



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103025865 A

(43) 申请公布日 2013. 04. 03

(21) 申请号 201180033510. 3 (51) Int. Cl.
(22) 申请日 2011. 05. 05 *C12N 5/071* (2006. 01)
(30) 优先权数据 *A01N 63/00* (2006. 01)
61/331, 842 2010. 05. 06 US
61/429, 773 2011. 01. 05 US
(85) PCT申请进入国家阶段日
2013. 01. 06
(86) PCT申请的申请数据
PCT/IL2011/000362 2011. 05. 05
(87) PCT申请的公布数据
W02011/138786 EN 2011. 11. 10
(71) 申请人 干细胞医药有限公司
地址 以色列耐斯茨奥纳
(72) 发明人 埃胡德·马罗姆
(74) 专利代理机构 北京康信知识产权代理有限
责任公司 11240
代理人 李丙林 张英

权利要求书 3 页 说明书 19 页

(54) 发明名称

用于个性化医疗的干细胞库

(57) 摘要

本发明公开了干细胞库,所述干细胞库存储贯穿个体整个生命从它们体内收集的干细胞。所述干细胞库存储多种类型的干细胞,所述多种类型的干细胞是从单个个体的多个来源获得的。本发明还提供了利用库中存储的细胞和干细胞组合物用于治疗多种类型的疾病的个性化医疗的方法。

1. 一种干细胞库,包括来自多个个体的干细胞,其中所述干细胞来源于在每个个体的生命过程中周期性地从所述个体体内收集的多个提供物。

2. 根据权利要求 1 所述的干细胞库,其中在个体的生命过程中周期性地从所述个体体内收集多个提供物,分选并且存储,用于未来应用。

3. 根据权利要求 1 所述的干细胞库,其中所述多个提供物包括在出生时的第一提供物和当个体长大和成熟时的随后提供物。

4. 根据权利要求 1 所述的干细胞库,其中从年龄 20 至 50 之间的个体体内收集所述提供物。

5. 根据权利要求 1 所述的干细胞库,其中从不同来源获得从所述每个个体体内收集的多个提供物。

6. 根据权利要求 5 所述的干细胞库,其中所述干细胞的来源包括选自由以下组成的组中的至少一个来源:脐带血、脐带基质、胎盘血、骨髓、脂肪、外周血、血液黄层、羊水、皮肤、肾、肝脏、肌肉、神经组织、牙髓、黏膜、包皮、心肌组织、骨、软骨、毛根和乳腺。

7. 根据权利要求 1 所述的干细胞库,其中从所述每个个体体内收集的多个提供物包括不同类型的干细胞。

8. 根据权利要求 1 所述的干细胞库,其中存储的干细胞包括选自由以下组成的组中的至少一种类型:造血细胞、谱系限制性造血细胞、间质干细胞、基质细胞、成纤维细胞、内皮祖细胞、神经干细胞、脂肪来源的干细胞、来源于黏膜的干细胞、胎盘来源的干细胞、羊膜干细胞、脐带血来源的干细胞、脐带基质来源的干细胞、来源于包皮的干细胞、心肌干细胞和乳腺干细胞。

9. 根据权利要求 1 所述的干细胞库,其中从所述每个个体体内收集的多个提供物包括分化的体细胞。

10. 根据权利要求 1 所述的干细胞库,其中存储的细胞包括诱导型多能性干细胞。

11. 根据权利要求 1 所述的干细胞库,其中在所述库中存储的干细胞的分化潜能选自由多能性、专能性、寡能性和单能性组成的组中。

12. 根据权利要求 1 所述的干细胞库,其中记录关于每个提供物的信息。

13. 根据权利要求 12 所述的干细胞库,其中所述记录的信息包括选自由以下组成的组中的至少一些数据:细胞类型、它们的组织来源、它们的收集日期、提供者的身份以及由表征测定获得的结果。

14. 根据权利要求 13 所述的干细胞库,其中所述表征测定包括选自由以下组成的组中的至少一种测定:HLA 分型、确定特异性标志物的存在、确定特定的 SNP 等位基因以及进行有核细胞计数。

15. 根据权利要求 2 所述的干细胞库,其中按照至少一个标准将收集的细胞分选。

16. 根据权利要求 15 所述的干细胞库,其中用于分选细胞的标准包括选自以下的至少一个参数:它们的类型、它们的组织来源、它们的收集日期以及提供者身份。

17. 根据权利要求 1 所述的干细胞库,其中所述干细胞存储在适当条件下以便保持所述干细胞有活力和功能性。

18. 根据权利要求 17 所述的干细胞库,其中所述干细胞存储在低温贮藏条件下。

19. 根据权利要求 1 所述的干细胞库,其中在所述库中存储的干细胞用于同源性应用。

20. 根据权利要求 19 所述的干细胞库,其中可用于分配给个体的干细胞的量取决于由所述个体得到的提供物的量。

21. 根据权利要求 1 所述的干细胞库,其中在所述库中存储的干细胞用于异源性应用。

22. 根据权利要求 21 所述的干细胞库,其中所述库中存储的干细胞用于药物发现和开发。

23. 根据权利要求 1 所述的干细胞库,其中在所述库中存储的干细胞安排在干细胞单元中。

24. 根据权利要求 1 所述的干细胞库,其中在它们收集之后,使干细胞经受经一步的处理。

25. 根据权利要求 24 所述的干细胞库,其中对所述收集的干细胞进行处理以达到治疗水平。

26. 一种干细胞建库的方法,所述方法包括在个体的生命过程中周期性地从所述个体体内收集多个提供物。

27. 根据权利要求 26 所述的方法,其中从个体体内收集多个提供物包括从超过一个来源收集干细胞。

28. 根据权利要求 26 所述的方法,其中从个体体内收集多个提供物包括收集超过一种类型的干细胞。

29. 根据权利要求 26 所述的方法,其中从个体体内收集多个提供物包括收集分化的体细胞。

30. 一种个性化医疗的方法,所述方法包括提供在权利要求 1 的干细胞库中存储的干细胞,其中所述干细胞来源于单个个体;以及将所述干细胞给予所述个体。

31. 一种包括用于干细胞治疗的不同类型干细胞混合物的组合物,其中所述干细胞来源于单个个体。

32. 根据权利要求 31 所述的组合物,其中由在所述单个个体的生命过程中周期性地收集的多个提供物获得所述干细胞。

33. 根据权利要求 31 所述的组合物,其中所述组合物进一步包括胚胎干细胞。

34. 根据权利要求 31 所述的组合物,其中所述组合物包括超过一种类型的成体干细胞。

35. 根据权利要求 34 所述的组合物,其中所述组合物包括以不同比率混合的超过一种类型的成体干细胞。

36. 根据权利要求 34 所述的组合物,其中所述组合物中的成体干细胞的类型包括选自由以下组成的组中的至少一种类型:造血细胞、谱系限制性造血细胞、间质干细胞、基质细胞、成纤维细胞、内皮祖细胞、神经干细胞、脂肪来源的干细胞、来源于黏膜的干细胞、胎盘来源的干细胞、羊膜干细胞、脐带血来源的干细胞、脐带基质来源的干细胞、来源于包皮的干细胞、心肌干细胞和乳腺干细胞。

37. 根据权利要求 31 所述的组合物,其中所述组合物包括诱导型多能性干细胞。

38. 根据权利要求 37 所述的组合物,其中所述组合物包括以不同比率混合的超过一种类型的诱导型多能性干细胞。

39. 根据权利要求 31 所述的组合物,其中在所述组合物中存在的干细胞的分化潜能选

自由多能性、专能性、寡能性和单能性组成的组中。

40. 根据权利要求 31 所述的组合物,其中所述干细胞具有同源性来源。

41. 根据权利要求 31 所述的组合物,其中所述干细胞具有异源性来源。

42. 包括不同类型干细胞的混合物的组合物在干细胞治疗中的应用,其中所述干细胞来源于单个个体。

43. 包括不同类型干细胞的混合物的组合物在个性化医疗中的应用,其中所述干细胞来源于单个个体。

用于个性化医疗的干细胞库

技术领域

[0001] 本发明涉及用于在个人的生命过程中从所述个人积聚不同类型干细胞的干细胞库。干细胞库能够利用具有不同类型细胞的干细胞组合来治疗疾病或失调。不同比率的干细胞组合可用于具体疾病和组织再生。

背景技术

[0002] 干细胞是在所有多细胞生物体内发现的细胞。它们的特征在于通过有丝细胞分裂以及分化成多种多样的特异性细胞类型能够自我更新。由于这些独特的性能,干细胞被认为在细胞治疗领域特别引人关注,特别地当需要替代缺失的或损伤的细胞时。

[0003] 在哺乳动物中,识别了两种主要类型的干细胞:胚胎干细胞和成体干细胞。

[0004] 胚胎干细胞(ESC)来源于发生于胚胎发育早期阶段产生的胚泡。当给予具体细胞类型足够的和必要的刺激时,ESC可发育成成人身体的超过200种细胞类型的每一种。在培养中可将ESC可培养成较大数量,但是难以控制它们的发育,且伴随伦理问题。

