管内皮钙黏附蛋白阳性单个核细胞(%) = (血管内皮钙黏附蛋白阳性单个核细胞数 / 单个核细胞总数) × 100

[0210] (9) 膝上和膝下围长的测量

[0211] 下肢水肿是下肢 DVT 既典型又客观的症状。因此,以 20 例患者于给二氧化氯溶液经股动脉注射之前和之后测量的膝上 20cm 和膝下 15cm 处的下肢围长,评价下肢水肿的程度。

[0212] 本实施例的结果分析如下:

[0213] 1) CD34 阳性单个核细胞的启动

[0214] 表 3 列出了下肢 DVT 患者外周血液中 CD34 阳性单个核细胞的变化(平均值 ± SD%)。

[0215] 表 3

[0216]

	患者数	CD34 阳性单个核细胞
--	-----	--------------

[0217]

给药前	20	0.38±0.42
给药后第 7 天	20	0.91±0.51**
给药后第 14 天	15	1.4±0.68**

[0218] 使用配对样品非参数检验,与给药前相比,** 表示 P<0.01。

[0219] 作为给予二氧化氯溶液的结果,与给药前的值相比,外周血液中的 CD34 阳性单个核细胞的百分比显著增加(表 3)。

[0220] 该结果表明二氧化氯溶液启动了下肢 DVT 患者外周血液的 CD34 阳性单个核细胞(即,血管 EPC 和间充质干细胞)。因此,可以认为本发明中含二氧化氯的干细胞启动剂的启动干细胞作用是在促进 CD34 阳性单个核细胞的增殖和迁移。

[0221] 2) CD34 阳性 /CD31 阳性单个核细胞的启动

[0222] 表 4 列出了下肢 DVT 患者外周血液中 CD34 阳性 /CD31 阳性单个核细胞的变化(平均值 ± SD%)。

[0223] 表 4

[0224]

时间段	患者数	CD34 阳性 /CD31 阳性单个核细胞
给药前	20	0.28±0.30
给药后第 7 天	20	0.85±0.51**
给药后第 14 天	15	1.1±0.65**

[0225] 使用配对样品非参数检验,与给药前相比,** 表示 P<0.01。

[0226] 作为给予二氧化氯溶液的结果,与给药前的值相比,外周血液中的 CD34 阳性 /CD31 阳性单个核细胞的百分比显著增加(表 3)。

[0227] 该结果表明二氧化氯溶液启动了下肢 DVT 患者外周血液的 CD34 阳性 /CD31 阳性单个核细胞(即,内皮祖细胞)。因此,可以认为本发明含二氧化氯的干细胞启动剂的启动干细胞作用是在促进 CD34 阳性 /CD31 阳性单个核细胞的增殖、迁移和分化。

[0228] 3) 血管内皮钙黏附蛋白阳性单个核细胞的启动

[0229] 表 5 列出了下肢 DVT 患者外周血液中血管内皮钙黏附蛋白阳性单个核细胞数的变化(平均值 ± SD%)。

[0230] 表 5

[0231]

	患者数	血管内皮钙黏附蛋白阳性单个核细胞
--	-----	------------------

[0232]

给药前	20	0.44±0.70
给药后第 7 天	20	1.5±1.11**
给药后第 14 天	15	1.91±1.65**

[0233] 使用配对样品非参数检验,与给药前相比,** 表示 P<0.01。

[0234] 作为给予二氧化氯溶液的结果,与给药前的值相比,外周血液中血管内皮钙黏附

蛋白阳性单个核细胞的百分比显著增加(表 5)。

[0235] 该结果表明二氧化氯溶液启动了下肢 DVT 患者外周血液的血管内皮黏附蛋白阳性单个核细胞(即,血管 EPC)。因此,可以认为本发明中含二氧化氯的干细胞启动剂的启动干细胞作用是促进血管内皮钙黏附蛋白阳性单个核细胞的增殖、迁移和分化。

[0236] 4) 下肢 DVT 水肿症状的改善

[0237] 表 6 显示出下肢 DVT 患者膝上和膝下围长的改变(平均值 ± SD%)。

[0238] 表 6

[0239]

	患者数	膝盖上围长	膝盖下围长
该药前	20	55.6 ± 6.3	38.2 ± 4.3
给药后第 14 天	20	50.7 ± 5.5*	32.4 ± 2.6**

[0240] 使用配对样品非参数检验,与给药前相比,** 表示 P<0.01。

[0241] 下肢水肿程度是以膝上 20cm 和膝下 15cm 处的下肢围长评价的。通过给予二氧化氯溶液,显著缩短了膝上和膝下围长(表 6)。

[0242] 该结果表明通过给予二氧化氯溶液启动了干细胞。认为本发明中含二氧化氯的干细胞启动剂的启动干细胞作用在于促进干细胞的增殖、迁移和分化,结果是损伤血管得到再生及下肢 DVT 患者水肿症状得以改善。

[0243] 另外,尽管在给予二氧化氯溶液之前、之后第 7 天和第 14 天分析了 APTT、PT 和 TT 参数,但在给予二氧化氯溶液前、后之间没有显著差异。所述 APTT、PT 和 TT 参数作为给予作用于血液凝固和纤溶系统制剂(包括二氧化氯溶液)期间监测副作用(如出血)的指标使用。这些结果表明给予二氧化氯溶液没有发生副作用。但是,在没有使用麻醉剂的情况下(给药第一日),在进行二氧化氯溶液注射后,几乎所有的患者都有较强烈刺痛感觉,大约持续 30 分钟后消失。

[0244] 根据本实施例,本领域技术人员可以概括出,本发明中的含二氧化氯的 干细胞启动剂或由其作为主要成分制备出来的药物可以用于治疗各类心脑血管方面的疾病,并且治疗机理均为启动干细胞以促进组织再生,修复病变组织和器官。

[0245] 实施例 3

[0246] 在该实施例中,用大鼠脑缺血 / 再灌注损伤模型说明了本发明中含二氧化氯的干细胞启动剂对神经干细胞的启动、及作为药物对神经功能恢复的作用。

[0247] (1) 试验对象

[0248] 使用 12 周龄、体重 250 ~ 280g 的雄性大鼠驯化一周后用于试验。

[0249] (2) 建立脑缺血 / 再灌注损伤模型

[0250] 首先按照 Longa EZ 等人(Longa EZ 等人 :Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. Stroke 20:84-91, 1989) 的方法建立大脑中动脉闭塞模型。更具体地,将 0.36g/kg、10% 水合氯醛腹腔内给予已经禁食 12 小时(但自由饮水)的大鼠以麻醉大鼠。接着,在颈部做中线切口以暴露右颈总动脉。然后,分离颈内动脉和颈外动脉,将后颈动脉(其是颈外动脉的分支)和甲状腺动脉电凝切断,将颈外动脉在舌动脉和上颌动脉分支处结扎,在颈外动脉穿刺做一孔,由该小孔将 4-0 尼龙缝合线送入颈总动脉,并逐渐插入到颈内动脉,直到有阻力为止。尼龙缝合线的长度从颈动脉分支开始约为 18 ~ 20mm。用尼龙缝合线堵塞大脑中动脉,使缺血状态维持 2 小时,制作大脑中动脉闭

塞模型。

[0251] 通过从闭塞模型的动脉中拔出尼龙缝合线使血液再灌注建立脑缺血 / 再灌注损伤模型。

[0252] (3) 药物制备方法

[0253] 用去离子水配置浓度为 7.47% 亚氯酸钠和 1.59% 氯化钠的混合溶液, 制备出第一份溶液; 用去离子水配置浓度为 16.7% 的柠檬酸溶液, 制备出第二份溶液。分别从不同份溶液的容器中取出相同体积的溶液, 混合, 等待溶液混合静止 3~5 分钟, 用生理盐水稀释 5 倍, 再用 0.22 μm 的双层滤膜过滤, 马上装入注射器。制备一次, 使用一次。

[0254] (4) 对模型大鼠给予含二氧化氯的干细胞启动剂

[0255] 将大鼠分成三组并分别以下属方式处理。

[0256] 试验组(120 只大鼠): 这些动物已被建立脑缺血 / 再灌注损伤模型。在建立脑缺血 / 再灌注损伤模型后的第 2 天开始, 每天一次, 共计 10 天, 每次以 2ml/kg 的剂量通过颈动脉注射由步骤(3)制备好的二氧化氯溶液。

