

19



LE GOUVERNEMENT  
DU GRAND-DUCHÉ DE LUXEMBOURG  
Ministère de l'Économie

11

N° de publication :

LU508779

12

## BREVET D'INVENTION

B1

21

N° de dépôt: LU508779

51

Int. Cl.:  
A61K 35/00, A61L 15/00, A61K 38/00

22

Date de dépôt: 04/11/2024

30

Priorité:

72

Inventeur(s):  
ZHOU Kailiang – China

43

Date de mise à disposition du public: 05/05/2025

74

Mandataire(s):  
IP SHIELD – 1616 Luxembourg (Luxemburg)

47

Date de délivrance: 05/05/2025

73

Titulaire(s):  
THE SECOND AFFILIATED HOSPITAL OF WENZHOU  
MEDICAL UNIVERSITY (YUYING CHILDREN'S HOSPITAL  
OF WENZHOU MEDICAL UNIVERSITY) –  
Wenzhou (China)

54

**Die Anwendung von SCTCs-ABs in der Förderung des Überlebens von ultra-langen zufälligen Hautlappen.**

57

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf das Gebiet der biomedizinischen Technologie, insbesondere die Anwendung von SCTCs-ABs in der Förderung des Überlebens von ultra-langen zufälligen Hautlappen, mit einer Konzentration von 1 mg/ml in C57BL6 Mäusen: männlich, 8 Wochen, mit einem Gewicht von etwa 20 g, dorsale Hautlappen angehoben und injiziert in-situ, mit nur einer Behandlung; Vorteilhafte Effekte sind: die Anwendung von SCTCs-ABs, die in der vorliegenden Erfindung zur Förderung des Überlebens von extralangen Hautlappen vorgeschlagen werden, durch SCTCs-ABs haben einen offensichtlichen anti-ischämischen Nekrose-Effekt von Hautlappen, haben einen offensichtlichen Effekt auf die Verbesserung des Blutflusses von Hautlappen, haben einen besseren Effekt auf die Förderung der Kollagenreparatur während des Überlebens von Hautlappen und haben einen guten Effekt auf die Förderung der Mikroangiogenese von Hautlappen. Bild 1

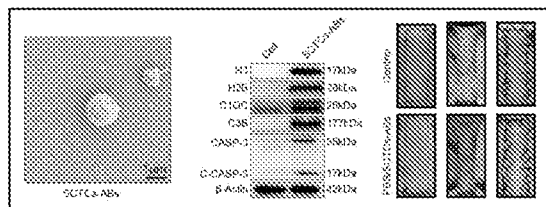


Bild 1

## Die Anwendung von SCTCs-ABs in der Förderung des Überlebens von ultra-langen zufälligen Hautlappen LU508779

### Technischer Bereich

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf das Gebiet der biomedizinischen Technologie, insbesondere auf die Anwendung von SCTCs-ABs in der Förderung des Überlebens von ultra-langen zufälligen Hautlappen.

### Technologie im Hintergrund

In den letzten Jahren ist der zufällige Lappen ein gängiger Wiederherstellungslappen, der zur Reparatur von Hautdefekten verwendet wird, die aus verschiedenen Gründen entstanden sind (z. B. Trauma, angeborene Erkrankungen, Krebsresektion, Diabetes mellitus). Wenn das Verhältnis von Länge zu Breite des Lappens jedoch 1,5:1 übersteigt, wird das distale Ende des Lappens schlecht durchblutet, was zu Nekrosen unterschiedlichen Ausmaßes führt, was die klinische Anwendung des Lappens stark einschränkt. Die Vorbeugung und Behandlung von ischämischen Nekrosen am distalen Ende des Randomisierungslappens ist der Schlüssel zu einer erfolgreichen Operation.

Die derzeitigen Behandlungsmethoden sind jedoch nicht ideal. Jüngste Studien haben gezeigt, dass apoptotische Körper (Apoptotic bodies, ABs), die in benachbarten Geweben produziert werden, von den umliegenden Zellen aufgenommen werden können und die Zellproliferation fördern. Dies deutet darauf hin, dass von Hautbindegewebszellen (Skin connective tissue cells, SCTCs) stammende ABs ein großes therapeutisches Potenzial haben könnten. Die Verabreichung von Staurosporin (Staurosporine, STS) löste Apoptose aus, um SCTCs-ABs zu produzieren, die nach differentieller Zentrifugation isoliert und gereinigt wurden. Es wurde auch festgestellt, dass SCTCs-ABs den Blutfluss verbesserten, die Kollagenreparatur und die Mikroangiogenese förderten. Darüber hinaus gibt es keine Berichte darüber, dass SCTCs-ABs das Überleben von zufälligen Hautlappen beeinflussen können.

