



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106999534 A

(43)申请公布日 2017.08.01

(21)申请号 201580061796.4

(74)专利代理机构 深圳永慧知识产权代理事务所(普通合伙) 44378

(22)申请日 2015.09.16

代理人 黄鑫

(30)优先权数据

62/051,077 2014.09.16 US

62/113,298 2015.02.06 US

62/211,660 2015.08.28 US

(51)Int.Cl.

A61K 38/00(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2017.05.12

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2015/050532 2015.09.16

(87)PCT国际申请的公布数据

W02016/044493 EN 2016.03.24

(71)申请人 倍奥英赛普特有限责任公司

地址 美国新泽西州

权利要求书7页 说明书55页

序列表8页 附图48页

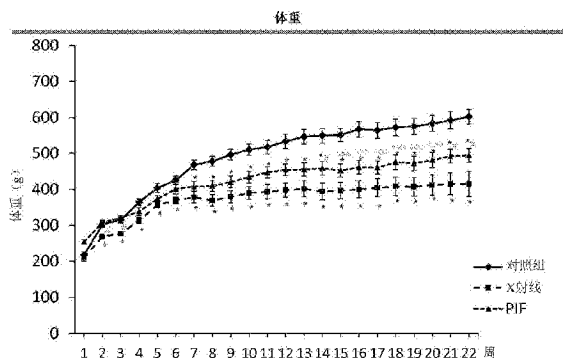
(72)发明人 伊藤·R·巴尼

(54)发明名称

用于治疗急性辐射综合症的组合物和方法

(57)摘要

实施例是针对一种治疗急性辐射综合症的方法,所述方法包括在暴露于辐射之后,向受试者施用PIF肽。一些实施例描述一种在辐射暴露之后治疗急性辐射综合症的方法,所述方法包括将在移植之前已暴露于PIF肽的骨髓移植到受试者体内。其它实施例描述一种通过使移植的器官、组织或细胞预先暴露于PIF肽来增加所述器官、组织或细胞的移入的方法。



1. 一种在暴露于辐射之后治疗和/或预防有需要的受试者的急性辐射综合症的方法, 所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的PIF肽、其模拟物、其药学上可接受的盐及其组合。

2. 如权利要求1所述的方法, 其中所述受试者不接受骨髓移植。

3. 如权利要求1或2中所述的方法, 其中所述治疗有效量是约0.10毫克/公斤/天至约10.00毫克/公斤/天。

4. 如权利要求1至3中任一项所述的方法, 其中所述治疗有效量是约0.75毫克/公斤/天至约1.50毫克/公斤/天。

5. 如权利要求1至4中任一项所述的方法, 其中所述治疗有效量是约0.75毫克/公斤/天至约1.00毫克/公斤/天。

6. 如权利要求1至5中任一项所述的方法, 其中所述PIF肽是在暴露于辐射之后约24小时内施用。

7. 如权利要求1至6中任一项所述的方法, 其中所述PIF肽间歇地或连续地施用约2天至约14天时间。

8. 如权利要求1至7中任一项所述的方法, 其中如果所述PIF肽是间歇地施用, 那么给药方案包括每天约1剂或每两天约1剂, 持续至少约十二周。

9. 如权利要求1至8中任一项所述的方法, 其中所述PIF肽是静脉内、肌肉内或皮下施用。

10. 如权利要求1至9中任一项所述的方法, 其中所述PIF肽是以间歇或连续输注施用。

11. 如权利要求1至10中任一项所述的方法, 其中所述急性辐射综合症是由暴露于致死性或亚致死性辐射引起。

12. 如权利要求1至11中任一项所述的方法, 其中所述急性辐射综合症是由暴露于约100rads至约6000rads的辐射剂量引起。

13. 如权利要求1至12中任一项所述的方法, 其中所述急性辐射综合症包括急性辐射暴露的远期效应, 包含对任何器官、组织或细胞的破坏。

14. 如权利要求1至13中任一项所述的方法, 其中所述PIF肽包括与以下具有至少86%序列同源性的氨基酸序列之一或其组合: SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、其模拟物及其药学上可接受的盐。

15. 一种用于治疗急性辐射疾病或急性辐射综合症的药物组合物, 所述药物组合物包括治疗有效量的PIF肽, 所述PIF肽包括与以下具有至少86%序列同源性的氨基酸序列或由所述氨基酸序列组成: SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID

NO:29、其模拟物及其药学上可接受的盐,及其组合。

16. 如权利要求15所述的药物组合物,其中所述受试者不接受骨髓移植。

17. 如权利要求15或16中所述的药物组合物,其中所述治疗有效量是约0.10毫克/公斤/天至约10.00毫克/公斤/天。

18. 如权利要求15至17中任一项所述的药物组合物,其中所述治疗有效量是约0.75毫克/公斤/天至约1.50毫克/公斤/天。

19. 如权利要求15至18中任一项所述的药物组合物,其中所述治疗有效量是约0.75毫克/公斤/天至约1.00毫克/公斤/天。

20. 如权利要求15至19中任一项所述的药物组合物,其中所述PIF肽是在暴露于辐射之后约24小时内施用。

21. 如权利要求15至20中任一项所述的药物组合物,其中所述PIF肽间歇地或连续地施用约2天至约14天时间。

22. 如权利要求15至21中任一项所述的药物组合物,其中如果所述PIF肽是间歇地施用,那么给药方案包括每天约1剂或每两天约1剂,持续至少约十二周。

23. 如权利要求15至22中任一项所述的药物组合物,其中所述PIF肽是静脉内、肌肉内或皮下施用。

24. 如权利要求15至23中任一项所述的药物组合物,其中所述PIF肽是以间歇或连续输注施用。

25. 如权利要求15至24中任一项所述的药物组合物,其中所述急性辐射综合症是由暴露于致死性或亚致死性辐射引起。

26. 如权利要求15至25中任一项所述的药物组合物,其中所述急性辐射综合症是由暴露于约100rads至约6000rads的辐射剂量引起。

27. 如权利要求15至26中任一项所述的药物组合物,其中所述急性辐射综合症包括急性辐射暴露的远期效应,包含对任何器官、组织或细胞的破坏。

28. 一种药物组合物的用途,所述药物组合物包括治疗有效量的PIF肽,所述PIF肽包括与以下具有至少86%序列同源性的氨基酸序列或由所述氨基酸序列组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、其模拟物及其药学上可接受的盐,及其组合,所述药物组合物是用于制造供治疗急性辐射疾病或急性辐射综合症用的药物。

29. 如权利要求28所述的用途,其中所述受试者不接受或未接受过骨髓移植。

30. 如权利要求28或29中所述的用途,其中所述治疗有效量是约0.10毫克/公斤/天至约10.00毫克/公斤/天。

31. 如权利要求28至30中任一项所述的用途,其中所述治疗有效量是约0.75毫克/公斤/天至约1.50毫克/公斤/天。

32. 如权利要求28至31中任一项所述的用途,其中所述治疗有效量是约0.75毫克/公斤/天至约1.00毫克/公斤/天。

33. 如权利要求28至32中任一项所述的用途,其中所述PIF肽是在暴露于辐射之后约24小时内施用。

34. 如权利要求28至33中任一项所述的用途,其中所述PIF肽间歇地或连续地施用药约2天至约14天时间。

35. 如权利要求34所述的用途,其中如果所述PIF肽是间歇地施用,那么给药方案包括每天约1剂或每两天约1剂,持续至少约十二周。

36. 如权利要求28至35中任一项所述的用途,其中所述PIF肽是静脉内、肌肉内或皮下施用。

37. 如权利要求28至36中任一项所述的用途,其中所述PIF肽是以间歇或连续输注施用。

38. 如权利要求28至37中任一项所述的用途,其中所述急性辐射综合症是由暴露于致死性或亚致死性辐射引起。

39. 如权利要求28至38中任一项所述的用途,其中所述急性辐射综合症是由暴露于约100rads至约6000rads的辐射剂量引起。

40. 如权利要求28至39中任一项所述的用途,其中所述急性辐射综合症包括急性辐射暴露的远期效应,包含对任何器官、组织或细胞的破坏。

41. 一种在辐射暴露之后治疗和/或预防急性辐射综合症的方法,所述方法包括将一个或多个骨髓细胞移植至有需要的受试者体内,其中所述一个或多个骨髓细胞在移植之前预先暴露于治疗有效量的PIF肽,并且所述PIF肽包括与选自以下的氨基酸序列具有至少86%序列同源性的氨基酸序列或由所述氨基酸序列组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、其模拟物及其药学上可接受的盐,及其组合。

42. 如权利要求41所述的方法,其中所述急性辐射综合症是由暴露于致死性或亚致死性辐射引起。

43. 如权利要求41或42中所述的方法,其中所述急性辐射综合症是由暴露于约100rads至约6000rads的辐射剂量引起。

44. 如权利要求41至43中任一项所述的方法,其中所述急性辐射综合症包括急性辐射暴露的远期效应。

45. 如权利要求41至44中任一项所述的方法,其中所述PIF肽的治疗有效量是约0.10毫克/公斤/天至约10.00毫克/公斤/天。

46. 如权利要求41至45中任一项所述的方法,其中所述一个或多个骨髓细胞在移植之前在一定条件下预先暴露于一定浓度的PIF肽一段时间,所述条件和时间足以预处理所述骨髓细胞。

47. 如权利要求41至46中任一项所述的方法,其中所述一个或多个骨髓细胞在移植之前在一定条件下预先暴露于一定浓度的PIF肽一段时间,所述条件和时间足以刺激所述骨髓细胞分泌皮质醇。

48. 如权利要求41至47中任一项所述的方法,其中所述骨髓预先暴露于约10nM至约1000nM PIF的浓度的PIF肽之一或其组合约1小时至约4小时。

49. 如权利要求41至48中任一项所述的方法,其中所述受试者在骨髓移植之后约8周或更长时间不接受用所述PIF肽进行的额外治疗。

50. 一种治疗和/或预防成人或幼年型I型或II型糖尿病的方法,所述方法包括将一个或多个胰岛细胞移植至有需要的受试者体内,其中所述胰岛细胞在移植之前预先暴露于治疗有效量的PIF肽,并且其中所述PIF肽包括与以下具有至少86%序列同源性的氨基酸序列或由所述氨基酸序列组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、其模拟物及其药学上可接受的盐,及其组合。

51. 如权利要求50所述的方法,其中所述受试者患有幼年型I型糖尿病。

52. 如权利要求50或51中所述的方法,其中所述受试者患有成人I型糖尿病。

53. 如权利要求50至52中任一项所述的方法,其中所述一个或多个胰岛细胞在移植之前在一定条件下预先暴露于一定浓度的PIF肽一段时间,其条件及时间足以预处理供移植的所述胰岛细胞。

54. 如权利要求50至53中任一项所述的方法,其中所述一个或多个胰岛细胞在移植之前在一定条件下预先暴露于一定浓度的PIF肽一段时间,所述条件和时间足以刺激所述胰岛细胞分泌皮质醇。

55. 如权利要求50至53中任一项所述的方法,其中所述一个或多个胰岛细胞在移植之前在一定条件下预先暴露于一定浓度的PIF肽一段时间,其条件及时间足以刺激所述胰岛细胞分泌胰岛素。

56. 如权利要求50至55中任一项所述的方法,其中所述一个或多个胰岛细胞预先暴露于约10nM至约1000nM浓度的PIF肽之一或其组合,保持约1小时至约4小时。

57. 如权利要求50至56中任一项所述的方法,其中所述受试者在移植胰岛细胞之后约8周或更长时间不接受用所述PIF肽进行的额外治疗。

58. 一种增加移植的器官、组织或细胞成功移入的可能性的方法,所述方法包括将器官、组织或细胞移植至有需要的受试者体内,其中所述器官、组织或细胞在移植之前预先暴露于PIF肽,其中所述PIF肽包括与选自以下的氨基酸序列具有至少86%序列同源性的氨基酸序列或由所述氨基酸序列组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、其模拟物及其药学上可接受的盐,及其组合。

59. 如权利要求58所述的方法,其中所述移植是骨髓移植。

60. 如权利要求58所述的方法,其中所述移植是胰岛细胞移植。

61. 如权利要求58所述的方法,其中所述移植是肾上腺细胞移植。
62. 如权利要求58所述的方法,其中所述移植是心脏移植。
63. 如权利要求58至62中任一项所述的方法,其中治疗有效量的PIF肽是与所述移植同时或在所述移植之后施用给所述受试者,并且其中所述PIF肽的治疗有效剂量是约0.1毫克/公斤至约10毫克/公斤。
64. 如权利要求58至63中任一项所述的方法,其中所述一个或多个器官、组织或细胞在移植之前在一定条件下预先暴露于一定浓度的PIF肽一段时间,其条件及时间足以预处理供移植的所述器官、组织或细胞。
65. 如权利要求58至64中任一项所述的方法,其中所述一个或多个器官、组织或细胞在移植之前在一定条件下预先暴露于一定浓度的PIF肽一段时间,所述条件和时间足以刺激器官、组织或细胞分泌皮质醇。
66. 如权利要求58至65中任一项所述的方法,其中所述一个或多个胰岛细胞在移植之前在一定条件下预先暴露于一定浓度的PIF肽一段时间,所述条件和时间足以刺激所述器官、组织或细胞分泌内源性激素。
67. 如权利要求58至66中任一项所述的方法,其中所述一个或多个胰岛细胞预先暴露于约10nM至约1000nM浓度的PIF肽之一或其组合,保持约1小时至约4小时。
68. 如权利要求58至67中任一项所述的方法,其中所述器官、组织或细胞是从选自以下的细胞之一或其组合选出:骨髓细胞、皮肤细胞、肾上腺细胞、胰脏细胞、胰岛细胞、胃肠细胞、脑细胞、心脏细胞、肺细胞、肾细胞、脾细胞及肝细胞。
69. 如权利要求58至67中任一项所述的方法,其中所述器官、组织或细胞是从选自以下的器官之一或其组合选出:骨髓、皮肤、肾上腺、胰脏、心脏、肺、肾、脾及肝。
70. 一种在将器官、组织或细胞移植至需要移植的受试者体内之前增加其活力的方法,所述方法包括在移植之前,用治疗有效量的PIF肽处理所述器官、组织或细胞,其中所述PIF肽包括与选自以下的氨基酸序列具有至少86%序列同源性的氨基酸序列或由所述氨基酸序列组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、其模拟物及其药学上可接受的盐,及其组合。
71. 一种增加受试者体内接受供体器官、组织或细胞移植的可能性的方法,所述方法包括在将所述器官、组织或细胞移植至所述受试者体内之前,使所述器官、组织或细胞暴露于包括至少一种PIF肽或其突变体或其药学上可接受的盐的一种或多种组合物。
72. 一种降低排斥移入组织的可能性的方法,所述方法包括在将所述组织移植至受试者体内之前,使所述移入的组织暴露于包括治疗有效量的至少一种PIF肽或其突变体或其药学上可接受的盐的一种或多种药物组合物。
73. 一种增加受试者体内造血细胞的产生的方法,所述方法包括施用包括治疗有效量的至少一种PIF肽或其突变体或其药学上可接受的盐的一种或多种药物组合物。
74. 如权利要求73所述的方法,其中所述造血细胞选自由红细胞和血小板组成的群组。

75. 一种治疗和/或预防血液病症的方法,所述方法包括将一个或多个造血细胞移植至有需要的受试者体内,其中所述造血细胞在移植之前预先暴露于治疗有效量的PIF肽,并且其中所述PIF肽包括与选自以下的氨基酸序列具有至少86%序列同源性的氨基酸序列或由所述氨基酸序列组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、其模拟物及其药学上可接受的盐,及其组合。

76. 根据权利要求75所述的方法,其中所述受试者患有或怀疑患有血液癌症。

77. 如权利要求75或76中所述的方法,其中所述受试者患有或怀疑患有白血病。

78. 如权利要求75至77中任一项所述的方法,其中所述受试者患有或怀疑患有骨髓细胞和/或血细胞消减。

79. 如权利要求75至78中任一项所述的方法,其中所述受试者患有或怀疑患有辐射诱导的骨髓细胞消减。

80. 如权利要求75至79中任一项所述的方法,其中所述一个或多个造血细胞在移植之前在一定条件下预先暴露于一定浓度的PIF肽一段时间,其条件及时间足以预处理供移植的所述造血细胞。

81. 如权利要求75至80中任一项所述的方法,其中所述一个或多个造血细胞在移植之前在一定条件下预先暴露于一定浓度的PIF肽一段时间,所述条件和时间足以刺激所述造血细胞分泌皮质醇。

82. 如权利要求75至81中任一项所述的方法,其中所述一个或多个造血细胞预先暴露于约10nM至约1000nM浓度的PIF肽之一或其组合,保持约1小时至约4小时。

83. 如权利要求75至82中任一项所述的方法,其中所述受试者在骨髓移植之后约8周或更长时间不接受用所述PIF肽进行的额外治疗。

84. 一种治疗和/或预防肾上腺细胞病症的方法,所述方法包括将一个或多个肾上腺细胞移植至有需要的受试者体内,其中所述肾上腺细胞在移植之前预先暴露于治疗有效量的PIF肽,并且其中所述PIF肽包括与选自以下的氨基酸序列具有至少86%序列同源性的氨基酸序列或由所述氨基酸序列组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、其模拟物及其药学上可接受的盐,及其组合。

85. 如权利要求84所述的方法,其中所述受试者患有或怀疑患有先天性肾上腺增生。

86. 如权利要求84所述的方法,其中所述受试者患有或怀疑患有与引起激素分泌功能异常有关的癌症。

87. 如权利要求84所述的方法,其中所述受试者患有或怀疑患有肾上腺病症。

88. 如权利要求84所述的方法,其中所述受试者患有或怀疑患有垂体腺病症。

89. 如权利要求85至88中任一项所述的方法,其中所述一个或多个肾上腺细胞在移植之前在一定条件下预先暴露于一定浓度的PIF肽一段时间,其条件及时间足以预处理供移植的所述肾上腺细胞。

90. 如权利要求85至89中任一项所述的方法,其中所述一个或多个肾上腺细胞在移植之前在一定条件下预先暴露于一定浓度的PIF肽一段时间,所述条件和时间足以刺激所述肾上腺细胞分泌皮质醇。

91. 如权利要求85至90中任一项所述的方法,其中所述一个或多个肾上腺细胞预先暴露于约10nM至约1000nM浓度的PIF肽之一或其组合,保持约1小时至约4小时。

92. 如权利要求85至91中任一项所述的方法,其中所述受试者在骨髓移植之后约8周或更长时间不接受用所述PIF肽进行的额外治疗。

93. 一种治疗和/或预防心脏病或心脏衰竭的方法,所述方法包括将一个或多个心脏细胞移植至有需要的受试者体内,其中所述心脏细胞在移植之前预先暴露于治疗有效量的PIF肽,并且其中所述PIF肽包括与选自以下的氨基酸序列具有至少86%序列同源性的氨基酸序列或由所述氨基酸序列组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、其模拟物及其药学上可接受的盐,及其组合。

94. 根据权利要求93所述的方法,其中所述受试者患有或怀疑患充血性心脏衰竭。

95. 如权利要求93或94中所述的方法,其中所述一个或多个心脏细胞在移植之前在一定条件下预先暴露于一定浓度的PIF肽一段时间,其条件及时间足以预处理供移植的所述心脏细胞。

96. 如权利要求93至95中任一项所述的方法,其中所述一个或多个心脏细胞在移植之前在一定条件下预先暴露于一定浓度的PIF肽一段时间,所述条件和时间足以刺激所述心脏细胞分泌皮质醇。

97. 如权利要求93至96中任一项所述的方法,其中所述一个或多个心脏细胞预先暴露于约10nM至约1000nM浓度的PIF肽之一或其组合,保持约1小时至约4小时。

98. 如权利要求93至97中任一项所述的方法,其中所述受试者在骨髓移植之后约8周或更长时间不接受用所述PIF肽进行的额外治疗。

用于治疗急性辐射综合症的组合物和方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2014年9月16日提交的题为“用于治疗急性辐射综合症的方法 (Methods for Treating Acute Radiation Syndrome)”的美国临时申请号62/051,077、2015年2月6日提交的题为“作为免疫调节异常的标记物的PIF结合 (PIF Binding as a Marker for Immune Dysregulation)”的美国临时申请号62/113,298及2015年8月28日提交的题为“用于治疗神经损伤的组合物及方法 (Compositions and Methods for the Treatment of Neurodamage)”的美国临时申请号62/211,660的优先权和权益。各申请的内容分别以引用的方式整体并入本文中。

发明内容

[0003] 在一个实施例中,在受试者暴露于辐射之后治疗有需要的受试者的急性辐射综合症的方法可以包括施用治疗有效量的选自以下的植入前因子 (PreImplantation Factor, PIF) 肽:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、其模拟物及其组合。

[0004] 在一个实施例中,包括治疗有效量的PIF肽的药物组合物可以用于治疗急性辐射综合症,所述PIF肽选自SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、其模拟物及其组合。

[0005] 在一个实施例中,包含治疗有效量的PIF肽的药物组合物可以用于制造供治疗急性辐射综合症用的药物,所述PIF肽选自SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、其模拟物及其组合。

[0006] 在一个实施例中,在辐射暴露之后治疗急性辐射综合症的方法可以包括将一个或多个骨髓细胞移植至有需要的受试者体内,其中所述骨髓在移植之前预先暴露于治疗有效量的PIF肽,并且其中所述PIF肽选自SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、

SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、其模拟物及其组合。

[0007] 在一个实施例中,治疗和/或预防心脏病症或心脏衰竭的方法可以包括将一个或多个心脏细胞移植至有需要的受试者体内,其中所述心脏细胞在移植之前预先暴露于治疗有效量的PIF肽,并且其中所述PIF肽选自以下之一或其组合:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、其模拟物及其组合。

[0008] 在一个实施例中,治疗和/或预防肾上腺细胞病症的方法可以包括将一个或多个肾上腺细胞移植至有需要的受试者体内,其中所述肾上腺细胞在移植之前预先暴露于治疗有效量的PIF肽,并且其中所述PIF肽选自以下之一或其组合:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、其模拟物及其组合。

[0009] 在一个实施例中,治疗和/或预防血液病症的方法可以包括将一个或多个造血细胞移植至有需要的受试者体内,其中所述造血细胞在移植之前预先暴露于治疗有效量的PIF肽,并且其中所述PIF肽选自以下之一或其组合:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、其模拟物及其组合。

[0010] 在一个实施例中,在将器官、组织或细胞移植至需要移植的受试者体内之前增加所述器官、组织或细胞的活力的方法可以包括在移植之前,用治疗有效量的PIF肽处理所述器官、组织或细胞,其中所述PIF肽选自以下之一或其组合:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、其模拟物及其组合。

[0011] 在一个实施例中,增加受试者体内接受供体器官、组织或细胞移植的可能性的方法可以包括在将所述器官、组织或细胞移植至所述受试者体内之前,使所述器官、组织或细胞暴露于包含至少一种PIF肽或其突变体或其药学上可接受的盐的一种或多种组合物,其

中所述PIF肽选自以下之一或其组合:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、其模拟物及其组合。

[0012] 减小排斥移入组织的可能性的方法可以包括在将所述组织移植至受试者体内之前,使移入的组织暴露于包括治疗有效量的至少一种PIF肽或其突变体或其药学上可接受的盐的一种或多种药物组合物,其中所述PIF肽选自以下之一或其组合:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、其模拟物及其组合。

[0013] 增加受试者体内造血细胞的产生的方法可以包括施用包括治疗有效量的至少一种PIF肽或其突变体或其药学上可接受的盐的一种或多种药物组合物,其中所述PIF肽选自以下之一或其组合:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、其模拟物及其组合。

[0014] 增加移植的器官、组织或细胞成功移入的可能性的方法可以包括将器官、组织或细胞移植至有需要的受试者体内,其中所述器官、组织或细胞在移植之前预先暴露于PIF肽,其中所述PIF肽选自以下之一或其组合:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、其模拟物及其组合。

[0015] 治疗和/或预防成人或幼年型I型或II型糖尿病的方法可以包括将一个或多个胰岛细胞移植至有需要的受试者体内,其中所述胰岛细胞在移植之前预先暴露于治疗有效量的PIF肽,并且其中所述PIF肽选自以下之一或其组合:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、其模拟物及其组合。

[0016] 在以上所描述的实施例中的任一个中,受试者可以接受或可以不接受骨髓移植

(BMT)。在以上所描述的实施例中的任一个中,急性辐射综合症可以由暴露于致死性或亚致死性辐射引起。在以上所描述的实施例中的任一个中,急性辐射综合症可以由暴露于约100rads至约6000rads的辐射剂量引起。在以上所描述的实施例中的任一个中,急性辐射综合症可以包括或不包括急性辐射暴露的远期效应,包含对任何器官、组织或细胞的破坏。

[0017] 在一个实施例中,增加移植受体接受供体组织的可能性的方法可以包括在将所述组织移植至受体体内之前,使供体组织暴露于包括PIF肽或其突变体的一种或多种组合物。

[0018] 在一个实施例中,减小排斥移入组织的可能性的方法可以包括在移植所述组织之前,使所述组织暴露于包括治疗有效量的PIF肽或其突变体的一种或多种药物组合物。

[0019] 在一个实施例中,增加造血细胞数量消减的受试者体内造血细胞的产生的方法可以包括施用包括治疗有效量的PIF肽或其突变体的一种或多种药物组合物。在一些实施例中,造血细胞可以是红细胞。在一些实施例中,造血细胞可以是血小板。

[0020] 在一些实施例中,向所述受试者施用至少一种PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐的步骤包括施用治疗有效剂量的至少一个PIF分子、其类似物或其药学上可接受的盐。

[0021] 在一些实施例中,向所述受试者施用至少一种PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐的步骤包括施用约0.001mg/kg至约200mg/kg的治疗有效剂量的PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐。

[0022] 在一些实施例中,向所述受试者施用至少一种PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐的步骤包括施用约0.5mg/kg至约5mg/kg的治疗有效剂量的PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐。

[0023] 在一些实施例中,PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐包括化学靶向部分和/或放射性部分。

[0024] 在一些实施例中,针对 β -连环蛋白或其药学上可接受的盐的核转位的至少一种抑制剂包括至少一个含以下同位素中的至少一种或其组合的放射性部分: ^2H 、 ^3H 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{16}O 、 ^{17}O 、 ^{31}P 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{18}F 及 ^{36}Cl 。

[0025] 在一些实施例中,所述方法另外包括施用至少一种镇痛剂和/或一种消炎化合物。

[0026] 在一些实施例中,所述方法另外包括在施用治疗有效剂量的至少一种PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐之前、之后或同时,施用至少一种镇痛剂和或一种消炎化合物。

[0027] 在一些实施例中,治疗有效剂量是约1.0mg/kg至约5.5mg/kg,其中kg是受试者的公斤数并且毫克是治疗有效剂量的毫克数。

[0028] 在一些实施例中,PIF肽包括SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、其模拟物或其药学上可接受的盐,和/或其组合。在一些实施例中,PIF肽包括SEQ ID NO:1、其模拟物或其药学上可接受的盐,和/或其组合。在一些实施例中,PIF肽包括SEQ ID NO:2、其模拟物或其药学上可接受的盐,和/或其组合。在一些实施例中,PIF肽包括SEQ ID NO:3、其模拟物或其药学上可接受的盐,和/或其组合。在一些实施例中,

PIF肽包括SEQ ID NO:4、其模拟物或其药学上可接受的盐,和/或其组合。在一些实施例中,PIF肽包括SEQ ID NO:5、其模拟物或其药学上可接受的盐,和/或其组合。在一些实施例中,PIF肽包括SEQ ID NO:6、其模拟物或其药学上可接受的盐,和/或其组合。在一些实施例中,PIF肽包括SEQ ID NO:7、其模拟物或其药学上可接受的盐,和/或其组合。在一些实施例中,PIF肽包括SEQ ID NO:8、其模拟物或其药学上可接受的盐,和/或其组合。在一些实施例中,PIF肽包括SEQ ID NO:9、其模拟物或其药学上可接受的盐,和/或其组合。在一些实施例中,PIF肽包括SEQ ID NO:10、其模拟物或其药学上可接受的盐,和/或其组合。在一些实施例中,PIF肽包括SEQ ID NO:11、其模拟物或其药学上可接受的盐,和/或其组合。在一些实施例中,PIF肽包括SEQ ID NO:12、其模拟物或其药学上可接受的盐,和/或其组合。在一些实施例中,PIF肽包括SEQ ID NO:13、其模拟物或其药学上可接受的盐,和/或其组合。在一些实施例中,PIF肽包括SEQ ID NO:14、其模拟物或其药学上可接受的盐,和/或其组合。在一些实施例中,PIF肽包括SEQ ID NO:15、其模拟物或其药学上可接受的盐,和/或其组合。在一些实施例中,PIF肽包括SEQ ID NO:16、其模拟物或其药学上可接受的盐,和/或其组合。在一些实施例中,PIF肽包括SEQ ID NO:17、其模拟物或其药学上可接受的盐,和/或其组合。在一些实施例中,PIF肽包括SEQ ID NO:18、其模拟物或其药学上可接受的盐,和/或其组合。在一些实施例中,PIF肽包括SEQ ID NO:19、其模拟物或其药学上可接受的盐,和/或其组合。在一些实施例中,PIF肽包括SEQ ID NO:20、其模拟物或其药学上可接受的盐,和/或其组合。在一些实施例中,PIF肽包括SEQ ID NO:21、其模拟物或其药学上可接受的盐,和/或其组合。在一些实施例中,PIF肽包括SEQ ID NO:21、其模拟物或其药学上可接受的盐,和/或其组合。在一些实施例中,PIF肽包括SEQ ID NO:22、其模拟物或其药学上可接受的盐,和/或其组合。在一些实施例中,PIF肽包括SEQ ID NO:23、其模拟物或其药学上可接受的盐,和/或其组合。在一些实施例中,PIF肽包括SEQ ID NO:24、其模拟物或其药学上可接受的盐,和/或其组合。在一些实施例中,PIF肽包括SEQ ID NO:25、其模拟物或其药学上可接受的盐,和/或其组合。在一些实施例中,PIF肽包括SEQ ID NO:26、其模拟物或其药学上可接受的盐,和/或其组合。在一些实施例中,PIF肽包括SEQ ID NO:27、其模拟物或其药学上可接受的盐,和/或其组合。在一些实施例中,PIF肽包括SEQ ID NO:28、其模拟物或其药学上可接受的盐,和/或其组合。在一些实施例中,PIF肽包括SEQ ID NO:29、其模拟物或其药学上可接受的盐,和/或其组合。

[0029] 本公开还涉及一种治疗或预防有需要的受试者的急性辐射综合症的方法,所述方法包括向所述受试者施用至少一种药物组合物,所述药物组合物包括:植入前因子(PIF)肽、其类似物或其药学上可接受的盐;及药学上可接受的载剂。

[0030] 在一些实施例中,药学上可接受的载剂是无菌并且无热原质的水。

[0031] 在一些实施例中,PIF肽或其类似物或其药学上可接受的盐之一或其组合的治疗有效剂量是约0.2mg/kg,其中kg是受试者的公斤数并且mg是治疗有效剂量的毫克数。在一些实施例中,PIF肽或其类似物或其药学上可接受的盐之一或其组合的治疗有效剂量是约0.3mg/kg,其中kg是受试者的公斤数并且mg是治疗有效剂量的毫克数。在一些实施例中,PIF肽或其类似物或其药学上可接受的盐之一或其组合的治疗有效剂量是约0.4mg/kg,其中kg是受试者的公斤数并且mg是治疗有效剂量的毫克数。在一些实施例中,PIF肽或其类似物或其药学上可接受的盐之一或其组合的治疗有效剂量是约0.5mg/kg,其中kg是受试者的

[illegible]

[0032] 在一些实施例中,PIF肽、其模拟物或其组合可以在暴露于辐射之后约24小时内施用。在一些实施例中,PIF肽、其模拟物或其组合可以间歇地或连续地施用药约2-14天。在一些实施例中,PIF肽、其模拟物或其组合可以间歇地或连续地施用药约2天。在一些实施例中,PIF肽、其模拟物或其组合可以间歇地或连续地施用药约3天。在一些实施例中,PIF肽、其模拟物或其组合可以间歇地或连续地施用药约4天。在一些实施例中,PIF肽、其模拟物或其组合可以间歇地或连续地施用药约5天。在一些实施例中,PIF肽、其模拟物或其组合可以间歇地或连续地施用药约6天。在一些实施例中,PIF肽、其模拟物或其组合可以间歇地或连续地施用药约7天。在一些实施例中,PIF肽、其模拟物或其组合可以间歇地或连续地施用药约8天。在一些实施例中,PIF肽、其模拟物或其组合可以间歇地或连续地施用药约9天。在一些实施例中,PIF肽、其

模拟物或其组合可以间歇地或连续地施用约10天。在一些实施例中,PIF肽、其模拟物或其组合可以间歇地或连续地施用约11天。在一些实施例中,PIF肽、其模拟物或其组合可以间歇地或连续地施用约12天。在一些实施例中,PIF肽、其模拟物或其组合可以间歇地或连续地施用约13天。在一些实施例中,PIF肽、其模拟物或其组合可以间歇地或连续地施用约14天。在一些实施例中,PIF肽、其模拟物或其组合可以间歇地施用,给药方案包含每天约1剂或每2天约1剂,持续至少约12周。

[0033] 本公开还涉及一种药物组合物,所述药物组合物包括(i)治疗有效剂量的PIF肽或其类似物或其药学上可接受的盐之一或其组合;及(ii)药学上可接受的载剂。

[0034] 在一些实施例中,药学上可接受的载剂是无菌并且无热原质的水或乳酸林格氏溶液(Lactated Ringer's solution)。

[0035] 在一些实施例中,所述组合物另外包含治疗有效剂量的一种或多种活性剂。

[0036] 在一些实施例中,所述一种或多种活性剂是选自以下的化合物之一或其组合:消炎化合物、 α -肾上腺素激动剂、抗心律失常化合物、镇痛化合物及麻醉化合物。

[0037] 在一些实施例中,所述组合物另外包含一个或多个干细胞。

[0038] 在一些实施例中,干细胞是自体干细胞。

[0039] 在一些实施例中,所述药物组合物是经由不经肠注射、皮下注射、静脉内注射、肌肉内注射、腹膜内注射、透皮、经口、经颊、眼部途径、阴道内、通过吸入、通过积存式注射或通过植入物施用。

[0040] 在一些实施例中,所述组合物另外包括选自以下的活性剂之一或其组合:消炎化合物、 α -肾上腺素激动剂、抗心律失常化合物、镇痛化合物及麻醉化合物。

附图说明

[0041] 图1说明PIF防止致死性辐射。图1A:从8Gy辐射暴露之后2小时开始,每天2次用PIF治疗持续14天的小鼠(C57BL/6, n=36)具有100%存活率。对照小鼠(n=14)接受辐射(PBS, 媒剂)但未治疗,并且发生ARS并在第23天死亡。图1B:从8Gy辐射暴露之后2小时开始,每天2次用PIF治疗(低剂量、高剂量:0.75mg/kg、1.25mg/kg)雌性小鼠(n=18, 雄性小鼠中具有类似结果),持续14天。重要的是,PIF治疗组展现正常的血液指标,表明PIF对血细胞生成和免疫功能的保护作用。免疫保护作用由淋巴细胞和嗜中性粒细胞数量的维持得到证实。此外,PIF治疗组中红细胞压积水平和血小板数量得到保持。图1C、1D及1E:分别显示从第0天到第19天对照组、低剂量PIF治疗组及高剂量PIF治疗组对免疫表型、RBC及血小板的影响。相关图式缩写:WBC=白细胞;NE=嗜中性粒细胞;LY=淋巴细胞;MO=单核细胞;EO=嗜酸性细胞;BA=嗜碱细胞;RBC=红细胞;HB=血红蛋白;HCT=红细胞压积;MCV=平均红细胞体积;MCH=平均红细胞血红蛋白量;MCHC=平均红细胞血红蛋白浓度;PLT=血小板;MPV=平均血小板体积。

[0042] 图2A说明在照射之后的存活率曲线。小鼠经历多种剂量的全身照射。在照射后监测存活率30天。在6-7Gy下,所有小鼠在30天时存活。图2B说明在亚致死性照射之后,PIF改善血小板计数。在暴露于6Gy-8Gy照射剂量之后,起始用PIF进行的24小时连续治疗,持续2周,随后是1周的后治疗。将PIF治疗的作用与PBS对照相比较。测定血小板计数并关于6Gy、7Gy及8Gy照射进行显示。

[0043] 图3说明在亚致死性照射之后,PIF增强血液学恢复。用6Gy剂量照射小鼠。从照射之后24小时开始,连续地施用每天1mg/kg PIF或PBS,持续两周。图3A中描述实验方案。图3B显示经照射小鼠的WBC复原情况跟踪。图3C显示照射之后2周及4周的WBC计数。图3D显示照射后4周的淋巴细胞和粒细胞百分比。结果表示2-3个独立实验。 $*P<0.05$, $**P<0.01$ 。

[0044] 图4说明在亚致死性照射之后,PIF减少炎症并增进B7H1表达。用6Gy或7Gy剂量照射小鼠。从照射之后24小时开始,一天两次皮下施用0.75mg/kg PIF或PBS,持续三天。图4A描述实验方案。用FlowCytomix Multiplex试剂盒测量6Gy组及7Gy组实验小鼠的血清中IL-1 α 和IL-2的含量。结果分别显示于图4B和4C中。对结肠中iNOS和B7H1mRNA表达进行qPCR分析。结果分别显示于图4D和4E中。结果表示2个独立实验。 $*P<0.05$, $**P<0.01$ 。

[0045] 图5A显示实验简图。图5B说明,测试sPIF对结肠隐窝组织结构的影响,比较从亚致死性6Gy照射后24小时与48小时开始的sPIF的作用及基因表达(宏观)。图5C说明sPIF作用与PBS和正常小鼠相比较的图表。图5C说明,相较于PBS,在两个时间点时sPIF的作用使隐窝深度明显恢复到在正常结肠中所见的深度。图5D的统计分析展现PIF逆转结肠损伤,并且与正常小鼠无差异。5E也通过B7H1相较于正常小鼠和PBS增加说明qPCR B7H1表达相对于PBS保护增加。结果表示两个独立实验。 $*P<0.05$, $**P<0.01$ 。

[0046] 图6说明PIF改善在致死性照射及半同种异体BMT之后的造血作用。用10Gy剂量照射小鼠,随后进行半同种异体BMT。从照射之后24小时开始,连续两周每天施用1mg/kg PIF或PBS。图6A描述实验方案。图6B中显示在照射和移植之后3周每一组的WBC计数。图6C中显示照射后3周的淋巴细胞和粒细胞百分比。图6D、6E及6F分别显示了针对正常小鼠、PBS治疗的小鼠及PIF治疗的小鼠中BM的细胞性水平的股骨组织学检查。一个代表性图片出自12只小鼠。图6G中显示在一段0.75mm²的股骨骨髓中脂肪细胞的数量。结果概述2个独立实验(图6D)。 $*P<0.05$, $****P<0.001$ 。

[0047] 图7说明在致死性照射及同种异体BMT之后,用PIF预处理BM增进血液学恢复。在移植之前,将供体BM细胞与PIF一起培育2小时。用10Gy剂量照射小鼠,随后用PIF预处理的BM移植体进行同种异体BMT移植。未向小鼠提供额外治疗。图7A描述实验方案。显示了在照射和移植之后3周(图7B)和4周(图7C)的WBC和淋巴细胞计数。结果表示3个独立实验。 $*P<0.05$ 。图3D示出股骨。图3E、3F及3G说明PIF增强间充质干细胞(MSC)的调控功能。将用抗CD3抗体活化的CFSE染色的鼠类脾细胞与预先用PIF或对照物培育(2小时)的MSC一起培养四天(50:1比率)。使用流式细胞测量术分析细胞增殖情况。图3G中的图显示相较于对照组(无MSC的活化的脾细胞)的增殖细胞百分比(3个实验的汇总)。在移植之后,相较于PBS,PIF促进体重恢复, $*P<0.05$ 。

[0048] 图8说明PIF将M1巨噬细胞分化转变成M2样表型。在存在或不存在PIF情况下,将腹膜巨噬细胞与GM-CSF(10ng/ml)和LPS(10ng/ml)(对于M1分化)或与M-CSF(10ng/ml)和IL-4(10ng/ml)(对于M2分化)一起培养20小时。对分化细胞中iNOS(图8A)、COX-2(图8B)及精氨酸酶(图8C)mRNA表达进行qPCR分析。显示了由FACS分析得到的M1巨噬细胞中F480(图8D)和CD11b(图8E)的gMFI百分比。结果表示5-6个独立实验。 $*P<0.05$, $**P<0.01$, $****P<0.001$ 。

[0049] 图9说明针对CD16/32(图2A)和CD206(图2B)的FACS分析。将腹膜巨噬细胞与GM-CSF(10ng/ml)和LPS(10ng/ml)(对于M1分化)或与M-CSF(10ng/ml)和IL-4(10ng/ml)(对于M2分化)一起培养20小时。实线表示M1并且虚线表示M2巨噬细胞。一个代表图出自4个独立

实验。

[0050] 图10说明全结肠基因组的热图和聚类分析。深灰色表示相较于治疗或条件对,表达相对较低。较浅的灰色表示相较于治疗条件,表达增加。条柱1示出基因表达热图,比较了在辐射+sPIF存在下与用单独辐射处理的基因的表达情况。条柱2描绘阴性对照(PBS)动物与用辐射处理的动物的基因表达的相对量的比较分析。条柱3描绘相较于未经处理的小鼠,由辐射和sPIF引起的相对基因表达的变化。若干路径受到影响。受sPIF影响最大的基因,并且是与线粒体功能有关的基因、与针对应激的反应有关的基因及与蛋白质-RNA相互作用有关的基因。

[0051] 图11说明针对IDE的PIF突变体的差示移位分析的数据,IDE是PIF的结合搭配物。PIF突变体1和PIF突变体3结合胰岛素降解酶(IDE)。

[0052] 图12描绘针对Kv1.3 β 的PIF突变体的差示移位分析的数据,Kv1.3 β 是PIF的结合搭配物。下图描绘10微摩尔浓度的PIF突变体(左侧与20微摩尔浓度的PIF(右侧)的T_m变化的比较。

[0053] 图13说明在大鼠中使用PIF注射液测试针对致死性50Gy辐射的长期作用的实验方案。图中描绘方案的流程图及给药方案,描述了何时及如何评价器官移植。

[0054] 图14说明在19周研究中,在致死性辐射之后进行PIF治疗对大鼠体重的影响。在实验结束时,相对于PBS,PIF使大鼠体重增加,* <0.05 。图中描绘未处理小鼠、用X射线照射的小鼠及用PIF治疗的小鼠的单因素ANOVA曲线。 $n=9-12$ 只小鼠。以置信区间 <0.05 进行Holm Sidak事后检验。PIF治疗的经照射动物体重评分高于仅经过照射的动物。

[0055] 图15描绘在22周时间内测量的PIF治疗动物与对照组的Kaplan Meier曲线比较。图中显示了在致死性辐射之后PIF治疗的大鼠的存活率曲线。发现与对照组无差异。

[0056] 对照组,开始: $n=12$,结束: $n=12$

[0057] X射线,开始: $n=12$,结束: $n=10$

[0058] PIF,开始: $n=10$,结束: $n=9$

[0059] 图16描绘小鼠左心室壁厚及直径。图中描绘了由超声回波描记术检查的心脏功能的图像。

[0060] 图17描绘超声心动图结果:针对体重正规化的左心室形态。结果显示,在第5个月,PIF改善左心室肥大。BW:体重;AWT:前壁厚度-心脏收缩;AWTd:前壁厚度-心脏舒张;PWT:后壁厚度-心脏收缩;PWTd:后壁厚度-心脏舒张;SWT:隔膜壁厚度-心脏收缩;SWTd:隔膜壁厚度-心脏舒张。双因素重复测量ANOVA都是逐对进行多重比较。Holm Sidak事后检验;相对于对照组, $p<0.05$,#相对于X射线, $p<0.05$,组别与时间因素之间存在显著相互作用($n=9-12$)。图中显示在致死性辐射之后PIF对心脏指标的影响。相较于PBS壁厚度,PIF改善心脏收缩和心脏舒张功能。

[0061] 图18描绘在第5个月时的器官重量和长度—体重、心脏重量、胫骨长度。分级的单因素ANOVA,全部逐对进行。Holm Sidak事后检验。*相对于对照组, $p<0.05$;#相对于X射线, $p<0.05$, $n=9-12$ 。图中显示在致死性辐射之后PIF对大鼠体重指数的影响,展示大鼠的体重相对于PBS增加。

[0062] 图19描绘在第5个月时的器官重量—胸膜液、肺、肾、肝及胸腺重量,分级单因素ANOVA,全部逐对进行。Holm Sidak事后检验,*相对于对照组, $p<0.05$,#相对于X射线, $p<$

0.05, n=9-12。图中显示在致死性辐射之后,PIF对大鼠器官重量的影响。PIF促进肾生长。

[0063] 图20描绘相较于未处理的细胞,PIF对肾上腺细胞培养物的作用。当预先暴露于PIF时,用PIF处理的BAC细胞在培养时活力增加。显示PIF对牛肾上腺细胞(原代)活力、细胞凋亡及增殖的作用。

[0064] 图21显示PIF对牛肾上腺细胞(原代)分泌皮质醇的影响;即,PIF对BAC肾上腺细胞的影响,因为所述BAC肾上腺细胞与基础皮质醇分泌有关。当PIF暴露于培养细胞时,皮质醇水平增加。

[0065] 图22显示PIF对培养的INS-1(大鼠胰岛产胰岛素细胞)的影响。相较于未处理的INS-1细胞,培养的细胞的活力增加。使用每毫升培养基0.01、0.1及1.0微克剂量的PIF进行治疗。图中显示,PIF促进胰岛素瘤细胞存活,以及活力。

具体实施方式

[0066] 急性辐射综合症(ARS),又称为辐射病,是在全身或部分身体高剂量照射之后发生。辐射可能引起骨髓的完全损害、胃肠(GI)道的粘膜屏障及隐窝的破坏、皮肤烧伤及中枢神经系统损伤,由此导致不可逆的神经系统和心血管破坏,并最终导致死亡。辐射对于如造血细胞等快速更新的细胞特别有害,其中淋巴细胞是将被消滅的第一个亚谱系。尽管个别器官的破坏可以进行监测,但关于ARS的较为适合的看法是由全身炎症反应引起的多器官功能不全综合症的概念。众多报导显示,辐射诱导产生促炎性细胞因子引起血液和周围淋巴组织的放射疗法相关病症。

[0067] 鉴于电离辐射诱导的损伤的复杂性,缺乏有效的ARS疗法。当前的临床治疗方法是抑制炎症介体的产生并抑制炎症反应的起始。当前管理方法包含输血、流体和电解质施用、抗生素及抗病毒疗法。这些治疗引起全身性免疫抑制并且使患者有机会性感染的风险。细胞减少症患者在低等级辐射之后接受粒细胞集落刺激因子或粒细胞巨噬细胞集落刺激因子以由残留造血祖细胞有效重构免疫系统。无应答者及在致死性辐射之后需要造血干细胞移植(HSCT)。然而,此类移植常常会由于使用免疫抑制药物不足或过量而导致有害的移植物抗宿主疾病(graft vs host disease, GVHD)以及减弱的移植物抗白血病(graft vs. leukemia, GVL)作用。当前,ARS仅具有有限的应对措施。

[0068] 骨髓移植(Bone marrow transplantation, BMT)可以用作针对血液恶性病和遗传性血细胞病症,例如但不限于,淋巴瘤、淋巴细胞性白血病、骨髓瘤、白血病、贫血、血友病、地中海型贫血、镰状细胞疾病、多发性硬化、硬皮病、骨髓发育不良综合症及骨髓增生疾病的治疗。骨髓移植有两种类型:自体(自身)移植及同种异体(供体)移植。