[0257] 假手术组(120 只大鼠): 对大鼠进行上述(2)的程序, 仅分离颈内动脉和颈外动脉, 不进行随后的大脑中动脉闭塞和再灌注程序。在与试验组中所示相同给药时间, 对该组大鼠通过颈动脉注射相同体积的生理盐水代替二氧化氯溶液。

[0258] 对照组(120 只大鼠): 这些动物已被建立脑缺血 / 再灌注损伤模型。在与试验组中所示相同给药时间, 对该组模型大鼠颈动脉给予相同体积的生理盐水代替二氧化氯溶液。

[0259] (5) 神经功能评分

[0260] 在脑缺血 / 再灌注损伤模型建立后, 每天一次对每组 15 只大鼠进行神经功能评分。使用下面的标准按照 Longa EZ 等人 (Longa EZ 等人: Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. Stroke 20:84-91, 1989) 的方法进行神经功能障碍评分。结果以中位数表示:

[0261] 0 : 正常

[0262] 1 : 梗塞灶对侧肢弯曲

[0263] 2 : 当向后拉尾巴时, 梗塞灶对侧肢体无力

[0264] 3 : 当拉尾巴时, 转向梗塞灶对侧

[0265] 4 : 自发转向梗塞灶对侧

[0266] 5 : 失去自发性动作

[0267] (6) 巢蛋白阳性细胞的分析

[0268] 分别在模型建立后第 7、14 和 21 天对每组的 10 只大鼠进行尸体解剖(每次动物总数为 30 只大鼠)。制备组织标本后, 在显微镜下计数神经干细胞。

[0269] 更具体地, 在模型建立后第 7、14 和 21 天制备大鼠冷冻脑切片, 并使用神经干细胞上表达的巢蛋白标志物, 通过免疫组织化学染色测定脑室下区(SVZ) 中巢蛋白阳性细胞的存在。使用小鼠抗大鼠巢蛋白单克隆抗体分析巢蛋白阳性细胞的存在。

[0270] (7) BrdU 阳性细胞和 BrdU 阳性 / 巢蛋白阳性细胞的分析

[0271] 在模型建立后第 5、6、12、13、19 和 20 天, 将 50mg/kg 5-溴脱氧尿苷腹腔注射到每组 30 只大鼠。因为 BrdU 是胸苷类似物, 所以它可以在细胞增殖(DNA 合成)期间掺入到细胞的 DNA 中。从而, 通过检测细胞内 BrdU 的量可以分析细胞增殖。在模型建立后第 7、14

和 21 天对大鼠进行尸体解剖以制备冷冻脑切片。通过免疫化学染色分析 BrdU 阳性细胞的存在，并通过 SVZ 区的双重免疫荧光染色分析 BrdU 阳性 / 巢蛋白细胞的存在。

[0272] 使用小鼠抗大鼠 BrdU 单克隆抗体分析 BrdU 阳性细胞的存在。

[0273] 使用山羊抗大鼠 BrdU 多克隆抗体的第一抗体和 FITC 标记的兔抗山羊抗体的第二抗体的组合，以及小鼠抗大鼠巢蛋白单克隆抗体的第一抗体和 Rho 标记的兔抗小鼠抗体的第二抗体的组合，通过双重免疫荧光染色分析 BrdU 阳性 / 巢蛋白阳性细胞的存在。

[0274] (8) NeuN 阳性细胞、GFAP 阳性细胞和 BrdU 阳性 / GFAP 阳性细胞的分析

[0275] 在模型建立后第 5、6、12、13、19 和 20 天，将 50mg/kgBrdU 腹腔注射到每组 30 只大鼠。在模型建立后第 7、14 和 21 天对大鼠进行尸体解剖以制备冷冻的脑切片。通过免疫化学染色分析 NeuN 阳性细胞的存在，通过免疫化学染色分析神经胶质纤维酸性蛋白 (GFAP) 阳性细胞的存在，并通过 SVZ 区中双重免疫荧光染色分析 BrdU 阳性 / GFAP 阳性细胞的存在。NeuN 是由神经干细胞分化的未成熟神经元表达的标志物。GFAP 是也由神经干细胞分化的星形胶质细胞表达的标志物。

[0276] 使用山羊抗 NeuN 单克隆抗体分析 NeuN 阳性细胞的存在。使用山羊抗 GFAP 多克隆抗体分析 GFAP 阳性细胞的存在。使用小鼠抗大鼠 BrdU 单克隆抗体的第一抗体和 Rho 标记的兔抗小鼠抗体的第二抗体的组合，以及山羊抗 GFAP 多克隆抗体的第一抗体和 FITC 标记的兔抗山羊抗体的第二抗体的组合，通过双重免疫荧光染色分析 BrdU 阳性 / GFAP 阳性细胞的存在。

[0277] (9) BrdU 阳性(迁移) 细胞的分析

[0278] 各组的 30 只大鼠于模型建立后 24 小时内，经腹腔注射 50mg/kgBrdU 两次。在模型建立后第 7、14 和 21 天对大鼠进行尸体解剖以制备冷冻脑切片。使用小鼠抗大鼠 BrdU 单克隆抗体，通过免疫化学染色分析 SVZ 区中 BrdU 阳性细胞的存在。

[0279] 本实施例结果分析如下：

[0280] 1) 神经功能的评价

[0281] 缺血 / 再灌注损伤模型建立后每天监测评分直到第 21 天试验结束，表 7 显示了神经功能评分随时间的变化 (n=15, 中位数)。

[0282] 表 7

[0283]

天数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
假手术组	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
对照组	3	3	3	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	**	
试验组	3	3	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**	

[0284] 使用 Kruskal-wallis 检验, ** 表示与每组第一天相比 P<0.05。

[0285] 在假手术组, 没有观察到神经功能障碍。在其他两组中, 与手术后第 1 天相比, 在第 21 天观察到神经功能的明显恢复(P<0.05)。

[0286] 在试验组, 观察到神经功能的恢复早于对照组。与对照组相比, 在试验组中尤其在手术后第 7、8、9 和 16 天, 观察到神经功能的显著恢复。

[0287] 该结果表明, 二氧化氯溶液能够启动神经干细胞, 结果有助于神经功能障碍的改善。认为本发明中含二氧化氯的干细胞启动剂的干细胞启动作用是在于促进神经干细胞的增殖、迁移和分化, 并且, 通过该干细胞的启动作用促进了受损组织的再生。

[0288] 2) 神经干细胞存在的证明

[0289] 表 8 显示了 SVZ 区中巢蛋白阳性细胞的数目(平均值 ± SD, 细胞数 /mm²)。

[0290] 表 8

[0291]

	第 7 天	第 14 天	第 21 天
假手术组	45.6 ± 5.69	13.2 ± 1.64	1.99 ± 1.09
对照组	210.5 ± 22.3*	74.5 ± 13.4*	46.2 ± 6.31*

[0292]

试验组	305.2 ± 30.6**	105.3 ± 15.4**	63.2 ± 7.55**
BRt	157.4%	150.2%	138.5%

[0293] 使用 Wiloxon 氏检验, * 表示与假手术组相比 P<0.05, ** 表示在相同天数与对照组相比 P<0.01。

[0294] 根据表 8 中显示的数据, 以对照组的值为 100%, 使用下面的公式计算试验组的巢蛋白阳性细胞数目的相对值(%):

[0295] BRt (%) = (Bt-St) / (Mt-St) × 100

[0296] BRt (%) : 在时间 t 时试验组的巢蛋白阳性细胞的百分数;

[0297] Bt : 在时间 t 时试验组的巢蛋白阳性细胞的平均数;

[0298] St : 在时间 t 时假手术组的巢蛋白阳性细胞的平均数；

[0299] Mt : 在时间 t 时对照组的巢蛋白阳性细胞的平均数；

[0300] t : 第 7 天、第 14 天或第 21 天。

[0301] 与假手术组相比，对照组的巢蛋白阳性细胞数目增加(巢蛋白是神经干细胞的标志物) (表 8)。认为这归因于脑缺血 / 再灌注损伤的刺激在动物所诱导的代偿反应。

[0302] 另一方面，在模型建立后第 7、14 和 21 天，与对照组相比，试验组的巢蛋白阳性细胞数目增加(表 8)。

[0303] 这些结果表明二氧化氯溶液启动了巢蛋白阳性细胞(即神经干细胞)。认为本发明中含二氧化氯的干细胞启动剂的启动干细胞作用是在于促进神经干细胞的增殖和迁移。