Daher muss die Rolle von SCTCs-ABs bei der Förderung des Überlebens überlanger Lappen untersucht werden. Aus diesem Grund ist es notwendig, eine Studie über die Rolle von SCTCs-ABs bei der Förderung des Überlebens von ultra-langen zufälligen Hautlappen vorzuschlagen.

### Inhalt der Erfindung

Ziel der vorliegenden Erfindung ist es, die Anwendung von SCTCs-ABs zur Förderung des Überlebens von ultralangen Hautlappen bereitzustellen, um die oben genannten Probleme aus dem Stand der Technik zu lösen, mit dem Ziel, das Überleben von ultralangen Hautlappen zu fördern.

Um das oben genannte Ziel zu erreichen, bietet die vorliegende Erfindung die folgende technische Lösung: die Anwendung von SCTCs-ABs in der Förderung des Überlebens von ultra-langen zufälligen Hautlappen wird als einmalige Behandlung in einer Konzentration von 1 mg/ml in C57BL6-Mäusen verwendet: Männchen, 8 Wochen alt, mit einem Gewicht von etwa 20 g, dorsale Lappen angehoben und in situ nur einmal injiziert.

Vorzugsweise handelt es sich bei den SCTCs-ABs um epitheliale Bindegewebszellen von Mäusen, die in einem Medium mit hohem Glukosegehalt kultiviert werden. Nach 12 Stunden Stimulation durch Verabreichung von Astrocystin STS 0,5 µM werden die Zelltrümmer durch differenzielle Zentrifugation bei 300 g\*5 Minuten und der Überstand bei 2000 g\*30 Minuten entfernt, und das Präzipitat wird in PBS resuspendiert und so bald wie möglich bei 4 °C appliziert oder für eine Langzeitlagerung bei -80 °C aufbewahrt.

Vorzugsweise wird das Arzneimittel als eine Konzentration von SCTCs-ABs konfiguriert, die mit BCA-Haar gemessen und mit PBS auf eine Konzentration von 1 mg/ml verdünnt wird. LU508779

Vorzugsweise wird der Wirkstoff an durchschnittlich 8 Stellen in situ mit einer Mikroinjektionsnadel verabreicht, nachdem der dorsale Hautlappen bei Mäusen angehoben wurde.

Vorzugsweise wird die Rolle von SCTCs-ABs bei der Förderung der Lebensfähigkeit von ultralangen, willkürlichen Lappen zur Verbesserung des Blutflusses untersucht.

Vorzugsweise ist die Rolle von SCTCs-ABs bei der Förderung der Kollagenreparatur bei der Förderung der Lebensfähigkeit von ultralangen, unregelmäßigen Hautlappen eingeschlossen.

Vorzugsweise wird die Rolle von SCTCs-ABs bei der Förderung der Kollagenreparatur zur Förderung der Lebensfähigkeit von ultralangen zufälligen Lappen einbezogen.

Die vorteilhafte Wirkung der vorliegenden Erfindung im Vergleich zum Stand der Technik ist:

Die vorliegende Erfindung schlägt die Anwendung von SCTCs-ABs in der Förderung des Überlebens von ultra-langen zufälligen Hautlappen vor, durch die SCTCs-ABs einen offensichtlichen anti-ischämischen Nekrose-Effekt von zufälligen Hautlappen, einen offensichtlichen Effekt auf die Verbesserung des Blutflusses von zufälligen Hautlappen, einen besseren Effekt auf die Förderung der Kollagenreparatur während des Überlebens von zufälligen Hautlappen und einen guten Effekt auf die Förderung der Mikroangiogenese von zufälligen Hautlappen haben.

#### **Beschreibung der beigefügten Zeichnungen**

Bild 1 zeigt die Rasterelektronenmikroskopie und Marker-Identifikation von SCTCs-ABs der vorliegenden Erfindung;

Bild 2 zeigt den Vergleich der Lappenüberlebensfläche in der Kontrollgruppe, der PBS-Gruppe und der SCTCs-ABs-Behandlungsgruppe 7 Tage nach der Operation der vorliegenden Erfindung;

Bild 3 zeigt einen Vergleich des Blutperfusionsvolumens in der Kontrollgruppe, der PBS-Gruppe und der SCTCs-ABs-Behandlungsgruppe 7 Tage nach der Operation der vorliegenden Erfindung;

Bild 4 zeigt einen Vergleich der Förderung der Kollagenreparatur in der Kontrollgruppe, der PBS-Gruppe und der SCTCs-ABs-Behandlungsgruppe 7 Tage nach der Operation der vorliegenden Erfindung;

Bild 5 zeigt eine vergleichende Grafik der Förderung der mikrovaskulären Verbesserung in der Kontrollgruppe, der PBS-Gruppe und der SCTCs-ABs-Behandlungsgruppe 7 Tage nach der Operation der vorliegenden Erfindung.