[0005] 在成人身体的多种组织中发现了成体干细胞(ASC)。身体中每种组织和器官发源于可分化成组成组织的多种细胞类型的少数ASC。活生物体中成体干细胞的主要作用是维持和修复从中发现它们的组织。因为贯穿个体的整个生命过程连续生产干细胞(即使随着年龄的增长出现生产显著减少),有可能从婴儿、儿童、或成人体内获得ASC。在成体干细胞的种类中,已知很多类型的细胞和它们通常通过它们的组织起源来提及。例如,形成大多数(如果不是所有的)血细胞的基础,以及重建免疫系统的造血干细胞(HSC)。HSC位于骨髓、循环系统和其他器官中。另外的实例是间质干细胞(MSC),其可分化成骨、软骨、脂肪、腱、肌肉、结缔组织和骨髓基质。在适当的条件下,它们可产生另外的组织如血管、肝脏和神经细胞、以及胰岛素分泌朗格汉斯细胞(insulin secreting Langerhans cell)。其他实例包含脂肪来源的干细胞和内皮干细胞。实际上,在生长、损伤和疾病期间,身体中每种组织和器官都可能含有参与内在的再生和修复的干细胞。

[0006] 多年以来,成体干细胞治疗已经通过骨髓移植,成功地用于治疗白血病和相关的骨/血液癌症、贫血和免疫系统功能障碍。成体干细胞也用于兽医医疗中,用于治疗马的腱和韧带损伤。很多另外的疾病病征,如缺血性心脏病、神经损伤、神经退行性疾病和糖尿病目前正在临床前研究阶段的调查中。

[0007] 另一个种类的干细胞是诱导型多能性干细胞(IPSC),它们是人工地源于非多能性细胞的多能性干细胞。通常,利用遗传学或表观遗传学操作,从成人体细胞得到IPSC。在很多方面,这类细胞被认为与天然多能性干细胞(如胚胎干细胞)相同,例如,在某些干细胞基因和蛋白质的表达、染色质甲基化模式、倍增时间、胚状体形成、畸胎瘤形成、有活力的嵌合体形成、和潜能和可分化性方面。然而,它们与天然多能性干细胞关系的全部情况尚有待评估。已经对再生医疗的诱导型多能性干细胞产生了兴趣,因为它们可以在体外生产具有细胞治疗潜在价值的病人特异性祖细胞。

[0008] 干细胞移植可以是同源的或异源的。同源的干细胞移植是病人接受来自其自身的

干细胞的移植。这种干细胞治疗过程的一个优点是身体识别这些细胞,因此不排斥或攻击它们(出现称为移植物抗宿主病(GVHD))。异源的干细胞移植是病人接受来自供体的干细胞的过程。异源性干细胞移植使用的供体可以是病人的同卵双生体、兄弟、家庭成员或无关的供体。在某些情形中优选异源移植,如在白血病的治疗中。

[0009] 即使成体干细胞拥有作为治疗试剂的巨大潜力,它们的应用仍然存在某些限制。基本的限制之一是在成人中很少能够得到它们。尽管在它们的获得方面已有进步,获得足够量和群体的能够分化成多种不同的期望细胞类型的人类干细胞仍然存在挑战。另外,干细胞治疗的几个临床试验已经显示了统计显著的但是适当的结果,因而对于优化这些操作产生了需求。

[0010] 干细胞的获得和应用方面的进步导致了需要存储库,也称为干细胞库,用于存储这类细胞。通常可将已知的成体干细胞库分为两类:私人库和公共库。私人库收集和存储同源的成体干细胞并且如果需要的话,将一个单元的提供的干细胞提供返回给所述提供者。公共库基于供体与需要它的受体之间的遗传匹配,将分型的、匿名的移植单元提供给普通公众。当前的库主要地专门从成人的外周血以及从健康的新生婴儿的脐带血收集细胞。目前,商业干细胞库仅仅提供有限类型的干细胞以及有限量的提供物。

[0011] 美国专利号 5,993,387 公开了用于发育和维持胎盘和脐带干细胞的混合使用的库,以及最终库的基于计算机的混合使用脐带干细胞登记系统、方法和设备。将脐带干细胞、或其一部分存储在库中,用于供体和潜在地供体儿童的实际家庭,或由与所述脐带干细胞匹配的无关人员的潜在使用。

[0012] 美国专利申请公开号 2004/0091936 公开了用于生产干细胞库的方法(优选人类),所述干细胞库可选地可以是转基因的,例如,由纯合的 MHC 等位基因细胞系组成。优选地,由单性生殖、IVF、或相同种类或交叉种类的核转移胚胎或通过经由细胞质转移的体细胞的去分化来产生这些细胞。还公开了利用这些干细胞库用于生产用于治疗(特别是急性治疗)的干细胞和分化的细胞的方法,以及筛选用于疾病治疗的药物的方法。

[0013] 美国专利申请公开号 2005/0276792 公开了能够使干细胞库为病人提供干细胞的单独移植单元的系统和方法。有利地,这样的干细胞移植单元可来自于单个供体。

[0014] W02007/024441 公开了用于制备和使用从特定组织回收和富集的成体干细胞/祖细胞群体的混合物的组合物和方法(使用非常有限的努力进行它们的纯化)。在它们的更纯的对应物细胞群体上,在某些疾病的治疗和组织再生治疗方面,细胞群体的这类混合物具有改进的治疗功效。可将细胞群体的这类混合物冷藏,用于未来的临床应用。

[0015] 美国专利申请公开号 2008/0102521 公开了用于生产干细胞库以及提供用于购买或使用的干细胞样品的方法。还提供了与干细胞库和干细胞库系统相关的实施方式。

[0016] W02009/152485 公开了与进行干细胞技术商业有关的方法,如基于诱导型多能性干细胞(iPSC)和从 iPSC 分化的细胞的再生医疗商业。本公开还提供了 iPSC 来源的细胞的数据库和利用所述数据库用于跟踪客户和样品的方法,以及用于交易和运转所述商业的方法。

[0017] W02010/033969 公开了在细胞中诱导多能性的方法,识别多能性细胞的方法和培养多能性细胞的方法。本发明进一步包含制备多能性、同源性、病人特异性、来源于羊水细胞的细胞库的方法。

[0018] WO2010/148334 公开了用于产生和使用遗传正确的诱导型多能性干细胞的方法和组合物。公开的是,使用某些方法和组合物,在非常有效的和快速的过程中,通过用 OCT4、SOX2、KLF4、和 c-MYC 进行逆转录病毒转导,可将脐带血(CB)干细胞重新编码成多能性细胞。还公开了,可将所述方法和组合物设置为针对现有应用(off-the-shelf application)产生 HLA- 匹配的 CBiPS 细胞的综合库的基础。

[0019] 对于增加不同类型的干细胞的可用性,和干细胞治疗的功效,还存在未满足的需要。具有可以保证从不同来源可得到用于治疗和研究应用的足够量的干细胞的系统将是非常有益的,它们可未许多类型的疾病提供潜在的治疗,以及当人员需要细胞治疗时,提供优化的治疗。

发明内容

[0020] 本发明提供干细胞库,所述干细胞库存储贯穿个体的整个生命过程中从他们体内收集的干细胞。本发明的干细胞库存储多种类型的干细胞,所述多种类型的干细胞是从单个个体的多个来源获得的。因而,本发明的干细胞库提供可用的干细胞的较大的集合,这些干细胞可用于多种治疗以及研究应用中。例如,存储的干细胞可用作用于未来的细胞来源(当健康原因需要干细胞技术治疗个体身体的某些细胞群体时)。例如,存储的干细胞可用作用于治愈供体的未来疾病的同源应用的细胞来源。在由供体授权时,存储的干细胞也可用作其他个体的临床应用的细胞来源。在某些实施方式中,通过由多种来源周期性地自提供干细胞,所述库提供个体和家庭“保险”的存储和管理。本发明进一步提供利用本发明的库中存储的细胞的个性化医疗的方法。

[0021] 本发明进一步提供用于治疗多种类型疾病的干细胞的组合物。本发明公开了当使用干细胞治疗时作为“加强剂量”的胚胎干细胞和成体干细胞的组合。本发明进一步公开了以不同比率和剂量和配方混合的多种类型的成体干细胞的组合,从而达到最大治疗效果。例如,如本领域已知的,成体干细胞可来源于造血起源、胎盘、口腔黏膜、间质来源和脂肪来源的干细胞。与现有的干细胞组合物比较,现在公开了几种来源的干细胞的组合具有改进的治疗效力。

[0022] 依照一个方面,本发明提供包括来自多个个体的干细胞的干细胞库,其中干细胞来源于贯穿每个个体生命过程中从所述个人体内周期性地收集的多个提供物(donation)。

[0023] 在某些实施方式中,提供干细胞库,其中贯穿个体生命过程中由所述个体周期性地收集多个提供物,分选并且存储,用于未来使用。

[0024] 在某些实施方式中,从不同来源获得从所述每个个体体内收集的多个提供物。

[0025] 在某些实施方式中,从所述每个个体体内收集的多个提供物包括不同类型的干细胞。

[0026] 如在此使用的,“提供物(donation)”是指在某一时间点上从受试者体内收集的细胞的一个或多个样品。一个提供物可包含从单个来源收集的细胞样品或从多个来源收集的细胞样品。每个样品可包含相同类型的细胞收集,或超过一种类型的细胞收集。提供物可包含干细胞,以及分化的体细胞。如下面描述的,分化的体细胞可用于产生诱导型多能性干细胞(IPSC)。