[0304] 此外，尽管从模型建立第 11 天以后再没有给予二氧化氯溶液，但在模型建立后第 21 天，与对照组相比，试验组的巢蛋白阳性细胞数还是显著增加。该结果表明本发明中含二氧化氯的干细胞启动剂对神经干细胞具有持续的促进作用。

[0305] 3) 增殖神经干细胞的存在和其自我复制能力的证明

[0306] a、增殖神经干细胞的存在的证明

[0307] 在试验组中，通过双重免疫荧光染色证实在 SVZ 区中存在增殖的巢蛋白阳性 / BrdU 阳性细胞(即，神经干细胞)。这表明在试验组中存在增殖神经干细胞。

[0308] b、神经干细胞自我复制能力的证明

[0309] 表 9 显示了 SVZ 区中 BrdU 阳性细胞的数目(平均值 SD, 细胞数 /mm²)。

[0310] 表 9

[0311]

	第 7 天	第 14 天	第 21 天
假手术组	52.8±3.85	33.9±2.95	23.9±1.95
对照组	136.56±9.93*	328.6±12.5*	279.9±12.8*
试验组	184.61±12.3**	496.2±30.6**	385.3±20.9**
BRT	157.4%	156.9%	141.2%

[0312] 使用 Wilcoxon 氏检验,* 表示与假手术组相比 P<0.01,** 表示在相同天与对照组相比 P<0.01。

[0313] 根据表 9 中显示的数据，以对照组的值为 100%，使用下面的公式计算试验组的 BrdU 阳性细胞数目的相对值(%)：

[0314] BRT (%) = (Bt-St) / (Mt-St) × 100

[0315] BRT (%) : 在时间 t 时试验组的 BrdU 阳性细胞的百分数；

[0316] Bt : 在时间 t 时试验组的 BrdU 阳性细胞的平均数；

[0317] St : 在时间 t 时假手术组的 BrdU 阳性细胞的平均数；

[0318] Mt : 在时间 t 时对照组的 BrdU 阳性细胞的平均数；

[0319] t : 第 7 天、第 14 天或第 21 天。

[0320] 与假手术组相比，对照组的 BrdU 阳性细胞数目显著增加(BrdU 是增殖细胞的标志物) (表 9)。认为这归因于脑缺血 / 再灌注损伤的刺激在动物所诱导的代偿反应。

[0321] 另一方面，在模型建立后第 7、14 和 21 天，与对照组相比，试验组的 BrdU 阳性细胞数目显著增加(表 9)。

[0322] 因为脑组织中存在的 BrdU 阳性细胞只由具有自我复制能力可掺入 BrdU 的神经干

细胞和神经祖细胞组成。所以,这些结果表明二氧化氯溶液启动了神经干细胞。因此,可以认为本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂的启动干细胞作用是在于促进神经干细胞的增殖和迁移。

[0323] 此外,尽管从模型建立第 11 天以后再没有给予二氧化氯溶液,但在模型建立后第 21 天,与对照组相比,试验组的 BrdU 阳性细胞数目仍然显著增加。该结果表明本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂对神经干细胞具有持续的促进作用。

[0324] 4) 未成熟神经元和从神经干细胞分化的星形胶质细胞的存在以及星形胶质细胞增加的证明

[0325] a、未成熟神经元存在的证明

[0326] 证实在试验组中存在 NeuN 阳性细胞(数据未显示)。NeuN 是从神经干细胞分化的未成熟神经元表达的标志物。因此,该结果表明在试验组中存在从神经干细胞分化的未成熟神经元。

[0327] b、从神经干细胞分化的星形胶质细胞存在的证明

[0328] 使用双重免疫荧光染色证实在试验组的 SVZ 区中存在 BrdU 阳性 /GFAP 阳性细胞(数据未显示)。GFAP 是在从神经干细胞分化的星形胶质细胞表达的标志物。因此该结果表明在试验组中存在从神经干细胞分化的星形胶质细胞。然而,星形胶质细胞是神经组织中已分化的细胞,为什么 BrdU 会掺入它们之中? 认为检测到的 BrdU 是在分化成星形胶质细胞之前的干细胞状态时,就掺入到细胞中,并且持存在的 BrdU。

[0329] c、增加的胶质细胞存在的证明

[0330] 表 10 显示了 SVZ 区中 GFAP 阳性细胞数目(平均值 ± SD, 细胞数 /mm²)。

[0331] 表 10

[0332]

	第 7 天	第 14 天	第 21 天
假手术组	2.5±0.15	1.39±0.02	0
对照组	66.3±21.3*	58.6±16.5*	27.9±12.4*
试验组	97.2±29.3**	78.2±19.6**	45.3±18.3**
BRt	148.4%	134.3%	162.4%

[0333] 使用 Wilcoxon 氏检验,* 表示与假手术组相比 P<0.05,** 表示在相同天与对照组相比 P<0.01

[0334] 根据表 10 中显示的数据,以对照组的值为 100%,使用下面的公式计算试验组的 GFAP 阳性细胞数目的相对值(%):

[0335] BRt (%) = (Bt-St) / (Mt-St) × 100

[0336] BRt (%) : 在时间 t 时试验组的 GFAP 阳性细胞的百分数;

[0337] Bt : 在时间 t 时试验组的 GFAP 阳性细胞的平均数;

[0338] St : 在时间 t 时假手术组的 GFAP 阳性细胞的平均数;

[0339] Mt : 在时间 t 时对照组的 GFAP 阳性细胞的平均数;

[0340] t : 第 7 天、第 14 天或第 21 天。

[0341] 与假手术组相比,对照组的 GFAP 阳性细胞数目增加(GFAP 是从神经干细胞分化的星形胶质细胞的标志物)(表 10)。认为这归因于脑缺血 / 再灌注损伤的刺激在动物所诱导的代偿反应。

[0342] 另一方面,在模型建立后第 7、14 和 21 天,与对照组相比,试验组的 GFAP 阳性细胞数目显著增加(表 10)。

[0343] 这些结果表明二氧化氯溶液启动了 GFAP 阳性细胞(即,神经干细胞和 / 或神经祖细胞)。因此,可以认为本发明中含二氧化氯的干细胞启动剂的启动干细胞作用是在于促进神经干细胞的增殖、迁移和分化,尤其在于促进上述细胞分化成星形胶质细胞。

[0344] 此外,尽管模型建立第 11 天以后再没有给予二氧化氯溶液,但在模型建立后第 21 天,与对照组相比,试验组的 GFAP 阳性细胞数目显著增加。该结果表明本发明中含二氧化氯的干细胞启动剂对神经干细胞分化成星形胶质细胞具有持续的促进作用。

[0345] 5) 迁移细胞存在的证明

[0346] 表 11 显示了 SVZ 区中 BrdU 阳性细胞的数目(平均值 ± SD, 细胞数 /mm²)。

[0347] 表 11

[0348]

	第 7 天	第 14 天	第 21 天
假手术组	2.85±1.05	3.39±1.35	3.11±1.05
对照组	136.56±15.63*	78.6±8.5*	34.9±5.48*
试验组	164.61±16.3**	112.2±10.6**	75.3±8.39**
BRt	121.0%	144.7%	227.1%

[0349] 使用 Wilcoxon 氏检验,* 表示与假手术组相比 P<0.01,** 表示在相同天与对照组相比 P<0.01

[0350] 根据表 11 中的数据,以对照组的值为 100%,使用下面的公式计算试验组的 BrdU 阳性细胞数目的相对值(%):

[0351] BRt (%) = (Bt-St) / (Mt-St) × 100

[0352] BRt (%) : 在时间 t 时试验组的 BrdU 阳性细胞的百分数;

[0353] Bt : 在时间 t 时试验组的 BrdU 阳性细胞的平均数;

[0354] St : 在时间 t 时假手术组的 BrdU 阳性细胞的平均数;

[0355] Mt : 在时间 t 时对照组的 BrdU 阳性细胞的平均数;

[0356] t : 第 7 天、第 14 天或第 21 天。

[0357] 在该试验中,于模型建立后 24 小时内,只腹腔内给予 BrdU 两次,且因在该时间以后再没有给予 BrdU,所以模型建立后第 7、14 和 21 天分析的 BrdU 阳性细胞是在 BrdU 给药的时间存在的 BrdU 阳性细胞。因此,在模型建立后第 7、14 和 21 天分析的 SVZ 区中的 BrdU 阳性细胞数目的增加反映了已经迁移到 SVZ 区中 BrdU 阳性细胞的数目。此外,SVZ 区中的 BrdU 阳性细胞仅由具有自我复制能力能够掺入 BrdU 的神经干细胞和神经祖细胞组成。基于上述的内容,表 11 表明神经干细胞和神经祖细胞在 SVZ 区内的迁移状态。