#### **Detaillierte Beschreibung**

Um den Zweck der vorliegenden Erfindung, die technischen Lösungen für eine klare und vollständige Beschreibung, und die Vorteile klarer zu verstehen, sind die folgenden Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung im Detail in Verbindung mit den beigefügten Zeichnungen beschrieben. Es sollte verstanden werden, dass die spezifischen Ausführungsformen hierin beschrieben sind Teil der Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung, nicht alle der Ausführungsformen, nur für die Erklärung der Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung, und wird nicht verwendet, um die Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung zu begrenzen, alle anderen Ausführungsformen durch den normalen

Fachmann auf dem Gebiet erhalten, ohne dass kreative Arbeit unter der Prämisse des Schutzes des Anwendungsbereichs der vorliegenden Erfindung. LU508779

### Ausführungsform 1

Die vorliegende Erfindung bietet eine technische Lösung: die Anwendung von SCTCs-ABs in der Förderung des Überlebens von ultra-langen zufälligen Hautlappen unter Verwendung einer Konzentration von 1 mg/ml bei C57BL6-Mäusen: männlich, 8 Wochen, mit einem Gewicht von etwa 20 g, dorsale Lappen angehoben und in situ für nur eine Behandlung injiziert. SCTCs-ABs waren epitheliale Bindegewebszellen von Mäusen, die in einem Medium mit hohem Glukosegehalt kultiviert und durch die Verabreichung von Astrocystin STS 0,5 µM für 12 Stunden stimuliert wurden. Zelluläre Rückstände wurden durch differentielle Zentrifugation bei 300g\*5min entfernt, und der Überstand wurde bei 2000g\*30min abgetrennt, das Präzipitat wurde in PBS resuspendiert und so bald wie möglich bei 4°C appliziert oder für längere Zeit bei -80°C gelagert.

Das Medikament wurde als Konzentration von SCTCs-ABs konfiguriert, die mit BCA-Haar gemessen und mit PBS auf eine Konzentration von 1mg/ml verdünnt wurde. Die Verabreichungsmethode bestand darin, durchschnittlich 8 Stellen in situ mit einer Mikroinjektionsnadel zu injizieren, nachdem der Dorsallappen der Mäuse angehoben wurde.

### Ausführungsform 2

Ausgehend von Ausführungsform 1 wird Folgendes vorgeschlagen:

Die Stimulation der SCTCs induzierte die Produktion von ABs, die durch differentielle Zentrifugation isoliert und gereinigt wurden.

Die subkutane Bindegewebszelllinie L-wnt3A wurde ausgewählt, in DMEM-Medium mit hohem Glukosegehalt (10 % fötales Rinderserum) kultiviert und 12 Stunden lang mit 0,5 µM Stellatospondin (STS) stimuliert. Die verbleibenden Zelltrümmer wurden durch differenzielle Zentrifugation bei 300 g \* 5 Minuten entfernt, und der Überstand wurde bei 2000 g \* 30 Minuten abgetrennt; das Präzipitat wurde in PBS resuspendiert und entweder so schnell wie möglich bei 4 °C appliziert oder bei -80 °C für längere Zeit gelagert .

Rasterelektronenmikroskopie: Zentrifugation zum Sammeln der SCTCs-ABs nach Verwerfen des Mediums und vorsichtigem Spülen mit PBS, Verwerfen von PBS plus Elektronenmikroskop-Fixiermittel und Aufblasen der in dem Fixiermittel suspendierten Zellen, die bei Raumtemperatur 2 Stunden lang fixiert wurden. Die fixierten Proben wurden dreimal mit 0,1 M Phosphatpuffer PBS (PH7,4) für jeweils 15 Minuten gespült. 0,1 M Phosphatpuffer PBS (PH7,4) mit 1 % Osmiumsäure wurde bei Raumtemperatur fixiert und für 1 bis 2 Stunden vor Licht geschützt. 0,1 M Phosphatpuffer PBS (PH7,4) wurde dreimal für jeweils 15 Minuten gespült. Die Gewebe wurden nacheinander für jeweils 15 Minuten in 30%-50%-70%-80%-90%-95%-100%-100% Alkohol und für 15 Minuten in Isoamylacetat dehydriert. Danach wurden die Proben zum Trocknen in einen Kritisch-Punkt-Trockner gegeben. Dann wurden die Proben auf das doppelseitige Klebeband aus leitfähigem Kohlenstofffilm geklebt und für ca. 30 Sekunden in die Probenbühne des Ionen-Sputtergeräts zum Goldsprühen gelegt. Schließlich wurde die Probe unter dem Rasterelektronenmikroskop betrachtet. (Siehe Bild 1)

