

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2023年12月21日 (21.12.2023)



(10) 国际公布号
WO 2023/241716 A1

(51) 国际专利分类号:

A61K 31/435 (2006.01) *A61K 31/42* (2006.01)

A61K 31/675 (2006.01) *A61P 17/02* (2006.01)

A61K 31/203 (2006.01) *A61P 11/00* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2023/100867

(22) 国际申请日: 2023年6月16日 (16.06.2023)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
202210680454.2 2022年6月16日 (16.06.2022) CN

(71) 申请人: 中国科学院动物研究所 (INSTITUTE OF ZOOLOGY, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES) [CN/CN]; 中国北京市朝阳区北辰西路1号院5号, Beijing 100101 (CN)。北京干细胞与再生医学研究院 (BEIJING INSTITUTE FOR STEM CELL AND REGENERATIVE MEDICINE) [CN/CN]; 中国北京市朝阳区大屯路甲3号, Beijing 100101 (CN)。

(72) 发明人: 李伟 (LI, Wei); 中国北京市朝阳区大屯路甲3号, Beijing 100101 (CN)。周琪 (ZHOU, Qi); 中国北京市朝阳区大屯路甲3号, Beijing 100101 (CN)。何正泉 (HE, Zheng-Quan); 中国北京市朝阳区大屯路甲3号, Beijing 100101 (CN)。袁雪薇 (YUAN, Xuewei); 中国北京市朝阳区大屯路甲3号, Beijing 100101 (CN)。卢宗宝 (LU, Zongbao); 中国北京市朝阳区大屯路甲3号, Beijing 100101 (CN)。王馨 (WANG, Xin); 中国北京市朝阳区大屯路甲3号, Beijing 100101 (CN)。王帅 (WANG, Shuai); 中国北京市朝阳区大屯路甲3号, Beijing 100101 (CN)。李宇飞 (LI, Yufei); 中国北京市朝阳区大屯路甲3号, Beijing 100101 (CN)。王柳 (WANG, Liu); 中国北京市朝阳区大屯路甲3号, Beijing 100101 (CN)。

(74) 代理人: 北京彩和律师事务所 (BEIJING CAI HE LAW FIRM); 中国北京市海淀区大柳树路17号富海国际港1602室, Beijing 100081 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:
— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

(54) Title: METHOD FOR INDUCING IN-SITU REGENERATION OF MAMMAL AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 一种诱导哺乳动物原位再生的方法及其应用

(57) Abstract: Provided is use of a protein synthesis inhibitor in promoting regeneration and repair capacity of mammal tissues or complex structures or organs. The protein synthesis inhibitor is a small molecule compound, from any of cycloheximide or an Amaryllidaceae extract, capable of promoting regeneration of mammal tissues and organs.

(57) 摘要: 蛋白质合成抑制剂在促进哺乳动物组织或复杂结构或器官再生修复能力中的应用, 蛋白质合成抑制剂为环己酰亚胺或石蒜科提取物中任一种可促进哺乳动物组织器官再生的小分子化合物。



WO 2023/241716 A1

说明书

一种诱导哺乳动物原位再生的方法及其应用

技术领域

本发明涉及生物技术领域，具体涉及一种小分子化合物诱导哺乳动物原位再生的方法及其相关应用。

背景技术

再生是指生物体的整体或器官发生创伤而部分丢失,在剩余部分的基础上又生长出与丢失部分在形态与功能上相同的结构的修复过程。再生失败会导致组织或器官功能性丧失，最终导致各类疾病甚至死亡。自然界不同物种拥有不同的再生能力，再生能力可以分为：一、个体水平再生，如低等植物能从单个细胞再生出一个植株，一些高等植物可利用根、茎、叶等组织再生出新的植株，低等生物如涡虫等可以利用身体任何部分再生出完整个体；二、割除再生，有尾两栖类如蝾螈、壁虎及某些鱼类等可以进行断尾再生、肢体再生及鱼鳍再生；三、组织水平再生，如肝切除后可以通过肝细胞增殖再生、皮肤组织的再生；四、细胞水平再生，如神经元轴突断裂重新生长等。然而，相比于植物和低等动物，哺乳动物包括人在内，极大地丧失了再生能力，几乎没有割除再生能力，再生仅局限发生于胎儿时期以及肝脏、皮肤等特定时期、特定组织或器官。总体趋势为：随着进化等级越高，再生能力越弱，甚至丧失。

包括人在内的哺乳动物面临各种损伤的时候，会发生疤痕形成的修复方式，这种方式会直接引起组织器官丧能，如截肢运动丧失等；或纤维化相关疾病，如心血管疾病、退行性神经系统疾病、肺部疾病、肝部疾病、糖尿病、皮肤病等。在全世界范围内，组织、器官的损伤导致的疤痕形成是许多疾病致残、致死的主要原因。因此提高哺乳动物原位再生修复能力是理解生命本质及治疗一系列相关疾病的重要手段。

对哺乳动物而言，重度和慢性损伤通常通过形成疤痕而不是组织再生来修复，其特点是用大量结缔组织增生和细胞外基质沉积的纤维化组织取代功

能性组织。研究表明，纤维化是许多慢性疾病致残、致死的主要原因。许多 COVID-19 患者在出院后都有炎症后肺纤维化，这极大地影响病人的预后生活质量。目前在临床上，尽管少数药物或细胞治疗手段可以用来缓解特定器官、特定类型的纤维化进程，但无法恢复损伤的组织，并且极度缺乏广泛而有效的抗纤维化手段，因此亟待开发广谱的抗纤维化并促进再生的候选靶点及药物。纤维化是损伤的一种非再生的修复方式，促进损伤组织的再生（再生疗法）不仅可以控制纤维化，还能恢复组织的原有的功能，因此再生疗法是预防和治疗纤维化相关疾病最理想的手段。

肺纤维化是由成纤维细胞增殖及大量细胞外基质堆积并伴炎症损伤、组织结构破坏为特征病理性改变，即是正常的肺泡组织被损坏后经过异常修复导致结构异常（疤痕形成）。肺纤维化会严重影响人体呼吸功能，表现为各种呼吸困难并随着病情、肺部损伤的加重及患者呼吸功能不断恶化。据报道特发性肺纤维化在世界范围内的发病率和死亡率逐年增加，诊断后的平均生存期不到 3 年，高于大多数肿瘤，因此又被称为一种“类肿瘤疾病”。因此促进损伤组织的再生是治疗和预防肺纤维化相关疾病最根本的手段，具有重要的应用价值。

发明内容

为了实现哺乳动物组织、器官的再生修复，为与之相关疾病的预防和诊疗开发更多技术途径，本申请提供了一种具有促进再生修复能力的小分子化合物，取得了开创性的、预料不到的技术效果。本申请的技术方案如下：

本申请提供了一种可以促进哺乳动物组织或复杂结构或器官再生修复能力的化合物，具体的，该化合物为蛋白质合成抑制剂。

本申请提供了所述蛋白质合成抑制剂或包含所述蛋白质合成抑制剂的组合物在促进哺乳动物组织或复杂结构或器官再生修复能力中的应用。

本申请提供了所述蛋白质合成抑制剂或包含所述蛋白质合成抑制剂的组合物在制备用于促进哺乳动物组织或复杂结构或器官再生修复能力的药物或试剂中的应用。

本申请提供了所述蛋白质合成抑制剂或包含所述蛋白质合成抑制剂的组合物在制备用于治疗与哺乳动物组织或复杂结构或器官的再生修复相关的疾病的药物或试剂中的应用。

进一步的，本申请所述再生修复为促进组织或器官切除或损伤后的组织或复杂结构或器官的再生。

优选地，本申请所述组织为皮肤、脂肪、肌肉、骨骼、毛囊、血管或神经。

优选地，本申请所述复杂结构为至少包括皮肤、毛囊、腺体、软骨、肌肉、脂肪、血管、神经或与肢体中的两种以上的机体结构。

优选地，本申请所述复杂结构为耳朵、肢体、手指、眼或鼻。

优选地，本申请所述器官为肺、肝、心、胰岛或肾。

优选地，本申请所述再生修复为促进皮肤损伤后的再生修复，脱发后的毛发再生，软骨肌肉损伤再生修复，肺、肝、皮肤、心、肾、肌肉等组织器官纤维化的再生以及血管、神经与肢体损伤后的再生。

优选地，本申请所述再生修复为促进烫伤皮肤的再生修复。

优选地，本申请所述与组织器官的再生修复相关的疾病为皮肤烫伤、皮肤创伤、皮肤烧伤、衰老或不明原因脱发、软骨肌肉损伤、肝纤维化或肺纤维化。

本申请所提供的所述蛋白质合成抑制剂，在促进组织器官再生修复能力的应用中，是通过诱导生命静息实现的。

本申请所提供的所述蛋白质合成抑制剂，在促进哺乳动物组织及复杂结构及器官再生修复能力的应用中，是通过激活 STING-TBK1-IRF3 信号实现的。

本申请所提供的所述蛋白质合成抑制剂可以为环己酰亚胺 (Cycloheximide (CHX))、茴香霉素 (Anisomycin (Ani))、膜海鞘素 B (Didemnin B (DIDB))、波凡霉素 (Bouvardin (BVD))、石蒜科植物提取物或石蒜科生物碱。

优选地，所述石蒜科植物提取物或石蒜科生物碱为水仙环素 (Narciclasine) 或水鬼蕉碱 (Pancratistatin)。

优选地，本申请提供的包含所述蛋白质合成抑制剂的组合物中包括蛋白质合成抑制剂、全反式视黄酸和 BMP 激活剂。

优选地，所述组合物中的蛋白质合成抑制剂为环己酰亚胺 (Cycloheximide (CHX))，BMP 激活剂为 BMP signaling agonist sb4。

进一步优选地，在所述组合物中，以所述环己酰亚胺为 1 重量份计，全

反式视黄酸为 0.25~8 重量份, BMP signaling agonist sb4 为 0.25~4 重量份。

另一种优选地, 所述组合物中的蛋白质合成抑制剂为水仙环素 (Narciclasine), BMP 激活剂为 BMP signaling agonist sb4。

进一步优选地, 在所述组合物中, 以所述水仙环素 (Narciclasine) 为 1 重量份计, 全反式视黄酸为 0.25~10 重量份, BMP signaling agonist sb4 为 2~10 重量份。

本申请还提供了所述蛋白质合成抑制剂或其组合物的给药方式可以为腹腔注射、静脉注射、灌胃、口服或皮肤涂抹。

本申请还提供了一种促进哺乳动物组织或复杂结构或器官再生修复的方法, 其包括向有需要的受试者施用蛋白质合成抑制剂或包含蛋白质合成抑制剂的组合物。

进一步的, 所述方法中的蛋白质合成抑制剂或包含蛋白质合成抑制剂的组合物即为本申请中所提供的蛋白质合成抑制剂或包含蛋白质合成抑制剂的组合物。

进一步的, 所述方法中, 可以以腹腔注射、静脉注射、灌胃、口服或皮肤涂抹等给药方式向有需要的受试者施用蛋白质合成抑制剂或包含蛋白质合成抑制剂的组合物。

附图说明

图 1A 为再生的非洲刺鼠与非再生的小鼠转录组之间的差异基因分析及其功能富集结果。

图 1B 为 Vehicle 与不同翻译抑制剂 Ani、CHX 药物处理后, 直径 2mm 的小鼠耳洞愈合情况示意图。

图 1C 为经 Vehicle 与不同剂量的 CHX 药物处理后, 直径 2mm 的小鼠耳洞闭合情况示意图。

图 1D 为直径 2mm 耳洞打孔器创伤的小鼠耳洞经 CHX 药物处理 30 天的闭合情况示意图, 比例尺为 1mm。

图 1E 为经 CHX 药物处理后, 小鼠耳廓组织 HE 染色结果, 比例尺为 200um。

图 1F 为经 CHX 药物处理后, 小鼠耳廓组织 HE 染色结果, 比例尺为 1mm。

图 1G 为经 CHX 药物处理 7 天后, 小鼠耳廓组织的 KI67 免疫组化染色

结果示意图，比例尺为 100 μ m。

图 1H 为经 CHX 药物处理耳洞闭合 180 天后，小鼠耳廓组织 HE 染色结果示意图，比例尺为 1mm。

图 1I 为不同给药方式处理 3 周后小鼠耳洞愈合效果（损伤后 21 天）示意图。

图 1J 为 Nsun2 敲除小鼠 2mm 耳洞愈合效果（损伤后 21 天）。

图 2A 为经 Vehicle/CHX 处理后，直径 4mm 的小鼠耳洞闭合情况示意图。

图 2B 为直径 4mm 耳洞打孔器创伤的小鼠耳洞经 CHX 处理，90 天后的闭合情况示意图，比例尺为 1mm。

图 3 为铁死亡和自噬的抑制剂处理小鼠耳洞愈合效果（损伤后 21 天）

图 4A 为经 Vehicle/CRB 处理后，小鼠耳洞的愈合情况示意图。

图 4B 为小鼠 4mm 耳洞经 Vehicle/CRB 处理 30 天后的愈合效果图。

图 4C 为经 Vehicle/CRB 处理后小鼠耳廓组织 HE 染色图。

图 4D 为经 Vehicle/CRB 处理 7 天后小鼠耳廓组织 α -SMA 免疫荧光染色图。

图 4E 为小鼠 4mm 耳洞经 Vehicle/CRB 处理大于 180 天后，小鼠耳廓组织 HE 染色结果示意图，比例尺为 100 μ m。

图 4F 免疫荧光染色血管标记物 CD31 染色结果，比例尺为 20 μ m。

图 5A 为对肺纤维损伤模型小鼠进行 CHX 给药实验流程图。

图 5B 为对肺纤维损伤模型小鼠存活率示意图，Vehicle (V)/CHX (C)。

图 5C 为肺纤维损伤模型小鼠体重变化示意图。

图 5D、5E 为肺纤维损伤模型小鼠呼吸频率和一次换气量变化示意图。

图 5F 为肺纤维损伤模型小鼠 HE 染色和天狼星红染色结果示意图。

图 5G 为肺纤维损伤模型小鼠纤维化相关基因测序结果示意图。

图 5H 为肺纤维损伤模型小鼠呼吸系统发育相关基因测序结果示意图。

图 5I、5J 为肺纤维损伤模型小鼠损伤 9 天给药 Vehicle/CHX 后的 HE 染色结果示意图。

图 6A 为烫伤模型小鼠疤痕面积变化示意图。

图 6B 为烫伤模型小鼠天狼星红染色结果示意图。

图 6C 为烫伤模型小鼠组化染色结果示意图。

图 7A 为 Puromycin (PURO) 参入实验验证 Narciclasine (Nar) 具有翻译抑

制作用实验结果示意图。

图 7B 为直径 2mm 耳洞打孔器创伤的小鼠耳洞经 Nar 药物处理 30 天的闭合情况示意图，比例尺为 1mm。

图 7C 为经 Vehicle 与不同剂量的 Nar 药物处理后，直径 2mm 的小鼠耳洞闭合情况示意图。

图 7D 为经 Nar 药物处理后的免疫组化结果示意图。

图 7E 为经 Nar 药物处理后的 Masson 切片染色结果示意图。

图 7F 为经 Vehicle/NRB 处理后，小鼠 4mm 耳洞的愈合情况示意图。

图 7G 为经 NRB 处理后的免疫组化结果示意图。

图 7H 为经 NRB 处理后的，HE 切片染色结果示意图。

图 8A 为 Puromycin 参入实验验证 Pancratistatin 具有翻译抑制作用实验结果示意图。

图 8B 为直径 2mm 耳洞打孔器创伤的小鼠耳洞经 Pan 药物处理 21 天的闭合情况示意图，比例尺为 1mm。

图 8C 为直径 2mm 耳洞打孔器创伤的小鼠耳洞经 Pan 药物处理 21 天效果统计图，DMSO 替代 Pan 处理为对照。

图 8D 为经 Pan 药物处理后的 HE 切片结果示意图。

图 8E 为经 Pan 药物处理后的 HE 切片结果示意图。

图 9A、9B 为待处理水鬼蕉鳞茎示意图。

图 9C、9D 为鳞茎及组织匀浆后获得的母液示意图。

图 9E 为给药 9 周后的耳洞面积统计结果示意图。

图 9F 为利用 70%乙醇萃取法匀浆破壁提取物分别处理 3 周、6 周、9 周后耳洞面积统计图。

图 10A 为 CHX 导致转录和翻译水平共同上调基因分析示意图。

图 10B 为干扰素响应基因及富集情况示意图。

图 10C、10D 为定量 qPCR 检测 CHX 诱导 ISG 基因表达实验结果示意图。

图 10E 为免疫荧光染色鉴定 CHX 激活 STING/TBK1/IRF3 信号通路结果示意图。

图 10F 为定量 qPCR 检测 GSK86126 与 Des 抑制 STING/TBK1/IRF3 通路活性抑制 CHX 诱导 ISG 基因表达结果示意图。

图 10G 为 GSK86126 与 Des 抑制 STING/TBK1/IRF3 通路活性抑制 CHX 诱导的再生结果示意图。

图 10H 为蛋白 Western blot 实验揭示 Des 抑制 STING/TBK1/IRF3 通路活性并不抑制 CHX 蛋白合成抑制功能结果示意图。

图 11A 为肢端造模的模式图。

图 11B 显示经药物处理 20、40、120 天后的肢端诱导再生现象。比例尺为 2 mm。

图 11C 为肢端 outgrowth 长度的统计结果。 $n \geq 3$, $***p < 0.001$, t 检验。

图 11D 显示经药物 CR 处理 20 天和 40 天后, 利用电子计算机断层扫描 (CT) 获取骨组织重建的过程高清图。

图 11E 为药物 CR 处理 30 后骨组织的再生结果。

图 11F 显示经药物处理 21、50、120 天后, 小鼠肢端再生组织 Masson 染色结果。比例尺为 2 mm, $n \geq 3$, t 检验。

具体实施方式

以下通过具体实施例来详细阐述和说明本发明的实施方式, 但以下内容不应理解为对本发明作任何限制。

本申请主要涉蛋白质合成抑制剂或包含所述蛋白质合成抑制剂的组合物在促进哺乳动物组织或复杂结构或器官再生修复能力中的应用。

蛋白质合成抑制剂是一类影响蛋白质生物合成的物质, 它们可以作用于 DNA 复制和 RNA 转录, 对蛋白质的生物合成起间接作用, 可作用于蛋白质合成的各个环节, 包括抑制起始因子, 延长因子及核糖核蛋白体的作用等等。其中, 常见的蛋白质合成抑制剂主要为可以抑制蛋白质生物合成翻译过程的阻断剂等。