[0358] 与假手术组相比,对照组的 BrdU 阳性细胞数目显著增加(表 11)。认为这归因于脑缺血 / 再灌注损伤的刺激在动物所诱导的代偿反应。

[0359] 另一方面,在模型建立后第 7、14 和 21 天,与对照组相比,试验组的 BrdU 阳性细胞数目显著增加(表 11)。这表明试验组迁移到 SVZ 区的神经干细胞和 / 或神经祖细胞的数目大于对照组。

[0360] 这些结果表明二氧化氯溶液启动了神经干细胞。认为本发明中含二氧化氯的干细胞启动剂的启动干细胞作用是在于促进神经干细胞和 / 或神经祖细胞的迁移。

[0361] 此外,尽管从模型建立第 11 天以后再没有给予二氧化氯溶液,但在模型确立后第 21 天,与对照组相比,试验组的 BrdU 阳性细胞数显著增加。该结果表明本发明中含二氧化氯的干细胞启动剂对神经干细胞和 / 或神经祖细胞的迁移具有持续的促进作用。

[0362] 此外,通过免疫化学染色比较了对照组和试验组之间 SVZ 区中 BrdU 阳性细胞的分布。在对照组中,BrdU 阳性细胞仅分布在 SVZ 区的表面,但在试验组中,BrdU 阳性细胞广泛分布于 SVZ 区的表面到其内部。这表明由于给予二氧化氯溶液,神经干细胞和 / 或神经祖细胞从 SVZ 区的表面迁移到内部,即,本发明中含二氧化氯的干细胞启动剂促进了脑组织中神经干细胞和 / 或神经祖细胞就近迁移。

[0363] 实施例 3 中的这些结果清楚的表明二氧化氯溶液对神经干细胞具有持续的启动作用。认为本发明中含二氧化氯的干细胞启动剂的干细胞启动作用是在于促进神经干细胞和 / 或神经祖细胞的增殖、迁移和分化,再生受损组织,恢复试验动物的神经功能。

[0364] 根据本实施例,本领域技术人员可以概括出,本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂或由其作为主要成分制备出来的药物可以用于治疗各类神经系统和运动系统方面的疾病,并且治疗机理均为启动干细胞以促进组织再生,修复病变组织和器官。

[0365] 实施例 4

[0366] 本实施例用于说明含二氧化氯的干细胞启动剂作为药物对斑秃的治疗效果。

[0367] 用去离子水配置浓度为 7.47% 亚氯酸钠和 1.59% 氯化钠的混合溶液,制备出第一份溶液;用去离子水配置浓度为 16.7% 的柠檬酸溶液,制备出第二份溶液。

[0368] 分别从不同份溶液的容器中取出等量的溶液,放入事先准备好的大小合适的玻璃或塑料杯中,等待溶液混合静止 3~5 分钟,再用 0.22 μm 的双层滤膜过滤,按照容量的 1:1 比例加入二甲基亚砜,用棉签沾液涂抹斑秃区域,再等待 1~2 小时后,用水清洗头部。每天 1 次按照上述方法施用,第一阶段用药 15~25 天,然后停药 2~5 个月,依情况进行第二阶段用药 15~25 天。

[0369] 有 11 位男性斑秃患者和 1 名女性斑秃患者(年龄分布为 22~40 岁)作为自愿者使用本发明中的干细胞启动剂,情况如表 12 所示。

[0370] 表 12

[0371]

病程时间	人数	第一阶段用药	第二阶段用药	用药后半年
12 个月以内	5	3~5 天均匀长出新头发, 该阶段用药 15~25 天, 停药 1 个月左右, 斑秃区域新头发长出比率大约 80%~90%	有一部分头发脱落, 大约 50%, 3~5 天有新头发均匀长出。该阶段用药 15~25 天, 停药 1 个月左右, 斑秃区域新头发长出比率大约 90%~95%	完全恢复正常
12 个月以上	7	3~5 天沿着斑秃区域边缘长出新头发, 停药 1 个月左右时间, 斑秃区域新头发长出比率大约 40%~50%	有一部分头发脱落, 大约 50%~60%, 3~5 天均匀长出新头发。停药 1 个月左右时间, 斑秃区域新头发长出比率大约 80%~90%	基本恢复正常, 恢复比率在 90%~100%

[0372] 斑秃是皮肤科常见的疾病,多见于青壮年,呈圆形、椭圆形,数目不等。斑秃是自身免疫疾病,由淋巴免疫细胞去攻击自身的毛囊所致,斑秃区域的毛囊干细胞没有被破坏,头发可以重新生长。大约 80% 患者会在病发后 12 个月内再长出头发。但通常都会反复发作。

在治疗上以局部类固醇注射治疗,刺激毛发生长,但易复发。

[0373] 通过本试验说明,本发明中含二氧化氯的干细胞启动剂能够使斑秃免疫反应修复,并且再生毛囊并长出新头发,可以彻底治愈斑秃。

[0374] 根据本实施例,本领域技术人员可以概括出,本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂或由其作为主要成分制备出来的药物可以用于治疗各类自身免疫性皮肤疾病,并且治疗机理均为启动干细胞以促进组织再生,并调节免疫机制,修复病变组织和器官。

[0375] 实施例 5

[0376] 本实施例用于说明含二氧化氯的干细胞启动剂作为药物对于骨关节炎的治疗效果。

[0377] 本试验的目的在于评价本发明中含二氧化氯的干细胞启动剂的关节内施用在患有髋骨关节炎的患者中的治疗效果,通过评价软骨厚度、疼痛强度和治疗前后患者的生活质量来进行。

[0378] 用去离子水配置浓度为 8% 亚氯酸钠和 2% 氯化钠的混合溶液,制备出第一份溶液;用去离子水配置浓度为 15% 的柠檬酸溶液,制备出第二份溶液。

[0379] 分别从不同份溶液的容器中取出等量的溶液,放入事先准备好的大小合适的玻璃或塑料杯中,等待溶液混合静止 3~5 分钟,再用 0.22 μm 的双层滤膜过滤,按照容量的 1:1 比例加入二甲基亚砜。立刻反复涂抹于髋关节患处皮肤上,每天一次,连续 20 天,然后停药 3 个月,然后再进行 20 天连续治疗。在治疗前,将待治疗区域清洗干净并消毒,然后在操作前 30 分钟用涂布麻醉剂霜麻醉。并且根据治疗区域大小,施用相应容量的溶液,大约范围为 1~10 毫升 /100 平方厘米。

[0380] 筛选患有髋骨关节炎的 11 位患者(5 位 40~70 岁的男性和 6 位 40~65 岁的女性)自愿加入治疗组。在进入本试验时 3 个和 6 个月后,通过采集个人和人体测量数据(身高、体重、体重指数(BMI)、血压和心率)得到病史并且评价如下参数:

[0381] 疼痛强度:使用直观模拟标度尺(VAS),以 0 (正常)~100 (最大疼痛强度) 表示,由医生和患者进行;

[0382] 疾病严重性:使用 Womac 骨关节炎指标问卷法,即髋骨关节炎的自我评价等级,由 24 项组成用于检测该病的进展和确定治疗效果。

[0383] 髋关节软骨厚度:通过在中心、中间和侧室中超声扫描测量。

[0384] 本试验的结果分析如下:

[0385] 本发明中含二氧化氯的干细胞启动剂是充分耐受的,无局部或全身过敏反应。用药过程中,有持续的疼痛感觉,但是大约 1 小时后完全消失。

[0386] 将与疼痛强度评价和疾病严重性相关的数据列在下表 13 中。

[0387] (1) 疼痛强度评价

[0388] 在本试验开始时由患者评价的评价疼痛值(VAS) 为 58.32 (±8.25);3 个月后,平均值为 18.24 (±7.25),百分比下降为 68.7% ($p < 0.05$);6 个月后,平均值将为 6.32 (±6.53),百分比下降为 89.16% ($p < 0.05$)。在本试验开始时由医生评价的评价疼痛值(VAS) 为 55.23 (±9.66);3 个月后,平均值为 20.03 (±7.32),百分比下降为 63.7% ($p < 0.05$);6 个月后,平均值进一步降低至 7.11 (±6.93),百分比下降为 87.12% ($p < 0.05$)。