Western Blotting zum Nachweis von Oberflächenmarkern: extrahierte SCTCs-ABs und SCTCs wurden mit 50ul RIPA-Zelllysat + 1ul PMSF pro 100ug versetzt, 30 Minuten lang auf Eis lysiert und anschließend fünfmal 5s\*3Mal mit 5s Intervall mit Ultraschall lysiert. Zentrifugieren bei 12000 U/min für 30 Minuten, um das Präzipitat zu entfernen, und der

Überstand wurde in einer Standardmenge von 20µg Protein pro 20µl Volumen nach BCA für die Proteinkonzentration verteilt. Die Proteine wurden durch Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (SDS-PAGE) aufgetrennt und durch Elektrotransfer auf eine Polyvinylidendifluorid-Membran (PVDF) übertragen. Die Membranen wurden mit 5% Magermilch verschlossen und über Nacht bei 4°C mit den folgenden Antikörpern nachgewiesen: H3 (1:1000), H2B (1:1000), C1QC (1:1000), C3B (1:1000), Capase-3 (CASP-3, 1:1000), β-Actin (1:1000). Nach 2 Stunden Inkubation mit sekundären Antikörpern wurden die Banden mit dem ECL-Plus-Kit sichtbar gemacht. Die Intensität der einzelnen Banden wurde mit der Software Image Lab 3.0 (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) gemessen. (siehe Bild 1)

Herstellung eines ultralangen Hautlappenmodells nach dem Zufallsprinzip: 90 gesunde männliche C57BL/6-Mäuse mit einem Gewicht von 20-30 g wurden vom Experimental Animal Centre of Wenzhou Medical University, SCXK[ZJ]2005-0019, zur Verfügung gestellt. Die Mäuse wurden gemäß der Zufallszahlentabelle in drei Gruppen aufgeteilt: Kontrollgruppe, 30 Mäuse in der PBS-Kontrollgruppe und 30 Mäuse in der SCTCs-ABs-Behandlungsgruppe. Die Mäuse wurden durch intraperitoneale Injektion von 1 % Natrium-Pentobarbital betäubt, in Bauchlage fixiert, enthaart, mit Jodophor desinfiziert und abgetrocknet, und in der Mitte des Rückens wurde ein rechteckiger kaudolateraler Random-Typ-Lappen mit einer Breite von 1,5 cm und einer Länge von 4,5 cm angelegt, wobei die Verbindungslinie zwischen den beiden Beckenkämmen des Schwanzes der Mäuse als Schienbein verwendet wurde. Die Haut und das subkutane Gewebe wurden entlang der Designlinie eingeschnitten, um die oberflächliche Schicht der tiefen Faszie zu erreichen, das subkutane Kapillarnetz blieb erhalten, und das subkutane Gewebe wurde von der oberflächlichen Oberfläche der tiefen Faszie getrennt, wobei bekannte Blutgefäße angetroffen wurden, die mit 4-0 Seidenfäden ligiert wurden. Nachdem der Hautlappen vollständig angehoben war, wurde die Blutung vollständig gestillt, und der Hautlappen wurde sofort mit unterbrochenen 4-0 medizinischen Mousse-Nähten verschlossen. Jeder Lappen wurde in drei gleich große Zonen eingeteilt: Zone I (der kaudale Teil, der dem lockeren Lappen am nächsten liegt), Zone II und Zone III (der am weitesten distal gelegene Teil), und der Peri-Inzisionsbereich wurde mit Jod-Povidon sterilisiert (siehe Bild 1). SCTCs-ABs-Behandlungsgruppe: 1 mg/ml SCTCs-ABs wurde mit einer Mikroinjektionsnadel in situ injiziert und gleichmäßig über den Lappen verteilt; PBS-Gruppe: die gleiche Dosis wurde in situ injiziert; Kontrollgruppe: es wurde nur die Modellierung ohne jegliche Behandlung durchgeführt. Die Injektion erfolgte nur einmal intraoperativ. Um die durch den chirurgischen Eingriff verursachten Fehler zu verringern, wurden alle Eingriffe von einer Person durchgeführt. (siehe Bild 1).

### Ausführungsform 3

Auf der Grundlage von Ausführungsform 2 wird Folgendes vorgestellt: Ermittlung des Lappenüberlebensflächenverhältnisses.