[0069] 除骨髓外的器官、组织或细胞的移植也可以用于治疗移植受体的各种生理缺陷,包括可能因ARS而发生的多器官功能不全。这些器官、组织或细胞可以包含但不限于,皮肤、脑、心脏、肺、肾、胃肠道、脾、肝、胰脏、胰岛细胞、肾上腺及其组合。

[0070] 如果受试者需要移植,那么可以使用自体移植、同种异体移植、半同种异体移植或异种移植。就异种移植而言,例如,由于当前可用于移植的人类器官的严重短缺,可以移植来自猪供体的胰岛细胞或其它细胞、器官或组织。为了防止移植排斥反应,或在骨髓情况下防止无法移入或反之,防止发生移植物抗宿主疾病(GVHD),特别需要供移植的器官、组织或细胞的完美匹配。然而,当前疗法是有限的,而且仍会发生移植物失效及其它严重并发症。

免疫抑制剂的引入明显推动了移植领域的发展,使患者能够长期恢复;不过,患者终生需要免疫抑制疗法,并伴随有毒副作用。

[0071] 如果影响靶器官、组织或细胞的疾病处于缓解期,或者如果所治疗的疾患不涉及靶器官、组织或细胞,那么自体移植是可能的。在自体移植,包括BMT中,在移植之前,从患者提取组织,并且可以“净化”以移除存留的恶性细胞(在疾病影响靶器官、组织或细胞的情况下)。在患者经历化学疗法或辐射之后,将干细胞移植回患者体内。自体移植使患者能够接受高剂量的化学疗法和辐射。举例来说,高剂量化学疗法或辐射疗法加骨髓或末梢血液移植提高白血病和淋巴瘤的治愈率。一旦患者经历化学疗法或辐射,则患者可能具有有限的产生血细胞的能力。自体移植将允许患者“快速启动(jump start)”血细胞和血小板的产生。

[0072] 哺乳动物妊娠是一种独特的生理事件,在这一事件中,产妇免疫系统与胎儿以一种有益于双方的极高效方式相互作用。妊娠是一种奇异的免疫现象,不展示移植物抗宿主效应或宿主抗移植物效应。此现象所涉及的因素尚未完全得到阐明,不过已经对其展开广泛研究。新颖的胚胎源性因子,即植入前因子(PIF-1)可能通过在受精之后不久产生产妇妊娠识别来引起妊娠的免疫耐受性。

[0073] 为了变换PIF在妊娠外的治疗效用,产生一种模拟天然肽活性的具有15个氨基酸(MVRIKPGSANKPSDD)的合成PIF类似物(sPIF)(并升级至cGMP等级)。由此能够在临床前自身免疫性、移植及急性辐射综合症模型中详细检查sPIF的作用,显示整体的局部和全身功效。研究成功地检查了sPIF针对人类免疫细胞的作用并测定其局部和全身作用机制的重要成分。有文献记录sPIF在半同种异体移植物抗宿主模型中预防和逆转所述移植物抗宿主情形,同时保持有益的移植物抗白血病的功效。FDA批准的综合毒理学研究展示在(超生理(400-4000X人类)剂量下的高安全型态(小鼠和狗)以及较短的循环半衰期(Covance)。FDA对sPIF授予FAST TRACK资格以进行大学发起的针对孤儿病症(immune orphan disorder)的临床试验。合成PIF-1(sPIF)复制了天然肽的作用并且对末梢血液单核细胞(PBMC)增殖和细胞因子分泌发挥强效免疫调节作用,经由PBMC上的新颖位点起作用并具有不同于已知免疫抑制药物的作用。因此,PIF可以防止GVHD的发生,同时有效实现移植物抗白血病作用。不希望受理论束缚,PIF可以结合至移植的骨髓干细胞并帮助其迅速整合,并且起始正常血细胞和血小板的产生。

[0074] 移植理想地是用与受体完全匹配的供体器官、组织或细胞进行;仍有约70%的患者发生各种强度的GVHD。因此,移植患者在移植后接受免疫抑制疗法,并且可能其余生都需要如此。除急性GVHD以外,慢性GVHD和排斥反应也是严重并发症。然而,相较于急性GVHD,这些疾患较难治疗并且具有高发病率和死亡率。因此,使用PIF可以实现自体移植、同种异体移植、半同种异体移植或异种移植,由此改善移入,长期预防GVHD或器官排斥反应。

[0075] 临床上,在移植的细胞发挥功能之前的较长时间内,会发生移植相关重大问题。在这段时间期间,患者通常出现严重感染并且可能死亡。PIF从根本上解决炎症,不管损伤的来源如何或是哪种器官作为靶。施用PIF可以减少移植之后的移入时间段和移入相关炎症。PIF可以引起移植物的成功移入。不希望受理论所束缚,相信类似于PIF在妊娠中的活性,PIF在妊娠之外也促进移入并允许新并入的器官、组织或细胞能够发挥功能。此外,施用PIF可以使接受自体移植的小鼠的体重完全恢复,与未处理小鼠相当。

[0076] 如在鼠类同种异体骨髓移植(BMT)模型中所示,sPEF可以预防有害GVHD的发生,同时保留有益的GVL作用。在所述模型中,短期sPIF疗法产生四个月的功效,由此防止皮炎、肝炎及结肠溃疡,并且降低促炎性肝细胞因子和趋化因子基因以及循环促炎性IL17a水平。另外,经显示,sPIF促进同基因BMT。

[0077] sPIF调控整体免疫,并靶向作用于活化免疫的未处理的单核细胞/巨噬细胞以阻止混合淋巴细胞反应(mixed lymphocyte reaction,MLR),即,导致优先TH2细胞因子偏好,同时保留所需的TH1反应的增殖。在鼠类巨噬细胞中,已经观察到B7H1(连接至T细胞上的PD-1)增加及iNOS基因(NOS2,一氧化氮合成酶)表达减少(Azar等人,2013)。sPIF靶向蛋白质-二异构酶/硫氧还蛋白(PDI/T)和热休克蛋白(HSP)以减少氧化应激并防止蛋白质错误折叠,由此提供对于在临床前模型中所观察到的PIF保护的深刻理解。在体外和临床前模型中的观察结果支持了sPIF可以有效防止ARS的观点。

[0078] 在描述本发明的组合物和方法之前,应理解,本发明不限于所描述的具体工艺、组合物或方法,因为这些工艺、组合物或方法可能变化。还应理解,说明书中使用的术语只是出于描述具体形式或实施例的目的,并且不意图限制本发明的范围,本发明的范围将仅由所附权利要求书限制。除非另有定义,否则本文中所用的所有技术和科学术语都具有与本领域普通技术人员通常所理解相同的含义。尽管可以使用与本文中所描述类似或相当的任何方法和材料来实践或测试本发明的实施例,但现描述优选的方法、装置和材料。本文中所提及的所有出版物都以全文引用的方式并入本文中。不应将本文中的任何内容理解为承认本发明无权先于在先发明的这些公开内容。

[0079] 还须注意,除非上下文另外明确规定,否则如本文中和所附权利要求书中所使用,单数形式“一个(种)”和“所述”包含多个(种)参考物。因此,举例来说,提到一种“肽”是提到本领域的技术人员已知的一种或多种肽及其等效物等等。

[0080] 如本文所使用,术语“约”意味着加上或减去所使用数字的数值的10%。因此,约50%意思指在40%-60%范围内。

[0081] “施用”当结合治疗使用时,意思指将治疗剂直接施用至靶器官、组织或细胞中或其上,或将治疗剂施用给患者,由此使治疗剂积极地影响其所靶向的器官、组织或细胞。因此,当结合植入前因子(PIF)使用时,如本文所使用的术语“施用”可以包含但不限于,将PIF提供至靶器官、组织或细胞中或其上;通过例如静脉内注射将PIF全身性提供给患者,由此使治疗剂到达靶器官、组织或细胞;将PIF以编码序列形式提供至靶组织(例如,通过所谓的基因疗法技术)。“施用”可以通过不经肠、口或表面施用,或通过这些方法与其它已知技术的组合实现。

[0082] 如本文所使用,术语“动物”、“患者”及“受试者”包含但不限于,人类和非人类脊椎动物,如野生动物、家畜及农畜。在一些实施例中,术语“动物”、“患者”及“受试者”可以指人类。在一些实施例中,术语“动物”、“患者”及“受试者”可以指非人类哺乳动物。在一些实施例中,术语“动物”、“患者”及“受试者”可以指以下任一种或其组合:狗、猫、猪、牛、马、山羊、绵羊或其它家养的非人类哺乳动物。在一些实施例中,受试者是被诊断患有或怀疑患有恶性形式癌症的人类患者。在一些实施例中,受试者是被诊断患有或怀疑患有器官衰竭的人类患者。在一些实施例中,受试者是被诊断患有或怀疑患有肝衰竭、肾衰竭、与皮质醇水平不平衡有关的任何疾病、幼年型或成人糖尿病(I型或II型)或心脏衰竭的人类患者。在一些

实施例中,受试者是被鉴别为需要或怀疑需要胰岛细胞移植、肾移植或肾上腺细胞移植、血细胞移植、骨髓移植或心脏移植的人类患者。

[0083] “免疫调节”是指本发明化合物改变(调节)免疫系统的一个或多个方面的能力。免疫系统通过涉及借助于多个细胞-细胞相互作用彼此调节的淋巴细胞、巨噬细胞及其它抗原呈递细胞的细胞和体液机制,以及通过产生对免疫细胞具有自分泌、旁分泌及内分泌作用的可溶因子(包括淋巴因子和抗体)而起到保护生物体免受感染和免受外来抗原影响的作用。

[0084] 术语“改善”用于表示,本发明改变提供、应用或施用其的受试者、器官、组织或细胞的外观、形式、特征和/或生理特质。举例来说,形式的变化可以通过以下任一者或其组合展示:ARS的一或多种症状的减轻;移植的器官、组织或细胞的移入增加;对移植的器官、组织或细胞的接受性增加;与自体移植、同种异体移植、半同种异体移植或异种移植有关的宿主针对移植物的免疫反应减少;移植物抗白血病作用增加;移植物抗白血病作用增加,不伴随或伴随极少移植物抗宿主疾病;对于免疫抑制剂的需求减少或消除;及更快自化学疗法和辐射疗法恢复。

[0085] 术语“抑制”包含施用本发明化合物以预防症状的发作、缓解症状或消除疾病、疾患或病症。

[0086] 如本文所使用,术语“肽”、“多肽”及“蛋白质”可互换使用并且是指通过酰胺键或非酰胺等效物共价连接的两个或多于两个氨基酸。本发明的肽可以具有任何长度。举例来说,所述肽的长度可以是约两个至约100个或更多个残基,如5至12、12至15、15至18、18至25、25至50、50至75、75至100或更多个残基。肽优选是约2至约18个残基。本发明的肽包含L-异构体和D-异构体,及L-异构体与D-异构体的组合。肽可以包含典型地与蛋白质的翻译后加工有关的修饰,例如环化(例如,二硫键或酰胺键)、磷酸化、糖基化、羧基化、泛素化、肉豆蔻酰化或脂化。

[0087] “药学上可接受”意味着载剂、稀释剂或赋形剂必须与配制物或组合物的其它成分相容且对其接受者无害。

[0088] 除非另外指明,否则术语“骨髓”意思指在骨骼的中空内部发现的柔软组织,由红骨髓和黄骨髓组成并且含有干细胞。

[0089] 如本文所使用,术语“治疗剂”意思指用于治疗、对抗、减轻、预防或改善患者的不想要的疾患或疾病的药剂。本发明的实施例部分是针对减轻ARS的一种或多种症状,增加对自体移植、同种异体移植、半同种异体移植或异种移植中移植的器官、组织或细胞的接受性,和/或减少对自体移植、同种异体移植、半同种异体移植或异种移植的器官、组织或细胞的排斥反应。

[0090] 组合物(例如PIF肽)的“治疗有效量”或“有效量”是所计算的用以实现希望的作用,即,用以改善、增加或允许对自体移植、同种异体移植、半同种异体移植或异种移植的器官、组织细胞的接受性,和/或用以减轻ARS的一种或多种症状,或在移植之前增加供体器官、组织或细胞的活力的预定量。适当时,本发明方法所涵盖的活性包含医学治疗和/或防治性治疗两者。当然,根据本发明施用以获得治疗和/或防治作用的化合物的具体剂量将由特定个别情况决定,包括施用的化合物、施用途径及所治疗的疾患。所述化合物在较宽剂量范围内有效,并且例如,每天的剂量通常会在0.001至10mg/kg范围内,更通常是在0.01至

1mg/kg范围内。在一些实施例中,PIF或PDF类似物或肽的治疗有效剂量是约0.1mg/kg、0.2mg/kg、0.3mg/kg、0.4mg/kg、0.5mg/kg、0.6mg/kg、0.7mg/kg、0.8mg/kg、0.9mg/kg及1mg/kg。然而,应了解,施用的有效量将由医生根据相关情况决定,包括待治疗的疾患、打算施用的化合物的选择及所选施用途径,并因此,以上剂量范围并不打算以任何方式限制本发明的范围。本发明实施例的化合物的治疗有效量典型地是使得当以生理上可耐受的赋形剂组合物施用,足以获得有效全身浓度或组织中的局部浓度的量。

[0091] 如本文所使用,术语“治疗(treat/treated/treating)”是指治疗性治疗和防治性或预防性措施,其中目的是为了预防或减慢(减轻)不希望的生理疾患、病症或疾病,或获得有益的或所希望的临床结果。出于本发明的目的,有益的或所希望的临床结果包含但不限于,症状的缓解;所述疾患、病症或疾病程度的减轻;所述疾患病症或疾病状态的稳定化(即,未恶化);所述疾患、病症或疾病的发作延迟或发展减慢;所述疾患、病症或疾病状态的改善;及所述疾患、病症或疾病的缓解(不管是部分的还是总体的),不管是可检测还是不可检测的,或增强或改善。治疗包含引起临床显著反应而无过度副作用。治疗还包括使存活期相较于不接受治疗时的预期存活期延长。

[0092] 一般来说,术语“组织”是指结合在一起以执行特定功能的类似的特化细胞的任何聚集体。

[0093] 本申请描述化合物。不受任何特定理论束缚,本文所描述的化合物用作PIF经由PIF的一种或多种受体而介导的信号转导的激动剂。因此,这些化合物调节信号传导路径,由此在治疗(但不限于)急性辐射综合症及急性辐射暴露的远期效应方面提供显著治疗益处。本公开的化合物可以呈非溶剂化形式以及溶剂化形式(包括水合形式)存在。本公开的化合物还能够形成药学上可接受的盐,包含但不限于酸加成盐和/或碱加成盐。此外,本公开的化合物可以呈各种固体状态存在,包含非晶形式(非结晶形式)及包合物、前药、多晶型物、生物可水解酯、外消旋混合物、非外消旋混合物形式,或呈纯化的立体异构体,包含但不限于光学纯对映异构体和非对映异构体形式存在。一般来说,所有这些形式都可以作为如上文所描述的化合物的游离碱或游离酸形式的替代形式使用,并且意图涵盖在本公开的范围。

[0094] “多晶型物”是指化合物的的固体结晶形式。同一化合物的不同多晶型物可以展现不同的物理、化学和/或光谱特性。不同物理特性包含但不限于,稳定性(例如,对热或光的稳定性)、可压缩性及密度(对于配制物和产品制造极为重要),以及溶解速率(可以影响生物利用率)。多晶型物的不同物理特性会影响其处理。在一些实施例中,所述药物组合物包括本文中所公开的任一组合物的至少一种多晶型物。

[0095] 如上所述,本公开的化合物尤其可以呈药学上可接受的盐、酯、酰胺或前药形式施用。术语“盐”是指本公开的化合物的无机盐和有机盐。这类盐可以在化合物的最终分离和纯化期间现场制备,或通过使呈游离碱或游离酸形式的纯化的化合物分别与适合的有机或无机碱或酸反应并且分离由此形成的盐来制备。代表性盐包含氢溴酸盐、盐酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、硝酸盐、乙酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、硬脂酸盐、月桂酸盐、硼酸盐、苯甲酸盐、乳酸盐、磷酸盐、甲苯磺酸盐、柠檬酸盐、顺丁烯二酸盐、反丁烯二酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、茶酸盐、甲磺酸盐、葡萄糖酸盐、乳糖酸盐及月桂基磺酸盐等。所述盐可以包含如钠、锂、钾、钙、镁等碱金属和碱土金属类阳离子,以及无毒铵、季铵及胺阳离子,包含但不限于,

铵、四甲基铵、四乙基铵、甲胺、二甲胺、三甲胺、三乙胺、乙胺等。参见例如, S.M. Berge等人, “药用盐 (Pharmaceutical Salts)”, 《药学杂志 (J Pharm Sci)》, 66:1-19 (1977)。术语“盐”是指与无机酸和/或有机酸形成的酸性盐, 以及与无机碱和/或有机碱形成的碱性盐。这些酸和碱的实例是本领域普通技术人员众所周知的。此类酸加成盐通常是药学上可接受的, 不过非药学上可接受的酸的盐也可以用于制备和纯化所讨论的化合物。盐包含由盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸、柠檬酸、酒石酸、乳酸、丙酮酸、乙酸、琥珀酸、反丁烯二酸、顺丁烯二酸、甲烷磺酸及苯磺酸形成的盐。

[0096] 在一些实施例中, 包括PIF或PIF类似物或PIF突变体的组合物的盐可以通过使游离碱或其盐、对映异构体或外消旋体与一当量或多于一当量的适当酸反应来形成。在一些实施例中, 本公开的药学上可接受的盐是指具有至少一个碱性基团或至少一个碱性自由基的类似物。在一些实施例中, 本公开的药学上可接受的盐包括游离氨基、游离胍基、吡嗪基或吡啶基, 由此形成酸加成盐。在一些实施例中, 本公开的药学上可接受的盐是指主题化合物与(例如)无机酸, 如盐酸、硫酸或磷酸, 或者与适合有机羧酸或磺酸, 例如脂肪族单羧酸或二羧酸, 如三氟乙酸、乙酸、丙酸、乙醇酸、琥珀酸、顺丁烯二酸、反丁烯二酸、羟基顺丁烯二酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸或草酸, 或氨基酸如精氨酸或赖氨酸、芳香族羧酸如苯甲酸、2-苯氧基-苯甲酸、2-乙酰氧基苯甲酸、水杨酸、4-氨基水杨酸、芳香族-脂肪族羧酸如杏仁酸或肉桂酸、杂芳族羧酸如烟碱酸或异烟酸、脂肪族磺酸如甲烷磺酸、乙烷磺酸或2-羟基乙烷磺酸, 或芳香族磺酸, 例如苯磺酸、对甲苯磺酸或萘-2-磺酸形成的酸加成盐。当存在若干个碱性基团时, 可以形成单酸加成盐或聚酸加成盐。所述反应可以在盐不可溶的溶剂或介质中或在盐可溶的溶剂中进行, 例如水、二噁烷、乙醇、四氢呋喃或乙醚, 或溶剂混合物, 所述溶剂可以在真空中或通过冷冻干燥移除。所述反应也可以是复分解方法或其可以在离子交换树脂上进行。在一些实施例中, 盐可以是患者生理上耐受的盐。根据本公开的盐可以呈无水形式或水合结晶形式(即, 与一个或多个分子的水形成络合物或结晶)。

[0097] 本公开化合物的药学上可接受的酯的实例包含C₁-C₈烷基酯。可接受酯还包含C₅-C₇环烷基酯, 以及芳基烷基酯, 如苯甲基酯。C₁-C₄烷基酯是常用的。本公开化合物的酯可以根据本领域中众所周知的方法制备。本公开化合物的药学上可接受的酰胺的实例包含衍生自氨、C₁-C₈烷基伯胺及C₁-C₈二烷基仲胺的酰胺。就仲胺来说, 胺也可以呈含有至少一个氮原子的5或6元杂环烷基的形式。常用衍生自氨、C₁-C₃烷基伯胺及C₁-C₂二烷基仲胺的酰胺。本公开化合物的酰胺可以根据本领域的技术人员众所周知的方法制备。

[0098] 如本文所使用, “保守”氨基酸取代可以如下表A、B或C中所陈述进行定义。本发明的PIF化合物包含通过修饰编码本发明多肽的多聚核苷酸引入保守取代(来自核酸或氨基酸序列)的那些。氨基酸可以根据物理特性以及对二级和三级蛋白质结构的贡献进行分类。保守取代在本领域中被认为是一种氨基酸被具有类似特性的另一种氨基酸取代。在一些实施例中, 保守取代在本领域中被认为是一个核酸被具有类似特性或当编码时具有类似结合亲和力的另一核酸取代。示例性保守取代陈述于表1中。

[0099] 表1—保守取代I

	侧链特征	氨基酸
	脂肪族	
[0100]	非极性	GAPILVF
	极性 - 不带电荷	CSTMNQ
	极性- 带电荷	DEKR
[0101]	芳香族	HFWDY
	其它	NQDE
[0102]	或者,可以根据Lehninger(《生物化学(Biochemistry)》,第二版;Worth Publishers,Inc.,纽约州纽约(NY,N.Y.(1975),第71-77页)中所描述,如表2中所陈述对保守氨基酸进行分组。	

[0103] 表2-保守取代II

	侧链特征	氨基酸
	非极性(疏水性)	
	脂肪族:	ALIVP.
	芳香族:	FWY
	含硫:	M
	边界型:	GY
[0104]	不带电荷-极性	
	羟基:	STY
	酰胺:	NQ
	巯基:	C
	边界型:	GY
	带正电荷(碱性):	KRH
	带负电荷(酸性):	DE

[0105] 或者,示例性保守取代陈述于表3中。

[0106] 表3-保守取代III

	初始残基	示例性取代
	Ala (A)	Val Leu Ile Met
	Arg(R)	Lys His
	Asn (N)	Gln
	Asp (D)	Glu
	Cys(C)	Ser Thr
	Gln (Q)	Asn
	Glu (E)	Asp
	Gly (G)	Ala Val Leu Pro
	His (H)	Lys Arg
[0107]	Ile (I)	Leu Val Met Ala Phe
	Leu (L)	Ile Val Met Ala Phe
	Lys (K)	Arg His
	Met (M)	Leu Ile Val Ala
	Phe(F)	Trp Tyr Ile
	Pro (P)	Gly Ala Val Leu Ile
	Ser(S)	Thr
	Thr (T)	Ser
	Trp (W)	Tyr Phe Ile
	Tyr(Y)	Trp Phe Thr Ser
	Val (V)	Ile Leu Met Ala

[0108] 如本文所使用,术语“肽”、“多肽”及“蛋白质”可互换使用并且是指通过酰胺键或非酰胺等效物共价连接的两个或多于两个氨基酸。本公开的肽可以具有任何长度。举例来说,所述肽的长度可以是约两个至约100个或更多个残基,如5至12、12至15、15至18、18至25、25至50、50至75、75至100或更多个残基。肽优选是约2至约18个残基长度。本公开的肽还包含1-异构体和d-异构体,以及1-异构体与d-异构体的组合。肽可以包含典型地与蛋白质的翻译后加工有关的修饰,例如环化(例如,二硫键或酰胺键)、磷酸化、糖基化、羧基化、泛素化、肉豆蔻酰化或脂化。在一些实施例中,本公开的组合物或药物组合物涉及表1中陈述的任何PIF序列的类似物,所述PIF序列类似物与表1中陈述的PIF序列之一或其组合共有不低于约70%、约75%、约79%、约80%、约85%、约86%、约87%、约90%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%同源性。在一些实施例中,PIF或PIF肽可以指选自SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29的氨基酸序列或其与任一此类氨基酸序列约70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同源的功能片段。在一些实施例中,PIF可以指包括与SEQ ID.NO:20至少70%、75%、80%、85%、86%、87%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同源的序列,主要由所述序列组成或由所述序列组成的氨基酸序列。在一些实施例中,PIF可以指包括与SEQ ID.NO:21至少70%、75%、80%、85%、86%、87%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同源的序列,主要由所述序列组成或由所述序列组成的氨基酸序列。在一些实施例中,PIF可以指包括与SEQ ID.NO:22至少70%、75%、80%、85%、86%、87%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同源的序列,主要由所述序列组成或由所述序列组成的氨基酸序列。在一些实施例中,PIF可以指包括与SEQ ID.NO:23至少70%、75%、80%、85%、86%、87%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同源的序列,主要由所述序列组成或由所述序列组成的氨基酸序列。在一些实施例中,PIF可以指包括与SEQ ID.NO:24至少70%、75%、80%、85%、86%、87%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同源的序列,主要由所述序列组成或由所述序列组成的氨基酸序列。在一些实施例中,PIF可以指包括与SEQ ID.NO:25至少70%、75%、80%、85%、86%、87%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同源的序列,主要由所述序列组成或由所述序列组成的氨基酸序列。在一些实施例中,PIF可以指包括与SEQ ID.NO:26至少70%、75%、80%、85%、86%、87%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同源的序列,主要由所述序列组成或由所述序列组成的氨基酸序列。在一些实施例中,PIF可以指包括与SEQ ID.NO:27至少70%、75%、80%、85%、86%、87%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同源的序列,主要由所述序列组成或由所述序列组成的氨基酸序列。在一些实施例中,PIF可以指包括与SEQ ID.NO:28至少70%、75%、80%、85%、86%、87%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同源的序列,主要由所述序列组成或由所述序列组成的氨基酸序列。在一些实施例中,PIF可以指包括与SEQ ID.NO:29至少70%、75%、80%、85%、86%、87%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同源的序列,主要由所述序列组成或由所述序列组成的氨基酸序列。在一些实施例中,PIF突变体包括选自以下的序列:XV ZIKPGS ANKPSD、XVZIKPGSANKPS XVZIKPGSANKP XVZIKPGSANK XVZIKPGSAN、XVZIKPGSA、XVZIKPGS、XVZIKPG、XVZIKP、XVZIK、

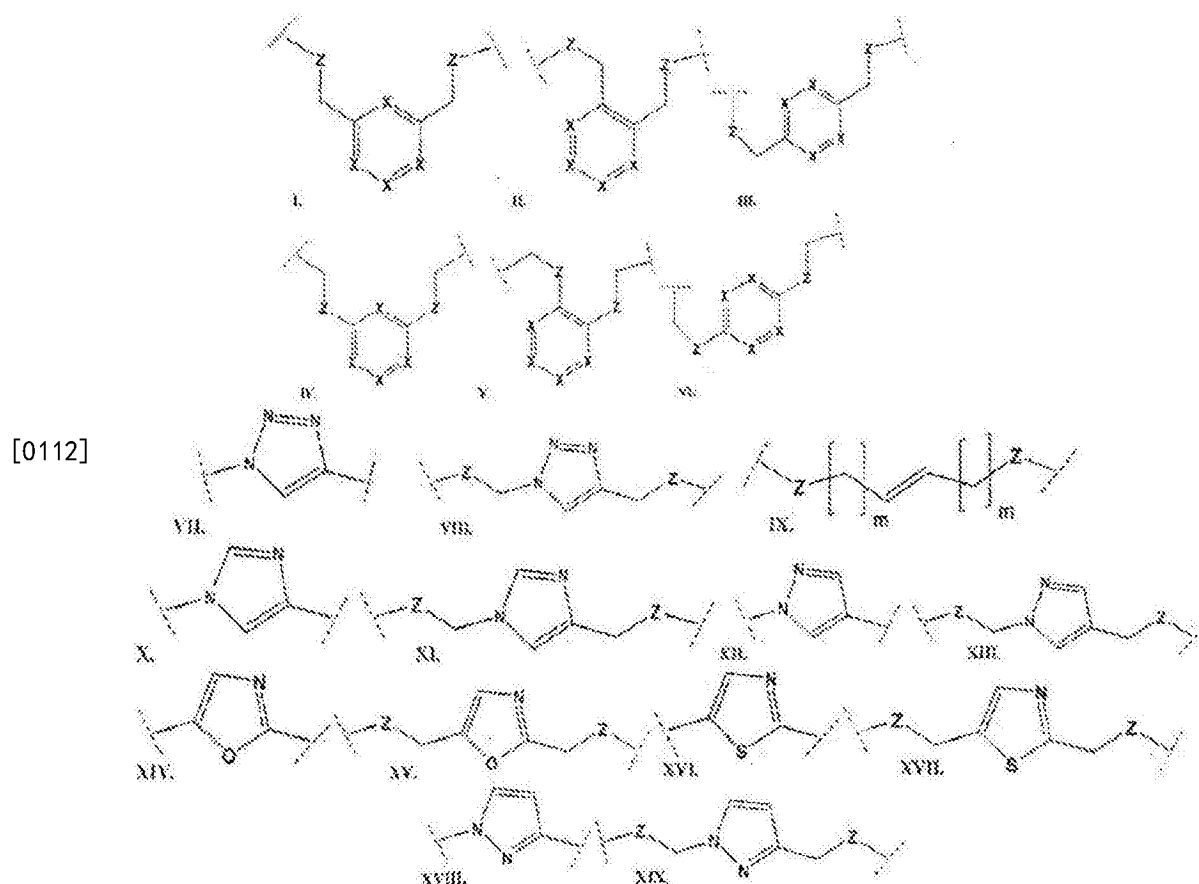
XVZI、XVZ,其中X是非天然氨基酸或天然存在的氨基酸。在一些实施例中,PIF突变体包括选自以下的序列:XVZIKPGSANKPSD、XVZIKPGSANKPS XVZIKPGSANKP XVZIKPGSANK XVZIKPGSAN、XVZIKPGSA、XVZIKPGS、XVZIKPG、XVZIKP、XVZIK、XVZI、XVZ,其中X是非天然氨基酸或天然存在的氨基酸,但如果Z是精氨酸,则X不是甲硫氨酸,并且如果X是甲硫氨酸,则Z不是精氨酸。在一些实施例中,PIF类似物或突变体是合成的或以合成方式制造的。

[0109] 本文中所公开的肽另外包含具有氨基酸结构和功能类似物的化合物,例如具有合成或非天然氨基酸(如正亮氨酸)或氨基酸类似物或非天然侧链的肽模拟物,只要所述模拟物具有本公开的化合物的一种或多种功能或活性。因此,本公开的化合物包含“模拟物”和“肽模拟物”形式。如本文所使用,“非天然侧链”是原子通过共价键结合至 α -碳原子、 β -碳原子或 γ -碳原子形成的修饰或合成链,所述链不构成氨基酸多肽链的主链。肽类似物可以包括选自以下的非天然氨基酸之一或其组合:正缬氨酸、叔丁基甘氨酸、苯基甘氨酸、He、7-氮杂酪氨酸、4-氟苯丙氨酸、N-甲基-甲硫氨酸、N-甲基-缬氨酸、N-甲基-丙氨酸、肌氨酸、N-甲基-叔丁基甘氨酸、N-甲基-亮氨酸、N-甲基-苯基甘氨酸、N-甲基-异亮氨酸、N-甲基-色氨酸、N-甲基-7-氮杂酪氨酸、N-甲基-苯丙氨酸、N-甲基-4-氟苯丙氨酸、N-甲基-苏氨酸、N-甲基-酪氨酸、N-甲基-缬氨酸、N-甲基-赖氨酸、高半胱氨酸及Tyr;Xaa2不存在或是选自由以下组成的群组的氨基酸:Ala、D-Ala、N-甲基-丙氨酸、Glu、N-甲基-谷氨酸、D-Glu、Gly、肌氨酸、正亮氨酸、Lys、D-Lys、Asn、D-Asn、D-Glu、Arg、D-Arg、Phe、D-Phe、N-甲基-苯丙氨酸、Gln、D-Gln、Asp、D-Asp、Ser、D-Ser、N-甲基-丝氨酸、Thr、D-Thr、N-甲基-苏氨酸、D-Pro D-Leu、N-甲基-亮氨酸、D-Ile、N-甲基-异亮氨酸、D-Val、N-甲基-缬氨酸、叔丁基甘氨酸、D-叔丁基甘氨酸、N-甲基-叔丁基甘氨酸、Trp、D-Trp、N-甲基-色氨酸、D-Tyr、N-甲基-酪氨酸、1-氨基环丙烷甲酸、1-氨基环丁烷甲酸、1-氨基环戊烷甲酸、1-氨基环己烷甲酸、4-氨基四氢-2H-吡喃-4-甲酸、氨基异丁酸、(5)-2-氨基-3-(1H-四唑-5-基)丙酸、Glu、Gly、N-甲基-谷氨酸、2-氨基戊酸、2-氨基己酸、2-氨基庚酸、2-氨基辛酸、2-氨基壬酸、2-氨基癸酸、2-氨基十一烷酸、2-氨基十二烷酸、辛基甘氨酸、传明酸(tranexamic acid)、氨基戊酸及2-(2-氨基乙氧基)乙酸。丙氨酸的天然侧链或R基团是甲基。在一些实施例中,所述组合物的非天然侧链是一个或多个氢原子被氘原子置换的甲基。非天然侧链公开于本领域以下公布中:W0/2013/172954、W02013123267、W0/2014/071241、W0/2014/13 8429、W0/2013/050615、W0/2013/050616、W0/2012/166559、US申请号20150094457, Ma, Z. 和Hartman, M.C., (2012). 经由mRNA展示体外选择非天然环肽文库(In Vitro Selection of Unnatural Cyclic Peptide Libraries via mRNA Display), J.A.Douthwaits和R.H.Jackson(编辑),《核糖体展示及相关技术:方法及实验方案(Ribosome Display and Related Technologies:Methods and Protocols)》(第367-390页).Springer New York,全部以全文引用的方式并入本文中。

[0110] 术语“模拟物”与“肽模拟物(peptide mimetic/peptidomimetic)”在本文中可互换地使用,并且一般是指模拟所选天然肽或蛋白质功能结构域(例如,结合基序或活性位点)的三级结合结构或活性的肽、部分肽或非肽分子。如下文进一步描述,这些肽模拟物包含重组或化学修饰的肽,以及非肽试剂,如小分子药物模拟物。术语“类似物”是指包括至少一个 α -氨基酸和至少一个非天然氨基酸残基的任何多肽,其中所述多肽结构类似于天然存在的全长PIF蛋白质并且共有作为所述类似物基础的天然存在全长蛋白质的生物化学活性或生物活性。在一些实施例中,组合物、药物组合物及试剂盒包括与表4中阐述的PIF序列之

一或其组合共有共有不低于约70%、约75%、约79%、约80%、约85%、约86%、约87%、约90%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%同源性的肽或肽模拟物；并且其中一个或多个氨基酸残基是非天然氨基酸残基或具有非天然侧链的氨基酸残基。在一些实施例中，提供肽或肽模拟物，其中在两个半胱氨酸残基之间形成环。在一些实施例中，肽模拟物可以与天然肽具有许多类似性，如：在已知的20种蛋白质型氨基酸中未发现的氨基酸侧链、用于实现分子末端或内部部分之间的环化的非肽类连接子、酰胺键氢部分被甲基（N-甲基化）或其它烷基取代、肽键被对化学或酶处理具有抗性的化学基团或键置换、N末端和C末端修饰，及与非肽延伸部分（如聚乙二醇、脂质、碳水化合物、核苷、核苷酸、核苷碱、各种小分子或磷酸酯基或硫酸酯基）偶联。如本文所使用，术语“环肽模拟物”或“环状多肽模拟物”是指具有一种或多种环特征，如环、桥连部分和/或内部键联作为结构的一部分的肽模拟物。如本文所使用，术语“桥连部分”是指将氨基酸上的一个原子或原子组合以化学方式连接至所述氨基酸残基外的任何其它原子的化学部分。举例来说，在氨基酸三级结构的情况下，桥连部分可以是以化学方式连接氨基酸侧链与另一连续或非连续氨基酸侧链的化学部分。

[0111] 在一些实施例中，提供肽或肽模拟物，其中环包括选自由以下组成的群组的桥连部分：



[0113] 其中X各自独立地是N或CH，使得环不含超过2个N；Z各自独立地是一键、NR、O、S、CH₂、C(O)NR、NRC(O)、S(O)_vNR、NRS(O)_v；m各自独立地选自0、1、2及3；v各自独立地选自1和2；R各自独立地选自H和C₁-C₆；及桥连部分各自通过独立选择的C₀-C₆间隔基连接至肽。

[0114] 在一些实施例中，通过用其它侧链，例如用如烷基、低级烷基、环状4元烷基、5元烷

基、6元烷基至7元烷基、酰胺、酰胺低级烷基、酰胺二(低级烷基)、低级烷氧基、羟基、羧基和其低级酯衍生物,以及4元杂环基团、5元杂环基团、6元杂环基团至7元杂环基团置换20种遗传编码的氨基酸(或D氨基酸)的天然存在的侧链来修饰本公开的PIF肽,由此产生肽模拟物。举例来说,可以制备脯氨酸残基的环大小从5个成员变为4、6或7个成员的脯氨酸类似物。环状基团可以是饱和或不饱和的,并且如果是不饱和的,则可以是芳香族基团或非芳香族基团。杂环基团可以含有一个或多个氮、氧和/或硫杂原子。此类基团的实例包含咪唑基、咪唑基、咪唑烷基、咪唑基、二氢咪唑基、异噻唑基、异噻唑基、吗啉基(例如,N-吗啉基)、噁唑基、哌嗪基(例如,1-哌嗪基)、哌啶基(例如,1-哌啶基、N-哌啶基)、吡喃基、吡嗪基、吡唑烷基、吡唑基、吡唑基、吡嗪基、吡啶基、嘧啶基、吡咯烷基(例如,1-吡咯烷基)、吡咯基、吡咯基、噻二唑基、噻唑基、噻吩基、硫代吗啉基(例如,N-硫代吗啉基)及三唑基。这些杂环基团可以被取代或未被取代的。在一个基团被取代的情况下,取代基可以是烷基、烷氧基、卤素、氧,或被取代或未被取代的苯基。肽模拟物还可以具有通过磷酸化、磺化、生物素化或者添加或移除其它部分进行化学修饰的氨基酸残基。

[0115] 在另一实施例中,提供式 $R_1-R_2-R_3-R_4-R_5-R_6-R_7-R_8-R_9-R_{10}-R_{11}-R_{12}-R_{13}-R_{14}-R_{15}$ 的化合物,其中 R_1 是Met或Met模拟物, R_2 是Val或Val模拟物, R_3 是Arg或Arg模拟物,或任何氨基酸, R_4 是Ile或Ile模拟物, R_5 是Lys或Lys模拟物, R_6 是Pro或Pro模拟物, R_7 是Gly或Gly模拟物, R_8 是Ser或Ser模拟物, R_9 是Ala或Ala模拟物, R_{10} 是Asn或Asn模拟物, R_{11} 是Lys或Lys模拟物, R_{12} 是Pro或Pro模拟物, R_{13} 是Ser或Ser模拟物, R_{14} 是Asp或Asp模拟物,及 R_{15} 是Asp或Asp模拟物。在另一实施例中,提供包括式 $R_1-R_2-R_3-R_4-R_5-R_6-R_7-R_8-R_9-R_{10}$ 的化合物,其中 R_1 是Ser或Ser模拟物, R_2 是Gln或Gln模拟物, R_3 是Ala或Ala模拟物, R_4 是Val或Val模拟物, R_5 是Gln或Gln模拟物, R_6 是Glu或Glu模拟物, R_7 是His或His模拟物, R_8 是Ala或Ala模拟物, R_9 是Ser或Ser模拟物,及 R_{10} 是Thr或Thr模拟物;包括式 $R_1-R_2-R_3-R_4-R_5-R_6-R_7-R_8-R_9-R_{10}-R_{11}-R_{12}-R_{13}-R_{14}-R_{15}-R_{16}-R_{17}-R_{18}$ 的化合物,其中 R_1 是Ser或Ser模拟物, R_2 是Gly或Gly模拟物, R_3 是Ile或Ile模拟物, R_4 是Val或Val模拟物, R_5 是Ile或Ile模拟物, R_6 是Tyr或Tyr模拟物, R_7 是Gln或Gln模拟物, R_8 是Tyr或Tyr模拟物, R_9 是Met或Met模拟物, R_{10} 是Asp或Asp模拟物, R_{11} 是Asp或Asp模拟物, R_{12} 是Arg或Arg模拟物, R_{13} 是Tyr或Tyr模拟物, R_{14} 是Val或Val模拟物, R_{15} 是Gly一种Gly模拟物, R_{16} 是Ser或Ser模拟物, R_{17} 是Asp或Asp模拟物,及 R_{18} 是Leu或Leu模拟物;及包括式 $R_1-R_2-R_3-R_4-R_5-R_6-R_7-R_8-R_9$ 的化合物,其中 R_1 是Val或Val模拟物, R_2 是Ile或Ile模拟物, R_3 是Ile或Ile模拟物, R_4 是Ile或Ile模拟物, R_5 是Ala或Ala模拟物, R_6 是Gln或Gln模拟物, R_7 是Tyr或Tyr模拟物, R_8 是Met或Met模拟物,及 R_9 是Asp或Asp模拟物。在一些实施例中, R_3 不是Arg或Arg模拟物。

[0116] 多种技术可用于构建与相应天然肽具有相同或类似的所希望的生物活性,但在溶解度、稳定性和/或对水解或蛋白水解的敏感性方面活性比所述肽有利的肽模拟物(参见例如,Morgan和Gainor,《药物化学年度报告(Ann.Rep.Med.Chem.)》,24,243-252,1989)。某些肽模拟物化合物是基于本公开的肽的氨基酸序列。通常,肽模拟物化合物是具有基于所选肽的三维结构的三维结构(即,“肽基序”)的合成化合物。所述肽基序提供具有所希望的生物活性,即结合至PIF受体的肽模拟物化合物,其中所述模拟物化合物的结合活性基本上未降低,并且通常与作为所述模拟物的模型天然肽的活性相同或更高。肽模拟物化合物可以具有增进其治疗应用的额外特征,如增加的细胞渗透性、较高的亲和力和/或亲合力及延

长的生物半衰期。

[0117] 肽模拟物设计策略是本领域中易于得到的(参见例如,Ripka和Rich,《化学生物学当前观点(Curr.Op.Chem.Bioi.)》,2,441-452,1998;Hruby等人,《化学生物学当前观点》,1,114-119,1997;Hruby和Baise,《现代医学化学(Curr.Med.Chem.)》,9,945-970,2000)。一类肽模拟物的主链是部分或完全非肽的,但从原子看,模拟肽主链原子,并且包括同样模拟天然氨基酸残基的侧链基团的功能的侧链基团。本领域中已知若干类型的化学键,例如酯、硫酯、硫代酰胺、逆酰胺、还原羰基、二亚甲基及酮基亚甲基键一般可用于取代肽键构建蛋白酶抗性肽模拟物。另一类肽模拟物包括结合到另一肽或蛋白质但未必是天然肽的结构模拟物的非肽小分子。又一类肽模拟物源自于组合化学性质及大型化学文库的产生。这些一般构成新颖模板,所述模板虽然在结构上与天然肽不相关,但在非肽骨架上安置有所需官能团以充当原始肽的“表面形状”模拟物(Ripka和Rich,1998,同前述)。

[0118] 最先鉴别的天然PIF化合物,称为nPIF (SEQ ID NO:1)是一种具有15个氨基酸的肽。这种肽的合成形式sPIF (SEQ ID NO:13)显示de活性类似于天然肽nPIF (SEQ ID NO:1)。这种肽与环孢子蛋白质(一种疟疾寄生虫)的一个小区域同源。第二种PIF肽(SEQ ID NO:7)包含13个氨基酸并且与一种被鉴别为受体相互作用因子的名为甲状腺和视黄酸转录辅阻遏物的大型蛋白质(SMRT)的一小部分共有同源性;合成形式是sPIF-2 (SEQ ID NO:14)。第三种不同的肽nPIF-3 (SEQ ID NO:10)由18个氨基酸组成并且与逆转录酶的一小部分相配;此肽的合成形式sPIF-3是(SEQ ID NO:15)。nPIF-4 (SEQ ID NO:12)与逆转录酶的一小部分共有同源性。

[0119] 天然和合成PIF肽的清单提供于下表4中。还提供了针对各种PIF肽及乱序PIF肽的抗体。

[0120] 表4.PIF肽

[0121]

(SEQ ID NO)	肽	氨基酸序列
SEQ ID NO: 1 分离的天然序列, 与环孢子蛋白质 (疟疾) 的区域相配	nPIF-1 ₁₅	MVRIKPGSANKPSDD
SEQ ID NO: 2 分离的天然序列, 与环孢子蛋白质 (疟疾) 的区域相配	nPIF-1 _(15-改变)	MVRIKYGSYNNKPSD
SEQ ID NO: 3 分离的天然序列, 与环孢子蛋白质 (疟疾) 的区域相配	nPIF-1 ₍₁₃₎	MVRIKPGSANKPS
SEQ ID NO: 4 分离的天然序列, 与环孢子蛋白质 (疟疾) 的区域相配	nPIF-1 ₍₉₎	MVRIKPGSA
SEQ ID NO: 5 合成序列, 由环孢子蛋白质 (疟疾) 的区域得到的乱序氨基酸序列	scrPIF-1 ₁₅	GRVDPSNKSMPKDIA
SEQ ID NO: 6 分离的天然序列, 与人类类视黄醇和甲状腺激素受体-SMRT 的区域相配	nPIF-2 ₍₁₀₎	SQAVQEHA
SEQ ID NO: 7 分离的天然序列, 与人类类视黄醇和甲状腺激素受体 (SMRT) 的区域相配	nPIF-2 ₍₁₃₎	SQAVQEHA
SEQ ID NO: 8 合成序列, 由人类类视黄醇和甲状腺激素受体 SMRT 的区域得到的乱序氨基酸序列	scrPIF-2 ₍₁₃₎	EVAQHSQASTMNG
SEQ ID NO: 9	scrPIF-2 ₍₁₄₎	GQASSAQMNSTGVH
SEQ ID NO: 10 分离的天然序列, 与 Rev Trans 的区域相配	nPIF-3 ₍₁₈₎	SGIVYQYMDDRYVGSDL
SEQ ID NO: 11 合成序列, 由环孢子蛋白质 (疟疾) 的区域得到的乱序氨基酸序列	negPIF-1 ₍₁₅₎ 的 阴性对照物	GMRELQRSANK
SEQ ID NO: 12 分离的天然序列, 与 Rev Trans 的区域相配	nPIF-4 ₍₉₎	VIIIAQYMD
天然分离的 nPIF-115 的抗体	AbPIF-1 ₍₁₅₎	
(SEQ ID NO: 13) 合成序列, 由环孢子蛋白质 (疟疾) 的区域得到的氨基酸序列	sPIF-1 ₍₁₅₎	MVRIKPGSANKPSDD
(SEQ ID NO: 14) 合成序列, 由人类类视黄醇和甲状腺激素受体 SMRT 得到的氨基酸序列	sPIF-2 ₍₁₃₎	SQAVQEHA
(SEQ ID NO: 15) 合成序列, 由环孢子蛋白质 (疟疾) 的区域得到的氨基酸序列	sPIF-3 ₍₁₈₎	SGIVYQYMDDRYVGSDL
(SEQ ID NO: 16) 合成序列, 由环孢子蛋白质 (疟疾) 的区域得到的氨基酸序列	sPIF-1 ₍₉₎	MVRIKPGSA

[0122]

分离的天然 nPIF-2 ₍₁₃₎ 的抗体	AbPIF-2 ₍₁₃₎	
分离的天然 nPIF-3 ₍₁₈₎ 的抗体	AbPIF-3 ₍₁₈₎	
(SEQ ID NO: 17)合成序列	sPIF-4 ₍₉₎	VIIIAQYMD
SEQ ID NO: 18 合成序列	sPIF-1 ₍₅₎	MVRIK
SEQ ID NO: 19 合成序列	sPIF-1 ₍₄₎	PGSA
SEQ ID NO: 20	PIF (-3)	MVXIKPGSANKPSDD
SEQ ID NO: 21	PIF (-1)	XVRIKPGSANKPSDD
SEQ ID NO: 22	PIF (-1,-3)	XVXIKPGSANKPSDD
SEQ ID NO: 23	PIF (-6)	MVRIKXGSANKPSDD
SEQ ID NO: 24	PIF (-4)	MVRXKPGSANKPSDD
SEQ ID NO: 25	PIF (-2)	MXRIKPGSANKPSDD
SEQ ID NO: 26	mut1	MVRIKEGSANKPSDD
SEQ ID NO: 27	mut3	MVRGKPGSANKPSDD
SEQ ID NO: 28	mut4	MERIKPGSANKPSDD
SEQ ID NO: 29	mut5	AVRIKPGSANKPSDD
n=天然, s=合成, scr=乱序, 相同 AA, ()=AA 的数量, Ab=抗体, X=除精氨酸外的任何氨基酸		