[0027] 如在此使用的,“周期性地收集的提供物”或“周期性提供物”是指以预定的时间间

隔(例如,每隔 5 年,每隔 10 年,每隔 15 年,等等)从个体体内收集的提供物。可替换地,“周期性地收集的提供物”或“周期性提供物”是指在某些时间点上(例如,在特定年龄)从个体体内收集提供物。

[0028] 在某些实施方式中,多个提供物包括在出生时的第一提供物以及随着个体长大和成熟的随后提供物。在某些典型的实施方式中,在年龄 20 至 50 之间收集提供物,或随后提供物。

[0029] 在某些实施方式中,在出生时(例如,从脐带血和 / 或胎盘血中)收集第一提供物。在某些实施方式中,在出生之前(例如,从羊水中)收集第一提供物。

[0030] 通常,含有干细胞的每种组织和器官可以是提供物的干细胞来源。在某些实施方式中,干细胞来源包括选自由以下组成的组中的至少一个来源:脐带血、脐带基质、胎盘血、骨髓、脂肪、外周血、血液黄层(血沉棕黄层, blood buffy coat)、羊水、皮肤、肾、肝脏、肌肉、神经组织、牙髓、黏膜(包含,但不限于,口腔黏膜、嗅黏膜和胃黏膜)、包皮、心肌组织、骨、软骨、毛根和乳腺。每种可能性代表本发明的单独的实施方式。

[0031] 在某些实施方式中,提供物包括分化的体细胞。如下面描述的,这样的细胞可用于产生诱导型多能性干细胞(IPSC)。

[0032] 在某些实施方式中,所述库中存储的干细胞的分化潜能选自由多能性(pluripotent)、专能性(multipotent)、寡能性(oligopotent)和单能性组成的组。每种可能性代表本发明的单独的实施方式。

[0033] 在某些实施方式中,所述库中存储的干细胞包括选自由以下组成的组中的至少一种类型:造血细胞、谱系限制性造血细胞(lineage-committed hematopoietic cells)、间质干细胞、基质细胞、成纤维细胞、内皮祖细胞、神经干细胞、脂肪来源的干细胞、来源于黏膜的干细胞、胎盘来源的干细胞、羊膜干细胞、脐带血来源的干细胞、脐带基质来源的干细胞、来源于包皮的干细胞、心肌干细胞和乳腺干细胞。每种可能性代表本发明的单独的实施方式。

[0034] 在某些实施方式中,记录关于每个提供物的信息。在某些具体实施方式中,记录的信息包括选自由以下组成的组中的至少一些数据:细胞类型、它们的组织来源、它们的收集日期和供体的身份。在其他具体实施方式中,记录的信息包括由各种表征测定获得的结果。实例包括 HLA 分型、确定特征性标志物的存在、确定特定的 SNP 等位基因和 / 或在干细胞单元上进行有核细胞计数。

[0035] 在某些实施方式中,根据至少一种标准来分选收集的细胞。在某些具体实施方式中,根据它们的类型、它们的组织来源、它们的收集的日期和供体身份将它们分选。

[0036] 在某些实施方式中,将收集的干细胞存储在适当条件下,以便保持干细胞有活力和功能性。在某些具体实施方式中,将干细胞存储在低温贮藏条件下。

[0037] 在某些实施方式中,所述库中存储的干细胞用于同源性应用。在某些实施方式中,存储的干细胞用作同源性移植。

[0038] 在其他实施方式中,所述库中存储的干细胞用于异源性应用。在某些实施方式中,存储的干细胞用于异源性移植。在其他实施方式中,存储的干细胞用于建立具有例如良好的活力和其他令人希望的用于研究和药物应用的特征的细胞系。

[0039] 在某些实施方式中,将库中存储的干细胞安排在干细胞单元中。根据这些实施方

式中,将所述库的每个提供物(干细胞的每一个存放)分成多个干细胞单元。在某些典型的实施方式中,干细胞单元包括在单个提供物中从单个供体收集的相同类型的干细胞群体,或在单个提供物中从单个供体收集的细胞产生的相同类型的诱导型多能性干细胞的群体。在某些示例性实施方式中,干细胞单元包含表达特异性的一种或多种标志物的干细胞。在某些实施方式中,进一步通过样品中存在的有核细胞的数量来定义干细胞单元。当需要时,可将一个或更多干细胞单元分配给需要它的受试者。在某些实施方式中,将干细胞单元的一部分分配给需要它的受体。在某些典型的实施方式中,有待分配的干细胞单元的数量取决于每个单元中有核细胞的数量以及有待治疗的医学病症。

[0040] 在某些实施方式中,可分配给个体的干细胞的量,或干细胞单元的数量取决于所述个体提供的提供物的量。

[0041] 在某些实施方式中,在干细胞收集之后,可使它们经受进一步的处理。在某些具体实施方式中,收集的干细胞可进行培养、铺展和/或增殖。在另外的具体实施方式中,对收集的干细胞进行处理以达到治疗水平。

[0042] 在某些实施方式中,可从细胞存储库中选出干细胞类型的最佳组合,用于治疗某些病理学病症。

[0043] 根据另一方面,本发明提供了干细胞建库的方法,所述方法包括贯穿个人生命过程中周期性地从所述个体体内收集多个提供物。

[0044] 在某些实施方式中,所述方法包括从超过一个来源收集干细胞。在某些实施方式中,所述方法包括收集超过一种类型的干细胞。在某些实施方式中,所述方法包括收集体细胞。

[0045] 在某些实施方式中,所述方法进一步包括将每个提供物分成干细胞单元。

[0046] 在某些实施方式中,将所述库中存储的干细胞用作个性化医疗的基础。在某些具体实施方式中,这些细胞基于通过替代损伤细胞的新细胞治愈和再生不再起作用 and / 或被损伤的身体部分的能力,形成个性化医疗的基础。

[0047] 因此,根据另一个方面,本发明提供个性化医疗的方法,所述方法包括提供在本发明的干细胞库中存储的干细胞,其中所述干细胞来源于单个个体;以及将所述干细胞给予所述个体。

[0048] 在某些实施例中,在将干细胞给予所述个体之前,使干细胞经历进一步的处理。例如,可使这些细胞经受分化过程。

[0049] 提供的干细胞可以是相同的或不同的。在某些实施方式中,提供的干细胞是相同类型的。在其他实施方式中,使用不同类型的干细胞的组合。

[0050] 在某些实施方式中,提供用于个性化医疗的组合物,所述组合物包括从本发明的库中重建的干细胞。

[0051] 所述库中存储的干细胞类型的种类,连同周期性提供物一起,为针对需要器官修复的,并且在个体的生命过程中可能被所述个体碰到的许多病理学病症的保护提供了广泛的选择。

[0052] 根据另一个方面,本发明提供包括用于干细胞治疗的干细胞混合物的组合物。

[0053] 根据又另一个方面,本发明提供包括干细胞混合物的组合物在干细胞治疗中的应用。

[0054] 在某些实施方式中,所述组合物包括超过一种类型的成体干细胞的混合物。在某些实施方式中,干细胞的组合物包括胚胎干细胞和成体干细胞。在某些实施方式中,所述组合物包括以不同比例混合的,超过一种类型的成体干细胞。在另外的实施方式中,干细胞的组合物包括多种类型的成体干细胞,其中每种类型以不同的剂量存在。

[0055] 在多种具体实施方式中,所述组合物中的成体干细胞可以是多种类型的。本领域已知的成体干细胞的任何类型可用于本发明的组合物中。在某些实施方式中,所述组合物中的成体干细胞类型包括选自以下组成的组中的至少一种类型:造血细胞、谱系限制性造血细胞、间质干细胞、基质细胞、成纤维细胞、内皮祖细胞、神经干细胞、脂肪来源的干细胞、来源于黏膜的干细胞、胎盘来源的干细胞、羊膜干细胞、脐带血来源的干细胞(cord blood derived stem cells)、脐带基质来源的干细胞、来源于包皮的干细胞、心肌干细胞和乳腺干细胞。每种可能性代表本发明的单独的实施方式。包括至少两种类型干细胞的任何组合可用于本发明的组合物。

[0056] 在某些实施方式中,干细胞的组合物包括诱导型多能性干细胞。任何类型的 IPSC 可用于本发明的组合物中。

[0057] 在某些实施方式中,干细胞的组合物包括以不同比例混合的,超过一种类型的 IPSC。在某些另外的实施方式中,干细胞的组合物包括多种类型的 IPSC,其中每种类型以不同剂量存在。

[0058] 在某些具体实施例中,根据需要它的个体的病理学病症,确定和优化有待混合的干细胞类型和它们之间的比例。应当考虑到通过优化组合物中不同类型干细胞之间的比例,可达到改进的治疗效果。