[0389] (2) 疾病严重性评价在本试验开始时,平均 WOMAC 值为 55.03 (±26.63);3 个月

后,平均值降至 20.11 (± 22.53),百分比下降为 59.06% ($p < 0.01$);6 个月后,平均值进一步降至 6.54 (± 5.86),百分比下降为 88.12 ($p < 0.01$)。

[0390] 表 13 列出了试验开始时和渗透治疗后 3 个和 6 个月检查的患者的临床评价情况。表 14 列出了渗透治疗后 3 个和 6 个月临床评价中的百分比下降的临床评价情况。

[0391] 表 13

[0392]

评价项目	基线	3 个月	6 个月
患者 VAS 平均值 ($\pm SD$)	58.32 (± 8.25)	18.24 (± 7.25)	6.32 (± 6.53)
医生 VAS 平均值 ($\pm SD$)	55.23 (± 9.66)	20.03 (± 7.32)	7.11 (± 6.93)
WOMAC 平均值 ($\pm SD$)	55.03 (± 26.63)	20.11 (± 22.53)	6.54 (± 5.86)

[0393] 表 14

[0394]

评价项目	3 个月与基线比较	6 个月与基线比较
患者 VAS 平均值 (Wilcoxon 氏检验值)	68.7% ($p < 0.05$)	89.16% ($p < 0.05$)
医生 VAS 平均值 (Wilcoxon 氏检验值)	63.7% ($p < 0.05$)	87.12% ($p < 0.05$)
WOMAC 平均值 (Wilcoxon 氏检验值)	59.06% ($p < 0.01$)	88.12 ($p < 0.01$)

[0395]

值)		
----	--	--

[0396] (3) 关节软骨厚度

[0397] 软骨的超声评价(列在表 15 中)显示在基线的中间软骨厚度的平均值为 0.51 (± 0.07)mm;3 个月后,该厚度增加至 0.59 (± 0.08)mm,百分比增加 15.6% ($p < 0.05$);6 个月后,该厚度进一步增加至 0.66 (± 0.16)mm,百分比增加为 11.9% ($p < 0.05$)。

[0398] 在基线的侧软骨厚度的平均值为 0.61 (± 0.09)mm;3 个月后,已经增加至 0.67 (± 0.10)mm,百分比增加为 9.8%($p < 0.05$);6 个月后,该厚度进一步增加至 0.73(± 0.11)mm,百分比增加为 8.9% ($p < 0.05$)。

[0399] 在基线的中心软骨厚度的平均值为 0.73 (± 0.09)mm;3 个月后,已经增加至 0.79 (± 0.11)mm,百分比增加为 8.2%($p < 0.05$);6 个月后,该厚度进一步增加至 0.89(± 0.09)mm,百分比增加为 12.7% ($p < 0.05$)。

[0400] 表 15 列出了试验开始时和渗透治疗后 3 个和 6 个月的关键软骨评价厚度。

[0401] 表 15

[0402]

评价项目	基线	3个月与基线比较	6个月与基线比较
中间软骨平均值 (\pm SD) /mm	0.51 (\pm 0.07)	0.59 (\pm 0.08) * 15.6%	0.66 (\pm 0.16) * 11.9%
侧软骨平均值 (\pm SD) /mm	0.61 (\pm 0.09)	0.67 (\pm 0.10) * 9.8%	0.73 (\pm 0.11) * 8.9%
中心软骨平均值 (\pm SD) /mm	0.73 (\pm 0.09)	3.19 (\pm 0.7) * 8.2%	0.89 (\pm 0.09) * 12.7%

[0403] 使用 Wilcoxon 氏检验,* 表示与基线相比 $P<0.05$ 。

[0404] 上述结果分析显示,在施用本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂后临床症状明确改善。所述的仅仅 3 个月后出现的改善可以维持到 6 个月后,此时观察到骨关节症状的进一步改善。3 个和 6 个月后 VAS 疼痛值与基线相比显著下降,显示该药物不仅确切地增进滑液的粘弹性,而且对疼痛症状具有明确的改善,因此,对患者的生活质量具有明确的改善。说明本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂作为药物具有显著的使炎症组织再生能力。

[0405] 根据本实施例,本领域技术人员可以概括出,本发明中的含二氧化氯的 干细胞启动剂或由其作为主要成分制备出来的药物可以用于治疗各类炎症性疾病和运动系统疾病,并且治疗机理均为启动干细胞以促进组织再生,修复病变组织和器官。

[0406] 实施例 6

[0407] 本实施例用于说明含二氧化氯的干细胞启动剂作为药物对强直性脊柱炎的治疗效果。

[0408] 强直性脊柱炎(AS)是一种慢性、进行性、致残性的自身免疫性疾病,在外周关键病变为中,髋关节受累是 AS 致残的主要原因。本试验的目的在于评价本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂的关节内(处)施用在患有强直性脊柱炎这类自身免疫性疾病的患者中的治疗效果。

[0409] 用去离子水配置浓度为 7.47% 亚氯酸钠和 1.59% 氯化钠的混合溶液,制备出第一份溶液;用去离子水配置浓度为 16.7% 的柠檬酸溶液,制备出第二份溶液。分别从不同份溶液的容器中取出相同体积的溶液,放入事先准备好的大小合适的玻璃或塑料杯中,等待溶液混合静止 3~5 分钟,再用 $0.22 \mu\text{m}$ 的双层滤膜过滤,按照容量的 1:1 比例加入二甲基亚砜。立刻反复涂抹于髋关节患处皮肤处,每天一次,连续 3 周,停药 1 周,然后再 3 周继续治疗,之后再停药 1 周,反复 4 个周期。在用药前,将待治疗区域清洗干净并消毒,然后在操作前 30 分钟用涂布麻醉剂霜麻醉。并且根据治疗区域大小,施用相应容量的溶液,大约范围为 1~10 毫升/100 平方厘米。

[0410] 试验对象:12 例患者均符合 1984 年修订的 AS 纽约分类标准且人类白细胞抗原-B27 阳性,并处于疾病活动期,伴有单侧或双侧髋关节病变。其中,男 8 例,女 4 例,年龄 18~40 岁,平均 26 岁。

[0411] 平均指标:Bath AS 髋关节 X 线指数(BASRI),0 期:正常,0 分;I 期:可疑改变,可能有局部关节间隙变窄,计 25 分;II 期:轻度异常,有明确的关节间隙变窄,关节间隙>

2mm, 计 50 分 ;III期 : 中度异常, 关节间隙变窄, 关节间隙 < 2mm 或局部关节间隙消失、骨性关节面接触范围 < 2cm, 计 75 分 ;IV期 : 重度异常, 骨变形, 骨性关节面接触范围 > 2cm, 计 100 分。如 I 、 II 期病变存在以下 3 种征象, 即侵蚀破坏、骨赘形成和髋关节内陷之两种, 则相应增加一级。根据不同程度给出相应的 BASRI 评价。Harris 髋关节评分 : 满分 100 分, 包括髋关节疼痛程度 44 分、髋关节功能 47 分、下肢畸形程度 4 分、髋关节活动范围(角度) 5 分。根据不同程度给出相应的分值。AS 疾病活动和功能情况采用 Bath 强直性脊柱炎功能指数(BASFI)、Bath 强直性脊柱炎疾病活动指数(BASDAI)、血沉(ESR)、C 反应蛋白(CRP) 评估方法。

[0412] 本试验的结果分析如下 :

[0413] 本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂是充分耐受的, 无局部或全身过敏反应。用药过程中, 有持续的疼痛感觉, 但是大约 1 小时后完全消失。

[0414] 与治疗前比较, 按 BASRI 分期, 治疗后 3 个月受累的髋关节 BASRI 分期大约降低半级 ; 治疗后 6 个月受累的髋关节 BASRI 分期大约降低 1 级。

[0415] 与治疗前比较, 治疗后两组患者 Harris 髋关节评分、BASFI、BASDAI、ESP、CRP 均显著降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。结果见表 16。

[0416] 表 16 显示了 AS 治疗前后各指数评分情况。

[0417] 表 16

[0418]

项目	治疗前	3 个月	6 个月
BASRI 分期	45 ± 5	30 ± 6*	25 ± 8*
Harris 髋关节评分	82 ± 6	49 ± 5*	32 ± 4*
BASDAI	6. 4 ± 1. 8	3. 6 ± 1. 5**	3. 0 ± 1. 2*
BASFI	7. 3 ± 1. 6	3. 3 ± 1. 4**	2. 9 ± 1. 1*
ESR	29. 4 ± 9. 8	11. 8 ± 7. 6**	9. 1 ± 6. 8**
CRP	17. 6 ± 4. 2	6. 3 ± 3. 5**	1. 2 ± 0. 6**