在一些具体的实施方式中, 所述蛋白质合成抑制剂可以为环己酰亚胺 (Cycloheximide (CHX))、膜海鞘素 B (Didemnin B (DIDB)) 和波凡霉素 (Bouvardin (BVD))。

在本申请一个具体的实施方式中, 所述蛋白质合成抑制剂为环己酰亚胺, 缩写为 CHX, 其化学式为: 4-((R)-2-((1S,3S,5S)-3,5-二甲基-2-氧基环己基)-2-羟基乙基)哌啶-2,6-二酮

(4-((R)-2-((1S,3S,5S)-3,5-dimethyl-2-oxocyclohexyl)-2-hydroxyethyl)piperidine-

2,6-dione)

CHX 是一种常用的蛋白合成抑制剂，可抑制真核生物的蛋白合成，其主要作用于蛋白质合成中的翻译过程。

在另一个具体的实施方式中，所述蛋白质合成抑制剂为石蒜科草本植物生物碱。

在一个优选的实施方式中，所述石蒜科草本植物生物碱为水仙环素 (Narciclasine)；在另一个优选的实施方式中，所述石蒜科草本植物生物碱为水鬼蕉碱 (Pancratistatin)。

水仙环素 (Narciclasine, 缩写为 Nar) 是石蒜科中所富含的一种生物碱，被报道也具有抑制蛋白质翻译过程的作用，且翻译延伸因子 eEF1A 被发现作为 Narciclasine 新的直接靶点。水鬼蕉碱 (Pancratistatin, 缩写为 Pan) 是一种水仙环素类似物。

在另一个具体的实施方式中，所述蛋白质合成抑制剂为石蒜科植物提取物。在一个优选的实施方式中，所述石蒜科植物为水鬼蕉 (学名: *Hymenocallis littoralis* (Jacq.) Scalisb.)。水鬼蕉鳞茎富含水鬼蕉碱 (pancratistatine) 与水仙环素 (narciclasine) 等。

在一个优选的实施方式中，所述石蒜科植物提取物为石蒜科植物的醇提取物。

在一个优选的实施方式中，所述醇提取物为采用乙醇萃取法匀浆破壁提取得到的。

本申请还提供一种组合物，其包括蛋白质合成抑制剂、全反式视黄酸和 BMP 激活剂。

在一个优选的实施方式中，所述蛋白质合成抑制剂为环己酰亚胺 (Cycloheximide (CHX))，所述 BMP 激活剂为 BMP signaling agonist sb4。

在一个优选的实施方式中，所述组合物包括环己酰亚胺、BMP signaling agonist sb4 和全反式视黄酸。

视黄酸是动物体内维生素 A 的代谢中间产物，主要影响骨的生长和促进上皮细胞增生、分化、角质溶解等代谢作用。全反式视黄酸 (ATRA) 为视黄酸的两种活性形式之一，其既是维甲酸受体 (RAR)，也是视黄醇 X 受体 (RXR)。RAR 和 RXR 作为转录因子，共同调节正常细胞和肿瘤细胞的生长和分化。

BMP signaling agonist sb4 是一种苯并恶唑骨形态发生蛋白 4 (BMP4) 信号激动剂, 通过稳定细胞内 p-SMAD-1/5/9 激活 BMP 信号。其还能激活典型 BMP 信号通路中的 BMP4 靶基因 (DNA 结合抑制剂, Id1 和 Id3)。BMP 信号通路可以调节细胞的增殖和分化, 在胚胎发育过程中具有重要的调控作用。

在一个具体的实施方式中, 所述组合物中包括环己酰亚胺 5-40 mg/kg、全反式视黄酸 10-40 mg/kg 和 BMP signaling agonist sb4 10-20 mg/kg, 即包括给药量为 5-40 mg/kg 的环己酰亚胺, 例如可以为 5、10、15、20、25、30、35、40mg/kg; 给药量为 10-40 mg/kg 的全反式视黄酸, 例如可以为 10、15、20、25、30、35、40mg/kg; 给药量为 10-20 mg/kg 的 BMP signaling agonist sb4, 例如可以为 10、12、15、18、20 mg/kg。

在另一个具体的实施方式中, 所述组合物中包括水仙环素 (Narciclasine) 0.5-3 mg/kg、全反式视黄酸 10-50 mg/kg 和 BMP signaling agonist sb4 20-50 mg/kg, 即包括给药量为 5-40 mg/kg 的环己酰亚胺, 例如可以为 0.5、1、1.5、2、2.5、3mg/kg; 给药量为 10-50 mg/kg 的全反式视黄酸, 例如可以为 10、15、20、25、30、35、40、45、50mg/kg; 给药量为 20-50 mg/kg 的 BMP signaling agonist sb4, 例如可以为 20、25、30、35、40、45、50 mg/kg。

在一个具体的实施方式中, 所述组合物中还包含药学上可用的赋形剂。

在本申请中, 所述蛋白质合成抑制剂或包含所述蛋白质合成抑制剂的组合物可用于制备用于促进哺乳动物组织或复杂结构或器官再生修复能力的药物或试剂中。

在本申请中, 所述蛋白质合成抑制剂或包含所述蛋白质合成抑制剂的组合物可用于制备用于治疗与哺乳动物组织或复杂结构或器官的再生修复相关的疾病的药物或试剂中。

在本申请的实施方式中, 所述再生修复是指生物体的整体、器官或局部组织发生创伤而部分丢失, 在剩余部分的基础上又生长出与丢失部分在形态与功能上相同的结构的修复过程。

在本申请的实施方式中, 所述促进哺乳动物组织或复杂结构或器官再生修复能力是通过诱导生命静息实现的。

在一个具体的实施方式中, 所述再生修复为促进组织或器官切除或损伤后的组织或复杂结构或器官的再生。

在一个具体的实施方式中，所述再生修复中的所述组织为表皮、真皮、肌肉、骨骼、脂肪、毛囊、血管或神经，所述复杂结构为至少包括皮肤、毛囊、腺体、软骨、肌肉、脂肪、血管、神经或与肢体中的两种以上的机体结构，所述器官为肺、皮肤、心脏、肝脏、肾、胃、肠等。

本申请所述的复杂结构，是由不同组织构成的机体结构部件或能够完成特定生理功能或功能活动的机体功能部件，如耳朵、各脏器、肢体、眼睛、鼻等。

在一个具体的实施方式中，所述再生修复为促进皮肤损伤后的再生修复，脱发后的毛发再生，软骨肌肉损伤再生修复，肺、肝、皮肤、心、肾、肌肉的再生以及血管、神经与肢体损伤后的再生。

在一个具体的实施方式中，所述再生修复为促进耳朵被部分切除后的再生。

在一个具体的实施方式中，所述再生修复为促进烫伤皮肤的再生修复。

在本申请的实施方式中，所述与组织器官的再生修复相关的疾病包括但不限于皮肤烫伤、皮肤创伤、皮肤烧伤、脱发、器官的纤维化、肌肉/软骨损伤或神经系统疾病等，优选为皮肤烧/烫伤、肺纤维化、肝纤维化、肾纤维化、心肌纤维化、肢体创伤或多种神经系统疾病等。

在本申请的实施方式中，所述药物或试剂中还可以添加药学上可接受的载体或辅料。

具体的，所述药物或试剂可以以如下形式制备：将所述蛋白质合成抑制剂或包含其的组合物与药学上可接受的载体混合，例如得到口服制剂，诸如片剂（包括糖衣片剂、薄膜包衣片剂、舌下片剂、口腔崩解片剂）、胶囊剂（包括软胶囊剂、微囊剂）、颗粒剂、粉末剂、锭剂、糖浆剂、乳剂、混悬剂、薄膜（例如、口服崩解性的薄膜）等、肠胃外制剂如注射剂（例如皮下注射剂、静脉内注射剂、肌肉注射剂、腹腔注射剂、滴注剂）、外用制剂（例如皮肤制剂、软膏剂）、栓剂（例如直肠栓剂、阴道栓剂）、丸剂、滴鼻剂、呼吸制剂（吸入剂）、眼药水等。除此之外，这些制剂可作为控释制剂（例如持续释放微囊剂）、诸如立即释放制剂、持续释放制剂等。这样的制剂可通过本技术领域常规使用的制备方法获得。

具体的，上述药学上可接受的载体的例子包括赋形剂（例如，淀粉，乳糖，蔗糖，碳酸钙，磷酸钙等），粘合剂（例如，淀粉，阿拉伯胶，羧甲纤

纤维素，羟丙基纤维素，结晶纤维素，海藻酸，凝胶，聚乙烯吡咯烷酮等），润滑剂（例如，硬脂酸镁，硬脂酸钙，滑石粉等），崩解剂（例如，羧甲基纤维素钙，滑石粉等），稀释剂（例如，注射用水，盐水等），添加剂（例如，稳定剂，防腐剂，着色剂，调味剂，溶解助剂，乳化剂，缓冲剂，等渗剂等），等等。

在本申请的实施方式中，所述组合物、药物或试剂的给药方式可以为腹腔注射、静脉注射、灌胃、口服或皮肤涂抹。具体的，向受试者的给药量根据给药途径、症状、患者年龄等等而不同，临床医生可以实际确定。

实施例

近年来研究显示，如 MRL 小鼠 1 及 P21^{-/-}突变鼠 2 可以闭合 2mm(毫米)耳洞，而野生型实验小鼠均不能闭合，因此耳洞闭合可作为评估再生能力良好的模型来筛选促进提高再生能力的细胞、信号通路、基因。主要筛选靶点为调控个体发育过程中形态发生、器官发育、免疫与应激反应（代谢、翻译等）等重要信号通路；同时也包括参与肿瘤发生及低等生物再生的基因及信号通路。

耳洞创伤小鼠模型的建立：选用 7 周龄 C57BL/6 小鼠，使用 0.5% 戊巴比妥钠(100 μ l/10g b.w.) 对小鼠实施麻醉，腹腔注射 10mL/kg，按体重进行麻醉。将麻醉好的小鼠进行绑定，使用 75% 的乙醇对小鼠耳朵和器械进行消毒。以小鼠的耳廓中心，使用直径为 2mm 的耳洞打孔器对小鼠左右耳廓分别打孔，对创伤后小鼠通过腹腔、静脉注射或灌胃的方式给药（靶向筛选靶点的小分子或生长因子溶于生理盐水或 DMSO），以不含药物的溶剂作为对照。DMSO 溶解的给药体系为：2-5% DMSO+30-40%PEG400+2-5% Tween 80 按终浓度（体积比）依次加入。每 2 天给药一次，每 7 天进行观察，使用游标卡尺对小鼠耳洞的近-远轴（proximal - distal，DPD）和前后轴（anterior - posterior，DAP）进行测量，并计算小鼠被割除耳洞的面积，面积的计算公式为 $S = \pi \text{DPD} \times \text{DAP} / 4$ ，对小鼠的耳洞闭合情况进行记录。

如无特别说明，本申请以下实施例中均采用上述耳洞创伤小鼠模型进行耳洞再生实验，其中 7 周龄 C57BL/6 小鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司；Nsun2 敲除小鼠由申请人实验室制备，利用 CRISPR/Cas9 介导基因敲除技术，通过将注射 Cas9 mRNA 与 Nsun2 的 sgRNA 注射到小鼠受精卵

获得基因敲除胚胎，进一步繁殖获得稳定敲除的小鼠；CHX: (即 4-((R)-2-((1S,3S,5S)-3,5-dimethyl-2-oxocyclohexyl)-2-hydroxyethyl)piperidine-2,6-dione) 购自 MedCamExpress。其他材料、试剂等，如无特殊说明，均可从商业途径得到。

实施例一：翻译抑制（环己酰亚胺（Cycloheximide，后缩写为 CHX 或 C）；茴香霉素（Anisomycin，缩写为 Ani））促进小鼠直径 2mm 耳洞割处再生。

实验方法：对耳洞创伤小鼠以不同剂量 CHX（溶于生理盐水或 DMSO）分别采取腹腔注射给药（图 1I 实验中增加灌胃给药），生理盐水或 DMSO 作为对照组（标记为 Vehicle）。对药物处理过的小鼠创伤耳廓进行鉴定。具体实验结果如图 1 所示。

图 1A 转录组分析再生的非洲刺鼠与非再生的小鼠（C57BL/6 小鼠）之间差异基因，并通过功能富集分析，结果显示再生非洲刺鼠相比于非再生小鼠相比显著下调是核糖体亚基及翻译相关。

图 1B 显示，基于图 1A 分析结果，对非再生小鼠利用翻译的小分子抑制剂 Ani, CHX 分别进行药物处理 21 天后，观察其对 2 mm 耳洞愈合效果，结果显示相比较于对照组 (Vehicle)，翻译抑制剂 Ani (10 mg/kg), CHX (20 mg/kg) 均能显著促进耳洞愈合，CHX 愈合效果更佳，由此发现翻译抑制能显著促进非再生物种的再生。后续实验基于 CHX 开展。

图 1C 的示意图显示了经不同浓度的 Vehicle/CHX 进行处理后，小鼠耳洞的闭合情况：各浓度的 CHX 对于直径 2mm 的耳洞闭合都有促进作用，其中浓度大于 8mg/kg 以上，药物处理三周后，小鼠耳洞创口完全闭合。n≥8。

图 1D 为经 Vehicle/CHX (20mg/kg) 处理耳洞创伤小鼠 2mm 耳洞 30 天后的愈合情况照片，其中以 CHX 处理的耳洞创伤已经完全闭合。

图 1E 的小鼠耳廓组织 HE 染色图显示，经 CHX (20mg/kg) 处理后，耳洞创伤小鼠耳洞部分的皮肤，结缔组织等多种组织结构生长连接在一起，创伤已经完全愈合。

图 1F 的小鼠耳廓组织 HE 染色图显示，耳洞创伤小鼠经 DMSO/CHX (20mg/kg) 处理后，创伤后第 1 天 (D1 组) 两组织均局部可见灶性坏死，坏死灶内炎性细胞弥漫性浸润，如箭头①所示；组织内真皮层内可见炎性细

胞弥散性浸润，如箭头②所示；其中 CHX 组中部分细胞内可见含铁血黄素沉积，如箭头③所示。第 15 天 DMSO 组的组织中部分细胞内可见含铁血黄素沉积，如箭头③所示；可见组织水肿，真皮下结缔组织间隙增大，组织结构疏松，如箭头④所示。第 15 天 CHX 组的组织损伤后愈合形成的肉芽组织，肉芽组织内成纤维细胞和血管大量增生，如箭头⑤所示；并可见炎性细胞弥散性分布，如箭头②所示。

图 1G 的小鼠耳廓组织的 KI67 免疫组化染色图显示，CHX (20mg/kg) 处理 7 天后，小鼠基底层细胞大量表达细胞增殖的标志性蛋白 KI67，如箭头显示，对照组表达相对较少。

图 1H 的小鼠耳廓组织 HE 染色图显示，经 CHX (20mg/kg) 处理的小鼠耳洞闭合 180 天后，伤口部分有毛囊，腺体，软骨，肌肉与血管等组织和组织衍生物的再生。

图 1I 的示意图显示，采用灌胃和腹腔注射等不同给药方式对耳洞创伤小鼠进行处理，3 周后均产生愈合效果(损伤后 21 天)。其中 $n \geq 6$ 。*** $p < 0.001$ ，ns：无显著性差异，t 检验。

此外，Nsun2 敲除被报道可以通过调控 tRNA 稳定性来抑制翻译，因此用 Nsun2 敲除小鼠作为遗传学模型来验证翻译抑制对再生作用。具体方法为：分别以野生型小鼠 (WT) 与 Nsun2 敲除小鼠 (KO) 建立耳洞创伤小鼠模型，制造直径 2mm 耳洞 (方法同上述实施例)，3 周后分别观察并测量耳洞愈合情况。结果显示 Nsun2 敲除的小鼠相比野生型小鼠，耳洞面积明显减小。这也表明翻译抑制对再生具有作用 (图 1J)。

以上实验结果显示：不同剂量的蛋白质合成抑制剂 CHX 都能显著促进 2mm 耳洞愈合，且这种促进效果具有剂量依赖性，大于 8mg/kg 剂量可以促进闭合。闭合耳洞可以再生处毛囊，腺体，软骨和肌肉等组织和组织衍生物。同时也证实不同给药方式均具有促进再生的效果。

实施例二：环己酰亚胺 CHX 促进小鼠直径 4mm 耳洞割处再生修复。

研究发现极少数的哺乳动物如非洲刺鼠具有较强再生能力，能够再生 4mm 耳洞，同时还发现 4mm 耳洞闭合模型可以区分再生能力强弱，目前没有任何人工实现 4mm 耳洞闭合再生，即使是被报道“超级再生”的 MRL 小鼠也不能完全闭合。因此 4mm 耳洞可以作为评价哺乳动物割处再生的良好

模型，其模型建立采取实施例1的方法，其中以直径为4mm的耳洞打孔器对小鼠左右耳廓分别打孔。

实验方法：对4mm耳洞创伤小鼠以不同剂量的CHX(20, 125, 175mg/kg, 溶于DMSO或生理盐水)采取腹腔注射给药，DMSO作为对照组(Vehicle, V)。对药物处理过的小鼠创伤耳廓进行鉴定。具体实验结果如图2所示。

