



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103384521 A

(43) 申请公布日 2013. 11. 06

(21) 申请号 201180068031. 5

(22) 申请日 2011. 12. 15

(30) 优先权数据

61/459, 902 2010. 12. 21 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2013. 08. 20

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2011/065173 2011. 12. 15

(87) PCT申请的公布数据

W02012/087745 EN 2012. 06. 28

(71) 申请人 雀巢产品技术援助有限公司

地址 瑞士沃韦

(72) 发明人 R·P·米德尔顿 M·K·沃尔德伦

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 沈晓书 黄革生

(51) Int. Cl.

A61K 31/201 (2006. 01)

权利要求书3页 说明书12页

(54) 发明名称

用于预防和治疗骨关节炎的方法和组合物

(57) 摘要

本发明提供了预防和治疗动物骨关节炎、预防和治疗动物关节软骨退化, 以及促进和维持动物关节健康的方法。该方法包括给动物施用DGLA, 优选量为约 0. 01 至约 100mg/kg/ 天。

1. 用于预防和治疗动物骨关节炎的方法,该方法包括给动物施用治疗有效量的 DGLA。
2. 权利要求 1 的方法,其中将 DGLA 以约 0.01 至约 100mg/kg/ 天的量施用。
3. 权利要求 1 的方法,其中将 DGLA 基于规律施用于动物。
4. 权利要求 1 的方法,其中动物患有骨关节炎。
5. 权利要求 1 的方法,其中将 DGLA 作为膳食补充剂或食物组合物施用。
6. 权利要求 5 的方法,其中组合物是食物组合物,并且 DGLA 占食物组合物的约 0.001 至约 40%。
7. 权利要求 5 的方法,其中组合物或膳食补充剂还包含一种或多种益生菌;灭活的益生菌;灭活的益生菌组分,其类似于益生菌或与益生菌相同促进健康益处;和一种或多种益生元。
8. 权利要求 1 的方法,其中动物是人或伴侣动物。
9. 权利要求 8 的方法,其中伴侣动物是犬科动物。
10. 权利要求 8 的方法,其中伴侣动物是猫科动物。
11. 权利要求 1 的方法,其中动物是老年动物。
12. 用于预防和治疗动物关节软骨退化的方法,该方法包括给动物施用治疗有效量的 DGLA。
13. 权利要求 12 的方法,其中将 DGLA 以约 0.01 至约 100mg/kg/ 天的量施用。
14. 权利要求 12 的方法,其中将 DGLA 基于规律施用于动物。
15. 权利要求 12 的方法,其中动物患有关节软骨退化。
16. 权利要求 12 的方法,其中将 DGLA 作为膳食补充剂或食物组合物施用。
17. 权利要求 16 的方法,其中组合物是食物组合物,并且 DGLA 占食物组合物的约 0.001 至约 40%。
18. 权利要求 16 的方法,其中组合物或膳食补充剂还包含一种或多种益生菌;灭活的益生菌;灭活的益生菌组分,其类似于益生菌或与益生菌相同促进健康益处;和一种或多种益生元。
19. 权利要求 12 的方法,其中动物是人或伴侣动物。
20. 权利要求 19 的方法,其中伴侣动物是犬科动物。
21. 权利要求 19 的方法,其中伴侣动物是猫科动物。
22. 权利要求 12 的方法,其中动物是老年动物。
23. 用于促进和维持动物关节健康的方法,该方法包括给动物施用治疗有效量的 DGLA。
24. 权利要求 23 的方法,其中将 DGLA 以约 0.01 至约 100mg/kg/ 天的量施用。
25. 权利要求 23 的方法,其中将 DGLA 基于规律施用于动物。
26. 权利要求 23 的方法,其中将 DGLA 作为膳食补充剂或食物组合物施用。
27. 权利要求 26 的方法,其中组合物是食物组合物,并且 DGLA 占食物组合物的约 0.001 至约 40%。
28. 权利要求 26 的方法,其中组合物或膳食补充剂还包含一种或多种益生菌;灭活的益生菌;灭活的益生菌组分,其类似于益生菌或与益生菌相同促进健康益处;和一种或多种益生元。