[0419] 与治疗前比较, * 表示 $P < 0.05$, ** 表示 $P < 0.01$ 。

[0420] AS 是以骶髂关节炎和脊柱慢性炎症为主、原因不明的全身性疾病, 基本上可以把它归类为自身免疫性疾病, 24% ~ 75% 的患者在病初或病程中出现外周关节病变, 特别是青少年。目前标准的治疗方法是使用激素或者某些生物制剂, 理论上来说这些治疗手段都是从抑制或缓解症状出发的, 还不能从根本上消除致病因素。本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂可以说从根本上解决该病病因, 从机理和试验结果可以推广至其他自身免疫性疾病, 特别是各类关节炎的治疗。

[0421] 根据本实施例, 本领域技术人员可以概括出, 本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂或由其作为主要成分制备出来的药物可以用于治疗各类自身免疫性疾病, 并且治疗机理均为启动干细胞以促进组织再生, 并调节免疫机制, 修复病变组织和器官。

[0422] 实施例 7

[0423] 本实施例用于说明含二氧化氯的干细胞启动剂作为药物对湿疹的治疗效果。

[0424] 局限性慢性湿疹患者 12 例,病程平均 7 年,既往间断应用多种糖皮质激素类外用药物及口服抗组胺类药物治疗,疗效不理想。施用本发明中的干细胞起动剂,方法如下:

[0425] 用去离子水配置浓度为 8% 亚氯酸钠和 2% 氯化钠的混合溶液,制备出第一份溶液;用去离子水配置浓度为 12% 的柠檬酸溶液,制备出第二份溶液。分别从不同份溶液的容器中取出相同体积的溶液(根据治疗区域大小,配置相应容量的溶液,大约范围为 1~10 毫升 /100 平方厘米),放入事先准备好的大小合适的玻璃或塑料杯中,等待溶液混合静止 3~5 分钟,再用 0.22 μm 的双层滤膜过滤。立刻涂抹于湿疹患处,每天一次,连续 10~15 天,然后停药,如果湿疹复发再按以上方法施用。

[0426] 通过治疗,12 例病例表现接近:施用药物后,瘙痒被刺痛代替,半小时左右,刺痛和瘙痒均消失,大约 2~5 天患处结痂,并在 10~15 天退去,皮疹恢复至正常厚度,色素沉着逐渐减淡,临床体征及组织病理变化恢复正常。

[0427] 追踪该 12 例病例 8 个月时间,其中 6 人湿疹无复发;4 人复发一次,在经过 2 次治疗后,不再复发;2 人复发 2 次,并经过第 3 次治疗后,不再复发。

[0428] 本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂对于湿疹大致起到如下几个作用:有一定刺痛感,可以立刻替代瘙痒;药水的部分氧化作用可以清除被免疫系统认为是外源性的物质;药水其中的有效成分能够启动患处伤口的干细胞分化,能够快速愈合伤口,并且能够使免疫系统对患处反应正常化;药水的氧化能力抵御细菌等微生物,保证伤口不被感染。

[0429] 根据本实施例,本领域技术人员可以概括出,本发明中的含二氧化氯的 干细胞启动剂或由其作为主要成分制备出来的药物可以用于治疗各类自身免疫性皮肤疾病,并且治疗机理均为启动干细胞以促进组织再生,并调节免疫机制,修复病变组织和器官。

[0430] 实施例 8

[0431] 本实施例用于说明含二氧化氯的干细胞启动剂作为药物对于银屑病的治疗效果。

[0432] 银屑病是一种 T 细胞介导的炎性疾病,被认为是最常见的自身免疫性疾病之一,感染大约 2%~3% 的成人。本试验的目的在于评价本发明中含二氧化氯的干细胞启动剂施用在患有银屑病这类自身免疫性皮肤疾病的患者中的治疗效果。

[0433] 选取患者 86 例,随机分配到治疗组 43 例,对照组 43 例。患者年龄范围 28~68 岁,局部银屑病,持续发作,病程大于 9 个月,取得知情同意书并签字。治疗组:男 29 例 (74.36%),女 10 例 (25.64%);年龄 (49.05±14.57);病程 (12±9) 年。对照组:男 28 例 (68.29%),女 13 例 (31.71%);年龄 (47.05±16.25);病程 (12±10) 年。

[0434] 用药方法:

[0435] 治疗组患者用药:用去离子水配置浓度为 10% 亚氯酸钠和 2.5% 氯化钠的混合溶液,制备出第一份溶液;用去离子水配置浓度为 22% 的柠檬酸溶液,制备出第二份溶液。分别从不同份溶液的容器中取出相同体积的溶液((根据治疗区域大小,配置相应容量的溶液,大约范围为 1~10 毫升 /100 平方厘米),放入事先准备好的大小合适的玻璃或塑料杯中,等待溶液混合静止 3~5 分钟,再用 0.22 μm 的双层滤膜过滤。立刻涂抹于患处,每天一次,连续 10~15 天,然后停药,如果复发再按以上方法施用。对照组患者用药:用曲安奈德益康唑乳膏涂抹患处,每天一次,连续 10~15 天,然后停药,如果复发再按以上方法施

用。期限 6 个月。

[0436] 疗效判断标准 :参考“银屑病面积与严重性指数”(PASI) 评分标准,1) 评价面积 :4 个躯体部位分别以 0 ~ 6 分评分 :面积 :0= 无皮疹 ;1 < 10% ;2=10 ~ 29% ;3=30 ~ 49% ;4=50 ~ 69% ;4=50 ~ 69% ;5=70 ~ 89% ;6=90 ~ 100%; 躯干部位 :头面 =10% ;躯干 =30% ;上肢 =20% ;下肢 =40%。2) 评价临床严重程度 :红斑 ;浸润 ;鳞屑。每个特点用 0 ~ 4 分评价 ;0= 无 ;1= 轻度 ;2= 中度 ;3= 重度 ;4 极重度。计算各躯体部位分值,再累加得到总分。疗效判断标准(PASI 降低百分比) :痊愈评分 ≥ 95%; 显效评分 ≥ 61% 且 < 95%; 好转评分 ≥ 20% 且 < 60%; 无效评分 < 20%。

[0437] 本试验的结果分析如下 :

[0438] 本试验是计数资料,采用卡方检验,比较两组痊愈率及复发率。

[0439] 治疗组 43 例患者,经过最高 3 次治疗,痊愈 41 例,痊愈率为 95.3%; 好转 2 例(见表 17),其中 20 例经过 2 次以上治疗,9 例经过 3 次治疗。对照组 43 例,经过最高 3 次治疗,痊愈 30 例,痊愈率为 69.8%,好转 10 例,有效 3 例,其中 40 例为经过 2 次以上治疗,38 例为经过 3 次治疗。两组痊愈率比较 $P < 0.01$ 。表 17 显示了用药 6 个月后两组疗效的对比情况。

[0440] 表 17

[0441]

分组	病例数	痊愈例数及 百分比 (%)	好转例数及 百分比 (%)	有效例数及 百分比 (%)	无效例数及 百分比 (%)
治疗组	43	41 (95.3%)	2 (4.6%)	0 (0)	0 (0)
对照组	43	30 (69.8%)	10 (23.3%)	3 (6.9%)	0 (0)

[0442] 复发情况(6 个月以后) :

[0443] 在治疗组 43 例中随访成功 35 例,对照组 43 例中回访成功 32 例。两组平均随访约 6 个月(治疗以后计算),治疗组复发率为 5.7% (2/35),对照组复发率为 71.9% (23/32)(见表 18),两组比较 $P < 0.01$ 。表 18 显示了复发情况统计结果。

[0444] 表 18

[0445]

分组	病例数	复发例数及百分比 (%)	未复发例数及百分比 (%)
治疗组	35	2 (5.7%)	33 (94.3%)
对照组	32	23 (71.9%)	9 (28.1%)

[0446] 本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂对于银屑病大致起到如下几个作用 :有一定刺痛感,可以立刻替代瘙痒 ;干细胞启动剂的部分氧化作用可以清除被免疫系统认为是外源性的物质 ;干细胞启动剂中的有效成分能够启动患处伤口的干细胞分化,能够快速愈合伤口,使患处皮肤再生,并且能够使免疫系统对患处反应正常化 ;药水的氧化能力抵御细菌等微生物,保证伤口 不被感染。