[0059] 能够以多种剂量形式提供本发明的组合物。所述多种剂量形式包括,但不限于,例如,用于注射的液体剂量形式。

[0060] 在某些实施方式中,本发明的组合物中存在的干细胞的分化潜力选自多能性、专能性、寡能性的和单能性组成的组。

[0061] 在某些实施方式中,组合物中的成体干细胞是源性来源的。在其他实施方式中,组合物中的成体干细胞是异源性来源的。

[0062] 在某些实施方式中,组合物中 IPSC 是源性来源的。在其他实施方式中,组合物中的 IPSC 是异源性来源的。

[0063] 在某些实施方式中,从在需要它的个体的生命过程期间收集的周期性提供物获得干细胞。

[0064] 从下面具体说明和权利要求书可以清楚本发明的这些和另外的方面和特征。

具体实施方式

[0065] 本发明提供干细胞库,所述干细胞库存储在个体的生命过程中从所述个体体内获得的干细胞。存储的干细胞可用作未来使用的细胞来源(当健康原因需要干细胞技术来修复个体身体的某些细胞群时),以及用于其他个体的临床应用。存储的干细胞还可用于研究应用。本发明进一步提供了用于治疗多种类型疾病的干细胞的组合物。

[0066] 定义

[0067] “干细胞治疗”- 如在此使用的,是指干细胞领域已知的或预想的所有应用。这些

应用包括诊断技术、预防技术和治疗技术。

[0068] “库”、“干细胞库”- 可互换地使用,是指干细胞的储存库,其中当请求、要求和 / 或需要时,可从存储中恢复存储的干细胞,并且为了某一临床目的分配给某一个体。可替换地或另外地,存储的干细胞可用于研究应用。

[0069] “体细胞”- 除了生殖细胞或生殖细胞前体细胞之外的任何细胞。

[0070] “全能干细胞”- 能够分化成生物体身体的任何细胞类型的干细胞,包括生殖系细胞。全能干细胞的实例包含胚胎干细胞、胚胎生殖细胞、内细胞团(ICM)来源的细胞,或从晚期胚泡的外胚层培养的细胞。全能干细胞能够发育成完整的生物体。

[0071] “多能性干细胞(pluripotent stem cell)”- 能够产生三个胚胎胚层(内胚层、中胚层和外胚层)以及来源于这些胚层的细胞系、组织和器官的干细胞。

[0072] “专能性干细胞(multipotent stem cell)”- 能够形成通常来源于一个胚胎胚层的多种细胞系的干细胞。

[0073] “寡能性干细胞(oligopotent stem cell)”- 只能够分化成少数细胞的干细胞,如淋巴干细胞或骨髓干细胞。

[0074] “单能性干细胞(unipotent stem cell)”- 仅能够产生一种细胞类型(它的自身)的干细胞,但是具有使其区别于非干细胞的自身更新的特性(例如,肌肉干细胞)。

[0075] “诱导型多能性干细胞”- 人工地来源于非多能性细胞的多能性干细胞。非多能性细胞可以是充分地分化的细胞或其自我更新和分化的潜能低于多能性干细胞的细胞。典型地,诱导型多能性干细胞来源于成人体细胞。

[0076] 干细胞库

[0077] 可将本发明的干细胞库认为是目的在于为潜在治疗多种类型的疾病提供足够量的可供使用的干细胞的系统的第一元件。

[0078] 在某些实施方式中,本发明的库通过由多种来源周期性地自身提供成体干细胞,为个人和 / 或家庭提供“自保险”程序。

[0079] 根据一个方面,本发明提供干细胞库,其中贯穿个体生命过程中从所述个体体内周期性地收集多个提供物。

[0080] 在某些实施方式中,提供物、或存放物包括从一种来源获得的细胞。在其他实施方式中,提供物包括从超过一种来源获得的细胞。

[0081] 根据某些实施方式,贯穿所述个体的生命过程收集多个提供物。在某些实施方式中,所述多个提供物包括在出生时的第一提供物以及随着个体长大和成熟的随后提供物。通常,有可能从新生儿、儿童、或成人获得成体干细胞。最佳地,从年龄 20 至 50 岁的个体体内收集随后提供物。应当理解的是,可在这些年龄之前和 / 或之后收集这些提供物。

[0082] 在某些实施方式中,从个体体内收集分化的体细胞。可诱导这样的细胞产生多能性干细胞。

[0083] 在某些实施方式中,存储的干细胞用于同源性应用。根据这些实施例,贯穿个体的生命过程中收集周期的自身提供物。在其他实施方式中,存储的干细胞用于异源性应用。

[0084] 异源性应用可包含异源性移植,以及研究应用。一般在存储之前,从每个提供物(库的干细胞的每个存放物)取得样品,以针对活力和污染物缺失进行筛选。这些样品可用于建立针对异源性应用的干细胞存储库或库存。应当理解的是,通常地,需要来自供体的授

权以便分配从所述供体获得的干细胞,用于异源性应用。用于异源性应用的干细胞存储库可用于从具有良好的活力和其他令人希望的特征的细胞来建立细胞系。在某些实施方式中,使用选择过程从而分离优化的细胞,用于建立细胞系。

[0085] 可根据标准程序确定每次从其中收集样品的提供物和来源的数目。在某些实施方式中,针对每个个体确定具体的、个人的程序。在某些示例性实施方式中,针对具有发展某些疾病风险的个体定义个人程序(例如,基于家庭医疗背景)。

[0086] 在某些实施方式中,以周期间隔收集提供物。收集提供物的周期间隔范围可以从1-5年、5-10年、10-15年。每种可能性代表本发明的单独的实施方式。

[0087] 在某些实施方式中,在预先确定的时间点上收集提供物。可在出生时,在幼儿时期或在成人期收集第一提供物。每种可能性代表本发明的单独的实施方式。

[0088] 在某些实施方式中,从一个个体体内收集的提供物的数目范围从2-5、2-10、大于5、大于10。每种可能性代表本发明的单独的实施方式。

[0089] 根据另一个方面,本发明提供干细胞建库的方法,所述方法包括贯穿个体的生命过程从所述个体体内提供多个周期性提供物。

[0090] 在某些实施方式中,提供用于维持干细胞库的方法,所述方法包括贯穿个体的生命过程周期性地从所述个体体内收集多个提供物。

[0091] 在某些实施方式中,所述方法包括从超过一个来源提供干细胞。在某些实施方式中,所述方法包括提供超过一种类型的干细胞。在某些实施方式中,所述方法包括提供体细胞。

[0092] 在某些实施方式中,所述方法进一步包括将每个提供物分成干细胞单元。

[0093] 干细胞的收集步骤

[0094] 为了本发明的目的,含有干细胞的每个组织和器官可以是有待提取和存储在库中的干细胞的潜在来源。这些包括本领域目前已知的来源以及在未来可能发现的新来源。

[0095] 这些来源的非限制性实例包括脐带血、胎盘血、骨髓、脂肪、外周血、脐带基质、血液黄层、羊水、腹水(ascitic fluid)、皮肤、肾、肝脏、肌肉、神经组织、牙髓、口腔黏膜、嗅黏膜、胃黏膜、包皮、心肌组织、骨、软骨、发根和乳腺。

[0096] 本发明包含从供体获得干细胞的任何已知方法。

[0097] 可通过提取法从样品回收干细胞。很多提取方法是本领域已知的,并且可用于提取干细胞以便存储在本发明的库中。适当的细胞提取方法包括,但不限于:血浆除去法、以限定的时间和g力的离心或密度梯度离心、在加入某些流体(如生理溶液或某些可溶性聚合物)之后进行离心、细胞与塑料的粘附性、以及与用于涂覆生长表面的试剂(包括以下试剂:如纤连蛋白、和胶原质)的粘附性。另外,如已知的,可使用机械细胞分选方法并且可使用酶学方法。

[0098] 可根据多种物理性能进行干细胞的分离,如荧光性质或其他光学性质、磁性、密度、电性,等等。可通过多种手段分离细胞类型,包括荧光活化细胞分选(FACS)、蛋白质结合的磁珠分离(protein-conjugated magnetic bead separation)、形态学标准、特定的基因表达模式(利用RT-PCR)、或特异性抗体染色。

[0099] 分离技术的应用包括,但不限于,基于物理性质(密度梯度离心和对流离心洗脱法(counter-flow centrifugal elutriation))、细胞表面(凝集素和抗体亲和力)、和重要的

染色性质(线粒体结合染料 rho1123 和 DNA 结合染料 Hoechst33342)的差异的技术。

[0100] 可基于光散射特性以及它们的多种细胞表面抗原的表达来选择细胞。通过 FACS 分析,纯化的干细胞具有较低的侧面散射和低至中等的前散射曲线。

[0101] 可采用各种技术来分离细胞(通过最初去除专用系的细胞)。单克隆抗体是特别有用的。可将抗体连接到固体载体上以进行粗分离。采用的分离技术可以最大程度地保留有待收集的部分的活力。

[0102] 采用的分离技术可以最大程度地保留有待收集的部分的活力。可采用不同功效的多种技术,以便获得“相对粗的”分离。这样的分离是其中存在的全部细胞的高达 30%,通常不超过大约 5%,优选地不超过大约 1%是保留在有待保留的细胞群中的不想要的细胞。采用的具体技术将取决于分离效率、相关的细胞毒性、性能的简便和速度,以及对复杂仪器和 / 或专门技能的需要。