29. 权利要求 23 的方法,其中动物是人或伴侣动物。
30. 权利要求 29 的方法,其中伴侣动物是犬科动物。
31. 权利要求 29 的方法,其中伴侣动物是猫科动物。
32. 权利要求 23 的方法,其中动物是老年动物。
33. 用于改善动物生活质量的方法,该方法包括给动物施用治疗有效量的 DGLA。
34. 权利要求 33 的方法,其中将 DGLA 以约 0.01 至约 100mg/kg/ 天的量施用。
35. 权利要求 33 的方法,其中将 DGLA 基于规律施用于动物。
36. 权利要求 33 的方法,其中将 DGLA 作为膳食补充剂或食物组合物施用。
37. 权利要求 36 的方法,其中组合物是食物组合物,并且 DGLA 占食物组合物的约 0.001 至约 40%。
38. 权利要求 36 的方法,其中组合物或膳食补充剂还包含一种或多种益生菌;灭活的益生菌;灭活的益生菌组分,其类似于益生菌或与益生菌相同促进健康益处;和一种或多种益生元。
39. 权利要求 33 的方法,其中动物是人或伴侣动物。
40. 权利要求 39 的方法,其中伴侣动物是犬科动物。
41. 权利要求 39 的方法,其中伴侣动物是猫科动物。
42. 权利要求 33 的方法,其中动物是老年动物。
43. 用于促进动物身心健康的方法,该方法包括给动物施用治疗有效量的 DGLA。
44. 权利要求 43 的方法,其中将 DGLA 以约 0.01 至约 100mg/kg/ 天的量施用。
45. 权利要求 43 的方法,其中将 DGLA 基于规律施用于动物。
46. 权利要求 43 的方法,其中将 DGLA 作为膳食补充剂或食物组合物施用。
47. 权利要求 46 的方法,其中组合物是食物组合物,并且 DGLA 占食物组合物的约 0.001 至约 40%。
48. 权利要求 46 的方法,其中组合物或膳食补充剂还包含一种或多种益生菌;灭活的益生菌;灭活的益生菌组分,其类似于益生菌或与益生菌相同促进健康益处;和一种或多种益生元。
49. 权利要求 43 的方法,其中动物是人或伴侣动物。
50. 权利要求 49 的方法,其中伴侣动物是犬科动物。
51. 权利要求 49 的方法,其中伴侣动物是猫科动物。
52. 权利要求 43 的方法,其中动物是老年动物。
53. 包含治疗有效量的 DGLA 的组合物,其用于预防和治疗骨关节炎;预防和治疗关节软骨退化;以及促进和维持关节健康中的一种或多种。
54. 权利要求 53 的组合物,其包含足够给动物施用于约 0.01 至约 100mg/kg/ 天 DGLA 的量的 DGLA。
55. 药物或营养组合物,其包含 DGLA 和一种或多种药学上或营养学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。
56. 包装,其包含至少一种适合于容纳 DGLA 的材料和附着于包装的标签,所述的标签上包含一个词或多个词、图片、设计、缩写、标语、短语或其它装置或其组合,其表明包装的内容物包含 DGLA。

57. 权利要求 56 的包装,其中附着于包装的标签上包含一个词或多个词、图片、设计、缩写、标语、短语或其它装置或其组合,其表明包装的内容物包含涉及骨关节炎的有益性质的 DGLA。