[0447] 根据本实施例,本领域技术人员可以概括出,本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂或由其作为主要成分制备出来的药物可以用于治疗各类自身免疫性疾病,并且治疗机理均为启动干细胞以促进组织再生,并调节免疫机制,修复病变组织和器官。

[0448] 实施例 9

[0449] 本实施例用于说明含二氧化氯的干细胞启动剂作为药物对于鼻炎的治疗效果。

[0450] 鼻炎是一种发病率较高的常见病,分为慢性鼻炎和过敏性鼻炎,治疗手段不多,且可能久治不愈。本试验的目的在于评价本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂施用在患有慢性鼻炎和过敏性鼻炎疾病的患者中的治疗效果。

[0451] 本试验选择患有慢性鼻炎或过敏性鼻炎患者 30 例,随机分配至治疗组和对照组各 15 例。

[0452] 治疗组患者用药:用去离子水配置浓度为 7.47% 亚氯酸钠和 1.59% 氯化钠的混合溶液,制备出第一份溶液;用去离子水配置浓度为 16.7% 的柠檬酸溶液,制备出第二份溶液。混合以上两份溶液,制备出含有二氧化氯的溶液。每一个患者一次制备 50ml,装入瓶中并密闭保存于冰箱中。使用前,从上述配置好的溶液中取每次每人使用量 2~5ml 倒入敞口杯。患者用鼻对准溶液杯口,用鼻呼吸 1~2 分钟,然后将溶液用生理盐水稀释 5~100 倍,再装入喷鼻器中,向每侧鼻腔喷入 3~5 下。每天一次,连续 5~10 天,然后停药,如果复发再按以上方法施用。治疗 3 个月。对照组患者用药:用麻黄素滴鼻液每日 3 次,每次每侧鼻腔滴 3 滴,连续 7 天。如果复发再按以上方法施用。治疗 3 个月。

[0453] 疗效评价:根据症状和体征将疗效分为显效、有效及无效。1) 显效:自觉症状消失,阳性体征转为正常;2) 有效:自觉症状及阳性体征明显减轻;3) 无效:自觉症状和阳性体征无明显改善。总有效率(%)= ((显效例数 + 有效例数) / 总例数 × 100%)。治疗后鼻炎复发率是计算治疗后 6 个月内所有病例的复发比率。表 19 显示了鼻炎治疗情况。

[0454] 表 19

[0455]

组别	例数	显效	有效	无效	有效率	复发例数	复发率
治疗组	30	26	3	1	97%	3	10%
对照组	30	10	13	7	77%	27	90%

[0456] 本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂作为药物在临幊上对慢性鼻炎、过敏性鼻炎的治疗效果显著,除可以明显地收缩鼻腔黏膜,减少鼻腔腺体的分泌;而且还表现出明显的抗炎和抗过敏作用。优于现在常用的产品。

[0457] 本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂对于鼻炎大致起到如下几个作用:有一定刺痛感,抗组胺,减少打喷嚏;药水的部分氧化作用可以清除被免疫系统认为是外源性的物质;药水其中的有效成分能够启动患处炎症的干细胞分化,能够快速消除炎症,生出新组织,并且能够使免疫系统对患处反应正常化,也就是抗炎和抗过敏作用;药水的氧化能力抵御细菌等微生物。

[0458] 根据本实施例,本领域技术人员可以概括出,本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂或由其作为主要成分制备出来的药物可以用于治疗各类炎症性疾病、过敏性疾病、呼吸系统及眼科疾病,并且治疗机理均为启动干细胞以促进组织再生,并调节免疫机制,修复病变组织和器官。

[0459] 实施例 10

[0460] 本实施例用于说明本发明中含二氧化氯的干细胞启动剂作为药物在 II 型糖尿病鼠模型中的试验效果。

[0461] 用去离子水配置浓度为 4% 亚氯酸钠和 1% 氯化钠的混合溶液,制备出第一份溶液;用去离子水配置浓度为 8% 的柠檬酸溶液,制备出第二份溶液。分别从不同份溶液的容器中

取出相同体积的溶液,混合,等待溶液混合静止3~5分钟,再用0.22μm的双层滤膜过滤,马上装入注射器。

[0462] 将购自北京大学医学部的II型糖尿病鼠模型,随机分为A和B两组,每组10只,A组为上述配置好的干细胞启动剂治疗组,B组为同体积0.9%的氯化钠溶液对照组。A组在第0天鼠模型胰岛部位注射0.5ml上述配置好的干细胞启动剂,第7天和第14天以相同剂量再次注射;B组于相同时间点在肝动脉输注0.5ml生理盐水并计算鼠模型血糖大小。分别于最后一次注射后的第7天、第14天、第21天和第28天检测鼠模型空腹血糖水平,结果如下表20所示。

[0463] 表20

[0464]

组别	平均血糖水平 (mmol/L, ± SD)				
	治疗前 0d	治疗后 7d	治疗后 14d	治疗后 21d	治疗后 28d
A组	17.3 ± 0.4	9.3 ± 3.5	4.3 ± 1.1	3.5 ± 1.3	3.1 ± 1.2
B组	16.5 ± 0.7	18.3 ± 2.4	17.2 ± 1.6	16.7 ± 1.9	17.9 ± 2.3

[0465] 使用Wilcoxon氏检验,*表示与基线相比P<0.01。

[0466] 可以看出,治疗组的病鼠经过治疗,14天后空腹血糖水平恢复正常,对照组血糖水平几乎没有变化。说明含二氧化氯的干细胞启动剂对于II型糖尿病鼠模型具有优异的治疗效果,并且几乎未发现有何副作用。

[0467] 根据本实施例,本领域技术人员可以概括出,本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂或由其作为主要成分制备出来的药物可以用于治疗各类泌尿和内分泌系统疾病,并且治疗机理均为启动干细胞以促进组织再生,修复病变组织和器官。

[0468] 实施例11

[0469] 本实施例用于说明含二氧化氯的干细胞启动剂作为药物对胃溃疡的治疗效果。

[0470] 胃溃疡是内科的常见病、多发病,病因多种,其中幽门螺杆菌(HP)感染是一大因素,大量研究表明,80%左右的胃溃疡都是有HP感染所致。胃溃疡发生是黏膜侵袭因素和防御因素失去平衡的结果,是典型的胃部组织损伤性疾病。

[0471] 挑选HP阳性的胃溃疡患者90例,其中,男50例,女40例,年龄33~75岁,平均41岁。将90例入选患者随机分为治疗组与对照组,其中治疗组,30例,两个对照组(1,2)分别30例。

[0472] 用去离子水配置浓度为20%亚氯酸钠和5%氯化钠的混合溶液,制备出第一份溶液;用去离子水配置浓度为30%的柠檬酸溶液,制备出第二份溶液。分别从不同份溶液的容器中取出相同体积的溶液,放入事先准备好的大小合适且洁净的玻璃或塑料杯中,等待溶液混合静止3~5分钟,用注射器将混合溶液注满0号密闭的软胶囊,制备出含有本发明中的干细胞启动剂的胶囊。

[0473] 治疗组患者每人每日三次服用依上述方法现场制备的含有本发明中的干细胞启动剂的软胶囊,每次一粒;对照组1患者饭前30分钟口服胶体果胶铋15mg与替硝唑100mg,3次/d,口服奥美拉挫20mg,2次/d;对照组2患者饭前口服阿莫西林1.0g,克林霉

素 500mg, 3 次 /d, 埃索美拉唑 20mg, 2 次 /d。各组连续用药 1 周。观察三组病例服药后 2 周的腹痛、恶心、反酸等临床症状改善情况，并于 30d 后进行胃镜检查以及胃窦黏膜尿素酶试验，观察溃疡愈合和 HP 根除情况。

[0474] 疗效判断标准：准确记录治疗前后病情变化与症状消失时间。诊断标准如下：1) 完全愈合标准：疼痛、烧心、恶心、反酸、腹胀等症状消失；胃镜下溃疡完全愈合，周围炎症消失；幽门螺杆菌检测阴性；2) 基本愈合标准：自觉症状消失，胃镜下溃疡愈合 > 90%，周围炎症基本消除；3) 有效标准：溃疡面缩小 > 50%，或者溃疡数量减少 > 50%；4) 无效标准：溃疡愈合 ≤ 50% 或无变化，甚至溃疡面或溃疡数量增加。于胃窦、胃体处各取 1 处黏膜标本进行快速尿素酶试验，两部分结果均为阴性确定 HP 转阴。

