



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111479577 A

(43)申请公布日 2020.07.31

(21)申请号 201880047692.1

(74)专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司 11245

(22)申请日 2018.06.13

代理人 尚晓芹

(30)优先权数据

62/519,087 2017.06.13 US

(51)Int.Cl.

A61K 35/60(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

A61K 33/04(2006.01)

2020.01.17

A61P 35/00(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2018/037263 2018.06.13

(87)PCT国际申请的公布数据

W02018/231937 EN 2018.12.20

(71)申请人 夏滉

地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 夏滉

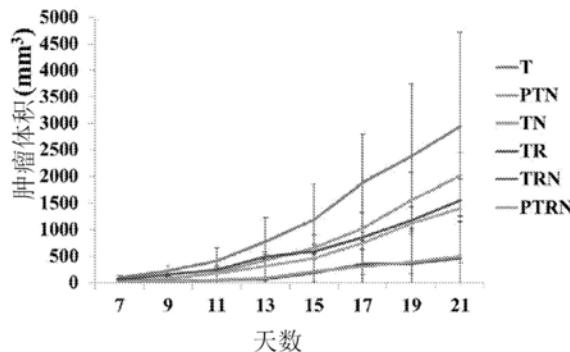
权利要求书6页 说明书17页 附图40页

(54)发明名称

用于增强癌症放疗的组合物和方法

(57)摘要

已经确定了包含鱼油和硒的营养补充剂以协同的方式增强肿瘤的放疗。相对于单独放疗，这种补充剂和放疗的协同疗法导致动物模型的肿瘤体积明显改善的减少，并且减少了常见的副作用，例如体重减轻、炎症和胃肠道损害。还发现这种协同疗法可以减少从原发性植入部位转移的发生率，并调节与肿瘤细胞中凋亡相关的基因的表达。还提供了具有良好的耐受性和可口性的这种补充剂的制剂。



1. 一种治疗肿瘤的方法,其包括:  
将放疗方案应用于需要治疗的患者;和  
以提供减小肿瘤体积或重量的协同作用的量向患者提供包括鱼油和硒的营养补充剂。
2. 根据权利要求1所述的方法,其中在开始放疗之前向患者提供所述营养补充剂。
3. 根据权利要求1或2所述的方法,其中所述营养补充剂配制为使得以如表1中所描述的量提供所述补充剂的多种组分。
4. 根据权利要求1或2所述的方法,其中所述补充剂包括如表1中所描述的三种或更多种组分。
5. 一种减少放疗的副作用的方法,其包括:  
将放疗方案应用于需要治疗的患者;和  
以减少所述放疗方案的副作用的量向患者提供包括鱼油和硒的营养补充剂。
6. 根据权利要求5所述的方法,其中在开始放疗之前向患者提供所述营养补充剂。
7. 根据权利要求5或6所述的方法,其中所述营养补充剂配制为使得以如表1中所描述的量提供所述补充剂的多种组分。
8. 根据权利要求5或6所述的方法,其中所述补充剂包括如表1中所描述的三种或更多种组分。
9. 一种调节肿瘤中的基因表达的方法,其包括:  
向肿瘤或患有肿瘤的动物提供营养补充剂,其中所述营养补充剂包括鱼油和硒,并且其中以调节所述肿瘤的基因表达的量提供所述营养补充剂。
10. 根据权利要求9所述的方法,其中在开始放疗之前向患者提供所述营养补充剂。
11. 根据权利要求9或10所述的方法,其中在放疗应用期间向患者提供所述营养补充剂。
12. 根据权利要求9至11中一项所述的方法,其中所述营养补充剂配制为使得以如表1中所描述的量提供所述营养补充剂的多种组分。
13. 根据权利要求9至11中一项所述的方法,其中所述补充剂包括如表1中所描述的三种或更多种组分。
14. 根据权利要求9至13中一项所述的方法,其中所述基因编码血管生成因子。
15. 根据权利要求9至13中一项所述的方法,其中所述基因编码细胞凋亡因子。
16. 一种减少肿瘤转移的方法,其包括:  
向患有转移性肿瘤的患者提供包括鱼油和硒的营养补充剂,和  
将放疗方案应用于所述患者,  
其中以降低肿瘤的转移活性的量提供所述营养补充剂。
17. 根据权利要求16所述的方法,其中与所述放疗方案同时提供所述营养补充剂。
18. 根据权利要求16或17所述的方法,其中所述营养补充剂配制为使得以如表1中所描述的量提供所述营养补充剂的多种组分。
19. 根据权利要求16或17所述的方法,其中所述补充剂包括如表1中所描述的三种或更多种组分。
20. 一种减少肿瘤中的血管生成的方法,其包括:  
向患有肿瘤的患者提供包括鱼油和硒的营养补充剂;

- 将放疗方案应用于所述患者，  
其中以降低肿瘤的血管生成活性的量提供所述营养补充剂。
21. 根据权利要求20所述的方法，其中与放疗同时提供所述营养补充剂。
22. 根据权利要求20或21所述的方法，其中所述营养补充剂配制为使得以如表1中所描述的量提供所述营养补充剂的多种组分。
23. 根据权利要求20或21所述的方法，其中所述补充剂包括如表1中所描述的三种或更多种组分。
24. 一种减少肿瘤的癌症干细胞的方法，包括：  
向患有肿瘤的患者提供包括鱼油和硒的营养补充剂；和  
应用放疗方案，  
其中以有效地减少肿瘤中的癌症干细胞的出现的量提供所述营养补充剂。
25. 根据权利要求24所述的方法，其中与所述放疗方案同时提供所述营养补充剂。
26. 根据权利要求24或25所述的方法，其中所述营养补充剂配制为使得以如表1中所描述的量提供所述营养补充剂的多种组分。
27. 根据权利要求24或25所述的方法，其中所述营养补充剂包括如表1中所描述的三种或更多种组分。
28. 一种减少癌细胞中PDL-1表达的方法，其包括将放疗方案应用于所述癌细胞。
29. 根据权利要求28所述的方法，进一步包括使所述癌细胞与包括鱼油和硒的营养补充剂接触的步骤。
30. 根据权利要求29所述的方法，其中在开始放疗之前提供所述营养补充剂。
31. 根据权利要求29所述的方法，其中所述营养补充剂配制为使得以如表1中所描述的量提供所述补充剂的多种组分。
32. 根据权利要求29所述的方法，其中所述补充剂包括如表1中所描述的三种或更多种组分。
33. 一种减少癌细胞中PDL-1表达的方法，其包括使所述癌细胞与包括鱼油和硒的营养补充剂接触。
34. 根据权利要求33所述的方法，其中所述营养补充剂配制为使得以如表1中所描述的量提供所述补充剂的多种组分。
35. 根据权利要求33所述的方法，其中所述营养补充剂包括如表1中所描述的三种或更多种组分。
36. 一种增强个体中的抗肿瘤免疫疗法的方法，其包括：  
将抗肿瘤免疫疗法方案应用于患者；和  
将放疗方案应用于所述患者。
37. 根据权利要求36所述的方法，进一步包括向所述患者施用包括鱼油和硒的营养补充剂的步骤。
38. 根据权利要求37所述的方法，其中在开始放疗之前提供所述营养补充剂。
39. 根据权利要求37或38所述的方法，其中所述营养补充剂配制为使得以如表1中所描述的量提供所述补充剂的多种组分。
40. 根据权利要求37或38所述的方法，其中所述补充剂包括如表1中所描述的三种或更

多种组分。

41. 一种增强个体中的抗肿瘤免疫疗法的方法,包括:

将抗肿瘤免疫疗法方案应用于患者;和

向所述患者提供包括鱼油和硒的营养补充剂。

42. 根据权利要求41所述的方法,其中所述营养补充剂配制为使得以如表1中所描述的量提供所述补充剂的多种组分。

43. 根据权利要求41所述的方法,其中所述营养补充剂包括如表1中所描述的三种或更多种组分。

44. 一种减少癌细胞中的EGFR表达的方法,其包括将放疗方案应用于癌细胞。

45. 根据权利要求44所述的方法,进一步包括使所述癌细胞与包括鱼油和硒的营养补充剂接触的步骤。

46. 根据权利要求45所述的方法,其中在开始放疗之前提供所述营养补充剂。

47. 根据权利要求45或46所述的方法,其中所述营养补充剂配制为使得以如表1中所描述的量提供所述补充剂的多种组分。

48. 根据权利要求45或46所述的方法,其中所述补充剂包括如表1中所描述的三种或更多种组分。

46. 一种减少癌细胞中的EGFR表达的方法,其包括使癌细胞与包括鱼油和硒的营养补充剂接触。

47. 根据权利要求46所述的方法,其中所述营养补充剂配制为使得以如表1中所描述的量提供所述补充剂的多种组分。

48. 根据权利要求46所述的方法,其中所述营养补充剂包括如表1中所描述的三种或更多种组分。

49. 一种增强患有癌症的个体中的抗EGFR疗法的方法,其包括:

将抗EGFR疗法方案应用于患者;和

将放疗方案应用于所述患者。

50. 根据权利要求49所述的方法,进一步包括向所述患者施用包括鱼油和硒的营养补充剂的步骤。

51. 根据权利要求50所述的方法,其中在开始放疗之前提供所述营养补充剂。

52. 根据权利要求50或51所述的方法,其中所述营养补充剂配制为使得以如表1中所描述的量提供所述补充剂的多种组分。

53. 根据权利要求50或51所述的方法,其中所述补充剂包括如表1中所描述的三种或更多种组分。

54. 一种增强患有癌症的个体中的抗EGFR疗法的方法,其包括:

将抗EGFR疗法方案应用于患者;和

向所述患者提供包括鱼油和硒的营养补充剂。

55. 根据权利要求54所述的方法,其中所述营养补充剂配制为使得以如表1中所描述的量提供所述补充剂的多种组分。

56. 根据权利要求54所述的方法,其中所述营养补充剂包括如表1中所描述的三种或更多种组分。

57. 包括鱼油和硒的营养补充剂在制造改善患有癌症的个体的放疗的药物中的用途，其中当与放疗方案组合使用时，鱼油和硒以提供减小肿瘤体积或重量的协同作用的量被提供。

58. 根据权利要求57所述的用途，其中所述营养补充剂配制为在开始放疗之前提供给患者。

59. 根据权利要求57或58所述的用途，其中所述营养补充剂配制为使得以如表1中所描述的量提供所述补充剂的多种组分。

60. 根据权利要求57或58所述的用途，其中所述补充剂包括如表1中所描述的三种或更多多种组分。

61. 包括鱼油和硒的营养补充剂在制造减少接受癌症放疗的个体中与放疗相关的副作用的药物中的用途，其中鱼油和硒以提供减少放疗方案的副作用的协同作用的量被提供。

62. 根据权利要求61所述的用途，其中所述营养补充剂配制为当在开始放疗之前施用至患者时是有效的。

63. 根据权利要求61或62所述的用途，其中所述营养补充剂配制为使得以如表1中所描述的量提供所述补充剂的多种组分。

64. 根据权利要求61或62所述的用途，其中所述补充剂包括如表1中所描述的三种或更多多种组分。

65. 包括鱼油和硒的营养补充剂在制造调节接受放疗的患者的肿瘤中的基因表达的药物中的用途，其中所述营养补充剂以调节肿瘤的基因表达的量被提供。

66. 根据权利要求65所述的用途，其中所述营养补充剂配制为在开始放疗之前提供给患者。

67. 根据权利要求65所述的用途，其中所述营养补充剂配制为在放疗应用期间提供给患者。

68. 根据权利要求65至67中一项所述的用途，其中所述营养补充剂配制为使得以如表1中所描述的量提供所述营养补充剂的多种组分。

69. 根据权利要求65至67中一项所述的用途，其中所述补充剂包括如表1中所描述的三种或更多多种组分。

70. 根据权利要求65至69中一项所述的用途，其中所述基因编码血管生成因子。

71. 根据权利要求65至69中一项所述的用途，其中所述基因编码细胞凋亡因子。

72. 包括鱼油和硒的营养补充剂在制造减少接受放疗的患者的肿瘤转移的药物中的用途，其中以降低肿瘤的转移活性的量提供所述营养补充剂。

73. 根据权利要求72所述的用途，其中所述营养补充剂配制为与放疗方案同时提供。

74. 根据权利要求72或73所述的用途，其中所述营养补充剂配制为使得以如表1中所描述的量提供所述营养补充剂的多种组分。

75. 根据权利要求72或73所述的用途，其中所述补充剂包括如表1中所描述的三种或更多多种组分。

76. 包括鱼油和硒的营养补充剂在制造减少接受放疗的患者的肿瘤中的血管生成的药物中的用途，其中以降低肿瘤的血管生成活性的量提供所述营养补充剂。

77. 根据权利要求76所述的用途，其中所述营养补充剂与放疗同时提供。

78. 根据权利要求76或77所述的用途,其中所述营养补充剂配制为使得以如表1中所描述的量提供所述营养补充剂中的多种组分。

79. 根据权利要求76或77所述的用途,其中所述补充剂包括如表1中所描述的三种或更多种组分。

80. 包括鱼油和硒的营养补充剂在制造减少接受放疗的患者的肿瘤的癌症干细胞含量的药物中的用途,其中以有效地减少肿瘤中的癌症干细胞的出现的量提供所述营养补充剂。

81. 根据权利要求80所述的用途,其中所述营养补充剂配制为与放疗方案同时提供。

82. 根据权利要求80或81所述的用途,其中所述营养补充剂配制为使得以如表1中所描述的量提供所述营养补充剂的多种组分。

83. 根据权利要求80或81所述的用途,其中所述营养补充剂包括如表1中所描述的三种或更多种组分。

84. 包括鱼油和硒的营养补充剂在制造减少接受放疗的癌细胞中PDL-1表达的药物中的用途,其中以有效地减少癌细胞的PDL-1的量提供所述营养补充剂。

85. 根据权利要求84所述的用途,其中所述营养补充剂配制为在开始放疗之前提供。

86. 根据权利要求84或85所述的用途,其中所述营养补充剂配制为使得以如表1中所描述的量提供所述补充剂的多种组分。

87. 根据权利要求84或85所述的用途,其中所述营养补充剂包括如表1中所描述的三种或更多种组分。

88. 根据权利要求84至87中一项所述的用途,其中所述癌细胞被暴露于放疗。

89. 包括鱼油和硒的营养补充剂在制造增强接受癌症的免疫疗法的个体中的免疫疗法的药物中的用途,其中以有效地减少癌细胞的PDL-1的量提供所述营养补充剂。

90. 根据权利要求89所述的用途,其中在开始放疗之前提供所述营养补充剂。

91. 根据权利要求89或90所述的用途,其中所述营养补充剂配制为使得以如表1中所描述的量提供所述补充剂的多种组分。

92. 根据权利要求89或90所述的用途,其中所述补充剂包括如表1中所描述的三种或更多种组分。

93. 包括鱼油和硒的营养补充剂在制造减少癌细胞中的EGFR表达的药物中的用途,其中以有效地减少癌细胞的EGFR的量提供所述营养补充剂。

94. 根据权利要求93所述的用途,其中所述癌细胞经受放疗。

95. 根据权利要求94所述的用途,其中所述营养补充剂配制为在开始放疗之前提供。

96. 根据权利要求93至95中一项所述的用途,其中所述营养补充剂配制为使得以如表1中所描述的量提供所述补充剂的多种组分。

96. 根据权利要求93至95中一项所述的用途,其中所述补充剂包括如表1中所描述的三种或更多种组分。

97. 包括鱼油和硒的营养补充剂在制造增强患有癌症的个体中的抗EGFR疗法的药物中的用途,其中以有效地减少癌细胞的EGFR的量提供所述营养补充剂。

98. 根据权利要求97所述的用途,其中所述个体接受放疗。

99. 根据权利要求94所述的用途,其中所述营养补充剂配制为在开始放疗之前提供。

100. 根据权利要求97至99中一项所述的用途,其中所述营养补充剂配制为使得以如表1中所描述的量提供所述补充剂的多种组分。

101. 根据权利要求97至97中一项所述的用途,其中所述补充剂包括如表1中所描述的三种或更多种组分。

## 用于增强癌症放疗的组合物和方法

[0001] 本申请要求2017年6月13日提交的美国临时申请号62/519,087的权益。这些和所有其他引用的外部材料通过引用以其整体并入本文。当通过引用并入的参考文献中的术语的定义或使用与本文提供的该术语的定义不一致或相反时,以本文提供的该术语的定义为准。

### 技术领域

[0002] 本发明的领域是癌症放疗。

### 背景技术

[0003] 背景描述包括可用于理解本发明的信息。并不是承认本文提供的任何信息是现有技术或与当前要求保护的发明有关,或明确或隐含引用的任何出版物均为现有技术。

[0004] 用于治疗癌症的放疗和化疗方案可以使患者明显受益,但是对于某些癌症可能没有效果或效果较差。另外,放疗和化疗均与显著的副作用相关,包括恶心、体重减轻、脱发、胃肠道损害和皮肤刺激。

[0005] 已经尝试增强放疗的有效性。例如,已经被修饰为靶向肿瘤细胞的金纳米颗粒已被用于增强放疗(Yang等人,ACS Nano,2014,8 (9) :8992-9002)。本文所有出版物通过引用并入至这样的程度:如同通过引用明确和单独表明将每篇单独的出版物或专利申请并入。当在并入的参考文献中术语的定义或使用与本文提供的术语的定义不一致或相反时,适用本文提供的该术语的定义,而参考文献中该术语的定义不适用。类似地,COX-2抑制剂已被用于选择性地使肿瘤细胞对放射作用敏感(Choy and Milas,J.Natl Cancer Inst (2003) 95 (19) :1140-1452)。然而,这种方法可能具有选择性问题,并且可能不是针对所有类型的肿瘤都有效。迄今为止,减少放疗副作用的尝试主要是将总的放射剂量分成多个较小的放射剂量(在两者之间留有时间以允许恢复),使用屏蔽靶向肿瘤,并确定肿瘤边界和放疗至该部位的定位。不幸的是,这种方法可能无法充分治疗所有的肿瘤细胞。

[0006] 还已经尝试了增强化疗的作用。一些研究已经表明食用鱼油可以改善化疗的效果,但是其他研究表明鱼油可能干扰(Daenen等人,JAMA Oncol (2015) 1 (3) :350-358)。也已经尝试将化疗剂配制为纳米颗粒(Xu等人,Colloid Surf.B:Biointerfaces (2006) 48 (1) :50-57)。然而,目前尚不清楚是否所有的化疗药都适用于这种重新配制。还研究了化疗药与设计为干扰多药耐药性的siRNA的共同递送。然而,这种siRNA具有序列特异性,并且可能不适用于某些肿瘤。

[0007] 减轻化疗的副作用通常针对于提供症状缓解。例如,止吐药以及改变饮食和避开某些食品少量的、频繁地进餐可用于减轻恶心。不幸的是,这样的方法并不总是有效的。在某些情况下,选择具有降低的毒性的化疗剂以减轻副作用,但是这种试剂也可能具有降低的针对肿瘤细胞的效力。

[0008] 因此,对于增强癌症放疗和/或化疗的效力和/或减少其副作用的安全和有效的组合物和方法仍然存在需要。

## 发明内容

[0009] 本发明的主题提供了通过使用包含鱼油和硒的营养补充剂以协同方式增强和改善肿瘤的放疗的组合物和方法。

[0010] 本发明构思的一个实施方式是通过将放疗方案应用于需要治疗的患者，同时以提供减小肿瘤体积或重量的协同作用的量向患者提供包含鱼油和硒的营养补充剂(例如，如表1中所显示)来治疗肿瘤的方法。在一些实施方式中，在开始放疗之前向患者提供营养补充剂。这种营养补充剂可以配制为使得以如表1中所描述的量提供补充剂中的两种或更多种组分。

[0011] 本发明构思的另一个实施方式是减轻副作用的方法，同时以减少放疗方案的副作用的量向患者提供包括鱼油和硒的配制的营养补充剂(例如，如表1中)。在一些实施方式中，在开始放疗之前向患者提供营养补充剂。这种营养补充剂可以配制为使得以如表1中所描述的量提供补充剂中的两种或更多种组分。

[0012] 本发明构思的另一个实施方式是通过向肿瘤或患有肿瘤的动物提供营养补充剂来调节肿瘤中的基因(例如血管生成相关基因、细胞凋亡相关基因等)表达的方法，其中营养补充剂包括鱼油和硒(例如，如表1中)，并且其中以调节肿瘤中的基因表达的量提供营养补充剂。在一些实施方式中，在开始放疗之前和在放疗期间向患者提供营养补充剂；在其他实施方式中，在放疗应用期间或放疗应用开始时提供这种补充剂。在优选的实施方式中，营养补充剂配制为使得以如表1中所描述的量提供补充剂中的两种或更多种组分。

[0013] 本发明构思的另一个实施方式是通过向患有转移性肿瘤的患者提供包括鱼油和硒的营养补充剂(比如表1中)来减少肿瘤转移的方法，其中以降低肿瘤的转移活性的量提供营养补充剂。在一些实施方式中，在开始放疗之前或在开始放疗时提供，并且可以在整个放疗过程中提供这种营养补充剂。在优选的实施方式中，营养补充剂配制为使得以如表1中所描述的量提供补充剂中的两种或更多种组分。

[0014] 本发明构思的另一个实施方式是减少肿瘤中的血管生成的方法，包括与放疗组合向患有肿瘤的患者提供包括鱼油和硒的营养补充剂(例如，如表1中)，其中以降低肿瘤中的血管生成活性的量提供营养补充剂。在一些实施方式中，这种营养补充剂与开始放疗同时提供，并且可以在放疗应用期间提供给患者。在优选的实施方式中，营养补充剂配制为使得以如表1中所描述的量提供补充剂中的两种或更多种组分。

[0015] 本发明构思的另一个实施方式是通过向患有肿瘤的患者提供包括鱼油和硒的营养补充剂(比如表1中)来降低肿瘤中癌症干细胞的发生率的方法，其中以降低肿瘤中干细胞发生率的量提供营养补充剂。在优选的实施方式中，营养补充剂与应用放疗同时提供。营养补充剂可以配制为使得以如表1中所描述的量提供补充剂中的两种或更多种组分。

[0016] 通过以下优选实施方式的详细描述以及附图，本发明主题的各种目的、特征、方面和优点将变得更加显而易见，在附图中，相同的附图标记表示相同的组分。

## 附图说明

[0017] 图1：图1描绘了一种治疗方案，其中在实施放疗之前7天或与肿瘤细胞植入同时提供营养补充剂。肿瘤细胞植入后21天处死小鼠。

[0018] 图2A和2B：图2A描绘了随着时间推移各个治疗组中的体重变化。图2B描绘了在研

究过程中各个治疗组中的体重变化。注意，体重是在去除原发性肿瘤块之后报告的。

[0019] 图3A至3D:图3A至3D显示了用放疗和包含鱼油和硒的补充剂共同治疗对肿瘤体积和重量的典型协同作用。图3A显示了随着时间推移各个治疗组中的肿瘤体积的变化。图3B提供了如图图3A中所显示的治疗的前11天的详细视图。图3C提供了各个治疗组的肿瘤重量的柱状图。图3D提供来自各个治疗组的示例性肿瘤的照片。

[0020] 图4A至4G:图4A:在肿瘤细胞注射之后21天使用放疗、包含鱼油和硒的补充剂和组合治疗对腓肠肌质量的治疗效果。图4B:在肿瘤细胞注射之后21天使用放疗、NutraWell补充剂和组合治疗对比目鱼肌肉质量的治疗效果。图4C:在肿瘤细胞注射之后21天使用放疗、NutraWell补充剂和组合治疗对肺(包括转移性肿瘤)重量的治疗效果。图4D:在肿瘤细胞注射之后21天使用放疗、NutraWell补充剂和组合治疗对肝(包括转移性肿瘤)重量的治疗效果。图4E:在肿瘤细胞注射之后21天使用放疗、NutraWell补充剂和组合治疗对脾(包括转移性肿瘤)重量的治疗效果。图4F提供了在用包含鱼油和硒的补充剂和/或放疗治疗的动物受试者中肺转移的研究的定量结果。图4G显示了在用包含鱼油和硒的补充剂和/或放疗治疗的动物受试者中原发性肿瘤部位和转移部位中Ki-67表达的研究结果。

[0021] 图5A至5E:图5A:在肿瘤细胞注射之后21天使用放疗、NutraWell补充剂和组合治疗对血小板计数的治疗效果。图5B:在肿瘤细胞注射之后21天使用放疗、NutraWell补充剂和组合治疗对白细胞计数的治疗效果。图5C:在肿瘤细胞注射之后21天使用放疗、NutraWell补充剂和组合治疗对淋巴细胞计数的治疗效果。图5D:在肿瘤细胞注射之后21天使用放疗、NutraWell补充剂和组合治疗对粒细胞计数的治疗效果。图5E:在肿瘤细胞注射之后21天使用放疗、NutraWell补充剂和组合治疗对嗜中性粒细胞/淋巴细胞百分比的治疗效果。

[0022] 图6A和6B:图6A:在肿瘤细胞注射之后21天使用放疗、NutraWell补充剂和组合治疗对血清白蛋白的治疗效果。图6B:在肿瘤细胞注射之后21天使用放疗、NutraWell补充剂和组合治疗对血清肌酸酐的治疗效果。

[0023] 图7A和7B:图7A:在肿瘤细胞注射之后21天使用放疗、NutraWell补充剂和组合治疗对血清IL-6的治疗效果。图7B:在肿瘤细胞注射之后21天使用放疗、NutraWell补充剂和组合治疗对血清IL-1 $\beta$ 的治疗效果。