Am 7. postoperativen Tag wurde die Ebenheit des Lappens anhand hochwertiger Fotografien bewertet. Überlebende und ischämische Bereiche wurden mit der Imag-Pro Plus Bildgebungssoftware identifiziert. Der Prozentsatz der überlebenden Fläche wurde berechnet als  $[(\text{überlebende Fläche})/(\text{gesamte überlebende ischämische Fläche})] \times 100 \%$ . Die Überlebensrate der SCTCs-ABs-Behandlungsgruppe war deutlich besser als die der PBS-Gruppe. Die mittlere Überlebensfläche der SCTCs-ABs-Behandlungsgruppe, der PBS-Gruppe und der Kontrollgruppe betrug  $(83,98 \pm 4,91)\%$ ,  $(56,08 \pm 5,84)\%$  bzw.

(59,53±6,25)%. Vergleicht man das Verhältnis der Lappenüberlebensfläche zwischen der mit SCTCs-ABs behandelten Gruppe und der PBS-Gruppe, so war der Unterschied statistisch signifikant ( $p < 0,05$ ). Vergleicht man das Verhältnis der Lappenüberlebensfläche zwischen der Kontroll- und der PBS-Gruppe, so war der Unterschied statistisch nicht signifikant ( $p > 0,05$ ). (Siehe Bild 2).

#### Ausführungsform 4

Auf der Grundlage von Ausführungsform 3 wird Folgendes vorgeschlagen: Die Laser-Doppler-Durchflussmessung wird zur Messung der Neovaskularisierung verwendet.

Zur Messung des Blutflusses wurden sieben Tage postoperativ sechs Mäuse pro Gruppe betäubt und mit einem Laser-Doppler-Gerät gescannt. Der Blutfluss wurde mit einem Perfusionsgerät quantifiziert und mit der Moor LDI Review Software berechnet. Der Blutfluss verbesserte sich in der SCTCs-ABs-Behandlungsgruppe, und die quantitativen Blutflussmessungen waren im Vergleich zur PBS-Gruppe deutlich verbessert. Die Durchblutung in der SCTCs-ABs-Behandlungsgruppe, der PBS-Gruppe und der Kontrollgruppe betrug jeweils (377,40±40,92) PU, (361,40±14,46) PU und (257,60±21,80) PU. Beim Vergleich zwischen der SCTCs-ABs-Behandlungsgruppe und der PBS-Gruppe war der Unterschied statistisch signifikant ( $p < 0,05$ ). Beim Vergleich der Kontroll- und der PBS-Gruppe war der Unterschied nicht statistisch signifikant ( $p > 0,05$ ). (Siehe Bild 3).

#### Ausführungsform 5

Auf der Grundlage von Ausführungsform 4 wird vorgeschlagen, dass: das Lappenkollagen durch Masson-Färbung (Masson) beobachtet wurde.

Sieben Tage nach der Operation, nachdem die Tiere eingeschläfert worden waren, wurden in jeder Gruppe sechs 1 cm x 1 cm große Gewebeproben aus dem Bereich II (mittlere Position) des Hautlappens entnommen.

Die Gewebe wurden zur Fixierung in 4 %iges Paraformaldehyd getaucht, dehydriert und in Paraffin eingebettet. Anschließend wurden die Proben quer geschnitten, um 4-µm-Schnitte zu erstellen, und die auf Poly-L-Lysin-beschichtete Schnitte montierten Schnitte wurden einer Matson-Färbung unterzogen. Unter einem 200-fachen Lichtmikroskop wurden sechs Bereiche jedes Schnittsatzes ausgewählt, und Image J berechnete den prozentualen Anteil des Kollagens in der gesamten Hautschicht, um die Menge des in der Haut enthaltenen Kollagens zu quantifizieren. Die Kollagendichte in der SCTCs-ABs-Behandlungsgruppe war signifikant höher als die in der PBS-Gruppe: Der Kollagenanteil in der SCTCs-ABs-Behandlungsgruppe, der PBS-Gruppe und der Kontrollgruppe betrug (35,10±4,36) Prozent, (16,27±3,80) Prozent bzw. (16,20±3,39) Prozent. Der Unterschied war statistisch signifikant ( $p < 0,05$ ), wenn die mit SCTCs-ABs behandelte Gruppe mit der PBS-Gruppe verglichen wurde, und nicht statistisch signifikant ( $p > 0,05$ ), wenn die Kontrollgruppe mit der PBS-Gruppe verglichen wurde. (Siehe Bild 4).

#### Ausführungsform 6

Auf der Grundlage von Ausführungsform 5 wird Folgendes vorgeschlagen: Immunfluoreszenzbeobachtung.