[0123] 在本公开的一些实施例中,提供一种PIF肽。此类PIF肽可用于急性辐射综合症(ARS)、急性辐射暴露的远期效应或与其相关的疾患。

[0124] 在另一个实施例中,提供包括PIF肽的药物组合物。在一些实施例中,所述药物组合物包括治疗有效量的PIF肽或其药学上可接受的盐。在一些实施例中,所述药物组合物不含包括表4的序列标识符中的任一个或多个的肽。在一些实施例中,所述药物组合物不含包含SEQ ID NO:1或由其组成的肽。

[0125] 在另一个实施例中,提供治疗急性辐射综合症、急性辐射暴露的远期效应或与其相关的疾患的方法。在一个优选实施例中,所述方法包括向有需要的受试者施用有效量的PIF肽。

[0126] 在另一实施例中,提供一种用于治疗ARS的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用有效量的PIF肽与一种或多种免疫治疗、抗癫痫、利尿或抗高血压药物或化合物的组合。此类组合可以增强任一单独组分的治疗有效性,或者可以提供较低副作用和/或能够减少任一组分的剂量。

[0127] PIF-1的作用看来与作为大部分免疫抑制剂的作用机制的TCR、钙通道或PKC路径,以及在各种自身免疫疾病中相关的CD4+/CD25+细胞(T_{reg})细胞无关。另一方面,PIF-1的作用可能涉及NFAT-1抑制。

[0128] 最后,在若干不同的重度自身免疫模型中,新颖的胚胎源性肽PIF在低剂量下短期治疗后建立耐受性状态,由此产生长期的保护作用。此作用的发挥无明显毒性。

[0129] 对于指定适应症的治疗性治疗,PIF肽可以如此施用,或者可以混配并配制成呈单位剂型的药物组合物以不经肠、透皮、直肠、鼻、局部静脉内施用,或优选经口施用。这些药物组合物是以本领域中众所周知的方式制备并且包括至少一种活性PIF肽以及药用载体。如本说明书通篇所使用,术语“活性化合物”是指至少一种选自所述式的化合物的化合物或其药学上可接受的盐。

[0130] 在此类组合物中,所述活性化合物称为“活性成分”。在制备组合物时,通常将活性

成分与载剂混合,或用载剂稀释,或封装于呈胶囊、药囊、纸或其它容器形式的载剂内。当载剂充当稀释剂时,其可以是充当活性成分的媒剂、介质的赋形剂的固体、半固体或液体材料。因此,所述组合物可以呈片剂、丸剂、散剂、口含锭、药囊、扁胶剂、酏剂、乳液、溶液、糖浆、悬浮液、软质和硬质明胶胶囊、无菌可注射溶液及无菌带包装的散剂的形式。

[0131] 术语“药物制剂”和“药物组合物”包含适于施用给哺乳动物,例如人类的制剂。当将本公开的化合物作为药物施用给哺乳动物,例如人类时,其可以原样给与或以含有例如约0.1至约99.5%的活性成分以及药学上可接受的载剂的药物组合物形式给与。

[0132] 短语“药学上可接受的”是指分子实体和组合物当施用给人类时是生理上可耐受的并且典型地不会产生过敏或类似不良反应,如反胃、头昏眼花等。优选地,如本文所使用,术语“药学上可接受的”意思指得到联邦监管机构或州政府批准或在美国药典或其它公认的药典中列出适用于动物,并且更确切地说适用于人类。在一些实施例中,所述药物组合物包括PIF肽、其模拟物或药学上可接受的盐及至少一种药学上可接受的载剂。

[0133] 短语“药学上可接受的载剂”是技术公认的并且包含适于将本公开的化合物施用给哺乳动物的药学上可接受的材料、组合物或媒剂。所述载剂包含将主题药剂从一个器官或身体部分载运或转运至另一器官或身体部分所涉及的液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂、溶剂或囊封材料。每一载剂在与配制物的其它成分相容且对患者无害的意义上必须是“可接受的”。可以充当药学上可接受的载剂的材料的一些实例包括:糖,如乳糖、葡萄糖和蔗糖;淀粉,如玉米淀粉和马铃薯淀粉;纤维素和其衍生物,如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和乙酸纤维素;粉末状黄芪胶;麦芽;明胶;滑石;赋形剂,如可可脂和栓剂蜡;油,如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油及大豆油;二醇,如丙二醇;多元醇,如甘油、山梨糖醇、甘露糖醇及聚乙二醇;酯,如油酸乙酯和月桂酸乙酯;琼脂;缓冲剂,如氢氧化镁和氢氧化铝;海藻酸;无热原质水;等渗生理盐水;林格氏溶液(Ringer's solution);乙醇;磷酸盐缓冲溶液;以及药物配制物中采用的其它无毒相容性物质。适合药物载剂描述于E.W.Martin的《雷明顿药物科学(Remington's Pharmaceutical Sciences)》中,所述文献以全文引用的方式并入本文中。在一些实施例中,药学上可接受的载剂是无菌并且无热原质的水。在一些实施例中,药学上可接受的载剂是林格氏乳酸盐,有时称为乳酸林格氏溶液。

[0134] 润湿剂、乳化剂及润滑剂(如月桂基硫酸钠和硬脂酸镁)以及着色剂、脱模剂、包覆剂、甜味剂、调味剂及芳香剂、防腐剂和抗氧化剂也可以存在于所述组合物中。

[0135] 药学上可接受的抗氧化剂的实例包含:水溶性抗氧化剂,如抗坏血酸、半胱氨酸盐酸盐、硫酸氢钠、偏亚硫酸氢钠、亚硫酸钠等;油溶性抗氧化剂,如棕榈酸抗坏血基酯、丁基化羟基大茴香醚(BHA)、丁基化羟基甲苯(BHT)、卵磷脂、没食子酸丙酯、 α -生育酚等;及金属螯合剂,如柠檬酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、山梨糖醇、酒石酸、磷酸等。

[0136] 本公开的配制物包含适于经口、鼻、表面、经颊、舌下、直肠、经阴道和/或不经肠施用的那些。这些配制物可以合宜地呈单位剂型,并且可以通过药学领域众所周知的任何方法来制备。可以与载剂材料组合以制造单一剂型的活性成分的量一般将是产生治疗作用的化合物的量。一般来说,以百分之一百计,此量将在约1%到约99%,优选约5%到约70%,最优选约10%到约30%活性成分范围内。

[0137] 适合载剂、赋形剂和稀释剂的一些实例包含乳糖、右旋糖、蔗糖、山梨糖醇、甘露糖

醇、淀粉、阿拉伯胶、磷酸钙、海藻酸盐、硅酸钙、微晶纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素、黄芪胶、明胶、糖浆、甲基纤维素、羟基苯甲酸甲酯和羟基苯甲酸丙酯、滑石、硬脂酸镁、水以及矿物油。所述配制物可以另外包含润滑剂、润湿剂、乳化剂和悬浮剂、防腐剂、甜味剂或调味剂。所述组合物可以被配制在采用本领域众所周知的程序施用给患者之后,提供活性成分的快速、持续或延迟释放。

[0138] 对于经口施用,可以将化合物与载剂和稀释剂混合,模制成片剂,或封装于明胶胶囊中。或者,可以将混合物溶解于如10%葡萄糖水溶液、等渗生理盐水、无菌水等液体中,并静脉内或通过注射施用。

[0139] 可以利用在靶部位或靠近靶部位处施用化合物的多种技术局部递送抑制量的活性化合物以治疗免疫病症。局部递送技术的实例不打算作为限制,而是对可用技术的说明。实例包含局部递送导管、位点特异性载体、植入物、直接注射,或直接涂覆,如表面涂覆。

[0140] 通过植入物局部递送描述将含有药剂的基质手术放置于感染部位中。植入的基质通过扩散、化学反应或溶剂活化剂释放药剂。

[0141] 举例来说,在一些方面,本公开针对一种包括PIF肽及药学上可接受的载剂或稀释剂的药物组合物,或有效量的包括PIF肽的药物组合物。

[0142] 具体施用方式将取决于适应症。具体施用途径及剂量方案的选择应由临床医师根据临床医师已知的方法调整或滴定以便获得最佳临床反应。欲施用的化合物的量是治疗有效的量。欲施用的剂量将取决于所治疗的受试者的特征,例如所治疗的特定哺乳动物或人类、年龄、体重、健康状况、同时治疗(如果存在的话)的类型及治疗频率,并且可以由本领域的技术人员(例如,临床医师)容易地确定。

[0143] 含有本公开的化合物及适合载剂的药物配制物可以是固体剂型,包括但不限于,片剂、胶囊、扁胶剂、团粒、丸剂、散剂及颗粒剂;表面用剂型,包括但不限于,溶液、散剂、流体乳液、流体悬浮液、半固体、软膏、糊剂、乳膏、凝胶剂及泡沫剂;及不经肠剂型,包括但不限于,溶液、悬浮液、乳液及干粉;其包括有效量的本公开的聚合物或共聚物。另外,本领域中已知此类配制物中可以含有活性成分以及药学上可接受的稀释剂、填充剂、崩解剂、粘合剂、润滑剂、表面活性剂、疏水性媒剂、水溶性媒剂、乳化剂、缓冲剂、保湿剂、增湿剂、增溶剂、防腐剂等。施用的方式和方法是本领域中已知并且从业者可以参考各种药理学参考文献的指导。举例来说,可以查询《现代药剂学(Modern Pharmaceutics)》,Banker和Rhodes, Marcel Dekker, Inc. (1979);及《Goodman&Gilman治疗的药理学基础(Goodman&Gilman's The Pharmaceutical Basis of Therapeutics)》,第6版,MacMillan Publishing Co.,纽约(1980)。

[0144] 本公开的化合物可以被配制通过注射,例如通过推注或连续输注不经肠施用。所述化合物可以通过经预定时间段连续皮下输注来施用。用于注射的配制物可以呈例如在安瓿或多剂量容器中的单位剂型,其中添加有防腐剂。所述组合物可以呈如于油性或水性媒剂中的悬浮液、溶液或乳液的形式,并且可以含有如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂等配制剂。

[0145] 对于经口施用,可以通过将这些化合物与本领域中众所周知的药学上可接受的载剂组合,容易地配制所述化合物。此类载剂使本公开的化合物能配制成片剂、丸剂、糖衣药丸、胶囊、液体、凝胶、糖浆、浆液、悬浮液等形式,以供待治疗患者口服摄取。可以通过添加

固体赋形剂,任选地研磨所得混合物,并处理颗粒混合物,必要时,改变添加适合助剂,以获得片剂或糖衣药丸核心,来获得供口服使用的药物制剂。适合赋形剂包含但不限于,填充剂,如糖,包含但不限于,乳糖、蔗糖、甘露糖醇及山梨糖醇;纤维素制剂,如但不限于,玉米淀粉、小麦淀粉、稻谷淀粉、马铃薯淀粉、明胶、黄芪胶、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素钠及聚乙烯吡咯烷酮(PVP)。必要时,可以添加崩解剂,如但不限于,交联聚乙烯吡咯烷酮、琼脂或海藻酸,或其盐,如海藻酸钠。

[0146] 糖衣药丸核可以具有适合包衣。为此目的,可以使用浓糖溶液,其可以任选地含有阿拉伯胶、滑石、聚乙烯吡咯烷酮、卡波莫凝胶(carbopol gel)、聚乙二醇和/或二氧化钛、亮漆溶液,及适合的有机溶剂或溶剂混合物。片剂或糖衣药丸包衣中可以添加染料或颜料以标识或表征活性化合物剂量的不同组合。

[0147] 可以口服使用的药物制剂包含但不限于,明胶制成的推入配合胶囊,以及由明胶和塑化剂,如甘油或山梨糖醇制成的软质带刻度胶囊。推入配合胶囊可以含有活性成分与填充剂(如乳糖)、粘合剂(如淀粉)和/或润滑剂(如滑石或硬脂酸镁)以及任选使用的稳定剂的混合物。在软质胶囊中,活性化合物可以溶解或悬浮于适合液体,如脂肪油、液体石蜡或液体聚乙二醇中。此外,可以添加稳定剂。经口施用的所有配制物应呈适于此类施用的剂量。

[0148] 对于经颊施用,组合物可以呈以常规方式配制的例如锭剂或口含锭形式。

[0149] 对于经吸入施用,根据根据本公开使用的活性成分宜使用适合推进剂,例如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳或其它适合气体,以自加压包装或喷雾器提供的气雾剂喷雾形式递送。在加压气雾剂的情况下,可以通过提供递送计量数量来测定剂量单位。可以配制含有所述化合物与适合粉末基质(如乳糖或淀粉)的粉末混合物的例如明胶胶囊和药筒以用于吸入器或吹入器中。

[0150] 本公开的化合物还可以配制成例如含有常规栓剂基质(如可可脂或其它甘油酯)的直肠组合物,如栓剂或保留灌肠剂形式。

[0151] 除先前描述的配制物外,本公开的化合物也可以配制成积存式制剂形式。这类长效配制物可以通过植入(例如皮下或肌内)或通过肌肉内注射施用。

[0152] 积存式注射液可以按约1至约6个月或更长时间间隔施用。因此,举例来说,所述化合物可以用适合聚合材料或疏水性材料(例如于可接受的油中的乳液)或离子交换树脂,或呈微溶性衍生物形式,例如呈微溶性盐形式配制。

[0153] 在透皮施用时,本公开的化合物例如可以施加至硬膏剂中,或者可以通过透皮治疗系统施加,由此供应给生物体。

[0154] 化合物的药物组合物还可以包括适合固体或凝胶相载剂或赋形剂。此类载剂或赋形剂的实例包含但不限于,碳酸钙、磷酸钙、各种糖淀粉、纤维素衍生物、明胶及聚合物,如聚乙二醇。

[0155] 对于不经肠施用,类似物可以例如与药学上可接受的不经肠媒剂结合,调配成溶液、悬浮液、乳液或冻干粉形式。这类媒剂的实例是水、生理盐水、林格氏溶液、右旋糖溶液及5%人类血清白蛋白。还可以使用脂质体和非水性媒剂,如不挥发性油。媒剂或冻干粉可以含有维持等渗性(例如氯化钠、甘露糖醇)和化学稳定性(例如缓冲剂和防腐剂)的添加剂。所述配制物通过常用技术杀菌。举例来说,适于通过注射施用的不经肠组合物是通过将

以重量计1.5%的类似物溶解于0.9%氯化钠溶液中来制备。

[0156] 本公开涉及施用途径,包含肌肉内、舌下、静脉内、腹膜内、鞘内、阴道内、尿道内、皮内、颊内、经由吸入、经由喷雾剂及经由皮下注射施用。或者,可以通过各种方式将药物组合物引入自个体移除的细胞中。此类方式包含例如微弹轰击及脂质体或其它纳米粒子装置。

[0157] 供经口施用的固体剂型包含胶囊、片剂、丸剂、散剂和颗粒剂。在固体剂型中,类似物一般与至少一种惰性药学上可接受的载剂,如蔗糖、乳糖、淀粉或其它一般被认为安全(GRAS)的添加剂混合。与常规实践相同,此类剂型还可以包括除惰性稀释剂外的额外物质,例如润滑剂,如镁状态(magnesium state)。对于胶囊、片剂及丸剂,这些剂型还可以包括缓冲剂。片剂和丸剂可以另外使用本领域中已知的技术,用肠溶包衣或以控制释放形式制备。

[0158] 供经口施用的液体剂型包含药学上可接受的乳液、溶液、悬浮液及糖浆,其中酞剂含有本领域中常用的惰性稀释剂,如水。这些组合物还可以包含一种或多种佐剂,如润湿剂、乳化剂、悬浮剂、甜味剂、调味剂或芳香剂。

[0159] 在本发明的另一实施例中,使用本发明的组合物治疗患有或易患I型成人幼年型糖尿病、多发性硬化、克罗恩氏病(Crohn's)或自身免疫性肝炎的患者。

[0160] 本领域的技术人员将认识到,所述组合物和药物组合物的适当剂量可以取决于所治疗的个体及目的而变化。举例来说,个别患者的年龄、体重及病史可能影响疗法的治疗功效。另外,可能需要较低剂量的组合物使症状短暂终止,而可能可以较大剂量使与疾病、病症或适应症有关的症状完全终止。合格的医生可以考虑这些因素并调整给药方案以确保剂量实现所希望的治疗结果,而无需过度实验。另外,应注意,临床医师和/或治疗医师结合个别患者的反应将了解如何并且何时中断、调整和/或终止疗法。剂量也可以取决于选择用于药物组合物的特定类似物的浓度。

[0161] 所述组合物或药物组合物的剂量可以变化。组合物的剂量可以是每天一次。在一些实施例中,可以向受试者每天施用多次剂量。在一些实施例中,总剂量是以至少两个施加时间段施用。在一些实施例中,所述时间段可以是一小时、一天、一个月、一年、一周或两周时间。在本发明的另一个实施例中,总剂量是以两个或多于两个独立施加时间段,或在一小时、一天、一个月、一年、一周或两周时间段内以独立剂量施用。

[0162] 在一些实施例中,可以向受试者施用组合物,其中所述组合物是以每公斤受试者体重约0.0001mg至约5000mg范围内的日剂量提供。施用给受试者的剂量也可以关于每天施用的PIF肽或PIF类似物或其药学上可接受的盐的总量度量。在一些实施例中,每天向受试者施用约0.001至约3000毫克PIF肽或PIF类似物或其药学上可接受的盐。在一些实施例中,每天向受试者施用至多约2000毫克的PIF肽或PIF类似物或其药学上可接受的盐。在一些实施例中,每天向受试者施用至多约1800毫克的PIF肽或PIF类似物或其药学上可接受的盐。在一些实施例中,每天向受试者施用至多约1600毫克的PIF肽或PIF类似物或其药学上可接受的盐。在一些实施例中,每天向受试者施用至多约1400毫克的PIF肽或PIF类似物或其药学上可接受的盐。在一些实施例中,每天向受试者施用至多约1200毫克的PIF肽或PIF类似物或其药学上可接受的盐。在一些实施例中,每天向受试者施用至多约1000毫克的PIF肽或PIF类似物或其药学上可接受的盐。在一些实施例中,每天向受试者施用至多约800毫克的PIF肽或PIF类似物或其药学上可接受的盐。在一些实施例中,向受试者施用每剂约0.001毫

克至约700毫克的PIF肽或PIF类似物或其药学上可接受的盐。在一些实施例中,向受试者施用每剂至多约700毫克的PIF肽或PIF类似物。在一些实施例中,向受试者施用每剂至多约600毫克的PIF肽或PIF类似物或其药学上可接受的盐。在一些实施例中,向受试者施用每剂至多约500毫克的PIF肽或PIF类似物或其药学上可接受的盐。在一些实施例中,向受试者施用每剂至多约400毫克的PIF肽或PIF类似物或其药学上可接受的盐。在一些实施例中,向受试者施用每剂至多约300毫克的PIF肽或PIF类似物或其药学上可接受的盐。在一些实施例中,向受试者施用每剂至多约200毫克的PIF肽或PIF类似物或其药学上可接受的盐。在一些实施例中,向受试者施用每剂至多约100毫克的PIF肽或PIF类似物或其药学上可接受的盐。在一些实施例中,向受试者施用每剂至多约50毫克的PIF肽或PIF类似物或其药学上可接受的盐。

[0163] 在一些实施例中,可以向受试者施用组合物,其中包括PIF肽或PIF类似物或其药学上可接受的盐的组合物是以每公斤受试者体重约0.0001mg至约5000mg的日剂量范围施用。在一些实施例中,包括PIF类似物或其药学上可接受的盐的组合物是以每公斤受试者体重至多约450mg的日剂量施用。在一些实施例中,包括PIF肽或PIF类似物或其药学上可接受的盐的组合物是以每公斤受试者体重至多约400mg的日剂量施用。在一些实施例中,包括PIF肽或PIF类似物或其药学上可接受的盐的组合物是以每公斤受试者体重至多约350mg的日剂量施用。在一些实施例中,包括PIF肽或PIF类似物或其药学上可接受的盐的组合物是以每公斤受试者体重至多约300mg的日剂量施用。在一些实施例中,包括PIF肽或PIF类似物或其药学上可接受的盐的组合物是以每公斤受试者体重至多约250mg的日剂量施用。在一些实施例中,包括PIF肽或PIF类似物或其药学上可接受的盐的组合物是以每公斤受试者体重至多约200mg的日剂量施用。在一些实施例中,包括PIF肽或PIF类似物或其药学上可接受的盐的组合物是以每公斤受试者体重至多约150mg的日剂量施用。在一些实施例中,包括PIF肽或PIF类似物或其药学上可接受的盐的组合物是以每公斤受试者体重至多约100mg的日剂量施用。在一些实施例中,包括PIF肽或PIF类似物或其药学上可接受的盐的组合物是以每公斤受试者体重至多约50mg的日剂量施用。在一些实施例中,包括PIF肽或PIF类似物或其药学上可接受的盐的组合物是以每公斤受试者体重至多约25mg的日剂量施用。

[0164] 在一些实施例中,包括PIF肽或PIF类似物或其药学上可接受的盐的组合物是以每公斤受试者体重至多约10mg的日剂量施用。在一些实施例中,包括PIF肽或PIF类似物或其药学上可接受的盐的组合物是以每公斤受试者体重至多约5mg的日剂量施用。在一些实施例中,包括PIF肽或PIF类似物或其药学上可接受的盐的组合物是以每公斤受试者体重至多约1mg的日剂量施用。在一些实施例中,包括PIF肽或PIF类似物或其药学上可接受的盐的组合物是以每公斤受试者体重至多约0.1mg的日剂量施用。

[0165] 在一些实施例中,包括PIF类似物或其药学上可接受的盐的组合物是以每公斤受试者体重至多约0.01mg的日剂量施用。在一些实施例中,包括PIF类似物或其药学上可接受的盐的组合物是以每公斤受试者体重至多约0.001mg的日剂量施用。施用给受试者的剂量也可以关于每天施用的PIF肽或PIF类似物的总量度量。

[0166] 在一些实施例中,每天向有需要的受试者施用约1ng至约500μg类似物或其药用盐。在一些实施例中,每天向有需要的受试者施用约1ng至约10ng类似物或其药用盐。在一些实施例中,每天向有需要的受试者施用约10ng至约20ng类似物或其药用盐。在一些实施例中,

每天向有需要的受试者施用约10ng至约100ng类似物或其药用盐。在一些实施例中，每天向有需要的受试者施用约100ng至约200ng类似物或其药用盐。在一些实施例中，每天向有需要的受试者施用约200ng至约300ng类似物或其药用盐。在一些实施例中，每天向有需要的受试者施用约300ng至约400ng类似物或其药用盐。在一些实施例中，每天向有需要的受试者施用约400ng至约500ng类似物或其药用盐。在一些实施例中，每天向有需要的受试者施用约500ng至约600ng类似物或其药用盐。在一些实施例中，每天向有需要的受试者施用约600ng至约700ng类似物或其药用盐。在一些实施例中，每天向有需要的受试者施用约800ng至约900ng类似物或其药用盐。在一些实施例中，每天向有需要的受试者施用约900ng至约1μg类似物或其药用盐。在一些实施例中，每天向有需要的受试者施用约1μg至约100μg类似物或其药用盐。在一些实施例中，每天向有需要的受试者施用约100μg至约200μg类似物或其药用盐。在一些实施例中，每天向有需要的受试者施用约200μg至约300μg类似物或其药用盐。在一些实施例中，每天向有需要的受试者施用约300μg至约400μg类似物或其药用盐。在一些实施例中，每天向有需要的受试者施用约400μg至约500μg类似物或其药用盐。在一些实施例中，每天向有需要的受试者施用约500μg至约600μg类似物或其药用盐。在一些实施例中，每天向有需要的受试者施用约600μg至约700μg类似物或其药用盐。在一些实施例中，每天向有需要的受试者施用约800μg至约900μg类似物或其药用盐。在一些实施例中，每天向有需要的受试者施用约900μg至约1mg类似物或其药用盐。

[0167] 在一些实施例中,每天向有需要的受试者施用约.0001至约3000毫克PIF肽或PIF类似物或其药用盐。在一些实施例中,每天向受试者施用至多约2000毫克的PIF肽或PIF类似物或其药用盐。在一些实施例中,每天向受试者施用至多约1800毫克的PIF肽或PIF类似物或其药用盐。在一些实施例中,每天向受试者施用至多约1600毫克的PIF肽或PIF类似物或其药用盐。在一些实施例中,每天向受试者施用至多约1400毫克的PIF肽或PIF类似物或其药用盐。在一些实施例中,每天向受试者施用至多约1200毫克的PIF肽或PIF类似物或其药用盐。在一些实施例中,每天向受试者施用至多约1000毫克的PIF肽或PIF类似物或其药用盐。在一些实施例中,每天向受试者施用至多约800毫克的PIF肽或PIF类似物或其药用盐。在一些实施例中,向受试者施用每剂约0.0001毫克至约700毫克的PIF肽或PIF类似物或其药用盐。在一些实施例中,向受试者施用每剂至多约700毫克的PIF肽或PIF类似物或其药用盐。在一些实施例中,向受试者施用每剂至多约600毫克的PIF肽或PIF类似物或其药用盐。在一些实施例中,向受试者施用每剂至多约500毫克的PIF肽或PIF类似物或其药用盐。在一些实施例中,向受试者施用每剂至多约400毫克的PIF肽或PIF类似物或其药用盐。在一些实施例中,向受试者施用每剂至多约300毫克的PIF肽或PIF类似物或其药用盐。在一些实施例中,向受试者施用每剂至多约200毫克的PIF肽或PIF类似物或其药用盐。在一些实施例中,向受试者施用每剂至多约100毫克的PIF肽或PIF类似物或其药用盐。在一些实施例中,向受试者施用每剂至多约50毫克的PIF肽或PIF类似物或其药用盐。在一些实施例中,向受试者施用每剂至多约25毫克的PIF肽或PIF类似物或其药用盐。在一些实施例中,向受试者施用每剂至多约15毫克的PIF肽或PIF类似物或其药用盐。

[168] 在一些实施例中,向受试者施用每剂至多约10毫克的PIF肽或PIF类似物或其药用盐。在一些实施例中,向受试者施用每剂至多约5毫克的PIF肽或PIF类似物或其药用盐。在一些实施例中,向受试者施用每剂至多约1毫克的PIF肽或PIF类似物或其药用盐。在一些实

施例中,向受试者施用每剂至多约0.1毫克的PIF肽或PIF类似物或其药用盐。在一些实施例中,向受试者施用每剂至多约0.001毫克的PIF肽或PIF类似物或其药用盐。

[0169] 施用给受试者的剂量也可以关于每盎司所知不多液体施用的PIF肽或PIF类似物或其药用盐的总量度量。在一些实施例中,PIF肽或PIF类似物或其药用盐的浓度是每盎司溶液约2.5克。在一些实施例中,PIF肽或PIF类似物或其药用盐的浓度是每盎司溶液约2.25克。在一些实施例中,PIF肽或PIF类似物或其药用盐的浓度是每盎司溶液约2.25克。在一些实施例中,PIF肽或PIF类似物或其药用盐的浓度是每盎司溶液约2.0克。在一些实施例中,PIF肽或PIF类似物或其药用盐的浓度是每盎司溶液约1.9克。在一些实施例中,PIF肽或PIF类似物或其药用盐的浓度是每盎司溶液约1.8克。在一些实施例中,PIF肽或其药用盐的浓度是每盎司溶液约1.7克。在一些实施例中,PIF肽或PIF类似物或其药用盐的浓度是每盎司溶液约1.6克。在一些实施例中,PIF肽或PIF类似物或其药用盐的浓度是每盎司溶液约1.5克。在一些实施例中,PIF肽或PIF类似物或其药用盐的浓度是每盎司溶液约1.4克。在一些实施例中,PIF肽或PIF类似物或其药用盐的浓度是每盎司溶液约1.3克。在一些实施例中,PIF肽或PIF类似物或其药用盐的浓度是每盎司溶液约1.2克。在一些实施例中,PIF肽或PIF类似物或其药用盐的浓度是每盎司溶液约1.1克。在一些实施例中,PIF肽或PIF类似物或其药用盐的浓度是每盎司溶液约1.0克。

[0170] 在一些实施例中,PIF肽或PIF类似物或其药用盐的浓度是每盎司溶液约0.9克。在一些实施例中,PIF肽或PIF类似物或其药用盐的浓度是每盎司溶液约0.8克。在一些实施例中,PIF肽或PIF类似物或其药用盐的浓度是每盎司溶液约0.7克。在一些实施例中,PIF肽或PIF类似物或其药用盐的浓度是每盎司溶液约0.6克。在一些实施例中,PIF肽或PIF类似物或其药用盐的浓度是每盎司溶液约0.5克。在一些实施例中,PIF肽或PIF类似物或其药用盐的浓度是每盎司溶液约0.4克。在一些实施例中,PIF肽或PIF类似物或其药用盐的浓度是每盎司溶液约0.3克。在一些实施例中,PIF肽或PIF类似物或其药用盐的浓度是每盎司溶液约0.2克。在一些实施例中,PIF肽或PIF类似物或其药用盐的浓度是每盎司溶液约0.1克。在一些实施例中,PIF肽或PIF类似物或其药用盐的浓度是每盎司溶液约0.01克。在一些实施例中,PIF肽或PIF类似物或其药用盐的浓度是每盎司所制备的溶液约0.001克。在一些实施例中,PIF肽或PIF类似物或其药用盐的浓度是每盎司所制备的溶液约0.0001克。在一些实施例中,PIF肽或PIF类似物或其药用盐的浓度是每盎司所制备的溶液约0.00001克。在一些实施例中,PIF肽或PIF类似物或其药用盐的浓度是每盎司所制备的溶液约0.000001克。

[0171] 剂量可以关于每升所知不多液体配制物类似物的质量度量。本领域技术人员可以取决于治疗预防与治疗有需要的受试者有关的任何以上提及的病症所希望的生物活性强度增加或降低剂量中类似物的浓度。举例来说,本发明的一些实施例可以包含每5mL液体配制物至多0.00001克类似物并且每5mL液体配制物至多约10克类似物。

[0172] 在一些实施例中,除PIF肽、其药学上可接受的盐的类似物外,所要求的发明的药物组合物还包括至少一种或多种活性剂。在一些实施例中,活性剂任选地通过蛋白酶可裂解连接子(包含但不限于,Pro-Pro或瓜氨酸-缬氨酸二- α -氨基酸连接子)共价连接至本文中所公开的PIF肽或PIF类似物。在一些实施例中,所述一种或多种活性剂是选自以下的化合物之一或其组合:消炎化合物、 α -肾上腺素激动剂、抗心律失常化合物、镇痛化合物及麻醉化合物。

- [0173] 表5
- [0174] 消炎化合物的实例包含：
- [0175] 阿司匹林
- [0176] 塞内昔布 (Celecoxib)
- [0177] 双氯芬酸 (diclofenac)
- [0178] 二氟尼柳 (diflunisal)
- [0179] 依托度酸 (etodolac)
- [0180] 布洛芬 (ibuprofen)
- [0181] 吲哚美辛 (indomethacin)
- [0182] 酮洛芬 (ketoprofen)
- [0183] 酮咯酸萘丁美酮 (ketorolac nabumetone)
- [0184] 萘普生 (naproxen)
- [0185] 奥沙普嗪 (oxaprozin)
- [0186] 吡罗昔康 (piroxicam)
- [0187] 双柳酸酯 (salsalate)
- [0188] 舒林酸 (sulindac)
- [0189] 托美丁 (tolmetin)
- [0190] α -肾上腺素能激动剂的实例包含：
- [0191] 美速胺 (Methoxamine)
- [0192] 甲基去甲肾上腺素 (Methylnorepinephrine)
- [0193] 米多君 (Midodrine)
- [0194] 羟甲唑啉 (Oxymetazoline)
- [0195] 间羟胺 (Metaraminol)
- [0196] 苯肾上腺素
- [0197] 可乐定 (Clonidine) (混合的 α_2 -肾上腺素能激动剂和咪唑啉-I1受体激动剂)
- [0198] 胍法新 (Guanfacine) (优选 α_{2A} 亚型肾上腺素受体)
- [0199] 胍那苳 (Guanabenz) (选择性最强的 α_2 -肾上腺素能激动剂,与咪唑啉-I1相对)
- [0200] 胍诺沙苳 (Guanoxabenz) (胍那苳的代谢物)
- [0201] 胍乙啶 (Guanethidine) (周围 α_2 -受体激动剂)
- [0202] 甲苯噻嗪 (Xylazine)
- [0203] 替扎尼定 (Tizanidine)
- [0204] 美托咪啶 (Medetomidine)
- [0205] 甲基多巴 (Methyldopa)
- [0206] 法度咪定 (Fadolmidine)
- [0207] 右美托咪啶 (Dexmedetomidine)
- [0208] 抗心律失常化合物的实例包含：
- [0209] 胺碘酮 (Amiodarone) (Cordarone、Pacerone)
- [0210] 盐酸苳普地尔 (Bepridil Hydrochloride) (Vasacor)
- [0211] 丙吡胺 (Disopyramide) (Norpac)

- [0212] 多非利特 (Dofetilide) (Tikosyn)
- [0213] 决奈达隆 (Dronedarone) (Multaq)
- [0214] 氟卡尼 (Flecainide) (Tambocor)
- [0215] 伊布利特 (Ibutilide) (Corvert)
- [0216] 利多卡因 (Lidocaine) (Xylocaine)
- [0217] 普鲁卡因胺 (Procainamide) (Procan、Procanbid)
- [0218] 普罗帕酮 (Propafenone) (Rythmol)
- [0219] 普萘洛尔 (Propranolol) (Inderal)
- [0220] 奎尼丁 (Quinidine) (许多商品名)
- [0221] 索他洛尔 (Sotalol) (Betapace)
- [0222] 妥卡尼 (Tocainide) (Tonocard)
- [0223] 镇痛化合物的实例包含：
- [0224] 可待因 (codeine)
- [0225] 氢可酮 (hydrocodone) (Zohydro ER)
- [0226] 羟考酮 (oxycodone) (OxyContin、Roxicodone)
- [0227] 美沙酮 (methadone)
- [0228] 氢吗啡酮 (hydromorphone) (Dilaudid、Exalgo)
- [0229] 吗啡碱 (morphine) (Avinza、Kadian、MSIR、MS Contin) 及
- [0230] 芬太尼 (fentanyl) (Actiq、Duragesic)
- [0231] 麻醉化合物的实例包含：
- [0232] 地氟烷 (Desflurane)
- [0233] 异氟烷 (Isoflurane)
- [0234] 氧化亚氮
- [0235] 七氟醚
- [0236] 氙

[0237] 本公开的化合物也可以与其它活性成分,如例如佐剂或其它相容的药物或化合物组合施用,其中发现此类组合在实现本文所描述的方法的所希望的作用方面是合乎需要的或有利的。当在移植之前,使PIF肽暴露于任何细胞、组织或器官时,暴露可以是从约1至约12小时的任何时间。在一些实施例中,在移植之前使PIF暴露以预处理细胞的步骤是约2至约4小时。在一些实施例中,在移植之前暴露PIF以预处理细胞的步骤是约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12小时,或更长时间。在一些实施例中,在移植之前使PIF暴露于器官、组织或细胞的步骤是在移植之前从约1至约48小时的任何时间发生。在一些实施例中,在移植之前使PIF暴露于器官、组织或细胞的步骤是在发生移植之前约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、15、20、25、35、45或约50小时发生。在一些实施例中,PIF肽暴露于器官、组织或细胞的时间和条件足以增加所述器官、组织或细胞的活力,增加成功移植的可能性,降低受体接受性。在一些实施例中,使所述器官、组织或细胞暴露于本文中所公开的药物组合物之一或其组合不低于1、2、3、4、5、6、7、8、9 10小时和/或在约室温下。在一些实施例中,使所述器官、组织或细胞暴露于本文中所公开的药物组合物之一或其组合不低于1、2、3、4、5、6、7、8、9 10小时和/或在约4摄氏度下。在一些实施例中,在约4摄氏度至约40摄氏度下,使所述器官、组

织或细胞暴露于本文中所公开的药物组合物之一或其组合。

[0238] 如本文所使用,术语“急性辐射综合症”和“急性辐射疾病”可互换使用以指与暴露于致死性或亚致死性辐射有关的任何急性或慢性症状。

[0239] 如本文所使用,术语“胰岛细胞”是指来自胰脏任何产激素区域的细胞。

[0240] 如本文所使用,术语“造血细胞”是指可以在生物体内产生任何类型的血细胞的任何细胞。在一些实施例中,造血细胞是造血干细胞。在一些实施例中,造血细胞是能够分化成血细胞的多能前驱细胞。在一些实施例中,造血细胞是骨髓细胞。在一些实施例中,造血细胞是由诱导性多能干细胞、胚胎细胞或间充质细胞分化的血细胞。

[0241] 如本文所使用,术语“肾上腺细胞”是指来自肾上腺任何产激素区域的任何细胞。

[0242] 如本文所使用,术语“心脏细胞”是指来自心脏或血管的任何部分的任何细胞。在一些实施例中,造血细胞是由诱导性多能干细胞、胚胎干细胞或间充质干细胞分化的心脏细胞。

[0243] 如本文所使用,术语“预处理”是指在移植或使用之前,处理器官、组织或细胞的方法。任何器官、组织或细胞可以被预处理一次或多次。

[0244] 如本文所使用,术语“肾上腺细胞病症”是指任何肾上腺细胞的任何功能异常,和/或与此类功能异常有关的症状。在一些实施例中,肾上腺细胞病症是需要肾上腺细胞移植的库欣氏病(Cushing's disease)。在一些实施例中,所述病症是需要肾上腺细胞移植的任何疾病。

[0245] 如本文所使用,术语“血液病症”是指任何血液或血液成分的任何功能异常,和/或与此类功能异常有关的症状。在一些实施例中,血液病症是血液癌症,如白血病。在一些实施例中,受试者可能患有或怀疑患有免疫病症,如多发性硬化或克罗恩氏病,由此移植骨髓或循环免疫细胞群可以治疗或预防所述疾病的发展。

[0246] 如本文所使用,术语“心脏病症”是指任何心脏或心脏成分的任何功能异常,和/或与此类功能异常有关的症状。在一些实施例中,心脏病症是充血性心脏衰竭。

[0247] 本发明的实施例是针对使用PIF治疗急性辐射综合症(ARS)。在某些实施方案中,治疗ARS的方法包括将PIF肽施用给有需要的受试者、组织、器官或细胞。在一些实施例中,ARS可以由有意暴露于辐射引起,例如在用于治疗癌症的辐射疗法的情况下。在一些实施例中,PIF可以在辐射疗法之前、之后或同时施用,或其组合。在一些实施例中,ARS可以由无意暴露于辐射引起。在一些实施例中,在暴露于辐射之后治疗ARS的方法可以包括将PIF施用给有需要的受试者组织、器官或细胞。在一些实施例中,治疗辐射诱导的器官破坏的方法可以包括将PIF施用给有需要的受试者组织、器官或细胞。在一些实施例中,所述器官破坏可以是对体内任何器官。在一些实施例中,器官破坏可以是对体内的重要器官。在一些实施例中,器官破坏可以是对皮肤、脑、心脏、肺、肾脏、脾、肝、胃肠道或胰脏的破坏。在一些实施例中,治疗急性辐射暴露的远期效应(DEARE)的方法可以包括将PIF施用给有需要的受试者、组织、器官或细胞。在一些实施例中,在暴露于辐射之后抑制或预防ARS发生的方法可以包括将PIF施用给有需要的受试者组织、器官或细胞。在一些实施例中,治疗ARS的方法可以包括将骨髓移植至有需要的受试者中,其中使所述骨髓在移植之前暴露于PIF。在一些实施例中,受试者不接受器官、组织或细胞移植。在一些实施例中,受试者不接受骨髓移植。

[0248] 一些实施例是针对使用PIF作为免疫调节剂以改善自体移植、同种异体移植、半同

种异体移植或异种移植中骨髓或任何其它器官、组织或细胞的接受性。骨髓或其它器官、组织或细胞的接受性的改善可以使移植患者的存活率增加并使自体移植、同种异体移植、半同种异体移植及异种移植的应用更广泛。一些实施例是针对增加移植的器官、组织或细胞的移入的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用PIF肽。一些实施例是针对一种增加移植的器官、组织或细胞的移入的方法,所述方法包括在移植之前,使所述器官、组织或细胞预先暴露于PIF肽。在一些实施例中,所述受试者可能需要所述器官、组织或细胞移植以治疗ARS。

[0249] 在一些实施例中,在暴露于辐射治疗患有癌症的受试者的ARS的方法包括向所述受试者施用PIF。在一些实施例中,受试者暴露于辐射可能是有意的,如当使用辐射疗法治疗癌症时。在一些实施例中,所述患有癌症的受试者在施用PIF之前、期间或之后将不会接受骨髓或任何其它器官的移植。

[0250] 在一些实施例中,在暴露于辐射之后防止趋化因子和细胞因子的表达升高的方法包括向有需要的受试者施用PIF。在一些实施例中,在暴露于辐射之后改善免疫细胞功能的方法包括向有需要的受试者施用PIF。在一些实施例中,PIF可以是自施用的。在一些实施例中,在暴露于辐射之后增加肝功能的方法包括向有需要的受试者施用PIF。在一些实施例中,在暴露于辐射之后使肝酶水平正常化的方法包括向有需要的受试者施用PIF。在一些实施例中,治疗或预防辐射的随机效应的方法可以包括向有需要的受试者施用PIF。在一些实施例中,辐射的随机效应可以包含癌症、肿瘤、基因破坏或其组合。

[0251] 在一些实施例中,PIF可以作为预防来施用,作为伴随药物来施用,在暴露之后立即来施用,在器官破坏之后来施用或其组合。在此类实施例中PIF可以是有效的ARS/DEARE对策,涵盖的破坏范围从不存在事件前信息的情形,及扩展到迟来的信息变得可用并且破坏已发生的情形。在一些实施例中,当显示PIF防止作为常见的急性辐射暴露的远期效应(DEARE)的移植物抗宿主(GVHD)以及移植物抗白血病(GVL)时,PIF不仅可以解决免疫问题,如ARS中存在的那些,而且还可以解决一般由于此类辐射暴露并且甚至是在移植后的稍后时间发生的相关病理问题(器官破坏)。在其它情形中,如果在可以预防性施用PIF时存在虚假或非具体信息,则可以预期极少或无不良反应,由此相信PIF固有地无毒。

[0252] 在前述实施例中,暴露于辐射可以包含暴露于致死性剂量的辐射。在前述实施例中,暴露于可以包含暴露于非致死性剂量的辐射。在前述实施例中,辐射剂量可以是约100rads至约3000rads、约200rads至约3000rads、约500rads至约3000rads、约800rads至约3000rads、约1000rads至约3000rads、100rads至约1000rads、约200rads至约1000rads、约500rads至约1000rads、约100rads至约5000rads或约100rads至约6000rads,及在这些值中的任一个之间的任何范围,包含终点在内。

[0253] 在前述实施例中,PIF肽可以在暴露于辐射之前、同时或之后施用。

[0254] 在一些实施例中,PIF肽是以治疗有效量施用或预先暴露。在一些实施例中,PIF肽是在受试者进行移植之后、受试者进行移植之前、受试者进行移植的同时施用,或其组合。在一些实施例中,受试者可以接受二次治疗,所述次级治疗可以包含在受试者进行移植之前、受试者进行移植的同时二次施用肽,或其组合。

[0255] 在前述实施例中,PIF肽的施用剂量可以是每天约0.01mg/kg、每天约0.1mg/kg、每天约0.5mg/kg、每天0.75mg/kg、每天1mg/kg、每天2mg/kg、每天4mg/kg、每天6mg/kg、每天

8mg/kg、每天10mg/kg、每天约20mg/kg,或在这些值中任一个之间的任何范围,包含终点在内。此类剂量可以在一天内以单次剂量或以分次剂量施用。

[0256] 在前述实施例中,PIF可以一次施用,持续有限时间段,或作为维持疗法施用(持续较长时间段直至疾患得到改善、治愈,或持续受试者终生)。有限时间段可以是1周、2周、3周、4周并且至多一年,包含在这些值之间的任何时间段,包含终点在内。在一些实施例中,PIF肽可以施用约1天、约3天、约1周、约10天、约2周、约18天、约3周或在这些值中任一个之间的任何范围,包含终点在内。

[0257] 在前述实施例中,PIF可以每日一次、每日两次、每日三次、每日四次或更频繁地施用。

[0258] 在前述实施例中,PIF肽可以在暴露于辐射之前、暴露于辐射的约6小时内、暴露于辐射的约12小时内、暴露于辐射的约18小时内、暴露于辐射的约24小时内、暴露于辐射的约30小时内、暴露于辐射的约36小时内、暴露于辐射的约42小时内、暴露于辐射的约48小时内或在这些值中的任一个之间的任何范围(包含终点在内)内施用。

[0259] 在一些实施例中,PIF是以包括如上文所定义的PIF肽和药学上可接受的载剂或稀释剂的药物组合物,或有效量的包括如上文所定义的化合物的药物组合物形式施用或提供。

[0260] 本文中所公开的方法可以与本文中所公开的化合物、组合物、制剂及试剂盒中的任一种一起使用。

[0261] 在一些实施例中,本公开涉及用于治疗急性辐射综合症的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用有效量的本文所描述的组合物。

[0262] 在一些实施例中,本公开涉及用于在辐射暴露之后治疗急性辐射综合症的方法,所述方法包括向有需要的受试者移植骨髓,其中所述骨髓预先暴露于有效量的本文所描述的组合物。

[0263] 在一些实施例中,本公开涉及用于增加移植的器官、组织或细胞的移入的方法,所述方法包括将器官、组织或细胞移植至有需要的受试者体内,其中所述器官、组织或细胞在移植之前预先暴露于有效量的本文所描述的组合物。

[0264] 在一些实施例中,本公开涉及一种增加受试者体内接受供体器官、组织或细胞移植的可能性的方法,所述方法包括在将所述器官、组织或细胞移植至受试者体内之前,使所述器官、组织或细胞暴露于一种或多种本文所描述的组合物。

[0265] 在一些实施例中,本公开涉及一种降低移入的组织排斥的可能性的方法,所述方法包括在将所述组织移植至受试者体内之前,使所述组织暴露于一种或多种本文所描述的组合物。

[0266] 在一些实施例中,本公开涉及一种增加造血细胞数量消减的受试者中造血细胞的产生的方法,所述方法包括施用一种或多种本文所描述的组合物。

[0267] 在一个实施例中,一天一次向有需要的受试者施用组合物。在另一个实施例中,每隔一天、每隔两天或一周一次施用组合物。在另一实施例中,一天两次施用组合物。在又一实施例中,一天三次或一天四次施用组合物。在另一实施例中,一天至少一次施用组合物,持续至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12周。在又另一个实施例中,一天至少一次施用组合物,持续较长时间,如至少4、6、8、10、12或24个月。在一些实施例中,施用包含但不限

于,以每天最少1、2、3或4次的频率施用10-50mg剂量的组合物。在一些实施例中,一周一次、每隔一周一次或一个月一次施用组合物。任选地,持续施用直至所有症状都被医务人员解决和清除。