图2A的示意图显示，不同剂量的CHX对于直径4mm的耳洞闭合效果，发现20mg/kg与超级愈合小鼠MRL/lpr效果类似，有促进耳洞伤口变小作用，但不能完全闭合，当剂量大于20mg/kg(125, 175mg/kg)能实现耳洞的闭合。

图2B为DMSO/CHX药物处理90天后的耳洞愈合照片，其显示经CHX(125mg/kg)处理的小鼠4mm耳洞，创伤的面积显著减小。

实施例三：环己酰亚胺CHX促进耳洞再生不依赖于铁死亡与自噬的抑制。

CHX作为一种抗真菌的抗生素，除了抑制真核生物蛋白质合成和RNA合成外，还可以抑制铁死亡和细胞自噬。为了验证其在再生过程中通过哪个靶点发挥作用，分别针对铁死亡和自噬进行小分子验证。

实验方法：采用上述相同的耳洞创伤小鼠模型进行实验，分别用铁死亡和自噬的抑制剂代替CHX观察其促进耳洞愈合的效果。DMSO替代小分子的对照组。其中Auto: Autophinib (MCE, HY-101920)，抑制自噬；3BDO: 3BDO (MCE, HY-U00434)，抑制自噬；UAMC: UAMC-3203 (MCE, MCE, HY-112909A)，抑制铁死亡；EBSE: Ebselen (MCE, HY-13750)，抑制铁死亡。使用浓度为10-20 mg/kg, 给药方式同CHX, $n \geq 8$, $**p < 0.01$, $***p < 0.001$, ns: 无显著性差异, t检验。鉴定不同抑制剂对2mm耳洞愈合效果(损伤后21天测定), 结果如图3所示: 分别用铁死亡和自噬的抑制剂均不能像CHX一样促进耳洞愈合, 这说明CHX促进耳洞再生不依赖于其对铁死亡或自噬的抑制活性。

实施例四：组合CRB(C:蛋白质合成抑制剂CHX;R:RARs激活剂全反式视黄酸(All-trans retinoic acid);B:BMP激活剂BMP(signaling agonist sb4))促进小鼠4mm耳洞闭合及割处再生。

以7周龄小鼠为例，使用0.5%戊巴比妥钠(100 μ l/10g b.w.)对小鼠实

施麻醉，腹腔注射 10mL/kg，按体重进行麻醉。将麻醉好的小鼠进行绑定，使用 75% 的乙醇对小鼠耳朵和器械进行消毒。以小鼠的耳廓中心，使用直径为 4mm 的耳洞打孔器对小鼠左右耳廓分别打孔。对于创伤后的小鼠，采用腹腔注射 DMSO/CRB（CRB 给药量为 CHX 20 mg/kg、全 ATRA 20 mg/kg，BMP signaling agonist sb4 10 - 20 mg/kg）的方式每 2 天给药一次，并且每 7 天对小鼠进行麻醉，使用游标卡尺对小鼠耳洞的近-远轴（proximal - distal，DPD）和前后轴（anterior - posterior，DAP）进行测量，并计算小鼠被割除耳洞的面积，面积的计算公式为 $S = \pi \times \text{DPD} \times \text{DAP} / 4$ 。对药物处理过的小鼠创伤耳廓进行进一步鉴定。

图 4A 显示分别经 DMSO/CRB 处理后，小鼠耳洞的闭合情况。结果显示 CRB 对于直径 4mm 的耳洞闭合都有促进作用，在给药处理 30 天后，小鼠耳洞完创口全闭合。

图 4B 显示小鼠 4mm 耳洞经药物处理 30 天后的闭合情况。可以看出，经药物处理后的小鼠，耳洞创伤已经闭合。

图 4C 显示经药物处理 7 天后，小鼠耳廓组织 HE 染色结果和表皮厚度统计。比例尺为 200um。经药物处理后的小鼠耳廓有芽基形成，表皮厚度明显降低。n ≥ 3，t 检验。

图 4D 显示经药物处理 7 天后，小鼠耳廓组织 α-SMA 免疫荧光染色结果。比例尺为 100um。创伤 7 天后，对照组与药物处理组均出现大量的 α-SMA 表达，与对照组相比，药物处理组的 α-SMA 表达呈线性有序排列，而对照组为无序堆积，表达模式与疤痕形成方式类似。

图 4E 组织染色显示经药物（CRB）诱导大于 180 天后各个组织再生情况，显示完整再生，主要包括表皮、真皮、腺体、毛囊、肌肉、软骨、脂肪、肌肉等的再生。“e” 指示表皮再生；“d” 指示再生的真皮；“g” 指示再生的腺体；“ad” 指示再生的脂肪组织；“hf” 指示再生的毛囊；“c” 指示再生的软骨；“m” 指示再生的肌肉。

图 4F 免疫荧光染色血管标记物 CD31 进一步鉴定血管再生，三角形指示再生的血管。

上述结果显示 CRB 联合处理可诱导包括表皮、真皮、腺体、毛囊、肌肉、软骨、脂肪、肌肉与血管等的再生。

实施例五：蛋白质合成抑制剂 CHX 抑制肺损伤纤维化促进肺再生。

采用博来霉素 (bleomycin, BLM) 肺气管滴注 C57B1/6 小鼠成功构建肺纤维化的慢性损伤模型, 并通过腹腔给药 CHX 进行治疗, 验证 CHX 抑制肺纤维化及促进肺再生和小鼠存活的作用, 并选取临床上抗特发性肺纤维化药物尼达尼布作为阳性对照。

肺纤维化慢性损伤模型构建:

- (1) 博来霉素稀释: 母液 50 mg/ml 稀释 50 倍终浓度为 1 mg/ml;
- (2) 腹腔注射 0.5% 戊巴比妥钠(100 μ l/10g b.w.) 麻醉小鼠;
- (3) 75%酒精颈部皮肤消毒, 切开颈部皮肤后钝性分离气管上粘膜与肌肉, 暴露气管, 注意勿损伤甲状腺;
- (4) 用胰岛素注射器按 2.5 mg/kg 剂量于气管软骨间隙注入 50 μ l (20 g 体重) 博来霉素, 拔出针头后, 立即将操作台直立, 左右旋转 1 min, 缝合皮肤, 小鼠自然苏醒后自由饮水进食。

实验方法: 术后 2 天小鼠腹腔给药 CHX (C, 20 mg/kg, 每两天一次) (图 5A)。记录小鼠的生存状态。结果如图 5B 所示, 对照组 (V) 在治疗 18 天已全部死亡, 而 CHX 治疗组在治疗第 18 天的存活率在 75%。统计分析 CHX 显著提高博来霉素诱导肺损伤的存活率 ($P=0.002$), 每组至少 8 只小鼠。体重跟踪检测发现霉素诱导肺损伤后, 对照组体重逐渐下降, 15 天后下降 30%, 而 CHX 显著抑制体重下降 ($***P<0.001$), 15 天后基本维持在 85% (如图 5C 所示)。进一步检测肺功能, 发现 CHX 显著维持了正常的呼吸频率和一次换气量 (Tidalvolume) (如图 5D,5E 所示)。HE 染色和天狼星红染色结果显示, 处理 14 天后, 对照组肺组织发生大量损伤和纤维化, 而 CHX 组显著抑制纤维化 (如图 5F 所示)。进一步通过 RNA-Seq 测序分析显示损伤后对照组相比于野生型 (WT) 胞外基质、胶原等纤维化相关基因显著上调, 而 CHX 处理组能显著下调这些基因, 血管, 循环系统等发育相关基因上调 (如图 5G 所示)。进一步分析发现 CHX 促进呼吸系统发育相关基因上调 (如图 5H 所示)。以上实验结果说明 CHX 抑制了纤维化, 促进了肺损伤后再生。进一步, 在博来霉素损伤 9 天后 (更严重的肺纤维化模型) 进行 CHX 给药治疗, 发现类似的 CHX 处理显著回复组织完整性, 降低纤维化 (图 5I,5J)。上述结果显示 CHX 可以显著降低肺损伤后纤维化, 并促进肺再生。

实施例六：CHX 降低小鼠烫伤后疤痕形成，促进皮肤再生。

实验方法：(1) 腹腔注射 0.5% 戊巴比妥钠(100 μ l/10g b.w.) 麻醉小鼠；(2) 背部剃毛，75%酒精皮肤消毒。(3) 开水烫 10-15s，烫伤面积为直径 1.5 cm 的圆。(4) 烫伤后平均分成两组，分别以 Vehicle (生理盐水) 和 CHX (20mg/kg，溶解生理盐水) 给药处理。(5) 检测伤口修复情况。

结果：给药 40 天后，剃毛检测疤痕，显示 CHX 处理后显著降低疤痕面积 (如图 6A 所示)，天狼星红染色结果显示 CHX 降低了胶原的堆积 (如图 6B 所示)，进一步组化染色显示 CHX 显著促进表皮、毛囊、腺体、真皮、血管的再生 (如图 6C 所示)。

上述结果显示 CHX 可以显著降低烫伤后皮肤再生，主要包括表皮、毛囊、腺体、真皮、血管的再生。

实施例七：水仙环素 (Narciclasine) 及组合 NRB 促进小鼠的复杂结构再生。

(1) 水仙环素 (Narciclasine) 的翻译抑制功能验证。

实验方法：嘌呤霉素 (Puromycin, 缩写为 Puro) 参入实验，Puro 标记方法参考文献《Kearse, et al. Ribosome queuing enables non-AUG translation to be resistant to multiple protein synthesis inhibitors, 2019, Genes & Development》。

结果如图 7A 所示。其中，Cycloheximide (CHX) 为对照，“+”代表添加，“-”代表不添加。实验结果表明水仙环素 (Narciclasine) 可显著抑制蛋白翻译过程。

(2) 水仙环素促进小鼠 2mm 耳洞割处再生。

实验方法：对 2mm 耳洞创伤小鼠以不同剂量 (1 - 3 mg/kg) Narciclasine (溶于 DMSO，给药体系 2 - 5 % DMSO + 30 - 40% PEG400 + 2 - 5 % Tween 80 + 生理盐水) 分别采取腹腔注射给药，不含药物的 DMSO 作为对照组 (标记为 Vehicle)。对药物处理过的小鼠创伤耳廓进行鉴定。具体实验结果如图 7B~7E 所示。

其中，图 7B 的示意图显示了直径 2mm 耳洞打孔器创伤的小鼠耳洞经 Narciclasine 药物处理 30 天的愈合情况。图 7C 显示了不同剂量的 Narciclasine 对于小鼠耳洞的再生效果。图 7D、7E 分别为组化与 Masson 切片染色数据

表征了软骨（黑色长箭头）、毛囊（星号）、腺体/皮脂腺（三角形箭头）等结构的再生结构，从图中可看到软骨的多个发生中心，推测这样多起点再生大大加快再生速度。

以上实验结果显示，不同剂量的 Narciclasine 均可显著促进 2mm 耳洞愈合，闭合耳洞可以再生出毛囊，腺体，软骨和肌肉等组织和组织衍生物，证实了 Narciclasine 的再生促进作用。

(3) 组合 NRB 促进小鼠 4mm 耳洞割处再生。

实验方法：小鼠模型构建方法同实施例二，对 4mm 耳洞创伤后的小鼠，采用腹腔注射 DMSO/NRB（NRB：Narciclasine 3 mg/kg、ATRA 20 mg/kg，BMP signaling agonist sb4 10 - 20 mg/kg）的方式每 2 天给药一次，并且每 7 天对小鼠进行麻醉，使用游标卡尺对小鼠耳洞的近-远轴（proximal - distal，DPD）和前后轴（anterior - posterior，DAP）进行测量，并计算小鼠被割除耳洞的面积，面积的计算公式为 $S = \pi \times DPD \times DAP / 4$ 。对药物处理过的小鼠创伤耳廓进行进一步鉴定。实验结果如图 7F~7H 所示。

其中，图 7F 显示了小鼠 4 mm 耳洞经 NRB 处理 30 天后的愈合效果，并显示具有愈合促进作用，在给药处理 30 天后，小鼠耳洞完创口全闭合，且鉴定为再生事件。图 7G，7H 显示，HE 切片染色数据很好地指征了软骨（黑色长箭头）、毛囊（星号）、腺体/皮脂腺（三角形箭头）、肌肉（虚线框选区域）等结构的再生结构。

以上实验结果显示，NRB 小分子组合物也可以促进 4 mm 耳洞闭合并促进再生。

实施例八：水鬼蕉碱（Pancratistatin）促进小鼠耳洞割处再生。

(1) 水鬼蕉碱（Pancratistatin）的翻译抑制功能验证。

实验方法：嘌呤霉素参入实验，同实施例七。实验结果如图 8A 所示，表明水鬼蕉碱（Pancratistatin）可显著抑制蛋白翻译过程。

(2) 水鬼蕉碱（Pancratistatin）促进小鼠 2mm 耳洞割处再生。

实验方法：对 2mm 耳洞创伤小鼠以 2 mg/kg 水鬼蕉碱（Pancratistatin）（溶于 DMSO，给药体系 2 - 5 % DMSO + 30 - 40% PEG400 + 2 - 5 % Tween 80 + 生理盐水）分别采取腹腔注射给药，不含药物的 DMSO 作为对照组（标记为 Vehicle）。对药物处理过的小鼠创伤耳廓进行鉴定。具体实验结果如图

8B~8E 所示。

其中，图 8B 为耳洞损伤后 21 天时处理组 Pancreatistatin 给药对促进耳洞愈合的效果，显示耳洞完全闭合。图 8C 为 Pancreatistatin 处理 21 - 28 天，观察耳洞闭合情况。图 8D（HE 染色）、8E（Masson 染色）的结果显示，小鼠耳洞创口完全闭合，且鉴定为再生事件，染色数据较好地显示了软骨多个发生中心（黑色长箭头）、毛囊（星号）、腺体/皮脂腺（三角形箭头）、肌肉（虚线框选区域）等结构的再生结构。

以上结果显示，Pancreatistatin 小分子可以促进耳洞闭合，并促进再生。

实施例九：石蒜科水鬼蕉属植物初提物促进 2mm 耳洞割处再生。

水鬼蕉（学名：*Hymenocallis littoralis*(Jacq.) Scalib.），石蒜科水鬼蕉属植物。水鬼蕉鳞茎富含水鬼蕉碱(pancratistatine)与水仙环素(narciclasine)等。因此，进一步验证认为水鬼蕉的提取物是否可以起到促进耳洞原位再生的效果。

实验方法：

(1) 将野生型石蒜科水鬼蕉属植物水鬼蕉的鳞茎除根除叶，清洗干净获得 80 g 干净的鳞茎，将干净鳞茎切成 1 cm × 1 cm × 1 cm 的小方块，方便破壁匀浆，将鳞茎分成相等的两部分，分别利用 70%乙醇、10% DMSO 萃取法匀浆破壁提取。具体方法为将鳞茎分别放入小型组织匀浆机，加入等体积（1:1）的 70%乙醇或 10% DMSO，接通电源，将组织打成匀浆，室温静置 48 h，用干净滤布过去除去残渣，过滤后的滤液为可使用的提取母液，4°C 存储，备用。图 9A、9B 为待处理水鬼蕉鳞茎，图 9C、9D 为鳞茎组织匀浆后获得的母液。

(2) 以 8 周龄小鼠为模型，使用 5%水合氯醛对小鼠实施麻醉，腹腔注射 10mL/kg，按体重进行麻醉。将麻醉好的小鼠进行绑定，使用 75%的乙醇对小鼠耳朵和器械进行消毒。以小鼠的耳廓中心，使用直径为 2mm 的耳洞打孔器对小鼠左右耳廓分别打孔。对于创伤后的小鼠，采用喂水方式分别以步骤（1）中得到的两种提取母液给药，给药浓度选用提取的母液:水 = 1:5 的稀释，并且每 7 天对小鼠进行麻醉，测量并计算小鼠耳洞的面积，对药物处理过的小鼠创伤耳廓进行进一步鉴定。

图 9E 为给药 9 周后的耳洞面积统计结果，显示两种提取物的促进再生

效果存在极显著差异，利用 70%乙醇萃取法匀浆破壁得到的提取物显著促进耳洞愈合。图 9F 显示利用 70%乙醇萃取法匀浆破壁提取物分别处理 3 周、6 周、9 周后耳洞面积统计图，可以看到逐渐愈合趋势。并且小鼠耳廓组织表皮厚度接近野生型， $n \geq 3$ ，t 检验。

以上结果显示，石蒜科水鬼蕉属植物鳞茎的乙醇抽提物可以促进再生。

实施例十：环己酰亚胺 CHX 激活 STING-TBK1-IRF3-干扰素刺激基因 (Interferon-stimulated genes, ISGs) 通路，且 ISG 基因表达是 CHX 诱导再生所必需的。

为了进一步验证 CHX 诱导再生的机制，利用 CHX 分别处理小鼠原代成纤维细胞和巨噬细胞，并进行大样本量 RNA-seq (转录水平) 和 Ribo-seq (核糖体印记测序，翻译组学)。通过生信息学分析发现 CHX 导致两类细胞转录水平和翻译水平共同上调基因 32 个 (G1, 图 10A)，功能分析发现这些基因为干扰素响应基因，功能主要富集到响应干扰素和病毒 (图 10B)。进一步通过 qPCR 实验验证 CHX 确实能够上调经典 ISG 表达，如 Mx2, Ifit1, Cxcl10, Ifih1 等 (图 10C 显示成纤维细胞 ISG 基因表达，图 10D 显示巨噬细胞 ISG 基因表达)。为了验证 ISG 基因表达是否是 CHX 诱导再生所必需的，我们首先在体外发现 CHX 通过激活 STING-TBK1-IRF3 信号通路激活 ISG，主要体现 STING 蛋白核周富集，IRF3 蛋白入核 (图 10E)，且利用小分子抑制剂 GSK8612 (5 μ M) 或 Dexamethasone (Dex, 10 μ M) 抑制 TBK1 能显著抑制能显著 CHX (1 μ g/ml) 诱导的 ISG 基因的表达 (图 10F)，在体内抑制 TBK1 (GSK8612 (25 mg/kg), Dexamethasone (Dex, 10 mg/kg)) 能显著抑制 CHX (20 mg/kg) 诱导的耳洞再生 (图 10G)。此外通过 Puromycin (PURO) 参入实验 (见参考文献《Kearse, et al. Ribosome queuing enables non-AUG translation to be resistant to multiple protein synthesis inhibitors, 2019, Genes & Development》) 发现 Dexamethasone 并不影响 CHX 对整体翻译的抑制，预示 CHX 介导的翻译抑制位于诱导 ISG 的上游 (图 10H)。以上说明 ISG 基因表达是 CHX 诱导再生所必需的。