Die Neovaskularisierung ist eine Schlüsseldeterminante für das Überleben des Lappens, und durch den Nachweis der Verteilung von CD31/EMCN innerhalb des Lappens haben wir untersucht, ob die überlebensfördernde Wirkung der SCTCs-ABs auf den Lappen mit der endogenen Neovaskularisierung in Zusammenhang steht. Die oben genannten Paraffinschnitte wurden mit Xylol entparaffiniert und einem abgestuften Ethanolbad unterzogen. Die Schnitte

wurden 20 Minuten lang bei 95 °C in Natriumcitratpuffer zur Antigenreparatur eingelegt und 10 Minuten lang mit 10 % (w/v) Rinderserumalbumin-Phosphatpuffer verschlossen. Anschließend wurden die Schnitte bei 4 °C mit Antikörpern inkubiert. Die primären Antikörper wurden 2 Stunden bei Raumtemperatur für die Primärfärbung inkubiert und dann mit dem sekundären Anti-Kaninchen-Antikörper DAPI 1 Stunde lang bei 37 °C inkubiert. Die Zellen in den Präparaten wurden mit einem Fluoreszenzmikroskop und einem DP2-TWAN-Bildaufnahmesystem (Olympus Corporation, Tokio, Japan) beobachtet. Sechs homogen gefärbte Bereiche aus drei Gruppen von Schnitten wurden nach dem Zufallsprinzip ausgewählt, und die Lappengewebe wurden mit dem DP2TWAN-Bildaufnahmesystem bei 100facher Vergrößerung abgebildet, und die CD31/EMCN-positive Gefäßexpression wurde mit ImageProPlus bewertet. Die Anzahl der CD31/EMCN-positiven Mikrogefäße betrug  $(85,89 \pm 4,83)/\text{mm}^2$ ,  $(51,19 \pm 3,31)/\text{mm}^2$  und  $(52,21 \pm 5,44)/\text{mm}^2$  in der SCTCs-ABs-Behandlungsgruppe, der PBS-Gruppe bzw. der Kontrollgruppe. Der Unterschied war statistisch signifikant ( $p < 0,05$ ), wenn die SCTCs-ABs-Behandlungsgruppe mit der PBS-Gruppe verglichen wurde, und nicht statistisch signifikant ( $p > 0,05$ ), wenn die Kontrollgruppe mit der PBS-Gruppe verglichen wurde. (Siehe Bild 4) (Siehe Bild 5).

Obwohl Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung gezeigt und beschrieben worden sind, wird der Fachmann erkennen, dass eine Vielzahl von Änderungen, Modifikationen, Substitutionen und Variationen an diesen Ausführungsformen vorgenommen werden können, ohne von dem Prinzip und dem Geist der vorliegenden Erfindung abzuweichen, deren Umfang durch die beigefügten Ansprüche und deren Äquivalente begrenzt ist.

## Ansprüche

LU508779

1. Die Anwendung von SCTCs-ABs in der Förderung des Überlebens von ultra-langen zufälligen Hautlappen, dadurch gekennzeichnet, dass die Methode der Anwendung eine  
5 Konzentration von 1 mg/ml in C57BL6-Mäusen ist: männlich, 8 Wochen, mit einem Gewicht von etwa 20 g, dorsaler Hautlappen angehoben und in situ injiziert, nur eine Behandlung.

2. Die Anwendung von SCTCs-ABs in der Förderung des Überlebens von ultra-langen zufälligen Hautlappen gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass: SCTCs-ABs  
10 epitheliale Bindegewebszellen von Mäusen sind, die in einem Medium mit hohem Glukosegehalt kultiviert und 12 Stunden lang mit Astrocystin STS 0,5  $\mu$ M stimuliert wurden, wobei eine Differenzialzentrifugation mit 300 g\*5 min zur Entfernung von Zelltrümmerresten und 2000 g\*30 min zur Entfernung des Überstands durchgeführt wurde, und das Präzipitat mit PBS resuspendiert und so bald wie möglich bei 4 °C appliziert oder für eine lange Zeit bei  
-80°C gelagert wurde.

3. Die Anwendung von SCTCs-ABs in der Förderung des Überlebens von ultra-langen zufälligen Hautlappen nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass: das Medikament als die  
15 Konzentration von SCTCs-ABs konfiguriert ist, die durch BCA-Haar gemessen wird, und mit PBS auf die Konzentration von 1mg/ml verdünnt wird.