[0024] 图8A至8G:图8A:在肿瘤细胞注射之后21天使用放疗、NutraWell补充剂和组合治疗对植入的肿瘤中VEGF基因的表达的治疗效果。图8B:在肿瘤细胞注射之后21天使用放疗、NutraWell补充剂和组合治疗对植入的肿瘤中BAX基因的表达的治疗效果。图8C:在肿瘤细胞注射之后21天使用放疗、NutraWell补充剂和组合治疗对植入的肿瘤中Bcl-2基因的表达的治疗效果。图8D:在肿瘤细胞注射之后21天使用放疗、NutraWell补充剂和组合治疗对植入的肿瘤中半胱天冬酶3基因的表达的治疗效果。图8E:在肿瘤细胞注射之后21天使用放疗、NutraWell补充剂和组合治疗对肺中BAX基因的表达的治疗效果。图8F:在肿瘤细胞注射之后21天使用放疗、NutraWell补充剂和组合治疗对肺中Bcl-2基因的表达的治疗效果。图8G:在肿瘤细胞注射之后21天使用放疗、NutraWell补充剂和组合治疗对肺中半胱天冬酶3基因的表达的治疗效果。

[0025] 图9A和9B:图9A描绘了一种测试方案,其中小鼠在第8、10和12天接受放疗,并在开始放疗时开始营养补充。在植入肿瘤细胞之后第14天或第24天处死小鼠。图9B:源自图9A中

显示的方案的治疗组。

[0026] 图10A至10C:图10A:在如图9A中所显示的处理的小鼠中,在肿瘤细胞植入后第14天和第24天的血清白蛋白浓度。图10B:在如图9A中所显示的处理的小鼠中,在肿瘤细胞植入后第14天和第24天的淋巴细胞计数。图10C:在如图9A中所显示的处理的小鼠中,在肿瘤细胞植入后第14天和第24天的N/L比。

[0027] 图11A至11D:图11A:在如图9A中所显示的处理的小鼠中,在肿瘤细胞植入后24天肿瘤块内的VEGF表达。FITC表示VEGF特异性染色。图11B:在如图9A中所显示的处理的小鼠中,在肿瘤细胞植入后24天肺(转移)内的VEGF表达。FITC表示VEGF特异性染色。图11C:在如图9A中所显示的处理的小鼠中,在肿瘤细胞植入后24天肺(转移)内的EGFR表达。FITC表示EGFR特异性染色。图11D:在如图9A中所显示的处理的小鼠中,在肿瘤细胞植入后24天肿瘤块内的EGFR表达。FITC表示EGFR特异性染色。

[0028] 图12:在如图9A中所显示的处理的小鼠中,在肿瘤细胞植入后24天肿瘤块内和肺组织(转移)中的CD31(癌症干细胞标志物)表达。FITC表示CD31特异性染色。

[0029] 图13A和13B:图13AA显示了在如图9A中所显示的处理的小鼠中,在肿瘤细胞植入后24天肿瘤块内和肺组织(转移)中H1F1- $\alpha$ (缺氧标志物)蛋白质的存在。FITC表示H1F1- $\alpha$ 特异性染色。图13B显示了来自用包含鱼油和硒的营养补充剂和/或放疗处理的受试者的肿瘤样品的基因表达研究的结果。

[0030] 图14:在如图9A中所显示的处理的小鼠中,在肿瘤细胞植入后24天细胞凋亡标志物的表达。

[0031] 图15A和15B:图15A显示了表征在用包含鱼油和硒的补充剂和/或放疗治疗的人类疾病的动物模型中原发性和转移性肿瘤部位中的PDL-1基因表达的研究结果。图15B显示了表征在用包含鱼油和硒的补充剂和/或放疗治疗的人类疾病的动物模型中原发性和转移性肿瘤部位中的PD-1基因表达的研究结果。

[0032] 图16A和16B:图16A描绘了一种测试方案,其中小鼠在第8、10和12天接受放疗,并在肿瘤细胞植入之前、在肿瘤细胞植入时或在开始放疗时提供营养补充。在肿瘤细胞植入之后21天处死小鼠。图16B:源自图16A中显示的方案的治疗组。

[0033] 图17:通过图16A中描述的方案处理的小鼠的肠道的横截面的显微照片。

[0034] 图18A至18F:图18A:在肿瘤细胞注射之后21天使用放疗、NutraWell补充剂和组合治疗对VEGF基因的表达的治疗效果。图18B:在肿瘤细胞注射之后21天使用放疗、NutraWell补充剂和组合治疗对BAX基因的表达的治疗效果。图18C:在肿瘤细胞注射之后21天使用放疗、NutraWell补充剂和组合治疗对Bcl-2基因的表达的治疗效果。图18D:在肿瘤细胞注射之后21天使用放疗、NutraWell补充剂和组合治疗对半胱天冬酶3基因的表达的治疗效果。图18E:在肿瘤细胞注射之后21天,使用放疗、NutraWell补充剂和组合治疗对肺(即转移)中Bcl-2基因的表达的治疗效果。图18F:在肿瘤细胞注射之后21天,使用放疗、NutraWell补充剂和组合治疗对肺(即转移)中半胱天冬酶3基因的表达的治疗效果。

[0035] 图19A和19B:图19A描绘了一种测试方案,其中小鼠在第8、10和12天接受放疗,并在肿瘤细胞植入之前7天提供营养补充。在肿瘤细胞植入之后第24天处死小鼠。图19B:源自图19A中显示的方案的治疗组。

[0036] 图20A和20B:图20A:使用图19A中显示的方案,在肿瘤细胞植入之后,包含鱼油和

硒的营养补充剂对接受重复放疗的小鼠的体重的影响。图20B:使用图19A中显示的方案,在肿瘤细胞注射之后21天,使用放疗、包含鱼油和硒的营养补充剂和组合治疗对腓肠肌质量的治疗效果。

[0037] 图21A和21B:图21A描绘了一种测试方案小鼠,其中小鼠在第8、10和12天接受放疗,并在肿瘤细胞植入之前7天、在肿瘤细胞植入当天或在肿瘤细胞植入之后8天提供营养补充。在肿瘤细胞植入之后21天处死小鼠。图21B:源自图21A中显示的方案的治疗组。

[0038] 图22:使用图21A中显示的方案,在肿瘤细胞植入之后,NutraWell补充对接受重复放疗的小鼠的体重的影响。

[0039] 图23:在按图21A中显示的方案处理的小鼠中,重复放疗与NutraWell补充组合对于随着时间的推移肿瘤体积的变化。

[0040] 图24A和24B:图24A:在使用图21A中显示的方案处理的小鼠中,在肿瘤细胞注射之后21天,使用重复放疗与NutraWell补充剂组合以及组合治疗对血清TNF- $\alpha$ 的治疗效果。图24B:在使用图21A中显示的方案处理的小鼠,在肿瘤细胞注射之后21天,使用重复放疗与NutraWell补充剂组合以及组合治疗对血清IL-6的治疗效果。

## 具体实施方式

[0041] 以下描述包括可用于理解本发明中的信息。并不是承认本文提供的任何信息是现有技术或与当前要求保护的发明有关,或明确或隐含引用的任何出版物均为现有技术。

[0042] 本发明的主题提供了组合物和方法,其中包括鱼油和硒的营养补充剂(例如,含有鱼油、源自硒酵母的硒,以及某些维生素、矿物质、氨基酸和糖的补充剂,例如“NutraWell”)与放疗组合使用。出人意料地,放射和这种补充剂的组合疗法在减小肿瘤大小上提供了显著的协同作用。另外,相对于不使用这种补充剂的放疗的应用,减少和/或减轻了放疗的副作用(例如嗜中性粒细胞减少症、体重减轻、肌肉质量的损失、胃肠道酰基细胞的损伤等)。出人意料地,还发现应用放疗或不应用放疗,使用包含鱼油和硒的补充剂在肿瘤细胞中与血管生成和细胞凋亡相关的基因表达受到调节。此外,可以防止转移并减少癌症干细胞的生长和扩散。

[0043] 应当认识到,所公开的技术提供了许多有利的技术效果,包括增强了目前用于癌症治疗的放疗方案的效力,同时减轻了与这些方法相关的副作用。

[0044] 下述讨论提供了本发明的主题的许多实例实施方式。尽管每个实施方式表示本发明的要素的单一组合,本发明的主题被认为包括公开的要素的所有可能的组合。因此,如果一个实施方式包括要素A、B和C,和第二实施方式包括要素B和D,则即使没有被明确公开,本发明的主题也被认为包括A、B、C或D的其他剩余组合。

[0045] 在一些实施方式中,用于描述和要求保护本发明的某些实施方式的表示成分数量,特性比如浓度、反应条件等数字在某些情况下应理解为由术语“约”修饰。因此,在一些实施方式中,在书面说明书和所附权利要求书中阐述的数值参数是可以试图根据具体实施方式获得的期望特性而变化的近似值。在一些实施方式中,应该根据报告的有效数字的数目并通过应用普通的舍入技术来解释数值参数。尽管阐明本发明的一些实施方式的广泛范围的数值范围和参数是近似值,但是在具体实例中阐明的数值应尽可能精确地报告。在本发明的一些实施方式中呈现的数值可能包含必然是由于在它们各自的测试测量中发现的

标准偏差而导致的某些误差。

[0046] 在本发明构思的一个实施方式,提供了如表1中所显示的营养补充剂组合物(“Nutrawell”)以改善放疗结果。

[0047] 表1

组分	最小值	最大值	单位
麦芽糊精	10000	50000	mg
乳清蛋白分离物	5000	60000	mg
乳清蛋白浓缩物	1000	50000	mg
低聚果糖/菊粉	40	15000	mg
结晶蜂蜜(Granulated Honey)	1000	9000	mg
燕麦纤维	500	15000	mg
天然法国香草调味剂	500	20000	mg
大豆蛋白	500	50000	mg
棕化(Brownulated)粉状红糖	500	10000	mg
天然香草掩味剂(Masking Flavor)	500	5000	mg
卵磷脂	200	10000	mg
脱脂牛奶	50	5000	mg
大米蛋白粉末	50	5000	mg
酪蛋白钙	50	2000	mg
油类			
亚麻籽油	100	7000	mg

[0048]

菜籽油	100	7000	mg
琉璃苣油	100	7000	mg
橄榄油	100	7000	mg
鱼油	150	10,000	mg
纯柠檬	100	1000	mg
纯橙油	50	1000	mg
混合生育酚	0.5	200	mg
<b>维生素/矿物质</b>			
磷酸钾	200	1500	mg
碳酸钙	100	5000	mg
胆碱酒石酸氢盐	150	2500	mg
氯化钠	100	2000	mg
磷酸三钙	100	2000	mg
抗坏血酸	50	3000	mg
氯化钾	50	2000	mg
氧化镁	50	500	mg
硒酵母	30	4000	mcg
铬酵母	30	3000	mcg
钼酵母	30	2000	mcg
肌醇	10	5000	mg
一水硫酸锌	5	200	mg
干维生素 E 醋酸盐	5	2000	IU
烟酰胺	5	500	mg
正磷酸铁	3	100	mg
泛酸钙	3	200	mg
一水硫酸锰	3	100	mg
β 胡萝卜素	1	100	mg
葡萄糖酸铜	1	15	mg
维生素 D3	25	5000	IU
维生素 K2	2	1000	mcg

[0049]

[0050]

吡哆醇 HCl	0.5	200	mg
碘化钾	0.5	1500	mg
核黄素	0.5	1000	mg
盐酸硫胺素	0.5	2500	mg
干维生素 K1	1	500	mcg
维生素 A 醋酸盐	500	100000	IU
叶酸	100	10000	mcg
d-生物素	10	10000	mcg
维生素 B12	1	3000	mcg
<b>氨基酸</b>			
L-肉碱	300	30000	mg
L-谷氨酰胺	500	60000	mg
L-精氨酸碱	500	30000	mg
牛磺酸	50	2000	mg
L-赖氨酸	50	2000	mg
α 硫辛酸	10	1000	mg
白藜芦醇	15	1500	mg
辅酶 Q10	10	5000	mg
甘氨酸	5	1000	mg
脯氨酸	5	1000	mg
<b>细菌培养物</b>			
嗜酸乳杆菌(总计大约 100 亿)	2	500	mg
两歧双歧杆菌(Bifido Bifidum)(总计大约 100 亿)	2	500	mg
保加利亚乳杆菌 (Lac. Bulgaricus)(总计大约 100 亿)	2	500	mg
长双歧杆菌(Bifido Longum)(总计大约 100 亿)	2	500	mg
嗜热链球菌 (Strep. Thermophilus)(总计大约 100 亿)	2	500	mg

酶			
木瓜蛋白酶	5	100	mg
胃蛋白酶	5	100	mg
脂肪酶	5	100	mg
菠萝蛋白酶	5	100	mg
胰酶 4X	0.5	100	mg
乳糖酶	1	100	mg
甜菜碱 HCl	3	100	mg
<b>植物产品</b>			
菠萝汁粉(Pineapple Juice Powder)	2	500	mg
木瓜水果粉	2	500	mg
槲皮素	30	3000	mg
EGCG	25	600	mg
OPC	15	500	mg
花青素	15	5000	mg
鞣花酸	10	300	mg
虾青素	2	90	mg
岩藻依聚糖	20	1500	mg
<b>蕈类(Mushroom)制剂</b>			
冬虫夏草	5	6000	mg
灵芝(Ganoderma Lucidum)	15	10000	mg
香菇	40	15000	mg
灰树花	30	15000	mg
云芝(Turkey Tail)	30	15000	mg

[0051]

[0052] 表1中显示的组合物包括具有各种生理和生化作用的组分，包括抗炎活性、血糖水平的降低、胆固醇的降低和抗肿瘤活性。其他组分在升高的水平下提供必需的维生素、矿物质和氨基酸的补充。当消耗时，其他组分（例如酶、卵磷脂）用于帮助消化和吸收组合物中的组分。这些互补活性的组合提供了超过单一组分的简单累加作用的协同作用。应当认识到，表1中显示的组合物还包括用于改善适口性和可接受性的某些食用香料（例如红糖、蜂蜜、香草调味剂和掩蔽剂）。某些组分（例如蜂蜜、红糖、牛奶、大米蛋白、酪蛋白）可以提供风味和热量二者。发明人已经发现，上述食用香料的组合有效地提供符合有效量的营养补充剂。

的消耗。在一些实施方式中,可以排除这种食用香料而不会不利地影响营养补充剂的效力。

[0053] 表1中显示的组分可以提供为单一制剂(例如,丸剂、片剂、胶囊、散剂、液体、悬浮液等),或者可以分离为不同的制剂(例如,丸剂、片剂、胶囊、散剂、液体、悬浮液或其组合)。表1中显示的量是示例性的,并且代表提供给具有正常身高和其他方面正常健康的成年人的典型每日剂量。可以调整这些量以解释体重、性别、医疗状况等差异。例如,称重在40千克或更少的相对较小的患者可能会从所提供范围的下限(low end)或下限以下的剂量中受益,而称重在100千克或更多的相对较大的患者可能需要在所述范围的上限(high end)(或更高)提供剂量。在一些实施方式中,这样的每日剂量可以在全天分布为多次剂量。在一些这样的实施方式中,每个这样的分布剂量的组成可以相同。在其他实施方式中,这种分布剂量的组成可以不同,只要这些剂量的总和提供所需的补充。

[0054] 在示例性实施方式中,(在移植到裸鼠之后)用每天1克的营养补充剂、放疗或每天1克的营养补充剂和化疗治疗人肿瘤细胞。在治疗期间对小鼠称重以表征副作用,比如恶心和食欲不振。数周后,处死小鼠并表征肿瘤。确定肿瘤体积,并确定治疗对器官和肌肉体积的影响。还表征了嗜中性粒细胞减少症的程度。表2列出了典型的方案。

[0055] 表2

			处死( 第21天)
[0056]	1 C	对照	N=6
	2 T	肿瘤	N=6
	3 PTN	肿瘤 + Nutrawell(-7天开始)	N=6
	4 TN	肿瘤 + Nutrawell(0天开始)	N=6
	5 TR	肿瘤 + 放疗(3 Gy x 3)	N=6
	6 PTRN	肿瘤 + 放疗(3 Gy x 3) + Nutrawell(-7天开始)	N=6
	7 TRN	肿瘤 + 放疗(3 Gy x 3) + Nutrawell(8天开始)	N=6

### [0057] 体重/消瘦

[0058] 在图1中示意性地描绘了典型的治疗方案。一些受试者在肿瘤细胞植入之前接受包含鱼油和硒的补充剂的治疗(PTN、PTRN),这些中的一部分接受放疗(PTRN)。其他受试者在肿瘤细胞植入时开始用这种补充剂治疗(TN、TRN),这些中的一些接受放疗(TRN)。在图2A和2B中显示了与对照受试者(C)和植入了肿瘤细胞且未以其他方式处理的受试者(T)相比的体重研究的结果。如所显示,接受放疗和包含鱼油和硒的补充剂的小鼠比仅接受放疗的那些以显著更大的速率增重,表明通常与该治疗模式相关的副作用减轻。用包含鱼油和硒的营养补充剂进行的预处理具有特别明显的效果。

### [0059] 肿瘤大小

[0060] 图3A至3D显示了在人类癌症的鼠模型中,对于相似的治疗组,用放疗和包含鱼油和硒的补充剂共同治疗对肿瘤体积和重量的典型协同作用。图3A显示了在3周的过程中各种治疗方案对肿瘤体积的影响。图3B提供了在最初的11天内的效果的缩放视图。如所显示,仅用包含鱼油和硒的补充剂治疗可使肿瘤体积减小约60%。仅用放疗治疗提供肿瘤体积相似的减小。因此,在没有协同作用的情况下,人们可以预期将肿瘤体积减小至未处理肿瘤的

体积的约25%。出人意料地,观察到的是大于90%的肿瘤体积减小,至未处理的肿瘤的约7%——这表明显著的协同作用。图3C显示了当表征肿瘤重量时发现类似的效果。图3D显示了在处理后从试验动物切除的肿瘤的典型实例的照片。在目视检查中,用包含鱼油和硒的营养补充剂与放疗的协同疗法的效果容易显而易见。这样,显而易见的是,用包含鱼油和硒的补充剂与放疗的协同疗法可以在减小肿瘤体积和/或质量上提供协同作用。

[0061] 肌肉消瘦

[0062] 放疗的副作用不仅限于食欲不振和体重减轻,并且可以包括对内脏器官的损害、肌肉质量的损失、贫血、嗜中性粒细胞减少症、肾功能下降等。为了确定与包含鱼油和硒的补充剂的协同疗法的保护作用,在治疗后还表征了关于对处理的小鼠的肌肉质量和器官重量的这种副作用。结果显示在图4A至4E中。图4A和4B显示了用包含鱼油和硒的补充剂、放疗以及使用这种补充剂(有和没有补充剂预处理)与放疗的协同疗法(分别)对腓肠肌和比目鱼肌的重量的治疗效果,如上所述指定测试组。如所显示,这种补充剂和放疗的协同疗法可提供肌肉重量几乎完全的保留。

[0063] 转移

[0064] 图4C、4D和4E显示了如上所述对包括任何转移性肿瘤的肺重量(图4C)、包括任何转移性肿瘤的肝重量(图4D)和包括任何转移性肿瘤的脾重量(图4E)的治疗效果。如所显示,至少部分由于转移性肿瘤的存在,缺乏治疗导致重量增加。单独通过放疗(TR)并不能完全缓解这种增加,但是,接受包含鱼油和硒的补充剂治疗的受试者与接受和不接受放疗的协同疗法的对照受试者具有相似的器官重量。

[0065] 类似地,定量用包含鱼油和硒的营养补充剂和/或放疗治疗的人类疾病的动物模型的肺内转移部位。在图4F的左图中的照片中显示了典型的转移部位,并列举在右图中的柱状图中。如所显示,用这种补充剂(TN)或放疗(TR)治疗将转移部位的数量减少到一定程度,但是用补充剂和放疗(TRN)二者治疗导致在大多数受试者中完全没有明显的转移部位。

[0066] 不希望受到理论的束缚,发明人认为,对转移(以及上面所显示的肿瘤大小和肿块)的影响可以归因于通过使用包含鱼油和硒的营养补充剂与放疗组合对肿瘤细胞增殖所提供的协同作用。如图4G中所显示,用包含鱼油和硒的补充剂治疗(TN)、用放疗治疗(TR)或使用两种模式治疗(TRN)在原发性肿瘤部位中抑制增殖标志物Ki-67的表达。转移部位(右图)显示了相关趋势,仅使用营养补充剂或放疗会导致该增殖标志物的表达适度降低,但是出人意料地显示出在降低转移部位中Ki-67表达的协同作用。这表明使用包含鱼油和硒的补充剂可以减少肿瘤转移,包括通过放疗无法阻止的转移,并且可以以协同方式进行。

[0067] 嗜中性粒细胞减少症/贫血

[0068] 贫血和嗜中性粒细胞减少症通常在癌症中发现并且作为放疗的副作用,这至少部分归因于骨髓活性的抑制。在图5A至5E中显示了与包含鱼油和硒的补充剂的协同疗法对各种血细胞群体的影响。图5B显示了包含鱼油和硒的营养补充剂、放疗以及这种补充剂和放疗的协同疗法对图5B中显示的白细胞和图5C中显示的淋巴细胞的影响。这表明包含鱼油和硒的营养补充剂可用于改善由于肿瘤的存在和在治疗这种肿瘤中使用的放疗而导致的红细胞、粒细胞、白细胞和/或淋巴细胞抑制。

[0069] 如图5A中所显示,发现在未处理的荷瘤(T)动物中的血小板升高。通过用包含鱼油和硒的补充剂或放疗处理可以降低血小板浓度,但是在接受这种补充剂和放疗的协同疗法

的动物中降低最显著。在接受用包含鱼油和硒的补充剂预处理的受试者中这种作用尤其显著,这将血小板浓度降低至对照动物中发现的值。在未处理的荷瘤动物中,粒细胞浓度类似地升高(如图5D中所显示),并且在仅接受放疗的这种动物中进一步升高。已发现用包含鱼油和硒的营养补充剂和放疗的协同疗法可以减少该作用。如图5E中所显示,相对于对照动物,荷瘤动物显示出升高的嗜中性粒细胞/淋巴细胞比(NLR),在仅接受放疗的类似受试者中嗜中性粒细胞/淋巴细胞比甚至更高。发现用包含鱼油和硒的补充剂处理可以有效地使该比朝更正常的值偏移,无论是作为单一疗法还是作为结合放疗的协同疗法的一部分。这表明包含鱼油和硒的营养补充剂可用于降低由于肿瘤的存在和用于治疗这种肿瘤的放疗而升高的血小板浓度、粒细胞浓度和/或嗜中性白细胞/淋巴细胞比。

#### [0070] 血清蛋白

[0071] 在图6A和6B中显示了结合包含鱼油和硒的补充剂的协同疗法对各种血清生化标志物的作用,各种血清生化标志物提供了关于肾功能、肝功能和/或营养状况的信息。图6A显示了包含鱼油和硒的营养补充剂、放疗以及这种补充剂和放疗的协同疗法对动物肿瘤模型的作用。如所显示,在未处理的荷瘤动物中血清白蛋白浓度(营养状况的指标)降低,并且通过仅放疗只能稍微改善。无论作为单一疗法还是结合放疗的协同疗法,用包含鱼油和硒的营养补充剂处理都可以提高血清白蛋白浓度,特别是在提供这种补充剂作为预处理时。这通过结合包含鱼油和硒的营养补充剂的协同疗法来提高。这表明无论作为单一疗法还是结合放疗的协同疗法,用包含鱼油和硒的营养补充剂处理都可以改善荷瘤受试者的营养状况。

[0072] 图6B显示了类似研究的结果,其中表征了血清肌酸酐(肾功能的量度)。如所显示,未处理的荷瘤受试者显示出升高的肌酸酐浓度,这表明肾脏受损。这通过仅放疗可以稍微改善。然而,包含鱼油和硒的营养补充剂和放疗的协同疗法在降低血清肌酸酐浓度方面显示出协同作用,特别是在提供这种营养补充剂作为预处理时。

#### [0073] 细胞因子

[0074] 肿瘤的生长和扩散与炎症有关,放疗的应用也是如此。出人意料地,发明人发现结合包含鱼油和硒的补充剂的协同疗法可有效地降低促炎细胞因子的浓度,这表明这种共同治疗可有效地降低与肿瘤以及肿瘤的放疗有关的炎症。在图7A和7B中显示了NutraWell补充剂对促炎细胞因子的血清浓度的影响。图7A显示了用包含鱼油和硒的营养补充剂、放疗或这种补充剂和放疗组合处理的对照动物、未处理的荷瘤动物和荷瘤动物中的IL-6的浓度。如所显示,未处理的荷瘤动物显示血清IL-6浓度大大增加。通过放疗只能使其稍微降低。已发现无论作为单一疗法还是结合放疗的协同疗法,使用包含鱼油和硒的营养补充剂都可以降低荷瘤动物中的血清IL-6浓度。图7B显示了IL-1 $\beta$ 的类似研究的结果。IL-1 $\beta$ 的结果类似于IL-6的结果。这表明无论作为单一疗法还是作为结合放疗的协同疗法,包含鱼油和硒的营养补充剂都可以有效地降低荷瘤受试者与炎症相关的细胞因子的血清浓度。发明人认为,这种降低伴随着这种动物炎症的减轻。

#### [0075] 肿瘤基因表达

[0076] 出人意料地,发明人还发现用包含鱼油和硒的营养补充剂治疗可以在体内改变肿瘤细胞中的基因表达,并且可以对由放疗导致的基因表达的这种改变提供协同作用。在一些实施方式中,基因与细胞因子有关和/或与细胞凋亡有关。在8A至8G中显示了放疗、用包

含鱼油和硒的营养补充剂治疗以及结合放疗的协同疗法对体内植入的肿瘤细胞中的基因表达的作用的实例。图8A显示了这种治疗对肿瘤细胞中VEGF表达的结果。如所显示,用包含鱼油和硒的营养补充剂和放疗的单一疗法降低了VEGF表达。用包含鱼油和硒的营养补充剂和放疗的协同疗法提供了显著降低的VEGF表达。