实施例十一：环己酰亚胺 CHX (C) 和全反式视黄酸 RA (R) 优化组合促进小鼠肢端隆起结构 (Outgrowth) 再生修复

基于耳洞的再生效果，接下来进行了更复杂的损伤表型的再生诱导实验，选用肢端切除作为损伤模型。对 ICR 小鼠进行肢端造模，并联合使用适当剂量的 CHX (100mg/kg) 与 RARs 激活剂全反式视黄酸 (RA, 20mg/kg)，腹腔连续隔天给药 8 周，观察再生表型。

实验方法：以 8 周龄 ICR 小鼠为模型，使用 5% 水合氯醛对小鼠实施麻醉，腹腔注射 10mL/kg，按体重进行麻醉。将麻醉好的小鼠进行绑定，使用 75% 的乙醇对小鼠左上肢端和手术器械进行消毒。这里为了准确定义再生的发生，测量肘关节至桡尺骨的距离，保留 10mm，其余至手掌、手指等节段进行切除造模（尺骨和桡骨属于前臂的两根骨头，最简单的区别的方法为拇指一侧为桡骨、小指一侧为尺骨）。腹腔连续隔天给药 8 周，CHX (100mg/kg, 溶于 DMSO 或生理盐水)、RA (20mg/kg) 采取腹腔注射给药，DMSO 作为对照组，持续观察表型。不同天数后，对药物处理过的小鼠肢端创伤进行鉴定。具体实验结果如图 11 所示。图 11A 为肢端造模的模式图。图 11B 显示经药物处理 20、40、120 天后的肢端诱导再生现象。可以看出，经药物处理后的小鼠截肢部位出现 outgrowth 的生长。比例尺为 2mm。图 11C 为肢端 outgrowth 长度的统计结果，可以看到 CR 给药组很好诱导肢端再生，长度与对照组存在极显著差异。 $n \geq 3$, $***p < 0.001$, t 检验。图 11D 显示经药物 CR 处理 20 天和 40 天后，利用电子计算机断层扫描 (CT) 获取骨组织重建的过程高清图，CR 处理组出现很好的肢端骨组织诱导生长过程，CR 处理 20 天后即可观察到骨组织的伸长重建碎片（右图，三角箭头指示），而对照组呈现出钝化状态，显示为骨组织的增生积累，未呈现出向前的生长趋势（左图，三角箭头指示），是一种类似瘢痕修复的发生。图 11E 为骨再生的更直接关键证据，药物 CR 处理 30 后，取出完整桡尺骨进行观察，与 CT 扫描结果观察一致，可以明显看到骨组织的再生趋势。图 11F 显示经药物处理 21、50、120 天后，小鼠肢端再生组织 Masson 染色结果，对照组可以观察到骨组织的钝化形态，与 CT 结果相符，药物处理组的骨组织呈现生长趋势，且 120 天染色观察到肌肉组织的再生，而对照组为无序堆积，表达模式与疤痕形成方式类似。比例尺为 2mm, $n \geq 3$, t 检验。

以上结果显示，环己酰亚胺 CHX 和全反式视黄酸 RA 的组合物促进肢端切除后隆起结构的再生修复，包括骨、肌肉组织等再生。

前面仅仅示出了本申请的原理，应理解，本申请的范围不预期限制在本文所述的示例性方面，而应包括所有当前已知的和未来开发的等同物。另外，应当指出，在不脱离本申请技术原理的前提下，还可以作出若干改进和修改，这些改进和修改也应被视为本申请的范围。

权 利 要 求 书

1、蛋白质合成抑制剂或包含蛋白质合成抑制剂的组合物在促进哺乳动物组织或复杂结构或器官再生修复能力中的应用。

2、蛋白质合成抑制剂或包含蛋白质合成抑制剂在制备用于促进哺乳动物组织或复杂结构或器官再生修复能力的药物或试剂中的应用。

3、蛋白质合成抑制剂或包含蛋白质合成抑制剂在制备用于治疗与哺乳动物组织或复杂结构或器官的再生修复相关的疾病的药物或试剂中的应用。

4、如权利要求 1-3 中任一项所述的应用，其特征在于，所述再生修复为促进组织或器官切除或损伤后的组织或复杂结构或器官的再生。

5、根据权利要求 1-3 中任一项所述的应用，其特征在于，
所述组织为皮肤、肌肉、软骨、骨骼、毛囊、血管或神经，
所述复杂结构为至少包括皮肤、毛囊、腺体、软骨、肌肉、脂肪、血管、神经或与肢体中的两种以上的机体结构，
所述器官为肺、肝、心、胰岛或肾。

6、根据权利要求 5 所述的应用，其特征在于，所述复杂结构为耳朵、肢体、手指、眼或鼻。

7、根据权利要求 1-3 中任一项所述的应用，其特征在于，所述再生修复为促进皮肤损伤后的再生修复，脱发后的毛发再生，软骨肌肉损伤再生修复，肺、肝、皮肤、心、肾、肌肉的再生以及血管、神经与肢体损伤后的再生。

8、根据权利要求 3 所述的应用，其特征在于，所述疾病为皮肤烫伤、皮肤创伤、皮肤烧伤、脱发、软骨肌肉损伤、肝纤维化、肺纤维化或肢体损伤。

9、如权利要求 1-8 中任一项所述的应用，其特征在于，所述蛋白质合成抑制剂选自环己酰亚胺 (Cycloheximide (CHX))、茴香霉素 (Anisomycin (Ani))、膜海鞘素 B (Didemnin B (DIDB))、波凡霉素 (Bouvardin (BVD))、石蒜科植物提取物或石蒜科生物碱。

10、根据权利要求 9 所述的应用，其特征在于，所述石蒜科植物提取物或石蒜科生物碱包括水仙环素 (Narciclasine) 或水鬼蕉碱 (Pancratistatin)。

11、根据权利要求 1-10 中任一项所述的应用，其特征在于，所述促进哺乳动物组织或复杂结构或器官再生修复能力是通过激活 STING-TBK1-IRF3 信号实现的。

12、一种组合物，其特征在于，包括蛋白质合成抑制剂、全反式视黄酸和 BMP 激活剂，优选的，所述蛋白质合成抑制剂为环己酰亚胺（Cycloheximide (CHX)）或水仙环素（Narciclasine），所述 BMP 激活剂为 BMP signaling agonist sb4。

13、根据权利要求 12 所述的组合物，其特征在于，以所述组合物中的环己酰亚胺为 1 重量份计，全反式视黄酸为 0.25~8 重量份，BMP signaling agonist sb4 为 0.25~4 重量份。

14、根据权利要求 12 所述的组合物，其特征在于，以所述组合物中的水仙环素（Narciclasine）为 1 重量份计，全反式视黄酸为 0.25~10 重量份，BMP signaling agonist sb4 为 2~10 重量份。

15、根据权利要求 12~14 中任一项所述的组合物，其特征在于，所述组合物的给药方式为腹腔注射、静脉注射、灌胃、口服或皮肤涂抹。

16、如权利要求 1-11 中任一项所述的应用，其特征在于，所述组合物为权利要求 12-15 中任一项所述的组合物。

17、一种促进哺乳动物组织或复杂结构或器官再生修复的方法，其包括向有需要的受试者施用蛋白质合成抑制剂或包含蛋白质合成抑制剂的组合物。

18、根据权利要求 17 所述的方法，其中，蛋白质合成抑制剂或包含蛋白质合成抑制剂的组合物为权利要求 1~11 中所涉及的蛋白质合成抑制剂或包含蛋白质合成抑制剂的组合物或权利要求 12-15 中任一项所述的组合物。