58. 权利要求 57 的包装,其中有益性质是预防骨关节炎、治疗骨关节炎、预防关节软骨退化、治疗关节软骨退化、促进关节健康和维持关节健康中的一种或多种。

59. 权利要求 56 的包装,其还包含 DGLA。

60. 权利要求 56 的包装,其还包含至少一个窗口。

61. 用于交流关于以下一种或多种的信息或关于以下一种或多种的说明的装置:(1) 将 DGLA 用于预防和治疗骨关节炎;(2) 将 DGLA 用于预防和治疗关节软骨退化;(3) 将 DGLA 用于促进和维持关节健康;(4) 用于所使用消费者的联系信息,如果他们对本发明的方法和组合物质疑的话;和(5)DGLA 的营养信息,该装置包括包含信息或说明书的物理或电子文档、数字存储介质、光存储介质、音频演示、视听展示或视觉显示。

62. 权利要求 61 的装置,其选自显示的网站、视觉显示亭、小册子、产品标签、包装插页、广告、印刷品、公开声明、录音带、录像带、DVD、CD-ROM、计算机可读芯片、计算机可读卡、计算机可读磁盘、USB 设备、火线设备、计算机内存及其任何组合。

63. 适合将 DGLA 施用于动物的套盒,根据需要,该套盒包含在单独包装的不同容器中的或者在虚拟包装的不同容器中的套盒组分、DGLA,以及以下的一种或多种:(1) 一种或多种适合于动物消耗的成分;(2) 如何将 DGLA 和其它套盒组分组合以制备组合物的说明书,所述组合物用于预防和治疗骨关节炎、预防和治疗关节软骨退化、促进和维持关节健康;(3) 如何将 DGLA 用于预防和治疗骨关节炎的说明书;(4) 如何将 DGLA 用于预防和治疗关节软骨退化的说明书;(5) 如何将 DGLA 用于促进和维持关节健康的说明书;(6) 一种或多种益生菌;(7) 一种或多种灭活的益生菌;(8) 一种或多种灭活的益生菌组分,其类似于益生菌或与益生菌相同促进健康益处;(9) 一种或多种益生元;(10) 用于制备或组合套盒组分以制备适合施用于动物的组合物的装置;和(11) 用于将组合的或制备的套盒组分施用于动物的装置。

64. 权利要求 63 的套盒,其中 DGLA 在小药囊中。

65. 权利要求 63 的套盒,其包含 DGLA 以及一种或多种适合于动物消耗的成分。

66. 权利要求 65 的套盒,其还包含如何将 DGLA 与成分组合以制备用于预防和治疗骨关节炎、预防和治疗关节软骨退化或者促进和维持关节健康的组合物的说明书。

67. 权利要求 63 的套盒,其包含 DGLA 和一种或多种益生菌。

68. 权利要求 67 的套盒,其中益生菌是屎肠球菌 SF68。

用于预防和治疗骨关节炎的方法和组合物

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求 2010 年 12 月 21 日提交的美国临时申请序列号 61/459902 的优先权，将其公开内容并入本文作为参考。

[0003] 发明背景

发明领域

[0004] 本发明通常涉及用于预防和治疗骨关节炎的方法，并且特别涉及应用二高- γ -亚麻酸 (dihomo- γ -linolenic acid) (DGLA) 预防和治疗骨关节炎的方法。

[0005] 相关技术的描述

[0006] 骨关节炎 (OA) 通常也称为变性关节病，其特征在于关节软骨合成和降解之间的失衡。关节软骨的破坏通常引起关节疼痛和运动性丧失。OA 通常影响手、足、脊柱和支撑大重量的关节例如髋和膝盖。症状可以包括关节疼痛、压痛、僵硬、锁定以及有时有渗出物。多种原因例如遗传、发育、代谢和机械可以启动引起软骨丧失的过程。