[0103] 分离步骤可包括使用抗体涂覆的磁珠的磁性分离,亲和色谱法、结合到单克隆抗体上或与单克隆抗体结合使用的细胞毒性剂(例如,补体和细胞毒素),和使用连接到固体基质上(例如,平板)的抗体进行“淘选”(“panning”),或其他常规技术。

[0104] 提供精确分离的技术包括荧光活化的细胞分选器,其可具有不同程度的复杂性,例如,多个颜色通路、低角度和钝光散射检测通路(obtuse light scattering detecting channel)、阻抗通路,等等。

[0105] 可采用用于正选择的其他技术,它们可以精确的分离,如亲和柱,等等。

[0106] 可将用于分离的抗体与标志物结合(如可以直接分离的磁珠,可用结合到载体上的抗生物素蛋白或链亲和素将其去除的生物素,可与荧光活化的细胞分选器一起使用的荧光染料,等等),从而可以容易地分离特定细胞类型。可采用不过度地损害剩余细胞的活力的任何技术。

[0107] 例如,可在 Lanza(ed.)Handbook of stem cells, Volume2, Gulf Professional Publishing, 2004 ;Fierabracci(2010)Recent Pat Drug Deliv Formul, 4(2):105-13 ; Brignier et al. (2010)J Allergy Clin Immunol, 125(2Suppl2):S336-44 中找到用于分离和表征来自多种来源的干细胞的示例性步骤。

[0108] 在某些实施方式中,来源于单个供体的单个提供物的相同类型的分选的干细胞群定义了干细胞单元。在某些实施方式中,通过单元中存在的有核细胞的数目进一步定义了干细胞单元。

[0109] 单元中存在的有核细胞的数目范围可以从 25×10^7 - 50×10^7 、从 50×10^7 - 75×10^7 、从 75×10^7 - 200×10^7 、从 150×10^6 - $10,000 \times 10^6$ 、从 300×10^6 - $5,000 \times 10^6$ 、从 500×10^6 - $3,000 \times 10^6$ 。

[0110] 可收集和存储在库中的细胞类型的非限制性实例包括造血细胞、谱系限制性造血细胞、间质干细胞、基质细胞、成纤维细胞、内皮祖细胞、神经干细胞、来源于黏膜的干细胞、胎盘来源的干细胞、羊膜干细胞、脐带血来源的干细胞、脂肪来源干细胞、来源于包皮的干细胞、心肌干细胞和乳腺干细胞。

[0111] 在某些实施方式中,从个体体内收集分化的体细胞。

[0112] 在某些实施方式中,将获得的细胞用于产生诱导型多能性干细胞。应当理解的是,可针对分化的体细胞,以及具有低分化潜能的干细胞进行多能性诱导。

[0113] 用于多能性诱导的多种方法是本领域已知的,它们可应用于各种类型的细胞。某些已知的方法包括遗传学操作(例如利用逆转录病毒进行某些干细胞相关基因的转染),以及表观遗传学操作(epigenetic manipulation)(例如,将重新编码的蛋白质直接递送到细胞中)。

[0114] 作为非限制性实例,例如,如在 Takahashi et al. (2007) "Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors", Cell, Vol. 131, pp. 1-12 中描述的,可从皮肤成纤维细胞产生诱导型多能性干细胞(IPSC)。

[0115] 作为另外的非-限制性实例,例如,如在国际专利申请公开号 W02010/141801 中描述的,可从 T 细胞和 / 或造血祖细胞产生 IPSC。

[0116] 可在国际专利申请公开号 W02010/115052 中找到通过将某些重新编码因子蛋白递送到细胞中进行 IPSC 诱导的非限制性实例。

[0117] 因而,在某些实施方式中,在库中存储诱导型多能性干细胞。

[0118] 在某些实施方式中,本发明的干细胞库存储来源于多种细胞类型的诱导型多能性干细胞系。

[0119] 从很多供体以及从多种组织来源获得的,存储在库中的多种多样的干细胞和体细胞形成较大的细胞集合,可从中分离最好的细胞。在某些实施方式中,采用选择过程用于分离优化的细胞以建立细胞系。还可以使用选择过程来分离优化的细胞,用作产生 IPSC 的来源。例如,可采用促进分离具有增加的稳定性的细胞的选择步骤。

[0120] 选择通常细胞系的步骤和 / 或选择针对进一步操作优化的细胞的步骤是在本领域技术人员的知识范围内。适当的选择过程可根据细胞类型选择,并且可通过本领域已知的方法来进行。

[0121] 在某些实施方式中,将优化的细胞系用于研究应用,包括,但不限于,药物开发和测试。

[0122] 在某些实施方式中,库中存储的干细胞的分化潜力可选自多能性、专能性、寡能性的和单能性。

[0123] 在某些实施方式中,库中存储的干细胞的分化潜力不是全能性的。

[0124] 在某些实施方式中,根据个体的要求,从所述个体体内收集配子并存储在库中。

[0125] 可通过多种方法表征获得的干细胞。在某些实施方式中,表征包括各种测定的结果。在某些具体实施方式中,根据希望的细胞群,表征包括检测特异性标志物的存在。在另外的具体实施方式中,表征包括确定人类白细胞抗原(HLA)类型。在又另外的具体实施方式中,表征包括确定特定的 SNP 等位基因。在又另外的具体实施方式中,表征包括在干细胞单元上进行有核细胞计数。

[0126] 获得的信息可包含基因型或表型信息。表型信息可包含,在宏观或系统水平上或微观或甚至细胞或分子水平上,任何可观察或可测量的参数。基因型信息可以指特定个体生物体的特定遗传组成,例如,个体生物体是否具有一个或多个特定的遗传变型,直至所述个体基因组中的所有变化,例如,所述个体是否是影响所述个体的疾病或 HLA 类型的遗传变异的载体。

[0127] 用于表征干细胞的本领域已知的任何方法可适合本发明的目的。

[0128] 可使获得的干细胞经受进一步的处理。可利用现今存在的不同技术以及可在未来开发的新技术来处理收集的细胞。

[0129] 在某些实施方式中,在从供体的某些组织获得干细胞之后,使用干细胞扩增技术来培养它们。

[0130] 例如,在美国专利号 6,326,198、美国专利号 6,338,942 和美国专利号 6,335,195 中公开了干细胞扩增技术。

[0131] 因而,在某些实施方式中,培养从供体获得的干细胞以便扩增干细胞群体。

[0132] 本领域已知的另外的处理方法包括,例如,在美国专利号 6,059,968 和美国专利号 5,879,318 中公开的那些。在某些实施方式中,这种处理制备了干细胞产物,用于存储或用于进一步应用。

[0133] 可选的步骤是体外扩增干细胞。然而,应该小心以确保体外生长不在损害治疗上需要重建的专能性干细胞的情况下,导致产生分化的后代细胞。已经描述了脐带血或骨髓细胞体外培养的多种方案,并且可以想见,可采用这类步骤,或它的变更(Dexter, T. M. et al. J. Cell. Physiol. 91, 335, 1977 ;Witlock, C. A. and Witte, O. N. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 79, 3608-3612, 1982)。

[0134] 例如,WO2006/085482 描述用于在体外扩增造血干细胞的技术。通过利用扩增的造血干细胞或每种不同组织的干细胞,可对具有多种难治疗的造血疾病或多种器官疾病的病人进行移植治疗和基因治疗。

[0135] 还可针对体外刺激增殖的用途测试多种因子,包括但不限于,白细胞介素-3 (IL-3)、粒细胞-巨噬细胞(GM)-集落刺激因子(CSF)、IL-1 (促红细胞生成素-1)、IL-4 (B 细胞生长因子)、IL-6 (单独地或结合地)。

[0136] 在某些实施方式中,处理操作浓缩或分离样品中的干细胞。在优选的实施方式中,在处理之后,处理过的样品含有对于成功移植病人足够量的干细胞。

[0137] 在某些实施方式中,在干细胞存储之前对它们进行处理。在其他实施方式中,在干细胞存储之后,使它们经受处理。根据这个实施方式,当需要使用干细胞来治疗需要它的个体时,对干细胞进行处理,并且将它们处理成达到足以治疗所述个体的病症的水平。对于移植目的足够量的干细胞是指在产物中存在足以成功地治疗需要干细胞移植的人员的干细胞。

[0138] 存储

[0139] 获得的干细胞可存储在适当的条件下,从而保持它们有活力和功能性。在某些实施方式中,来自某些供体的干细胞单元和 / 或诱导型多能性干细胞的干细胞单元存储在冷条件中。

[0140] 细胞的冷冻通常是破坏性的。当冷却时,细胞内的水冻结。然后通过对细胞膜的渗透作用引起损伤,细胞脱水、溶质浓缩、和冰晶形成。当在细胞外部形成冰时,可用的水从溶液中去除并且从细胞中抽出,引起渗透脱水和升高的溶质浓缩,这最终破坏了细胞。可通过(a)使用防冷冻剂,(b)控制冷冻速率,和(c)在足以将降解反应降至最低的低温下存储,从而避开这些损伤影响。