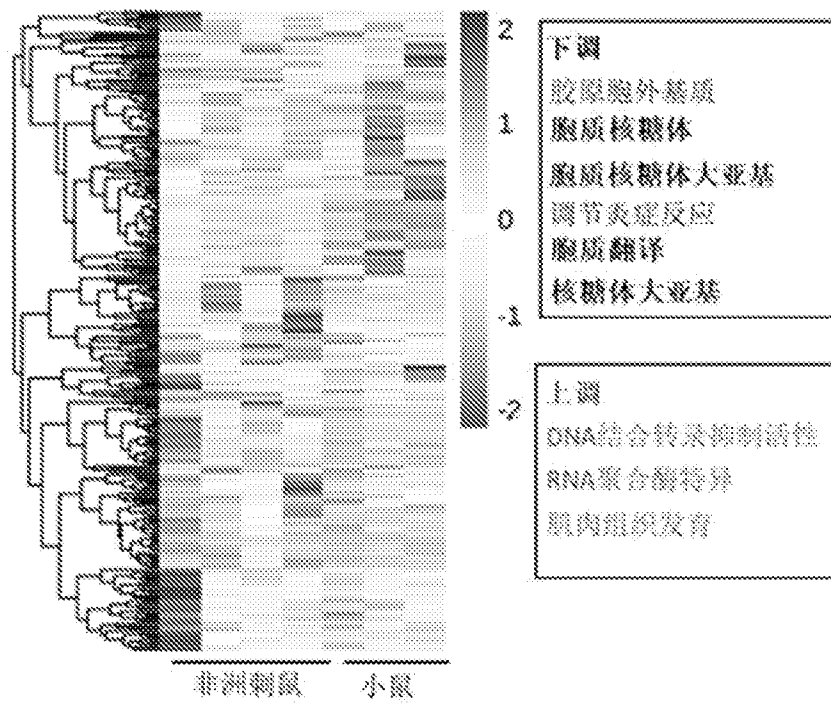


图 1A

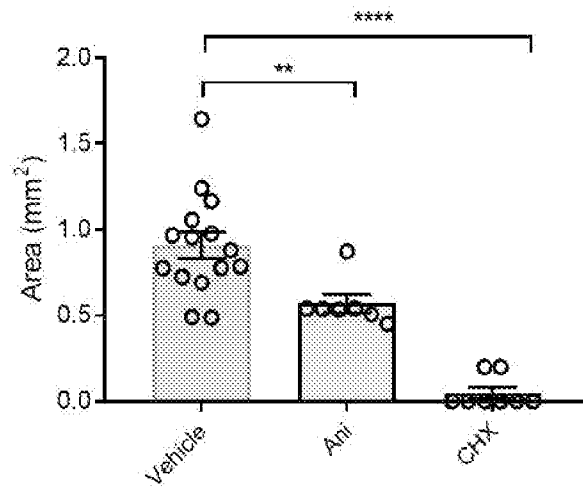


图 1B

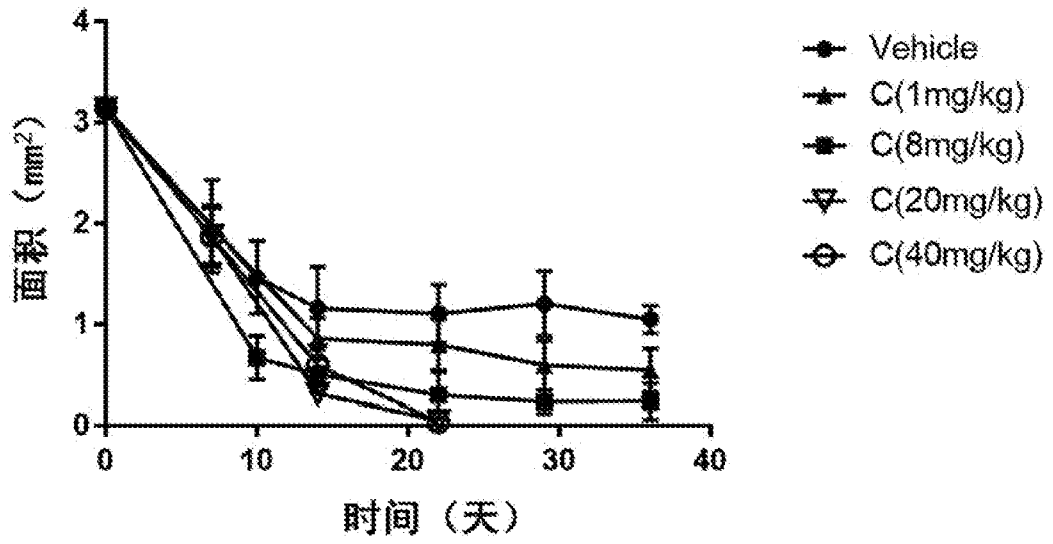


图 1C

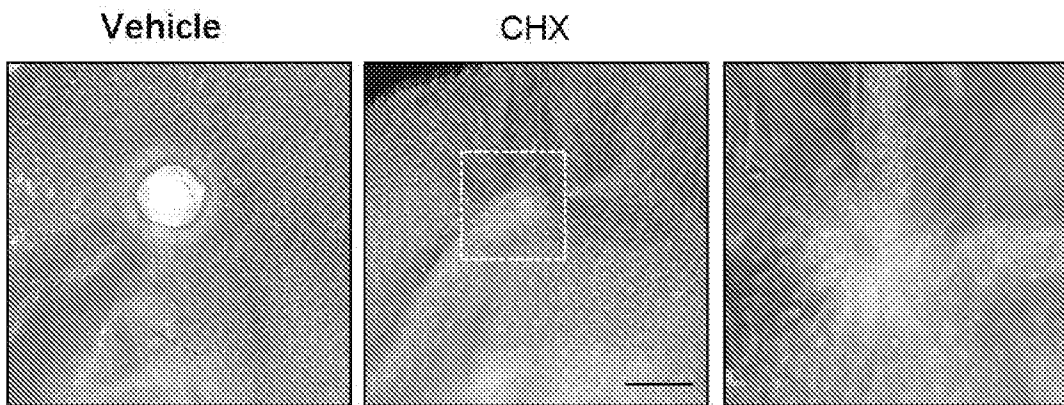


图 1D

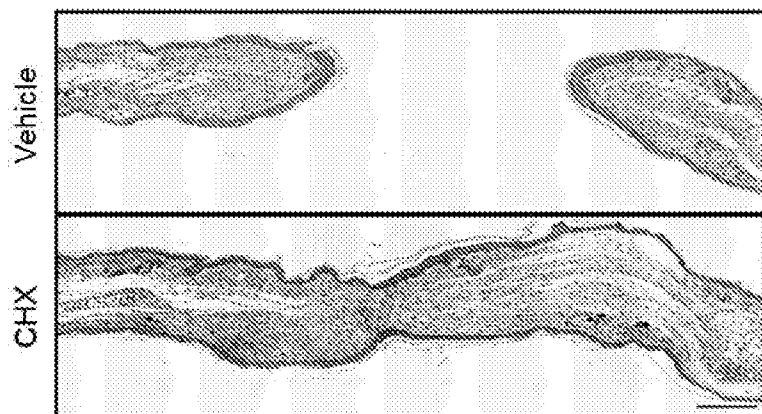


图 1E

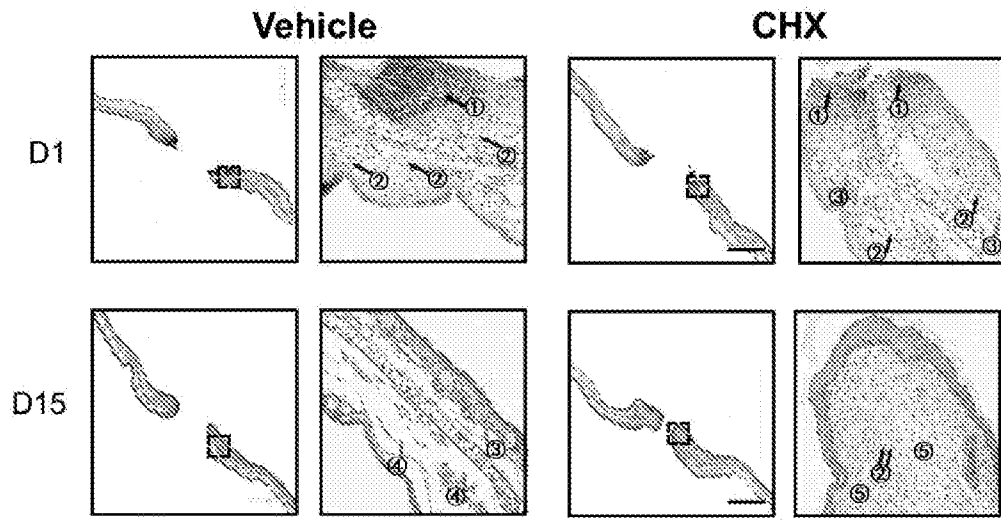


图 1F

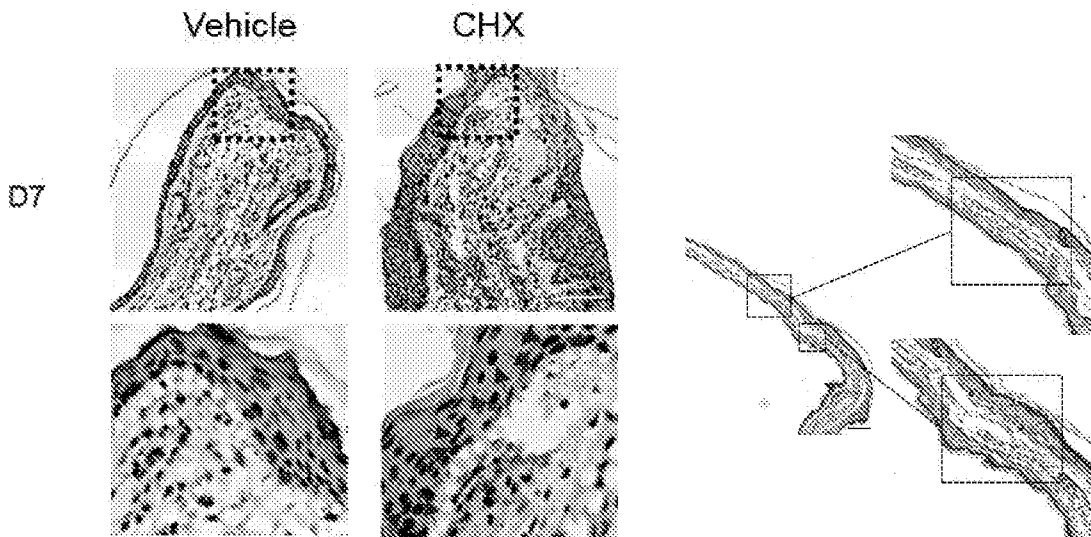


图 1G

图 1H

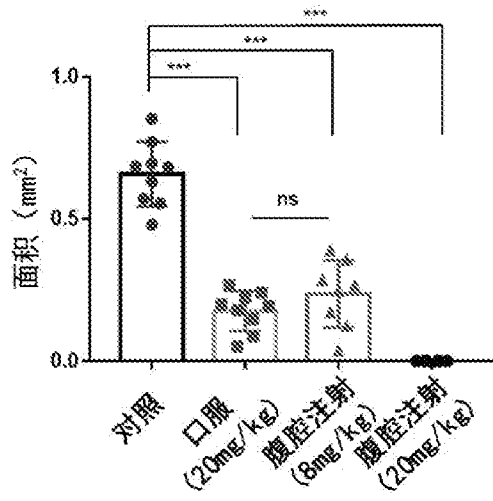


图 1I

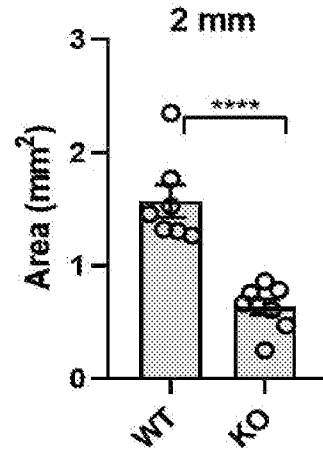


图 1J

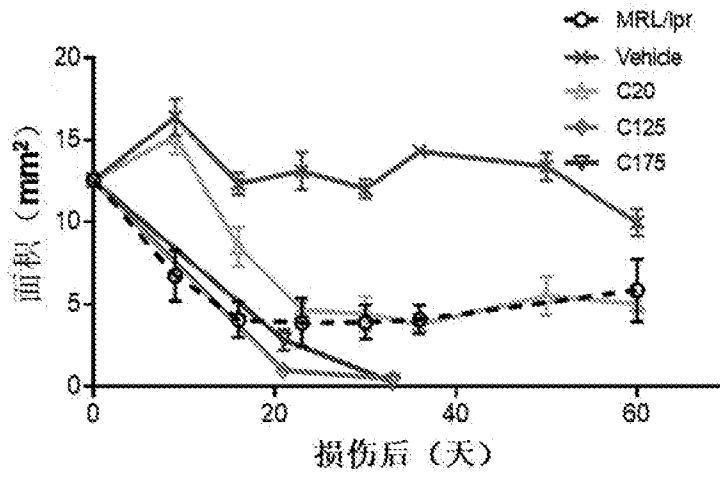


图 2A

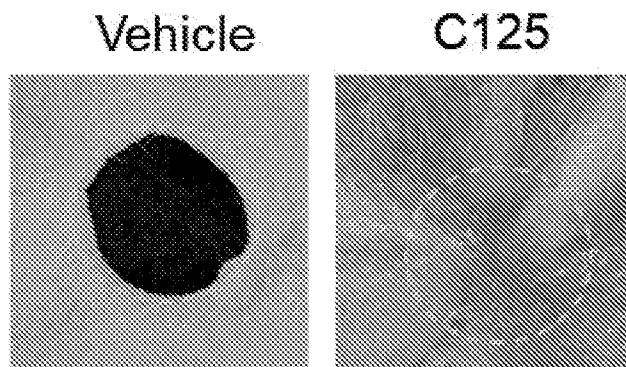


图 2B

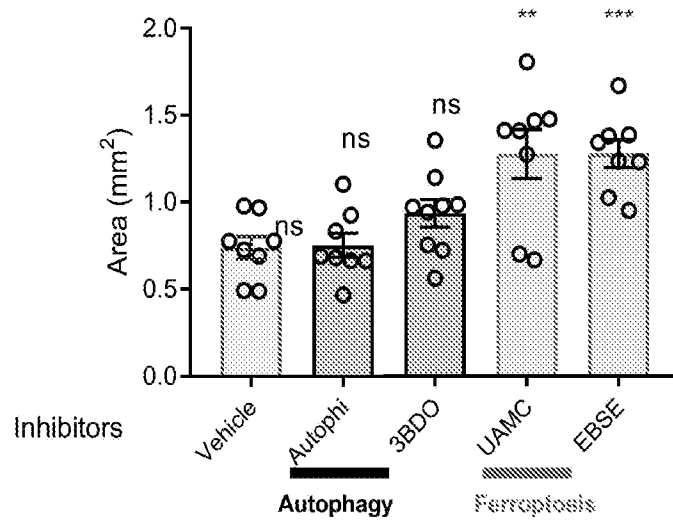


图 3

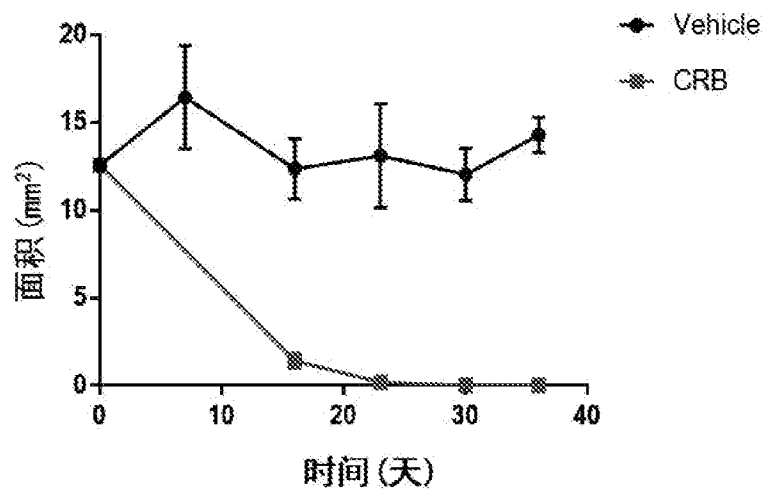


图 4A

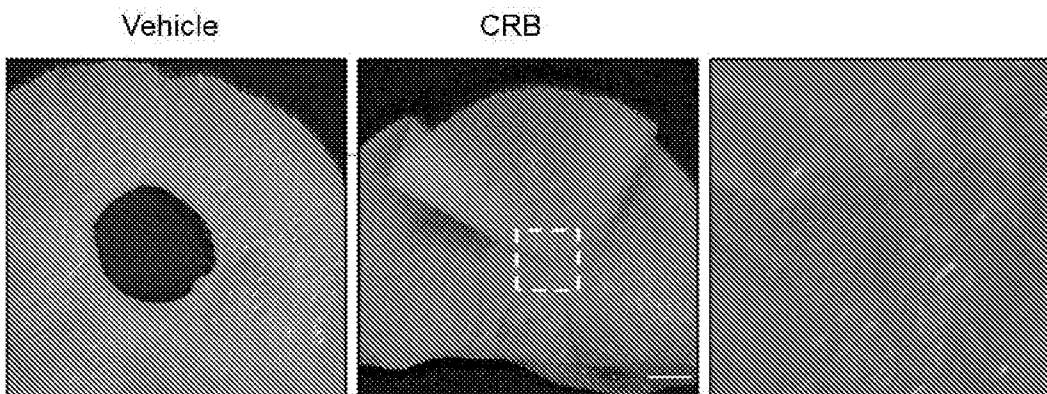


图 4B

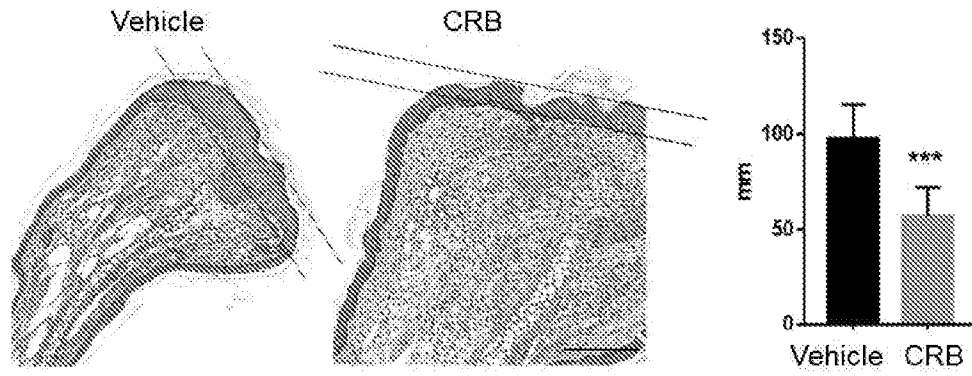


图 4C

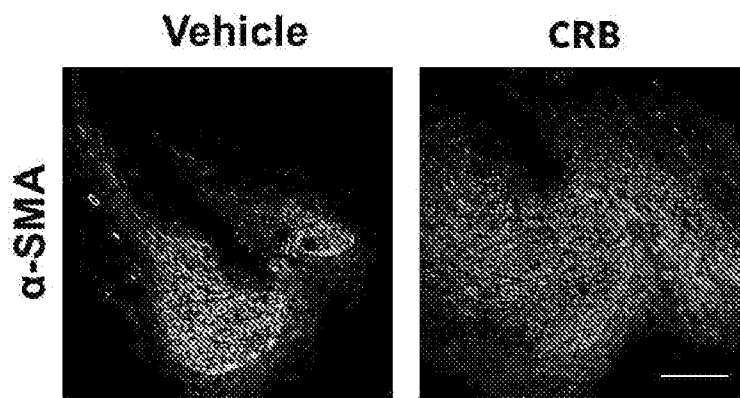


图 4D

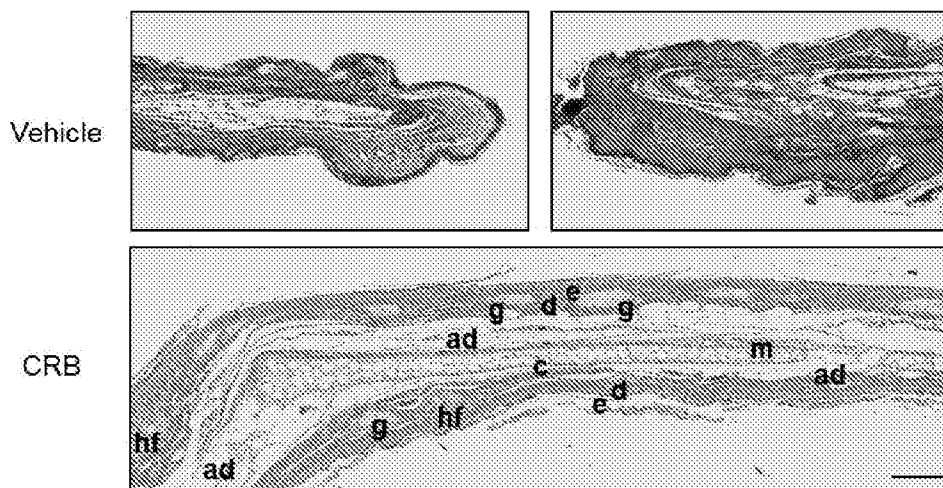
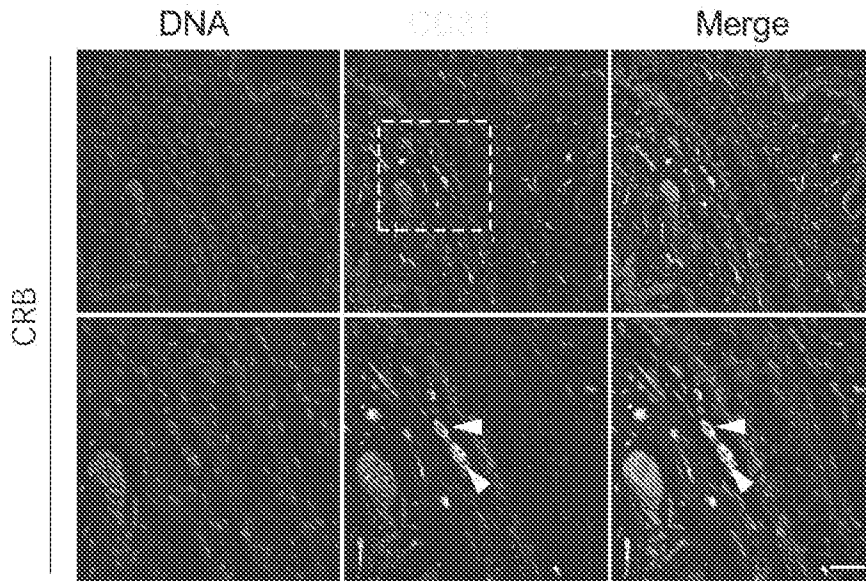