[0007] DGLA 是 20 个碳 3 个双键的 ω -6 脂肪酸 (20:3n-6)。DGLA 可以通过链延长而直接由 γ -亚麻酸 (GLA) 合成。在体内，DGLA 仅作为生物合成中间体存在，并且不以任何可视浓度蓄积。然而，当 DGLA 作为补充剂施用，则能达到显示治疗益处的浓度。DGLA 与花生四烯酸 (AA) 竞争环氧合酶 (COX) 和脂氧合酶，抑制衍生自 AA 的促炎的类花生酸。美国专利号 5763484 公开了用有效量的一种或多种亚油酸代谢物包括二高- γ -亚麻酸和一种或多种 α -亚油酸代谢物治疗障碍包括乳癌和其它癌症的方法。美国专利号 6177470 公开了应用 γ -亚麻酸的抗坏血酸-6-酯或二高- γ -亚麻酸的抗坏血酸酯治疗多种病症的方法。美国专利申请号 20080108699 公开了用于治疗多种皮肤疾病的包含二高- γ -亚麻酸作为活性成分的组合物。

[0008] 骨关节炎是疼痛病症，并且对动物的身心健康不利，并且使动物的生物质量较低。因此，需要通过预防和治疗骨关节炎而可用于促进动物身心健康和改善其生活质量的方法和组合物。

[0009] 发明简述

[0010] 因此，本发明的目的是提供可用于预防和治疗骨关节炎、预防和治疗关节软骨退化以及促进和维持关节健康的方法和组合物。

[0011] 本发明的另一目的是提供促进动物身心健康的方法。

[0012] 本发明的另一目的是提供延长动物生命中最佳期 (prime years) 的方法。

[0013] 通过给动物施用治疗有效量的 DGLA 用于预防和治疗骨关节炎、预防和治疗关节软骨退化以及促进和维持关节健康而实现一种或多种所述或其它目的。在通用实施方案中，将 DGLA 以约 0.01 至约 100 毫克每千克体重每天 (g/kg/天) 的量施用于动物，持续与需要所述治疗一样长的时间。

[0014] 本发明的其它和进一步的目的、特征和优点对本领域技术人员来说是非常显而易见的。

[0015] 发明详述

[0016] 定义

[0017] 术语“动物”意指动物中对预防和治疗骨关节炎、预防和治疗关节软骨退化以及促进和维持关节健康具有需求的任何动物,包括人、鸟类、牛科动物、犬科动物、马科动物、猫科动物、hircine、狼、鼠科动物、羊或猪动物。

[0018] 术语“伴侣动物”意指家养动物,例如猫、狗、兔、豚鼠、雪貂、仓鼠、小鼠、沙鼠、马、牛、山羊、绵羊、驴、猪等。

[0019] 术语“治疗有效量”意指 (i) 治疗或预防特别的疾病、病症或障碍, (ii) 减轻、改善或消除特别的疾病、病症或障碍的一种或多种症状或者 (iii) 预防或延迟本文所述的特别的疾病、病症或障碍的一种或多种症状发作的本发明化合物的量。

[0020] 术语“治疗”包括防止性,即预防性治疗和缓解性治疗。

[0021] 术语“可药用”和“营养学上可接受的”指物质或组合物在化学和 / 毒理学上与包含其它成分的制剂和 / 或用其治疗的哺乳动物必须是相容的。

[0022] 术语“动物的身心健康”意指动物的整个身体、精神和社交健康幸福,不仅仅是无疾病或虚弱。

[0023] 术语“延长最佳期”意指延长动物过健康生活的年数,并且不仅仅是延长动物活着的年数,例如动物在其生存最佳期内是健康的,持续相对较长的时间。

[0024] 术语“变性关节障碍”指影响关节的任何病原或病理学症状。此类症状和病原学包括关节肿胀、疼痛和 / 或僵硬,以至于功能完全或部分丧失和 / 或损坏关节和 / 或降低关节的运动性。该术语还包括慢性炎症,主要是滑膜组织的慢性炎症,血管翳形成,受侵袭关节的关节软骨破坏和多种酶例如胶原酶和溶酶体酶释放,骨关节炎,具有软骨破坏的风湿障碍,类风湿性关节炎,关节创伤后例如关节盘或髌骨损失后或者韧带撕裂后的软骨溶解或者与关节长期不活动相关的软骨溶解。例如变性关节障碍包括骨关节炎、类风湿性关节炎、青少年类风湿性关节炎、银屑病关节炎、肌腱炎、强直性脊柱炎、滑囊炎、椎间盘损伤和颞下颌关节障碍。