[0268] 在一些实施例中,组合物是在暴露于辐射的1、2、3、5或7天内施用。在其它实施例中,组合物是在出现ARS症状的1、2、3、5或7天内施用。

[0269] 在一些实施例中,一天至少一次施用所述组合物,直至疾患改善达到不需要进一步治疗的情形。在另一个实施例中,施用组合物直至所述疾患的所有症状都得到解决。在其它实施例中,组合物在受试者无症状之后仍施用至少1、2、3、6、8、10或12或24个月。

[0270] 本公开的组合物当被施用以治疗急性辐射综合症,以及在移植之前预处理器官、细胞或组织时是有用并且有效的。组合物中所存在的每一组分的量将是治疗有效的量,即,当施用时会引起对所述疾患(例如,ARS)的有效治疗的量。治疗有效量将取决于受试者以及损伤的严重程度和性质而变化并且可以由本领域普通技术人员常规地确定。

[0271] 在一些实施例中,本公开涉及一种治疗或预防美国专利号7,723,289、7,723,290、8,222,211、8,454,967、9,097,725(各自以全文引用的方式并入)中所阐述的任一种适应症的方法,所述方法包括施用包括本文中所公开的任一种或多种PIF肽、类似物或其药学上可接受的盐的组合物或药物组合物。

[0272] 在一些方法中,本公开涉及一种刺激有需要的受试者体内的干细胞分化和/或增殖的方法,所述方法包括施用包括本文中所公开的任一种或多种PIF肽、类似物或其药学上可接受的盐的组合物或药物组合物。

[0273] 在一些实施例中,本公开涉及美国专利号7,273,708、7,695,977、7,670,852、7,670,851、7,678,582、7,670,850、8,012,700(各自以全文引用的方式并入)中所公开的方法中的任一种,所述方法包括施用包括本文中所公开的任一种或多种PIF肽、类似物或其药学上可接受的盐的组合物或药物组合物。本公开还以全文引用的方式并入美国专利号7,789,289、7,723,290、8,222,211及8,454,967。

[0274] 在一些实施例中,本公开涉及一种用于治疗急性辐射综合症的药物组合物,所述药物组合物包括治疗有效量或剂量的至少一种PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐,及药学上可接受的载剂。

[0275] 在一些实施例中,本公开涉及治疗有效量或剂量的本文中所公开的任一种或多种组合物的用途,所述药物组合物包括至少一种PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐,及药学上可接受的载剂,其用于制造在移植之前预处理器官、组织或细胞的药物。

[0276] 在一些实施例中,本公开涉及包括治疗有效量或剂量的至少一种PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐及药学上可接受的载剂的药物组合物的用途,所述药物组合物用于制造供治疗急性辐射综合症的药物。

[0277] 在一些实施例中,本公开涉及当受试者患有或怀疑患有急性辐射综合症时,在有需要的受试者中诱导免疫调节作用的方法。

[0278] 在一些实施例中,本公开涉及通过施用包括PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐的至少一种或多种本文中所公开的组合物来治疗急性辐射综合症的方法。

[0279] 在一些实施例中,本公开涉及通过施用治疗有效量或剂量的包括至少一种PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐的一种或多种本文中所公开的组合物来治疗急性辐射综

合症的方法。

[0280] 在一些实施例中,本公开涉及通过施用包括治疗有效量或剂量的至少一种PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐及药学上可接受的载剂的药物组合物来治疗急性辐射综合症的方法。

[0281] 在一些实施例中,本公开涉及一种用于治疗急性辐射综合症的药物组合物,所述药物组合物包括治疗有效量或剂量的至少一种PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐,及药学上可接受的载剂。

[0282] 在一些实施例中,本公开涉及治疗有效量或剂量的任一种或多种本文中所公开的组合物的用途,所述组合物包括至少一种PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐,及药学上可接受的载剂,其用于制造供治疗急性辐射综合症的药物。

[0283] 在一些实施例中,本公开涉及包括治疗有效量或剂量的至少一种PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐及药学上可接受的载剂的药物组合物的用途,所述药物组合物用于制造供治疗急性辐射综合症的药物。

[0284] 在一些实施例中,本公开涉及当受试者患有或怀疑患有急性辐射综合症时,在有需要的受试者中诱导免疫调节作用的方法。

[0285] 在一些实施例中,本公开涉及通过施用包括PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐的至少一种或多种本文中所公开的组合物来治疗移植物抗宿主疾病的方法。

[0286] 在一些实施例中,本公开涉及通过施用治疗有效量或剂量的包括至少一种PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐的一种或多种本文中所公开的组合物来治疗移植物抗宿主疾病的方法。

[0287] 在一些实施例中,本公开涉及通过施用包括治疗有效量或剂量的至少一种PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐及药学上可接受的载剂的药物组合物来治疗移植物抗宿主疾病的方法。

[0288] 在一些实施例中,本公开涉及一种用于治疗移植物抗宿主疾病的药物组合物,所述药物组合物包括治疗有效量或剂量的至少一种PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐,及药学上可接受的载剂。

[0289] 在一些实施例中,本公开涉及治疗有效量或剂量的任一种或多种本文中所公开的组合物的用途,所述组合物包括至少一种PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐,及药学上可接受的载剂,其用于制造供治疗移植物抗宿主疾病的药物。

[0290] 在一些实施例中,本公开涉及包括治疗有效量或剂量的至少一种PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐及药学上可接受的载剂的药物组合物的用途,所述药物组合物用于制造供治疗移植物抗宿主疾病的药物。

[0291] 在一些实施例中,本公开涉及当受试者患有或怀疑患有移植物抗宿主疾病时,在有需要的受试者中诱导免疫调节作用的方法。

[0292] 在一些实施例中,本公开涉及通过施用包括PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐的至少一种或多种本文中所公开的组合物来治疗炎症的方法。

[0293] 在一些实施例中,本公开涉及通过施用治疗有效量或剂量的包括至少一种PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐的一种或多种本文中所公开的组合物来治疗炎症的方法。

[0294] 在一些实施例中,本公开涉及通过施用包括治疗有效量或剂量的至少一种PIF肽、

其类似物或其药学上可接受的盐及药学上可接受的载剂药物组合物来治疗炎症的方法。

[0295] 在一些实施例中,本公开涉及一种用于治疗炎症的药物组合物,所述药物组合物包括治疗有效量或剂量的至少一种PIF肽、其类似物或模拟物,或其药学上可接受的盐,及药学上可接受的载剂。

[0296] 在一些实施例中,本公开涉及治疗有效量或剂量的任一种或多种本文中所公开的组合物的用途,所述组合物包括至少一种PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐,及药学上可接受的载剂,其用于制造供治疗炎症的药物。

[0297] 在一些实施例中,本公开涉及包括治疗有效量或剂量的至少一种肽、其类似物或其药学上可接受的盐及药学上可接受的载剂的药物组合物的用途,所述药物组合物用于制造供治疗炎症的药物。

[0298] 在一些实施例中,本公开涉及当受试者患有或怀疑患有炎症时,在有需要的受试者中诱导免疫调节作用的方法。

[0299] 在一些实施例中,本公开涉及通过施用包括PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐的至少一种或多种本文中所公开的组合物来治疗自身免疫疾病的方法。

[0300] 在一些实施例中,本公开涉及通过施用治疗有效量或剂量的包括至少一种PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐的一种或多种本文中所公开的组合物来治疗自身免疫疾病的方法。

[0301] 在一些实施例中,本公开涉及通过施用包括治疗有效量或剂量的至少一种PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐及药学上可接受的载剂的药物组合物来治疗自身免疫疾病的方法。

[0302] 在一些实施例中,本公开涉及一种用于治疗自身免疫疾病的药物组合物,所述药物组合物包括治疗有效量或剂量的至少一种PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐,及药学上可接受的载剂。

[0303] 在一些实施例中,本公开涉及治疗有效量或剂量的任一种或多种本文中所公开的组合物的用途,所述组合物包括至少一种PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐,及药学上可接受的载剂,其用于制造供治疗自身免疫疾病的药物。

[0304] 在一些实施例中,本公开涉及包括治疗有效量或剂量的至少一种PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐及药学上可接受的载剂的药物组合物的用途,所述药物组合物用于制造供治疗自身免疫疾病的药物。

[0305] 在一些实施例中,本公开涉及当受试者患有或怀疑患有自身免疫疾病时,在有需要的受试者中诱导免疫调节作用的方法。

[0306] 在一些实施例中,本公开涉及通过施用包括PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐的至少一种或多种本文中所公开的组合物来治疗炎症病症的方法。

[0307] 在一些实施例中,本公开涉及通过施用治疗有效量或剂量的包括至少一种PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐的一种或多种本文中所公开的组合物来治疗炎症病症的方法。

[0308] 在一些实施例中,本公开涉及通过施用包括治疗有效量或剂量的至少一种PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐及药学上可接受的载剂的药物组合物来治疗炎症病症的方法。

[0309] 在一些实施例中,本公开涉及一种用于治疗炎症病症的药物组合物,所述药物组合物包括治疗有效量或剂量的至少一种PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐,及药学上可接受的载剂。

[0310] 在一些实施例中,本公开涉及治疗有效量或剂量的任一种或多种本文中所公开的组合物的用途,所述组合物包括至少一种PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐,及药学上可接受的载剂,其用于制造供治疗炎症病症的药物。

[0311] 在一些实施例中,本公开涉及包括治疗有效量或剂量的至少一种PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐及药学上可接受的载剂的药物组合物的用途,所述药物组合物用于制造供治疗炎症病症的药物。

[0312] 在一些实施例中,本公开涉及当受试者患有或怀疑患有炎症病症时,在有需要的受试者中诱导免疫调节作用的方法。

[0313] 在一些实施例中,本公开涉及通过施用包括PIF肽、其类似物或其药学上可接受的盐的至少一种或多种本文中所公开的组合物来治疗重复性劳损的方法。

[0314] 根据本发明的一些实施例,可以提供配制物作为试剂盒的一部分。在一些实施例中,所述试剂盒包括包括PIF肽和/或PIF类似物或其药学上可接受的盐,所述PIF肽和/或PIF类似物或其药学上可接受的盐包括非天然氨基酸或与SEQ ID NO:20至少70%同源。在另一个实施例中,所述试剂盒包括类似物的药学上可接受的盐与复水混合物。在另一个实施例中,类似物的药学上可接受的盐是在一个容器中,而复水混合物是在另一容器中。供应的复水混合物可以是干燥形式,可以在施用之前向其中添加水或其它液体溶剂以形成悬浮液或溶液。复水混合物是被设计成在向受试者施用组合物利用至少一剂泻剂之前溶解冻干、不可溶的本发明的盐的混合物。在另一个实施例中,试剂盒包括呈口服可用的丸剂形式的药学上可接受的盐。

[0315] 所述试剂盒可以含有两个或多于两个容器、包装或施配器以及有关制备和施用的说明。在一些实施例中,所述试剂盒包括至少一个含本文所描述的药物组合物或组合物的容器及含用于递送所述组合物的构件,如注射器的另一容器。在一些实施例中,所述试剂盒包括含呈溶液或冻干或干燥形式的类似物及复水混合物的组合物。在一些实施例中,所述类似物和复水混合物可以在一个或多个额外容器中。

[0316] 试剂盒中所包含的组合物可以提供于分类的容器中,由此保持不同组分的保存期,而且不会被容器的材料吸附或改变。举例来说,适合容器包含普通瓶子,所述瓶子可以由玻璃、有机聚合物,如聚碳酸酯、聚苯乙烯、聚丙烯、聚乙烯、陶瓷、金属或典型地用于保存试剂或食品的任何其它材料制造;封包,所述封包可以由衬箔内部,如铝或合金组成。其它容器包含试管、小瓶、烧瓶及注射器。所述容器可以具有由易于拆装的膜分隔开的两个隔室,当移除所述膜时,允许所述组合物的各组分混合。可拆装膜可以是玻璃、塑料、橡胶或其它惰性材料。

[0317] 供应的试剂盒还可以带有说明材料。说明可以印刷于纸或其它衬底上,和/或可以通过电子装置可读媒体,如软盘、CD-ROM、DVD-ROM、压缩盘、录像带、录音带或其它可读存储器存储装置形式供应。详细说明可能不是以物理方式与试剂盒相关联;而是可以将用户引导至试剂盒的制造商或经销商指定的互联网网站,或以电子邮件形式供应。

[0318] 在另一个实施例中,提供一种带包装的试剂盒,所述试剂盒含有待施用的药物配

制物,即,含有PIF肽和/或PIF类似物或其药学上可接受的盐的药物配制物;用于在储存期间及在使用之前容纳所述配制物的任选密封的容器(例如,小瓶、瓶、小袋、封包、罐、管、雾化器、气雾剂罐等);及有关以有效治疗任一种或多种本文中所公开的适应症的方式进行药物施用的说明。所述说明典型地是在包装说明书、标签和/或试剂盒其它组分上的书面说明。

[0319] 取决于配制物的类型以及预定施用模式,试剂盒还可以包含用于施用所述配制物的装置(例如,透皮递送装置)。所述施用装置可以是滴管、药签、药棒,或雾化器或气雾剂罐的喷嘴或出口所述配制物可以是如本文中所描述任何适合的配制物。举例来说,所述配制物可以是含有单位剂量的活性剂的口服剂型,或管内所含的凝胶或软膏。所述试剂盒可以含有不同剂量的同一药剂的多种配制物。所述试剂盒也可以含有不同活性剂的多种配制物。

[0320] 本发明的试剂盒典型地还包含用于包装个别试剂盒组分(即,药物剂型)的构件;施用装置(如果包含在内的话);及书面使用说明。此类包装构件可以呈卡纸板或纸箱、塑料或箔制小袋等形式。

[0321] 参照以下非限制性实例可以进一步理解本公开及说明所使用的方法和材料的实施例。

[0322] 实例

[0323] 材料与amp;方法:

[0324] 使用以下材料和方法进行本文所描述的实验。

[0325] ARS鼠类模型:C57BL/6小鼠(6-7或8-9周龄的雌性小鼠)及F1(C57BL/6xBalb/c)小鼠(10-11周龄雌性小鼠)是从Harlan Laboratories Ltd(以色列)获得。本研究是在耶路撒冷希伯来大学(Hebrew University)的实验动物福利委员会(Institutional Animal Welfare Committee)批准的伦理条件下进行。在无病原体条件下保持小鼠并进行监测。使用临床6MEV(Linear Varian CL-6;Varian medical systems,美国加利福尼亚州帕洛阿尔托(Palo Alto,CA,USA),通过在剂量率(0.3Gry/min)下用单次剂量的亚致死性(6Gry)或致死性(10Gry)全身照射对C57BL/6品系的小鼠进行全身照射。

[0326] sPIF*:合成PIF(MVRIKPGSANKPSDD)是从美国新泽西州路易斯维尔(Lewisville, NJ USA)的Biosynthesis获得。如HPLC/质谱(sPIF专用)证实,所述肽被纯化至>95%。

[0327] 统计分析:由体内研究得到的数据是以平均值±SEM表示。由体外研究得到的数据是以平均值±SD表示。使用双尾Student t检验或Mann-Whitney检验进行与对照物的单一比较。对于多组设计,使用单因素重复测量ANOVA,随后Bonferroni多项比较测试。 $P<0.05$ 被视为统计学显著的。数据处理及统计处理是使用Microsoft Excel和GraphPad Prism软件进行。基因表达是基于 $\Delta\Delta Ct$ 方法测定并且由qBASE+软件计算。结果表示为相对于每次操作中所包含的标准参考样品的倍数变化。基因表达分析是经由非参数Mann-Whitney U检验计算。 $P<0.05$ 被认为显著。结肠全基因分析是使用热图,随后是决定分组情形间的差异的个别基因来进行, $P<0.05$ 被视为显著的。

[0328] 在ARS中进行的长期亚致死性sPIF实验:关于造血恢复的分析:小鼠经历全身照射(6Gry)。24小时之后,使用皮下植入的Alzet渗透泵(1002型,加利福尼亚州(CA)的Durect Corp.)向C57BL/6小鼠连续地(0.25ml/hr)施用PIF或PBS(每天1mg/kg),持续两周。随后是

两周的治疗后观察,不添加任何疗法。在任何实验中都不施用抗生素。在处死前每周检查每只小鼠的造血概况。每周直至四周在处死时,从小鼠尾部抽血,并收集100 μ l血液放入涂有EDTA的毛细管中。使用经验证的BC-2800Vet Auto血液学分析器(Mindray,美国新泽西州莫沃(Mahwah, NJ USA))进行CBC与分类。将结果与正常小鼠相比较。

[0329] 在ARS中进行的短期亚致死性sPIF实验:造血作用结肠和全身细胞因子:照射小鼠(6或7Gry)。照射后24或48小时,每日两次皮下注射0.75mg/kg的sPIF,持续三天。在实验结束时,处死小鼠并移出结肠组织进行组织学分析、Illumina全基因组分析及RT-PCR。此外,取出血清进行细胞因子分析。将结果与正常小鼠相比较。对于亚致死性长期ARS实验,注射sPIF(每天1mg/kg:Alzet渗透泵;1002型,加利福尼亚州的Durect Corp.)或PBS,持续14天,随后是14天的疗法后观察。每周通过收集100 μ l尾部血液来检查造血概况。使用经验证的BC-2800Vet Auto血液学分析器(Mindray,美国新泽西州莫沃)进行CBC与分类。

[0330] sPIF诱导致死性照射和半同种异体BMT后长期造血恢复:CBC和胫骨组织学分析:以致死剂量照射(10Gry)小鼠。照射后一天,通过用PBS(Biological Industries)冲洗股骨和胫骨,从供体小鼠F1(C57BL/6xBalb/c)收集骨髓(BM)单核细胞。使用Lymphoprep方法分离单核细胞。将总计 8×10^6 个BM细胞施用至经照射受体小鼠的尾静脉。BMT之后,如先前所描述,每日监测小鼠的体重减轻、起皱皮肤及存活率。一周一次直至四周在处死小鼠时,从尾部抽血,并收集100 μ l血液放入涂有EDTA的毛细管中。使用经验证的BC-2800Vet Auto血液学分析器(Mindray,美国新泽西州莫沃)进行CBC与分类。将结果与正常小鼠相比较。

[0331] sPIF预处理同种异体BMT:确定在BMT之后用PIF预处理BM是否能改善BMT移入,而无需进一步疗法。小鼠经历(10Gry)全身照射。24小时之后,在移植之前使BM细胞暴露于sPIF仅2小时,随后洗涤细胞,接着将其接种至受体小鼠的尾静脉中。在移植之前,使BM细胞暴露于PBS,作为对照物。移植之后,跟踪小鼠,不进行任何进一步疗法,持续至多4周。在处死之后,获得全WBC计数及淋巴细胞浓度。将结果与PBS对照组相比较。

[0332] sPIF影响MSC调控功能:用抗CD3抗体活化CFSE染色的鼠类脾细胞,培养四天(以50:1比率)并使其暴露于预先与sPIF或对照物一起培育(2小时)的MSC。使用流式细胞测量术分析细胞增殖情况。通过将sPIF预处理的MSC与对照物(不含MSC的活化脾细胞)相比较来分析增殖细胞百分比数据。

[0333] sPIF处理的股骨的组织学分析:以10Gry照射小鼠并在24小时之后,起始sPIF治疗,持续14天(Alzet泵),随后是14天的疗法后观察。另外,研究在无其它疗法的情况下sPIF预处理的BMT。在研究结束时,从处死后的小鼠获得WBC和股骨样品并固定于4%中性缓冲福尔马林中。使样品脱钙,接着包埋于石蜡中,切割成10微米厚的切片,并用苏木精和伊红(H&E)染色。将结果与PBS治疗的小鼠和正常小鼠相比较。

[0334] sPIF处理的血清细胞因子评价:根据制造商的方案,使用小鼠Th1/Th2 10plex FlowCytomix多工试剂盒(eBioscience,美国加利福尼亚州圣地亚哥(San Diego, CA, USA))测定末梢血液中的循环细胞因子水平。

[0335] sPIF处理的结肠的组织学分析和隐窝深度测定:在亚致死性照射(6Gry)之后,在照射后24或48小时开始sPIF治疗,持续2或3。处死之后,收集结肠并在PBS中充分洗涤以移除肠内含物。将空肠固定于10%中性缓冲福尔马林中,随后石蜡包埋。通常将样品加工成5mm切片用于苏木精和伊红(Fisher Scientific,宾夕法尼亚州匹兹堡(Pittsburgh, PA))

染色,并测定隐窝深度。应注意,报导隐窝深度作为辐射暴露之后恢复的标志。对于此分析,使用装备有数码相机的BX51显微镜(Olympus,日本东京(Tokyo,Japan))并使用10×物镜获取图像。如先前所报导,使用ImageJ软件分析图像。将在治疗后24和48小时之后进行sPIF治疗的作用与PBS和正常小鼠相比较。

[0336] sPIF基因分析:RT-qPCR分析巨噬细胞和结肠组织:sPIF靶向巨噬细胞并且在GVHD模型中有效减少肝中的氧化应激基因。因此,在暴露于sPIF之后,测定从亚致死性短期辐射(6Gry)后24-48之后的小鼠得到的结肠样品中的基因表达,并与PBS和正常小鼠相比较。这是分两组独立实验进行。此外,还暴露于sPIF 24小时之后,通过在体外测定巨噬细胞极性来测定巨噬细胞中的多种基因。根据制造商的方案,使用RNeasy®微型试剂盒柱(QIAGEN,德国希尔登(Hilden,Germany))提取总RNA。如先前所报导,根据制造商的说明,使用1μg总RNA,使用大容量cDNA试剂盒(Applied Biosystems,美国纽约Gran Island)合成cDNA。使用TaqMan基因表达分析试剂盒(Applied Biosystems)进行B7H1、NOS2及Arg-1转录物水平的检测。使用HPRT-1作为正规化的内源性对照物的管家基因转录物。所有引物都购自Applied Biosystems。使用ABI Prism 7900测序系统(Applied Biosystems)进行实时PCR反应。利用2.2版StepOne软件(Applied Biosystems)分析数据。DataAssist软件v3.01。使用Benjamini-Hochberg方法调整数据集p值。

[0337] sPIF保护性信号传导路径:结肠Illumina基因阵列:为了概括性阐明sPIF的保护性信号传导路径,执行全基因阵列。在亚致死性辐射(6Gry)之后24小时,每日两次注射sPIF,持续72小时。将辐射之后sPIF的作用与PBS处理的对照物相比较。未经照射的正常小鼠充当另外的对照。在处死之后,切除30mg的结肠组织(N=4-5只/治疗组)并在细胞溶解缓冲液(Qiagen,瑞士洪布雷布蒂孔(Hombrechtikon,Switzerland))中用Fastprep 120组织均质机(30秒,4.0m/sec)均质化。使用PureLink RNA微型试剂盒(Ambion,目录号12183018A)从细胞提取总RNA。遵循制造商的说明,使用TotalPrepRNA扩增试剂盒(AM11791,Ambion)将总RNA(250ng)扩增成cRNA。扩增之后,将1.5μg cRNA与杂交对照物混合并将其与MouseRef-8阵列(BD-202-0202,美国伊路米那(Illumina,USA))杂交。在58℃下,在杂交炉中利用摇动平台使阵列杂交16小时。接着,对阵列芯片进行一系列洗涤,随后用抗生蛋白链菌素-Cy3对其进行染色。染色之后,对其进行最终的洗涤和干燥。使用Illumina HiScan扫描仪扫描阵列。

[0338] sPIF诱导的巨噬细胞转变极化:细胞分离及体外巨噬细胞分化:为了测定sPIF诱导巨噬细胞从促炎性极化转变成调控表型的能力,进行以下实验。通过腹膜内注射1ml 3%的Brewer硫乙醇酸盐培养基(Sigma-Aldrich,美国密苏里州圣路易斯(St Louis,MO,USA))从C57BL/6小鼠收集腹膜巨噬细胞。四天后,处死小鼠并通过用5ml PBS洗涤从腹腔收集腹膜细胞。将细胞(1.4×10^6 个细胞/毫升)分配至6孔盘(Corning Costar,美国纽约康宁(Corning,NY USA))上并在37℃下于5%CO₂中培育75分钟。丢弃非粘附细胞并添加含有10%胎牛血清(Biological Industries,以色列拜特哈梅克(BeitHaemek,Israel)的Kibutz)的RPMI-1640(Gibco,美国纽约格兰德岛(Grand Island,NY,USA))。对于M1促炎性分化研究,将10ng/ml(GM-CSF)和10ng/ml脂多糖(LPS)(PeprotTech,美国新泽西州洛基山(Rocky Hill,NJ,USA))添加至培养基中,随后在37℃下于5%CO₂中培育20小时。或者,对于M2调控性分化,将10ng/ml XXXX(M-CSF)和10ng/ml IL-4(PeprotTech)添加至培养基中。将

sPIF以及分化因子一起添加至所述培养基中。

[0339] 流式细胞测量术分化的巨噬细胞分析:为了测定sPIF对M1分化成M2的影响,在培养20小时之后,使用胰蛋白酶-EDTA溶液(Biological Industries,以色列),在(IL4和GMSCF)存在下收集分化的巨噬细胞。在4℃下对细胞染色。对于细胞内染色,将细胞固定于1%多聚甲醛(Electron Microcopy Sciences Hatfield,美国宾夕法尼亚州)中,并且接着利用皂角苷(编号SIGMA-Aldrich,美国密苏里州圣路易斯)进行透性化。使用以下抗体:抗小鼠CD11b APC(SouthernBiotech,美国阿拉巴马州伯明翰(Birmingham,AL,USA))、抗小鼠F4/80Pacific Blue(BioLegend,美国加利福尼亚州圣地亚哥)、抗小鼠CD206FITC(AbD Serotec,美国北卡罗来纳州罗利(Raleigh,NC,USA))抗小鼠CD16/32PE及抗小鼠CD23eFluor 660(eBioscience)。使用MACSQuant®分析仪(Miltenyi Biotech,美国加利福尼亚州圣地亚哥)进行流式细胞测量术。

[0340] 实例1:

[0341] 已经证实PIF防止致死性辐射(图1A)。从致死性8Gy照射之后2小时开始,每天2次用低剂量PIF(0.75mg/kg)或高剂量PIF(1.25mg/kg)治疗小鼠(C57BL/6,n=36),持续14天。在停止疗法之后2周,此类暴露引起100%存活率。相比之下,接受辐射和(PBS,媒剂),但未用PIF治疗的对照小鼠(n=14,雄性;7只雌性)发生ARS并在第23天死亡(0%存活率)。图1B显示,相较于在第12天时已经具有极低全WBC计数的对照组,在两个PIF治疗组中全WBC计数在第0天与第9天得以保持。图1C显示由从8Gy辐射暴露之后2小时开始,每天2次用0.75mg/kg(低剂量、高剂量:0.75mg/kg)PIF治疗14天的雌性小鼠(n=9,雄性小鼠中结果类似)得到的数据。顶图显示在0-19天测量的免疫表型。第二图显示以占总数的百分比表示的相同免疫特征。第三图详细显示红血球指标(血细胞计数、血红蛋白、红细胞压积及RBC体积。下图具有血小板计数和体积。图1D和1E显示,在PIF治疗组中,当在第29天,即停止施用PIF之后两周测量时,免疫表型、RBC及血小板计数得以保持。

[0342] 实例2:

[0343] sPIF在照射情况下对C57BL/6小鼠存活率的影响:剂量探索实验:在本研究中使用的C57BL/6小鼠是相对耐辐射的品系。第一,通过评价暴露于各种剂量的全身照射(6-10Gry)的小鼠的存活率曲线,确定实验所需的辐射强度(图2)。所有小鼠(n=10)在暴露于6Gry之后30天存活,而所有小鼠(n=10)在暴露于10Gry之后30天内死亡。B.显示在7Gy暴露之后,PIF改善血小板计数。因此,6Gry定义为亚致死剂量,用以测定sPIF对血液学特征、细胞因子表达及基因表达的影响,并且10Gry作为致死剂量用于BM移植研究。此外,由于首次在ARS环境中测试PIF,故使用sPIF作为唯一疗法,而不使用在预防辐射后感染方面具有重要作用的传统抗生素来进行以下研究。因此,可以清晰地剖析sPIF作用中所涉及的具体机制。

[0344] 实例3:

[0345] sPIF在治疗后较长时间促进亚致死性照射之后的血液学恢复:亚致死性照射的后果是长期造血抑制以及恢复缓慢。测定sPIF恢复WBC特征的能力(图3A)。相较于PBS对照,在6Gry照射之后24小时早期sPIF施用(每天1mg/kg,持续2周)引起迅速恢复并显著地改善总循环WBC的复原(图3B)。这在照射之后2周明显可见,此时WBC在sPIF治疗组中达到600个细胞/微升的平均值,与PBS治疗组中250个细胞/微升形成比较。此种600个WBC/ μ l的水平指

示,这些小鼠在此时免疫受损情况已经不太严重。应注意,sPIF的保护作用扩展到超过2周治疗,并且还在照射之后4周,即在治疗后2周时处死时观察到显著差异(图3C)。此外,施用后2周,sPIF增加淋巴细胞计数,同时降低循环粒细胞百分含量,接近在正常未治疗组(对照组)中所观察到的水平(图3D)。相比之下,相较于sPIF治疗组,在假PBS治疗组中,淋巴细胞计数较低,并且粒细胞计数明显增加。嗜中性粒细胞计数减少(即,与适应性免疫反应中所发现的淋巴细胞增加有关的炎症反应)反映免疫特征有益地恢复至正常小鼠中所见的情形。由于在辐射之后淋巴细胞群长期受到影响,导致对感染的高易感性,故此特别重要。这些结果展示了sPIF在亚致死性辐射后长期恢复全身免疫细胞特征方面的有效性。

[0346] 实例4:

[0347] 在亚致死性照射后短期sPIF降低全身促炎性细胞因子水平:在电离辐射之后迅速地发生全身炎症反应。因此,检查在6或7Gy照射后24小时开始并施用仅3天的sPIF的作用。(图4A) sPIF导致主要促炎性细胞因子IL-2和IL1 α 循环水平相较于PBS明显减少。(图4B和4C)。此外,当与正常小鼠中的水平相比较时,观察到两种细胞因子水平无差异。对其它细胞因子的影响不显著。这些结果表明,sPIF在照射后早期诱导全身炎症环境减轻在防止ARS发生方面起到重要作用。

[0348] 实例5:

[0349] sPIF局部和全身保护作用:在亚致死性辐射后促进结肠隐窝恢复:在严格鼠类GVHD模型中,在致死性照射后,ARS迅速地导致GI炎症和损伤,并且sPIF长期改善胃肠道溃疡和肝炎。以上实验同时在体内和体外证实,sPIF在减少全身炎症介体,引起长期恢复方面的保护作用。然而,PIF的作用是否也是局部的,靶向具有高细胞更新的器官,即结肠,以及哪种常常受ARS影响尚不了解。如图5A中所图示,从辐射后24或48小时开始治疗,在亚致死性辐射(6Gry)后短期sPIF注射2或3天防止结肠炎症。使用的模型显示,sPIF明显减轻结肠炎症,由此恢复结肠隐窝形态(图5B和5C)。值得注意的是,当sPIF治疗在照射后仅48小时开始时,也观察到保护作用。D.显示,PIF隐窝恢复情况类似于正常小鼠的情形。E.PIF减少iNOS氧化应激基因,同时促进结肠中的B7H1保护性基因(RTPCR)。当PIF治疗在疗法后48小时开始时,观察到所述作用。由此支持以下观点:sPIF同时发挥全身(造血、细胞因子)和局部保护作用。

[0350] 实例6:

[0351] sPIF通过减少氧化应激,调节线粒体功能、免疫反应来促进结肠恢复。以上数据指示,sPIF具有局部和全身双重作用,减小辐射的破坏作用,恢复结肠结构,同时减少全身促炎性免疫反应,实现长期造血作用。因此,同时使用针对NOS2和B7H1的RT PCR(图5D和5E)作用以及全基因组分析(图10),主要集中于检查两种插入物的局部保护作用和结肠功能。sPIF治疗(相较于亚致死性)引起对若干路径的显著调节(图10)。有趣的是,这些基因主要群集于三组中,这三组可以总体地涉及到免疫调控和细胞凋亡信号传导、细胞内能量转移,以及有效代谢功能所需的蛋白质-RNA相互作用。前两个与保护作用相关,而后一个与修复机制有关。

[0352] 下表5详述全结肠基因组的聚类分析。所述分析将sPIF与PBS和正常小鼠相比较。若干路径受到影响。上表4显示鉴别的个别路径及其分级。对重要路径的线粒体功能、针对应激的反应及蛋白质-RNA相互作用进行聚类分析。("Fluor" = 荧光度测量)。基因名称对应

于Illumina MouseRef-8阵列说明手册 (BD-202-0202, 美国伊路米那; 以全文引用的方式并入本文中) 中标识的基因。简单来说, 在亚致死性辐射 (6Gry) 之后24小时, 每日两次注射sPIF, 持续72小时。将辐射之后sPIF的作用与PBS处理的对照组相比较。未经照射的正常小鼠充当另外的对照。处死之后, 切除30mg的结肠组织 (对于PIF和PBS, N=7; 并且对于正常小鼠, N=3) 并在细胞溶解缓冲液 (Qiagen, 瑞士洪布雷布蒂孔) 中用Fastprep 120组织均质机 (30秒, 4.0m/sec) 均质化。使用PureLinkRNA微型试剂盒 (Ambion, 目录号12183018A) 从细胞提取总RNA。遵循制造商的说明, 使用TotalPrep RNA扩增试剂盒 (AMIL1791, Ambion) 将总RNA (250ng) 扩增成cRNA。扩增之后, 将1.5μg cRNA与杂交对照物混合并将其与MouseRef-8阵列 (BD-202-0202, 美国伊路米那) 杂交。在58℃下, 在杂交炉中利用摇动平台使阵列杂交16小时。接着, 对阵列芯片进行一系列洗涤, 随后用抗生蛋白链菌素-Cy3对其进行染色。染色之后, 对其进行最终的洗涤和干燥。使用Illumina HiScan扫描仪扫描阵列。

[0353]

表 5

基因名称	原始 Fluor.值	表达增加 的比率	相对于不存在 PIF 的情形正规化的 表达水平增加		基因名称	原始 Fluor.值	表达减少 的比率	相对于不存在 PIF 的情形正规化的 表达水平减少
Cfd	11537	0.858	1.57E-001	9.67E-001	Fabp6	16204	-3.060	3.83E-002
Olfn4	380924	0.799	1.00E-001	9.67E-001	LOC100046120	NA	-1.054	3.58E-002
Lyzl	17110	0.733	3.20E-001	9.67E-001	Tmem117	320709	-0.788	2.03E-001
Scd1	20249	0.730	1.21E-001	9.67E-001	Serpinal b	20701	-0.721	1.35E-001
Rnasel	19752	0.715	8.96E-002	9.67E-001	Prss7	19146	-0.681	2.68E-001
Adhl	11522	0.714	3.37E-001	9.67E-001	Fam151a	230579	-0.627	1.58E-001
Reg1	19692	0.679	6.32E-001	9.75E-001	Pcsk9	100102	-0.610	5.22E-002
Cyp3a1 1	13112	0.654	2.30E-001	9.67E-001	Cf12	12632	-0.587	3.51E-001
Casp6	12368	0.647	1.20E-001	9.67E-001	Mfge8	17304	-0.579	4.13E-002
Ccl5	20304	0.647	8.73E-004	9.67E-001	Ccl21a	18829	-0.576	1.35E-001
Acaa2	52538	0.618	1.39E-001	9.67E-001	Slc5a6	330064	-0.557	7.03E-002
Rps3	27050	0.610	2.19E-002	9.67E-001	Xpnpep2	170745	-0.555	1.17E-001
Khk	16548	0.600	4.04E-002	9.67E-001	Ddah1	69219	-0.554	2.67E-001
Mbl2	17195	0.595	2.21E-002	9.67E-001	Cxcl 13	55985	-0.535	4.91E-002
Atp5fl	11950	0.586	1.52E-001	9.67E-001	Mfge8	17304	-0.506	9.26E-002
Seyel	13722	0.574	1.82E-002	9.67E-001	Gm766	330440	-0.502	3.75E-001
Sepl 5	93684	0.551	1.79E-001	9.67E-001	Serpinalb	20701	-0.497	1.07E-001
Ppp1ca	19045	0.549	2.28E-001	9.67E-001	Osta	106407	-0.491	5.77E-002
Cox7a2l	20463	0.539	5.23E-002	9.67E-001	Panxl	55991	-0.490	4.65E-003
Cleca6	99663	0.527	1.26E-002	9.67E-001	Zmizl	328365	-0.488	2.21E-002
Apoa4	11808	0.523	1.50E-001	9.67E-001	Aiml	11630	-0.480	1.1 8E-002
Calm2	12314	0.518	4.17E-002	9.67E-001	Serpinald	20703	-0.460	6.93E-002
Cyp2c65	72303	0.516	1.44E-001	9.67E-001	Apaf1	11783	-0.459	1.51 E-002
Hspala	193740	0.510	1.21E-001	9.67E-001	Parpl4	547253	-0.442	6.88E-002
Suc1g1	56451	0.509	2.09E-001	9.67E-001	Naaladll	381204	-0.438	3.97E-001
Gsta2	14858	0.507	2.97E-001	9.67E-001	Ccnd1	12443	-0.431	1.52E-001
Adipoq	11450	0.506	9.44E-002	9.67E-001	lap	NA	-0.428	1.37E-001

[0354]

Cyp3a25	56388	0.502	1.69E-001	9.67E-001		BC040758	268663	-0.412	1.02E-001
H2afz	51788	0.487	1.40E-001	9.67E-001		Ubal	22201	-0.412	5.03E-002
Arg2	11847	0.483	1.73E-001	9.67E-001		Anpep	16790	-0.406	6.74E-002
Tubb2b	73710	0.480	7.79E-003	9.67E-001		LOC100040392	NA	-0.406	4.13E-002
H333a	15078	0.480	1.36E-001	9.67E-001		Coro 1 c	23790	-0.406	3.80E-002
Npml	18148	0.477	8.07E-002	9.67E-001		Pyy	217212	-0.405	4.02E-001
Rpl7a	27176	0.473	1.62E-001	9.67E-001		Cd74	16149	-0.404	2.90E-001
Hspa8	15481	0.472	3.60E-001	9.67E-001		Dagl	13138	-0.403	1.49E-002
Rnaset2	68195	0.472	1.13E-001	9.67E-001		Mepla	17287	-0.403	3.37E-002
EG433923	433923	0.467	1.63E-001	9.67E-001		LOC100041504	1E+08	-0.403	1.20E-001
Acta2	11475	0.463	1.38E-001	9.67E-001		Gata5	14464	-0.403	1.01 E-002
Cyp2b10	13088	0.462	3.82E-001	9.67E-001		Igsf3	78908	-0.399	8.49E-002
Cldn4	12740	0.461	8.16E-003	9.67E-001		Sqle	20775	-0.397	2.23E-001
Cyb5	109672	0.451	1.47E-002	9.67E-001		Myadm	50918	-0.390	5.39E-002
Cml4	68396	0.450	5.36E-002	9.67E-001		Stat3	20848	-0.385	6.65E-002
Tsc22d1	21807	0.436	8.28E-002	9.67E-001		Sec16a	227648	-0.385	3.59E-002
Pnliprp2	18947	0.435	1.92E-001	9.67E-001		Nrlh4	20186	-0.383	1.21E-001
Lgsn	14661	0.434	7.15E-002	9.67E-001		Lamb3	16780	-0.382	1.68E-002
Cyp2b23	243881	0.430	7.79E-002	9.67E-001		Elf3	13710	-0.381	7.89E-002
Ndufc2	68197	0.430	1.1 IE-001	9.67E-001		Mff2	30060	-0.381	4.70E-002
Immp21	93757	0.428	1.12E-001	9.67E-001		Npel11	237636	-0.379	1.81E-001
Sphk1	20698	0.427	4.24E-002	9.67E-001		Brd4	57261	-0.376	1.08E-001
Ppa2	74776	0.425	1.94E-003	9.67E-001		Iqgap2	544963	-0.375	2.07E-002
Sumo2	170930	0.425	1.64E-001	9.67E-001		Dgka	13139	-0.373	4.27E-002
Rnu6	19862	0.419	1.74E-001	9.67E-001		Dync1h1	13424	-0.371	1.47E-001
Dnajc19	67713	0.418	1.13E-001	9.67E-001		Nucbl1	18220	-0.371	1.47E-002
Mirpl53	68499	0.415	1.3 IE-001	9.67E-001		Reep3	28193	-0.371	4.8 IE-002
Tmem33	67878	0.413	2.35E-001	9.67E-001		Hsd17b4	15488	-0.370	1.46E-002
Dnasel	13419	0.409	5.1 IE-002	9.67E-001		Pml	18854	-0.368	8.76E-003
Npm3-psl	108176	0.407	3.07E-002	9.67E-001		Irf1	16362	-0.364	3.73E-002
Cbrl	12408	0.405	1.88E-001	9.67E-001		Ogdh	18293	-0.363	1.78E-001
Ifi27	76933	0.404	4.78E-002	9.67E-001		Gdpd1	66569	-0.361	2.61E-001

[0355]

Gstol	14873	0.404	6.86E-002	9.67E-001	Midn	59090	-0.360	1.40E-001
Alg5	66248	0.401	8.97E-002	9.67E-001	Xlr4a	434794	-0.359	3.30E-002
Tacl	21333	0.401	3.26E-002	9.67E-001	Psap	19156	-0.358	6.97E-002
Thap4	67026	0.400	7.65E-003	9.67E-001	Dagl	13138	-0.354	7.77E-003
Sdcbp	53378	0.398	2.16E-001	9.67E-001	Hgs	15239	-0.354	8.72E-002
Histhlc	50708	0.396	1.58E-003	9.67E-001	H2-Eb1	14969	-0.353	2.47E-001
Lgals6	16857	0.393	4.66E-002	9.67E-001	Slc44a4	70129	-0.351	1.50E-001
Rps2	16898	0.392	1.35E-001	9.67E-001	Gplbb	14724	-0.350	2.10E-001
Fbp1	14121	0.390	6.83E-002	9.67E-001	Rrbpl	81910	-0.350	6.50E-002
Rp123	65019	0.384	3.29E-002	9.67E-001	Ttyh3	78339	-0.350	6.93E-002
Gsta3	14859	0.384	7.46E-002	9.67E-001	Ahnak	66395	-0.350	1.59E-001
Mbn12	105559	0.383	2.89E-003	9.67E-001	Bcl3	12051	-0.345	1.32E-002
Nme2	18103	0.377	4.00E-002	9.67E-001	H2-DMa	14998	-0.344	2.82E-001
EG434858	434858	0.376	2.46E-001	9.67E-001	Ceacam20	71601	-0.344	1.70E-001
Eef2	13629	0.375	3.22E-001	9.67E-001	Mfsd7c	217721	-0.342	2.23E-001
Hint1	15254	0.374	1.38E-001	9.67E-001	Sema4b	20352	-0.342	9.1 IE-002
Chpt1	212862	0.373	1.01E-001	9.67E-001	Preb	50907	-0.341	8.95E-003
Naca	17938	0.372	1.95E-001	9.67E-001	Smap2	69780	-0.340	2.16E-002
Hist 1 h2bf	319180	0.370	1.09E-001	9.67E-001	Sema4a	20351	-0.339	6.92E-002
Gpx4	625249	0.370	9.91E-002	9.67E-001	Cyp2sl	74134	-0.339	1.28E-001
Bat5	193742	0.369	1.96E-002	9.67E-001	Kcnk6	52150	-0.338	1.65E-001
Gsdmdel	69146	0.368	1.51 E-001	9.67E-001	Plecl	18810	-0.338	2.68E-001
Hist 1 h2bh	319182	0.367	1.22E-001	9.67E-001	Mall	228576	-0.336	1.64E-001
Hmrpa2b1	53379	0.366	3.04E-001	9.67E-001	Abcd3	19299	-0.335	3.94E-002
Cyp2d26	76279	0.362	2.72E-001	9.67E-001	Gapvd 1	66691	-0.335	2.01E-002
Pigp	56176	0.362	1.54E-001	9.67E-001	Gbfl	107338	-0.333	8.55E-002
Hpgd	15446	0.360	6.36E-002	9.67E-001	Extl	14042	-0.333	1.30E-002
Ndufs3	68349	0.359	7.02E-002	9.67E-001	Ggtl	14598	-0.332	1.70E-002
Lyplal	18777	0.359	3.1 8E-001	9.67E-001	Gptl	76282	-0.332	8.65E-002
Slc2a2	20526	0.358	1.44E-001	9.67E-001	Tef712	21416	-0.332	6.88E-002
Ada	11486	0.357	7.39E-002	9.67E-001	Tmc5	74424	-0.330	5.09E-002
Ndufa12	66414	0.356	1.09E-001	9.67E-001	Lmtk2	231876	-0.329	3.25E-002

[0356]

Gml123	382097	0.356	3.79E-001	9.67E-001		Actal	11459	-0.328	8.55E-002
Fos	14281	0.356	1.46E-002	9.67E-001		Slc35cl	228368	-0.327	7.77E-002
Sumol	22218	0.356	2.03E-001	9.67E-001		Ece1	230857	-0.325	9.16E-002
Tbgl	21376	0.355	2.44E-001	9.67E-001		Igf2	16002	-0.324	4.88E-001
Plekhl	72287	0.354	1.79E-001	9.67E-001		Camk2b	12323	-0.321	4.02E-002
Rps7	20115	0.354	2.98E-001	9.67E-001		H2-DMb1	14999	-0.321	2.94E-001
Tbca	21371	0.353	3.99E-002	9.67E-001		Zfp710	209225	-0.320	4.33E-003
Ufsp2	192169	0.352	2.35E-001	9.67E-001		Neul	18010	-0.320	2.52E-001
Prdx5	54683	0.350	4.48E-003	9.67E-001		Ostb	330962	-0.319	2.55E-001
Ndufa6	67130	0.348	5.79E-002	9.67E-001		Purb	19291	-0.317	1.13E-001
Mfeh2	56428	0.348	3.69E-001	9.67E-001		Gns	75612	-0.317	6.64E-002
Arrdc4	66412	0.347	3.73E-002	9.67E-001		Rnasen	14000	-0.314	1.23E-002
Eif5	217869	0.346	1.89E-001	9.67E-001		B230339M05Rik	228850	-0.313	4.26E-002
Eif3s4	53356	0.346	1.51E-001	9.67E-001		Slc9al	20544	-0.312	2.61E-002
Fam109a	231717	0.345	1.75E-003	9.67E-001		Tns4	217169	-0.312	4.28E-002
Arl6ip5	65106	0.345	6.55E-002	9.67E-001		Nos2	18126	-0.310	2.50E-001
Apoc2	NA	0.344	2.07E-001	9.67E-001		Camta2	216874	-0.309	2.55E-001
Tspan3	56434	0.343	2.79E-001	9.67E-001		Gpx2	14776	-0.307	6.23E-002
Cel9	20308	0.342	1.71E-001	9.67E-001		Gnal3	14674	-0.307	3.80E-002
Psma7	26444	0.342	1.65E-001	9.67E-001		Vcp	269523	-0.306	1.81E-001
Usl	67023	0.342	1.15E-001	9.67E-001		Hipk2	15258	-0.305	1.39E-001
Sdhb	67680	0.341	1.38E-001	9.67E-001		Xpnpcl	170750	-0.305	1.34E-001
Cd59a	12509	0.341	2.97E-002	9.67E-001		Afl	17355	-0.305	8.78E-002
Ak2	11637	0.340	2.08E-001	9.67E-001		Adcy8	11514	-0.303	1.99E-001
Tmem85	68032	0.340	6.90E-002	9.67E-001		LOC100048299	NA	-0.302	9.56E-002
Clqbp	12261	0.340	1.77E-001	9.67E-001		Abcf1	224742	-0.302	8.60E-002
Prdx4	53381	0.338	1.84E-001	9.67E-001		Agpat4	68262	-0.299	2.01E-001
Hebpl	15199	0.337	3.33E-004	9.67E-001		Ctdsp2	52468	-0.297	7.91 E-002
Aplsl	11769	0.336	5.98E-002	9.67E-001		C4b	12268	-0.296	1.06E-001
Nudt19	110959	0.335	2.44E-002	9.67E-001		Lrrcl	214345	-0.296	1.74E-002
Rdh7	54150	0.335	4.26E-001	9.67E-001		NA	-0.294	6.10E-002	9.67E-001
Adk	11534	0.333	1.24E-001	9.67E-001		Chst8	68947	-0.294	2.30E-001