图 4E



4F

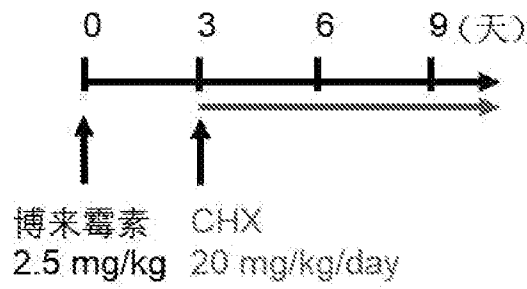


图 5A

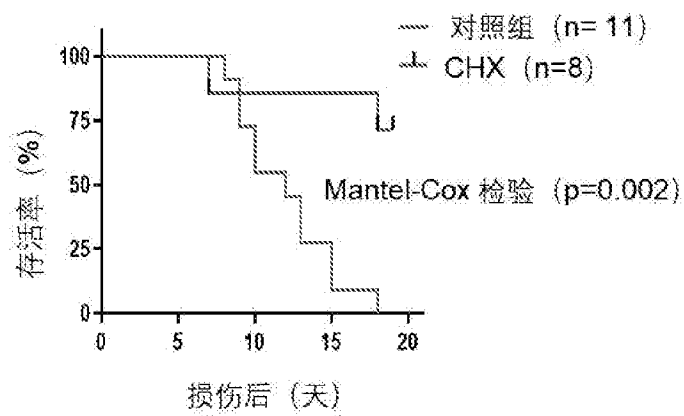


图 5B

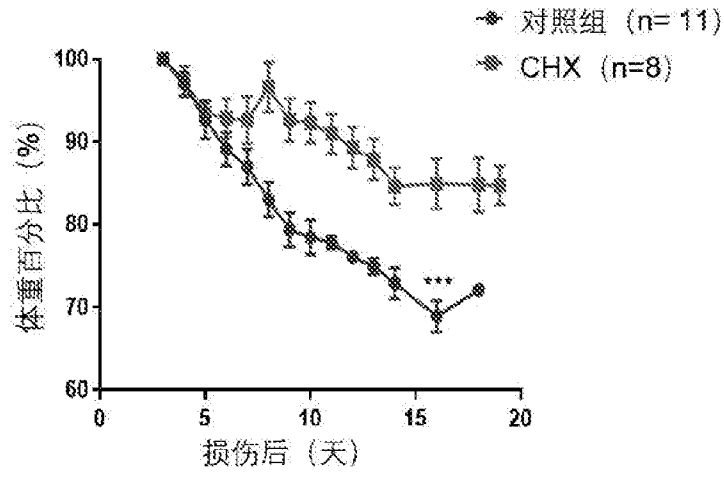


图 5C

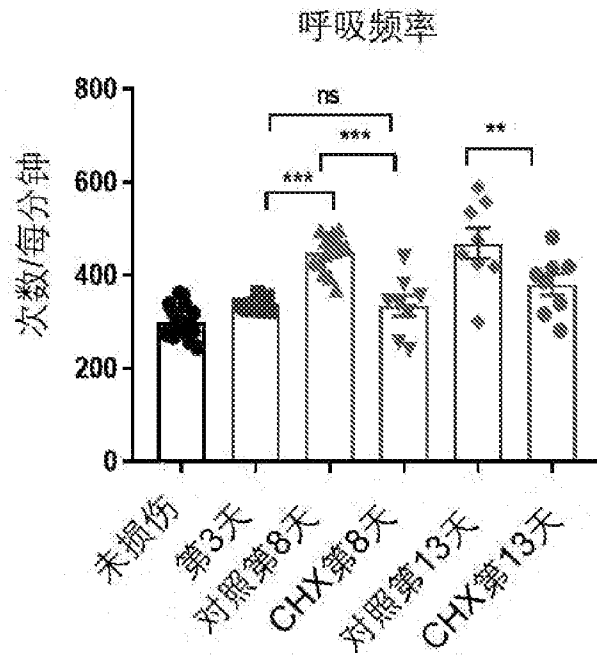


图 5D

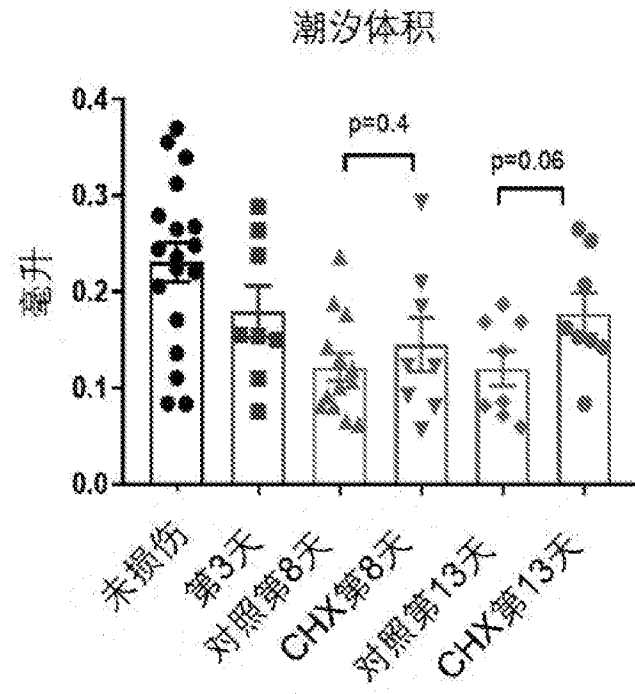


图 5E

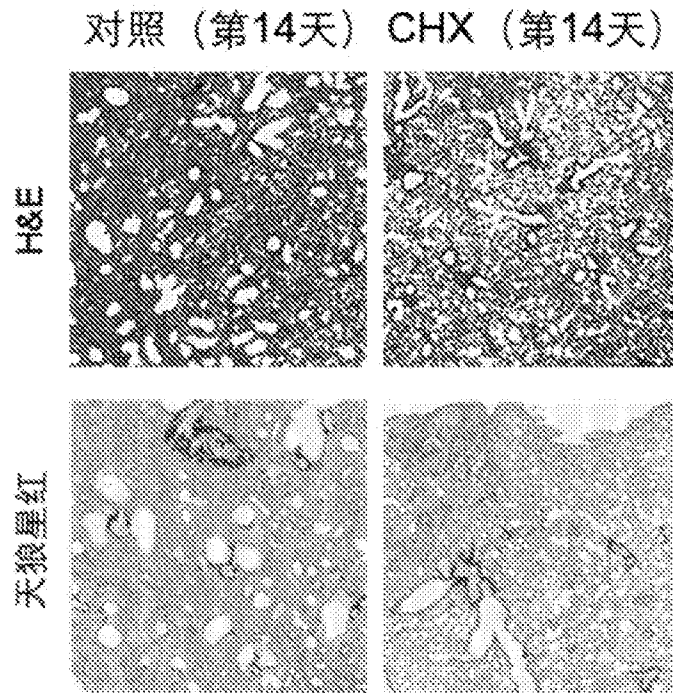


图 5F

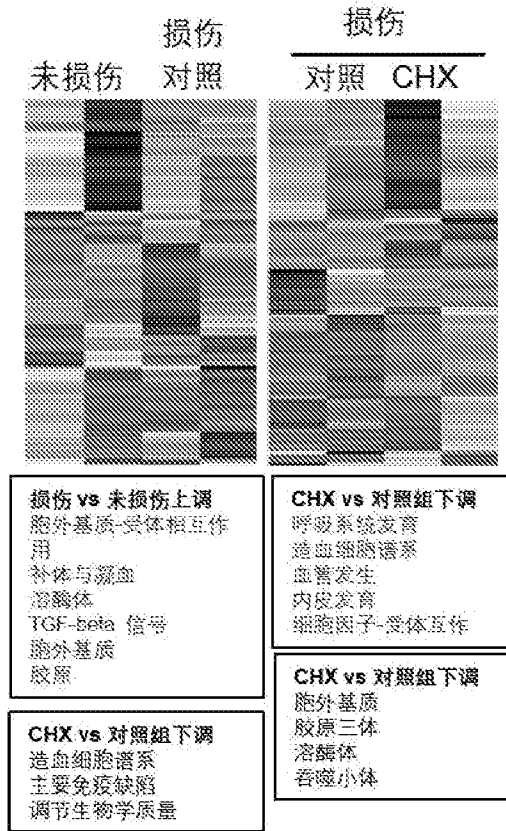


图 5G

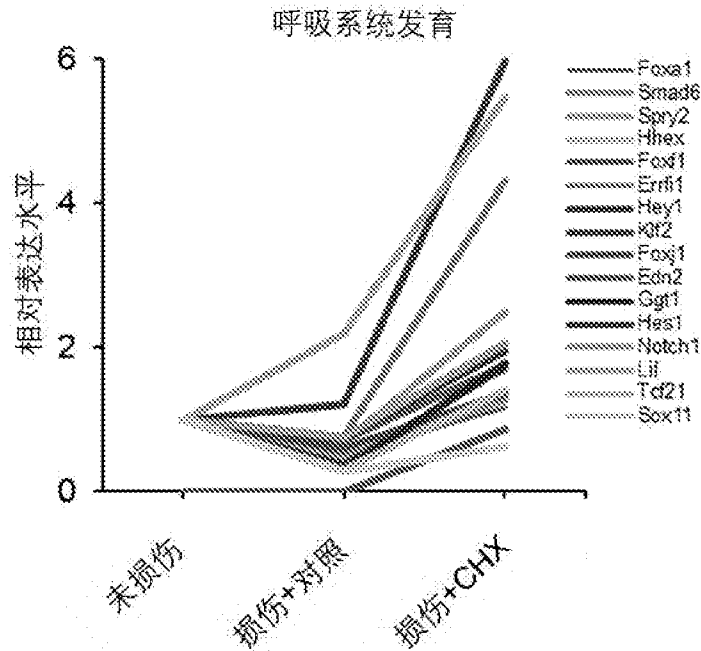


图 5H

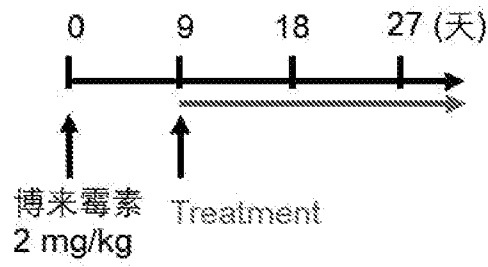


图 5I

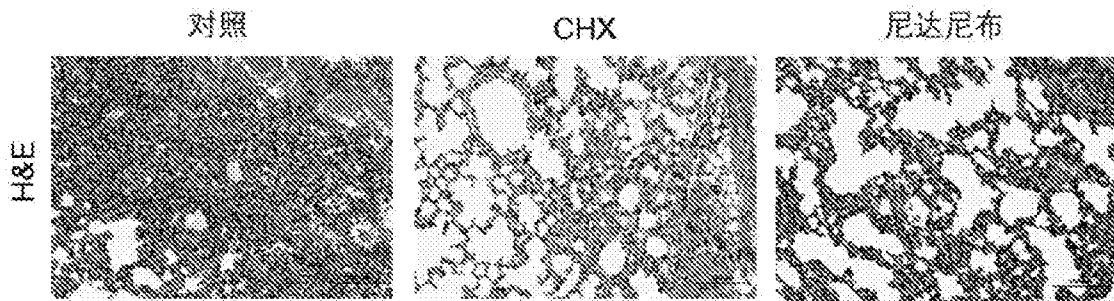


图 5J

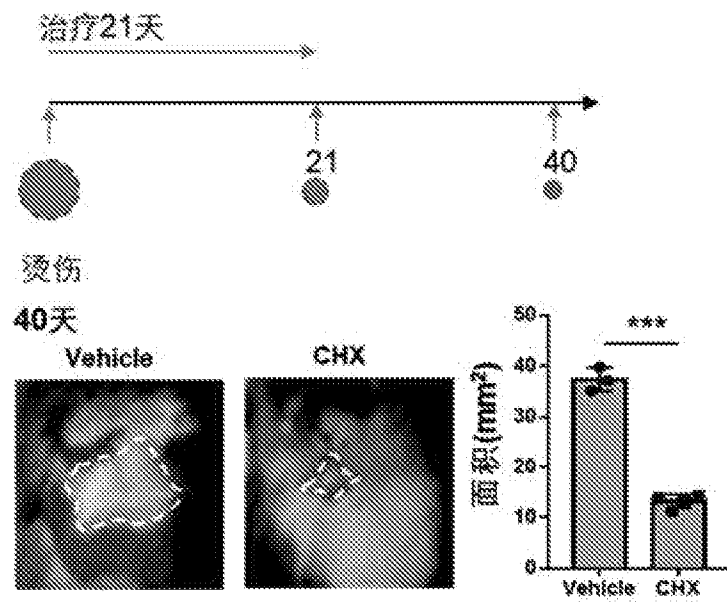


图 6A

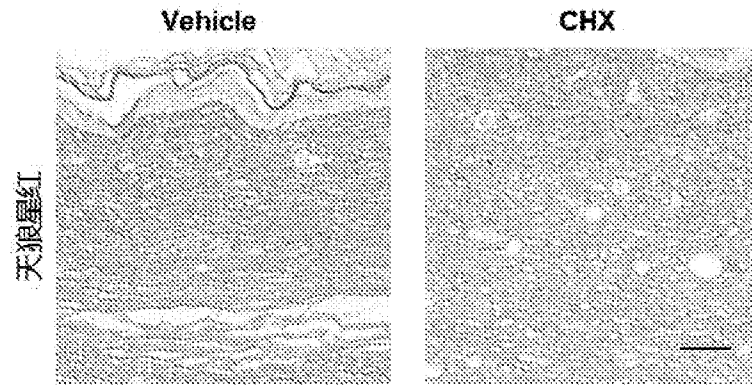


图 6B

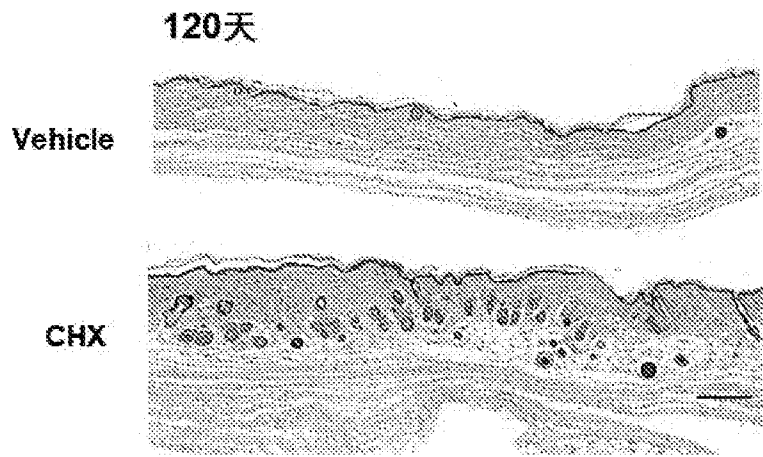


图 6C

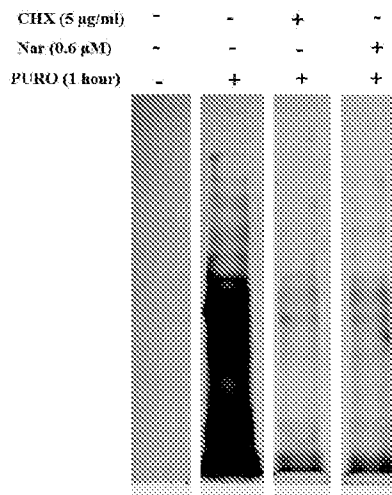


图 7A

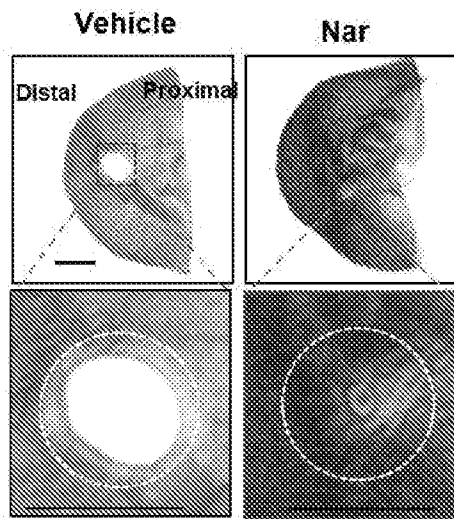


图 7B

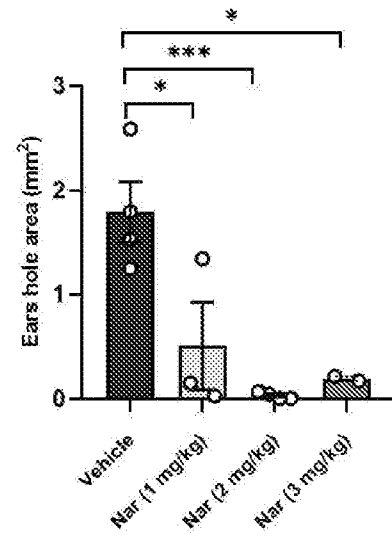


图 7C

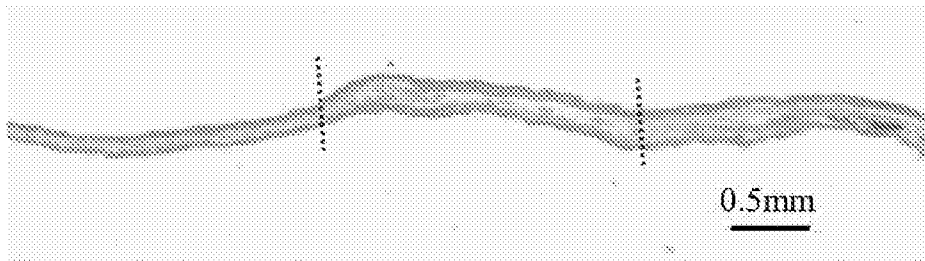


图 7D

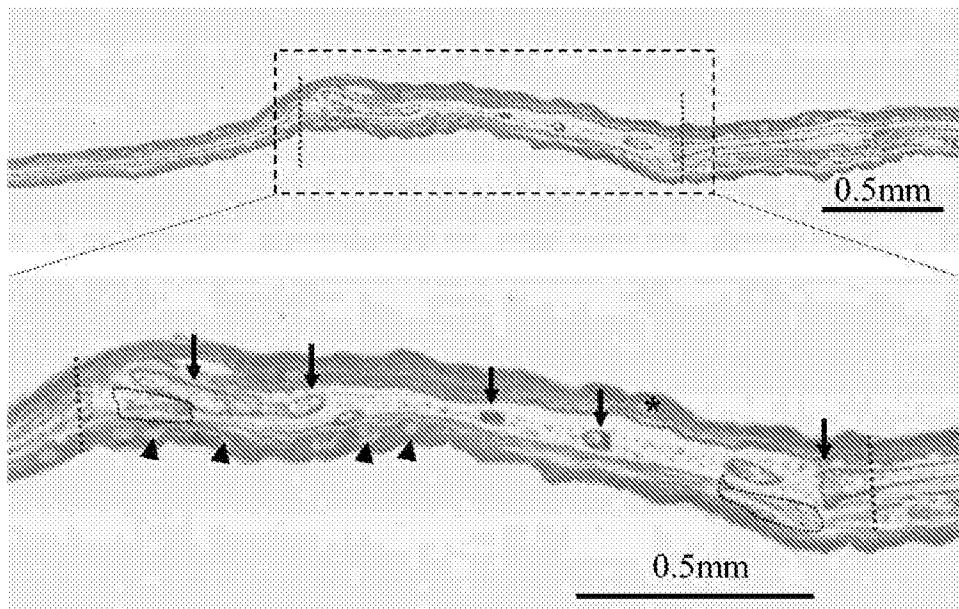


图 7E

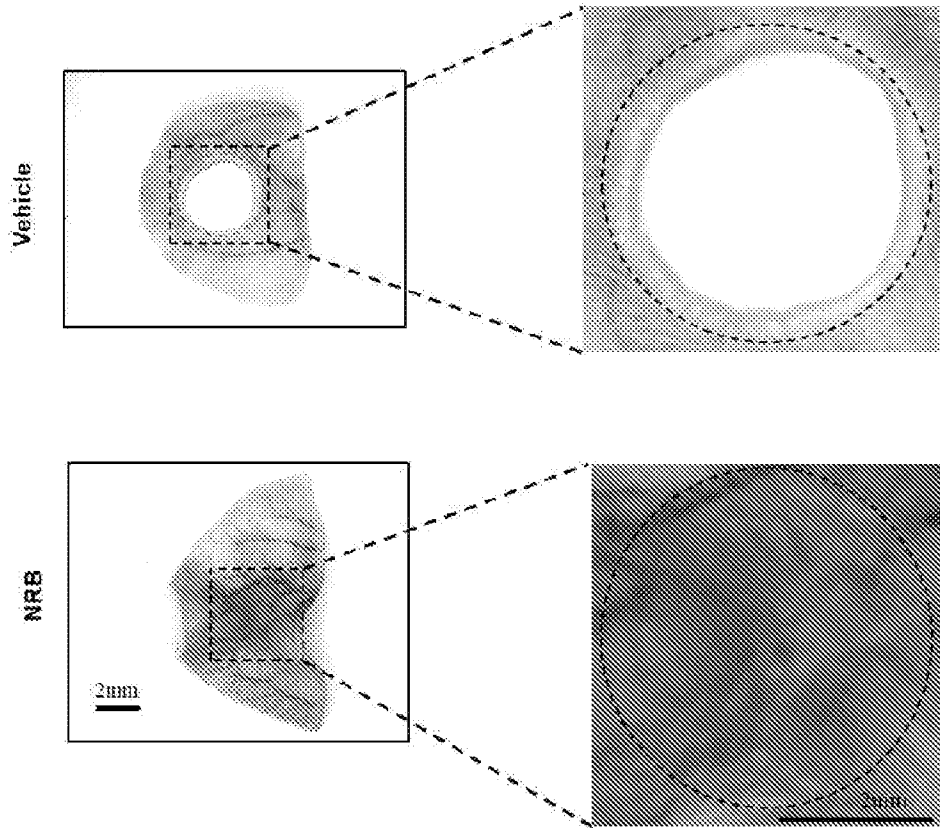


图 7F



图 7G

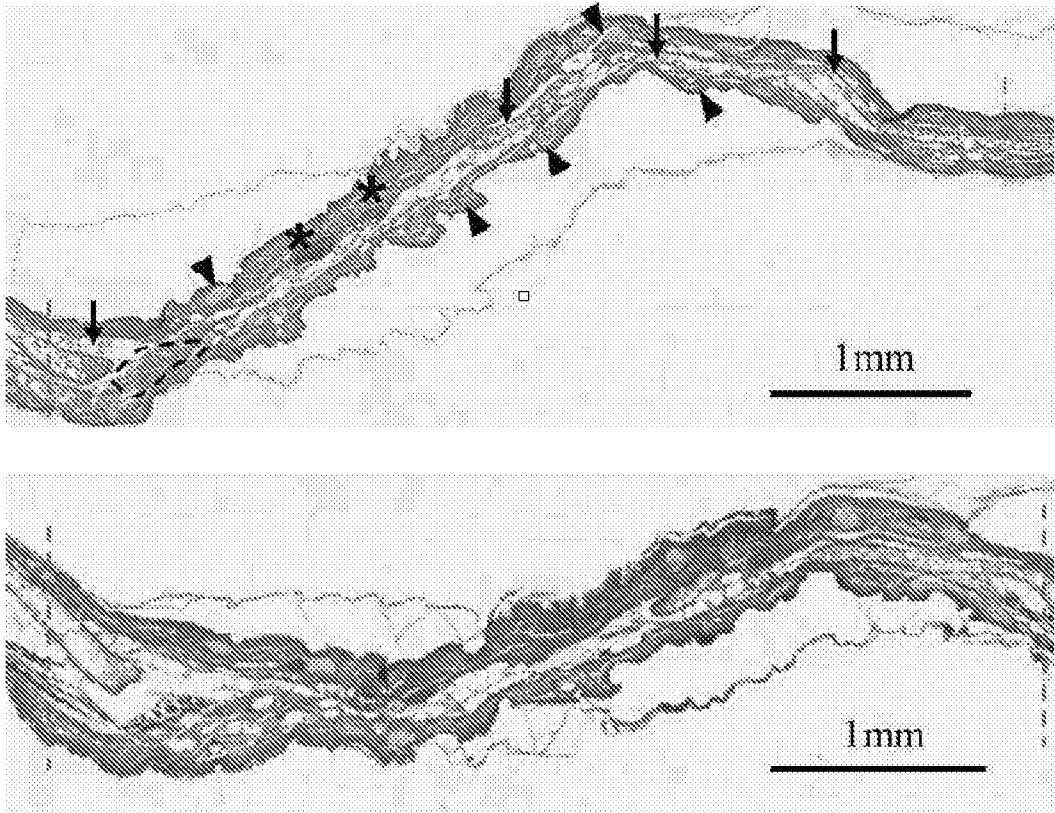


图 7H

Pan (0.6 μ M)	-	-	+
PURO (1 hour)	-	+	+

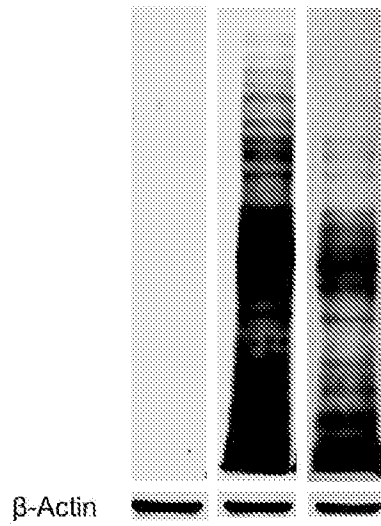


图 8A

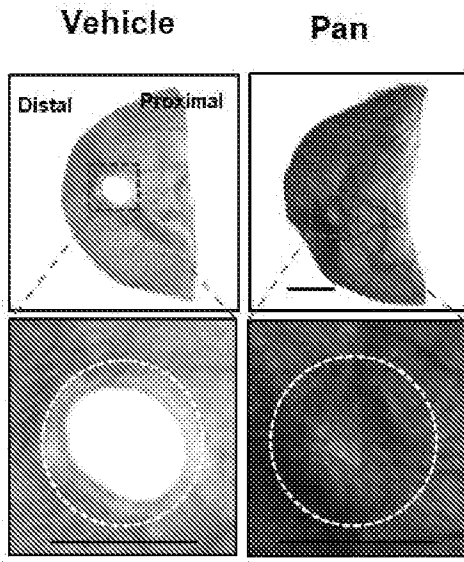


图 8B

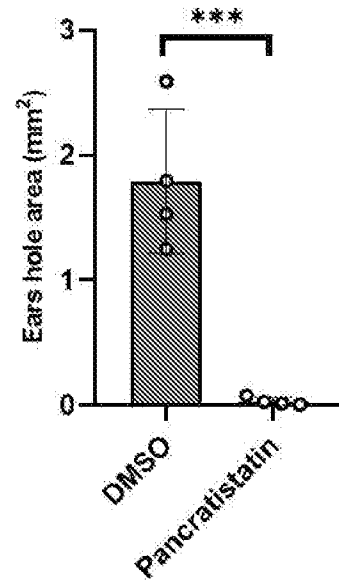


图 8C

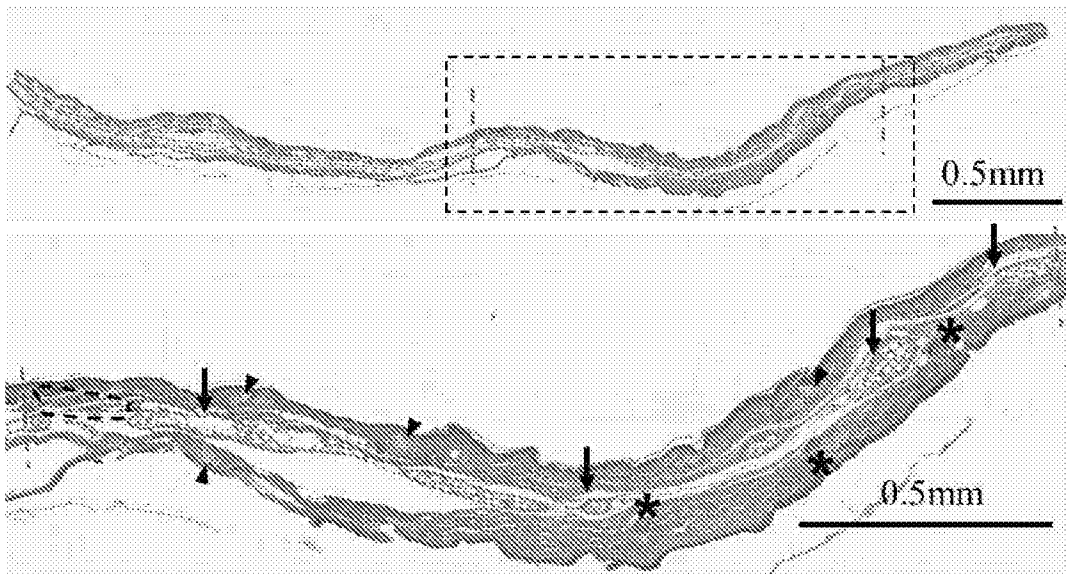


图 8D

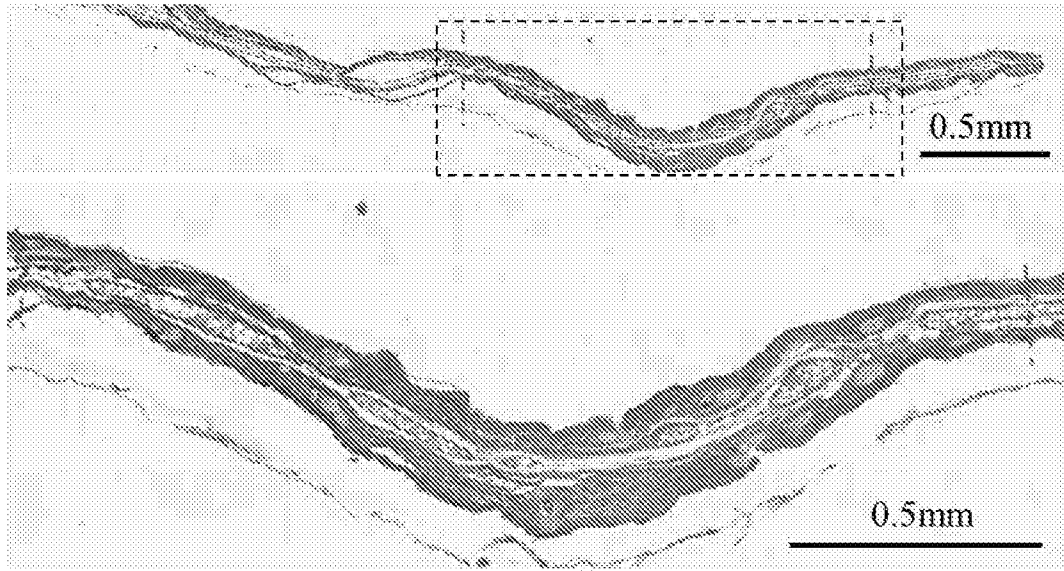


图 8E



图 9A

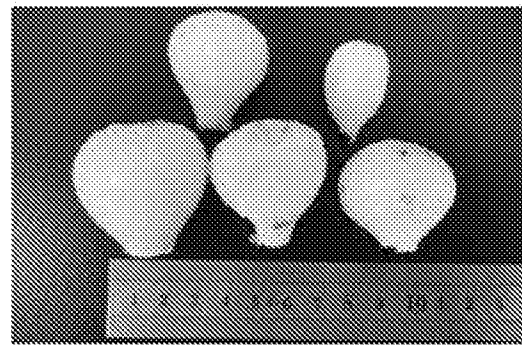


图 9B



图 9C

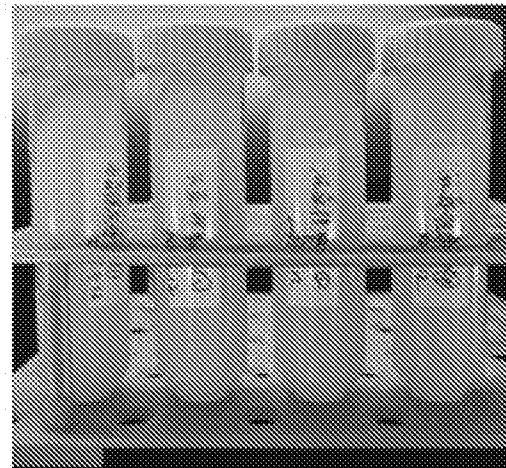


图 9D

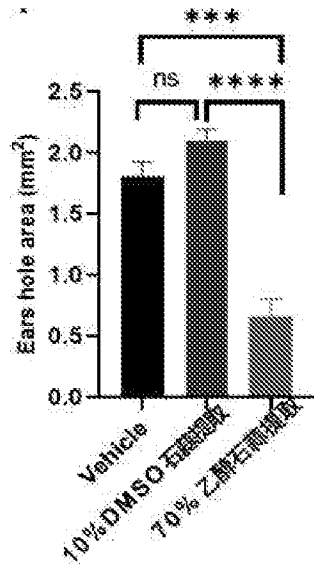


图 9E

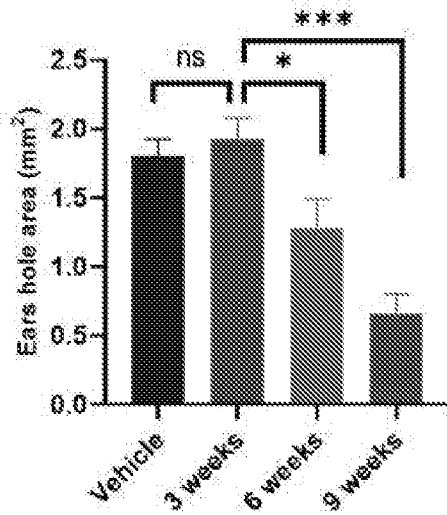


图 9F

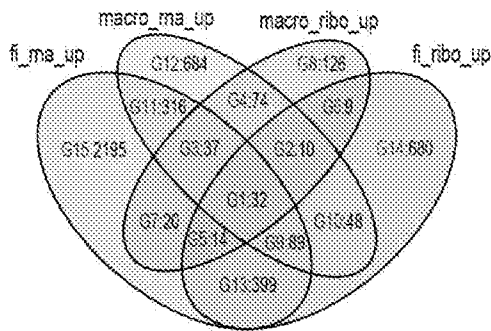


图 10A

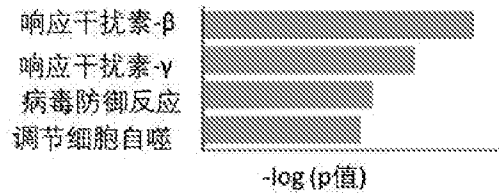


图 10B

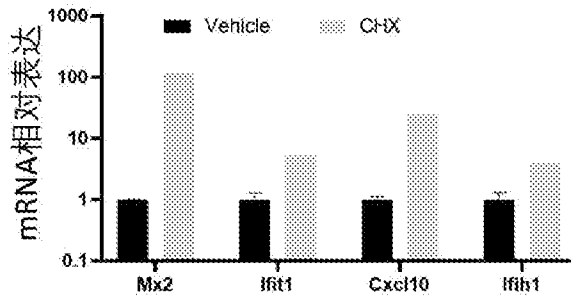


图 10C

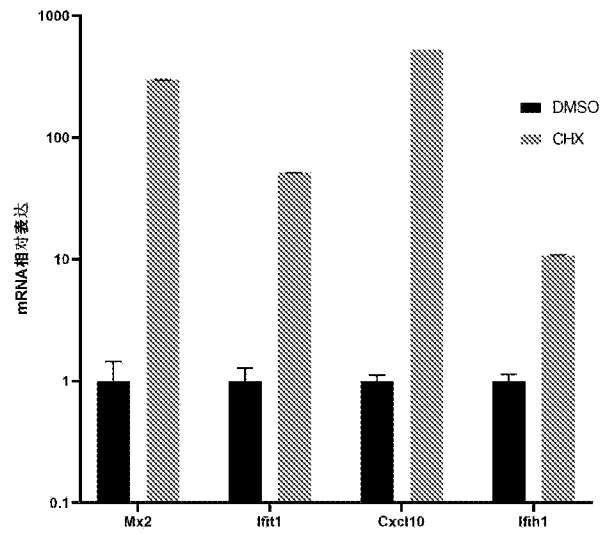


图 10D

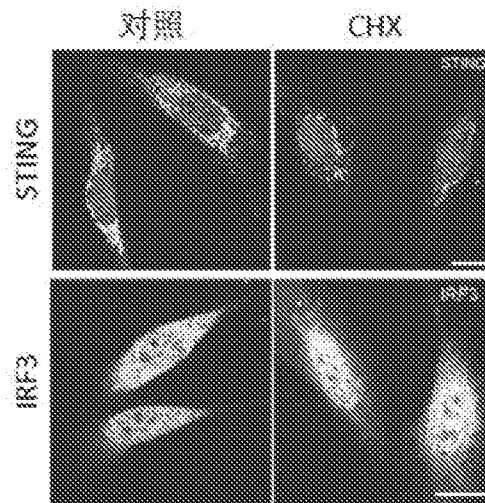


图 10E

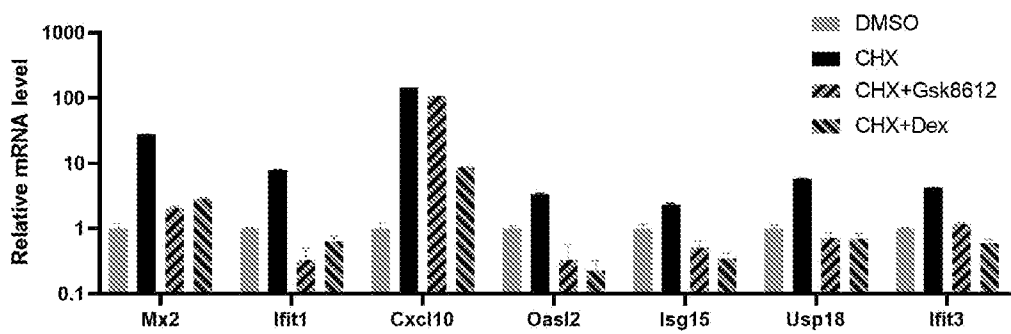


图 10F

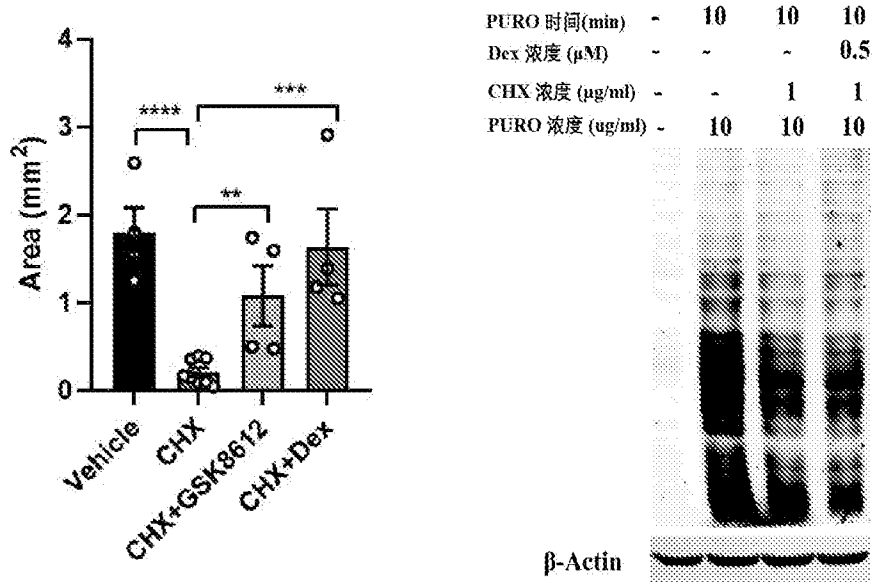


图 10G

图 10H

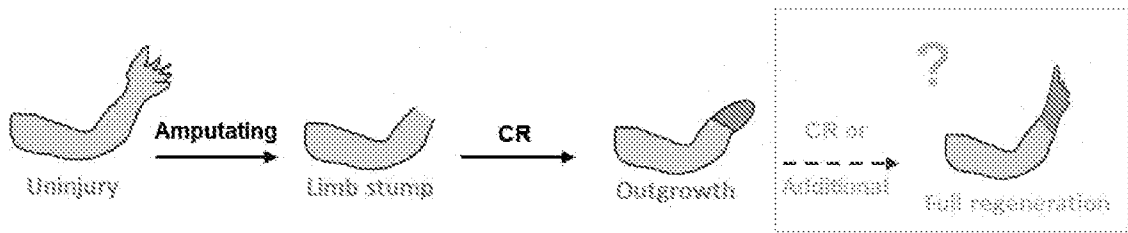


图 11A

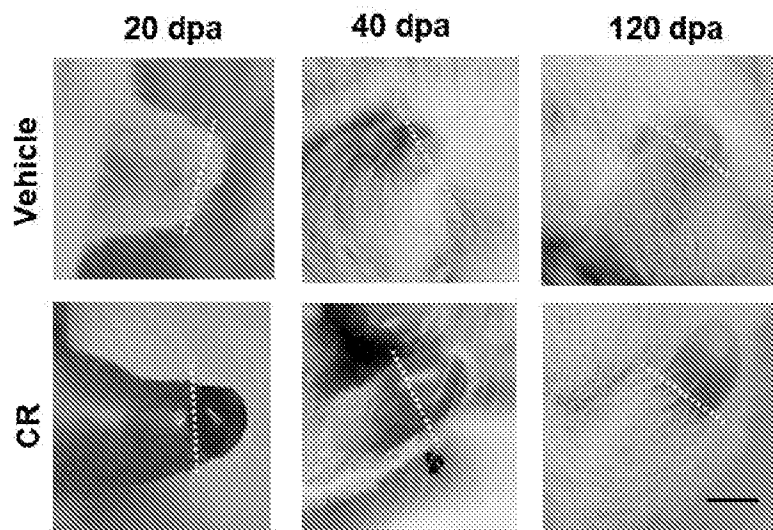


图 11B

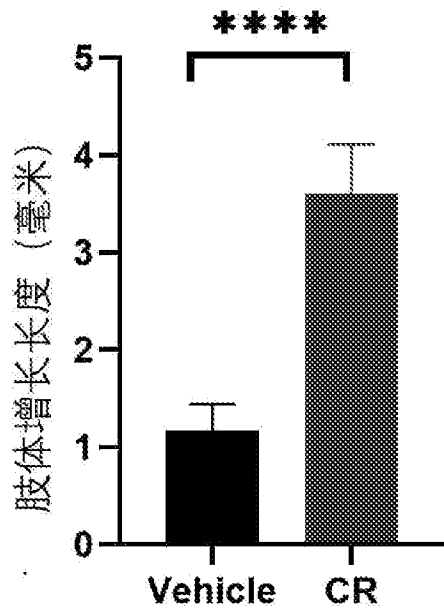


图 11C

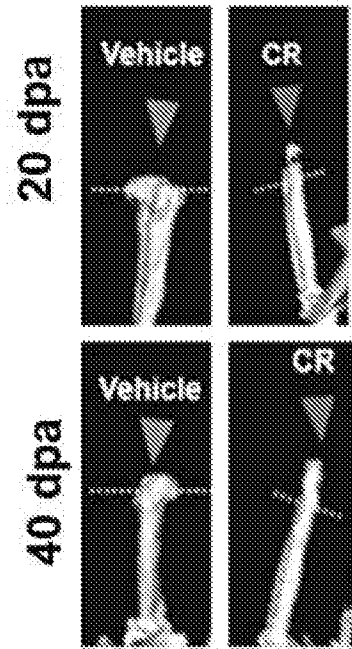


图 11D

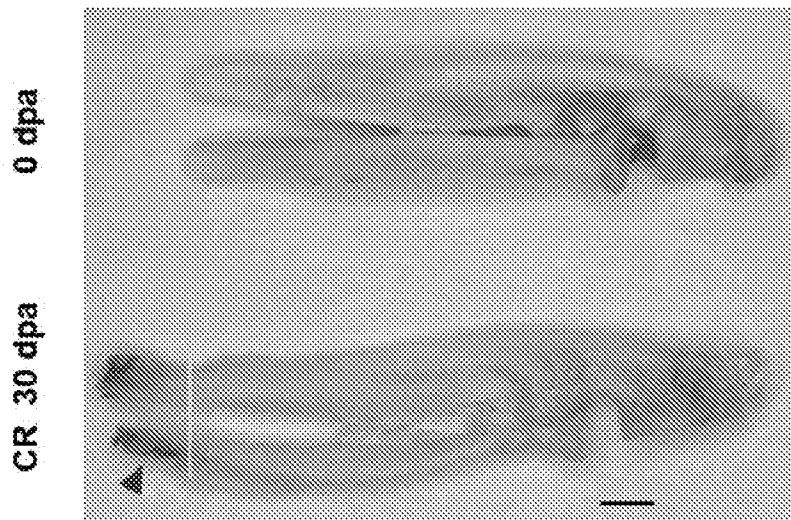


图 11E

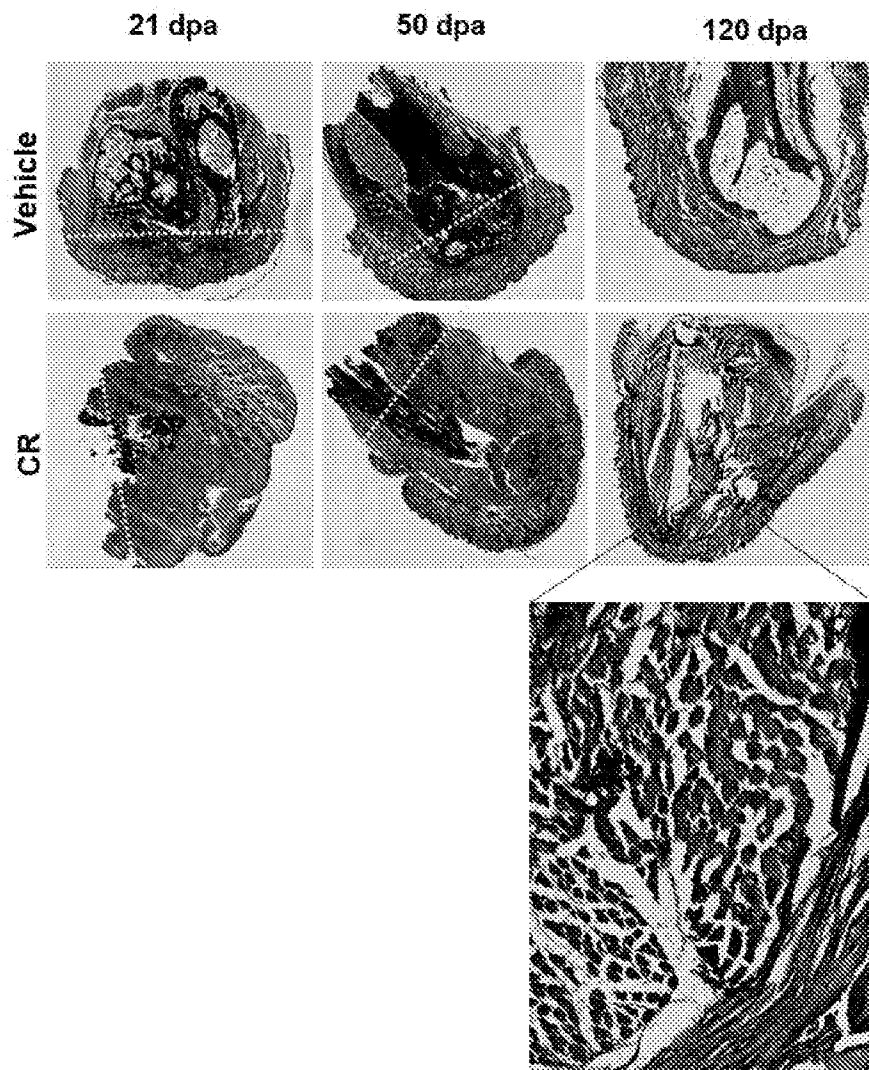


图 11F

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/100867

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
A61K31/435(2006.01)i; A61K31/675(2006.01)i; A61K31/203(2006.01)i; A61K31/42(2006.01)i; A61P17/02(2006.01)i; A61P11/00(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
IPC:A61K, A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
CNTXT; DWPI; WPABSC; ENTXTC; VEN; WFCJ; CJFD; CNKI; PubMed; Web of Science; REGISTRY; CAPLUS; 中国药物专利数据库, CHINESE PHARMACEUTICAL PATENT DATABASE; 万方数据, WANFANG DATA; 百度学术, BAIDU SCHOLAR; 读秀, DUXIU: 蛋白质合成抑制剂, 蛋白质合成的抑制剂, 环己米特, 环己亚胺, 环己酰亚胺, 亚胺环己酮, 放线菌酮, 放线酮, 膜海鞘素B, 波凡霉素, 石蒜科植物提取物, 石蒜科生物碱, 水鬼蕉, 水仙环素, 纳斯他汀, 水鬼蕉碱, 全反式视黄酸, 视黄酸, 维A酸, 维甲酸, 全反式维A酸, 维生素A酸, BMP激活剂, 肺纤维化, 肝纤维化, 肺纤维损伤, 烫伤, 耳洞, 闭合, 术后, 切除, 伤口, 损伤, 创伤, 烧伤, 疤痕, 再生, 修复, Cycloheximide, CHX, 66-81-9, Anisomycin, 22862-76-6, Didemnin B, DIDB, Bouvardin, Narciclasine, 29477-83-6, Pancratistatin, etinoic acid, BMP activator, fibrosis, burn, ear hole, closure, postoperative, resection, wound, injury, trauma, scar, regeneration, repair, BMP signaling agonist sb4		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2011127164 A2 (FATE THERAPEUTICS, INC. et al.) 13 October 2011 (2011-10-13) claims 1-18, figure 82	1-9, 11, 17-18