[0077] 图8B和8D分别显示了用包含鱼油和硒的营养补充剂、放疗以及用这种补充剂和放疗的协同疗法治疗对肿瘤BAX表达和转移性(肺)肿瘤BAX表达的影响。BAX被认为是细胞凋亡的标志物。如所显示,在未处理的肿瘤中的BAX表达较低,并且不受放疗的影响。包含鱼油和硒的营养补充剂的单一疗法导致BAX表达急剧增加,当用作结合放疗的协同疗法时(特别是当补充剂作为预处理提供时),BAX表达升高。如图8C和8E中所显示,发现Bcl-2表达在肿瘤细胞和转移性(肺)肿瘤细胞中(分别)升高,并且通过用包含鱼油和硒的营养补充剂或放疗作为单一疗法治疗而降低。当这种补充剂和放疗用作协同疗法时,发现Bcl-2表达有更大的降低。在用放疗或仅含鱼油和硒的营养补充剂治疗的肿瘤中,半胱天冬酶3的表达(其与细胞凋亡相关)表达升高(图8D),并且通过放疗时结合这种补充剂的协同疗法也升高了半胱天冬酶3的表达(特别是当补充剂是作为预处理提供时)。如图8F中所显示,相对于对照受试者的肺组织,在转移性(肺)肿瘤中半胱天冬酶3的表达降低。如所显示,通过放疗或用包含鱼油和硒的营养补充剂以及协同疗法治疗,这种肿瘤中的半胱天冬酶3的表达增加。

#### [0078] 重复放疗

[0079] 使用改进的治疗方案进行了类似的研究。在图9A和9B中显示了一种利用多轮放疗的改进的治疗方案,多轮放疗是人类放疗典型的。

[0080] 在10A至10C中显示了使用图9A中显示的方案在用NutraWell治疗、放疗和包含鱼油和硒的营养补充剂和放疗的组合治疗后进行的血清白蛋白和血细胞表征研究的结果。如图10A中所显示,荷瘤动物中的血清白蛋白浓度降低,特别是在更迟的时间点。这可以通过使用包含鱼油和硒的营养补充剂或放疗作为单一疗法以及通过协同疗法治疗来改善。如图10B中所显示,相对于对照受试者,荷瘤动物显示出抑制的淋巴细胞计数,特别是在更迟的时间点。这通过仅放疗只能稍微改善,但是使用包含鱼油和硒的营养补充剂治疗(无论是单一疗法还是与放疗组合)均可以有效地增加淋巴细胞浓度——特别是在更迟的时间点。图10C显示了类似研究的结果,其中表征了嗜中性粒细胞/淋巴细胞比(NLR)。如所显示,荷瘤动物在更迟的时间点显示该值急剧升高。这可以通过使用包含鱼油和硒的营养补充剂、放疗以及这种补充剂和放疗的协同疗法治疗来降低。

[0081] 出人意料地,使用图9A中显示的方案,用包含鱼油和硒的营养补充剂、放疗以及这种补充剂和放疗的组合治疗还对肿瘤细胞标志物的表达和肿瘤细胞转移均具有影响。在以下研究中,选择用于植入的肿瘤细胞源自肺肿瘤,并且具有从植入部位转移到肺的强烈趋势。图11A至11D显示了来自用图9A中显示的方案处理的小鼠的不同组织的免疫细胞化学研究的结果。值得注意的是,单独NutraWell补充可以减少或消除转移。

[0082] 如图11A中所显示,未处理的小鼠(左图,FITC染色)的肿瘤内的VEGF表达是明显的。与协同疗法一样,仅用包含鱼油和硒的营养补充剂或放疗处理显著降低VEGF的表达。在图11A的右图中提供了数值结果。如图11B中所显示,在已经转移到肺的肿瘤中发现了相似的结果。如所显示,VEGF表达在未处理的转移性肿瘤(左图,FITC染色)中显而易见,并且在接受了包含鱼油和硒的营养补充剂、放疗或二者处理的动物中急剧下降。在图11B的右图中

提供了这些研究的数值结果。

[0083] 在EGFR的表达中发现了相似的结果,EGFR的过表达与肿瘤有关。如图11C中所显示,升高的EGFR表达(左图,FITC染色)在未处理的肿瘤中明显,并且在用包含鱼油和硒的营养补充剂、放疗或这种补充剂和放疗的协同疗法处理的受试者中降低。在图11C的右图中显示了数值结果。如图11D中所显示,对于已经转移到肺的肿瘤中的EGFR表达,发现了相似的结果。如所显示,升高的EGFR表达(左图,FITC染色)在未处理的转移部位中明显,并且在用包含鱼油和硒的营养补充剂或放疗作为单一疗法,以及使用这种补充剂和放疗的协同疗法处理的受试者中降低。这表明使用包含鱼油和硒的营养补充剂、放疗和/或这种补充剂和放疗组合处理可以有效地增强接受癌症治疗的个体中针对EGFR的治疗方案。

[0084] 出人意料地,使用图9A中显示的方案,用包含鱼油和硒的营养补充剂处理、放疗以及使用这种补充剂与放疗的组合处理对肿瘤干细胞也有影响。这种干细胞与对抗各种癌症疗法的转移和发展有关。在以下研究中,选择用于植入的肿瘤细胞源自肺肿瘤,并且具有从植入部位转移到肺的强烈趋势。图12显示了来自用图9A中显示的方案处理的小鼠的不同组织的免疫细胞化学研究的结果。图12中的左图显示了肿瘤细胞中干细胞标志物CD31的染色(FITC染色)的结果。右图显示了肺部转移细胞的相似结果。未处理的受试者显示出CD31表达升高的大量细胞。出人意料地,在没有放疗的情况下,用包含鱼油和硒的营养补充剂处理减少或消除了肿瘤干细胞在肿瘤植入部位和肺转移部位的发生。

[0085] 使用图9A中显示的方案,用包含鱼油和硒的营养补充剂、放疗以及组合的NutraWell补充和放疗处理对通常在肿瘤细胞中或肿瘤细胞之间发现的缺氧也有影响。HIF1- $\alpha$ 是与缺氧相关的标志物。在以下研究中,选择用于植入的肿瘤细胞源自肺肿瘤,并且具有从植入部位转移到肺的强烈趋势。图13A显示了来自用图9A中显示的方案处理的小鼠的不同组织的免疫细胞化学研究的结果。左图显示了肿瘤细胞中HIF1- $\alpha$ 的免疫细胞化学染色(FITC染色)的结果,而右图显示了肺转移部位类似染色的结果。未处理的受试者显示出升高的HIF1- $\alpha$ 水平的大量细胞。出人意料地,在没有放疗的情况下用包含鱼油和硒的营养补充剂处理减少或消除了这种缺氧标志物在肿瘤植入部位和肺转移部位的出现。图13B显示了来自类似研究的典型数值结果,其中表征了肿瘤样品中的基因表达。如所显示,与放疗(TR)一样,用包含鱼油和硒的补充剂处理(TN)以及用包含鱼油和硒的营养补充剂预处理(PTN)持续一周,二者都可以降低HIF1- $\alpha$ 的肿瘤表达。当放疗和这种营养补充剂组合使用时(PTRN、TRN),肿瘤HIF1- $\alpha$ 表达急剧降低,特别是在预处理的受试者(PTRN)中(其表现出协同作用)。很明显,将包含鱼油和硒的营养补充剂与放疗组合使用可以降低肿瘤部位中的HIF1- $\alpha$ 蛋白含量和基因表达,这可能使它们更容易遭受缺氧条件的伤害。

[0086] 使用9A中显示的方案,用包含鱼油和硒的营养补充剂、放疗以及组合的补充和放疗对肿瘤细胞的凋亡活性也有影响。在图14中显示了自小鼠中肿瘤细胞植入第24天用于各种细胞凋亡标志物(Bax、Bcl-2和半胱天冬酶3)的表达的qPCR研究结果。如所显示,Bax/Bcl-2表达比在肿瘤细胞中较低,并且通过放疗仅稍微改善。出人意料地,用仅包含鱼油和硒的营养补充剂处理提供了该比的显著增加。另外,在这种补充剂和放疗的协同疗法上发现了显著的协同作用。半胱天冬酶3的表达实际上通过仅放疗就有所抑制,但是作为单一疗法和结合放疗的协同疗法二者,通过用包含鱼油和硒的营养补充剂处理急剧增加。

[0087] 还发现在人类疾病的动物模型中,用包含鱼油和硒的营养补充剂与放疗组合可以

调节PDL-1和PD-1在原发性肿瘤部位和转移性(肺)肿瘤部位的表达。如图15A中所显示,原发性(左图)和转移性(右图)肿瘤细胞二者均显示高水平的PDL-1表达(T)。出人意料地,当预处理(PTN)和植入时处理(TN)时,用包含鱼油和硒的营养补充剂处理显著降低了这些。因此,发明人认为,这种补充剂可用于增强用于癌症治疗的免疫治疗方法。用放疗处理(TR)还显示出PD-L1基因表达在原发部位和转移部位均降低,这表明仅放疗可用于增强用于癌症治疗的免疫治疗方法。无论是在植入前(PTRN)还是在植入时(TRN)提供补充剂,用这种营养补充剂和放疗的协同疗法可有效地减少在原发性肿瘤部位和转移性部位中的PDL-1表达。出人意料地,在原发性肿瘤部位比在转移部位的效果更显著。这表明,将包括鱼油和硒的营养补充剂与放疗组合的协同疗法可以使原发和转移部位的肿瘤细胞均更容易受到患者的免疫系统的影响,和/或可以增强免疫治疗方法对癌症治疗的效果。

[0088] 对PD-1表达进行了类似的研究。如图15B中所显示,无论在植入前(PTN)还是在植入时(TN),PD-1表达在用放疗(TR)处理的原发部位肿瘤细胞中降低,而在用包含鱼油和硒的补充剂处理的动物中的原发部位肿瘤细胞中增强(左图)。营养补充剂和放疗的协同疗法可提供不同的结果,这取决于是否在植入前(PTRN)或植入时(TRN)提供补充剂。如在图15B中的右图中所显示,相对于从对照动物获得的样品,转移部位的肿瘤细胞显示出降低的PD-1表达。出人意料地,无论是在植入前还是在植入时,放疗导致PD-1表达在转移部位增加(右图),用包含鱼油和硒的补充剂处理也是这样。与单一疗法观察到的那些相比,放疗和这种补充剂的协同疗法可以提供更高水平的PD-1表达。显而易见,用包含鱼油和硒的营养补充剂处理,特别是与放疗组合处理,可以使荷瘤受试者,特别是在转移部位中观察到的PD-1表达远离降低的表达水平。

[0089] 植入前、放疗前和开始放疗补充与重复放疗。

[0090] 在图16A和16B中显示了另一种治疗方案,该治疗方案将用包含鱼油和硒的营养补充剂以及临床应用中典型的多轮放疗预处理二者组合。在该方案中,在肿瘤细胞植入之前、在肿瘤细胞植入时和在开始放疗时开始用补充剂处理。

[0091] 肠道吸收的损失和导致的营养不良是放疗,特别是重复放疗的众所周知的副作用。图17显示了表明在放疗期间用包含鱼油和硒的营养补充剂对内脏细胞结构的处理效果的显微照片。显示了未处理的对照受者的内脏的细胞结构(左上图),用多轮放疗处理的植入肿瘤的受者的内脏的细胞结构(右上图),用包含鱼油和硒的营养补充剂预处理并随后用放疗处理的植入肿瘤的受者的内脏的细胞结构(左下图),以及在开始放疗时用包含鱼油和硒的营养补充剂处理的植入肿瘤的受者的内脏的细胞结构(右下图)。如所显示,用包含鱼油和硒的营养补充剂处理可以在放疗期间维持肠刷状缘,而预处理显然增强肠刷状缘。这表明用这种补充剂处理,特别是预处理,可以有效地解决放疗的副作用。

[0092] 已经发现这种治疗方案在体内修饰某些基因在肿瘤细胞中的表达。在18A至18F中显示了来自通过图16A中显示的方案处理的小鼠的肿瘤细胞中的基因表达(例如,血管生成因子相关的、细胞凋亡相关的等)的qPCR研究结果。如图18A中所显示,与重复放疗一样,用包含鱼油和硒的营养补充剂处理降低了肿瘤细胞中的VEGF表达。用这种补充剂和放疗的组合疗法提供了VEGF表达的增强的降低,特别是在开始放疗之前提供包含鱼油和硒的营养补充剂时。

[0093] 图18B显示了通过用包含鱼油和硒的营养补充剂处理,肿瘤细胞中的BAX表达增

加,并且相对不受单独重复放疗的影响。用这种补充剂与重复放疗组合的预处理也增加BAX表达。如图18D中所显示,对于另一种细胞凋亡相关基因(半胱天冬酶3)的表达发现了相似的结果。在图18F中显示了在转移性(肺)肿瘤中半胱天冬酶3表达的研究结果。如所显示,通过用包含鱼油和硒的营养补充剂和通过重复放疗处理可以提高这种转移性肿瘤中半胱天冬酶3的表达,并且在开始放疗之前将补充剂作为协同疗法提供时,与对照细胞中半胱天冬酶3的表达相似。

[0094] 通过用包含鱼油和硒的营养补充剂处理以及仅通过重复放疗,可降低肿瘤细胞中另一种细胞凋亡相关基因Bcl-2的表达(参见图18C)。Bcl-2表达的这种降低在这种补充剂和重复放疗的协同疗法中更加显著,特别是在开始放疗之前提供补充剂时。图18E显示了对转移性(肺)肿瘤进行的类似研究的结果。如所显示,在包含鱼油和硒的营养补充剂和重复放疗的协同疗法中Bcl-2表达的降低以协同方式减少,特别是在开始放疗之前提供补充剂时。

#### [0095] 植入前补充和重复放疗

[0096] 图19A和19B(分别)示出了治疗方案和相关的测试组,其中在植入肿瘤细胞之前7天提供包含鱼油和硒的营养补充剂,并且在植入之后的第8、10和12天进行放疗。在植入后第24天处死小鼠。

[0097] 癌症和重复放疗二者的众所周知的副作用是体重减轻。这可能是由于与疾病相关的消瘦以及放疗的副作用引起的。在图20A和20B中显示了在重复放疗之后,用包含鱼油和硒的营养补充剂处理对体重损失和肌肉质量的影响。应当认识到,在去除肿瘤块之后表征了体重。如图20A中所显示,当去除肿瘤块时,相对于对照受试者,剩余体重的显著减少是显而易见的。这可以通过用包含鱼油和硒的营养补充剂处理以及通过放疗作为单一疗法来改善。出人意料地,当将这种补充剂和重复放疗组合使用时,体重增加超过了对照受试者。图20B显示了各个测试组中腓肠肌的重量。在未处理的荷瘤动物中,肌肉质量的损失是显而易见的。通过仅重复放疗可以稍微改善。出人意料地,用包含鱼油和硒的营养补充剂处理可以显著保留肌肉质量。相对于未处理的荷瘤受试者,用包含鱼油和硒的营养补充剂与重复放疗的协同疗法提供肌肉质量的协同改善。显而易见,用包含鱼油和硒的营养补充剂预处理可以有效地逆转由于肿瘤的存在和重复放疗而引起的体重减轻(相对于对照受试者)和肌肉质量的损失。

#### [0098] 胚胎植入前补充和重复放疗

[0099] 在图21A和21B中显示了相关治疗组的另一治疗方案,其与图16A和16B中显示的方案相似。在该方案中,在植入肿瘤细胞之后第8、10和12天提供放疗。在植入之前7天、植入当天或在开始放疗时提供用包含鱼油和硒的营养补充剂的处理。在肿瘤细胞植入之后第21天处死小鼠。

[0100] 癌症和放疗的众所周知的副作用是体重减轻。在图22中显示了当在初始重复放疗之前提供和在初始重复放疗同时提供时,用包含鱼油和硒的营养补充剂处理对体重减轻和肌肉质量损失的影响。应当理解,在去除肿瘤块之后表征了体重。如所显示,相对于对照受试者,随着时间推移未处理的荷瘤受试者的体重增加(在切除肿瘤之后)显著降低。当仅使用重复放疗时记录了类似的损失。出人意料地,无论是作为单一疗法还是当与重复放疗组合使用,随着时间的推移用包含鱼油和硒的营养补充剂处理都可以显著改善体重增加。当

这种补充剂用作预处理时,这尤其明显。

[0101] 发明人还发现,如图23中所显示,用包含鱼油和硒的营养补充剂预处理增强了在重复放疗中观察到的肿瘤体积的减小。如所显示,相对于未处理的荷瘤动物的肿瘤,重复放疗和用包含鱼油和硒的营养补充剂处理均具有减小肿瘤体积的调节作用。出人意料地,当将重复放疗和包含鱼油和硒的营养补充剂用作协同疗法时,随着时间推移肿瘤体积几乎不会变化,这表明协同作用。

[0102] 肿瘤的存在和重复放疗也可能导致炎症的发展,其特征在于血清中促炎细胞因子的存在。图24A和24B显示了施用包含鱼油和硒的营养补充剂与重复放疗对按图21A中显示的方案处理的小鼠中促炎细胞因子的浓度的影响。图24A显示了血清TNF- $\alpha$ 的值。显而易见,未处理的荷瘤动物显示高度升高的TNF- $\alpha$ 浓度,通过重复放疗可将其降低到一定程度。用包含鱼油和硒的营养补充剂处理也导致血清TNF- $\alpha$ 降低,特别是当这种补充剂与重复放疗一起用于协同疗法时。图24B显示了类似研究的结果,其中表征了IL-6的血清浓度,其显示了相似结果。

[0103] 对于本领域的技术人员应该显而易见的是,除了已经描述的那些之外,在不脱离本文的发明构思的情况下,可以进行更多的改进。因此,除了所附权利要求的精神之外,本发明的主题不受限制。此外,在解释说明书和权利要求书时,应以与上下文一致的尽可能宽泛的方式解释所有术语。特别地,术语“包括(comprise)”和“包括(comprising)”应被解释为以非排他性的方式指代要素、组分或步骤,指示所引用的要素、组分或步骤可以存在、利用或组合,以及其他未明确引用的要素、组分或步骤。在说明书权利要求书中引用选自A、B、C…和N中的至少一个,则该文本应解释为仅需要该组中的一个要素,而不是A加N或B加N等。