[0141] 例如,关于造血干细胞(特别是来自骨髓或外周血的)的操作、低温贮藏、和长期存储的考虑和步骤是本领域已知的。

[0142] 由 Gorin, N. C. in Clinics In Haematology 15, 19-48, 1986 综述了某些方法。活细胞的低温贮藏的其他示例性方法, 或它们的变更是可供使用的以及可想见使用的(例如, 冷金属-镜像技术(cold metal-mirror techniques); 美国专利号 4, 199, 022 ; 美国专利号 3, 753, 357 ; 美国专利号 4, 559, 298)。美国专利号 6, 310, 195 公开了用于保存多能性祖细胞, 以及基于使用特定蛋白的全能性祖细胞的方法。美国专利号 5, 873, 254 公开了用于多梯度定向冷却和升温生物样品的设备和方法。根据本发明, 细胞可使用这种方法, 以及低温贮藏领域已知的其他方法和设备。

[0143] 可使用的防冷冻剂包括, 但不限于, 二甲基亚砷(DMSO)、丙三醇、聚乙烯基吡咯烷酮、聚乙二醇、白蛋白、葡聚糖、蔗糖、乙二醇、i- 赤藻糖醇、D- 核糖醇、D- 甘露醇、D- 山梨糖醇、i- 肌醇、D- 乳糖、氯化胆碱、氨基酸、甲醇、乙酰胺、甘油单乙酸酯、和无机盐。

[0144] 冷冻系统可以包括, 但不限于, 常规的制冷器或装有冷冻介质的腔室, 如液氮、干冰、冰冷的水, 等等。

[0145] 在某些实施方式中, 可低温保护存储的干细胞, 但是可使用存储干细胞持续长时间的任何方法, 例如, 包括使细胞与氨基酸、肌苷、腺嘌呤, 等等一起进行存储。本发明中可使用任何存储方法, 其条件是对于本发明中讨论的治疗目的, 存储的产物保留活力。

[0146] 根据多种实施方式, 可将在冷冻和融化期间增强细胞存活率的试剂加入到细胞存放物中。

[0147] 在某些优选的实施方式中, 将干细胞存储在低温贮罐中, 根据需要, 稍后可对其进行存取。在某些实施方式中, 将样品存储在指示它们的类型、组织来源、收集时间和 / 或供体身份的冷藏箱中。

[0148] 在某些典型的实施方式中, 当要求时, 以可靠地并且精确地鉴定和取回的方式, 将存储的干细胞编入索引。只要它是可靠的和精确的, 任何常规的索引系统都适合本发明的目的。例如, 可利用字母数字编码、条形码、或任何其他可辨识的方法或它们的组合来标记每个提供单元的每个容器。

[0149] 在某些实施方式中, 在可存取的和可读取的数据库和 / 或索引系统中记录关于在库中存储的干细胞的信息。记录的信息可以包括, 但不限于, 干细胞的类型、它们的组织来源、它们的收集日期、供体身份以及从表征测定(例如, 从如上所述的表征测定)获得的任何其他识别信息。

[0150] 能够以本领域已知的任何方式管理这种索引系统, 例如, 手动地或非手动地。在某些实施方式中, 可使用计算机和常规软件。

[0151] 在某些实施方式中, 在可被存储在库中的干细胞单元的数目方面不存在上限。

[0152] 贮存设备可以包括用于组织, 和检索存储的产物的任何方法的装置。在某些实施方式中, 自动化的机器人系统用于存储的干细胞的取回和 / 或操作。

[0153] 超过一种贮存设备可用于存储干细胞。这些设备每一个可以在不同的位置上。

[0154] 存储细胞的重建和应用

[0155] 应当理解的是, 本发明的库对在个体的生命过程期间所述个体可能遭遇的很多可能的病理学病症提供了广泛的保护。多种多样的干细胞类型为需要器官修复的许多病理学病症的保护提供了广泛的选择。周期性提供物确保可用于使用的足够量的干细胞。此外, 通过执行个性化医疗方法, 可以想见优化的治疗, 针对个人特征的调节。

[0156] 当需要时,干细胞可被重建并且提供给需要它的个体。在低温贮藏的情况下,在控制的融化条件下,可通过仔细地融化来重建细胞并进行临床使用。

[0157] 优选地,迅速地将冷冻的细胞融化(例如,在维持在 37-41°C 的水浴中)并且当融化时立即冷却。具体地,可将含有冷冻细胞的小瓶浸没在温水浴中高度达到它的瓶颈;当它融化时,温和的旋转将确保细胞悬浮液的混合,并且增加从温水至内部冰块的热传递。一旦冰完全融化,可立即将小瓶放置在冰中。

[0158] 应当指出的是,在冷冻/融化过程之后存储的干细胞样品中的有核细胞的数目可能改变。因此,当回顾干细胞移植数据时,指出有核细胞计数是在融化样品之前还是在融化样品之后测量的是有益的。例如,在 Sanz 等人中,在融化期间损失的有核细胞的平均比例是 30%。参见, *Sanz et al., 2001, "Standardized, unrelated donor cord blood transplantation in adults with hematologic malignancies," Blood 98, p. 2332.*

[0159] 本发明的库中存储的干细胞可用于利用干细胞的任何应用,包含目前已知的应用,以及在未来可能开发的新应用。

[0160] 干细胞在细胞治疗中的适当应用的非限制性实例包括利用未分化的细胞的器官和组织治疗应用,利用分化的细胞培养物的器官和组织治疗应用,在损伤的组织中形成新血管,用于神经失调的细胞治疗应用,用于骨和/或软骨损伤的细胞治疗应用,用于肝脏失调的细胞治疗应用,用于心脏失调的细胞治疗应用,用于治疗胰腺疾病或失调的细胞治疗应用以及基因治疗应用。

[0161] 可通过本发明方法治疗的疾病包括,但不限于,可通过组织再生或重建,通过蛋白质替换,或通过凝集因子治疗的那些。这样的疾病包括与缺陷性生物学过程相关联的疾病,如心脏局部缺血、骨质疏松症、慢性伤口、糖尿病、神经退行性疾病、神经损伤、骨或软骨损伤、消融的骨髓(ablated bone marrow)、贫血、肝脏疾病、头发生长、牙齿生长、视网膜疾病或损伤、耳部疾病或损伤、肌肉退化或损伤、整形手术。另外,治疗方法可适用于美容治疗,包括,例如,填充皮肤皱纹、支持器官、支持外科手术步骤、治疗烧伤、和治疗伤口。

[0162] 在某些实施方式中,将库中存储的干细胞用于同源性移植。在其他实施例中,将库中存储的干细胞用于异源性移植。

[0163] 在某些实施方式中,特定的保险程序调整异源性移植。

[0164] 在某些实施方式中,可从细胞的存储库中选择干细胞类型的优化组合以治疗某些病理学病症。

[0165] 在某些实施方式中,将库中存储的干细胞用作个性化医疗的基础。在某些具体实施方式中,细胞基于通过替代损伤细胞的新细胞治愈和再生不再起作用的和/或被损伤的身体部分的能力,形成个性化医疗的基础。

[0166] 登记和分配系统

[0167] 本发明的干细胞库的基础是登记供体、周期性地收集和存储来自其体内的干细胞提供物、以及将提供的干细胞分配给需要它的个体(同源性或异源性方式)、和/或用于研究应用和药物开发应用。

[0168] 在某些优选的实施方式中,在婴儿出生之前进行登记。在其他实施方式中,在出生之后登记供体。在另外的实施方式中,当成人时登记供体。

[0169] 在某些实施方式中,当登记时,产生供体的记录。在其他实施方式中,还产生供体

家庭的记录。记录可包含关于供体和 / 或供体家庭的任何有关的信息。在某些实施方式中, 信息包含遗传信息。

[0170] 在某些实施方式中, 当登记时, 供体可选择从所述供体体内取得的干细胞是否可用于异源性应用。将这样的选择存储在签名信息中。

[0171] 从个体体内收集干细胞, 处理和建库。

[0172] 可在能够进行这样操作的任何设施上, 从个体体内收集有待存放在本发明库中的提供物。在某些实施方式中, 在医院收集提供物。在其他实施方式中, 直接地在库设施上收集提供物。在它们收集之后, 可将在贮存设施外面收集的提供物递送和 / 或输运到库中。

[0173] 可在收集设施上或在库上进行从由个体获得的组织中提取干细胞。

[0174] 可在收集设施或在库上进行获得的干细胞的表征。可将关于干细胞单元的所有有关信息存储在数据库中。在某些实施方式中, 提供了基于计算机的数据库和 / 或分配系统。

[0175] 一般根据多种类别将干细胞分选和存储。在某些实施方式中, 根据它们的类型、它们的组织来源、它们的收集日期和供体身份将干细胞分选。

[0176] 在某些实施方式中, 将干细胞安排在干细胞单元中。在某些实施方式中, 通过单元中有核细胞的数目定义干细胞单元。用于定义干细胞单元的其他规格的非限制性实例包括收集的或融化的表达某一标志物的细胞数目以及收集的或融化的克隆形成细胞的数目。