Y	WO 2011127164 A2 (FATE THERAPEUTICS, INC. et al.) 13 October 2011 (2011-10-13) claims 1-18, figure 82	12-16
X	US 2019350923 A1 (MEDIZINISCHE HOCHSCHULE HANNOVER (MHH)) 21 November 2019 (2019-11-21) claims 1-7	1-9, 11, 17-18
X	US 2009203646 A1 (SUN HEALTH RESEARCH INSTITUTE) 13 August 2009 (2009-08-13) description, paragraphs 0002, 0045	1-11, 17-18
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
15 September 2023		28 September 2023
Name and mailing address of the ISA/CN		Authorized officer
China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088		Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/100867

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CN 102727478 A (HEFEI BOLTEC BIOPHARM CO., LTD.) 17 October 2012 (2012-10-17) claim 1	12-16
Y	Bradford S. et al. "High-Throughput Screens for Agonists of Bone Morphogenetic Protein (BMP) Signaling Identify Potent Benzoxazole Compounds" <i>Journal of Biological Chemistry</i> , Vol. 294, No. (9), 01 March 2019 (2019-03-01), ISSN: 0021-9258, abstract, page 3125, paragraph 1	12-16

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: **1, 4-7, 9-11, 16-18**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

These claims fall within methods for diagnosis or treatment of diseases (PCT Rule 39.1(iv)); however, a search is still performed on the basis of the reasonably expected amendment of a corresponding pharmaceutical use of the substance.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No. PCT/CN2023/100867

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
WO	2011127164	A2	13 October 2011	US	2013274215	A1	17 October 2013
				WO	2011127164	A3	05 April 2012
US	2019350923	A1	21 November 2019	US	11185539	B2	30 November 2021
				JP	2020505466	A	20 February 2020
				JP	7266534	B2	28 April 2023
				EP	3576732	A1	11 December 2019
				WO	2018141678	A1	09 August 2018
				CA	3052092	A1	09 August 2018
US	2009203646	A1	13 August 2009	None			
CN	102727478	A	17 October 2012	None			

<p>A. 主题的分类</p> <p>A61K31/435(2006.01)i; A61K31/675(2006.01)i; A61K31/203(2006.01)i; A61K31/42(2006.01)i; A61P17/02(2006.01)i; A61P11/00(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																	
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>IPC:A61K, A61P</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNTXT;DWPI;WPABSC;ENTXTC;VEN;WFCJ;CJFD;CNKI;PubMed;Web of Science;REGISTRY;CAPLUS;中国药物专利数据库;万方数据;百度学术;读秀;蛋白质合成抑制剂, 蛋白质合成的抑制剂, 环己米特, 环己亚胺, 环己酰亚胺, 亚胺环己酮, 放线菌酮, 放线酮, 膜海鞘素B, 波凡霉素, 石蒜科植物提取物, 石蒜科生物碱, 水鬼蕉, 水仙环素, 纳斯他汀, 水鬼蕉碱, 全反式视黄酸, 视黄酸, 维A酸, 维甲酸, 全反式维A酸, 维生素A酸, BMP激活剂, 肺纤维化, 肝纤维化, 肺纤维损伤, 烫伤, 耳洞, 闭合, 术后, 切除, 伤口, 损伤, 创伤, 烧伤, 疤痕, 再生, 修复, Cycloheximide, CHX, 66-81-9, Anisomycin, 22862-76-6, Didemnin B, DIDB, Bouvardin, Narciclasine, 29477-83-6, Pancreatistatin, etinoic acid, BMP activator, fibrosis, burn, ear hole, closure, postoperative, resection, wound, injury, trauma, scar, regeneration, repair, BMP signaling agonist sb4</p>																	