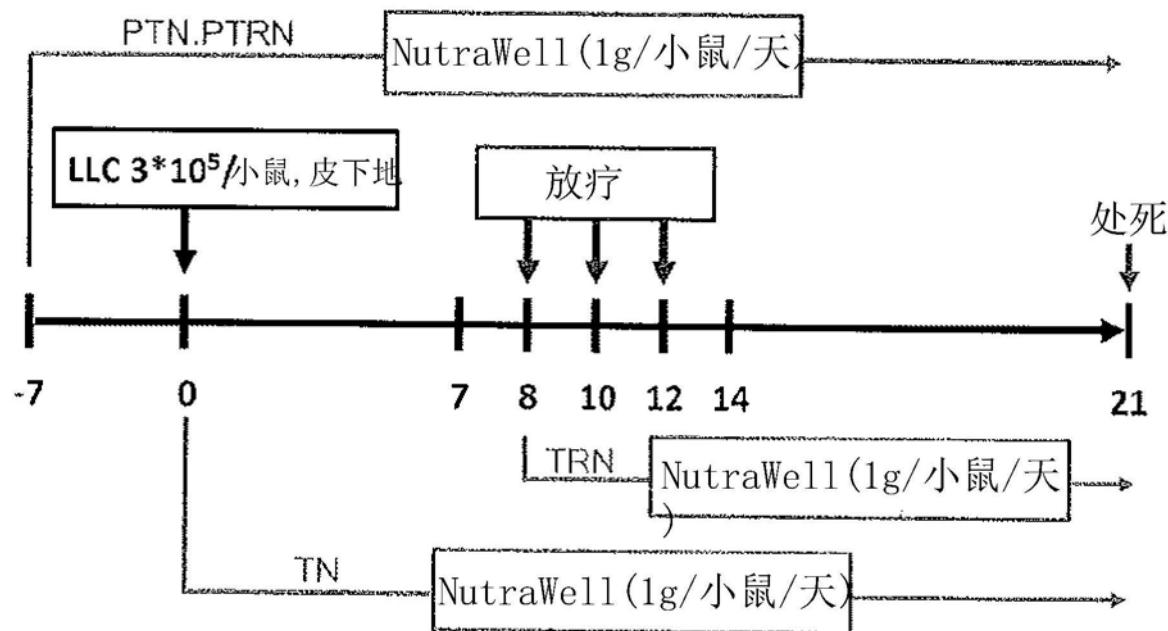


图1

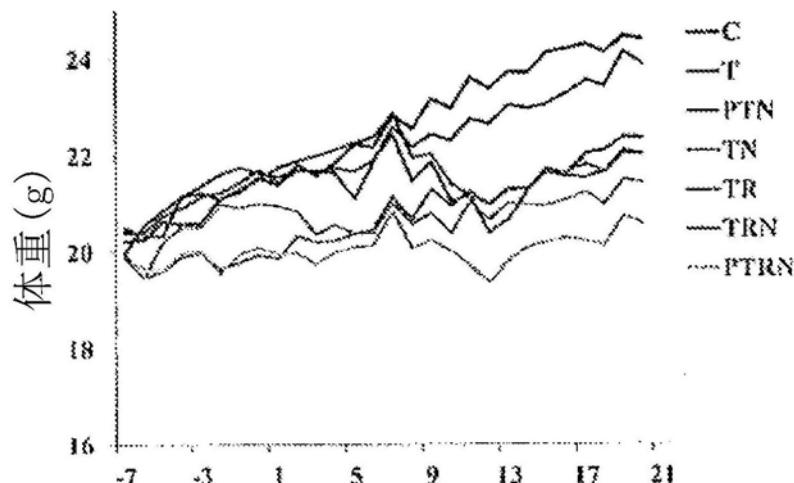


图2A

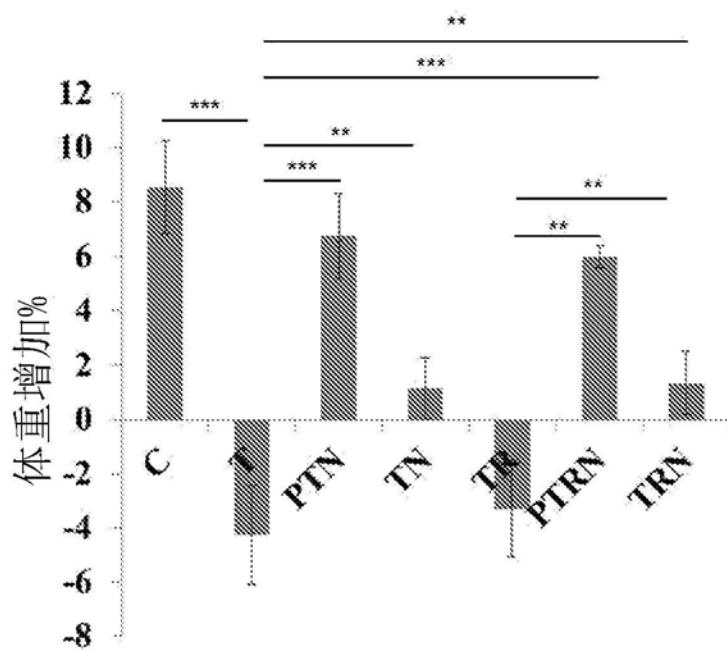


图2B

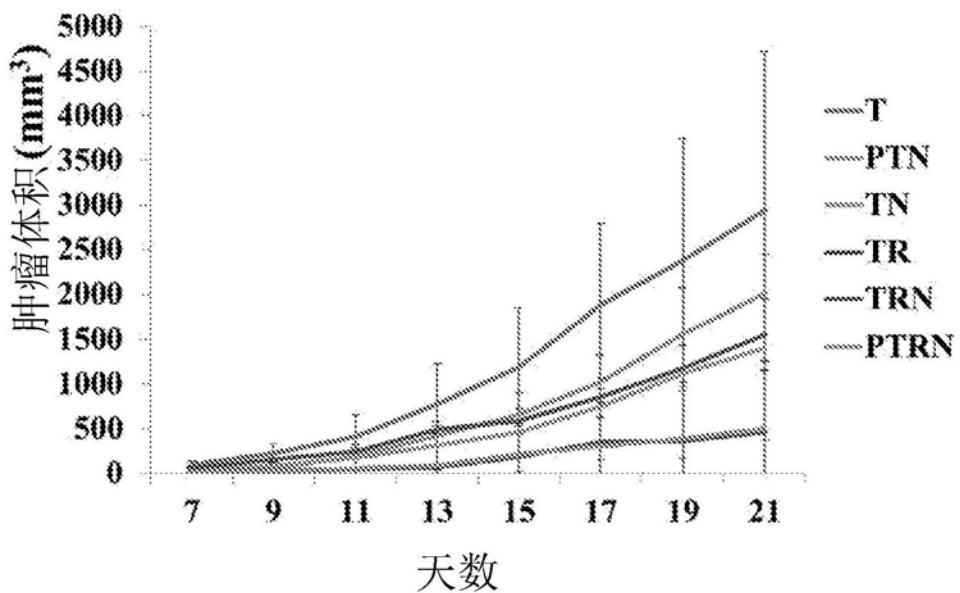


图3A

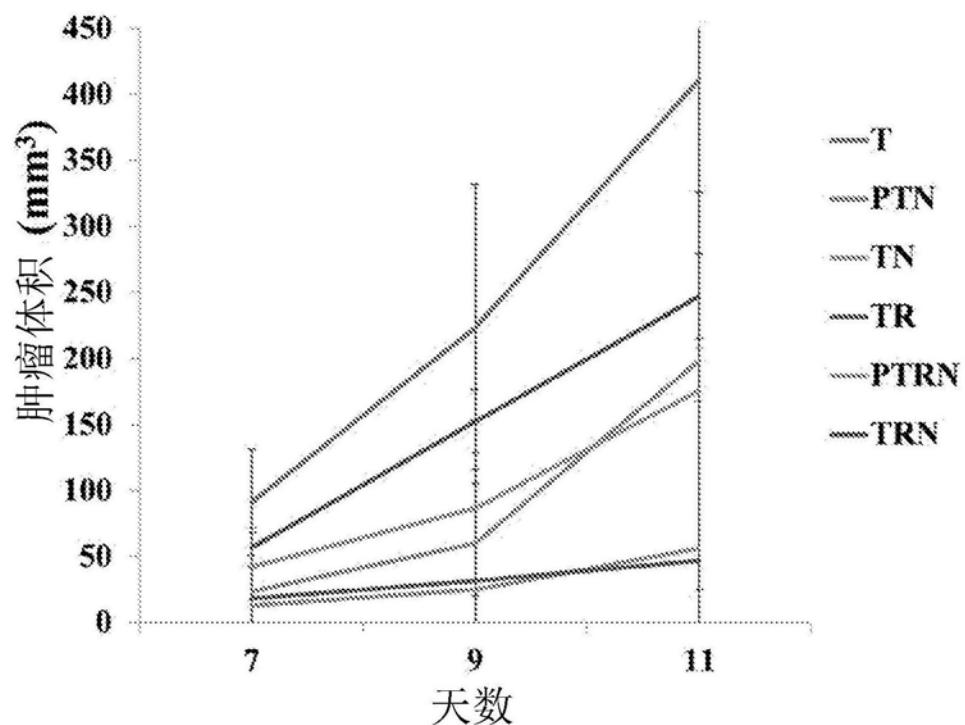


图3B

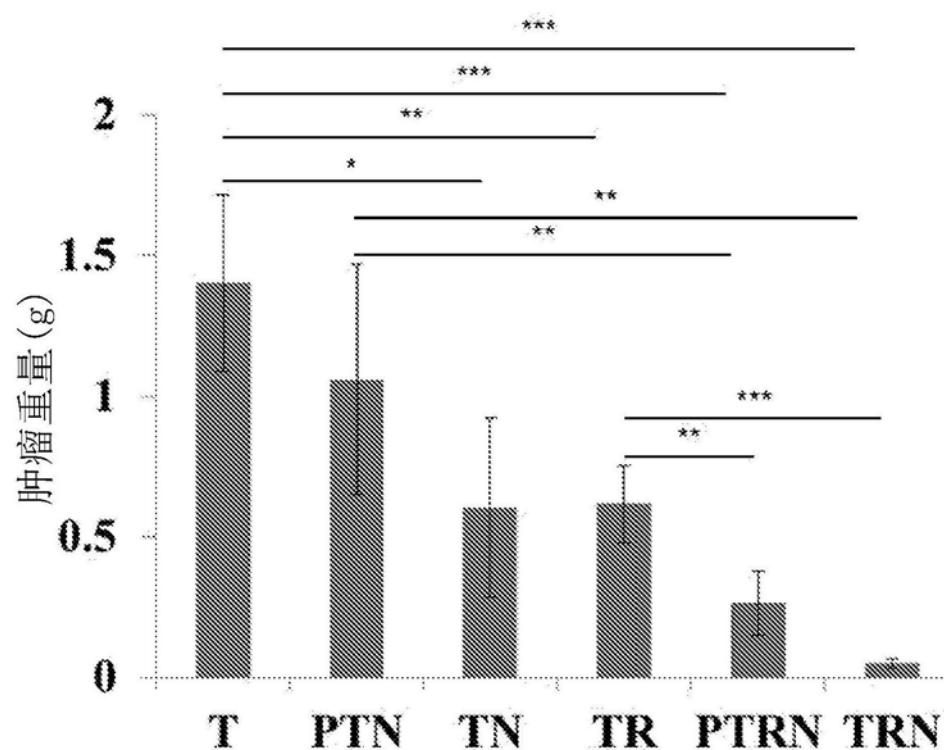


图3C

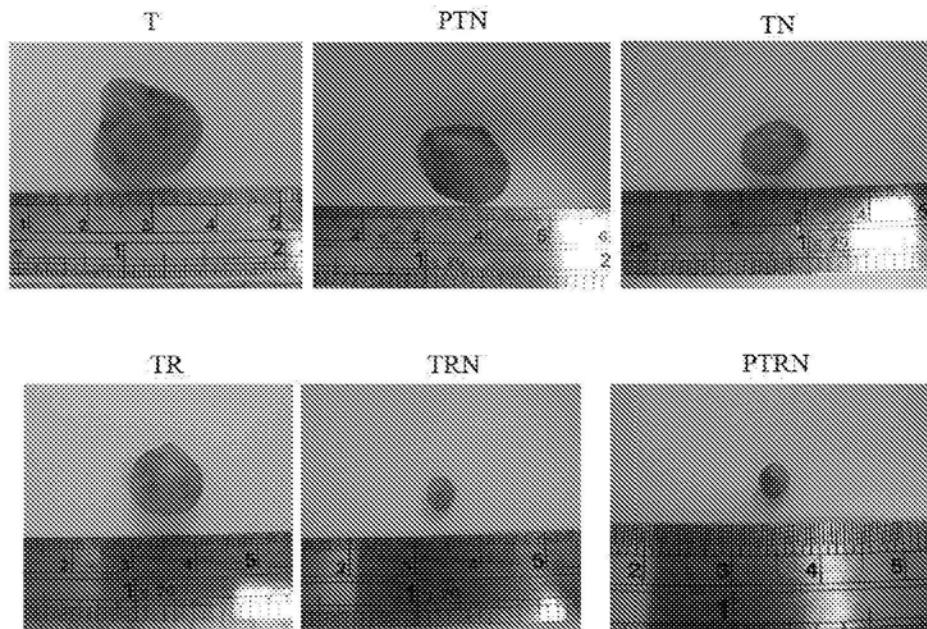


图3D

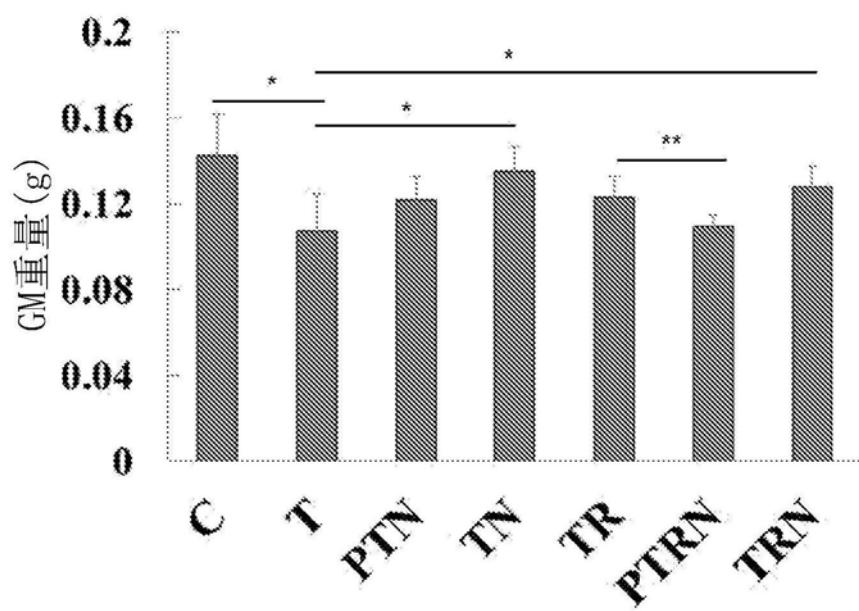


图4A

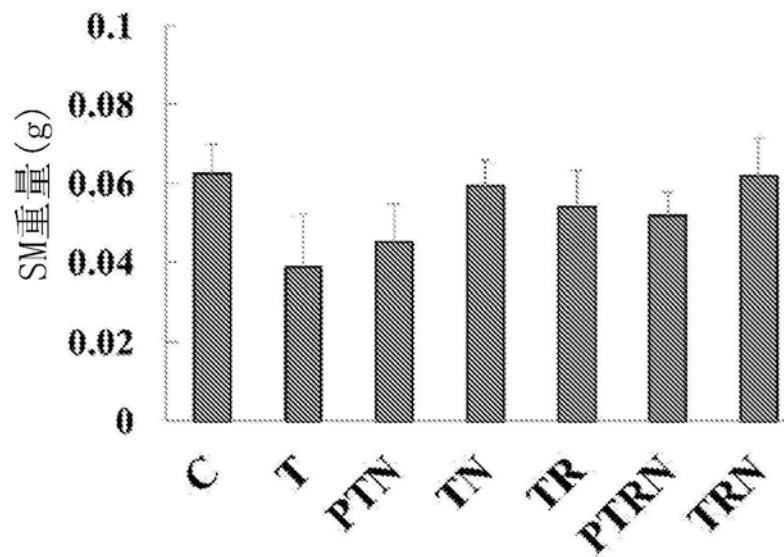


图4B

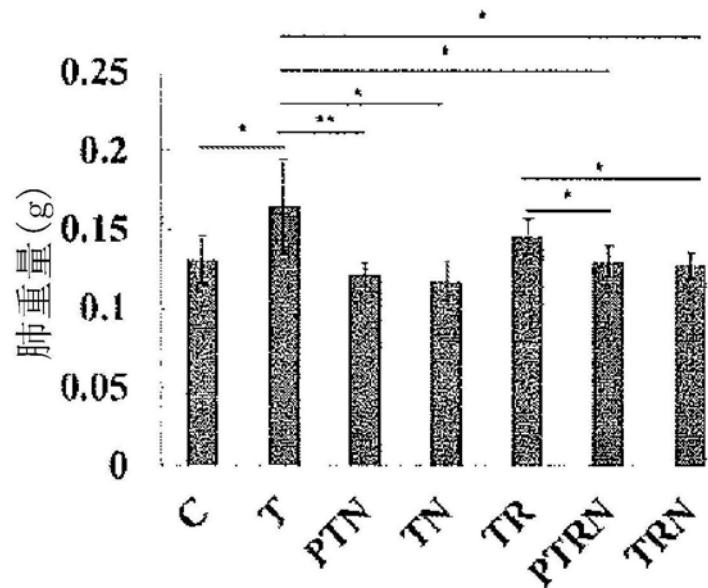


图4C

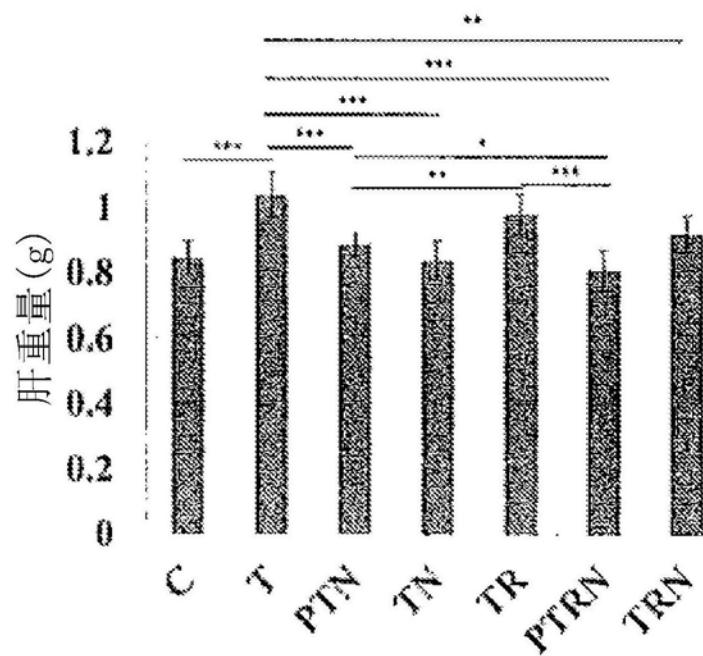


图4D

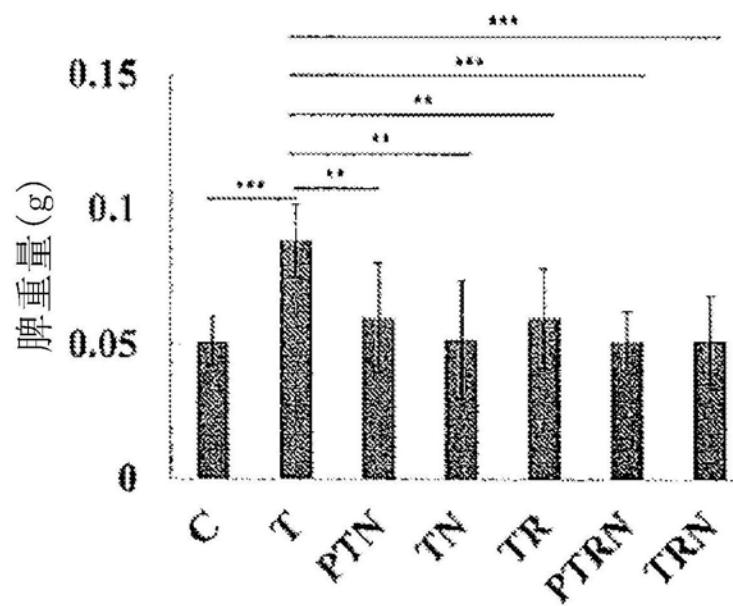


图4E

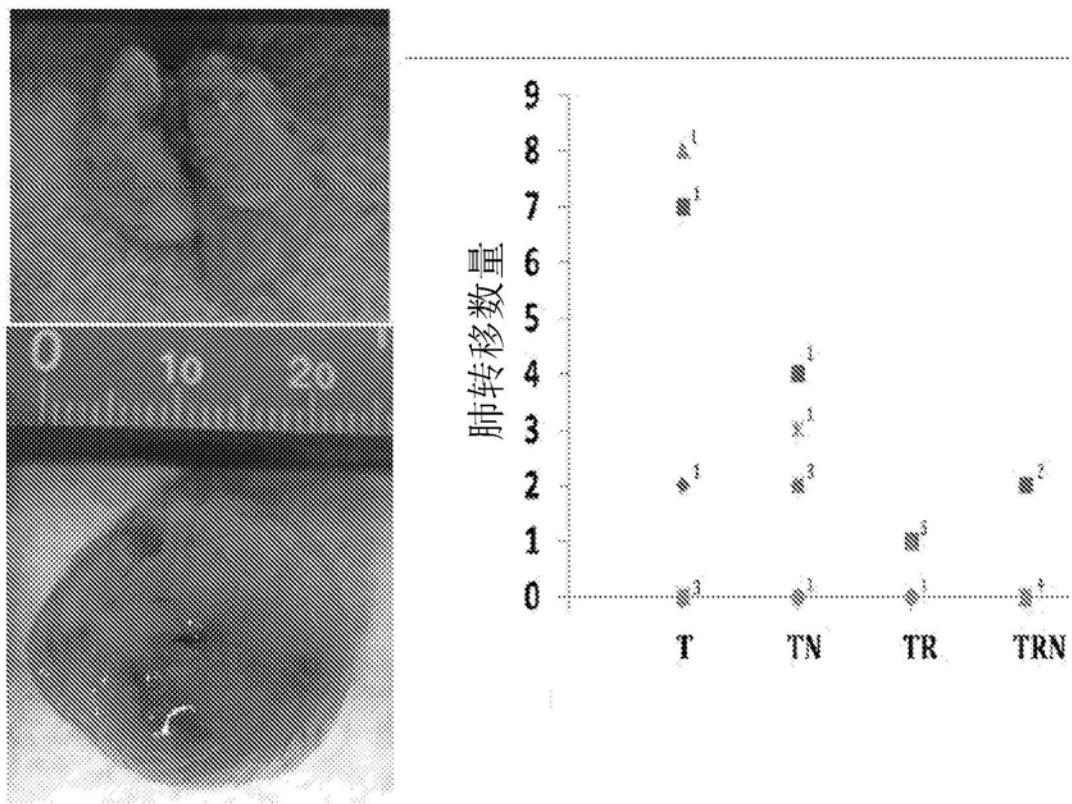


图4F

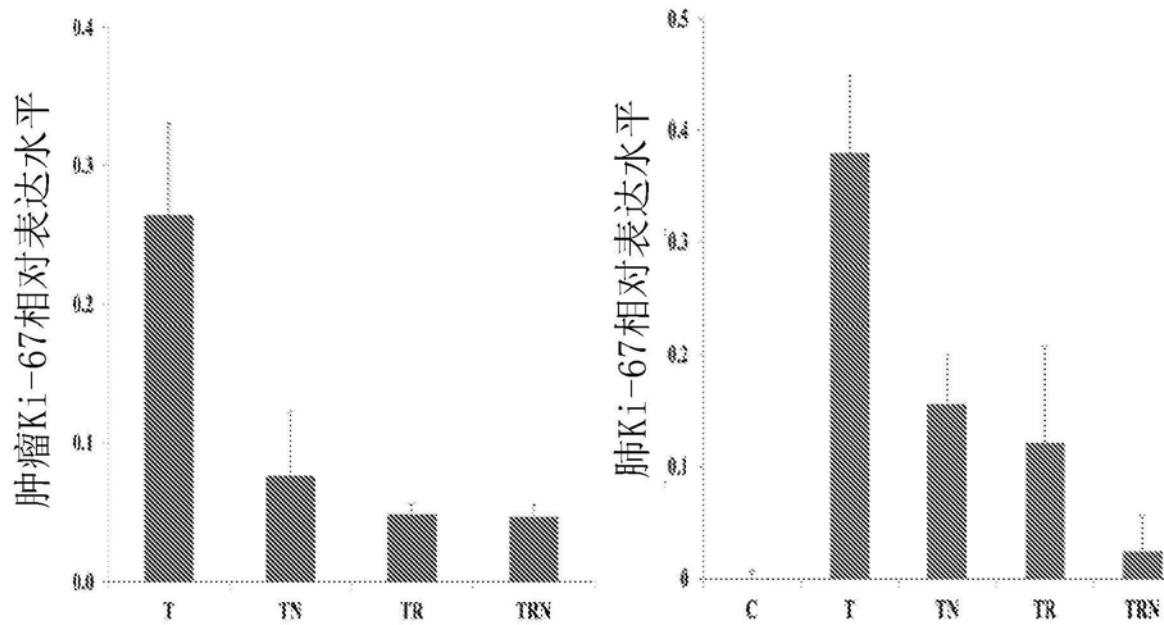


图4G

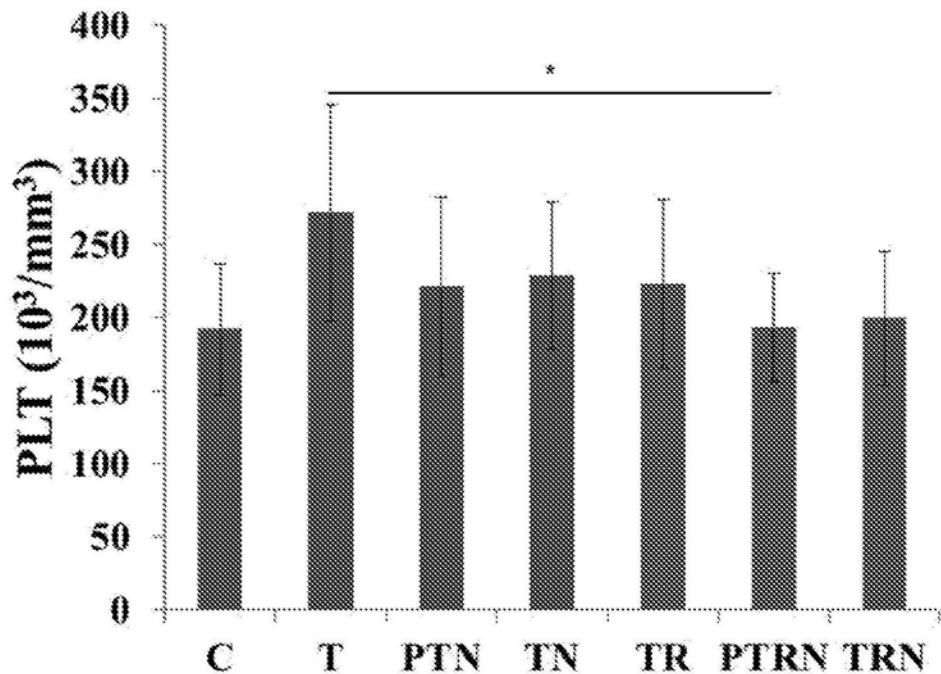


图5A

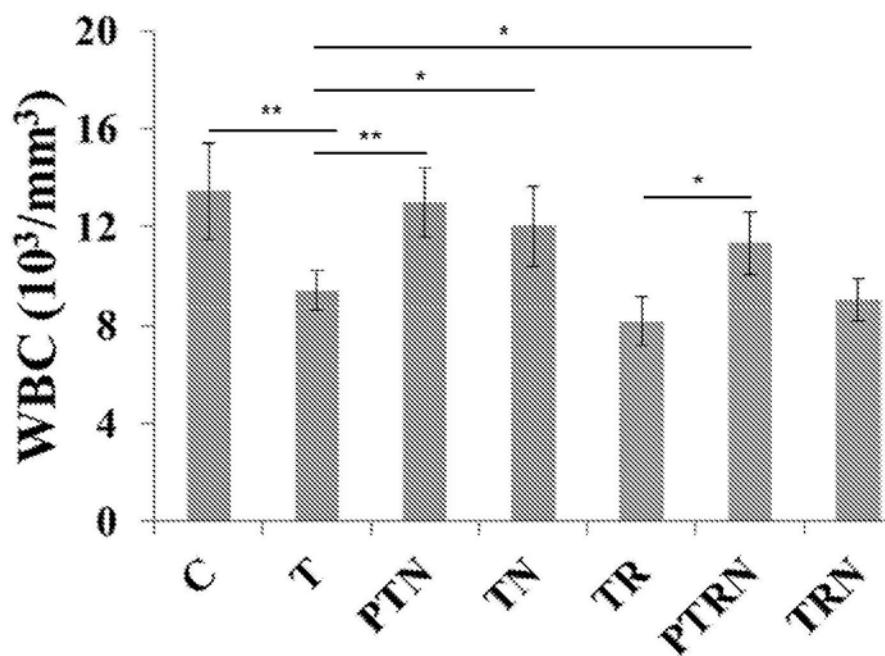


图5B

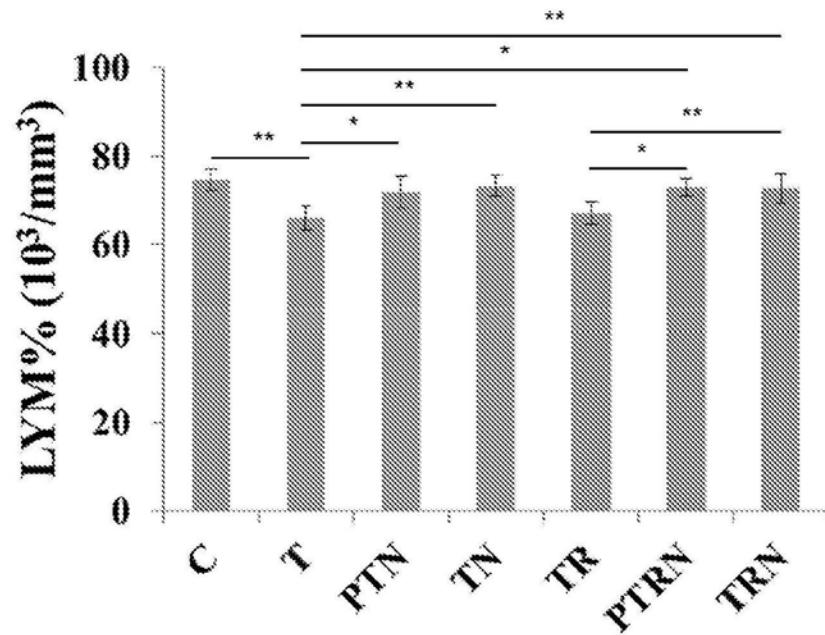


图5C