[0357]

Rp113a	22121	0.333	1.18E-001	9.67E-001		Copzl	56447	-0.294	9.89E-002
Ppp2r5c	26931	0.332	1.67E-001	9.67E-001		Clec2d	93694	-0.293	2.88E-001
Mbn11	56758	0.331	3.47E-002	9.67E-001		Dfna5h	54722	-0.293	4.73E-001
Rheb	19744	0.331	7.93E-002	9.67E-001		Kiflb	16561	-0.293	6.76E-002
Mrip9	78523	0.330	2.14E-001	9.67E-001		Sec63	140740	-0.293	2.57E-002
Eif5a	276770	0.330	3.72E-001	9.67E-001		Fntb	110606	-0.293	1.53E-001
Sarlb	66397	0.329	2.56E-001	9.67E-001		Capg	12332	-0.293	1.04E-001
Rdh7	54150	0.326	4.55E-001	9.67E-001		Sid2	214597	-0.293	2.15E-001
Indo	15930	0.325	1.40E-001	9.67E-001		Mboat1	218121	-0.292	2.99E-001
Oaslg	23960	0.323	2.57E-001	9.67E-001		Al427809	381524	-0.292	1.20E-001
Gdel	56209	0.323	1.8 IE-001	9.67E-001		Peytla	13026	-0.291	1.69E-002
Atp5cl	11949	0.320	8.74E-002	9.67E-001		Atp6ap 1	54411	-0.290	3.13E-002
Idh3g	15929	0.320	3.15E-001	9.67E-001		Al451617	209387	-0.289	6.12E-002
Atp51	27425	0.320	1.10E-001	9.67E-001		Atp6v0al	11975	-0.288	2.29E-001
H2-Q2	15013	0.319	1.28E-001	9.67E-001		Slco2al	24059	-0.288	1.22E-001
Seppl	20363	0.319	1.47E-001	9.67E-001		Batf2	74481	-0.288	1.75E-002
Den	13179	0.317	1.86E-001	9.67E-001		Dusp6	67603	-0.287	2.50E-001
Slc28a2	269346	0.316	6.25E-002	9.67E-001		LOC100044566	NA	-0.286	7.52E-002
Npm3	18150	0.315	6.24E-003	9.67E-001		Papss2	23972	-0.285	3.48E-001
Timm8b	30057	0.315	1.54E-001	9.67E-001		Gpd2	14571	-0.285	9.42E-002
S100al	20193	0.314	1.53E-001	9.67E-001		Mapk6	50772	-0.285	8.07E-002
Ddit4	74747	0.313	1.42E-001	9.67E-001		Entpd5	12499	-0.284	2.76E-002
Tmem49	75909	0.313	3.81E-001	9.67E-001		Sbfl	77980	-0.282	1.63E-002
Ntanl	18203	0.312	6.37E-002	9.67E-001		D1st	78920	-0.282	1.09E-001
Cfi	12630	0.312	1.27E-001	9.67E-001		Laspl	16796	-0.281	1.02E-001
Mocs2	17434	0.312	1.1 IE-001	9.67E-001		Krt20	66809	-0.281	3.82E-002
Gstai	14857	0.311	4.90E-001	9.67E-001		Ncorl	20185	-0.281	1.62E-001
Rnase4	58809	0.310	1.90E-001	9.67E-001		Serpina3n	20716	-0.279	1.40E-001
Tmem77	67171	0.310	2.32E-001	9.67E-001		Gjb3	14620	-0.278	1.23E-001
Usp18	24110	0.309	2.43E-001	9.67E-001		Srr	27364	-0.278	2.91E-002
Atp6v0e	11974	0.308	1.71E-001	9.67E-001		Vdr	22337	-0.277	1.62E-001
Rplp0	11837	0.308	1.58E-002	9.67E-001		Sppl3	74585	-0.276	2.20E-001

[0358]

Vps29	56433	0.307	1.59E-001	9.67E-001	Sgkl	20393	-0.276	2.69E-001
Rdh14	105014	0.306	1.27E-001	9.67E-001	Rnf185	193670	-0.276	1.08E-001
Mep1b	17288	0.304	3.36E-001	9.67E-001	Rfxl	19724	-0.275	7.80E-002
Mips33	14548	0.303	2.22E-001	9.67E-001	Epb4.111	13821	-0.275	9.00E-002
Nipsnap3a	66536	0.303	1.30E-001	9.67E-001	Cpxml	56264	-0.274	9.20E-002
Dnajc15	66148	0.302	2.42E-001	9.67E-001	Sgk2	27219	-0.274	1.51E-001
Hint3	66847	0.301	1.51E-001	9.67E-001	Speccll	74392	-0.274	1.51 E-001
Eif3g	53356	0.300	2.20E-001	9.67E-001	Tmem50a	71817	-0.274	6.52E-004
Rps27a	78294	0.300	3.28E-001	9.67E-001	Utx	22289	-0.273	1.87E-001
Akr1c12	622402	0.300	4.27E-001	9.67E-001	Fam102a	98952	-0.272	1.79E-001
Spec1	69019	0.299	2.37E-001	9.67E-001	Kctd5	69259	-0.272	6.67E-002
Hmgn2	15331	0.299	1.29E-001	9.67E-001	Rtn3	20168	-0.272	1.00E-002
Cell 1	20292	0.299	2.69E-001	9.67E-001	Grit	330914	-0.271	2.24E-001
Tyms	22171	0.298	2.79E-001	9.67E-001	Csnkld	104318	-0.270	2.78E-002
Bpnt1	23827	0.297	8.58E-002	9.67E-001	Flt1	14254	-0.270	1.16E-001

[0359] 实例7：

[0360] sPIF防止结肠炎症，下调一氧化氮 (NOS2) 并上调HSP和B7H1表达以实现代谢功能：

结肠组织学(图5B)表明,sPIF通过使结肠隐窝恢复来防止炎症。sPIF在防止肝和巨噬细胞中氧化应激和经由eNOS(NOS2)路径形成一氧化氮(NO)方面起重要作用。sPIF还下调结肠中的NOS2基因表达(图5E)。通过促进NOSIP基因,减少NO的产生,因为NOS1和NOS3转位至肌动蛋白细胞骨架,使这些酶的活性衰减。PTS(6-丙酮酰四氢蝶呤合成酶)、DDAH1及SPR增加及WASL(Wiscott-Aldrich综合症)基因减少进一步限制NOS2活性。此外,NDOFA12和NDOFA6调控性线粒体膜呼吸链NADH去氢酶非催化亚基的表达也减少。除氧化应激减少以外,sPIF还通过增加HSPa1a和HSPA8基因防止蛋白质错误折叠,另外已知这些基因是sPIF的靶并且在体内也得到调控。如由B7H1表达显示的局部结肠先天免疫系统与全身免疫和B7H1无关并且据报导是作为针对结肠炎症的主要防护剂。值得注意的是,相较于对照组,sPIF促进B7H1基因表达(图5E)。B7H1的增加高于假治疗组,指示强效的保护反应。当sPIF疗法在辐射后仅48小时开始时,也观察到显著保护作用。表达最高的基因是CFD,即补体D因子,所述因子防止由结肠破坏引起的感染。此效应与具有附加抗细胞凋亡作用的OLFM4的作用相结合。为了促进局部代谢,上调SCD1和CYP3A11及ATP5fi以提供这一重要任务所需的能量。上调的主要基因中有ACAA2,所述基因涉及到脂肪酸和选择性氨基酸代谢以及涉及果糖代谢的KHK等。涉及溶质转运的Slc5a6表达也上调。此数据指示,sPIF诱导的结肠保护与促进基因表达的代谢增强有关。

[0361] 实例8:

[0362] sPIF增进致死性照射后随后半同种异体BMT的造血恢复:对于暴露于高(致死性)水平辐射的患者,通常考虑造血干细胞移植。由于供体必须在临时通知时可用,故半相合同种异体移植可能是唯一选择。因此,决定评价sPIF对致死性全身照射后随后半同种异体BMT(类似于父母向子女移植)的血液学恢复的作用。为了模拟会产生移植物抗宿主反应的临床环境,使F1(C57BL/6xBa1b/c)小鼠暴露于10Gry全身照射,随后在次日静脉内施用C57BL/6BM细胞。(图6A)从照射后24小时开始,使用Alzet渗透泵连续地(0.25ml/h)施用sPIF(每天1mg/kg)或PBS,持续两周。在照射后跟踪临床情况和血液学恢复4周。此实验旨在证实sPIF是否防止WBC减少和/或其还有效进行BM重建,恢复造血作用。照射随后BMT后三周,相较于PBS治疗组,sPIF使末梢血液中总WBC恢复明显增加(图6B)。此外,相较于PBS治疗的对照小鼠,sPIF治疗改善淋巴细胞/粒细胞比率(图6C)。此WBC比率类似于在亚致死性照射之后发现的比率。为了进一步评价sPIF对血液学恢复的影响,还进行股骨的组织学检查。在照射和BMT后4周,即在治疗后2周,观察到骨髓细胞性的显著差异。来自正常小鼠、PBS治疗的小鼠及PIF治疗的小鼠股骨的骨髓的代表性组织学图像分别呈现于图6D、6E及6F中。相较于PBS对照小鼠,sPIF治疗组的股骨BM切片中脂肪细胞的数量明显减少(图6G),指示sPIF治疗组中BM细胞复原的改善。值得注意的是,sPIF治疗组中脂肪细胞的数量类似于在正常小鼠中观察到的数量。这些观察结果指示,致死性照射后BMT结合PIF可以帮助迅速地恢复循环以及骨髓储备池。

[0363] 实例9:

[0364] 在致死性照射之后移植sPIF预处理的同种异体骨髓长期增进血液学复原:sPIF调控免疫反应。因此,检查sPIF是直接影响移植的骨髓细胞,从而改善其移入。还是可替代地,sPIF仅通过促进BMT移入,对受体发挥其免疫调控特性来引起血液学复原。为了解答这一重要问题,在移植之前,将供体BM细胞(同种异体)与sPIF一起在培养物中预培育2小时,并且

接着洗涤细胞。用(10Gry)致死性照射受体,并在24小时后,移植预处理的BM移植物。不施用额外治疗。(图7A)

[0365] 尽管在移植之前,BM仅与sPIF一起培育2小时,但接受sPIF处理的细胞的实验组在移植之后三周和四周显示总WBC计数,并且确切地说淋巴细胞计数复原增加(图7B和7C)。进一步检查此作用是否是通过改善骨髓细胞性引起(图7D、E、F)。数据显示,sPIF通过减少股骨中存在的脂肪细胞来恢复BM。由于在BMT之后,基于sPIF的预处理在体内有效,故对此保护作用所涉及的可能机制进行进一步检查。检查sPIF预处理对BM抗原性的影响。将与MSC一起预培育2小时的sPIF在培养物中添加至抗CD3抗体活化的CFSE标记的脾细胞中,评估对增殖的影响。(图7G)流式细胞测量术数据证明,此类预处理具有显著作用,使增殖细胞的数量减少。图7F显示,PIF预处理MSC使其分化成B细胞和T细胞。图7H显示,当在移植之后5天检查时,PIF防止重量损失。

[0366] 由此证实,BM细胞短期暴露于sPIF足以引起有效移入,无需在移植后长期进行其它疗法。由此表明,培养时sPIF的短期直接作用可以在体内转变成长期的促移入作用。

[0367] 实例10:

[0368] sPIF改变巨噬细胞分化:考虑到在ARS中免疫反应的重要性以及sPIF对单核细胞的免疫调节作用,在体外测试sPIF对巨噬细胞的作用。先前已显示,PIF上调巨噬细胞中的B7H1,反映了对于T细胞增殖的免疫调控作用。由于在与活化T细胞共培养之后sPIF预处理的巨噬细胞的增殖减少,进一步证实此上调作用。当前的实验旨在检查在亚致死性和致死性ARS模型中sPIF的保护作用是否是由电离辐射之后巨噬细胞极性转变,使得炎症反应减少所致。巨噬细胞是免疫反应的关键介体并且可以分化成炎性巨噬细胞(M1)和调控性巨噬细胞(M2)。因此,从C57BL/6小鼠获得腹膜巨噬细胞并使其在sPIF存在下向M1或M2表型分化(图8和9)。预期sPIF在M1分化巨噬细胞中显著地降低iNOS(NOS2)和COX-2基因表达(分别是图8A和8B)并增进作为M2调控性巨噬细胞标记物的精氨酸酶-1的表达(图8C)。此外,FACS分析证实巨噬细胞细胞表面CD11b和F4/80表达下调,与M2巨噬细胞表型类似(图8D和8E)。图9显示,PIF转变CD16/32和CD206表达,进一步证实向M2的转变。总的说来,这些结果表明,在照射的小鼠中,sPIF可以通过靶向M1/M2巨噬细胞调控免疫反应。

[0369] PIF保护致死性照射的心脏.I/1.在辐射疗法期间,辐射诱发的心脏病(RIHD)是值得关注的问题。所涉及的发病机制是由内皮破坏引起的冠状动脉的进行性动脉粥样硬化,以及由于小血管和心肌细胞损失(被纤维化代替)引起的心肌弥漫性损伤。在鼠类模型中,评价大血管介导及弥漫性辐射心脏损伤的并行研究及心脏功能研究(心脏回波)、时间依赖性评价存活体重、皮肤愈合。使10-12只/组新生大鼠暴露于50Gy致死性辐射,确切地说,靶向心脏。随后,使用Alzet泵进行sPIF连续递送。所述泵每天释放1mg/kg PIF,持续2周。(方案简图描述于图13中)。相较于经照射的大鼠,在sPIF治疗动物中于照射和手术部位上观察到较快的毛发生长。在植入Alzet泵之后数天,在PIF治疗的动物中在长达2周的PIF治疗后瘢痕愈合较快。相较于照射组中的其它动物,PIF治疗的动物的每日活动性更高,这些动物要顽皮得多。

[0370] 实例11:

[0371] PIF核心肽序列调查:计算机模拟对接PIFwt揭示,KCNAB1(Kv1.3 β)四聚体的A链作为PIF靶的可能性大于其它三条链。计算机模拟诱变对接的PIFwt:Kv1.3 β 界面也揭示M*

RIKP*N的重要性(M1、I4、K5、P6及N10的突变是最强的界面瓦解剂),但在四聚体结构域间未显示相似性:a.FlexPepDock服务器对接PIF表明,PIF当结合至A链时较为稳定;b.使用BeatMusic服务器进行计算机模拟诱变,以便预测PIF序列中哪一氨基酸在突变后会产生能量较高的PIF-Kv1.3 β :A-D复合物,并因此产生不太稳定的结构。因此,构想2种推定的突变体,突变体-1:P6 $\rightarrow$ E6,及突变体-3:I4 $\rightarrow$ G4;c.表格表示所考虑的突变体,其中有2种是基于其推定的作为配体-受体瓦解剂的选择的可用性而合成。突变体1(P6 $\rightarrow$ E6)对于Kv1.3 β 的D链的特异性较强,此形式还具有较高的结合能量和界面评分。预计突变体3(I4 $\rightarrow$ G4)会破坏与Kv1.3 β 的A链的结合。使用若干PIF靶更详细地进行计算机模拟诱变的实例也表明,RIKP是核心序列。对于PIF-IDE的另一靶,突变体的验证显示于图11中(显示差示移位分析的数据)。图12中也显示了突变体的验证,其显示Kv1.3 β 的差示移位分析数据。

[0372] 灵活的计算机模拟对接(演算法#2:CABS Dock—这是一种分子建模方法,其中仅提供PIF序列,而不是模型,并且使用其分子动力学和柔性的模拟来寻找肽将结合的位置)模型与将来自FlexPepDock的PIF wt投射至CABS Dock中获得的FLAG-GG-PIF-HA模型上进行的灵活的计算机模拟对接(演算法#1:FlexPepDock)相比较。值得注意的是,两种算法(本质上截然不同)预测结合至Kv1.3 β 中的同一“凹穴”,并且在两类模型的界面中共有共同序列RIKP,但方向相反。数据表明在大多数情况下,双重标记的PIF将能够结合PIF wt靶。研究IDE结合以及PIFwt与PIFmut-1/3结合至Kv1.3 β 的比较。

[0373] 实例12.

[0374] 图14显示,在2周连续注射及随后每周两次注射之后,sPIF在19周研究之后使大鼠的体重相较于对照组有所改善。相对于媒剂治疗的大鼠,所述作用是显著的。生长曲线类似于未被照射的大鼠。

[0375] 图15显示,到研究结束时,在致死性照射后sPIF存活率仍保持,其略低于PBS治疗的大鼠中的情形。

[0376] 图16描述在致死性照射之后sPIF会影响的心脏指标。

[0377] 图17显示,sPIF防止致死性辐射,影响其中多种心脏指标.AWT-在心脏收缩和心脏舒张时的前壁厚度。此外,在心脏舒张期间,其减小PWT厚度, $P<0.05$ 。

[0378] 图18显示,相较于PBS治疗的对照组,sPIF显著地改善大鼠的体重。

[0379] 图19显示,相较于PBS对照组,sPIF增加肾重量。 $P<0.05$

[0380] PIF注射防止异位心脏移植排斥反应.将小鼠Ba1b/c心脏同种移植物移植至受体(57B1/6)的腹腔中,将血管连接至腹主动脉。移植之后,每日两次注射sPIF,通过使用听诊器测定心脏脉动来测定移植的心脏的搏动。将sPIF的作用与PBS治疗的对照组相比较。数据显示,sPIF明显延迟排斥反应 $9+/-0.52SE$ 相对于 $7+/-0$ ($N=18sPIF$ 及 $N=5$ 对照组), $P<0.002$, (DF 17)。

[0381] PIF促进原代肾上腺细胞活力及皮质醇分泌:生物人工肾上腺的基础.由于21-羟化酶缺乏引起的先天性肾上腺增生(CAH)是人类中最常见的遗传性内分泌病症,在日后的生活中呈现的临床症状有神经内分泌紊乱、雄性化及代谢疾病。患者可能遭受低血压危险、低血糖、痤疮及不孕症。

[0382] 当前利用糖皮质激素替代进行治疗选择只能部分逆转这些症状,并且展现过度糖皮质激素治疗的不合意的副作用。尽管存在不同的治疗算法,但CAH的管理仍是重要的治

疗问题,有时需要激进的治疗措施,如双侧肾上腺切除术(Merke等人,1999)。肾上腺细胞移植对于这些患者来说是一种可行的治疗替代方案。然而,这一策略由于持久的缺乏人类供体器官及需要长期免疫抑制而受到明显限制。

[0383] 解决这些问题的方式之一可以是异种细胞移植。异种移植中的重大突破是基于微封装于海藻酸盐中的异种细胞的应用。这种方法为细胞疗法提供了有前景的平台(Dolgin等人,2014)。细胞微封装旨在保护移植的细胞免受宿主免疫系统攻击,无需免疫抑制剂(Neufeld等人,2013)及对受体进行免疫接种。一个未来的益处是,植入可以通过简单的注射程序而不是手术操作实现。PIF暴露于原代牛肾上腺细胞可以是实现有效肾上腺移植的适合来源。

[0384] 有关从四种牛肾上腺分离的原代牛肾上腺皮质细胞(BAC)的实验.对于活力、细胞凋亡及增殖分析,将BAC接种于96孔盘中(1×10^4 个细胞/孔,一式六份)。对于皮质醇产生分析,将细胞接种于24孔盘中(5×10^4 个细胞/孔,一式三份)。将PIF溶解于生理盐水中并以0, 1 μ g/ml浓度使用。一组细胞在细胞分离之后立即接受含有PIF的培养基(PIF d0)。另一组细胞在细胞分离后24小时接受含有PIF的培养基(PIF d1)。对照细胞不接受PIF。在开始治疗之后第3天,使用XTT细胞增殖分析(Roche)评估活力。在开始治疗之后第3天,使用BrdU细胞增殖分析(Millipore)测量增殖情况。在开始治疗之后第3天,通过使用Caspase-Glo 3/7分析(Promega)测定半胱天冬酶3/7活性来分析细胞凋亡。对于刺激皮质醇,使用3ng/mL浓度的ACTH(Synacthen)。上清液中的皮质醇将通过EIA(ABL)测量。图20中的数据显示,培养的PIF增加细胞活力,同时减少细胞凋亡。图21中的数据显示,PIF明显促进这些细胞的皮质醇分泌,其作用在添加至培养物之后一天最明显。这些支持性数据指示,在移植之前进行肾上腺细胞预处理对于宿主将是有意義的,因此,为开发生物人工肾上腺提供可能。

[0385] 使用PIF进行的关于大鼠胰岛素瘤细胞的实验-胰岛移植的基础.PIF同时在体外和体内调控整体免疫反应[15-17]。在NOD小鼠中,PIF长期防止糖尿病(过继转移及自发地发生的疾病)发生。平行测试的PIFscr无作用。保留的胰岛结构和胰岛素表达与胰脏PDI/硫氧还蛋白和HSP蛋白质水平增加有关。此与TH1和Th2细胞因子水平变化所反映的全身免疫调控相结合。近来显示(Barnea PLoS One 2014),PIF经由共有结合位点直接靶向PDI/T及HSP。因此,所观察到的对于移植保护至关重要的针对氧化应激和蛋白质错误折叠的防护在机理上是讲得通的。能够将有活力的胰岛细胞移植至I型糖尿病患者中将是一项重大进展,因为到目前为止,此类方法受限于供体细胞可用性以及在移植之后需要持续免疫抑制,而且尽管移入,但移植的细胞无法为这些患者长期提供适当胰岛素。

[0386] 在实验中使用了第24代Ins-1细胞进行PIF施用。对于活力、细胞凋亡及增殖分析,将细胞接种于96孔盘中(1×10^4 个细胞/孔,一式六份)。使用三种浓度的PIF:0, 0.01 μ g/ml;0, 1 μ g/ml及1 μ g/ml。每天更换含有底物的培养基。使用XTT细胞增殖分析(Roche)评估活力。使用BrdU细胞增殖分析(Roche)测量增殖情况。通过使用Caspase-Glo 3/7分析(Promega)测定半胱天冬酶3/7活性来分析细胞凋亡。利用回归分析对结果进行分析,以评价在测试模型中发生的过程。为评价PIF对细胞的作用,使用针对相关样品的Wilcoxon符号秩检验以及Spearman秩相关和Student t检验。图22显示,PIF在48小时的时候促进胰岛素瘤细胞活力及在0.1 μ g/ml的较低浓度下促进增殖。细胞凋亡增加指示在培养条件下常常出现的质量较差的细胞消除。

序列表

<110> 倍奥英赛普特有限责任公司(BIOINCEPT, LLC)

伊藤・R・巴尼(BARNEA, Eytan R.)

<120> 用于治疗急性辐射综合症的组合物和方法

<130> 120785.02502

<150> 62/051077

<151> 2014-09-16

<150> 62/113298

<151> 2015-02-06

<150> 62/211660

<151> 2015-08-28

<160> 29

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 1

Met Val Arg Ile Lys Pro Gly Ser Ala Asn Lys Pro Ser Asp Asp

1 5 10 15

<210> 2

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 2

Met Val Arg Ile Lys Tyr Gly Ser Tyr Asn Asn Lys Pro Ser Asp

1 5 10 15

<210> 3

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 3

Met Val Arg Ile Lys Pro Gly Ser Ala Asn Lys Pro Ser

1 5 10

<210> 4

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 4

Met Val Arg Ile Lys Pro Gly Ser Ala

1 5

<210> 5

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 5

Gly Arg Val Asp Pro Ser Asn Lys Ser Met Pro Lys Asp Ile Ala

1 5 10 15

<210> 6

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 6

Ser Gln Ala Val Gln Glu His Ala Ser Thr

1 5 10

<210> 7

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 7

Ser Gln Ala Val Gln Glu His Ala Ser Thr Asn Met Gly

1 5 10

<210> 8

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 8

Glu Val Ala Gln His Ser Gln Ala Ser Thr Met Asn Gly

1 5 10

<210> 9

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 9

Gly Gln Ala Ser Ser Ala Gln Met Asn Ser Thr Gly Val His

1 5 10

<210> 10

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 10

Ser Gly Ile Val Ile Tyr Gln Tyr Met Asp Asp Arg Tyr Val Gly Ser

1 5 10 15

Asp Leu

<210> 11

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 11

Gly Met Arg Glu Leu Gln Arg Ser Ala Asn Lys

1 5 10

<210> 12

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 12

Val Ile Ile Ile Ala Gln Tyr Met Asp

1 5

<210> 13

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 13

Met Val Arg Ile Lys Pro Gly Ser Ala Asn Lys Pro Ser Asp Asp

1 5 10 15

<210> 14

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 14

Ser Gln Ala Val Gln Glu His Ala Ser Thr Asn Met Gly

1 5 10

<210> 15

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 15

Ser Gly Ile Val Ile Tyr Gln Tyr Met Asp Asp Arg Tyr Val Gly Ser

1 5 10 15

Asp Leu

<210> 16

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 16

Met Val Arg Ile Lys Pro Gly Ser Ala

1 5

<210> 17

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 17

Val Ile Ile Ile Ala Gln Tyr Met Asp

1 5

<210> 18

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 18

Met Val Arg Ile Lys

1 5

<210> 19

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 19

Pro Gly Ser Ala

1

<210> 20

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> Xaa

<222> (3) .. (3)

<223> Xaa是除精氨酸外的任何氨基酸

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3) .. (3)

<223> Xaa是除精氨酸外的任何氨基酸

<400> 20

Met Val Xaa Ile Lys Pro Gly Ser Ala Asn Lys Pro Ser Asp Asp

1 5 10 15

<210> 21

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (1)

<223> Xaa是除精氨酸外的任何氨基酸

<400> 21

Xaa Val Arg Ile Lys Pro Gly Ser Ala Asn Lys Pro Ser Asp Asp

1 5 10 15

<210> 22

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (1)

<223> Xaa是除精氨酸外的任何氨基酸

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3) .. (3)

<223> Xaa是除精氨酸外的任何氨基酸

<400> 22

Xaa Val Xaa Ile Lys Pro Gly Ser Ala Asn Lys Pro Ser Asp Asp

1 5 10 15

<210> 23

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (6) .. (6)

<223> Xaa是除精氨酸外的任何氨基酸

<400> 23

Met	Val	Arg	Ile	Lys	Xaa	Gly	Ser	Ala	Asn	Lys	Pro	Ser	Asp	Asp
1				5					10				15	

<210> 24

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (4) .. (4)

<223> Xaa是除精氨酸外的任何氨基酸

<400> 24

Met	Val	Arg	Xaa	Lys	Pro	Gly	Ser	Ala	Asn	Lys	Pro	Ser	Asp	Asp
1				5					10				15	

<210> 25

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2) .. (2)

<223> Xaa是除精氨酸外的任何氨基酸

<400> 25

Met	Xaa	Arg	Ile	Lys	Pro	Gly	Ser	Ala	Asn	Lys	Pro	Ser	Asp	Asp
1				5					10				15	

<210> 26

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 26

Met	Val	Arg	Ile	Lys	Glu	Gly	Ser	Ala	Asn	Lys	Pro	Ser	Asp	Asp
1				5					10				15	

<210> 27

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 27

Met	Val	Arg	Gly	Lys	Pro	Gly	Ser	Ala	Asn	Lys	Pro	Ser	Asp	Asp
1				5					10				15	

<210> 28

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 28

Met	Glu	Arg	Ile	Lys	Pro	Gly	Ser	Ala	Asn	Lys	Pro	Ser	Asp	Asp
1				5					10				15	

<210> 29

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 29

Ala	Val	Arg	Ile	Lys	Pro	Gly	Ser	Ala	Asn	Lys	Pro	Ser	Asp	Asp
1				5					10				15	

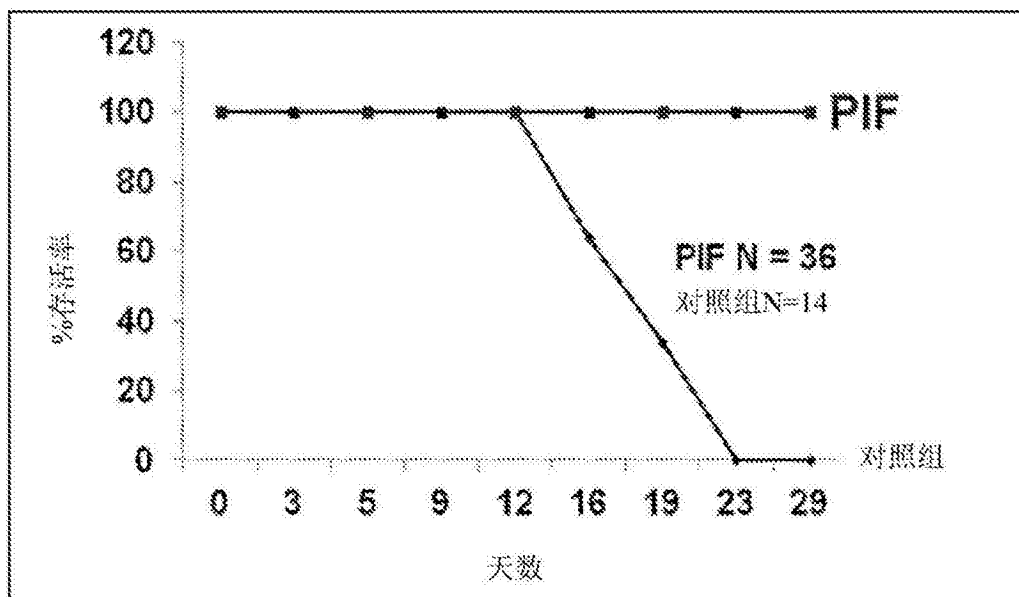


图1A

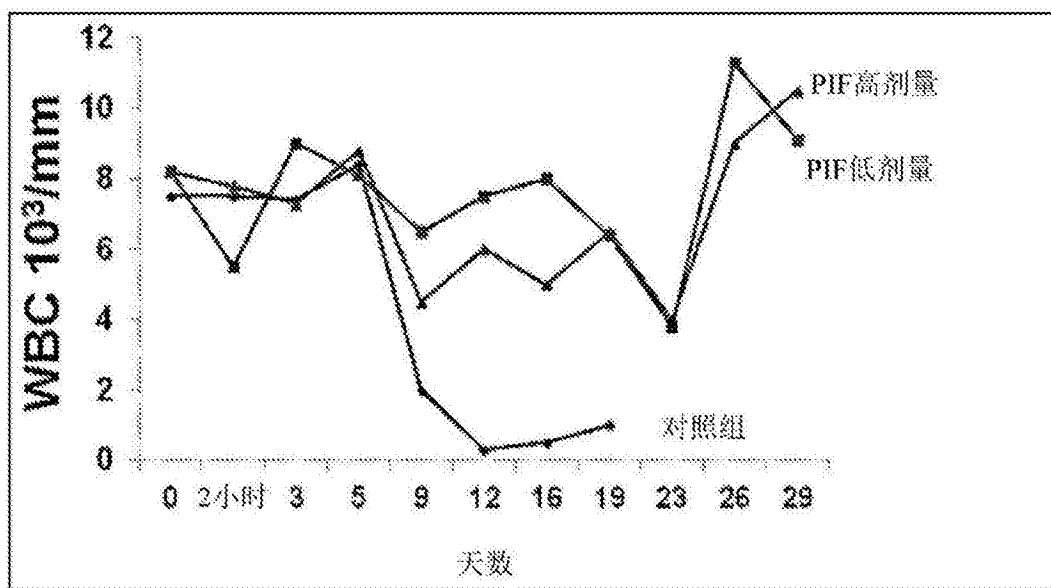
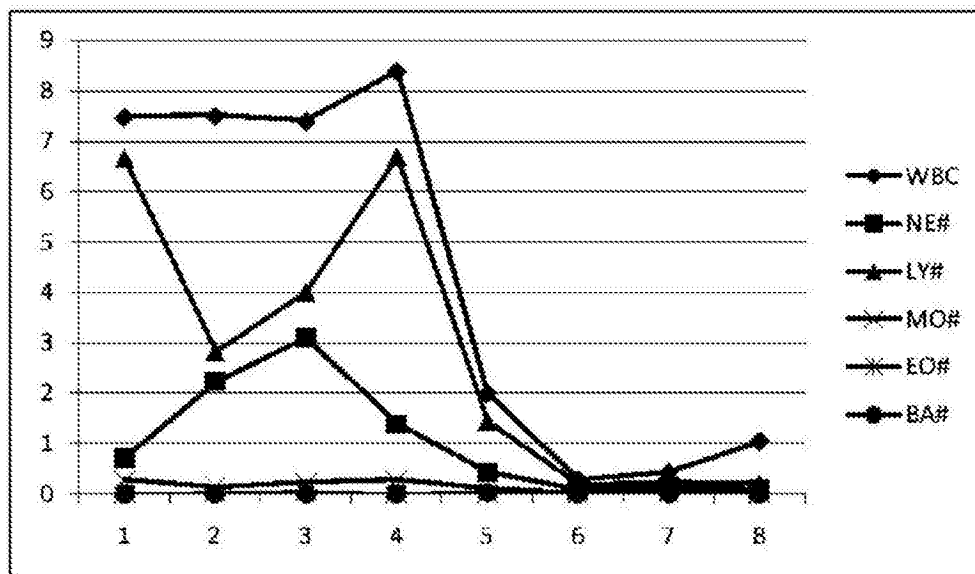


图1B

第1组对照辐射PIF（雌性小鼠1-7）



第1组对照辐射PIF（雄性小鼠26-32）

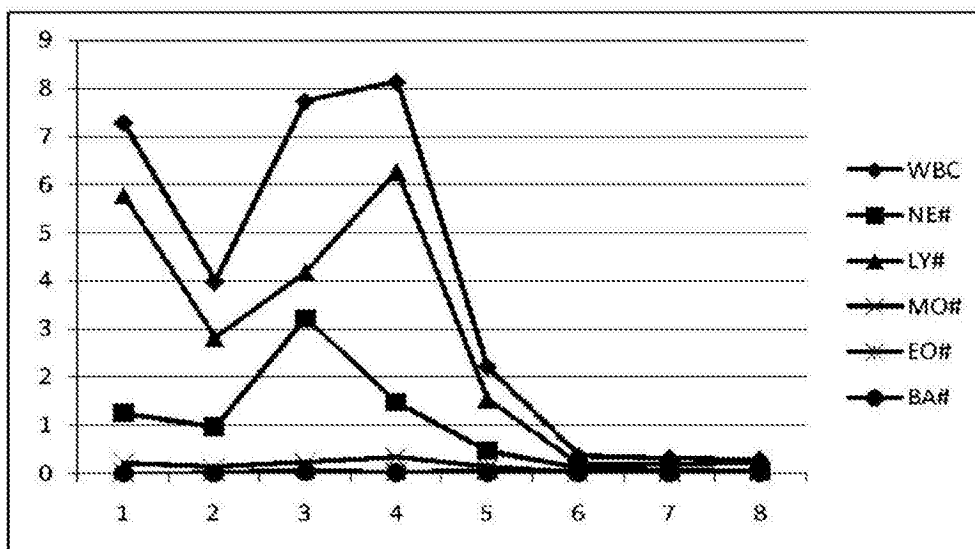
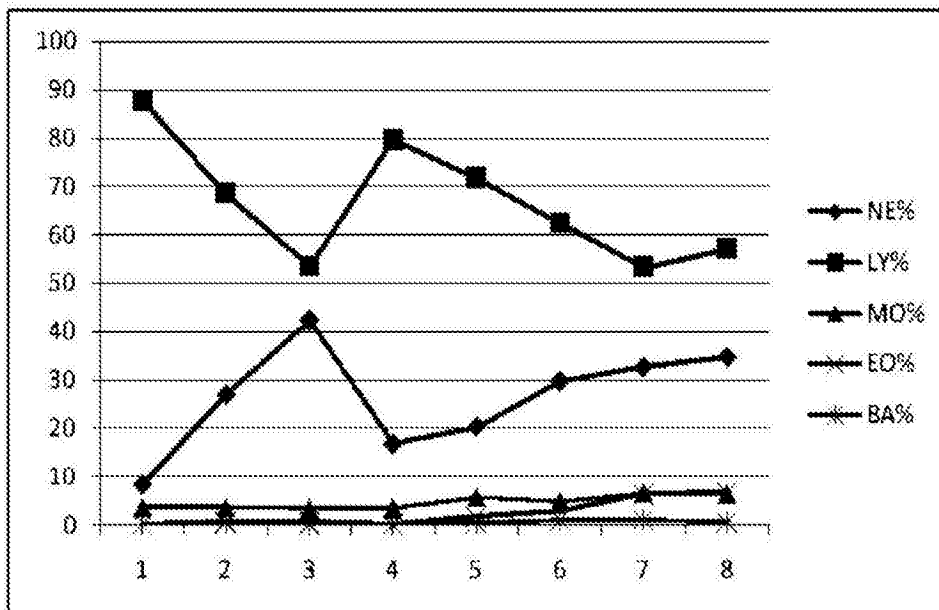


图1C

第1组对照辐射PIF（雌性小鼠1-7）



第1组对照辐射PIF（雄性小鼠26-32）

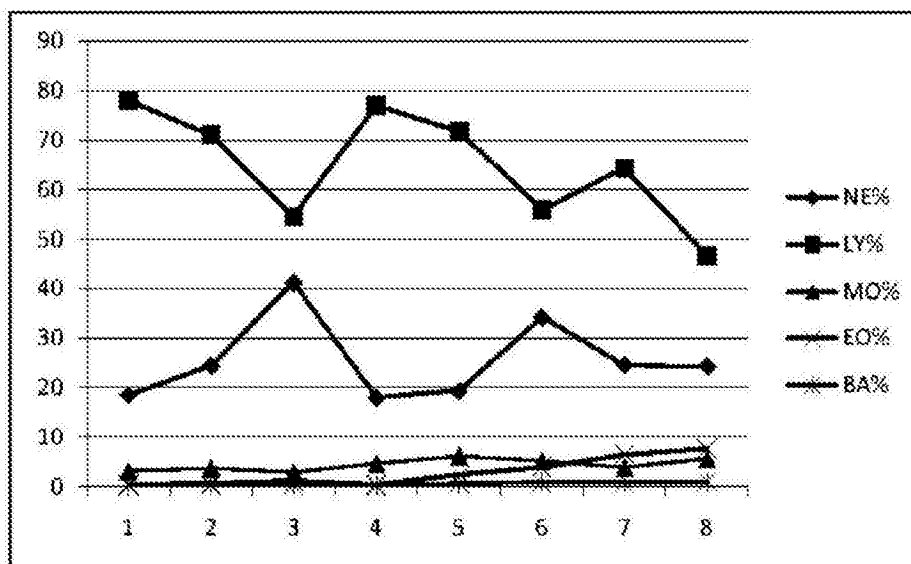
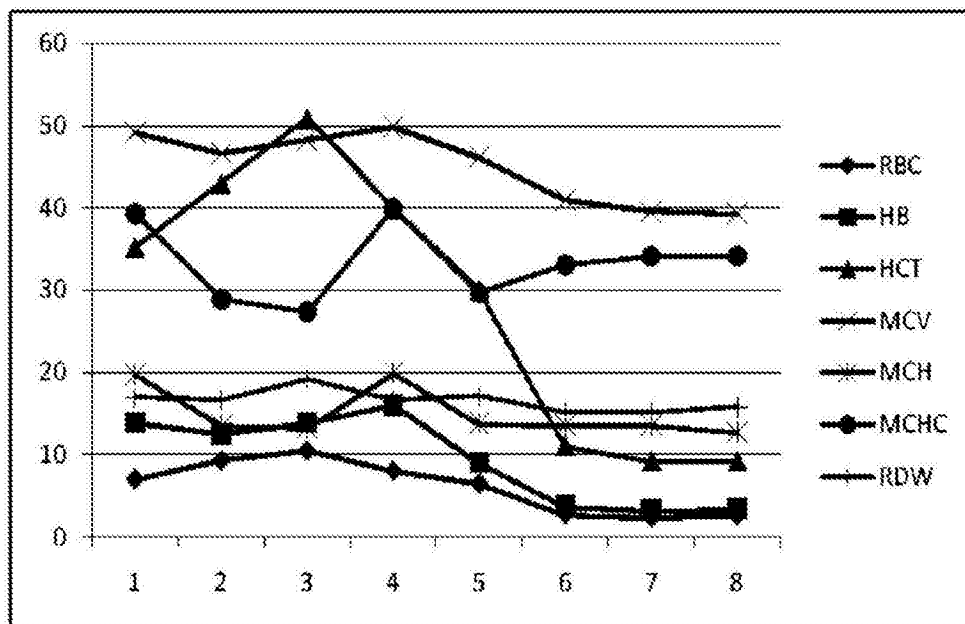


图1C(续)

第1组对照辐射PIF (雌性小鼠1-7)



第1组对照辐射PIF (雄性小鼠26-32)

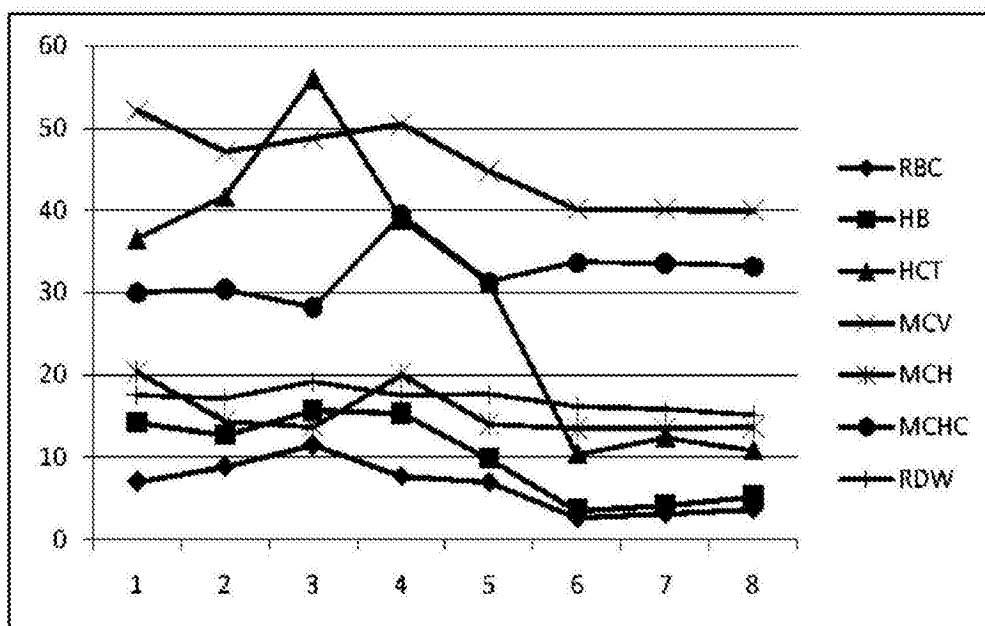
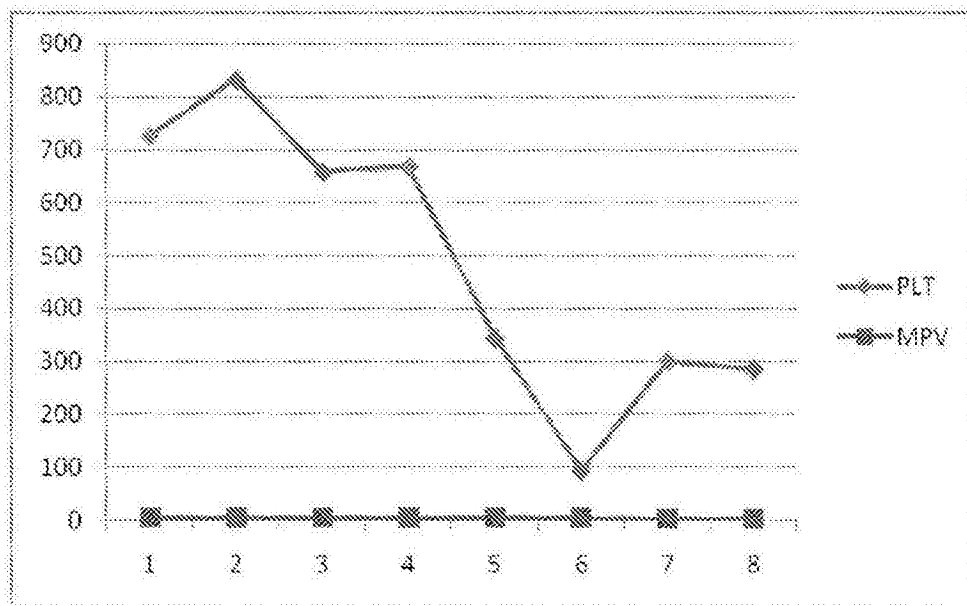


图1C (续)

第1组对照辐射PIF（雌性小鼠1-7）



第1组对照辐射PIF（雄性小鼠26-32）

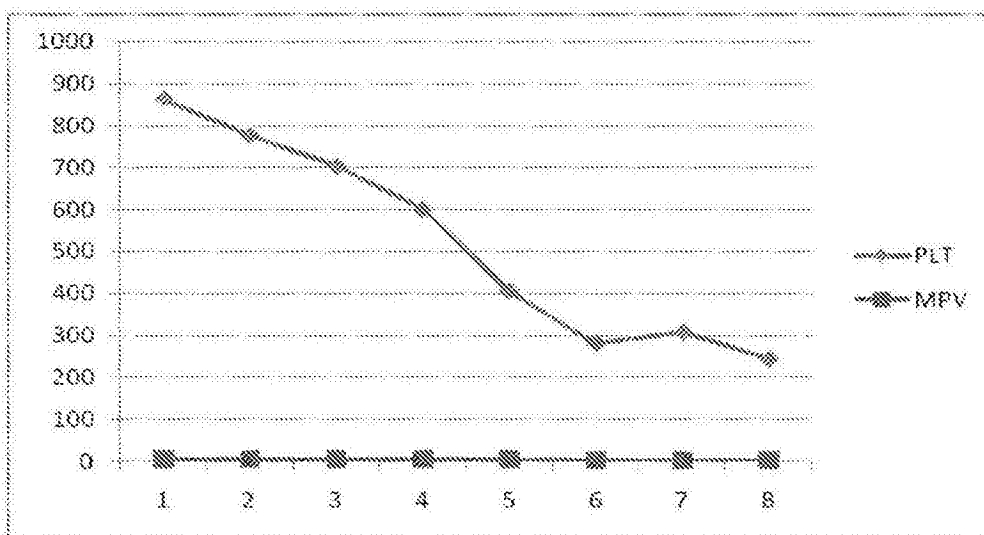
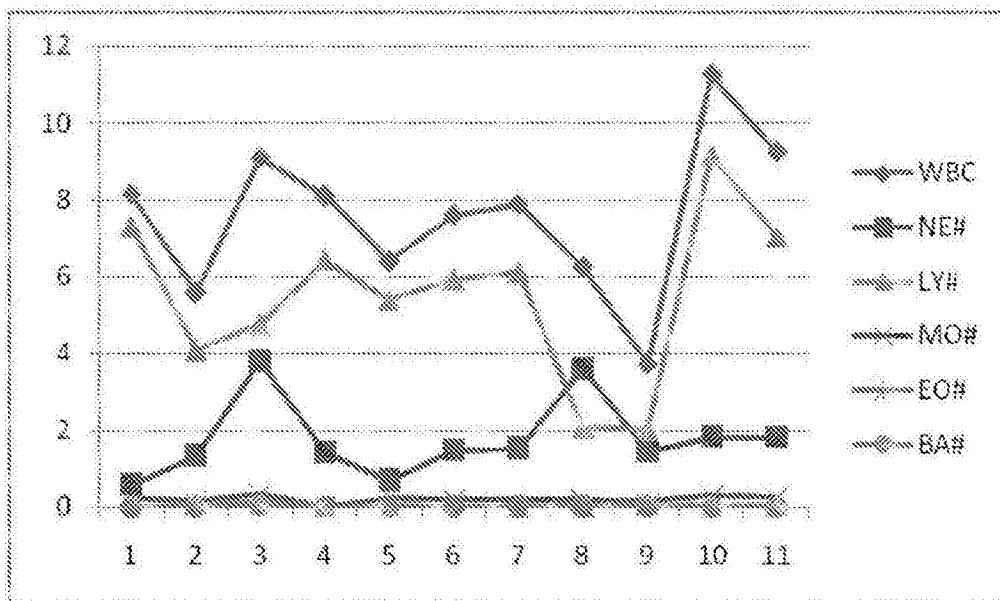