[0475] 结果见表 21。

[0476] 表 21

[0477]

组别	1 周后症 状消失	30d 完全愈合	30d 愈合	30d 有效	HP 转阴
治疗组	30 (100%)	28 (93.3%)	1 (3.3%)	1 (3.3%)	29 (96.6%)
对照组 1	30 (100%)	24 (80%)	3 (10%)	3 (10%)	29 (96.6%)
对照组 2	26 (86.7%)	20 (66.7%)	5 (16.7%)	5 (16.7%)	18 (60%)

[0478] 可以看出，治疗组的 HP 转阴率和对照组 1 的 HP 转阴率基本相当，这说明本发明中的干细胞启动剂中的二氧化氯发挥出了明显的杀灭体内病原微生物的作用；尽管 HP 根除效果差不多，但是在使用本发明中的干细胞启动剂制备的药物后，胃溃疡完全愈合的比率更高，说明本发明中的干细胞启动剂促进了干细胞发动的组织再生，加速了胃溃疡的愈合。

[0479] 根据本实施例，本领域技术人员可以概括出，本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂或由其作为主要成分制备出来的药物可以用于治疗各类肠胃疾病和不包括皮肤在内的体内器官组织感染病原微生物导致的疾病，并且治疗机理均为启动干细胞以促进组织再生，修复病变组织和器官，其中还包括二氧化氯杀灭体内病原微生物机制。

[0480] 实施例 12

[0481] 本实施例用于说明含二氧化氯的干细胞启动剂作为药物对肺癌手术后并发症的预防作用。

[0482] 肺癌治疗首选手术治疗，但手术治疗创伤性较大，容易引发一系列术后并发症。较常见的并发症有：1) 支气管吻合口瘘及支气管胸膜瘘；2) 肺癌术后胸腔内出血；3) 呼吸道并发症；4) 心血管系统并发症。

[0483] 筛选刚进行肺癌手术的 I 、II 、III 期肺癌患者 30 例，随机分为两组，治疗组 15 例，对照组 15 例。

[0484] 用柠檬酸和去离子水配置 PH 值为 3 的酸性水溶液 15 升。用去离子水和亚氯酸钠制成 30% 的水溶液 500ml，用去离子水和柠檬酸制成 50% 的水溶液 500ml，将上述两溶液混合于 2 升的三角烧杯中，并用带瓶塞（密闭烧杯口）的塑料导管接入已配置好的酸性水溶液中。将二氧化氯气体向酸性水溶液中鼓泡 40 分钟，即制备出含二氧化氯的干细胞启动剂，

然后封装于 150 个容量为 100 毫升塑料瓶中，并放入冰箱内保存。

[0485] 治疗组 15 例患者，每人领用 10 瓶已配置好的溶液，自手术后第二天开始，每日一瓶，分 3 次，打开塑料瓶盖，用嘴和鼻对准瓶口交替呼吸 2-10 分钟，用完即盖住瓶口。对照组不采取特殊护理手段。观察手术后 1 个月内并发症发生情况。

[0486] 将肺癌手术后并发症情况分为严重并发症：需要医院处理；轻微并发症：患者可以自行处理；无并发症：临床未观察到。

[0487] 30 例肺癌手术后并发症出现情况见表 22。

[0488] 表 22

[0489]

组别	严重并发症	轻微并发症	无并发症
治疗组	1 (6.7%)	5 (33.3%)	9 (60%)
对照组	4 (26.7%)	6 (40%)	5 (33.3%)

[0490] 从表 22 可以看出，含有二氧化氯的干细胞启动剂对于肺癌手术后并发症有显著预防作用，说明本发明中的干细胞启动剂能够促进癌症导致的损伤组织再生，恢复组织正常功能，可以作为癌症治疗的辅助手段。

[0491] 根据本实施例，本领域技术人员可以概括出，本发明中的含二氧化氯的 干细胞启动剂或由其作为主要成分制备出来的药物可以用于促进各类癌症中的组织再生和治疗各类呼吸系统疾病，并且药物机理均为启动干细胞以促进组织再生，修复病变组织和器官。

[0492] 实施例 13

[0493] 本实施例用于说明含二氧化氯的干细胞启动剂作为药物对皮肤疤痕的去除作用。

[0494] 疤痕是物理、生物、化学等因素的损害作用于人体皮肤软组织，导致皮肤软组织的严重损伤而不能完全自行正常修复，转由纤维组织替代修复留下的即影响外观又影响功能的局部症状。疤痕的本质是一种不具备正常皮肤组织结构及生理功能的，失去正常组织活力的、异常的、不健全的组织。理论上，通过清创方法清除疤痕组织，刺激周围正常组织干细胞进行再生，即可以用正常组织代替疤痕组织，达到去除疤痕的美容或治疗作用。

[0495] 筛选 20 例疤痕患者作为受试对象，男性 7 名，女性 13 名，平均年龄 33 岁；其中烧伤性疤痕 5 例、意外伤害伤口愈合遗留的疤痕 7 例、手术疤痕 5 例、皮肤性疾病遗留下的疤痕 3 例；疤痕病程平均 3 年左右。

[0496] 用去离子水配置浓度为 10% 亚氯酸钠和 2.5% 氯化钠的混合溶液，制备出第一份溶液；用去离子水配置浓度为 20% 的柠檬酸溶液，制备出第二份溶液。分别从不同份溶液的容器中取出相同体积的溶液（根据治疗区域大小，配置相应容量的溶液，大约范围为 1 ~ 10 毫升 /100 平方厘米），放入事先准备好的大小合适的玻璃或塑料杯中，等待溶液混合静止 3 ~ 5 分钟，再用 0.22 μm 的双层滤膜过滤，按照容量的 1:1 比例加入二甲基亚砜。立刻涂抹于疤痕处，每天一次，连续 10 ~ 15 天，然后停药；首次用药停药后 1-2 个月开始第二次用药，每天一次，连续 5 ~ 10 天。

[0497] 观察首次用药后 1 个月和第二次用药后 1 个月的疗效。按照疤痕疼痛、疤痕硬度、周围色素沉着来判断疗效。1) 具体标准：疼痛：(++) 为明显，(+) 为中度，(-) 为轻微，(-) 为无。疤痕硬度：(++) 为硬按压不能凹陷，(+) 为中度按压可凹陷，(-) 为轻微按压完全凹陷，(-) 为质地同正常皮肤。周围色素沉着：(++) 为范围 >2cm，(+) 为范围在 1 ~ 2cm，(-) 为范围 <1cm，(-) 为无周围色素沉着。2) 临床效果判定：(显效)：无疤痕疼

痛,疤痕硬度同正常皮肤,周围无色素沉着;(有效):疤痕疼痛、疤痕硬度、周围色素沉着3项指标为(+)~(++);(无效):伤口疼痛、疤痕硬度、周围色素沉着3项指标中任意1项为(+++)。

[0498] 20例疤痕患者治疗结果见表23。

[0499] 表23

[0500]

第一次用药后1个月情况			第二次用药后1个月情况		
显效	有效	无效	显效	有效	无效
9 (45%)	6 (30%)	5 (25%)	15 (75%)	5 (25%)	0

[0501] 首次用药后1个月后,应用本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂作为药物治疗疤痕,显效率为45%,有效率为30%,在第二次用药后1个月时,显效率提高到了75%。可以看出本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂作为药物应用于治疗人皮肤疤痕,效果显著。可以发现本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂首先利用其特有的清创作用,清出疤痕组织,然后启动干细胞进行组织再生,长出完整而功能如新的皮肤。说明本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂可以用于美容整形方面的组织再生。

[0502] 根据本实施例,本领域技术人员可以概括出,本发明中的含二氧化氯的干细胞启动剂或由其作为主要成分制备出来的药物可以用于美容整形方面的组织再生,也可以治疗一般性的皮肤病,并且药物机理均为启动干细胞以促进组织再生,修复受损组织和器官。

[0503] 上述实施例只是对本发明的举例说明,本发明也可以以其它的特定方式或其它的特定形式实施,而不偏离本发明的要旨或本质特征。因此,描述的实施方式从任何方面来看均应视为说明性而非限定性的。本发明的范围应由附加的权利要求说明,任何与权利要求的意图和范围等效的变化也应包含在本发明的范围内。