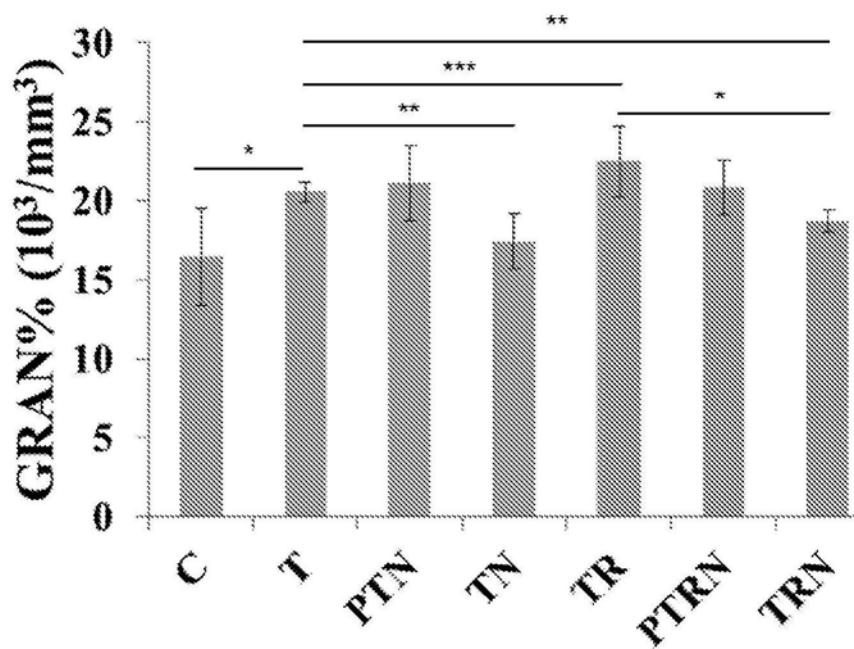


图5D

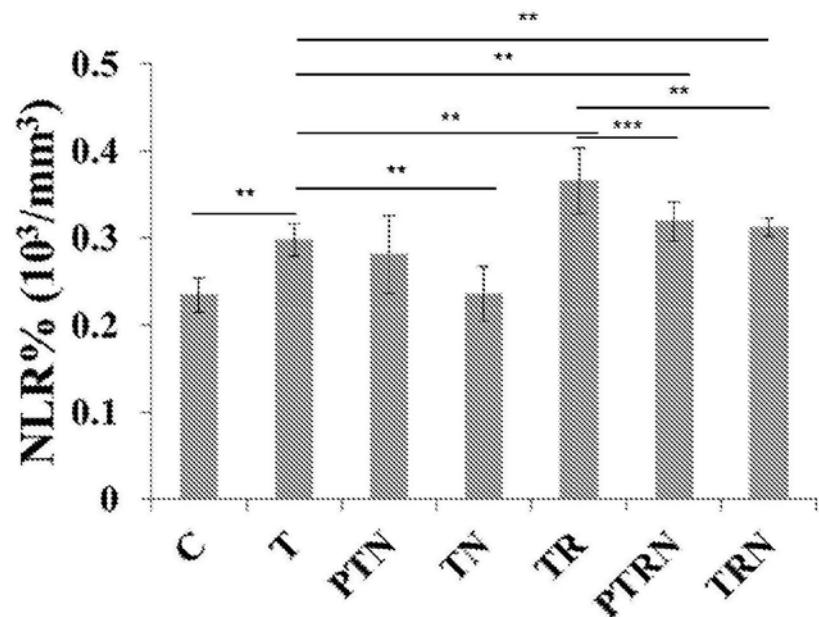


图5E

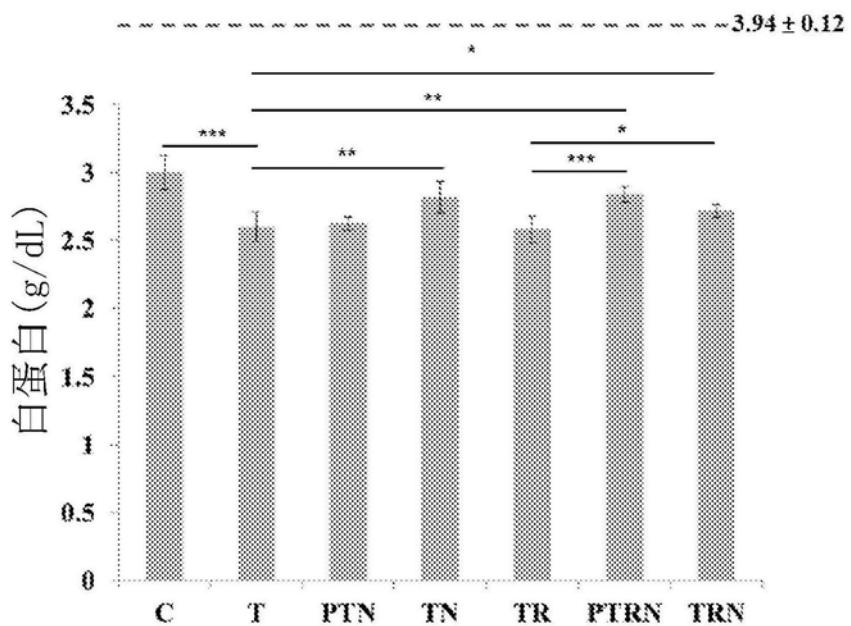


图6A

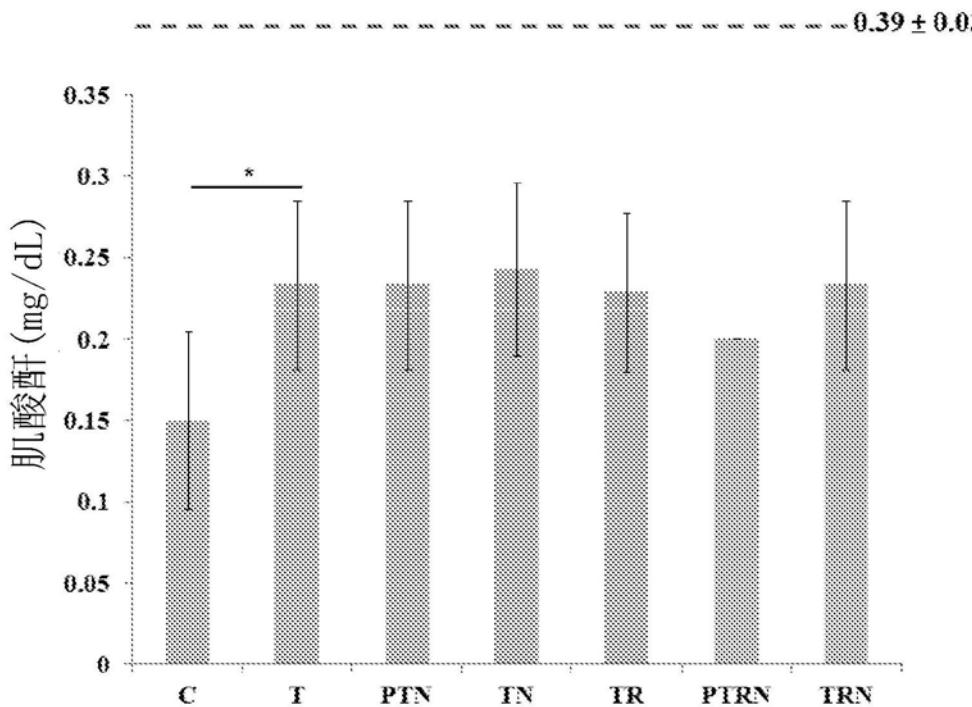


图6B

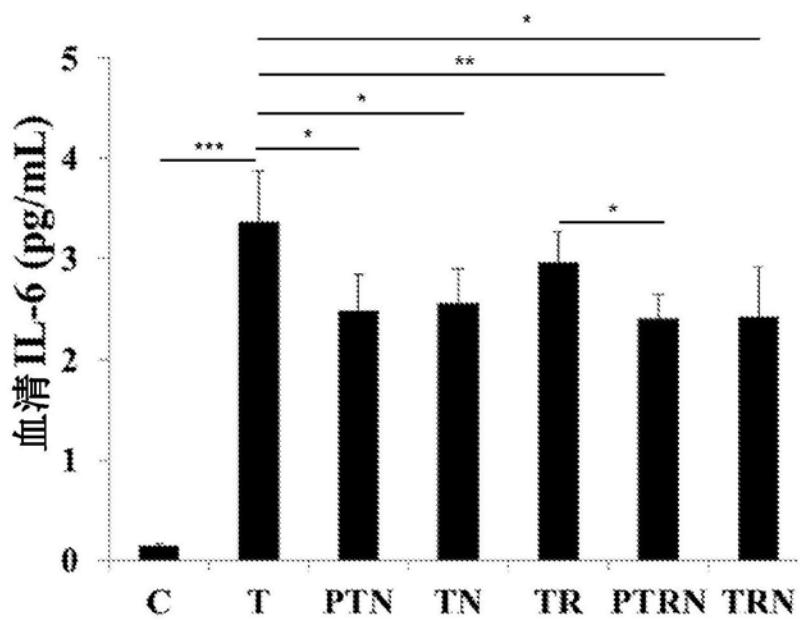


图7A

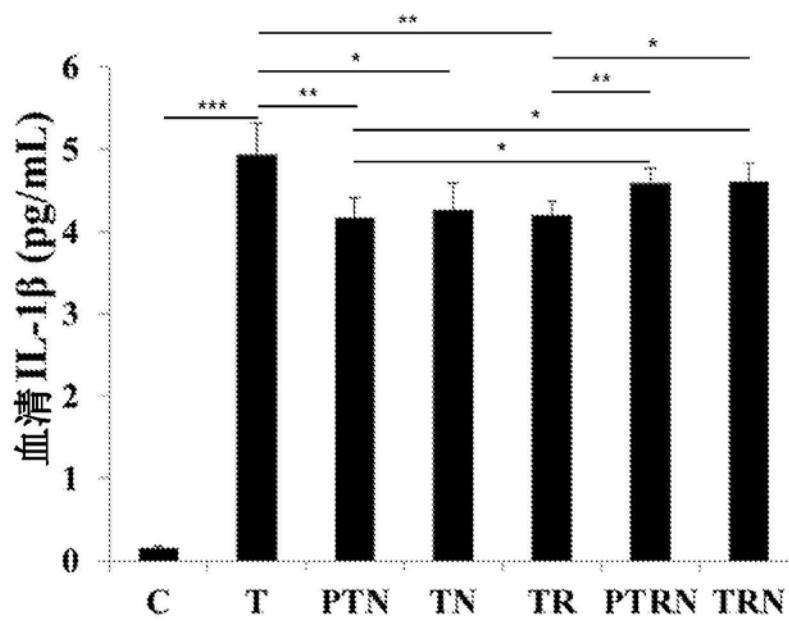


图7B

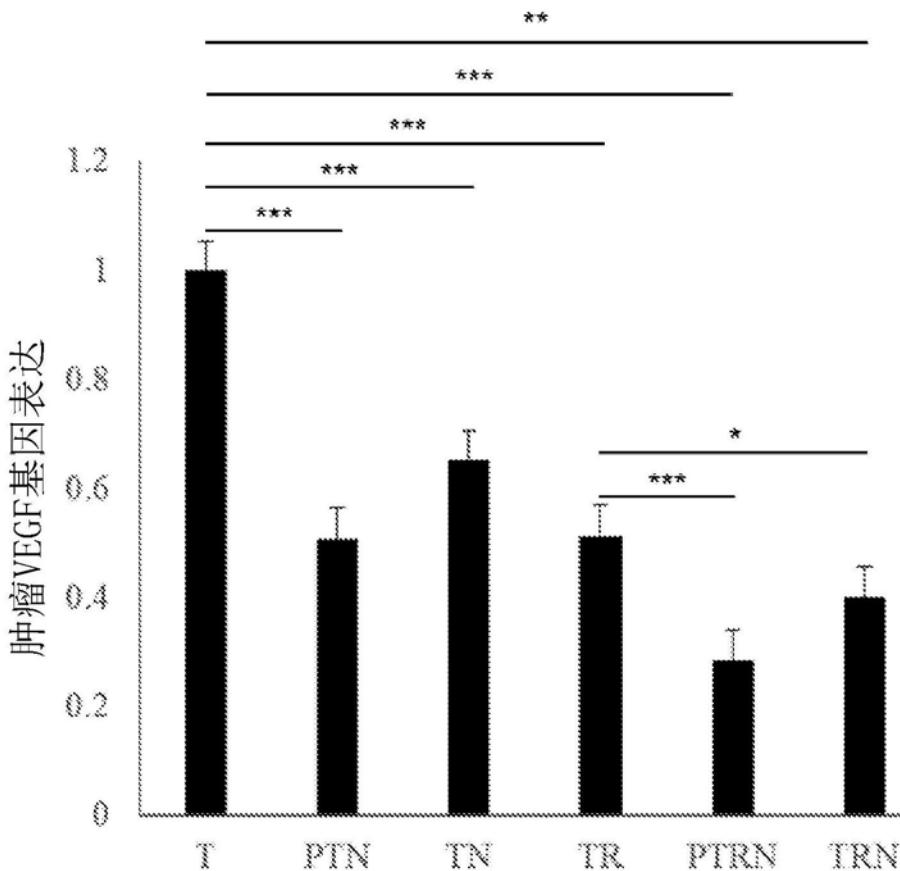


图8A

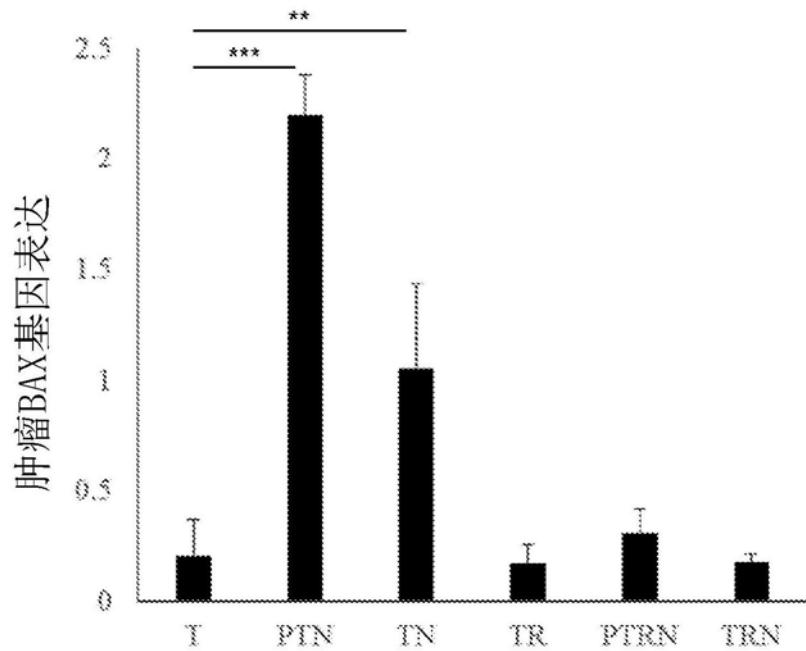


图8B

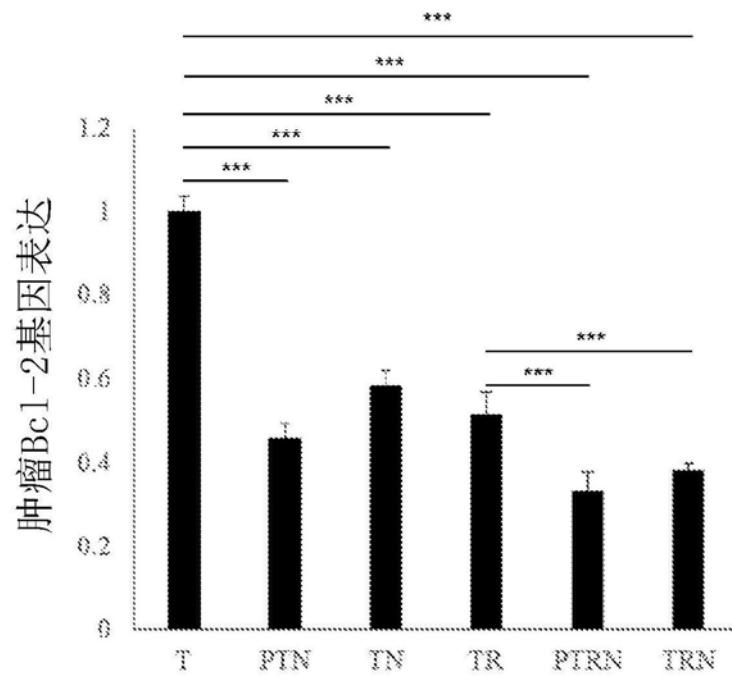


图8C

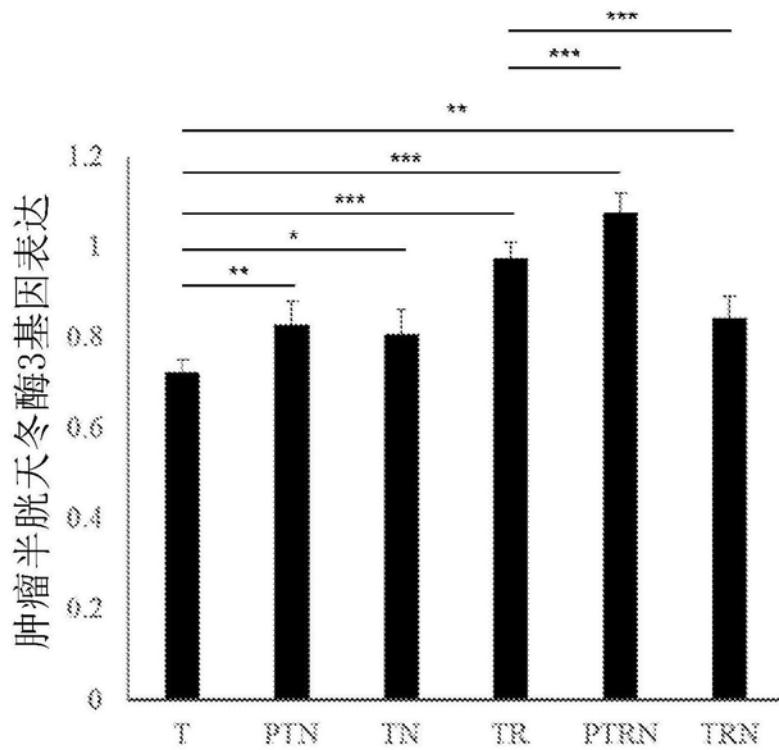


图8D

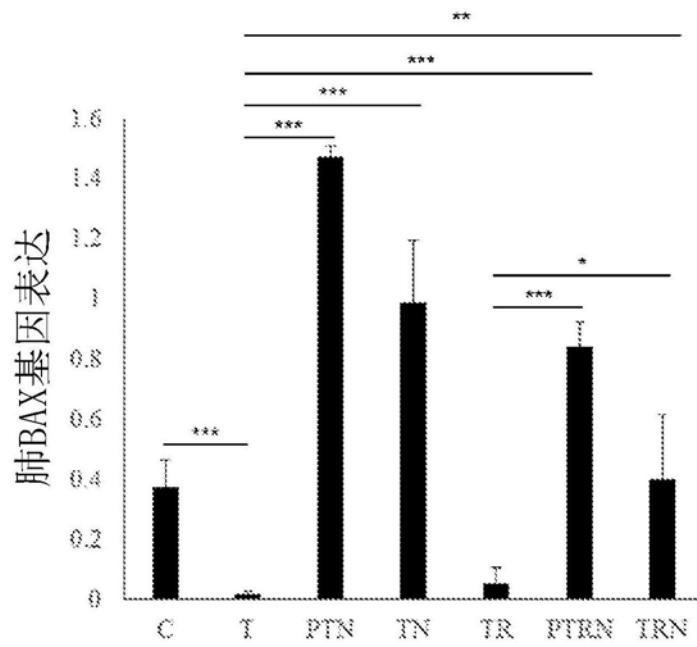


图8E

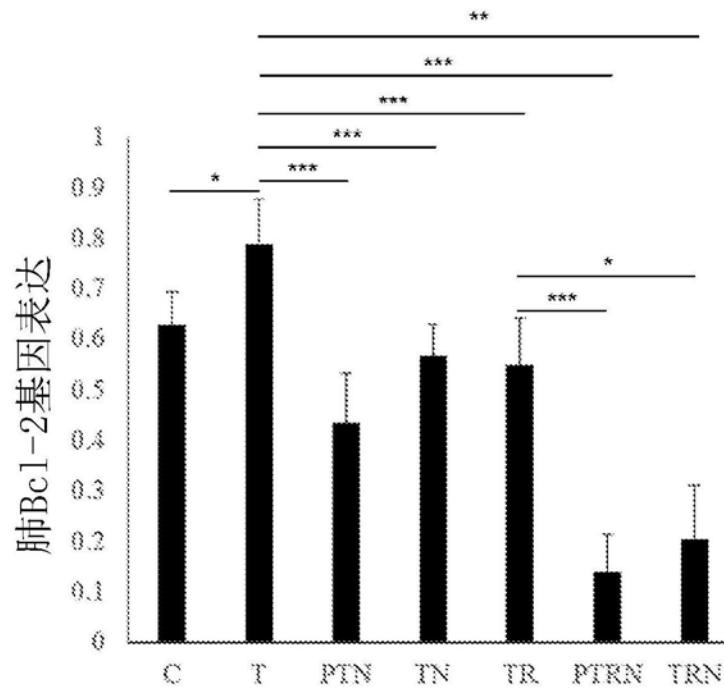


图8F

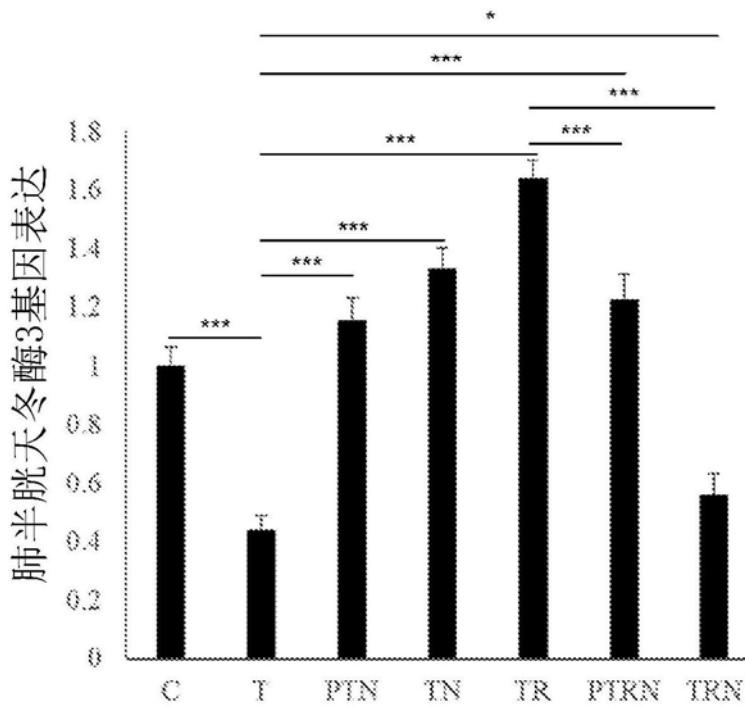


图8G

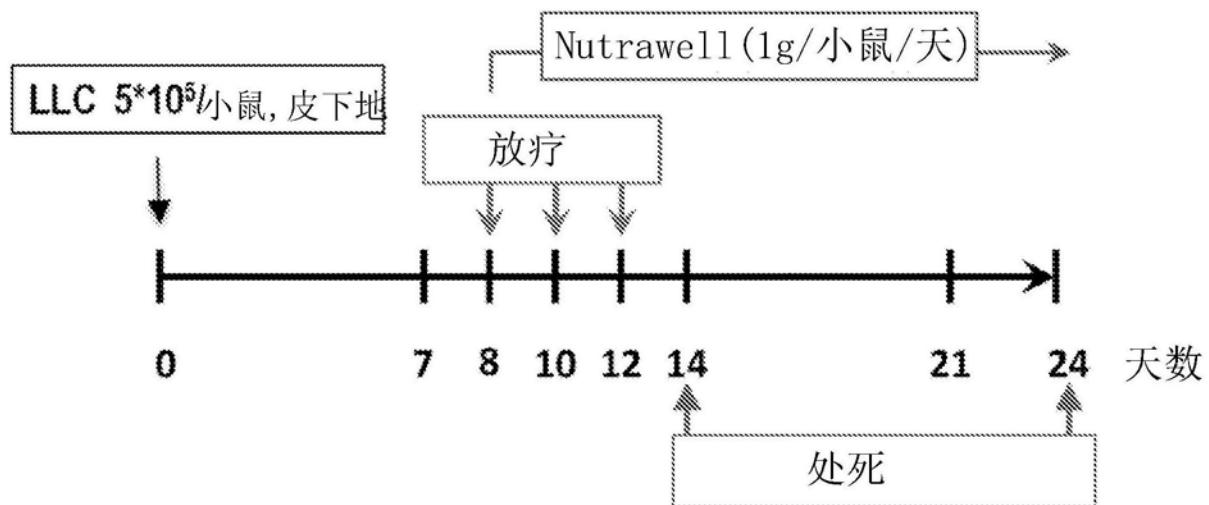


图9A

			处死(第14天)	处死(第24天)
1	C	对照	N=6	N=6
2	T	肿瘤	N=6	N=6
3	TN	肿瘤 + Nutrawell	N=6	N=6
4	T3R	肿瘤 + 放疗 x3	N=6	N=6
5	T3RN	肿瘤 + 放疗 x3+ Nutrawell	N=6	N=6