图1C(续)

第2组低剂量辐射PIF（雌性小鼠8-16）



第2组低剂量辐射PIF（雄性小鼠）33-41

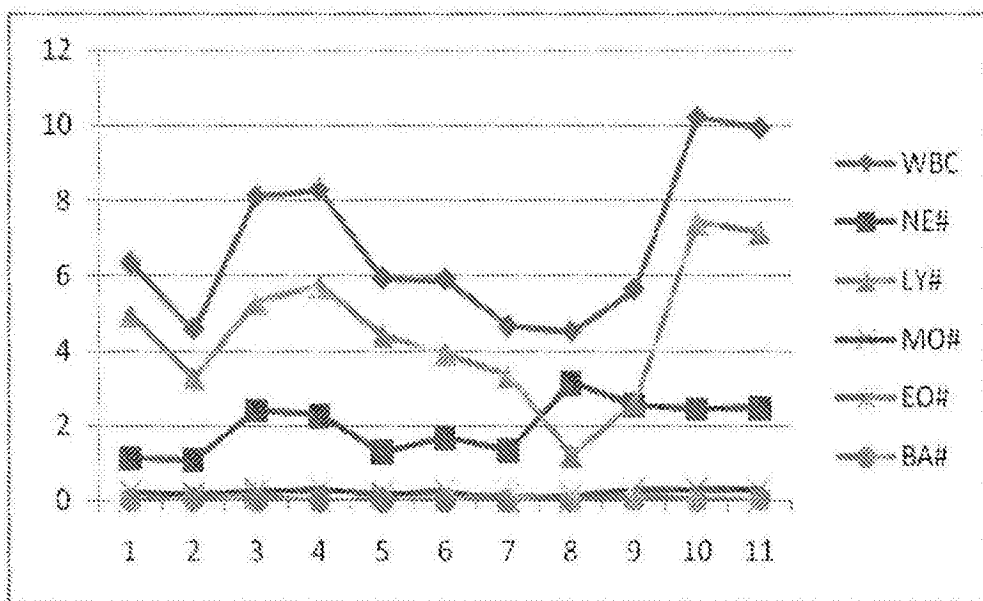
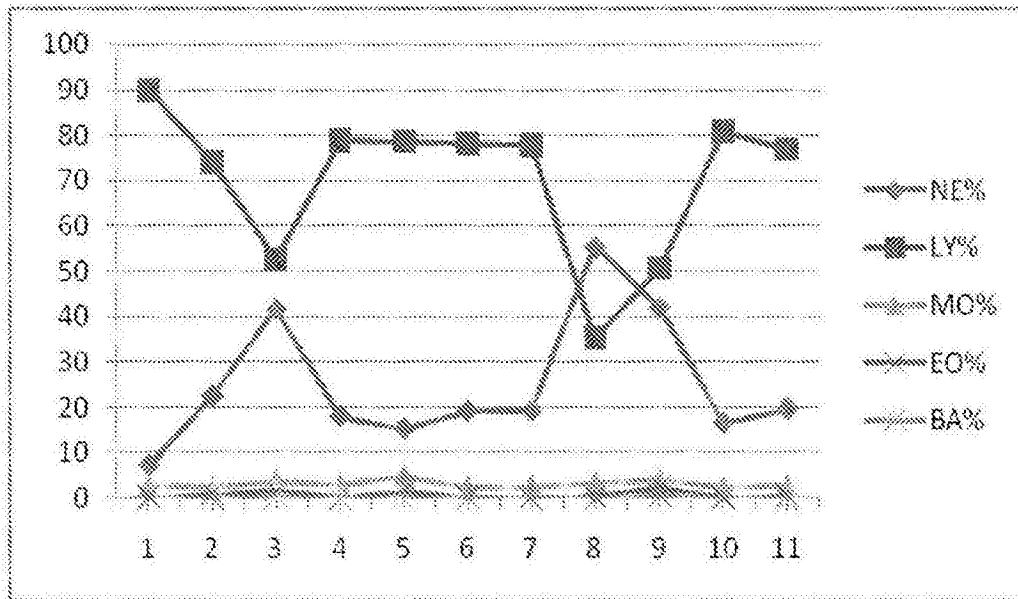


图1D

第2组低剂量辐射PIF（雌性小鼠8-16）



第2组低剂量辐射PIF（雌性小鼠8-16）

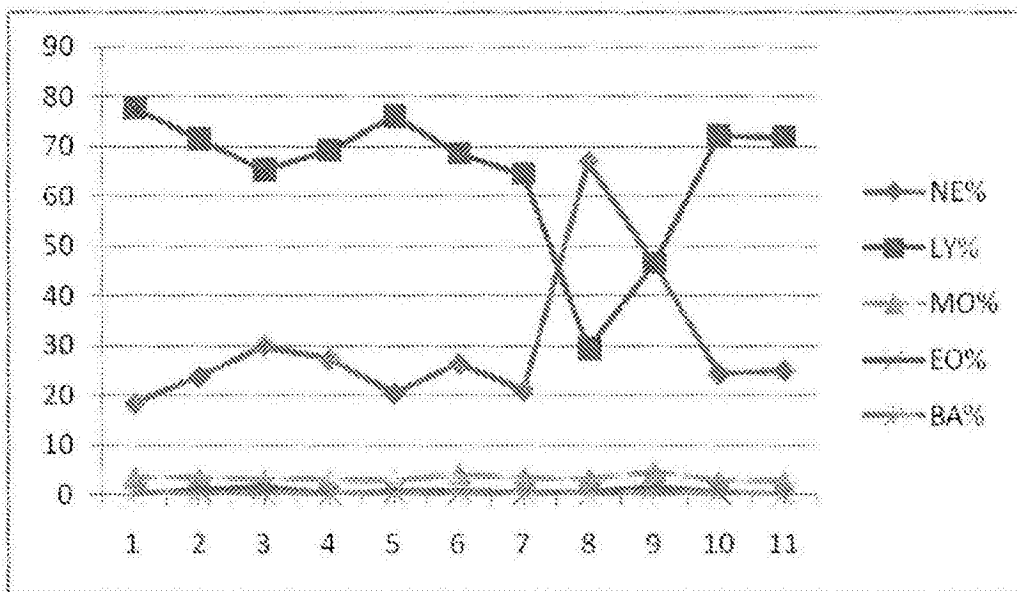
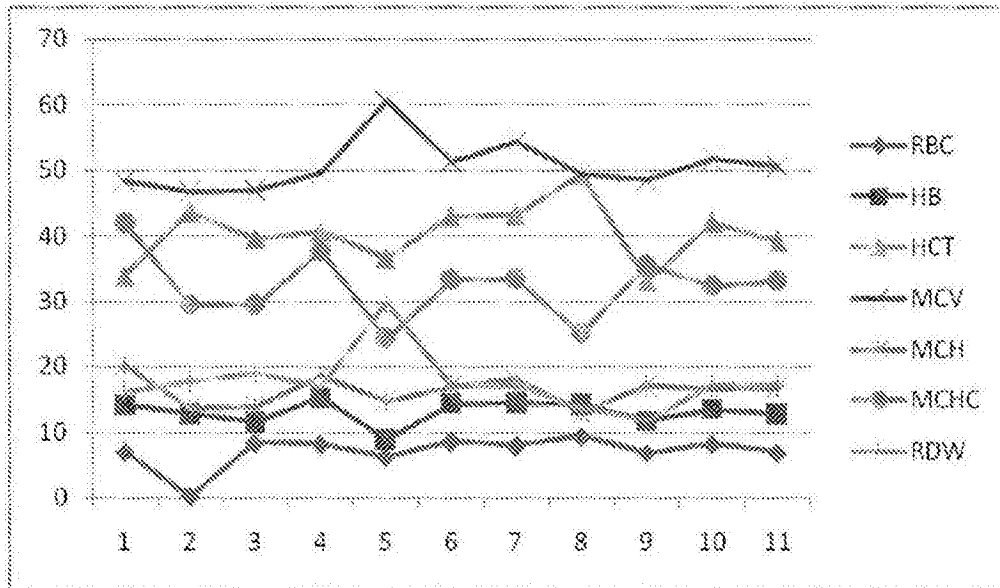


图1D(续)

第2组低剂量辐射PIF（雌性小鼠8-16）



第2组低剂量辐射PIF（雌性小鼠8-16）

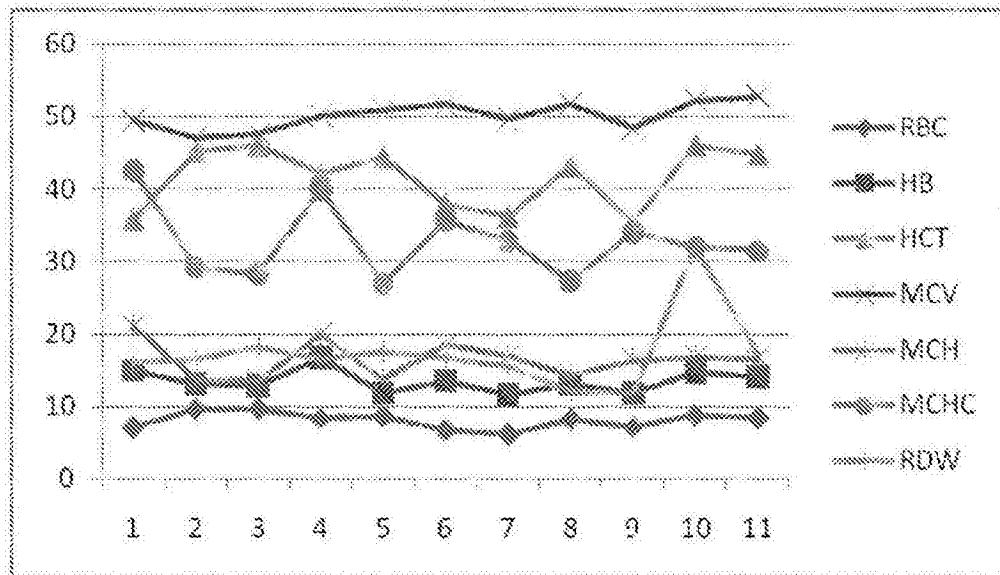
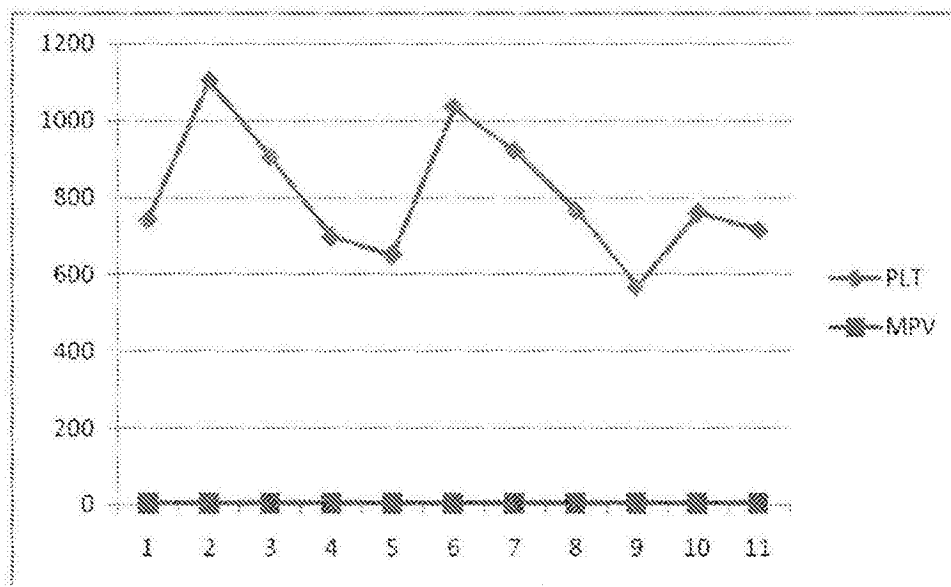


图1D(续)

第2组低剂量辐射PIF（雌性小鼠8-16）



第2组低剂量辐射PIF（雌性小鼠8-16）

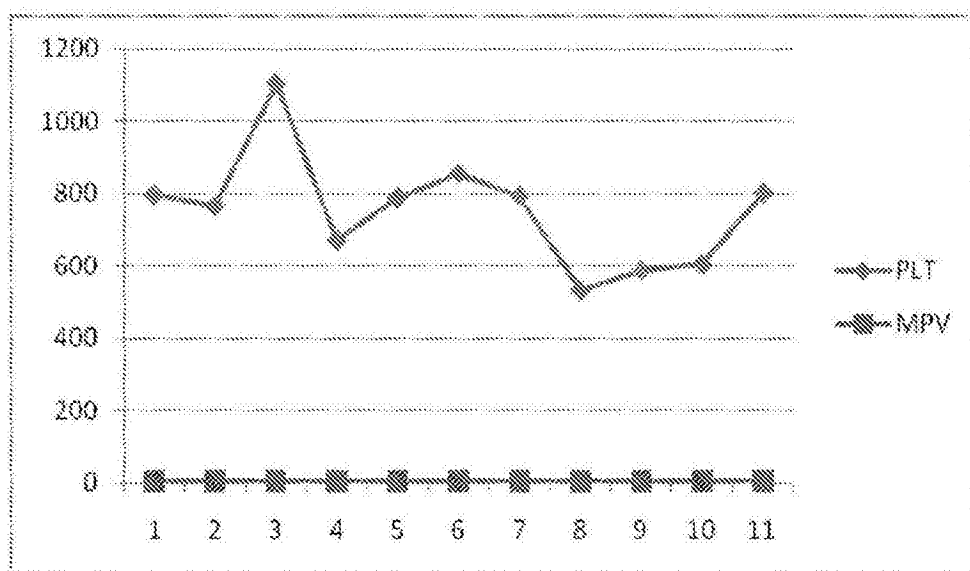
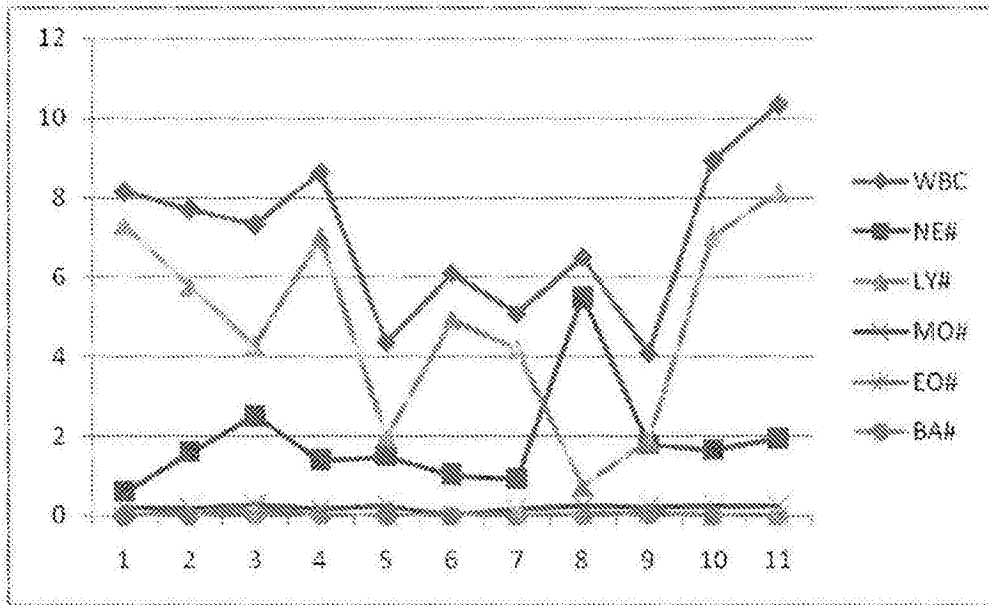


图1D(续)

第3组高剂量雄性 (17-25)



第3组高剂量雄性 (42-50)

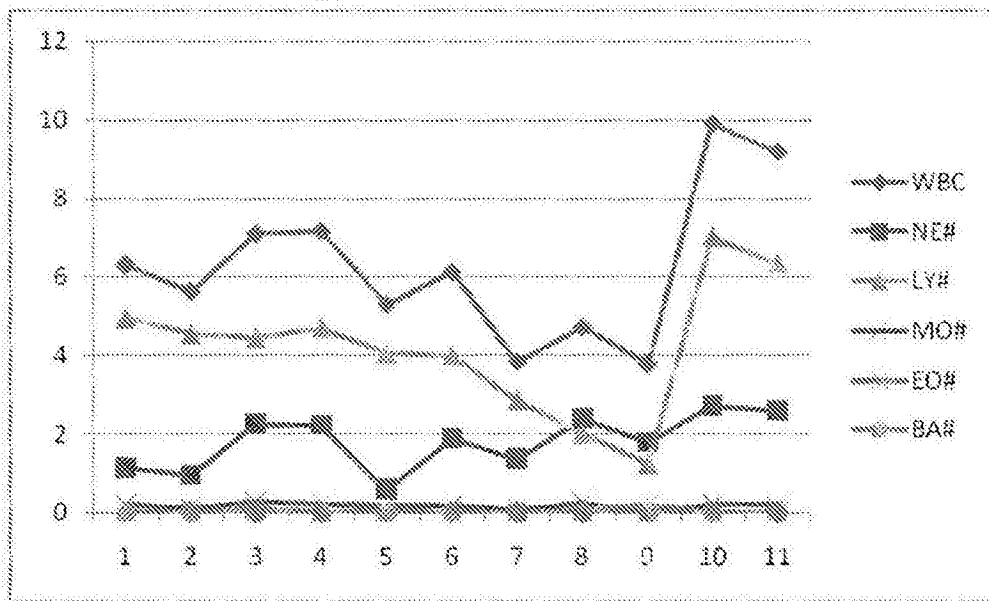
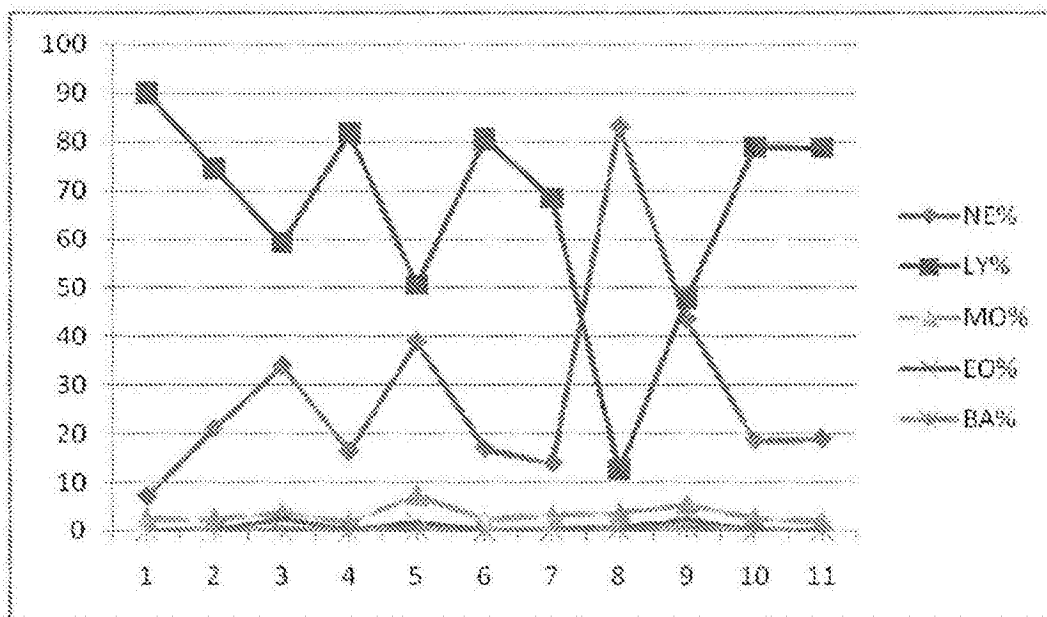


图1E

第3组高剂量雌性 (17-25)



第3组高剂量雄性 (42-50)

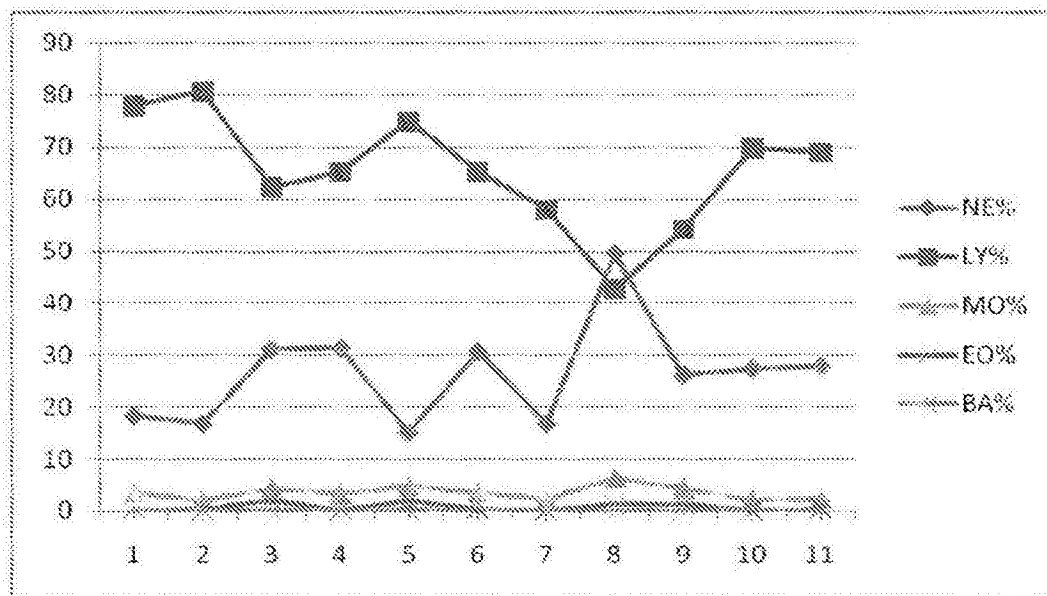
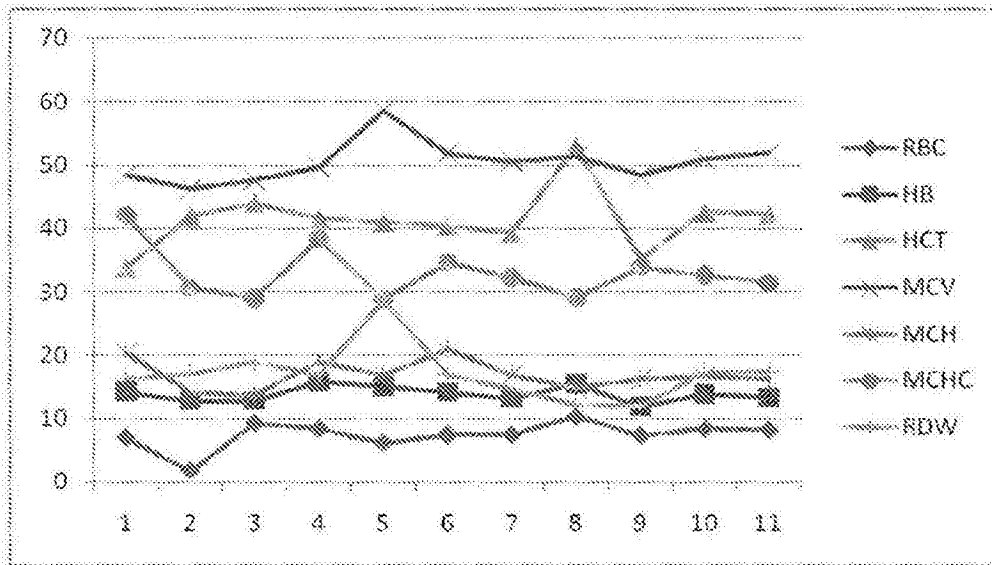


图1E (续)

第3组高剂量雌性 (17-25)



第3组高剂量雄性 (42-50)

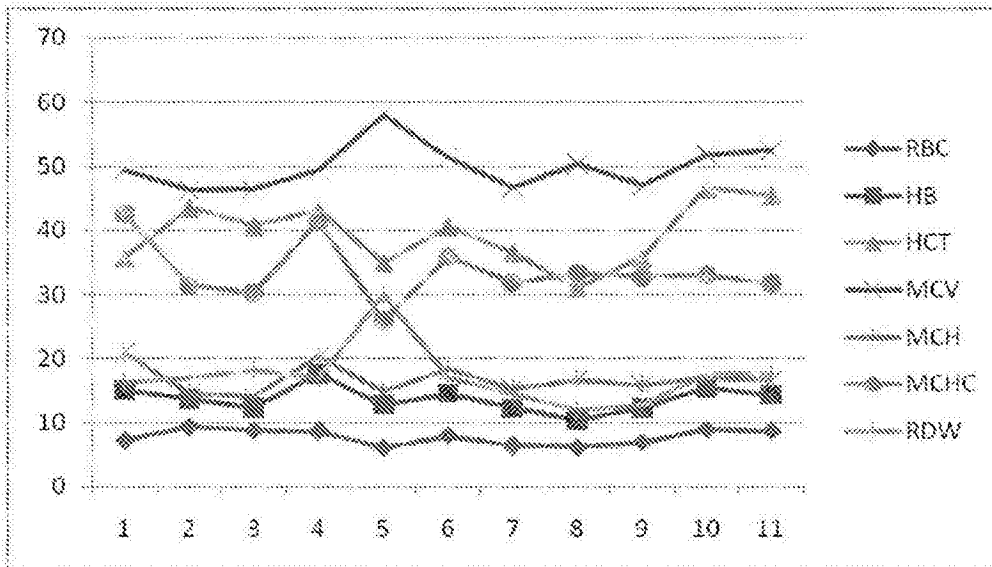
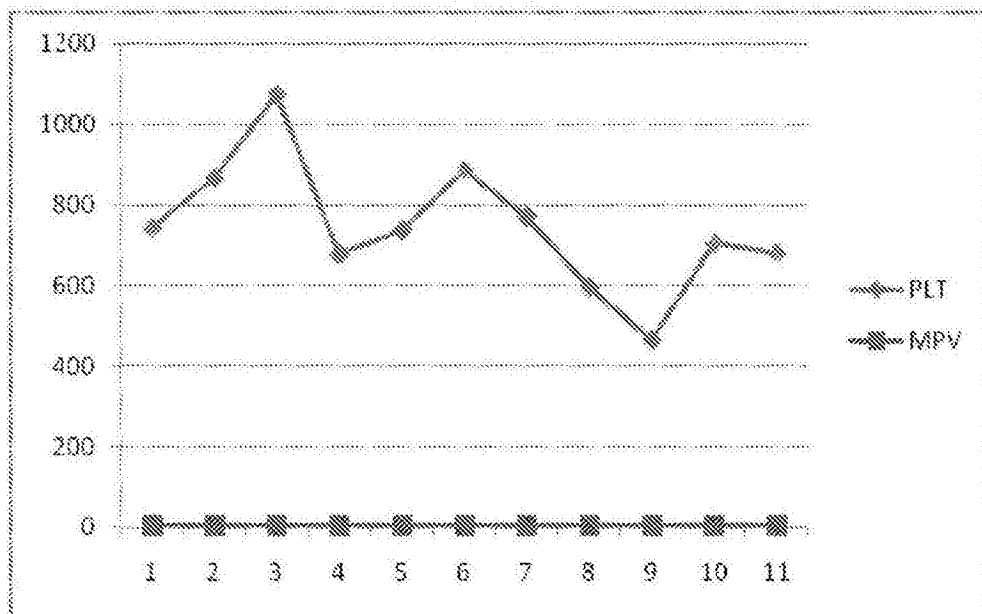


图1E (续)

第3组高剂量雌性 (17-25)



第3组高剂量雄性 (42-50)

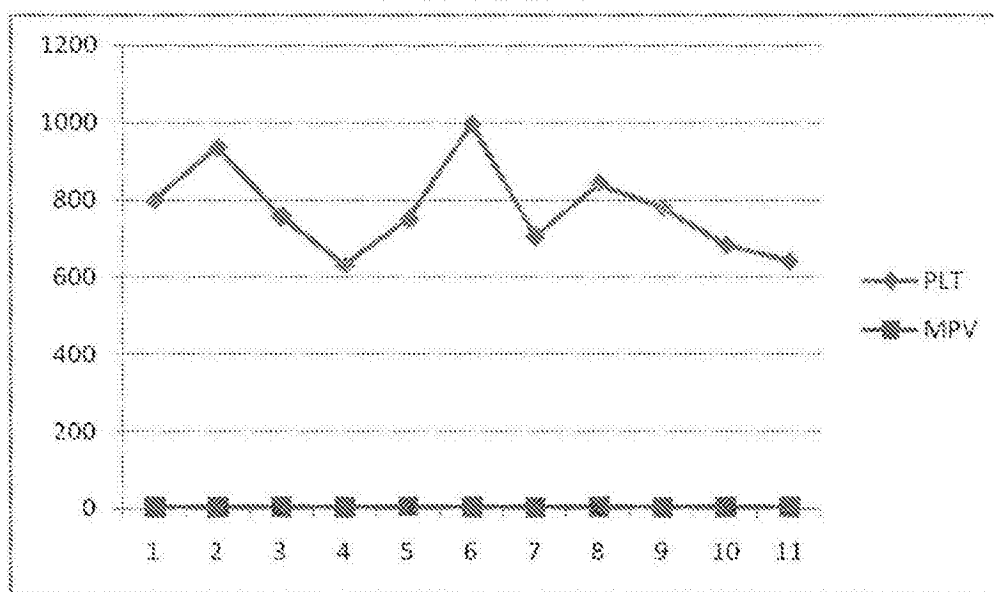


图1E (续)

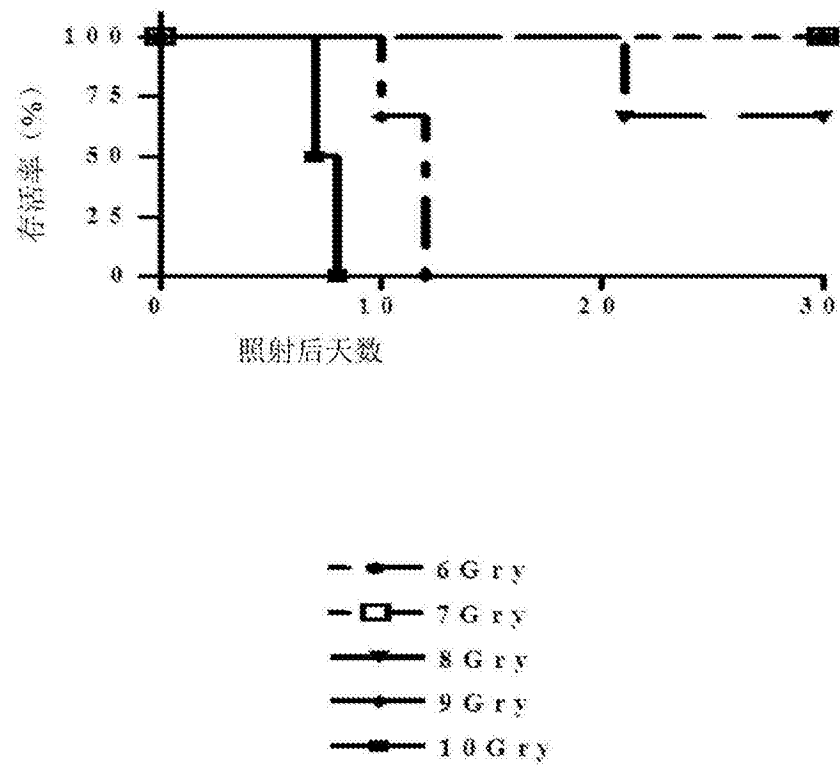


图2A

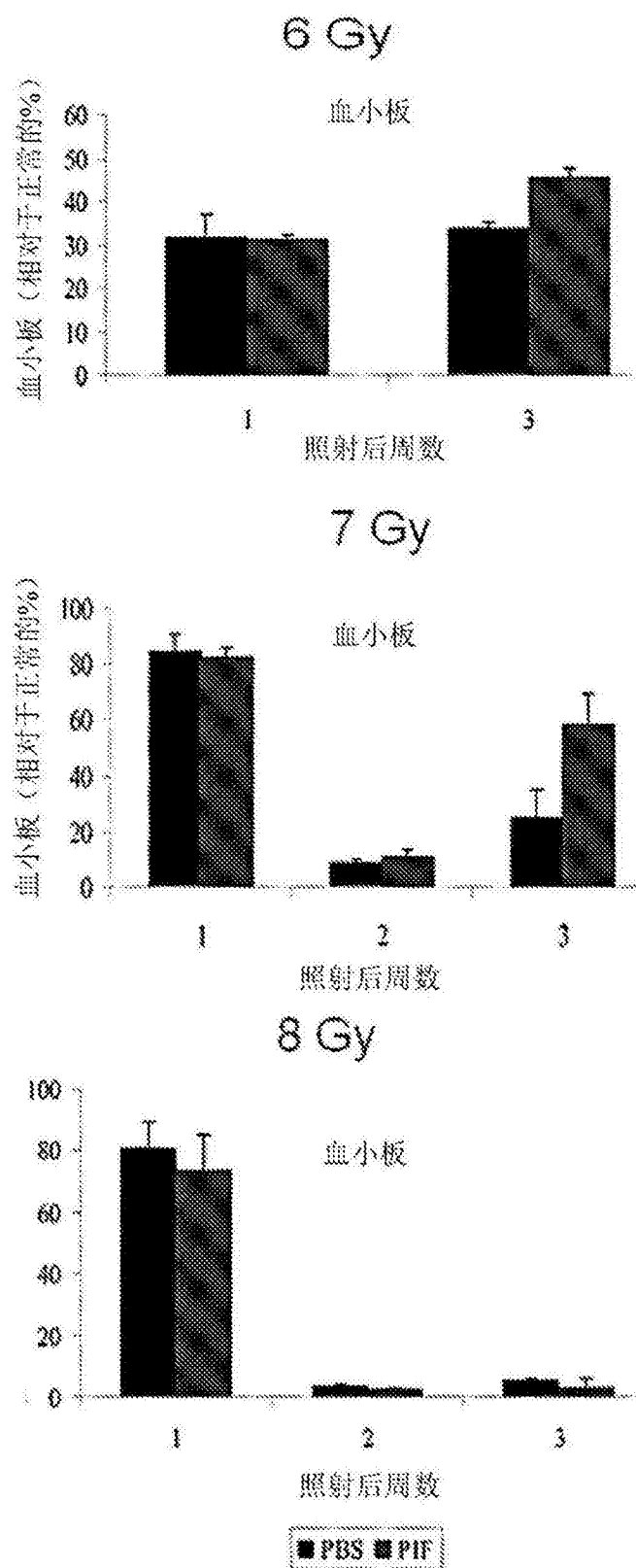


图2B

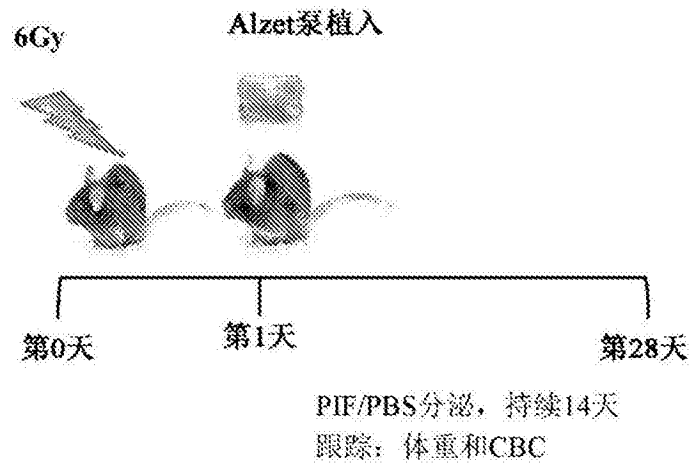


图3A

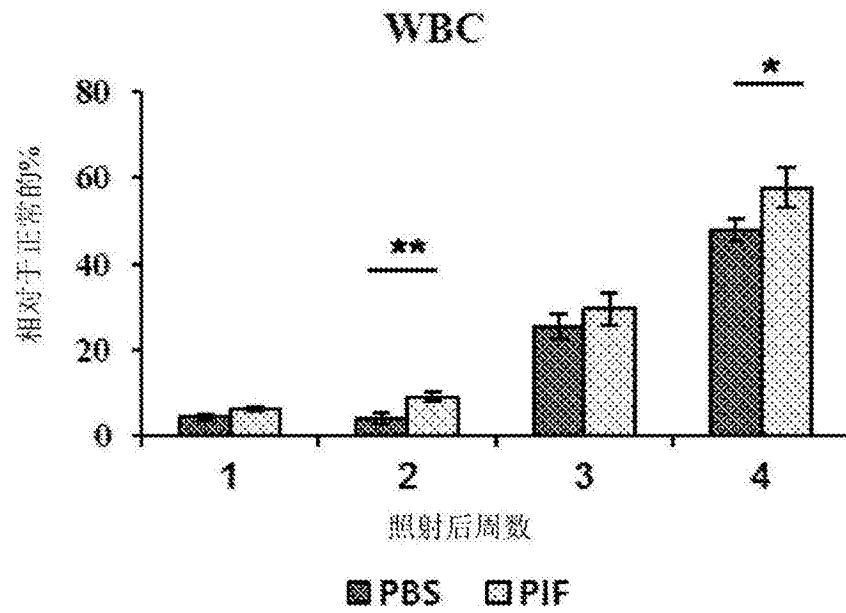


图3B

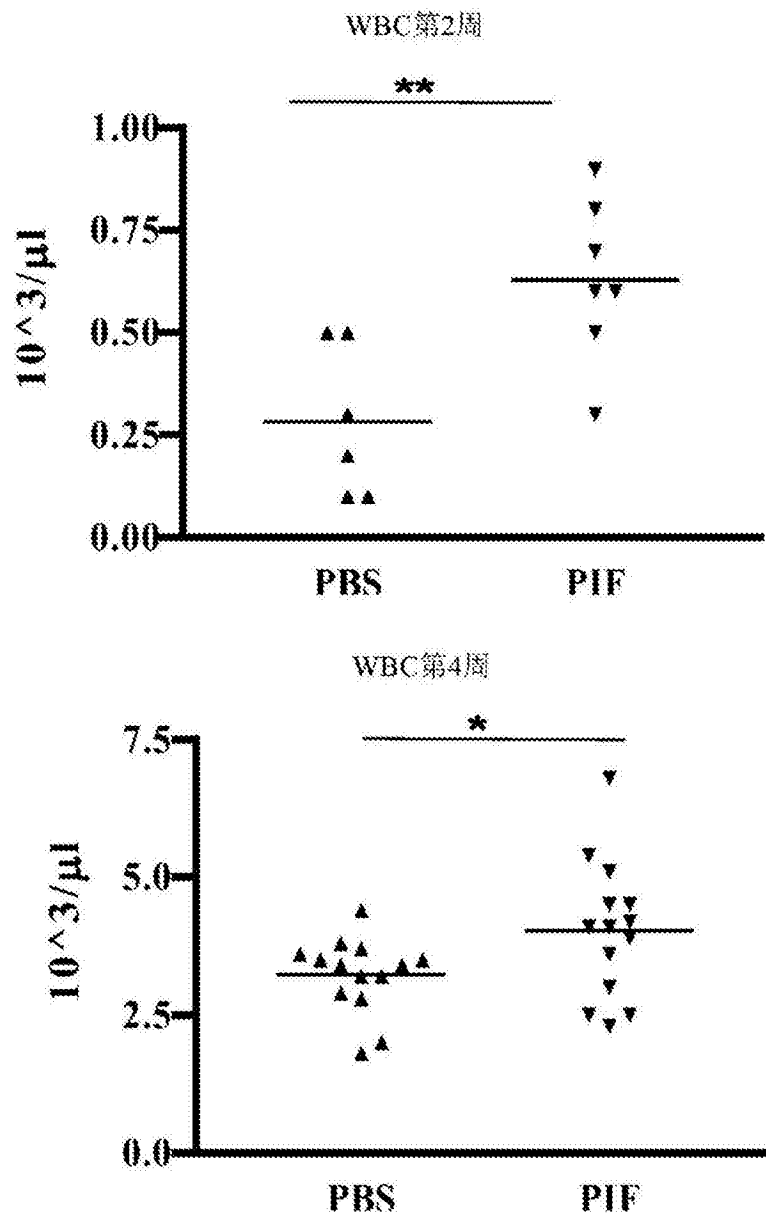


图3C

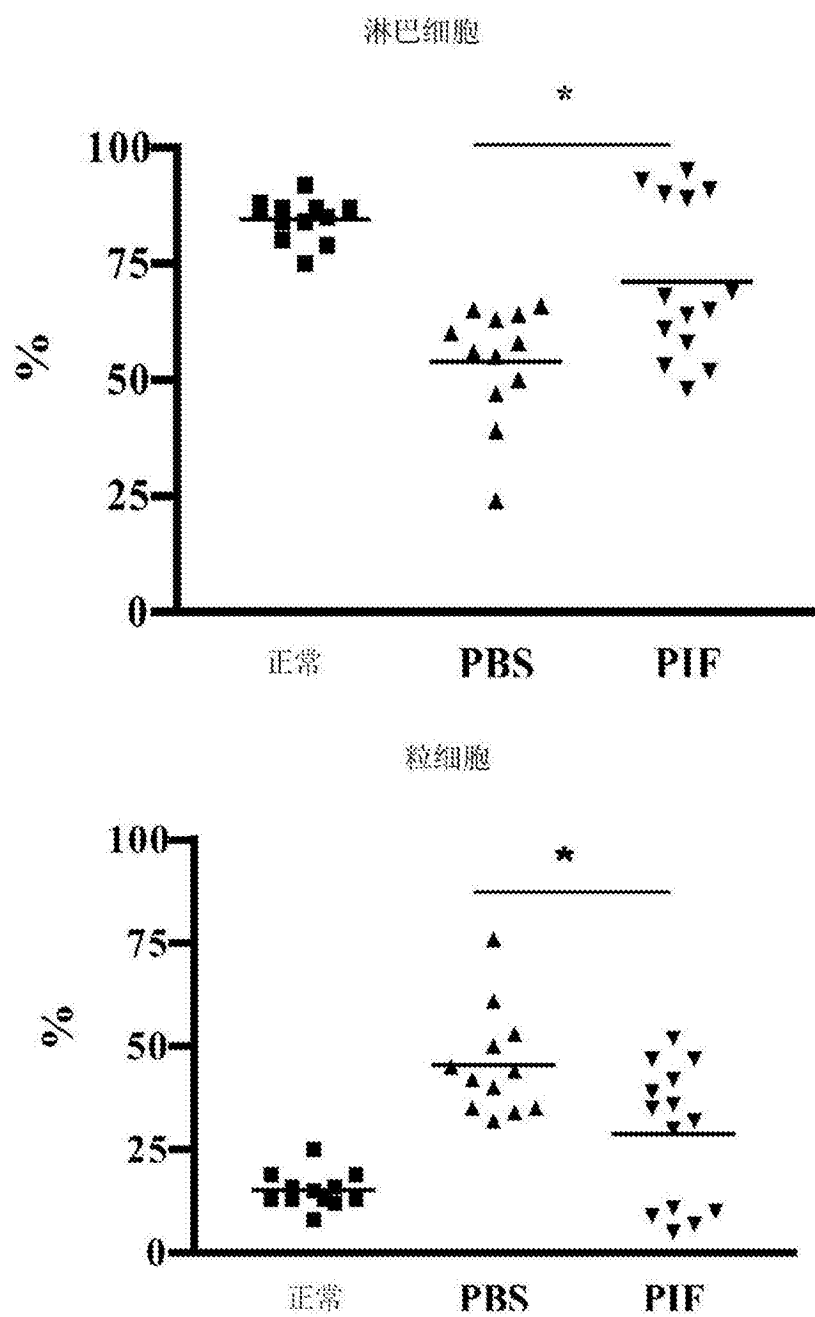


图3D

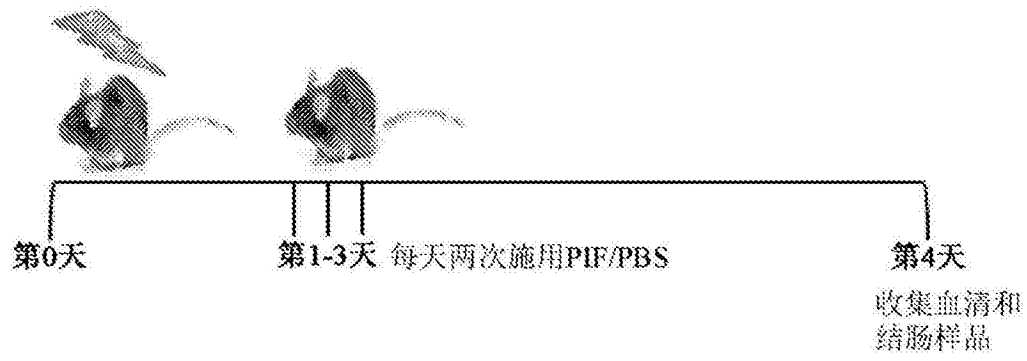


图4A

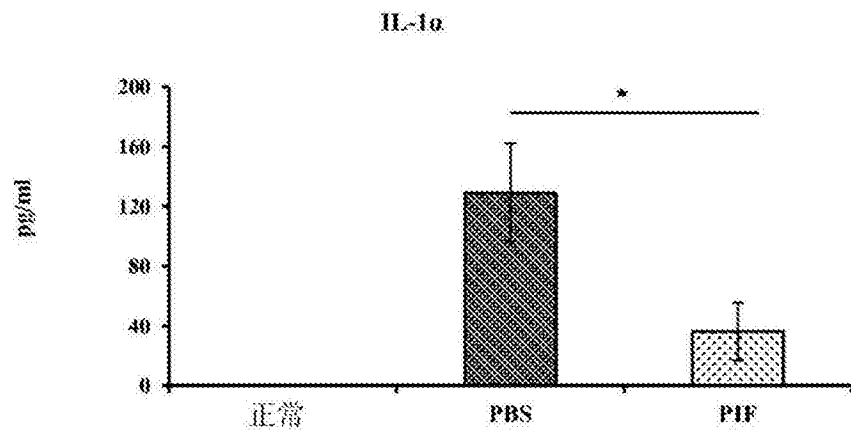
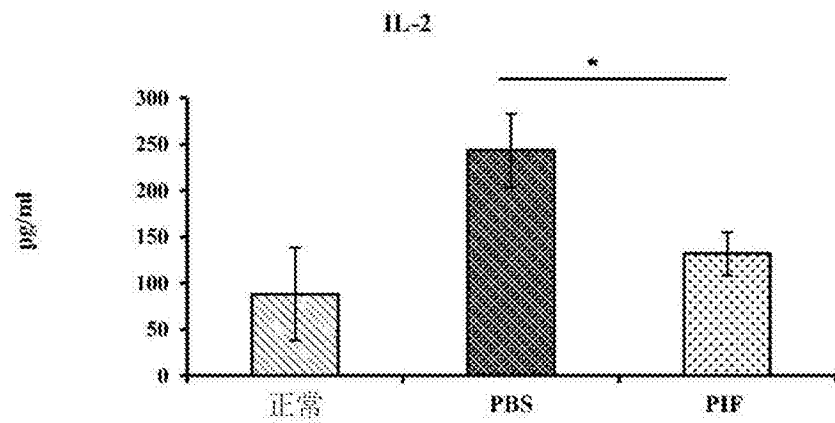