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>WO 2011127164 A2 (FATE THERAPEUTICS INC等) 2011年10月13日 (2011 - 10 - 13) 权利要求1-18, 图82</td> <td>1-9, 11, 17-18</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>WO 2011127164 A2 (FATE THERAPEUTICS INC等) 2011年10月13日 (2011 - 10 - 13) 权利要求1-18, 图82</td> <td>12-16</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>US 2019350923 A1 (MEDIZINISCHE HOCHSCHULE HANNOVER MHH) 2019年11月21日 (2019 - 11 - 21) 权利要求1-7</td> <td>1-9, 11, 17-18</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>US 2009203646 A1 (SUN HEALTH RES INST) 2009年8月13日 (2009 - 08 - 13) 说明书第0002、0045段</td> <td>1-11, 17-18</td> </tr> </tbody> </table> <p><input checked="" type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p> <p>* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “D” 申请人在国际申请中引证的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件</p>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	X	WO 2011127164 A2 (FATE THERAPEUTICS INC等) 2011年10月13日 (2011 - 10 - 13) 权利要求1-18, 图82	1-9, 11, 17-18	Y	WO 2011127164 A2 (FATE THERAPEUTICS INC等) 2011年10月13日 (2011 - 10 - 13) 权利要求1-18, 图82	12-16	X	US 2019350923 A1 (MEDIZINISCHE HOCHSCHULE HANNOVER MHH) 2019年11月21日 (2019 - 11 - 21) 权利要求1-7	1-9, 11, 17-18	X	US 2009203646 A1 (SUN HEALTH RES INST) 2009年8月13日 (2009 - 08 - 13) 说明书第0002、0045段	1-11, 17-18
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求															
X	WO 2011127164 A2 (FATE THERAPEUTICS INC等) 2011年10月13日 (2011 - 10 - 13) 权利要求1-18, 图82	1-9, 11, 17-18															
Y	WO 2011127164 A2 (FATE THERAPEUTICS INC等) 2011年10月13日 (2011 - 10 - 13) 权利要求1-18, 图82	12-16															
X	US 2019350923 A1 (MEDIZINISCHE HOCHSCHULE HANNOVER MHH) 2019年11月21日 (2019 - 11 - 21) 权利要求1-7	1-9, 11, 17-18															
X	US 2009203646 A1 (SUN HEALTH RES INST) 2009年8月13日 (2009 - 08 - 13) 说明书第0002、0045段	1-11, 17-18															
国际检索实际完成的日期	2023年9月15日	国际检索报告邮寄日期	2023年9月28日														
ISA/CN的名称和邮寄地址	中国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088	授权官员	常明露 电话号码 (+86) 010-62411571														

C. 相关文件		
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
Y	CN 102727478 A (合肥博太医药生物技术发展有限公司) 2012年10月17日 (2012 - 10 - 17) 权利要求1	12-16
Y	Bradford S 等. "High-throughput screens for agonists of bone morphogenetic protein (BMP) signaling identify potent benzoxazole compounds" 《Journal of Biological Chemistry》, 第294卷, 第9期, 2019年3月1日 (2019 - 03 - 01), ISSN: 0021-9258, 摘要、第3125页第1段	12-16

第II栏 某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下：

1. 权利要求： 1, 4-7, 9-11, 16-18
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：
这些权利要求属于诊断或治疗疾病的方法(PCT细则39.1(iv))，但还是针对合理预期的修改后的所述物质的相应制药应用进行了检索。
2. 权利要求：
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索，具体地说：
3. 权利要求：
因为它们是从属权利要求，并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2023/100867

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
WO	2011127164	A2	2011年10月13日	US	2013274215	A1	2013年10月17日
				WO	2011127164	A3	2012年4月5日
US	2019350923	A1	2019年11月21日	US	11185539	B2	2021年11月30日
				JP	2020505466	A	2020年2月20日
				JP	7266534	B2	2023年4月28日
				EP	3576732	A1	2019年12月11日
				WO	2018141678	A1	2018年8月9日
				CA	3052092	A1	2018年8月9日
US	2009203646	A1	2009年8月13日	无			
CN	102727478	A	2012年10月17日	无			