图9B

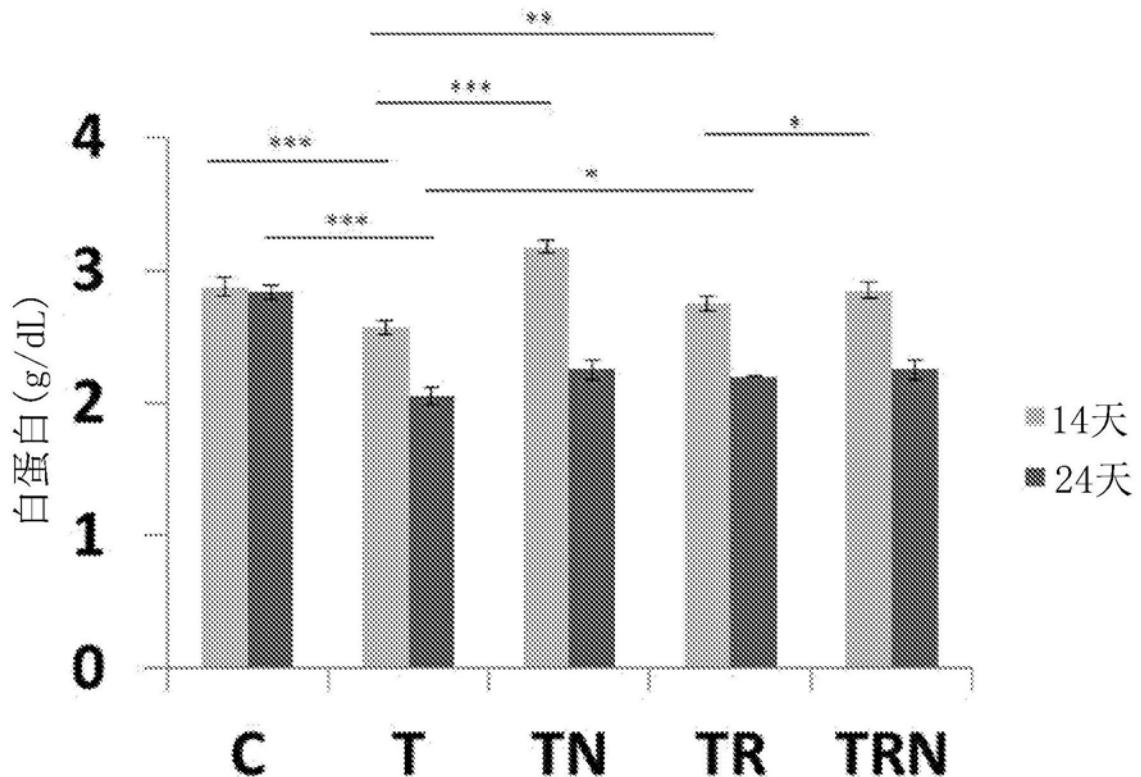


图10A

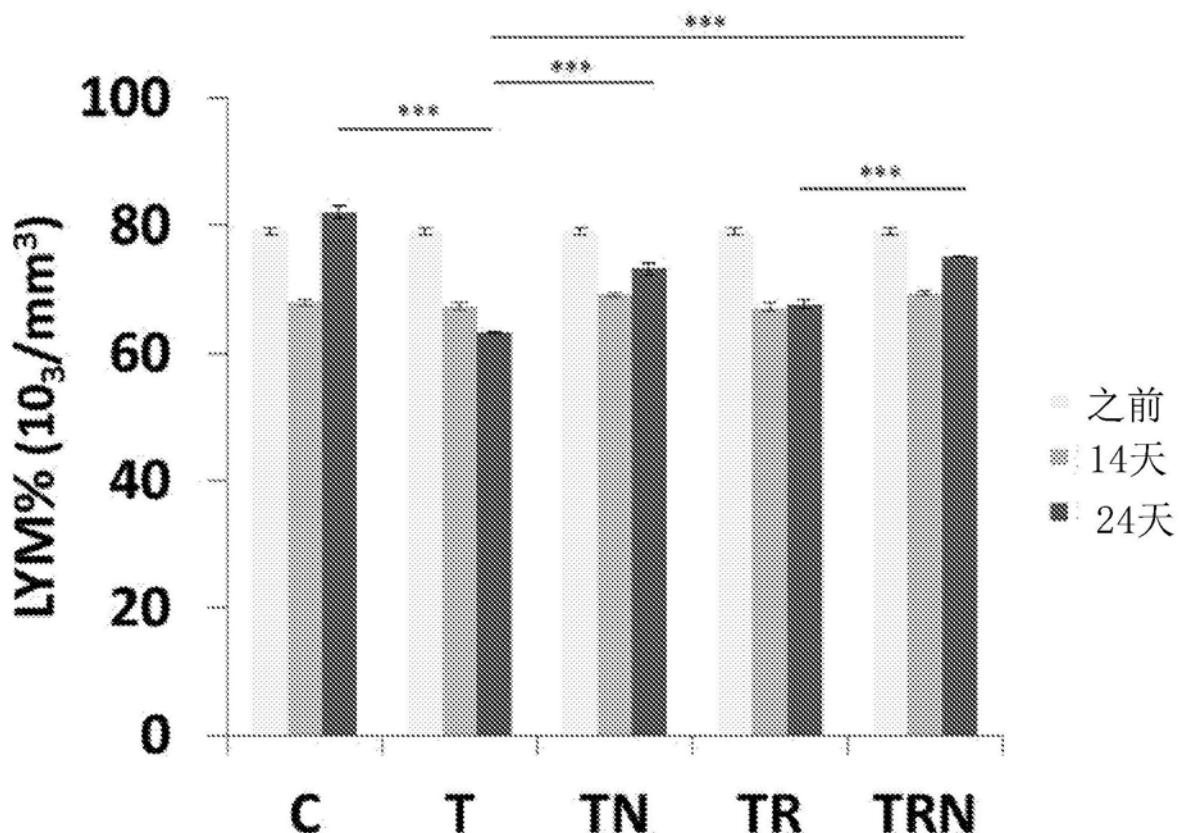


图10B

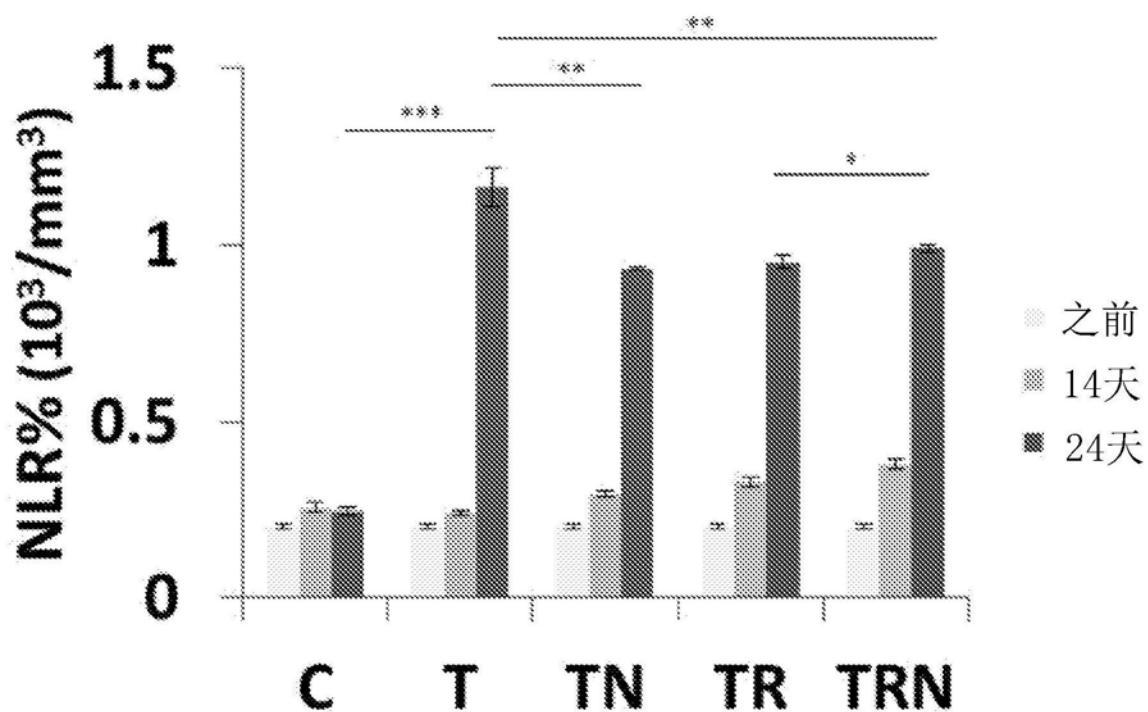


图10C

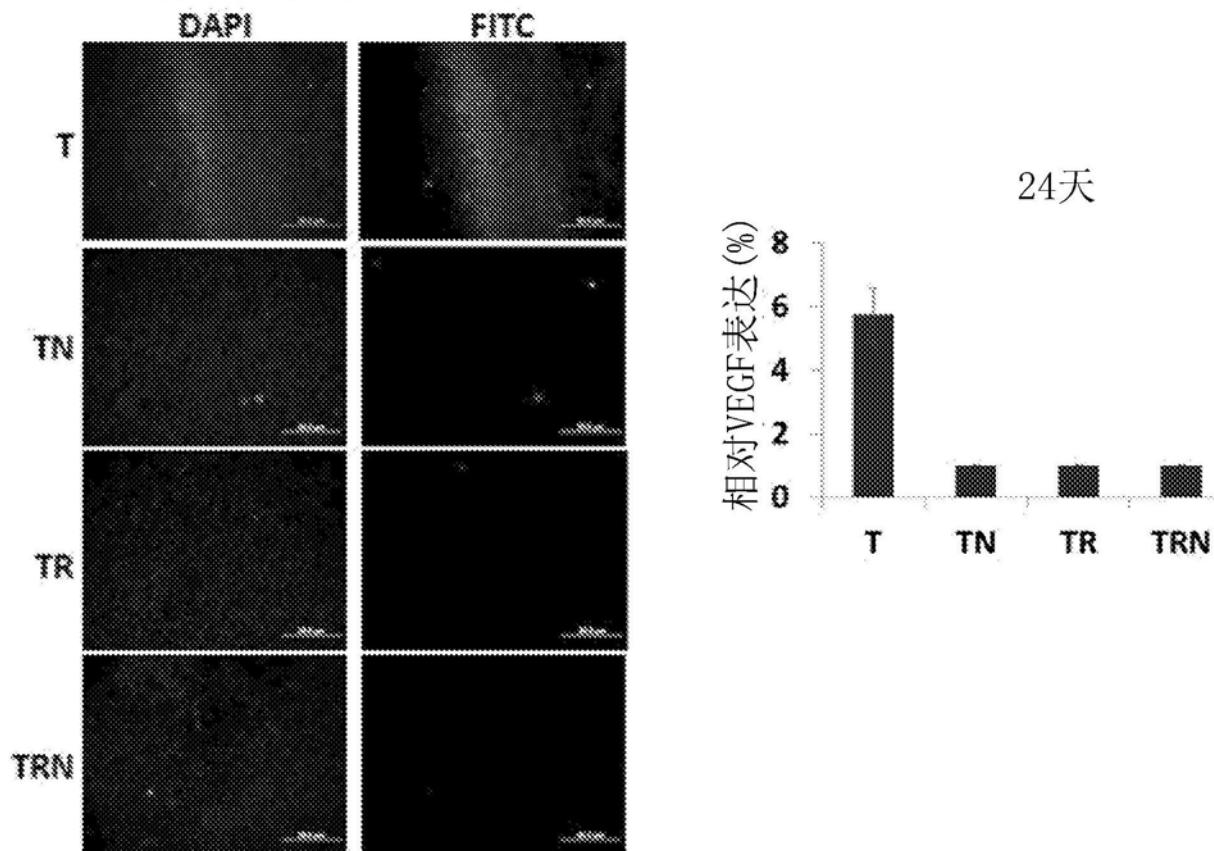
**VEGF 肿瘤**

图11A

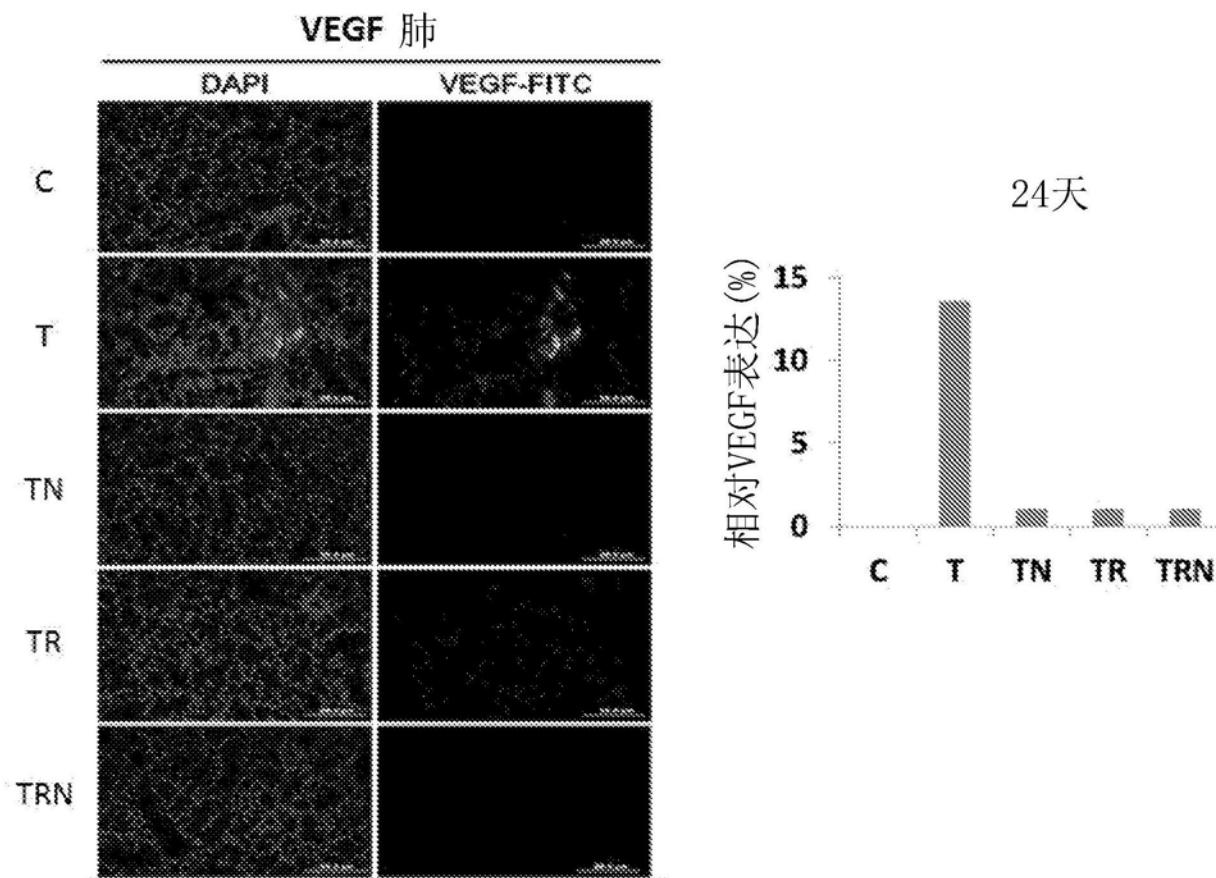


图11B

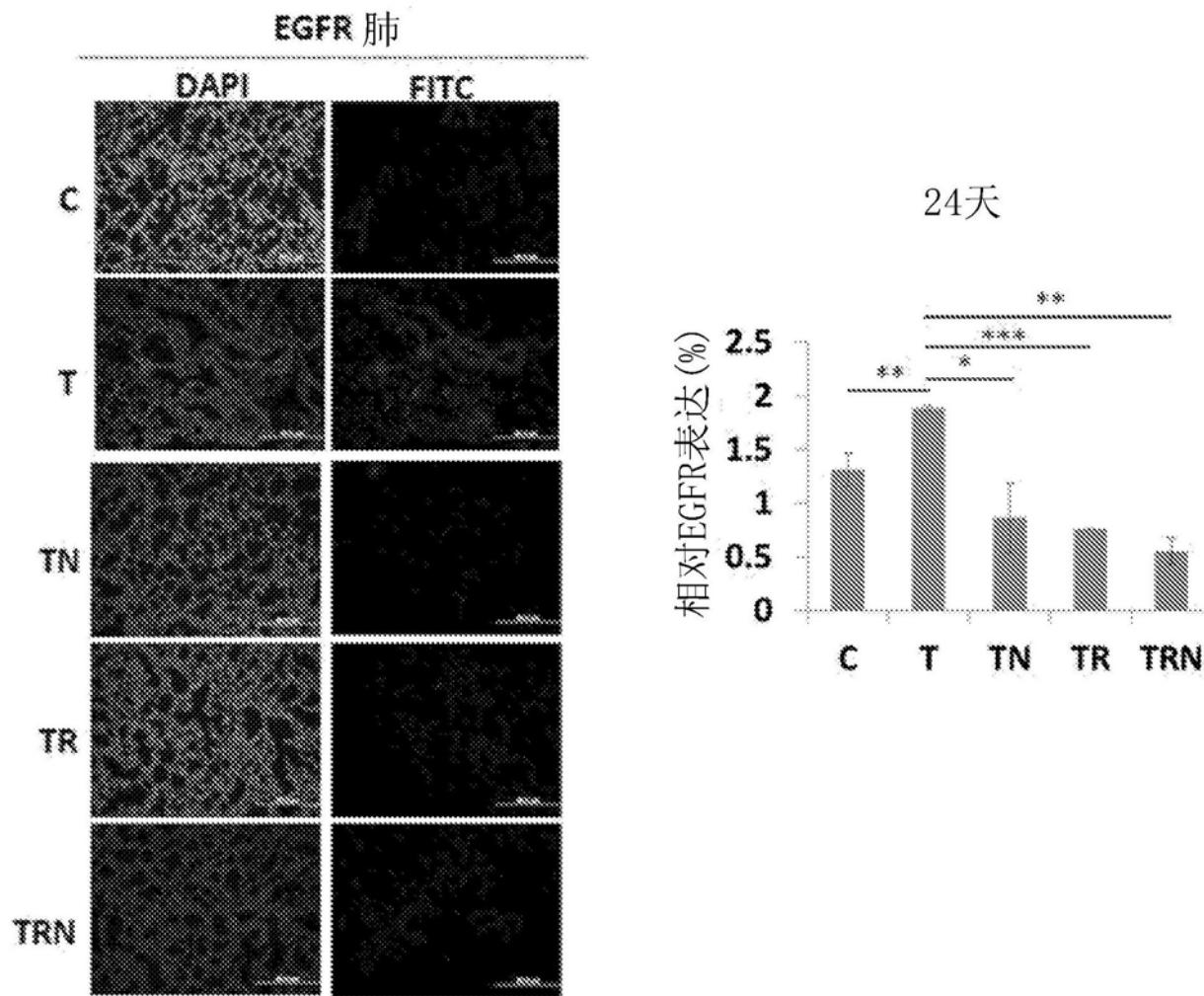


图11C

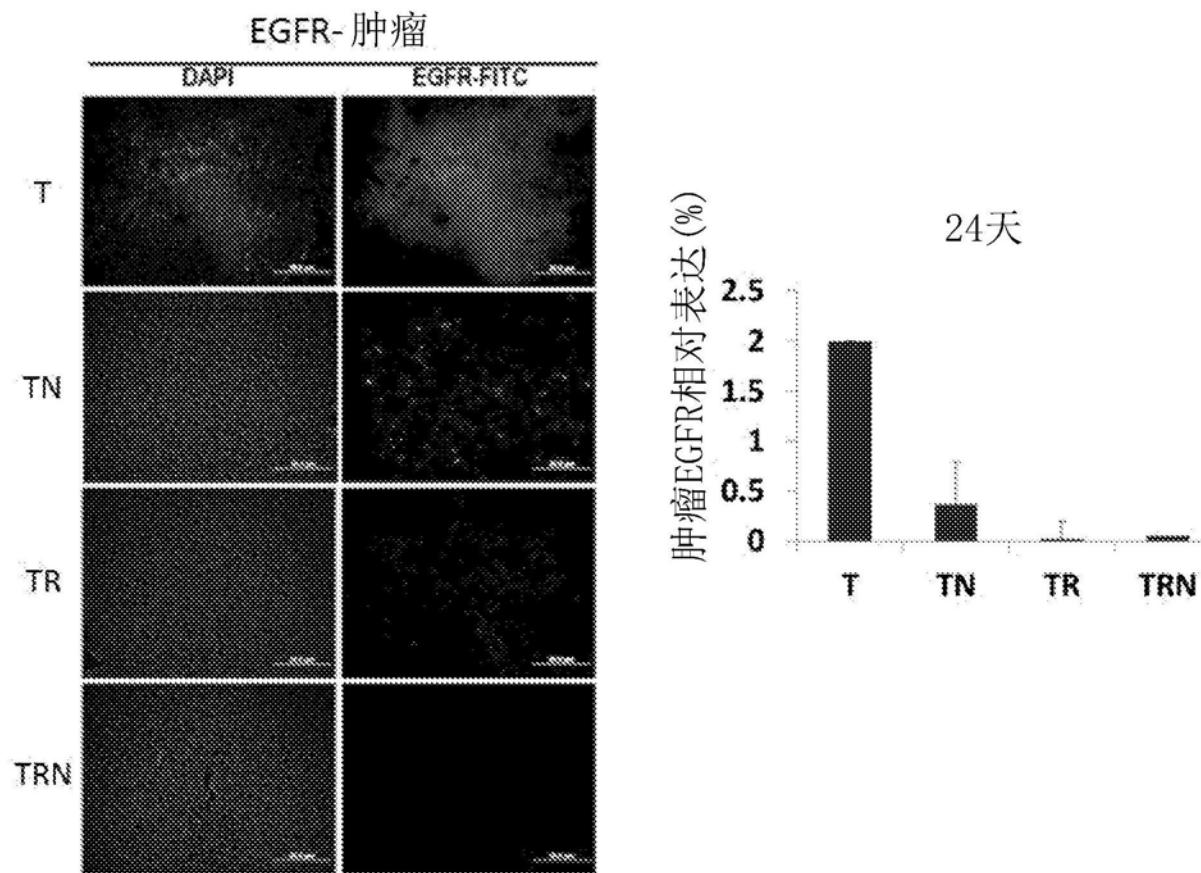


图11D

24天

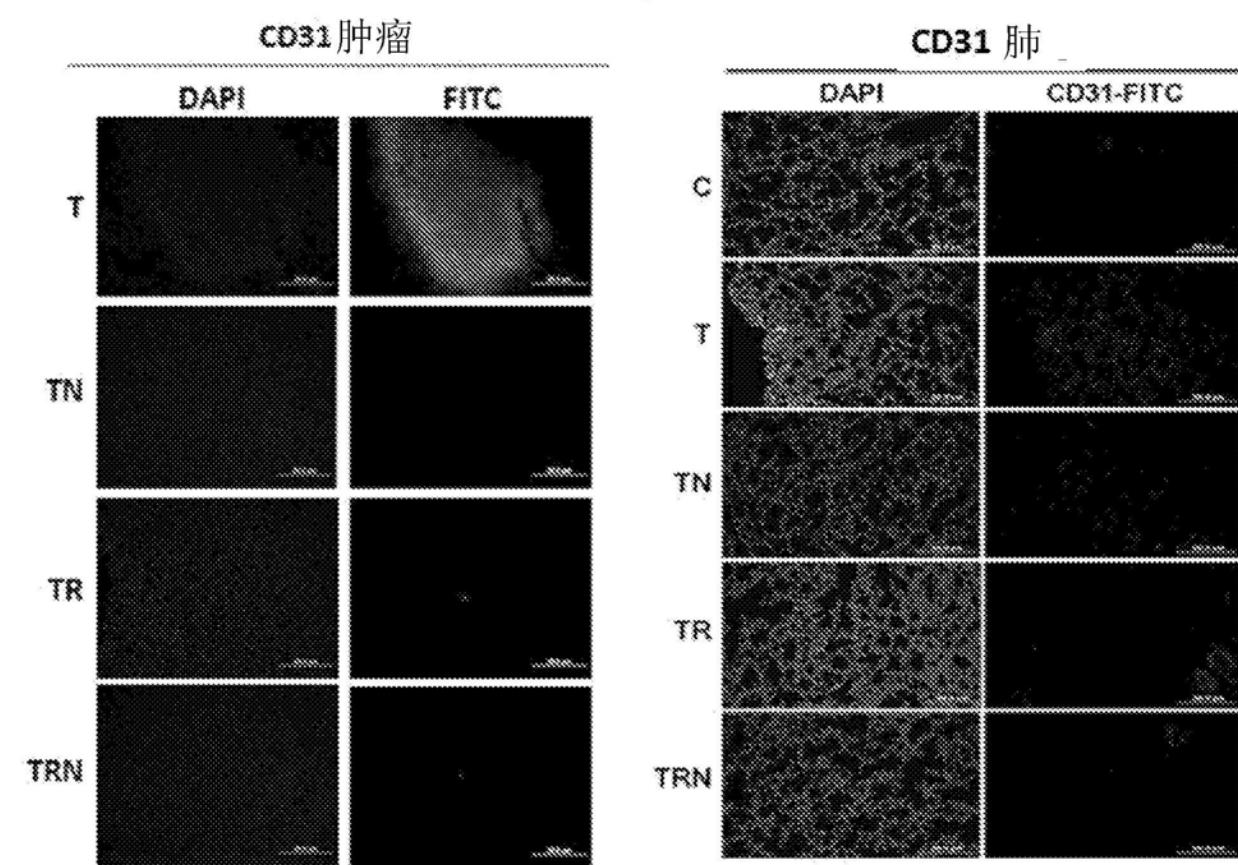


图12

24天

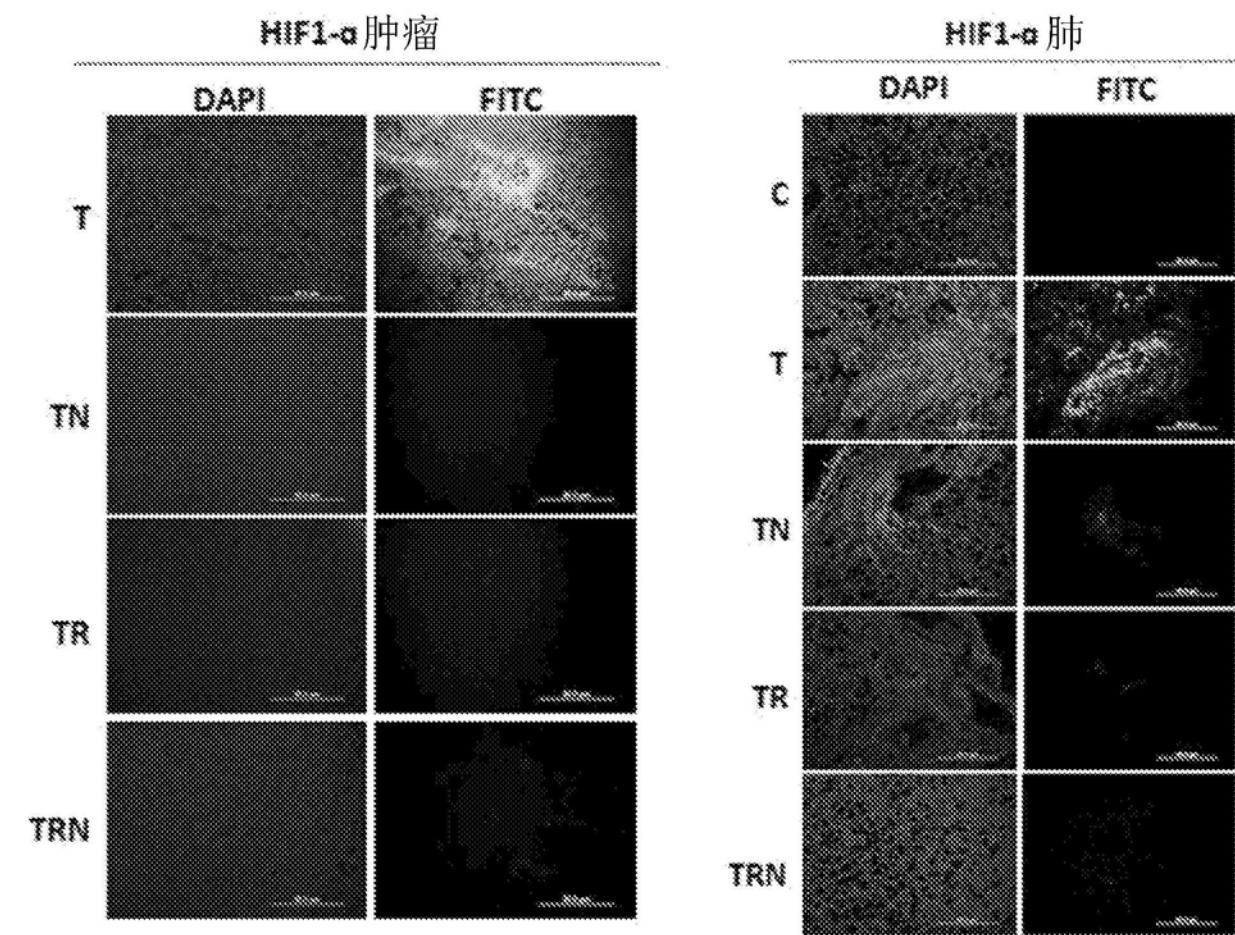


图13A

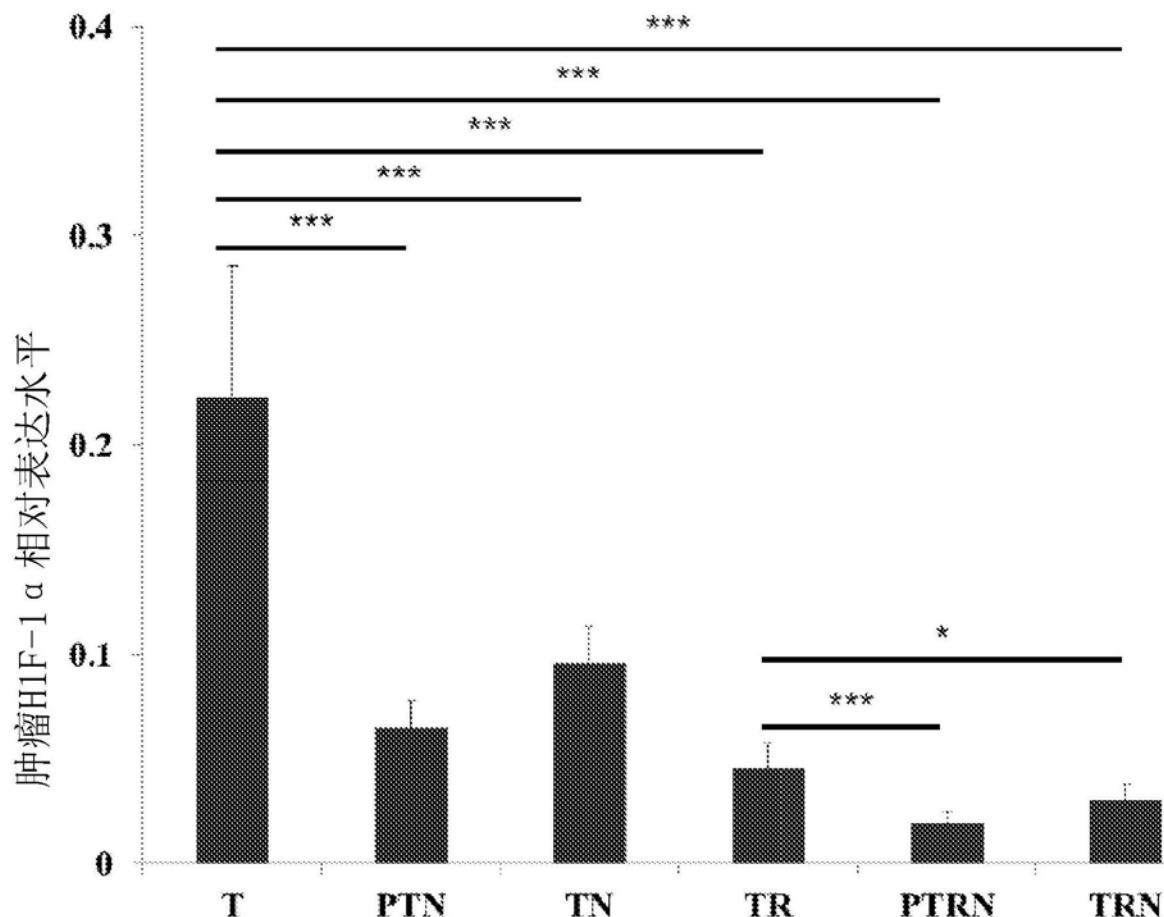


图13B

	Bax	Bcl-2	Bax/Bcl-2	半胱天冬酶3
T	0.31±0.00	1.41±0.67	0.22±0.12	1.03±0.88