图4B

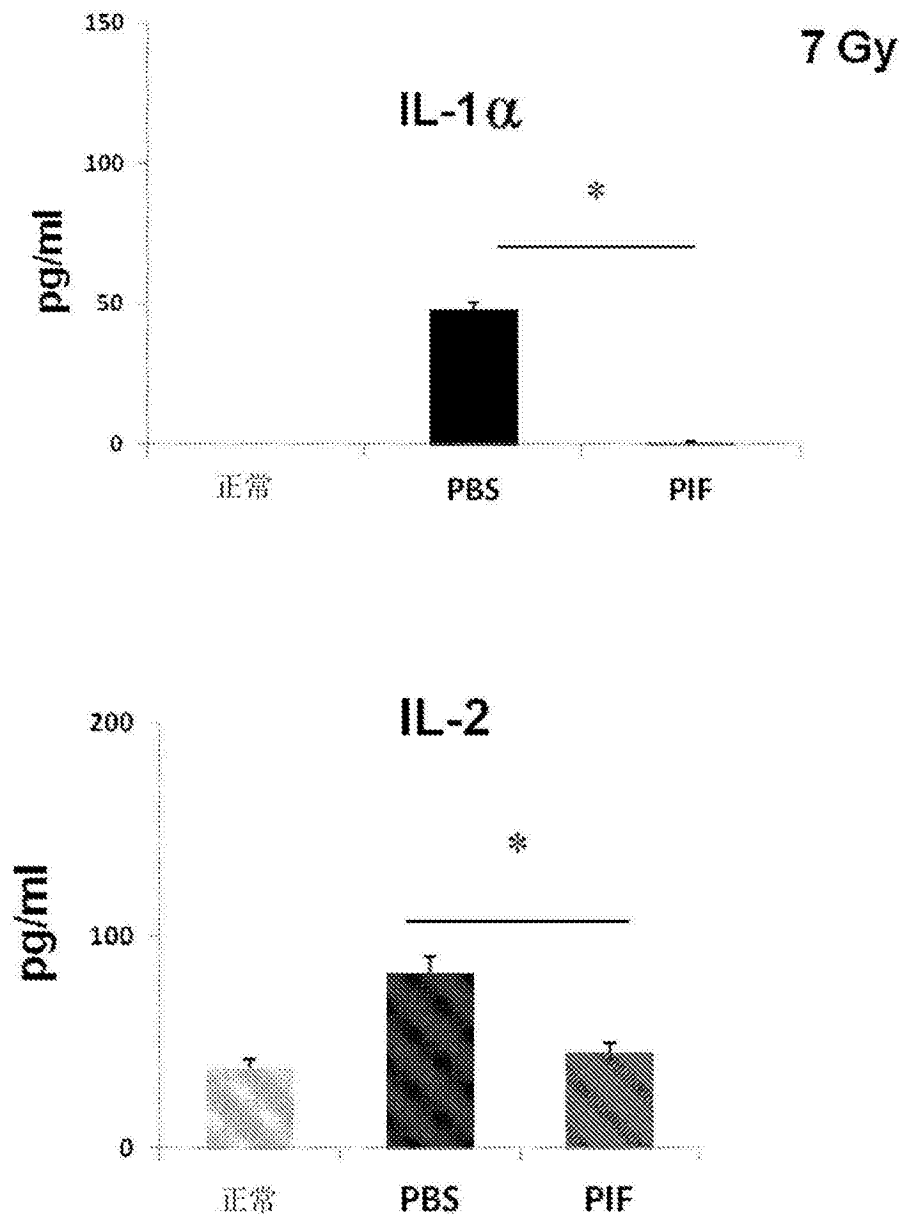


图4C

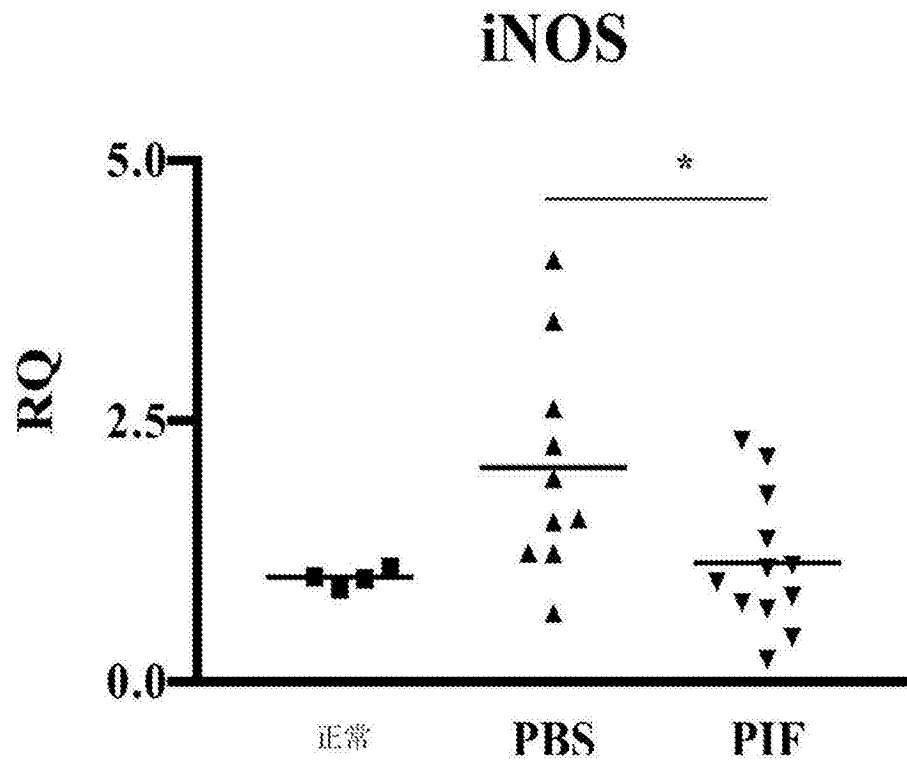


图4D

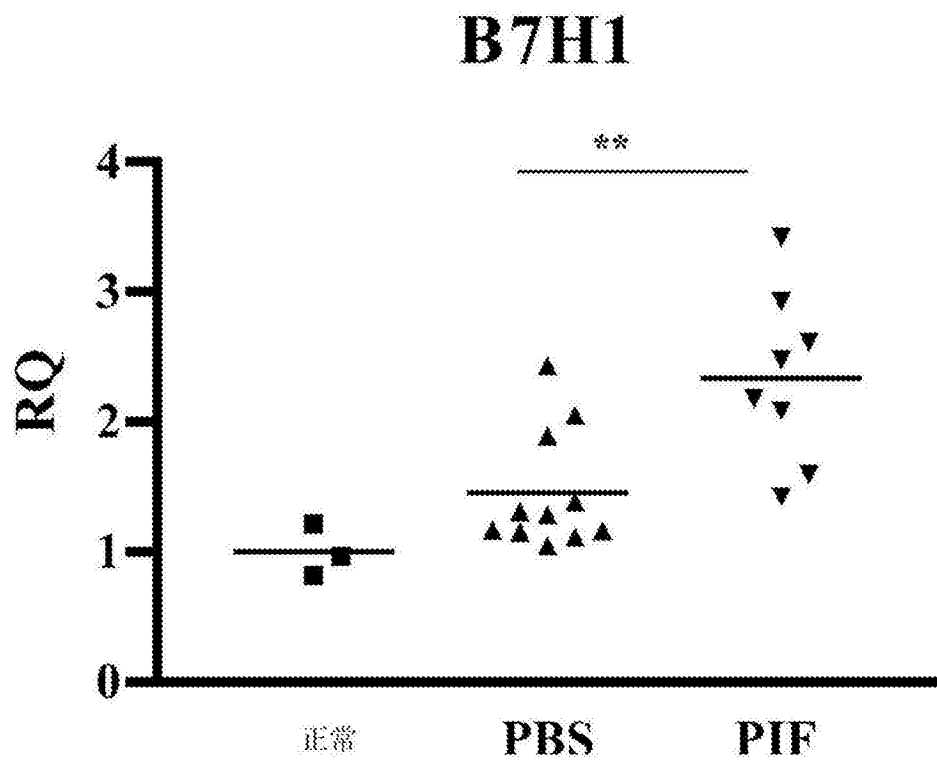


图4E

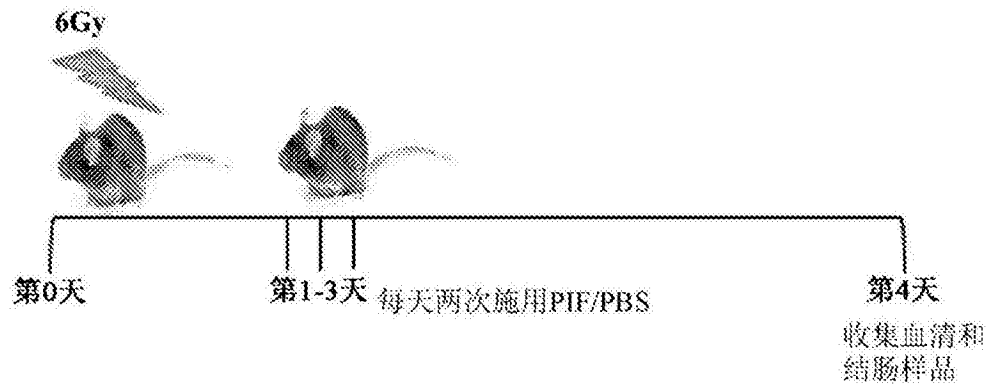


图5A

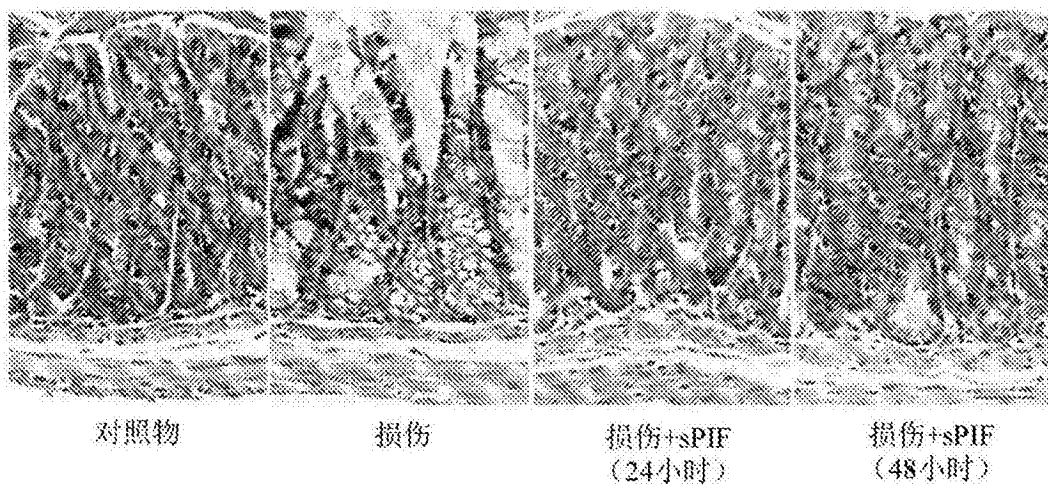


图5B

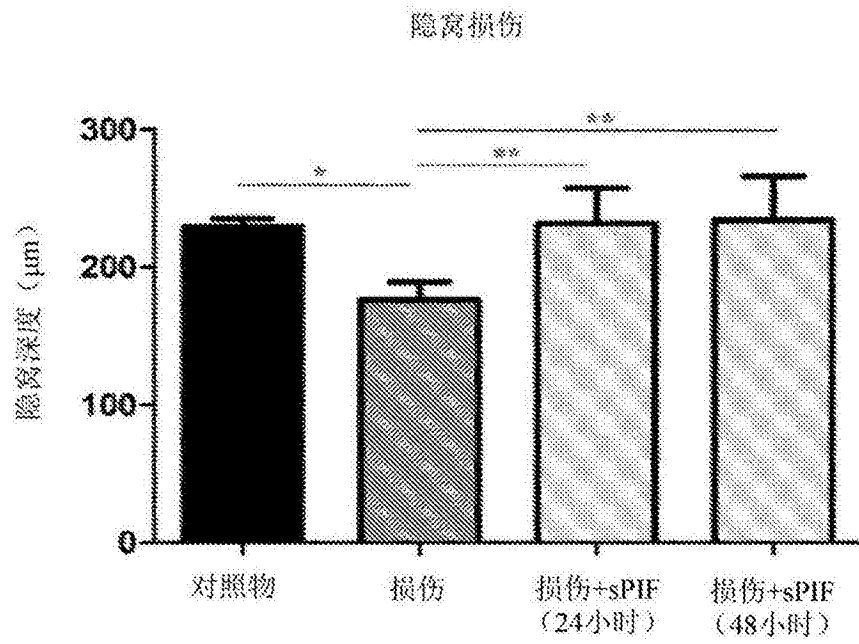


图5C

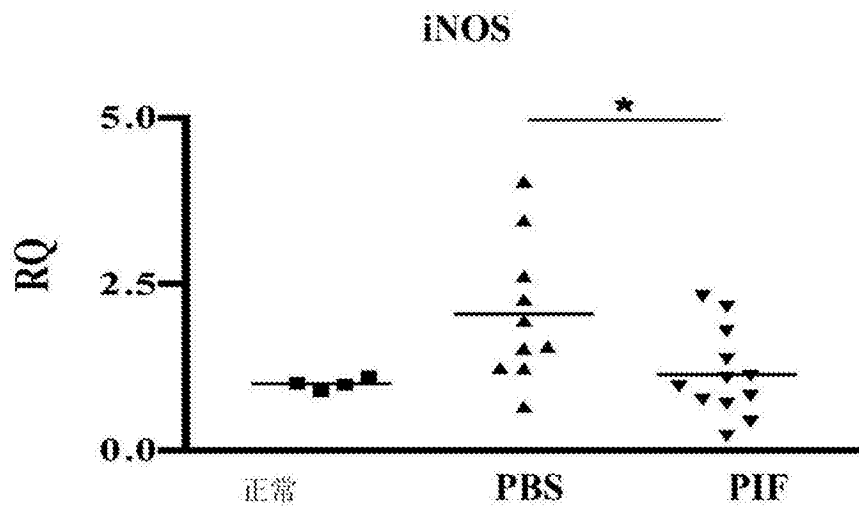


图5D

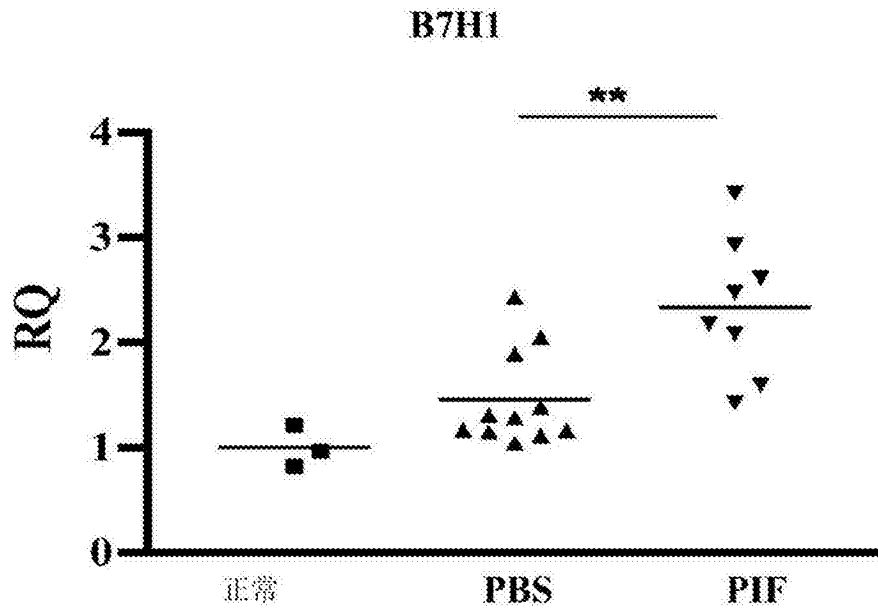


图5E

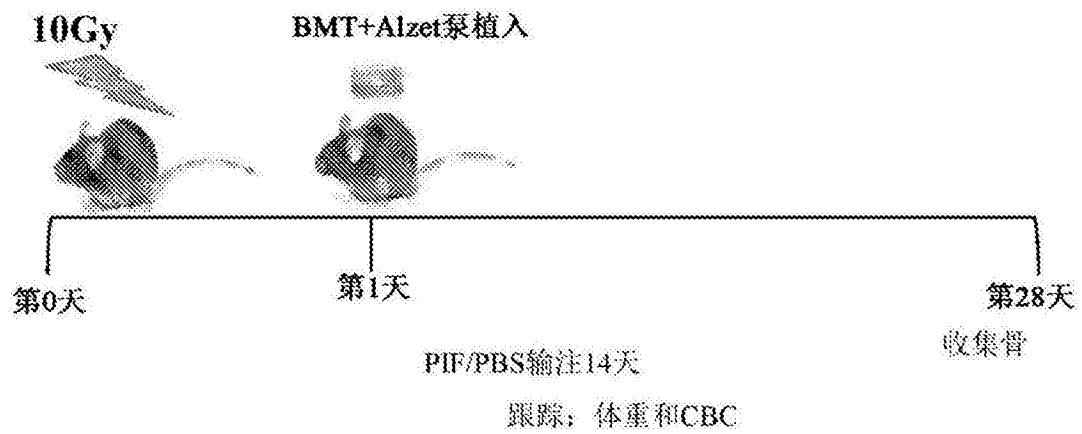


图6A

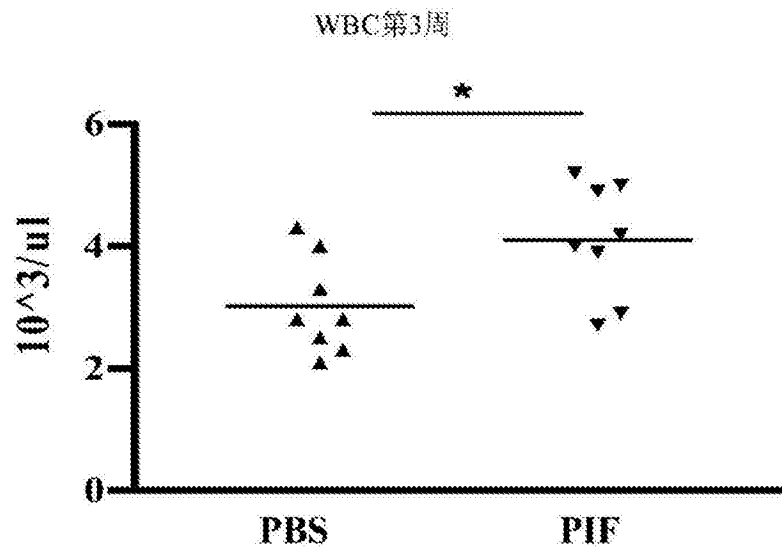


图6B

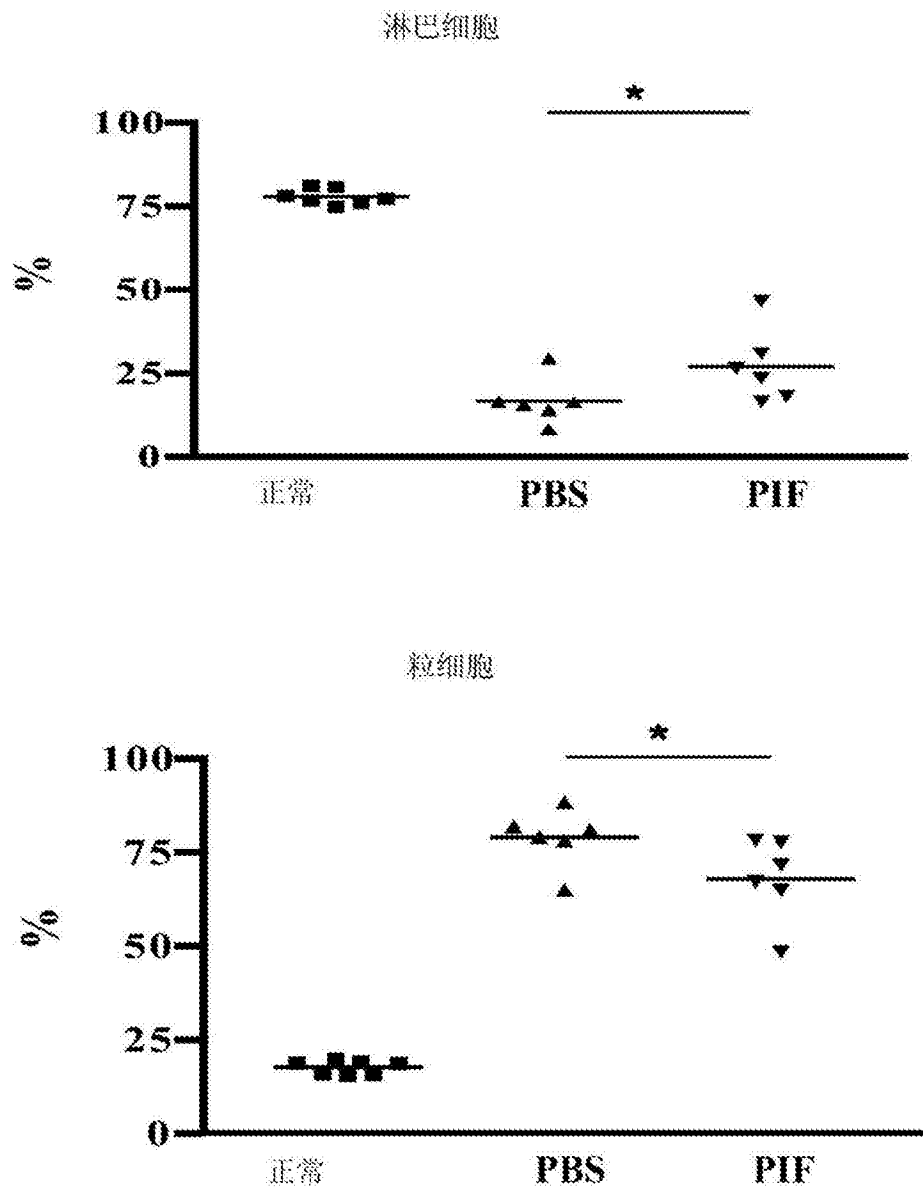


图6C

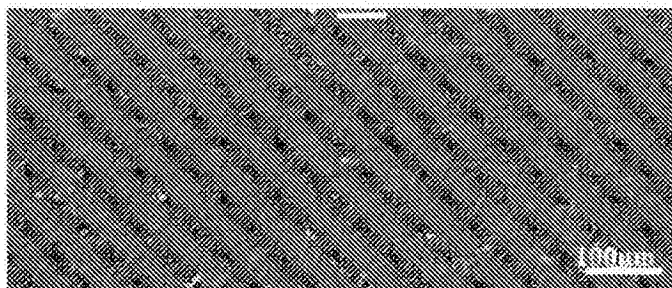
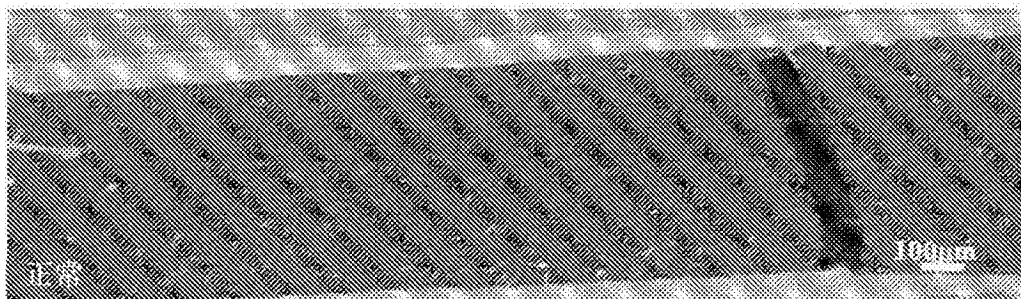


图6D

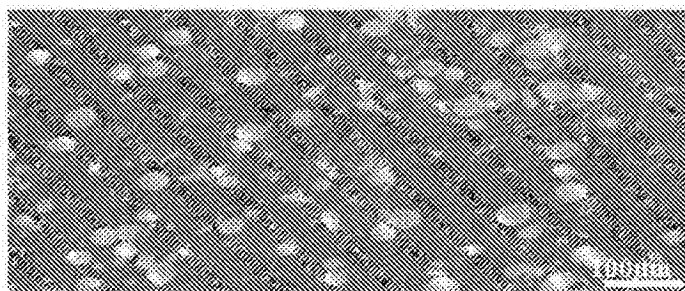
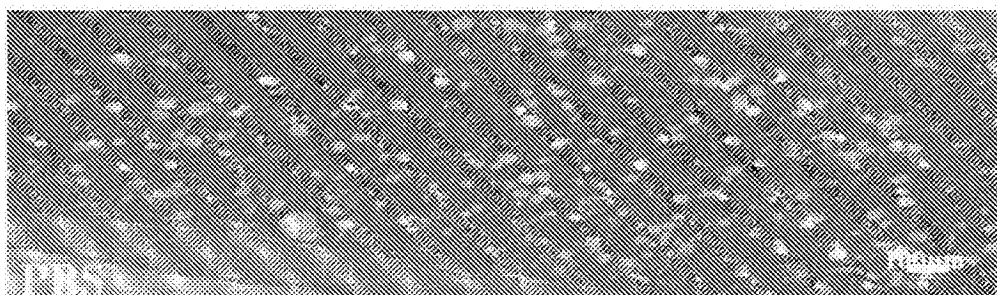


图6E

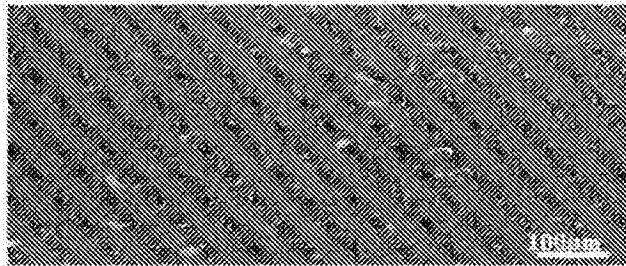
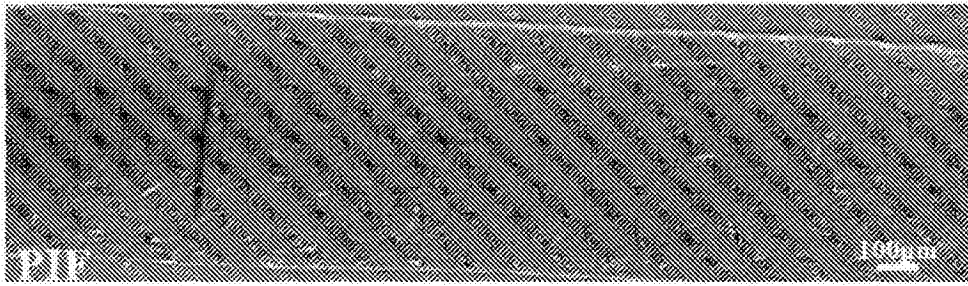