4. Die Anwendung von SCTCs-ABs in der Förderung des Überlebens von ultra-langen  
20 zufälligen Hautlappen nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass: das Verfahren zur Verabreichung des Arzneimittels darin besteht, eine Mikroinjektionsnadel zu verwenden, um durchschnittlich 8 Stellen in situ zu injizieren, nachdem die dorsalen Hautlappen von Mäusen angehoben wurden.

5. Die Anwendung von SCTCs-ABs in der Förderung des Überlebens von ultra-langen  
25 zufälligen Hautlappen nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass: die Wirkung von SCTCs-ABs auf die Verbesserung des Blutflusses bei der Förderung des Überlebens von ultralangen Hautlappen umfasst.

6. Die Anwendung von SCTCs-ABs in der Förderung des Überlebens von ultra-langen  
30 zufälligen Hautlappen nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass sie die Rolle der SCTCs-ABs bei der Förderung des Überlebens eines extralangen zufälligen Lappens bei der Förderung der Kollagenreparatur umfasst.

7. Die Anwendung von SCTCs-ABs in der Förderung des Überlebens von ultra-langen  
35 zufälligen Hautlappen nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass sie die Rolle von SCTCs-ABs bei der Förderung des Überlebens von ultralangen zufälligen Lappen bei der Förderung der Kollagenreparatur umfasst.