TN	5199.29±2321.78	241.89±7.44	21.49±10.19	47708.35±7808.87
TR	1.09±1.39	0.99±0.16	1.10±0.03	0.71±0.06
TRN	7858.24±1593.75	213.40±8.45	36.82±9.56	46977.1±5263.41

图14

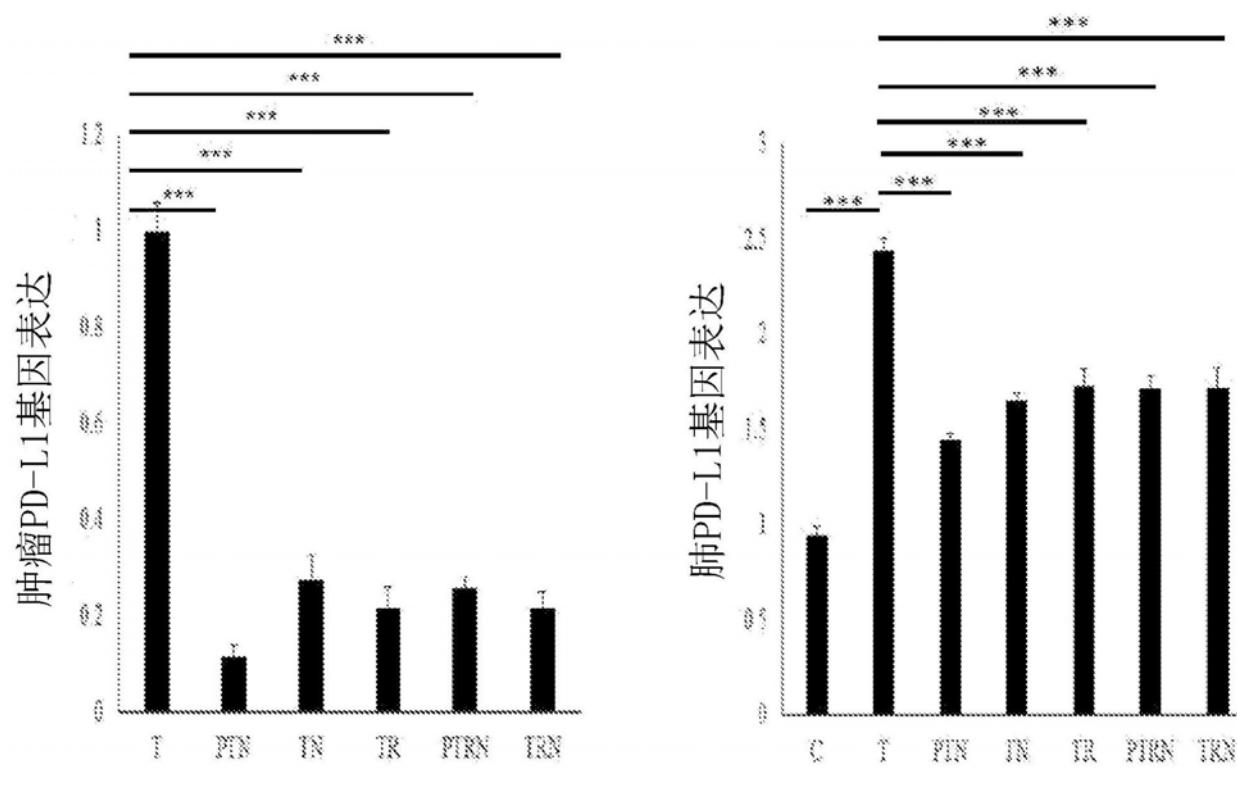


图15A

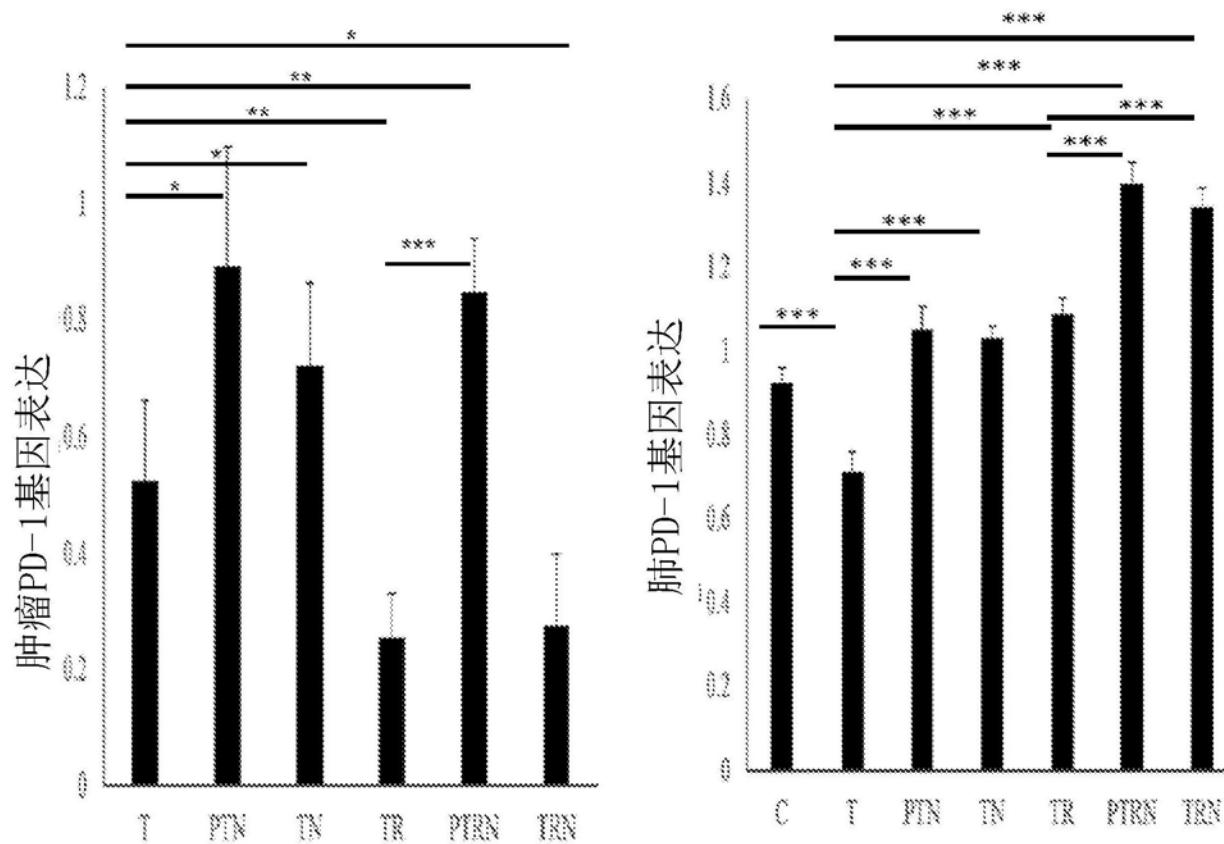


图15B

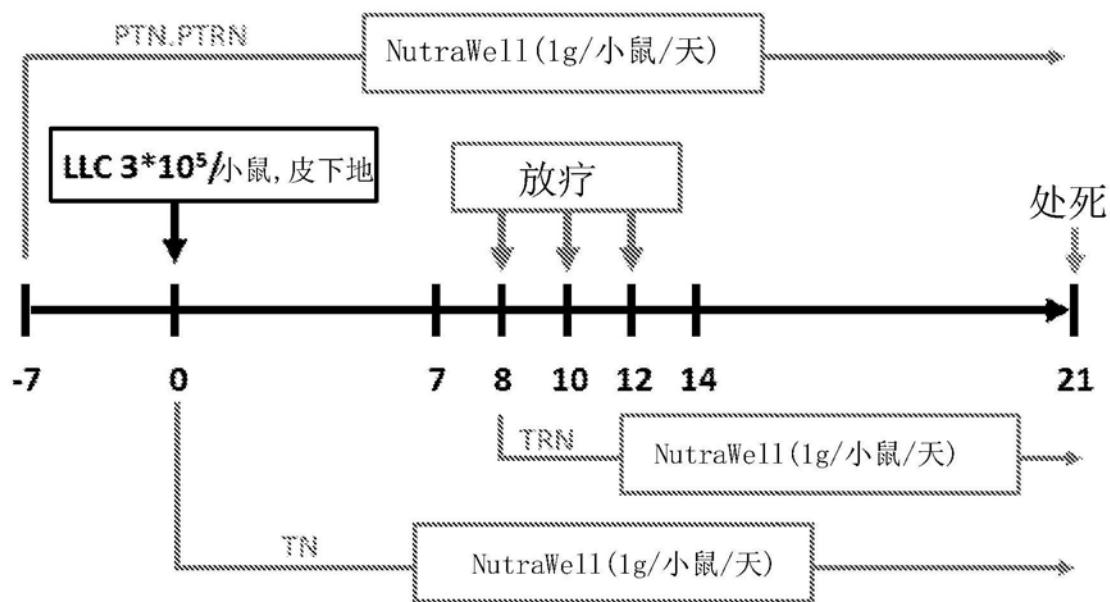


图16A

			处死(第 21天)
1	C	对照	N=6
2	T	肿瘤	N=6
3	PTN	肿瘤 + Nutrawell (-7天开始)	N=6
4	TN	肿瘤 + Nutrawell (0 天开始)	N=6
5	TR	肿瘤 + 放疗 (3 Gy × 3)	N=6
6	PTRN	肿瘤 + 放疗 (3 Gy × 3) + Nutrawell (-7 天开始)	N=6
7	TRN	肿瘤 + 放疗 (3 Gy × 3) + Nutrawell (8 天开始)	N=6