[0177] 在某些实施方式中, 由供体启动库的周期性提供物。在其他实施方式中, 由库启动库的周期性提供物。

[0178] 在某些实施方式中, 对细胞的分离、存储和 / 或分配收取费用。

[0179] 在某些实施方式中, 在将干细胞样品或干细胞单元记录到索引系统之后, 它将可用于匹配目的。

[0180] 在某些实施方式中, 存储有每个样品的信息是可搜索的, 并且以可有效地定位和供给需要它的个体的这样一种方式来鉴定样品。

[0181] 可用于分配给个体的单元 / 样品的数目取决于由所述个体提供的提供物的量。

[0182] 在异源性移植提供物的情况下, 可在供体和需要它的受体之间进行匹配测试。为了本发明的目的, 匹配指示这些干细胞适于移植到特定个体体内。针对重要的具体特征来表征需要它的受体和 / 或需要它的受体的组织, 从而确定这个受体与某些干细胞单元或样品之间的匹配。例如, 存在对于每种组织是典型的某些细胞标志物。在表征之后, 回收来自可用于异源性移植的干细胞的匹配干细胞(例如, 由它们的供体授权用于他人的干细胞), 并且可用于治疗需要它的受体。

[0183] 在某些实施方式中, 检索可利用适当的匹配算法。

[0184] 当前已知的任何匹配标准和 / 或匹配测定法或将在未来开发的新标准和 / 或测定法都处于本发明的库上进行的活动范围下。

[0185] 可以在任何能够进行这样的步骤的设施中(例如, 医院)进行移植过程。

[0186] 干细胞组合物

[0187] 根据本发明的一个方面, 提供了干细胞的组合物, 所述组合物包括用于干细胞治疗的不同类型干细胞的混合物, 其中干细胞来源于单个个体。在某些实施方式中, 从在单个个体的生命过程中周期性地收集的多个提供物中获得干细胞。

[0188] 可能的组合

[0189] 在某些实施方式中,组合物包括超过一种类型的成体干细胞的混合物。在某些实施方式中,干细胞的组合物包括胚胎干细胞和成体干细胞。在某些实施方式中,组合物包括以不同比例混合的多种类型的成体干细胞。在另外的实施方式中,干细胞的组合物包括多种类型的成体干细胞,其中每种类型以不同的剂量存在。

[0190] 在多种具体实施方式中,组合物中的成体干细胞可以是多种类型的。本领域已知的任何类型的成体干细胞可用于本发明的组合物中,一些已在前面说明。

[0191] 成体干细胞混合物的非限制性实例包含间质干细胞和脂肪来源干细胞的混合物。

[0192] 在某些实施方式中,干细胞的组合物包括诱导型多能性干细胞。任何类型的 IPSC 可用于本发明的组合物中。

[0193] 在另外的实施方式中,干细胞的组合物包括以不同比例混合的多种类型的 IPSC。在又另外的实施方式中,干细胞的组合物包括多种类型的 IPSC,其中每种类型以不同的剂量存在。

[0194] 在某些实施方式中,在本发明的组合物中存在的干细胞的分化潜力可选自多能性、专能性、寡能性的和单能性。

[0195] 在某些具体实施方式中,根据需要它的个体的病理学病症,确定和优化有待混合的干细胞的类型和 / 或它们之间的比例。通过优化组合物中不同类型的干细胞之间的比例,可达到改进的治疗功效。

[0196] 在某些实施方式中,组合物中成体干细胞是同源来源的。在其他实施方式中,它们是异源来源的。

[0197] 在某些实施方式中,组合物中的 IPSC 是同源来源的。在其他实施方式中,它们是异源来源的。

[0198] 在某些实施方式中,从贯穿需要它的个体的生命过程中收集的周期性提供物获得组合物中存在的干细胞。

[0199] 在某些实施方式中,干细胞的组合物包括以不同剂量形式提供的,多种类型的成体干细胞的混合物。

[0200] 能够以适合干细胞应用的任何已知的给药途径,将本发明的干细胞组合物给予病人。这些包含局部给药以及全身给药。在优选的实施方式中,通过可以使干细胞达到需要组合物的位点的方法,将组合物给予病人,从而产生期望的治疗效果。非限制性实例包括静脉注射、直接地注射到具体器官以及直接地注射到作用位点。

[0201] 在优选的实施方式中,以治疗上有效的量,将本发明的组合物给予病人。

[0202] 另外的成分

[0203] 本发明的组合物可进一步包括传导性的、载体材料。如在此使用的,术语“传导性材料”是指帮助将干细胞传送到组织缺陷位点的材料。使用传导性材料的目的在于,通过提供有益于它们存活的环境或通过帮助细胞保持在需要修复的位点上,来增强干细胞的治疗效果。这样的传导性材料的非限制性实例包括糊剂(例如,无定形磷酸钙糊剂、羟基磷灰石、硫酸钙糊剂和去除矿物质的骨)、天然的或合成的适当的支架(例如,纤维蛋白基质)、基于生物聚合物(如透明质酸)的粘性环境或这些材料的组合。例如,可在美国专利号 7,009,039、W02004/067704 和 W02006/008748 中找到适当的纤维蛋白材料的实例。

[0204] 本发明的组合物还可以包括可以在体内增强组合物中存在的干细胞的扩增的诱

导性材料。如在此使用的,术语“诱导性材料”是指增强干细胞的治疗(再生)效果的物质。诱导性材料可直接地起作用以促进组织再生或它可通过促进干细胞的增殖来起作用,或两者。诱导性试剂的非限制性实例包括生长因子。生长因子的实例包括:血管内皮生长因子(VEGF)、成纤维细胞生长因子(FGF)、表皮生长因子(EGF)、胰岛素类生长因子-1(IGF1)、骨形成蛋白(BMP)、和转化生长因子(TGF)。在一个实施方式中,利用FGF,优选地利用FGF2来体外扩增干细胞。能够以广泛的浓度给予生长因子,这取决于骨缺陷的类型、病人的年龄、体重、给药途径,等等。

[0205] 本发明的组合物可进一步包含药物学上可接收的载体。根据本发明可以使用的,本领域已知的载体的非限制性实例包括:

[0206] - 细胞外基质元件如胶原、糖蛋白、蛋白聚糖、多聚糖如透明质酸纤维蛋白、和其他物质以及这些物质的组合。这些类型的载体可采取尺寸范围从纳米到厘米的多孔的凝胶或固体结构的形式。

[0207] - 天然的或合成的磷灰石类(如羟基磷灰石)、脱去蛋白质的骨颗粒、冷冻干燥的骨颗粒、去除矿物质的冷冻干燥的骨颗粒、磷酸钙类(如磷酸三钙)、硫酸钙、碳酸钙和本领域已知的其他天然的和合成的盐以及这些物质的组合。

[0208] - 合成的有机聚合物如聚乳酸酯、聚延胡索酸酯、聚乙二醇以及本领域已知的其他物质或它们的组合。

[0209] 利用本发明的组合物连同本领域已知的任何基质或支架一起,落在本发明的范围内。

[0210] 潜在应用

[0211] 本质上,可利用本发明的干细胞和干细胞的组合物来实现干细胞现有技术中已知的或想见的所有应用。这些应用包括诊断技术、预防技术和治疗技术。

[0212] 另外,存储的干细胞可用于建立干细胞系,用于药物发现、药物测试和药物开发。

[0213] 可被治疗和/或修复或再生的组织和器官的非限制性实例:骨、软骨(透明的和关节的)、血管、韧带、腱、心肌、造血系统、肌肉组织、真皮、心脏瓣膜、肠管的间质部分(例如,柱(column)、食道、回肠、直肠)、泌尿生殖系统管道(例如,尿道、输尿管、膀胱)、牙齿周围组织(例如,齿槽骨、牙齿周围的韧带、牙骨质、齿龈)、牙质和任何其他间质组织或成人或胎儿的任何组织的间质元件。

[0214] 在需要它的人类病人体内,本发明的分化细胞可用于组织重建或再生。以允许将细胞移植到预期的组织位点并且重建或再生机能缺陷区域的方式来给予细胞。

[0215] 本发明的分化的细胞也可用于移植治疗。例如,根据治疗的疾病,可将神经干细胞直接地移植到中枢神经系统的实质位点或鞘内位点(美国专利号 5,968,829)。如 McDonald 等人描述的(Nat. Med. 5, 1410, 1999),可在急性损伤脊髓的大鼠模型中评估神经细胞移植的功效。

[0216] 除了以下之外,可通过本发明组合物治疗的疾病的非限制性实例包括前面已经列出的所有那些疾病:

[0217] 通过干细胞移植可治疗的疾病干细胞失调如(例如,再生障碍性贫血、范科尼贫血、阵发性睡眠性血红蛋白尿症)、急性白血病(例如,急性淋巴母细胞白血病、急性骨髓性白血病、急性双表型白血病、急性未分化型白血病)、慢性白血病(例如,慢性骨髓性白血