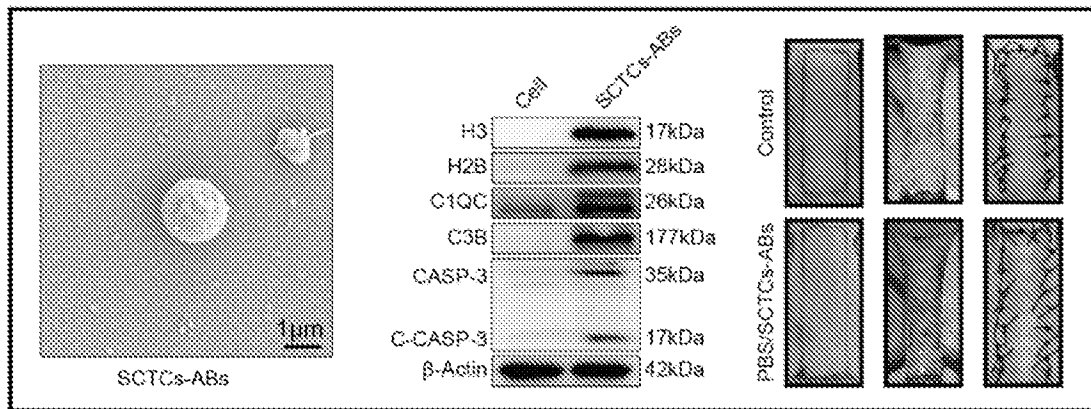


Bild 1

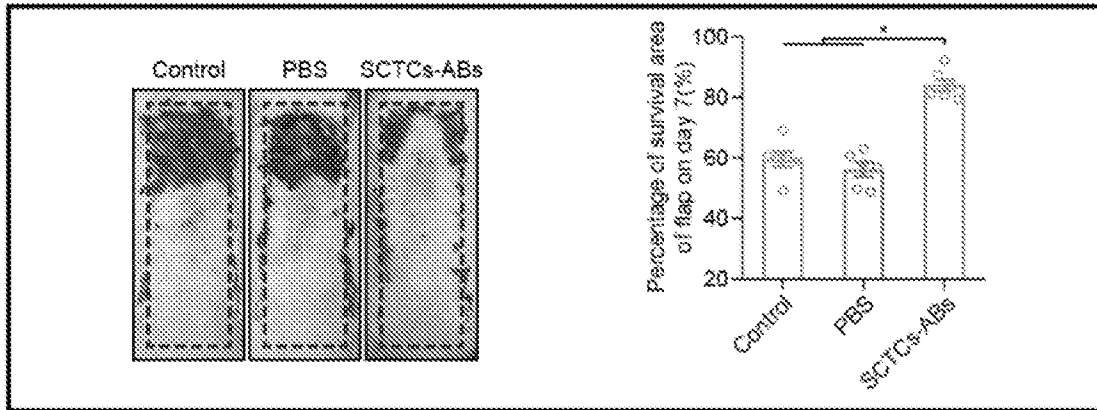


Bild 2

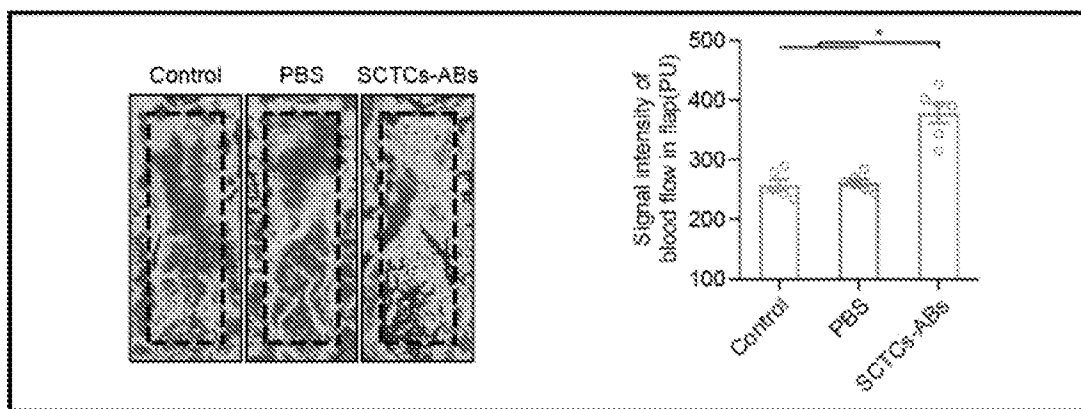


Bild 3

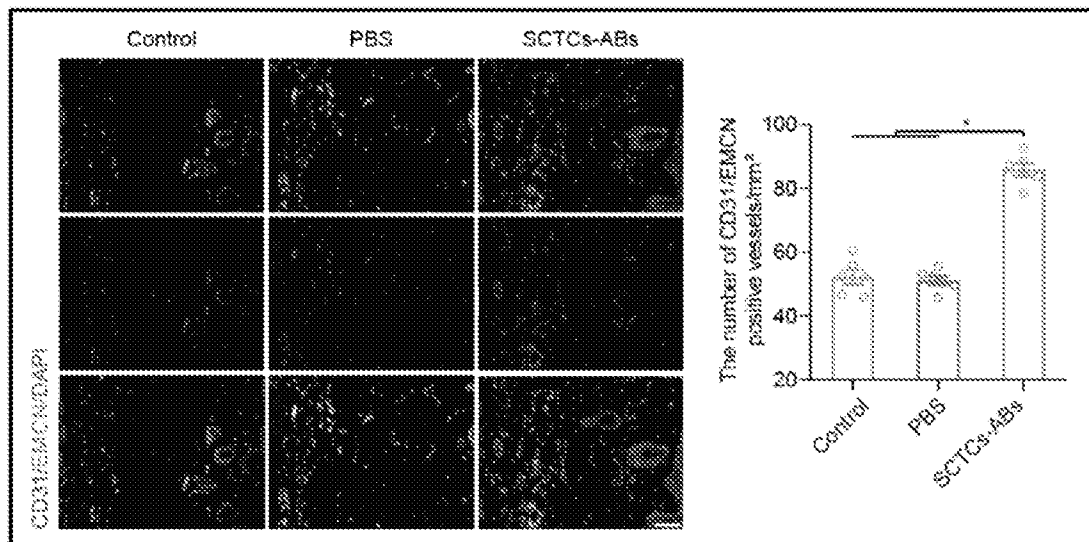


Bild 4

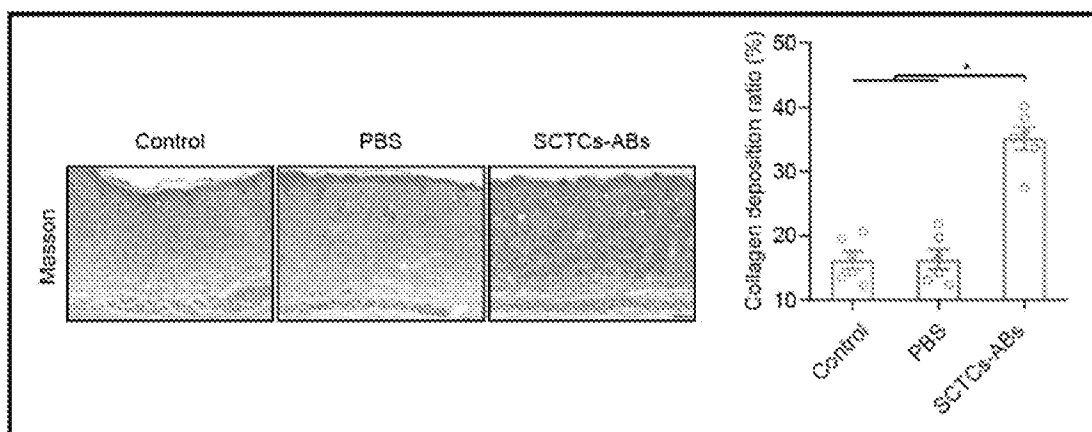


Bild 5