图6F

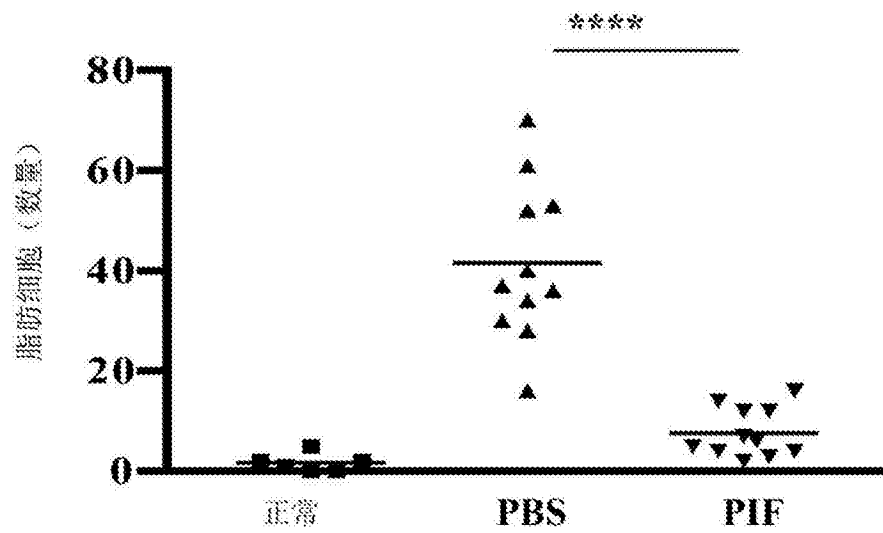


图6G

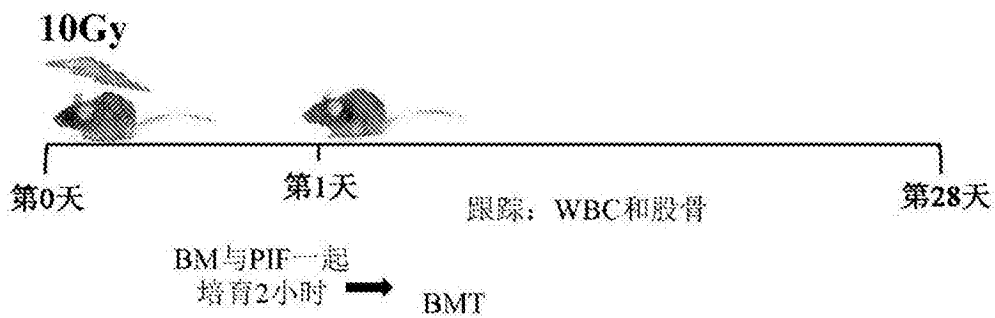


图7A

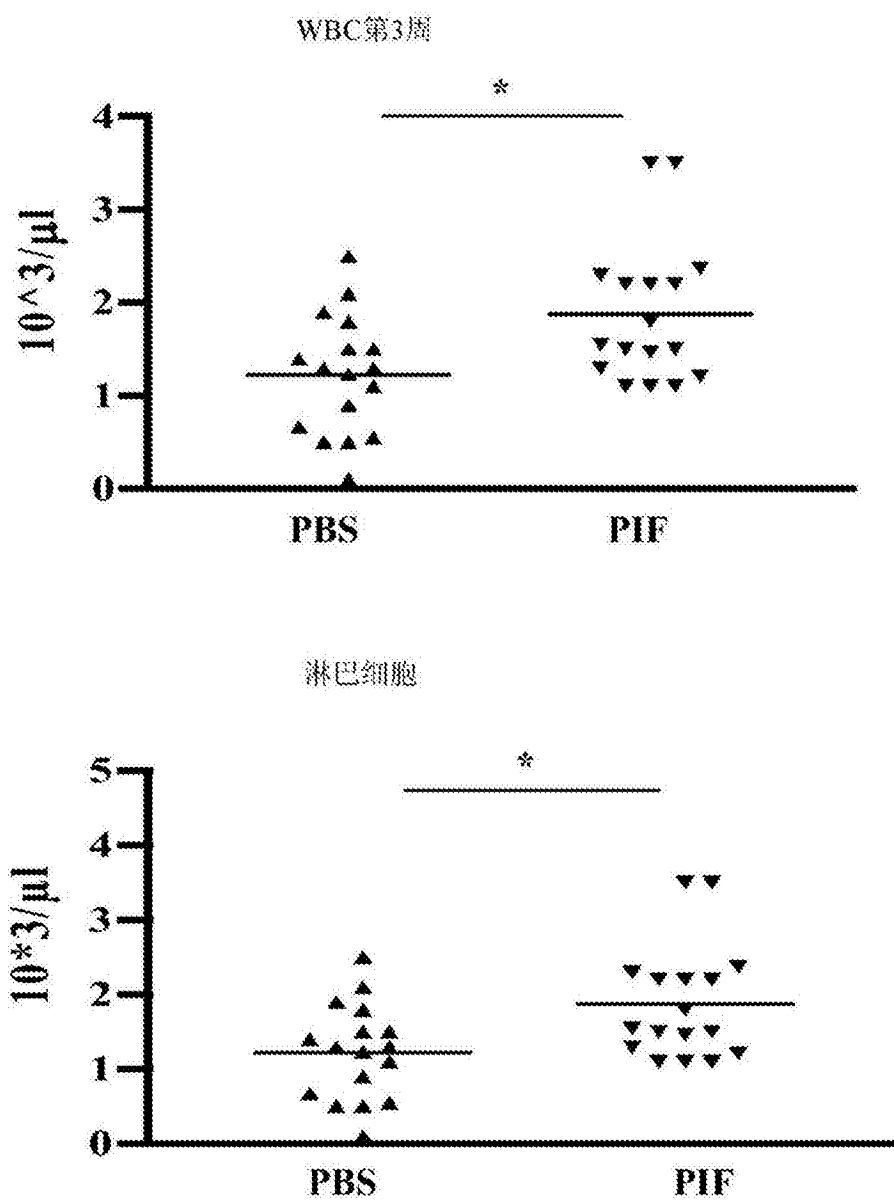


图7B

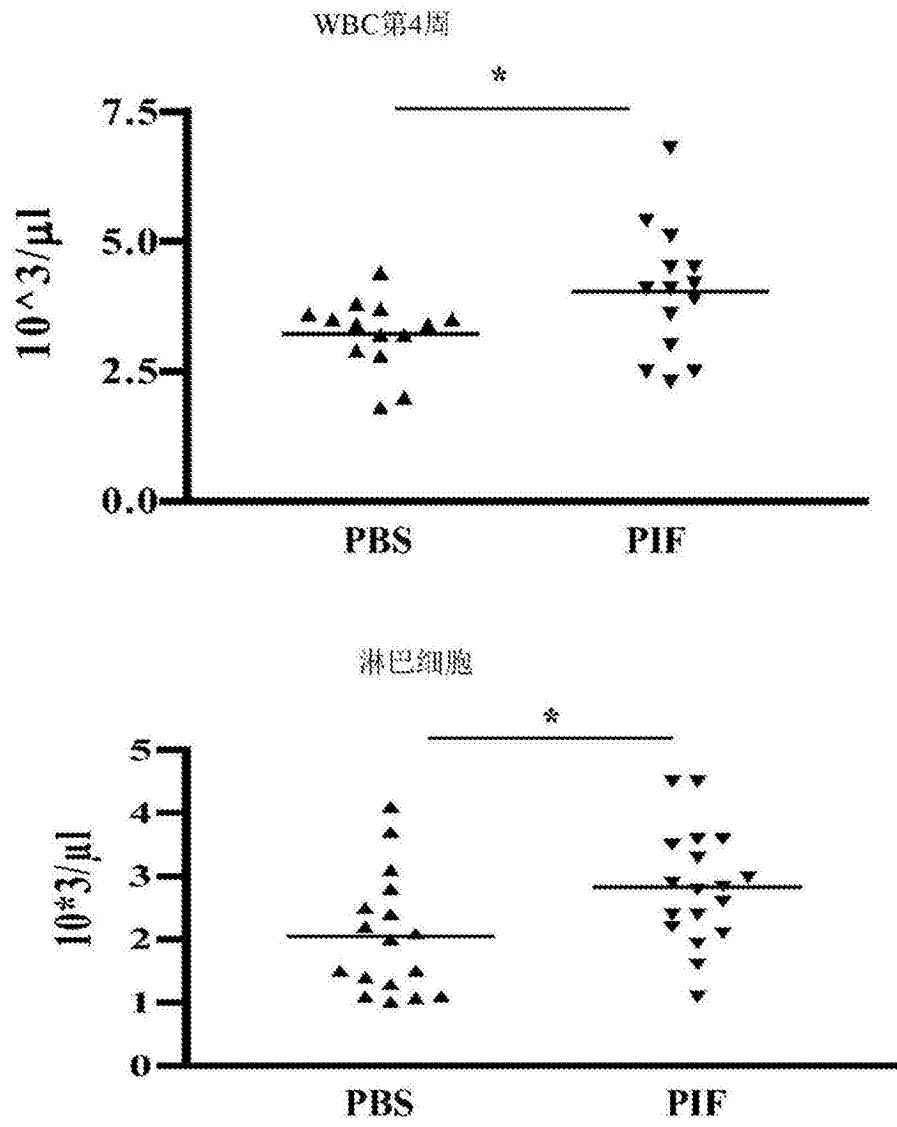


图7C

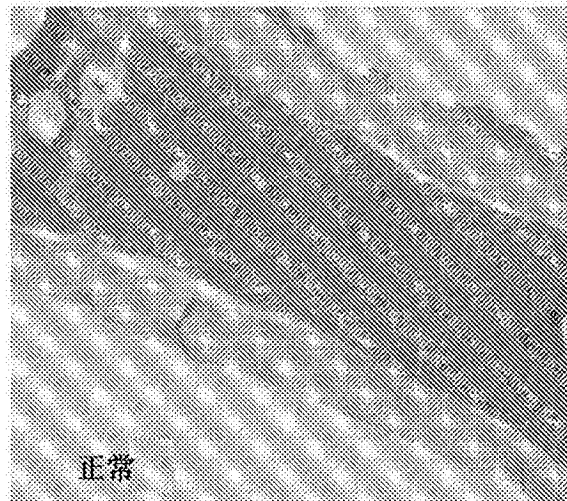


图7D

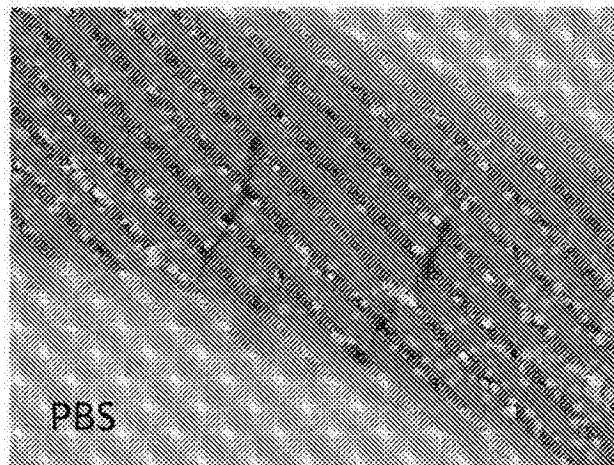


图7E

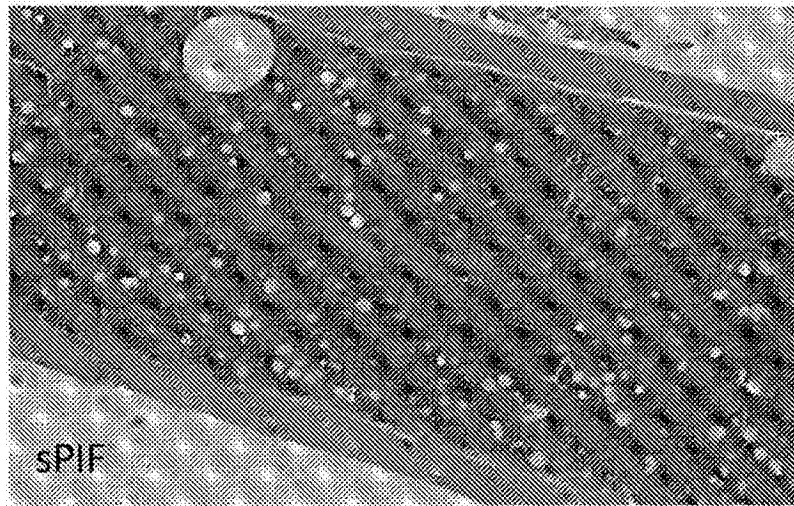


图7F

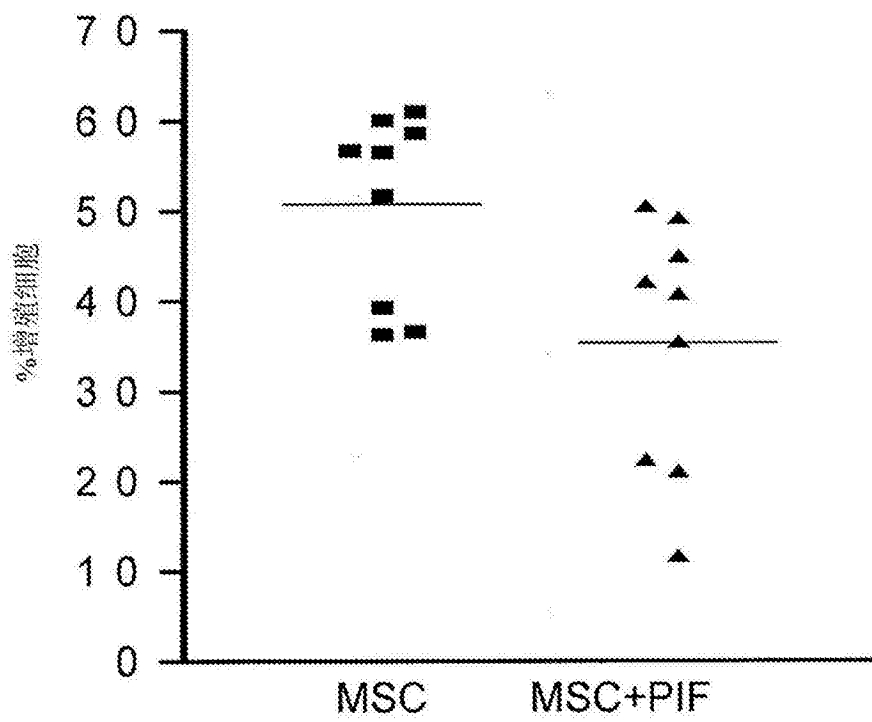


图7G

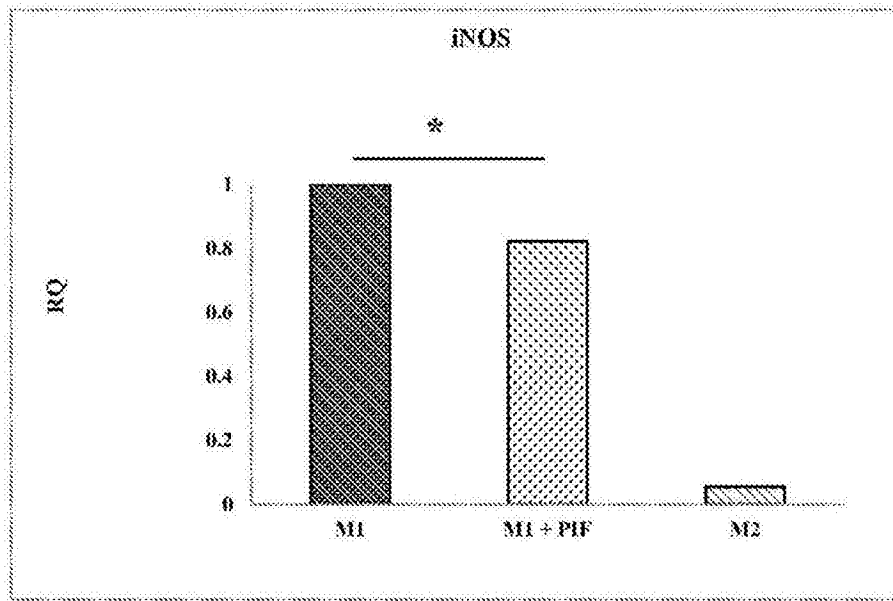


图8A

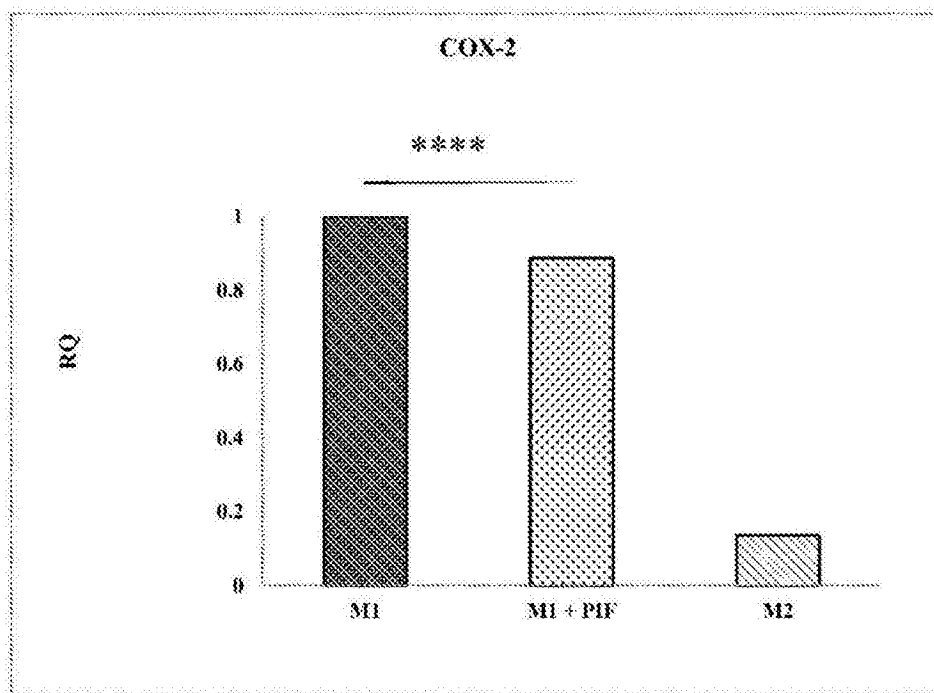


图8B

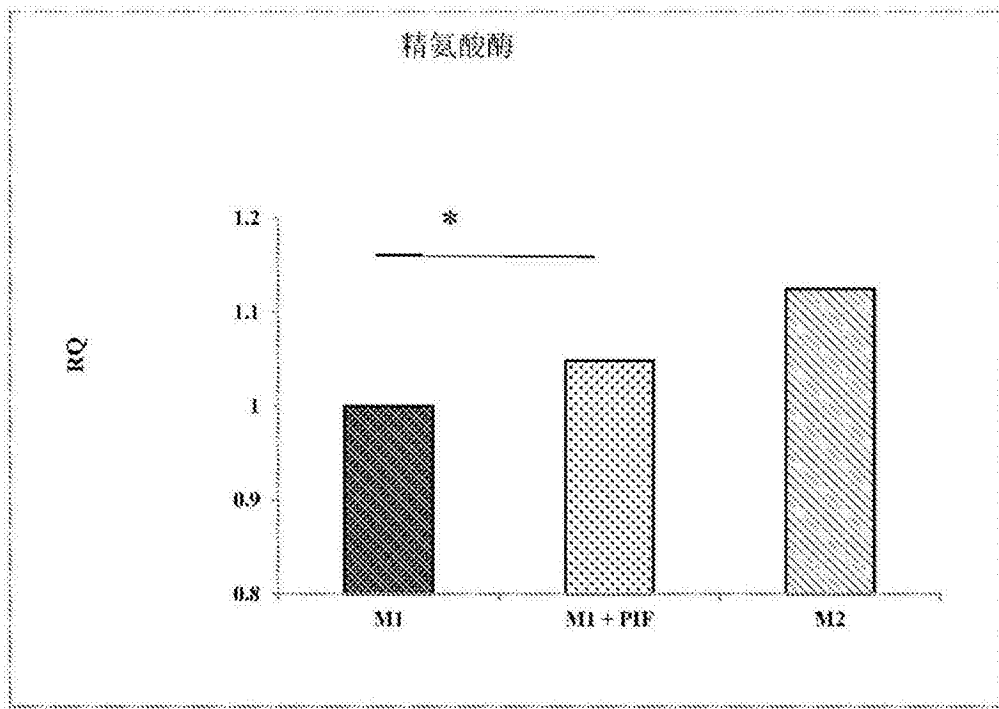


图8C

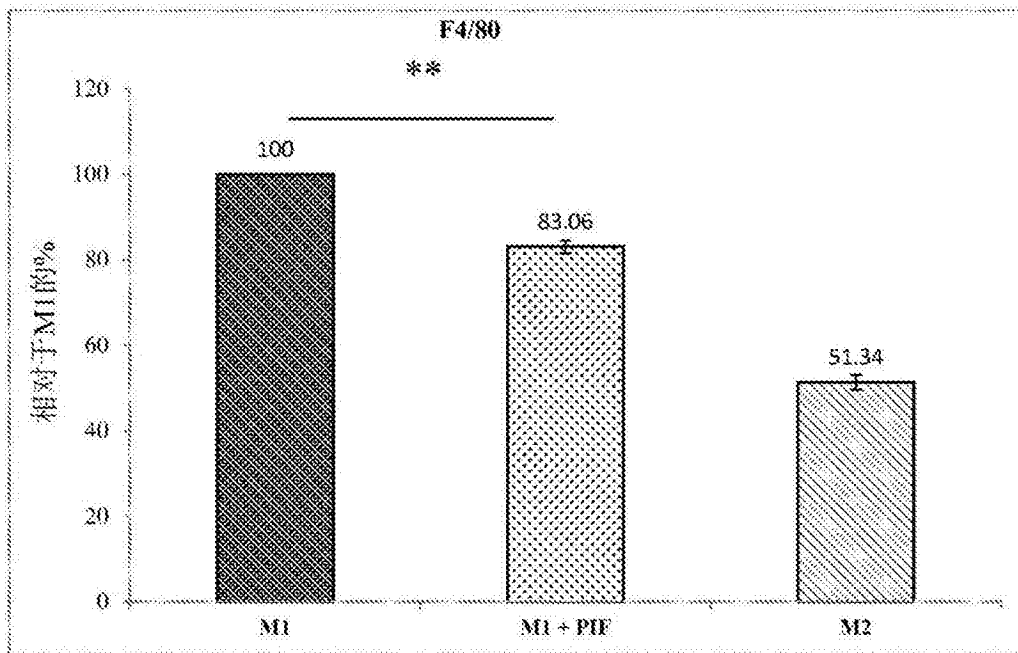


图8D

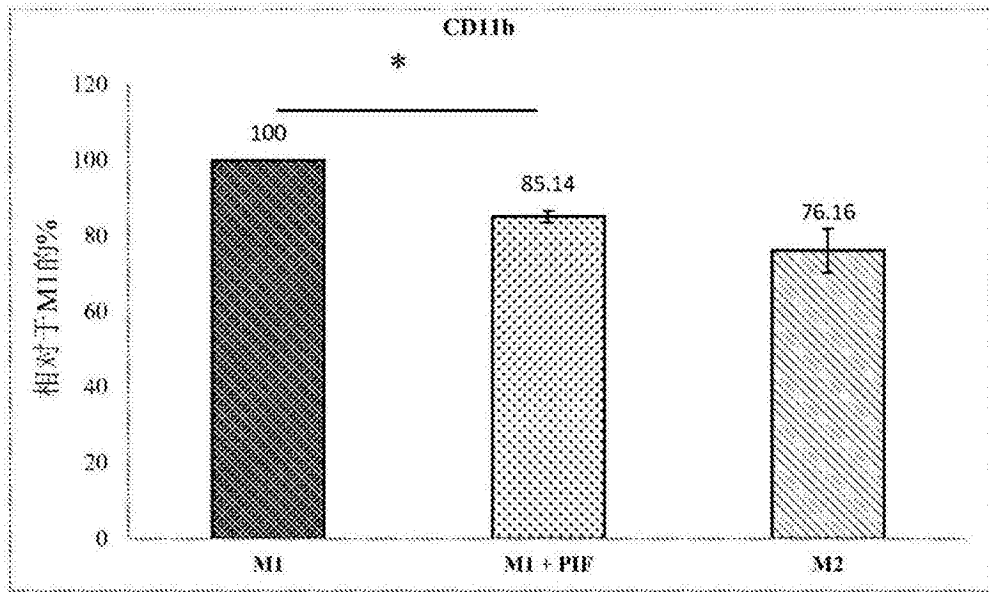


图8E

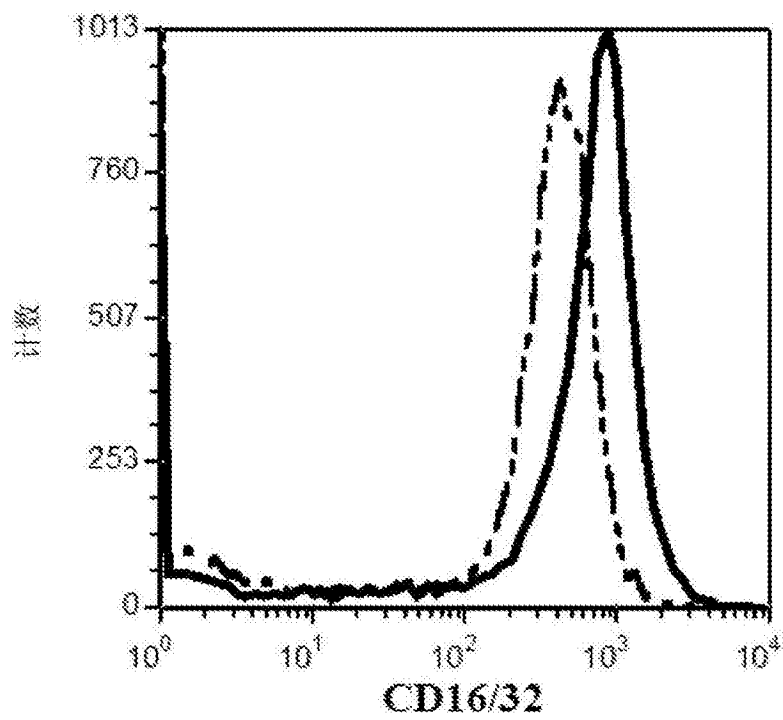


图9A

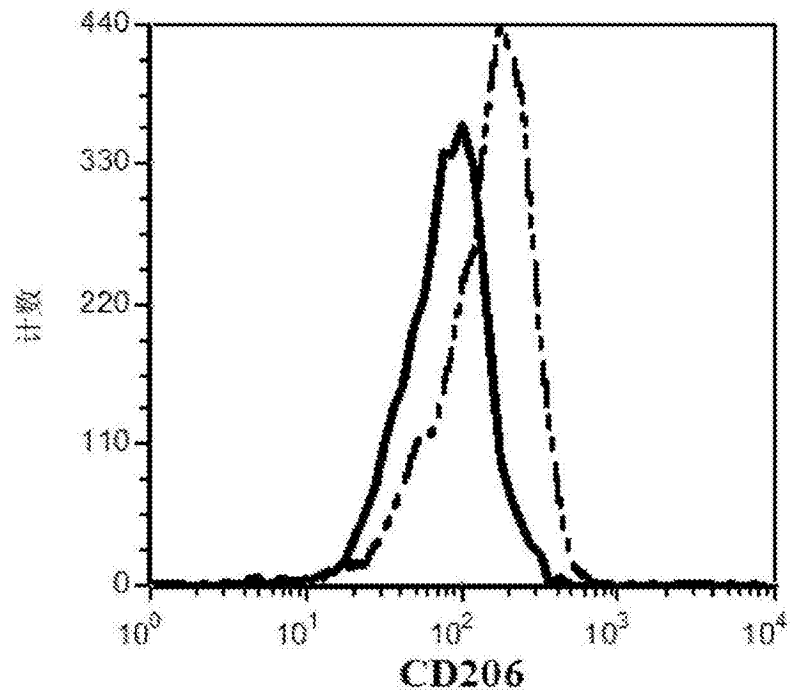


图9B

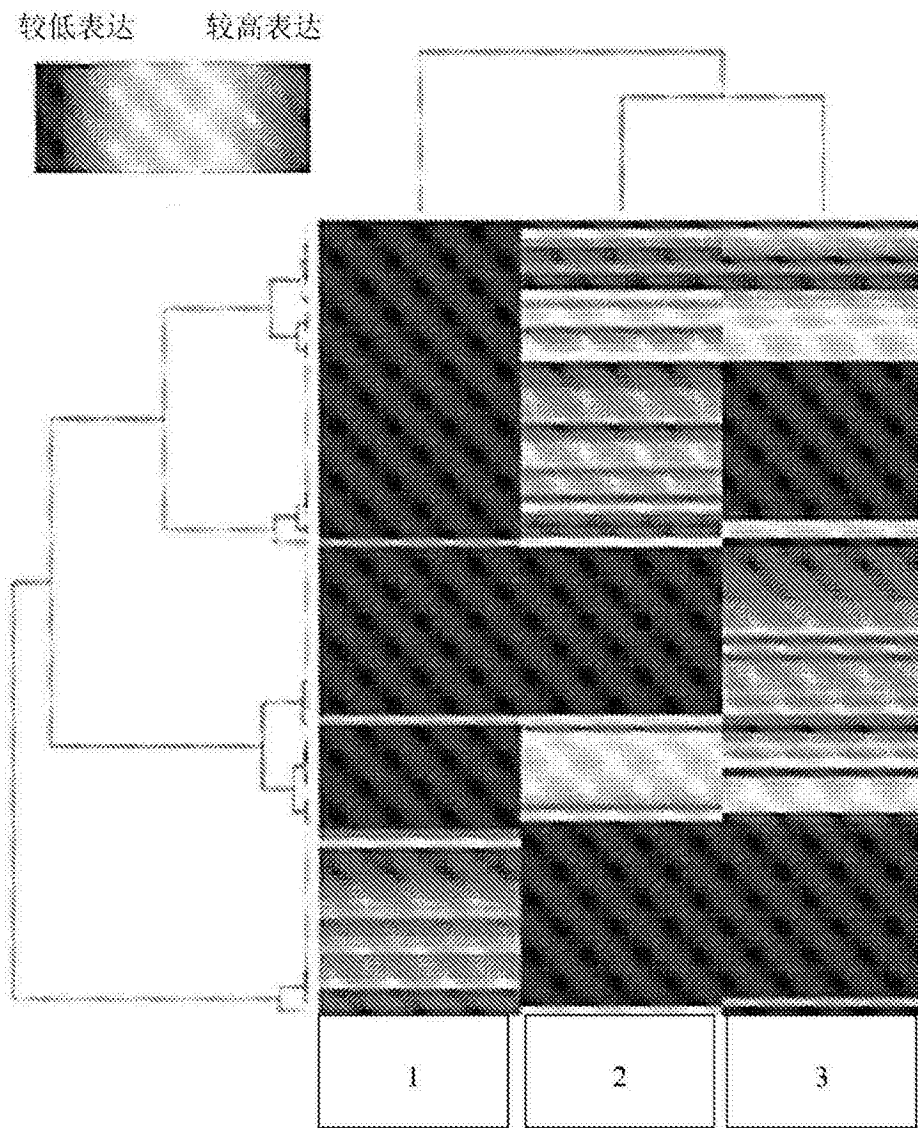


图10

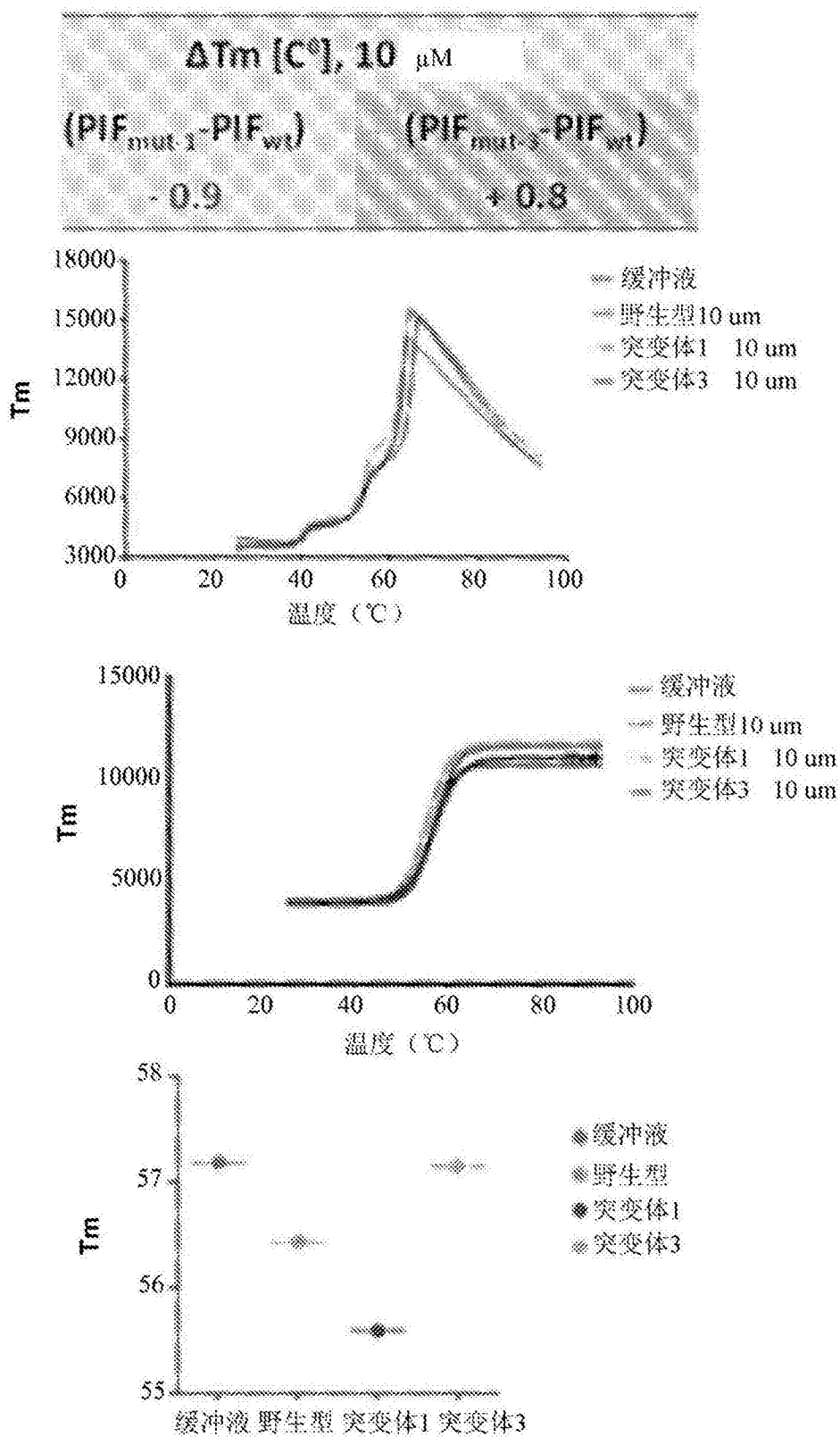


图11

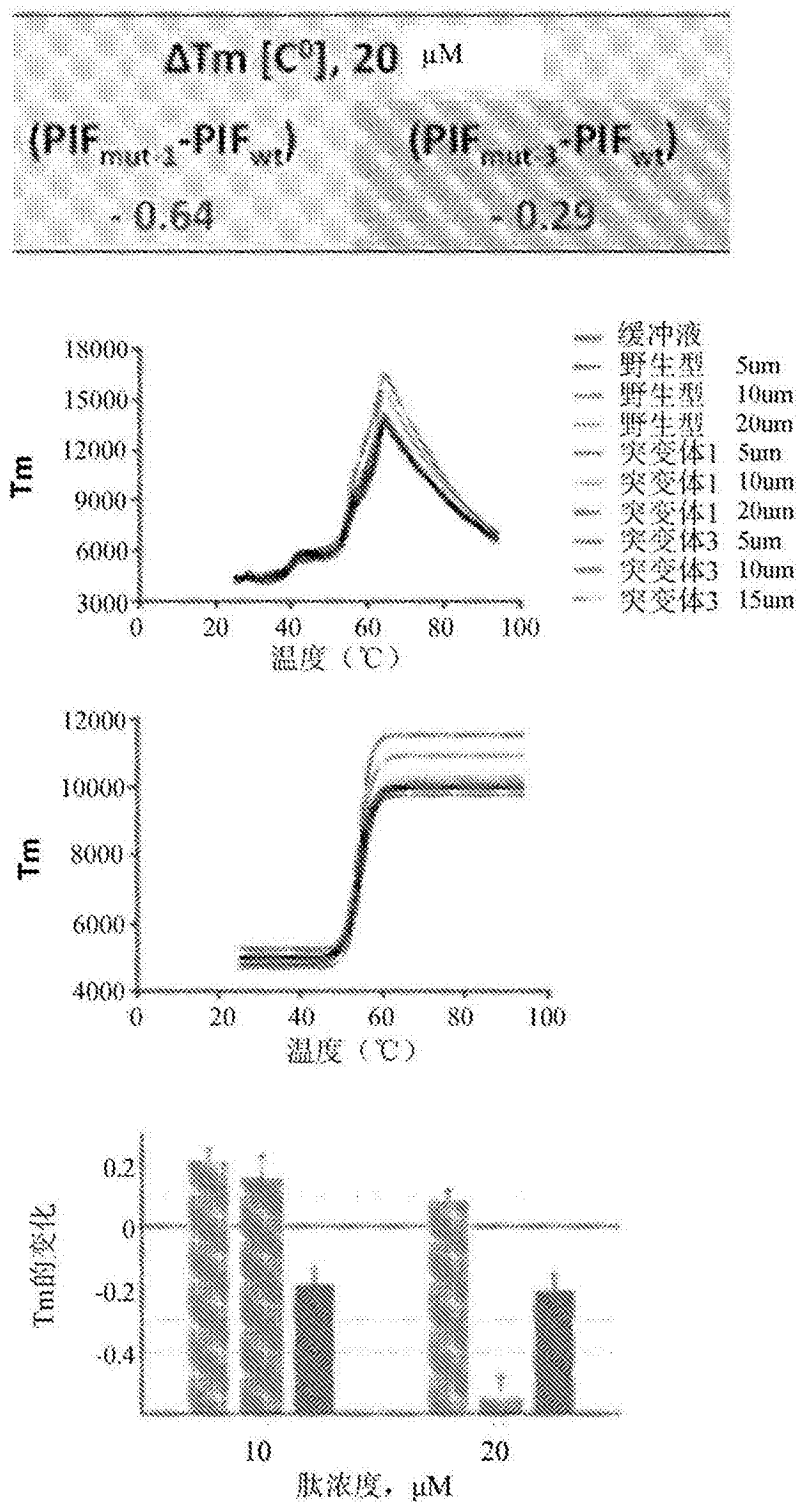


图12

实验方案

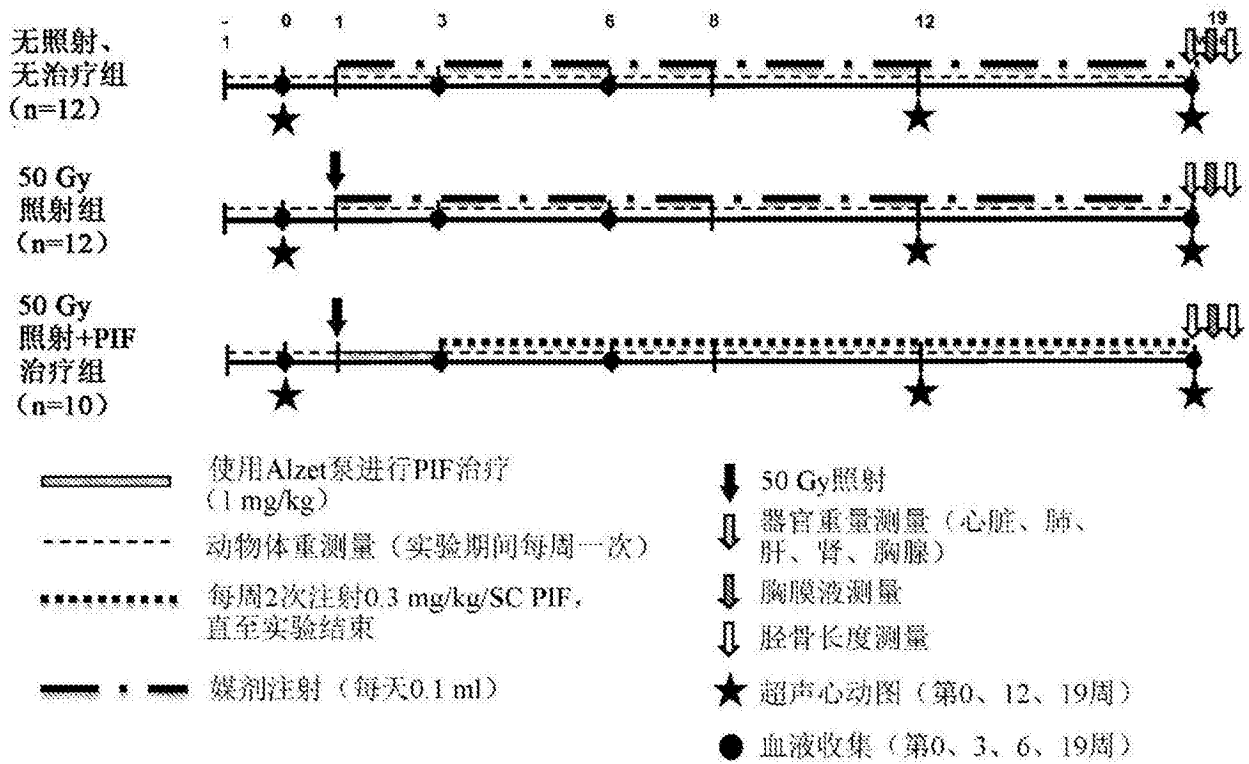


图13

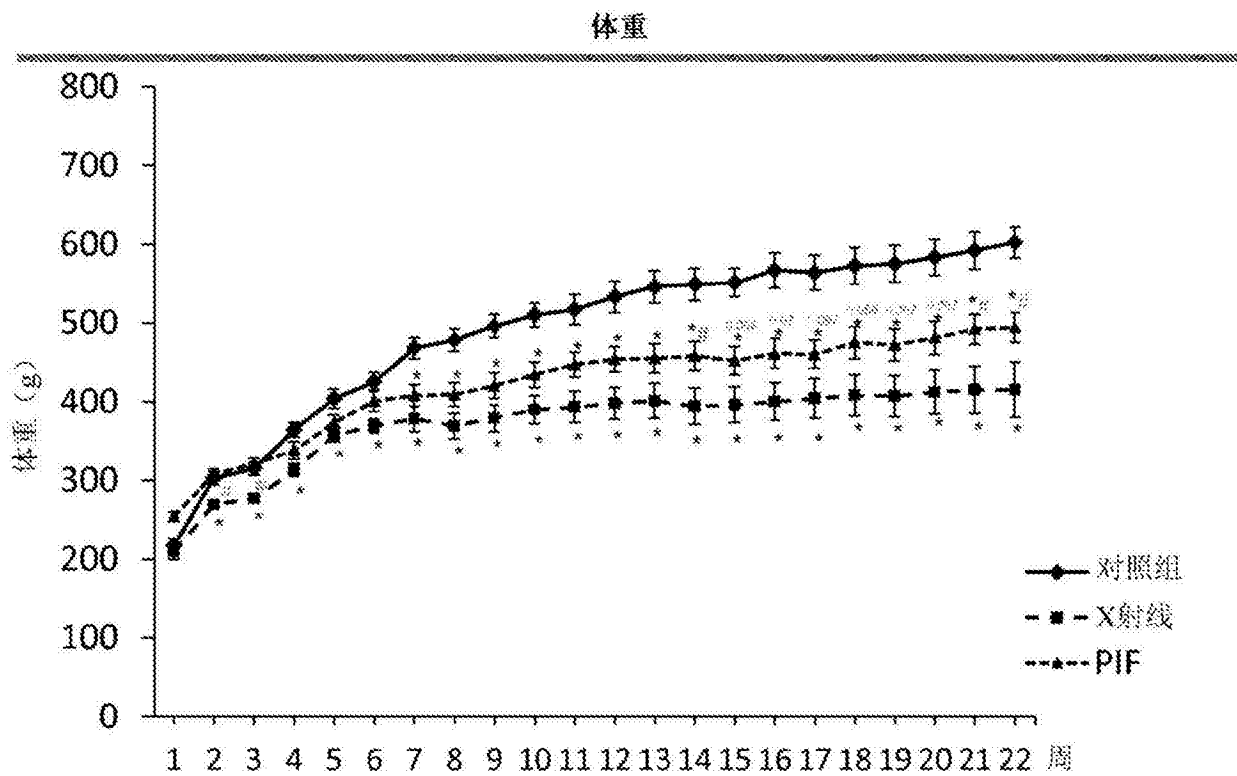


图14

存活率—Kaplan Meier曲线

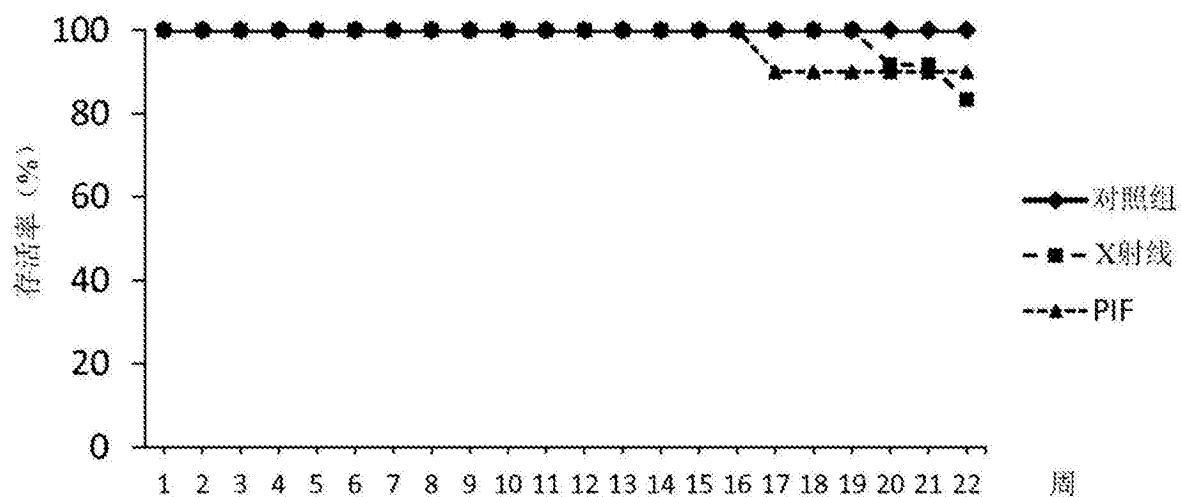
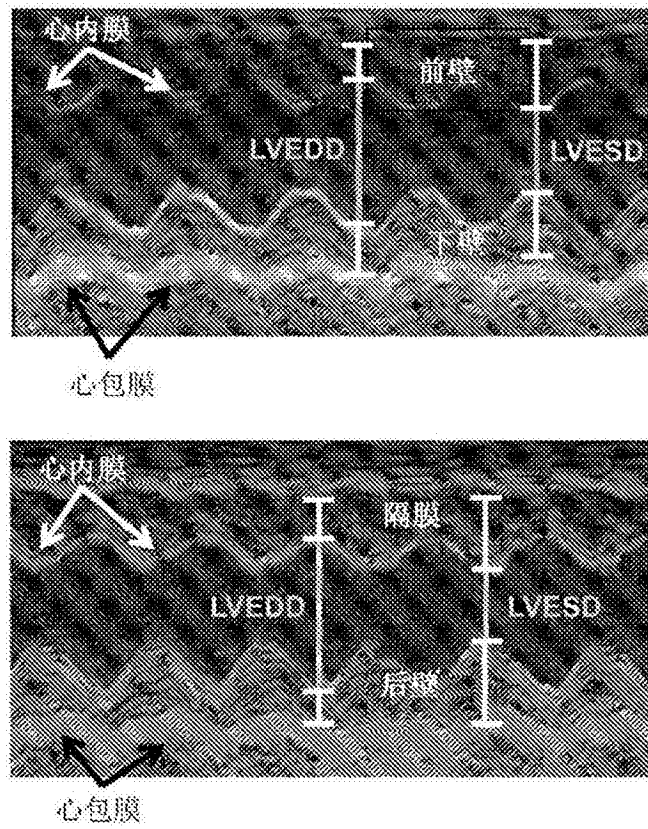


图15



LVEDD: 左心室舒张末期直径
LVESD: 左心室收缩末期直径

图16

超声心动图：针对体重正规化的左心室形态

PIF在第5个月时改善左心室肥大

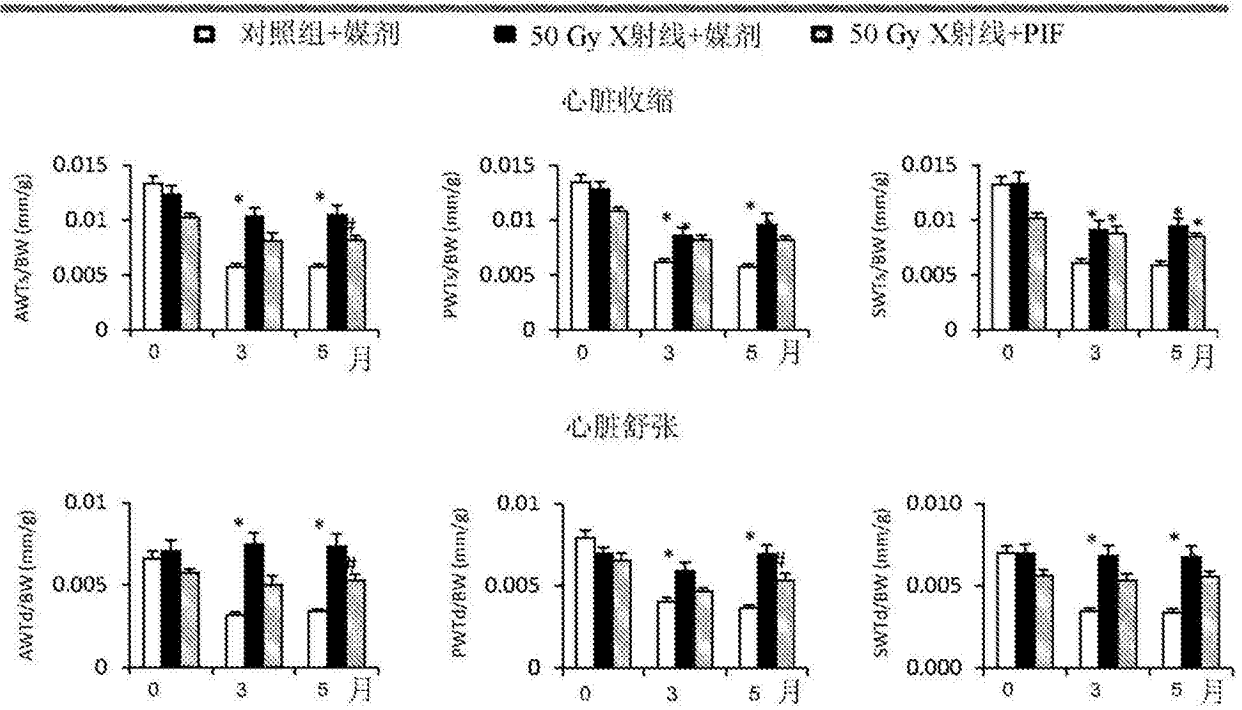


图17

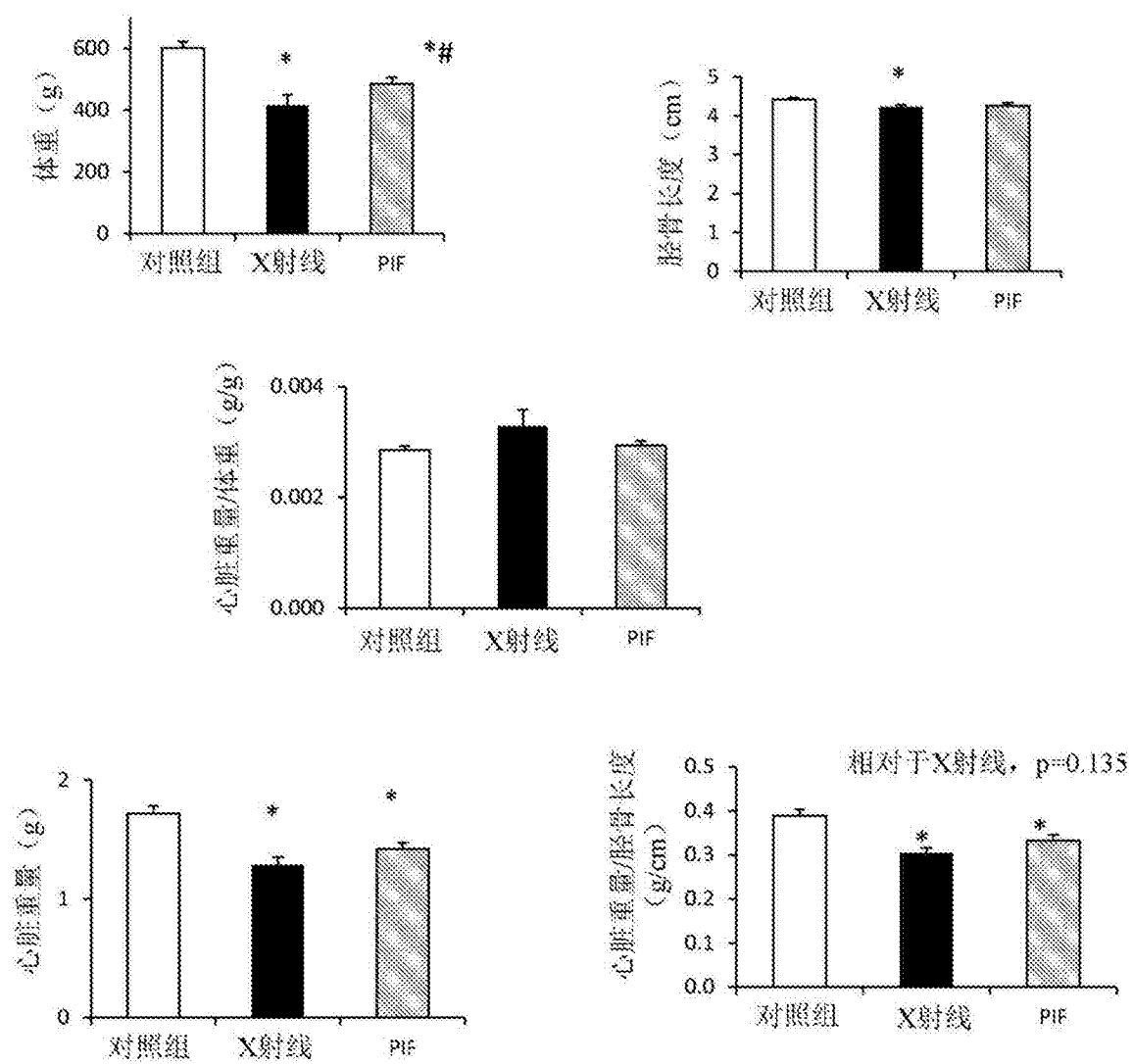


图18

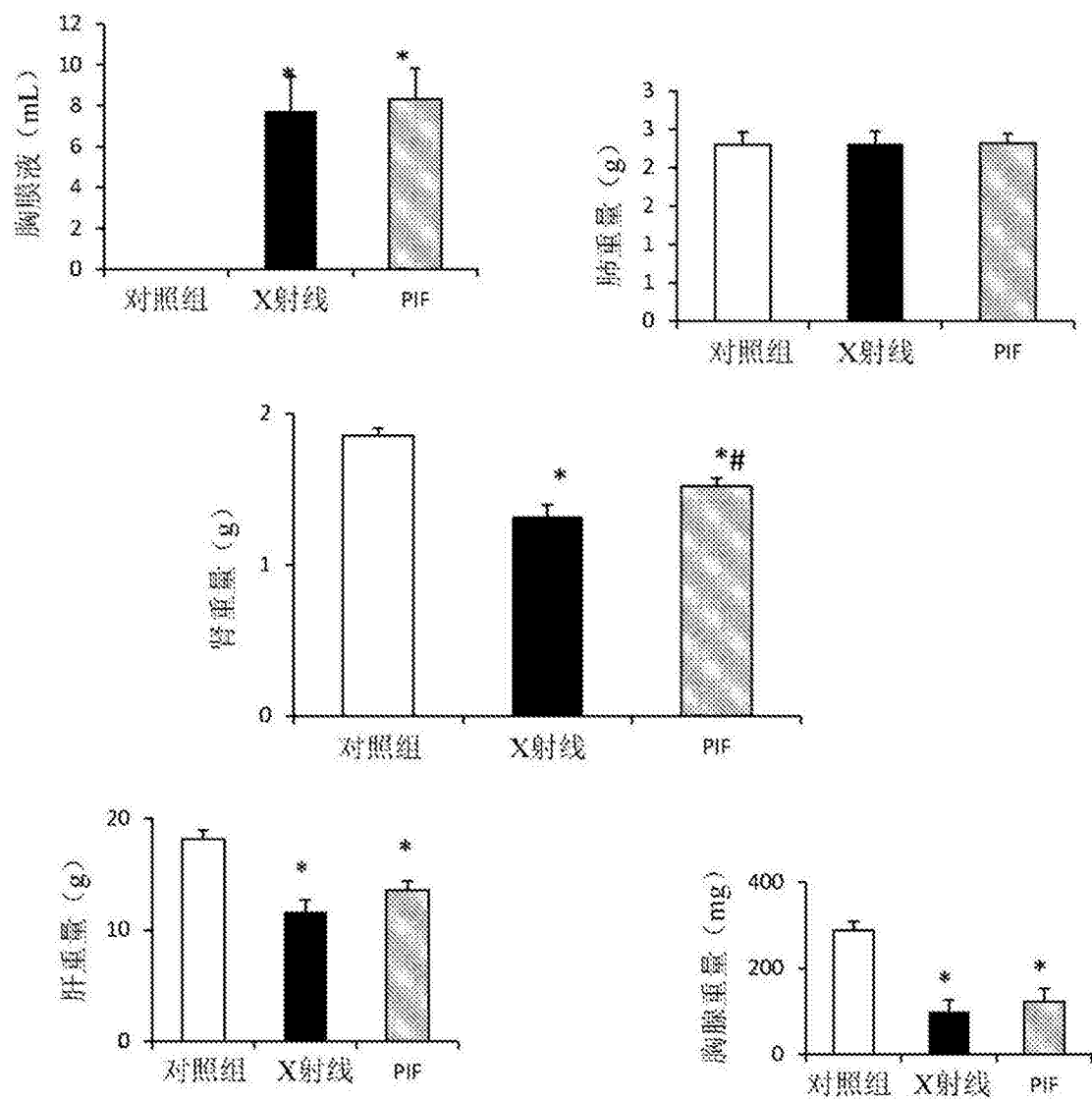
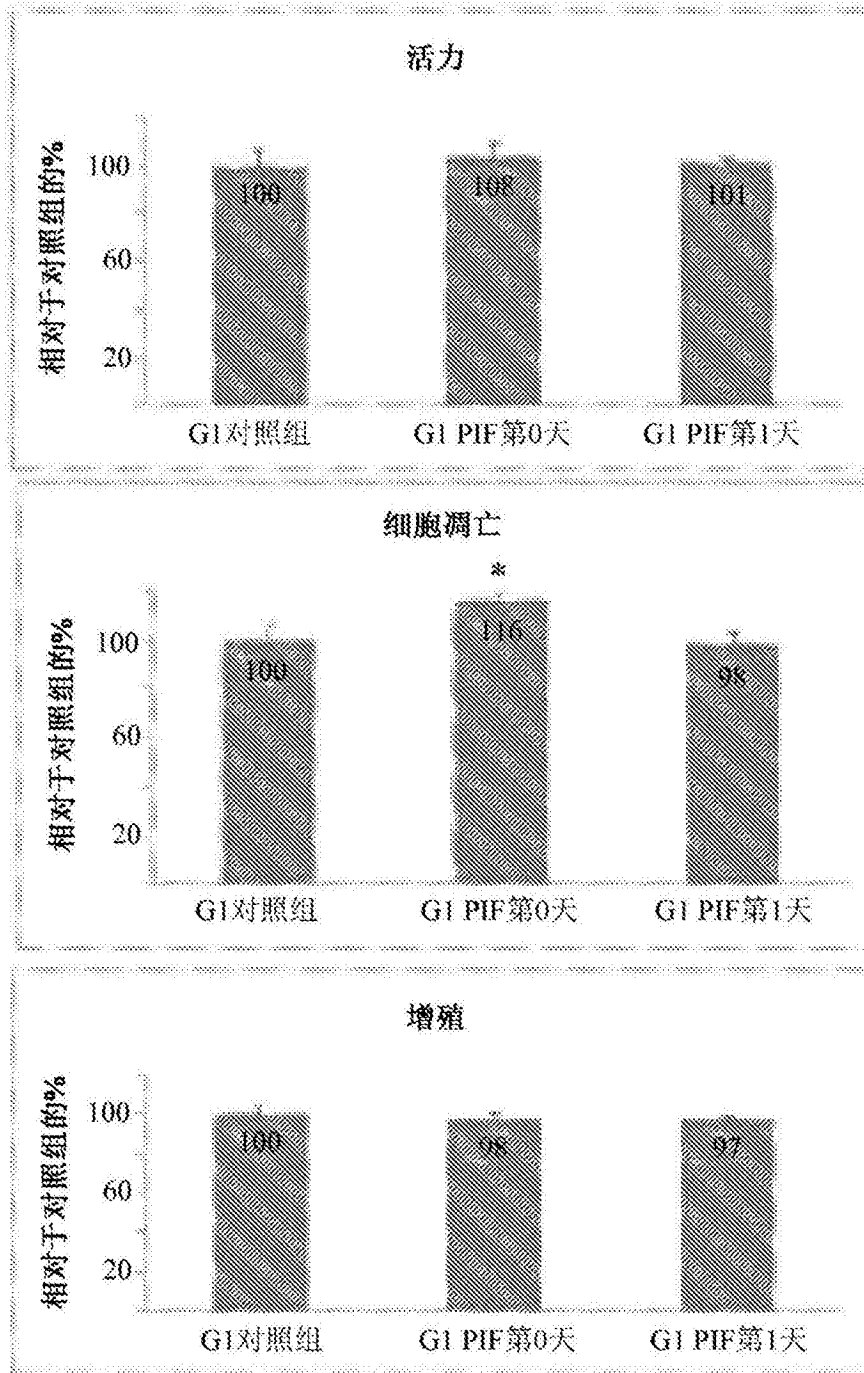


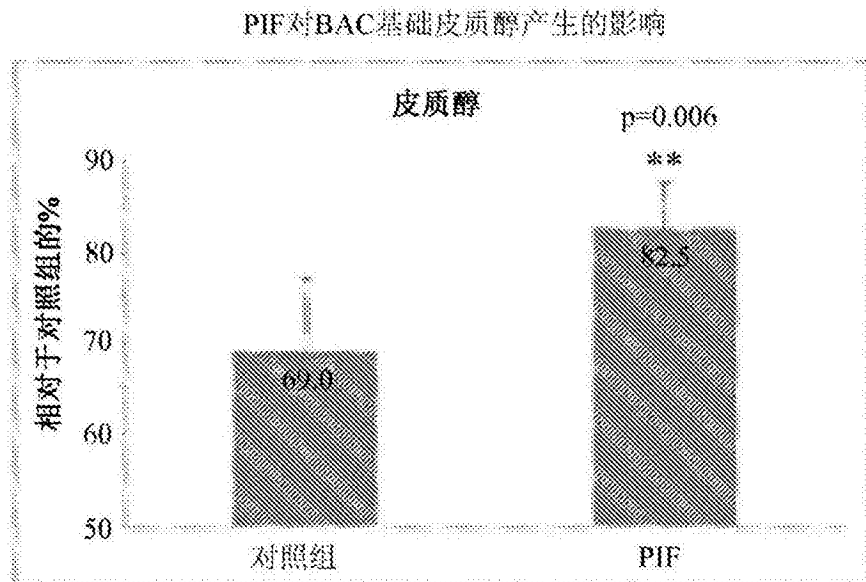
图19

在细胞分离后第0天和第1天PIF对BAC的影响（腺体1）



所有数据都表示为相对于对照组的百分比和6个孔的平均值±SD,
*实验组相对于对照组, $p \leq 0.5$

图20



开始治疗后24小时。BAC用PIF处理7天。每天收集上清液并测试皮质醇水平。在开始治疗后仅24小时就观察到PIF治疗组与对照组之间的显著差异。所有数据都表示为6个孔的平均值 $\pm$ SD，统计学：t检验。

图21

步骤II. PIF对INS-1细胞系的影响

#—发现PIF对活力和细胞凋亡的剂量依赖性作用

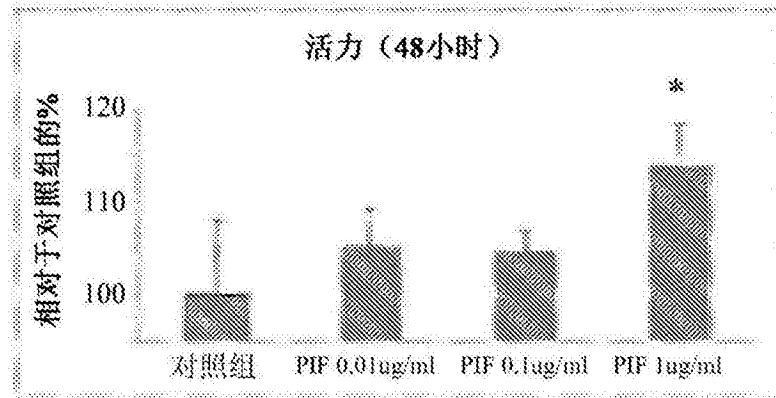
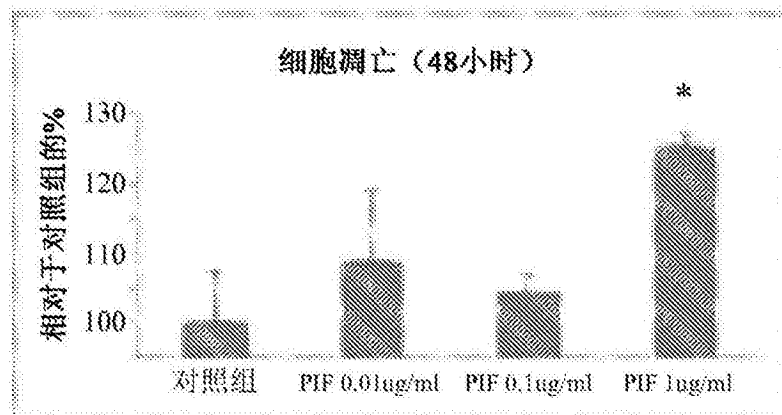
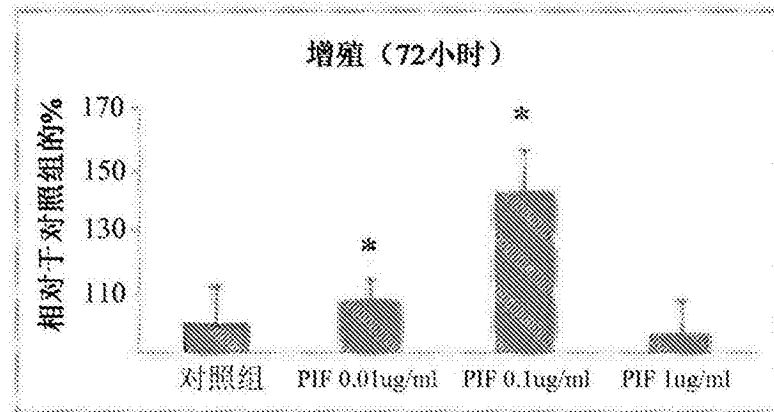
# PIF剂量0.01-1的Spearman秩相关性0.66, $p < 0.05$ # PIF剂量0.01-1的Spearman秩相关性0.59, $p < 0.05$ 

图22