病、慢性淋巴细胞白血病、青少年慢性骨髓性白血病、青少年粒单核细胞白血病)、骨髓增生性疾病(例如,急性骨髓纤维化、原因不明性髓样化生(agnogenic myeloid metaplasia)、真性红细胞增多症、原发性血小板增多症)、骨髓增生异常综合症(例如,难治性贫血、具有环形铁粒幼红细胞的难治性贫血、具有过量胚细胞的难治性贫血、在转化中具有过量胚细胞的难治性贫血、慢性骨髓单核细胞白血病)、淋巴增生性失调(例如,非霍奇金淋巴瘤、霍奇金病、前淋巴细胞白血病)、遗传性红细胞异常(例如, β 重型地中海贫血、单纯红细胞再生障碍、镰刀形细胞病)、脂质贮积病(例如,粘多糖症、赫尔勒综合症、沙伊综合症(Scheie syndrome)、亨特氏综合症、圣菲利柏氏综合症、莫尔基奥氏综合症(Morquio syndrome)、马洛托-拉米氏综合症(Maroteaux-Lamy syndrome)、史莱氏综合症、 β -葡糖醛酸糖苷酶缺陷、肾上腺脑白质营养不良(adrenoleukodystrophy)、黏脂沉积症II、克拉伯病、高雪氏病、尼曼-匹克氏病、沃尔曼氏病(Wolman disease)、异染性脑白质营养不良)、组织细胞失调(例如,家族性嗜红细胞性淋巴组织细胞增多症、组织细胞增多病-X、吞噬血细胞作用)、吞噬细胞失调(薛迪克-东氏综合症(Chediak-Higashi syndrome)、慢性肉芽瘤病、嗜中性粒细胞肌动蛋白缺陷、网状细胞发育不全)、先天性免疫系统失调(例如,共济失调-毛细血管扩张、柯氏文综合症、白细胞粘附缺陷、迪格奥尔格综合征(DiGeorge syndrome)、裸淋巴细胞综合症、欧门氏综合症(Omenn's syndrome)、重症联合免疫缺陷(SCID)、具有腺苷脱氨酶缺陷的SCID、T和B细胞缺乏的SCID、T细胞缺乏、B细胞正常的SCID、常见的可变的免疫缺陷、维斯科特-奥尔德里奇综合症(Wiskott-Aldrich syndrome)、X-连锁的淋巴细胞增殖失调)、遗传性血小板异常(例如,巨核细胞增多症(megakaryocytosis)/先天性血小板减少症)、浆细胞失调(例如,多发性骨髓瘤、浆细胞白血病、瓦尔登斯特伦氏巨球蛋白血症)、其他遗传失调(例如,莱-蔡二氏综合征(Lesch-Nyhan syndrome)、软骨-毛发发育不全、Glanzmann血小板机能不全(Glanzmann Thrombasthenia)、骨硬化症)、以及其他恶性肿瘤(例如,乳癌、尤因肉瘤、成神经细胞瘤、和肾脏细胞癌)。

[0218] 当给予患炎症的个体时,还期望干细胞具有抗-炎症作用。在优选的实施方式中,干细胞可用于治疗由炎症产生的,或与炎症相关联的任何疾病、病症或失调。炎症可存在于任何器官或组织中,例如,肌肉;神经系统,包括脑、脊髓和外周神经系统;血管组织,包括心肌组织;胰腺;肠或消化道的其他器官;肺;肾;肝脏;生殖器;内皮组织,或内胚层组织。

[0219] 干细胞还可用于治疗免疫相关的失调,具体地是自体免疫失调,包括与炎症相关联的那些。实例包含糖尿病、肌萎缩侧索硬化症、重症肌无力、糖尿病性神经病或狼疮。脐带血或脐带血来源的干细胞还可用于治疗急性或慢性过敏性反应,例如,季节性过敏性反应、食物过敏性反应、对自身抗原的过敏性反应,等等。

[0220] 在某些实施方式中,所述疾病或失调包括,但不限于,在此公开的任何疾病或失调,包括,但不限于,再生障碍性贫血、脊髓发育不良、心肌梗死、癫痫发作、多发性硬化、中风、低血压、心搏聚停、局部缺血、炎症、衰老相关的认知功能丧失、辐射损伤、脑瘫、神经退行性疾病、阿尔默海氏病、帕金森氏症、雷氏病、AIDS痴呆、记忆丧失、肌萎缩侧索硬化(ALS)、局部缺血性肾病、脑或脊髓损伤、心-肺旁路(heart-lung bypass)、青光眼、视网膜局部缺血、视网膜损伤、溶酶体贮积病,如Tay-Sachs, Niemann-Pick, Fabry's, Gaucher's, Hunter's, 以及Hurler's综合征,以及其他神经节苷脂累积病(gangliosidoses)、粘多糖累积病(mucopolysaccharidoses)、糖原贮积病(glycogenoses)、代谢先天性缺陷、肾上腺脑

白质营养不良(adrenoleukodystrophy)、囊性纤维化、糖原贮积病、甲状腺机能减退、镰刀形细胞贫血症、皮尔森综合症、庞培氏病(Pompe's disease)、苯丙酮酸尿症(PKU)、卟啉症、枫糖尿病、高胱氨酸尿、粘多糖贮积症(mucopolysaccharidosis)、慢性肉芽肿病和酪氨酸血症、泰-萨克斯病(Tay-Sachs disease)、癌症、肿瘤或其他病理性或新生物性病征。

[0221] 在其他实施方式中,干细胞可用于治疗由外伤引起的任何种类的损伤,具体地涉及炎症的外伤。这类外伤相关病症的实例包括中枢神经系统(CNS)损伤、包括对脑、脊髓、或CNS周围组织的损伤、对外周神经系统(PNS)的损伤;或对身体任何其他部分的损伤。这类外伤可以由事故引起,或可以是医疗过程的正常的或不正常的结果,如外科手术或血管成形术。外伤还可能是血管破裂、故障或阻塞的结果,如在中风或静脉炎中。在具体实施方式中,干细胞可用于同源性或异源性组织再生或替代治疗法或方案,包括,但不限于,角膜上皮缺陷的治疗、软骨修复、面部皮肤磨削术、黏膜、鼓膜、肠道内层、神经结构(例如,视网膜、基膜中的听觉神经元、嗅觉上皮中的嗅觉神经元)、针对皮肤外伤损伤的烧伤和损伤修复、或用于重建其他损伤的或患病的器官或组织。

[0222] 另外的实例通常包括骨折以及特别地脊椎稳定性,骨质疏松症、韧带撕裂、骨关节炎、自体免疫来源的任何关节炎、创伤性关节软骨损伤、心肌梗塞形成、心力衰竭、二尖瓣或主动脉瓣功能不全、冠状动脉功能不全、糖尿病、肝功能不全或衰竭、回流、大便失禁、小便失禁、肾功能不全或衰竭、肺气肿、帕金森氏病、肌肉萎缩、肌肉营养不良症、肌萎缩侧索硬化、多发性硬化和其他脱髓鞘性疾病、重症肌无力、多肌炎、由脑血管疾病或脑炎或脑膜炎(meningitis)引起的脑组织损失、内分泌腺的功能不全或衰竭(例如,甲状腺机能减退、甲状旁腺功能减退、垂体和肾上腺机能减退)、造血系统的获得型或诱导型衰竭、牙周病以及由退行性疾病、炎性疾病、增殖性疾病、传染病、恶性疾病、外伤和衰老引起的任何其他一种或多种组织质量和功能的损失。

[0223] 在某些实施方式中,包括干细胞混合物的组合物可用于治疗损伤的关节、慢性溃疡、大面积烧伤、角膜伤害、神经伤害、神经退行性疾病和/或癌症。

[0224] 在某些实施方式中,包括干细胞混合物的组合物可用于组织的再生,所述组织可选自软骨、心肌、肝脏、胰岛素分泌朗格汉斯细胞和/或神经细胞。

[0225] 应当理解的是,本发明的组合物可单独地,或与其他组合物结合地使用,并且用于组织再生的方法是本领域已知的。

[0226] 能够以同源的和/或异源的方式使用本发明的组合物。

[0227] 个性化医疗

[0228] 个性化医疗涉及系统地使用关于每个单独病人的信息,从而选择或优化病人的预防性和治疗性护理。在个性化医疗的现代观念中,提供给医师的工具更加精确,探测不仅仅是显而易见的,如乳房X线照片上的肿瘤或在显微镜下的细胞,而是每个病人的确切分子组成。

[0229] 个性化医疗的目的是能够为病人提供更精确的治疗,与个体的特性下至分子特性匹配的治疗。使用同源干细胞作为用于治愈和再生身体部分的基础,为再生医疗提供了个性化医疗方法。在某种情况下,可接受使用异源提供物。此外,个性化医疗暗示提供了针对人的特征特定的优化治疗的选项。

[0230] 根据另一个方面,本发明提供了个性化医疗的方法,所述方法包括恢复在本发明

的干细胞库中存储的干细胞,其中所述干细胞来源于单个个体;并且将所述干细胞给予所述个体。

[0231] 在某些实施方式中,所述方法包括恢复在本发明的干细胞库中存储的一个或多个干细胞单元,其中所述一个或多个干细胞单元来源于单个个体;以及将所述一个或多个干细胞单元给予所述个体。

[0232] 在某些实施方式中,在将干细胞给予个体之前,使它们经受进一步的处理。例如,可使细胞经受分化过程。

[0233] 提供的干细胞,或干细胞单元,可能是相同或不同的。在某些实施方式中,提供的干细胞,或干细胞单元,具有相同类型。在其他实施方式中,使用不同类型的干细胞,或干细胞单元的组合。

[0234] 在某些实施方式中,提供了用于个性化医疗的组合物,所述组合物包括由本发明的库重建的干细胞。

[0235] 在某些实施方式中,在诊断需要使用干细胞治疗的某些病症之后,进行分析,从而确定可以包括在将给予病人的组合物中的干细胞的最好的组合。