图16B

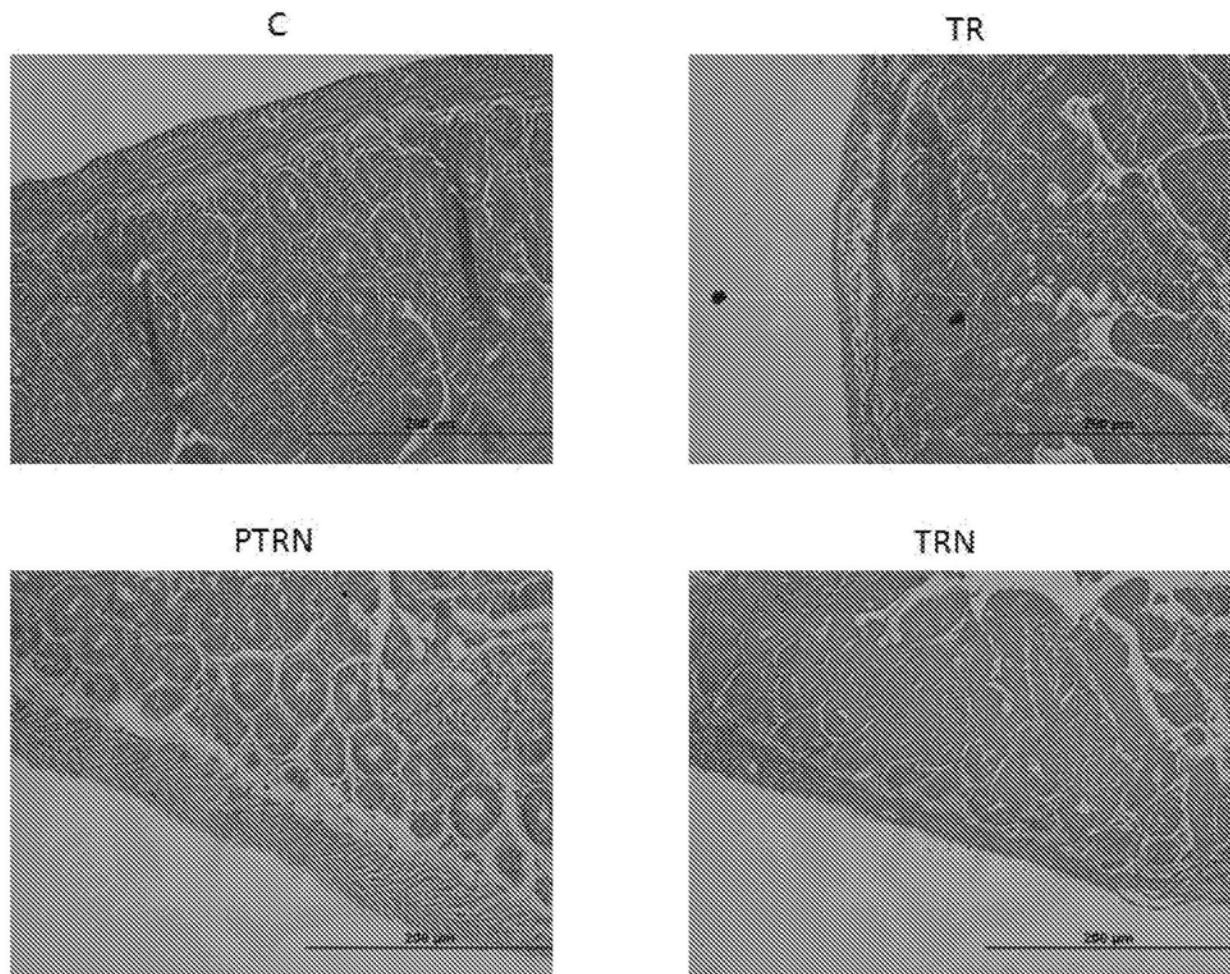


图17

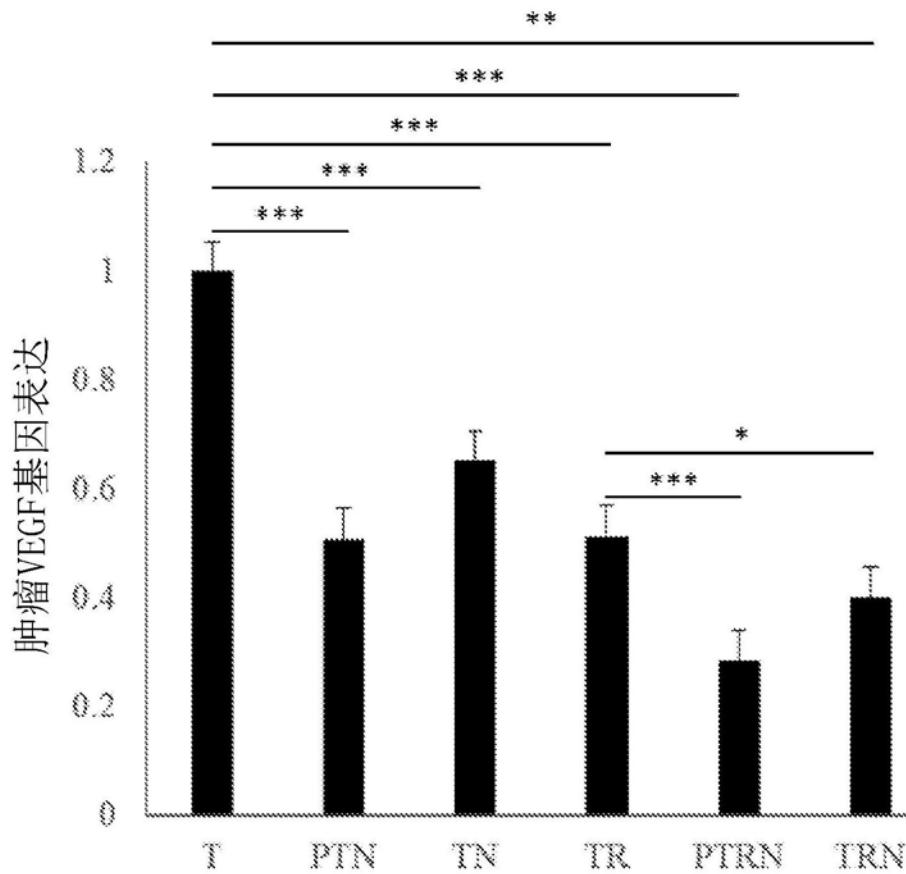


图18A

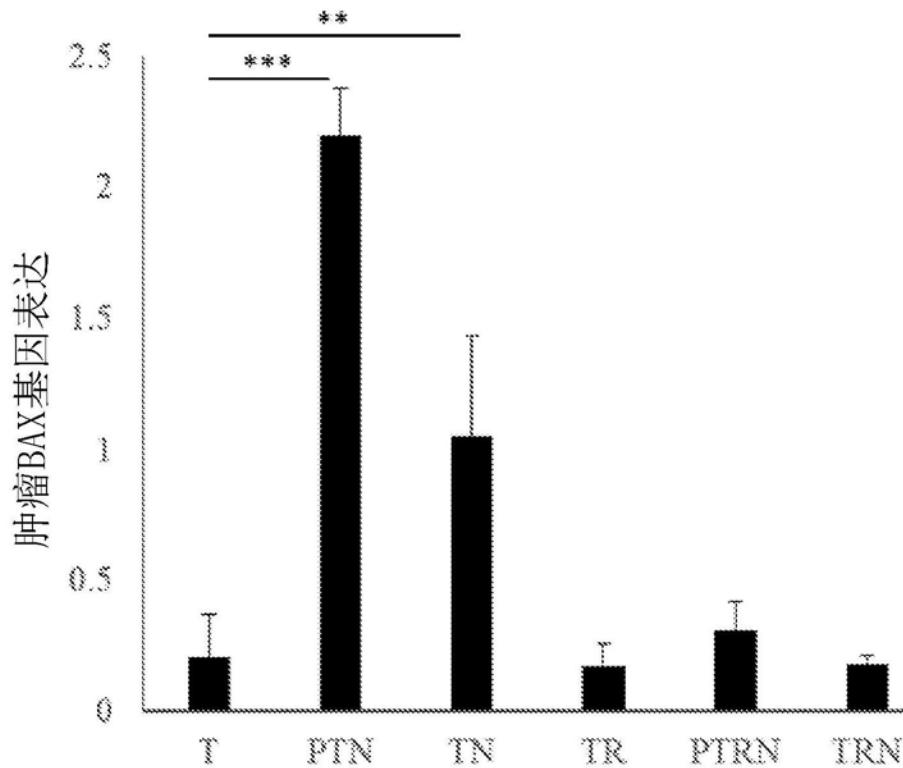


图18B

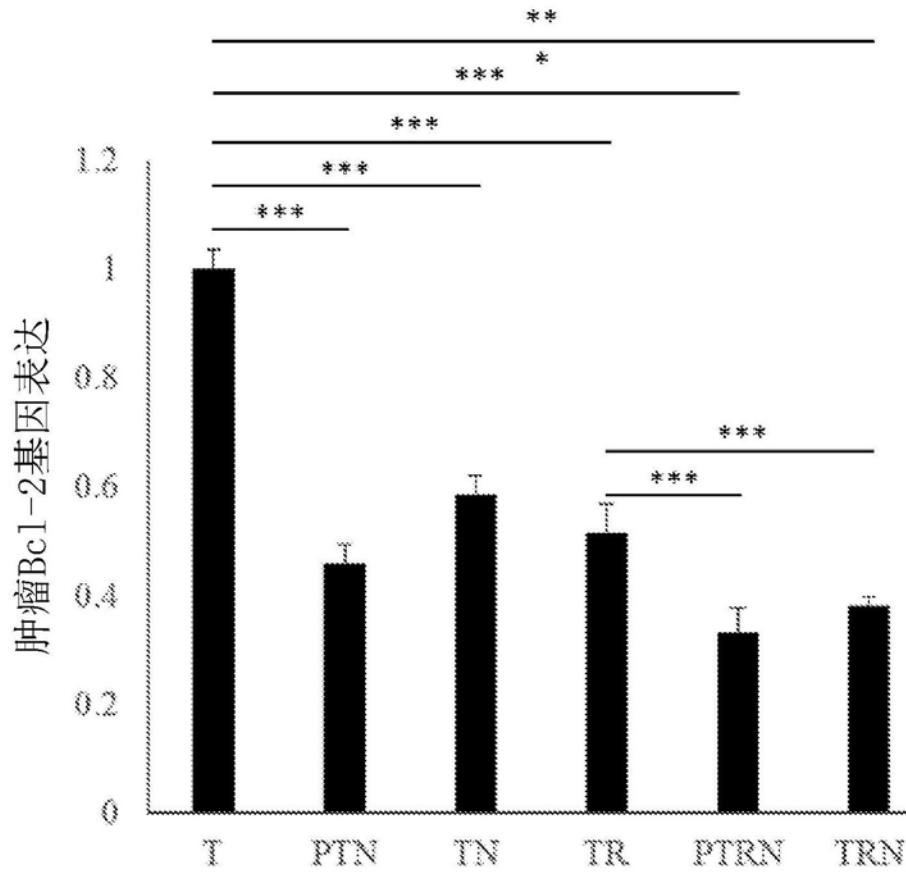


图18C

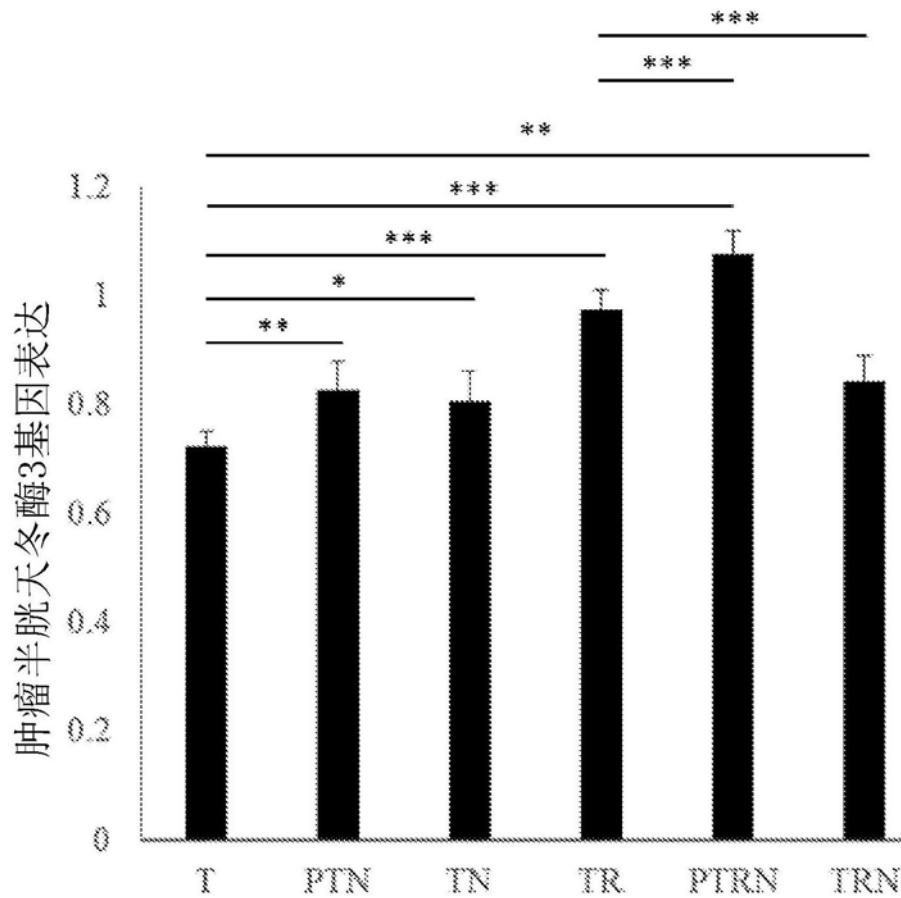


图18D

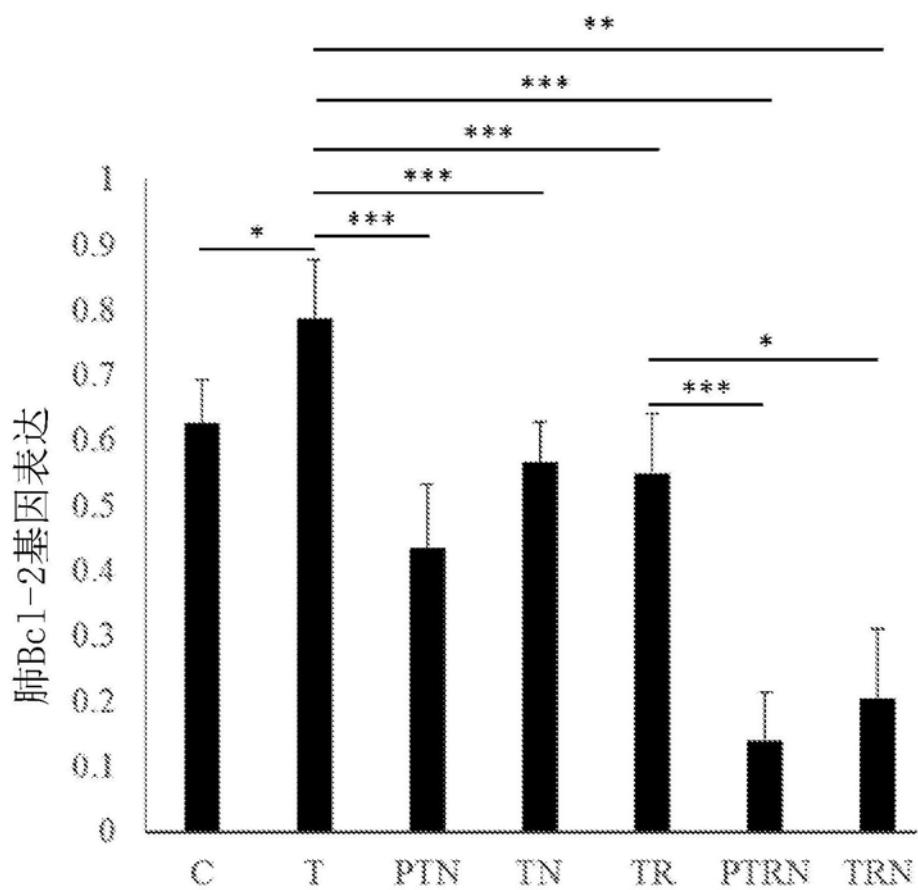


图18E

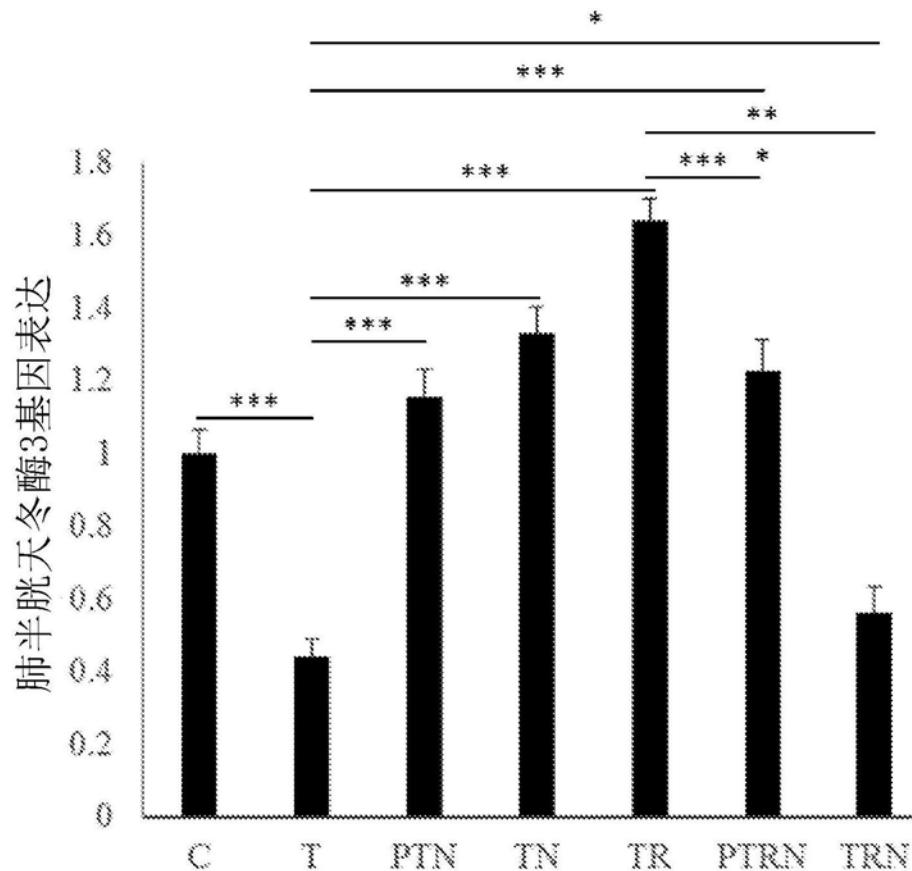


图18F

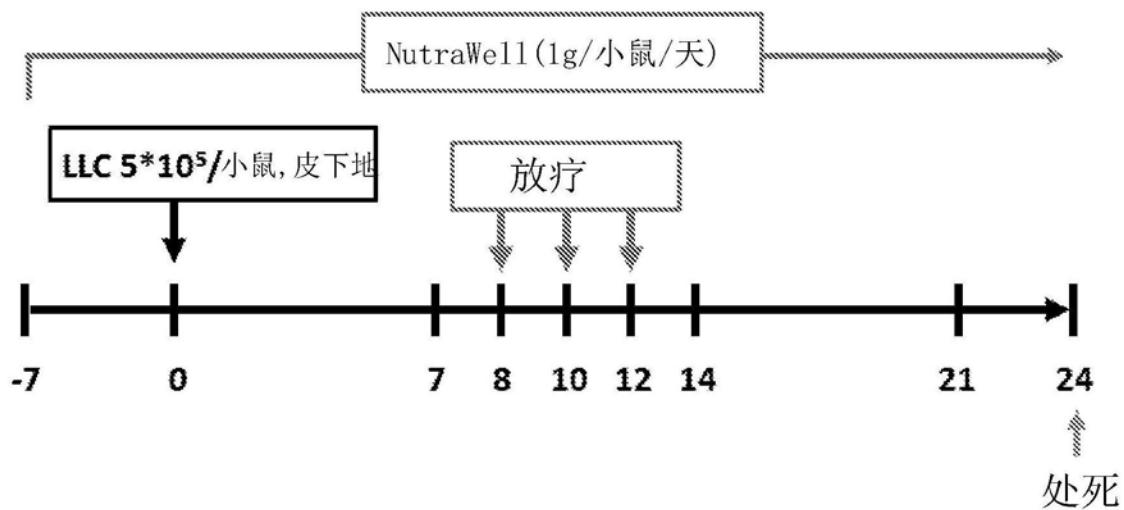


图19A

			处死(第24天)
1	C	对照	N=6
2	T	肿瘤	N=6
3	TN	肿瘤 + Nutrawell	N=6
4	TR	肿瘤 + 放疗 x3	N=6
5	TRN	肿瘤 + 放疗 x3 + Nutrawell	N=6

图19B

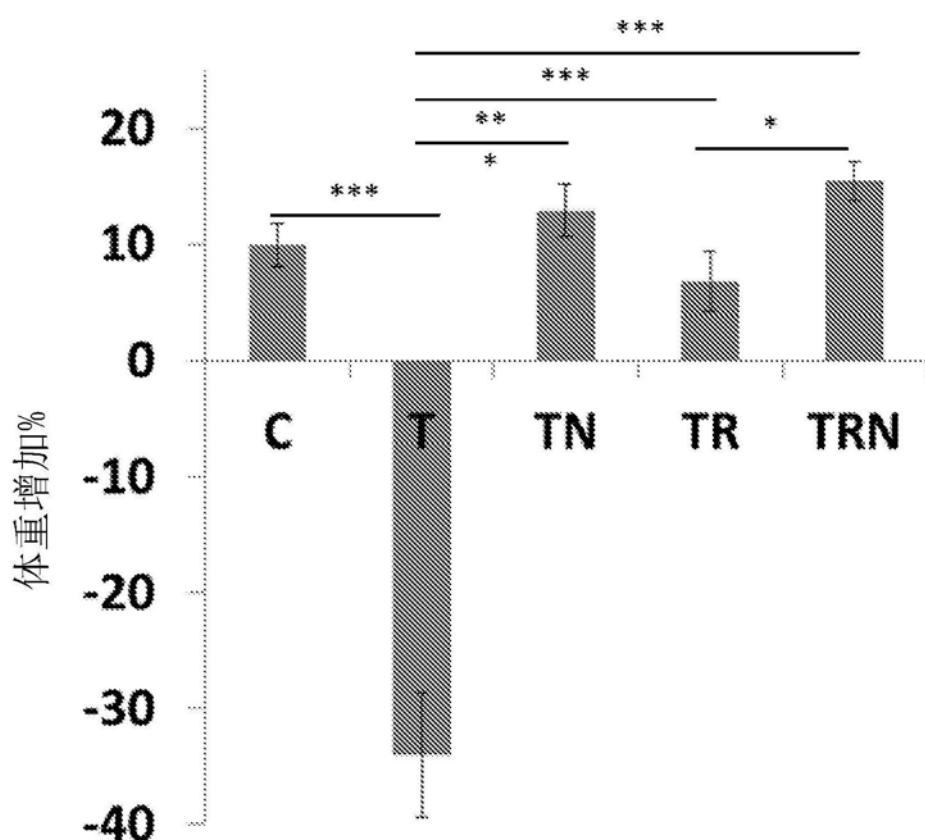


图20A

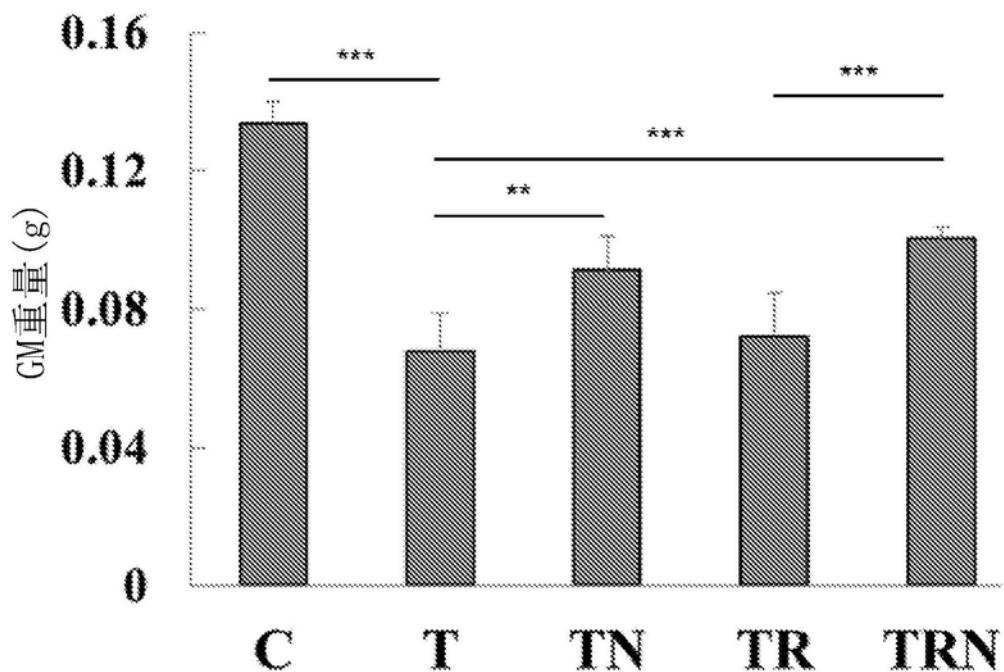


图20B

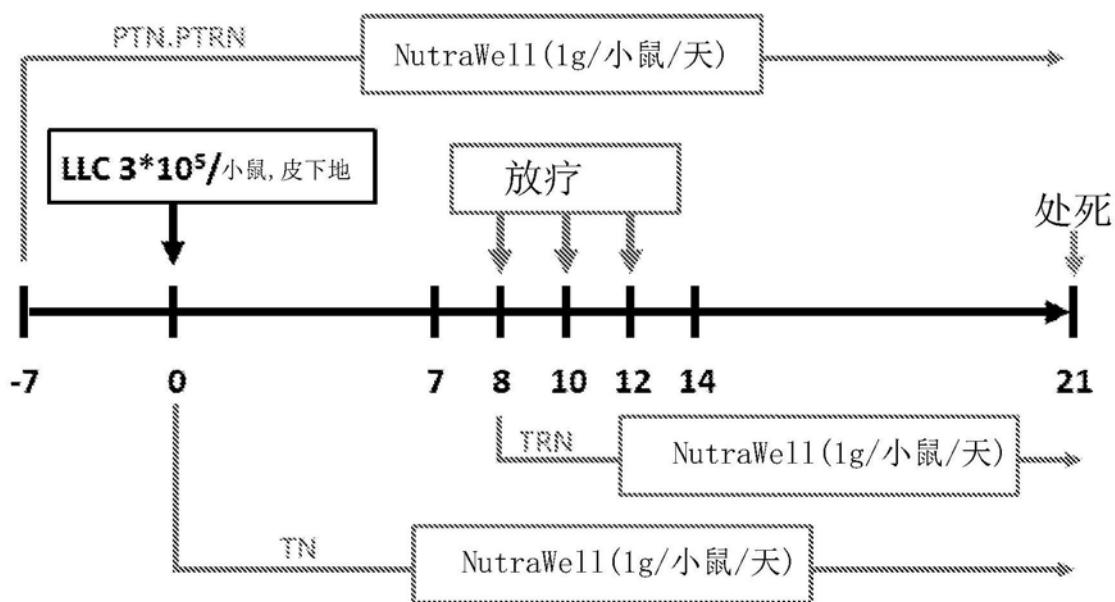


图21A

			处死(第 21天)
1	C	对照	N=6
2	T	肿瘤	N=6
3	PTN	肿瘤 + Nutrawell (-7天开始)	N=6
4	TN	肿瘤 + Nutrawell (0 天开始)	N=6
5	TR	肿瘤 + 放疗 (3 Gy × 3)	N=6
6	PTRN	肿瘤 + 放疗 (3 Gy × 3) + Nutrawell (-7天开始)	N=6
7	TRN	肿瘤 + 放疗 (3 Gy × 3) + Nutrawell (8 天开始)	N=6

图21B

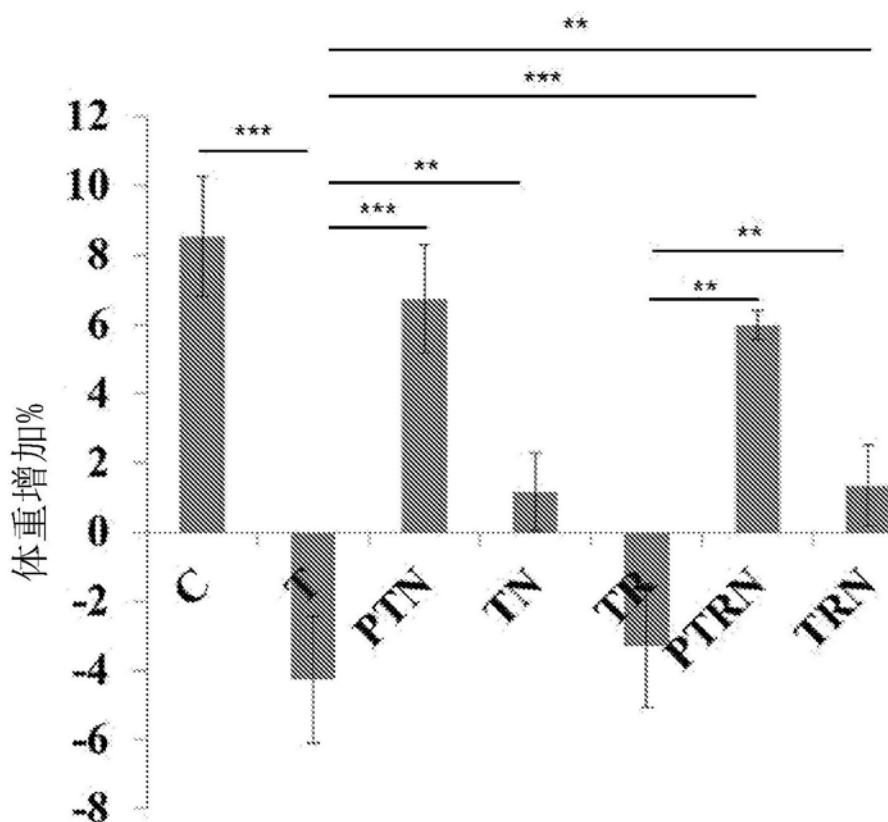


图22

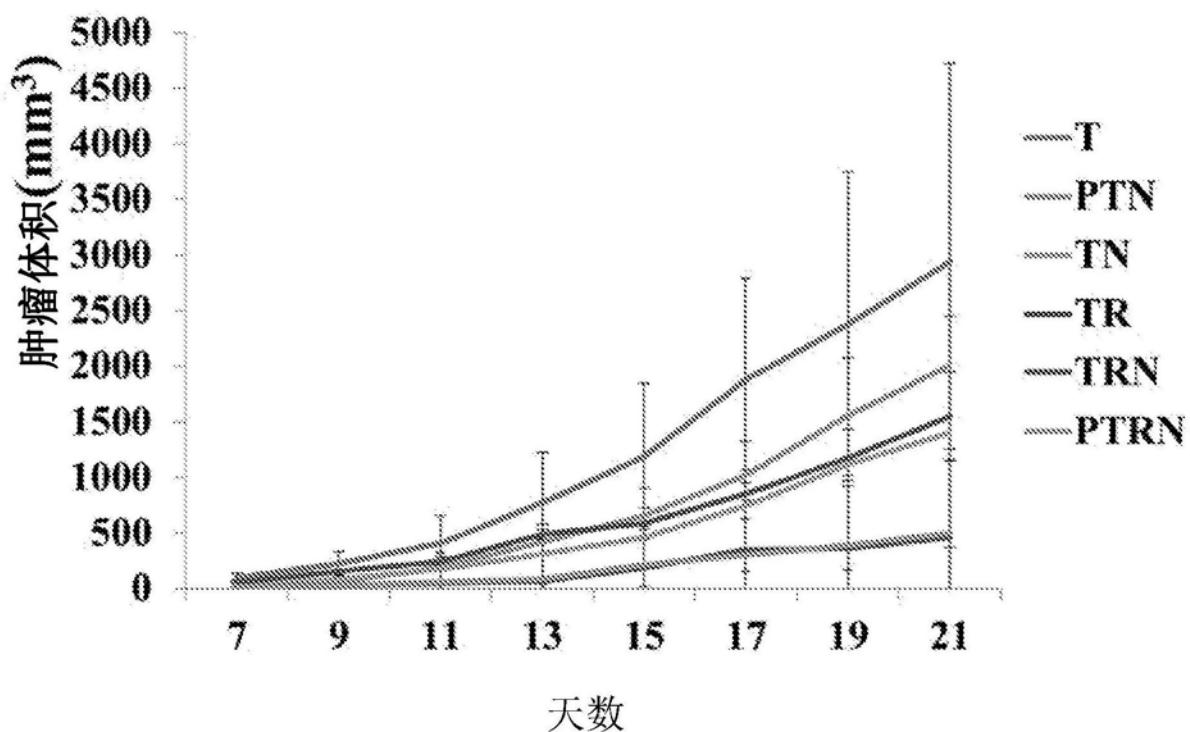


图23

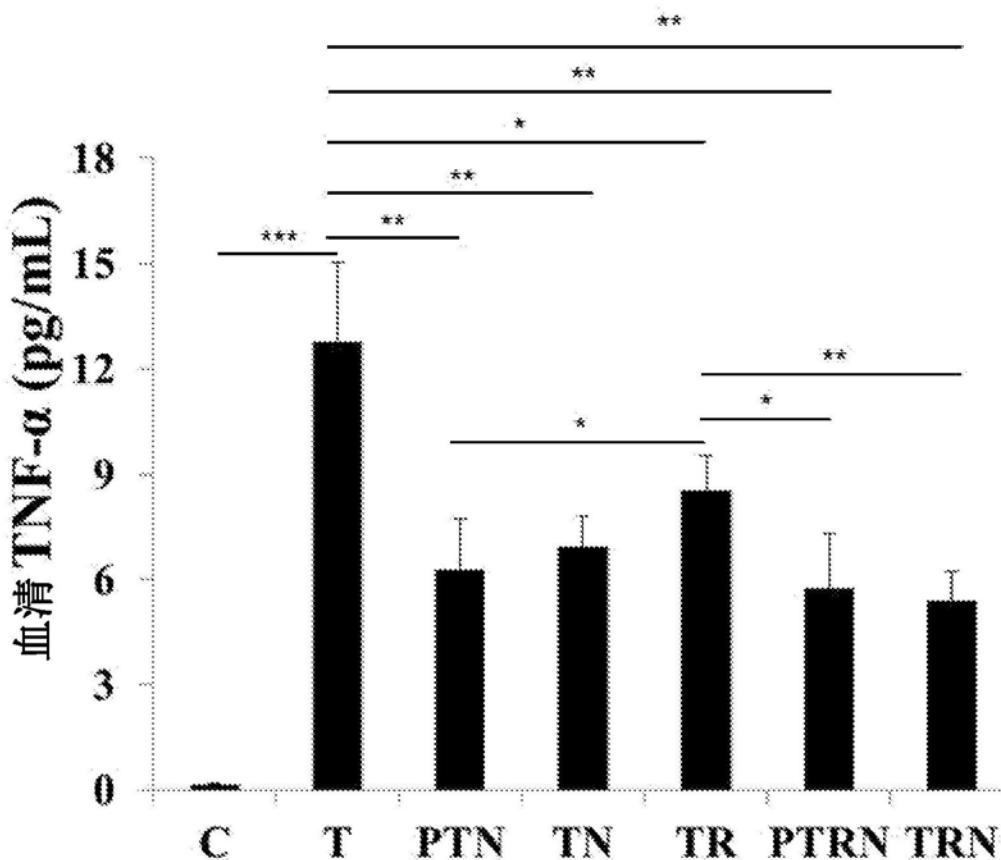


图24A

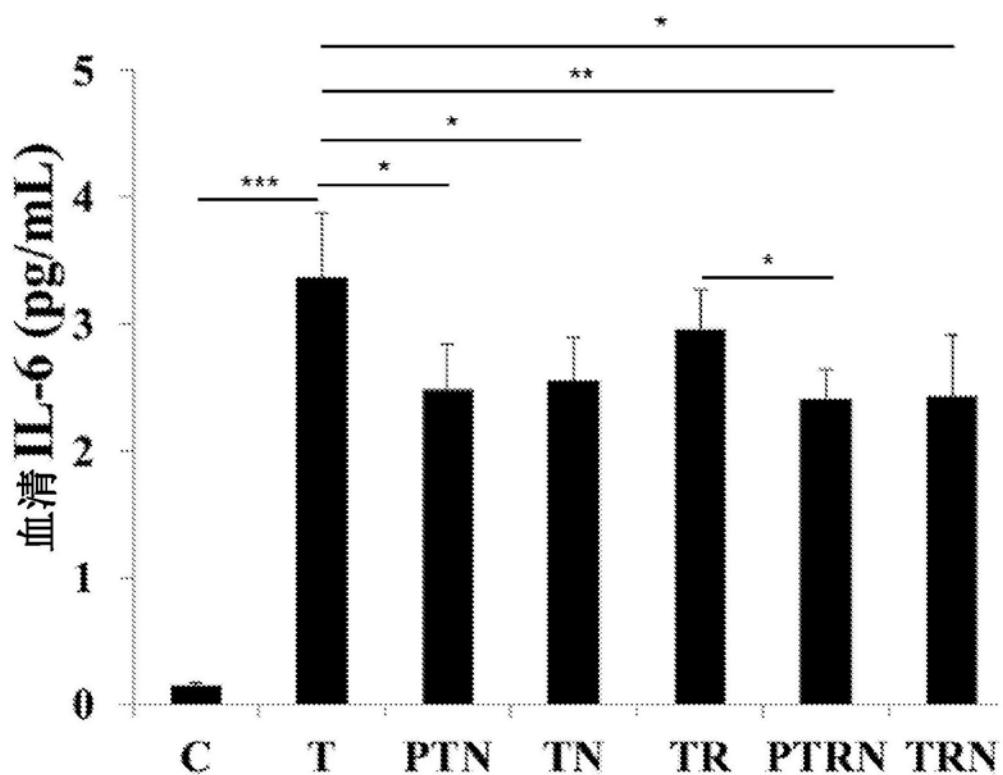


图24B