[0025] 术语“不饱和脂肪酸”或“UFA”指多不饱和脂肪酸或单不饱和脂肪酸,包括具有至少一个双键的一元羧酸。UFAs 包括 ω -6 脂肪酸例如亚油酸 (LA) 和花生四烯酸 (AA),以及 ω -3 脂肪酸例如二十碳五烯酸 (EPA)、 α -亚麻酸 (ALA)、二十二碳五烯酸 (DPA) 和二十二碳六烯酸 (DHA)。UFAs 还包括肉豆蔻脑酸、棕榈油酸、油酸、顺-异油酸 (vaccenic acid) 和芥酸。

[0026] 术语“鱼油”意指从海洋动物得到的粗的或纯化的相对富含 UFA 的脂肪或油提取物,所述海洋动物优选冷水鱼例如但不限于鲑鱼、鲔鱼、鲭鱼、鲱鱼、黑鲈鱼、海鲈鱼、大比目鱼、鲱鱼和沙丁鱼,以及鲨鱼、虾和蛤或其任何组合物。鱼油通常是成分供应商所用的技术术语,并且包括一系列多种 UFA 含量和纯度的产品。

[0027] 术语“联合”意指将本发明的 DGLA 或其它化合物或其它组合物 (1) 在食物组合物中一起或者 (2) 利用相同或不同的施用途径以约相同的时间或周期按相同或不同的频率分别施用于动物。“周期地”意指将 DGLA 或其它化合物或其它组合物根据对特别化合物或组合物可接受的时间表施用。“约相同的时间”通常指将 DGLA 或其它化合物或其它组合物在相同的时间或者互相约在 72 小时之内施用。

[0028] 术语“膳食补充剂”意指除了正常动物膳食外,预期要摄入的产品。膳食补充剂可以是任何形式例如固体、液体、胶体、片剂、胶囊剂、粉末等。优选将所述膳食补充剂以方便剂型例如小药囊提供。可以将膳食补充剂以大量消耗包装例如大量粉末、液体、胶体或油提供。类似地,可以将该补充剂以要包括于其它食物项目例如小吃、零食 (treats)、补充棒 (supplement bars)、饮料等中的大质量提供。

[0029] 术语“老年”意指是高龄,以至于动物已达到或超过该动物的种和 / 或所述种内的品种的平均预期寿命的 50%。例如,如果对于给定的狗品种,平均预期寿命是 12 年,那么所述品种内的“老年动物”是 6 岁或更大。

[0030] 术语“食物”或“食物产品”或“食物组合物”意指预期用于动物、包括人摄食并且给动物提供营养的产品或组合物。

[0031] 术语“有规律”意指至少每月施用 DGLA,并且更优选每周施用。在某些实施方案中,更频繁的施用或消耗例如每周两次或三次是优选的。还更优选的是包括每天消耗至少一次的方案,例如当 DGLA 是每天至少消耗一次的食物组合物的组分时。

[0032] 术语“单一包装”意指套盒的组分在物理上在一种或多种容器中相关或者与一种或多种容器相关,并且认为其是生产、分配、销售或使用的一个单元。容器包括但不限于袋子,盒子,纸板箱,瓶子,包装例如收缩包装、U 形钉或其它附加组分或其组合物。单一包装可以是单独的 DGLA 和物理上相关食物组合物的容器,以便它们被认为是生产、分配、销售或使用的单位。

[0033] 术语“虚拟包装”意指套盒的组分通过一种或多种物理或虚拟套盒组分的指导而相关,所述指导告诉使用者如何得到例如包含一种组分和指导的袋子或其它容器中的其它组分,告诉使用者上网,接触记录信息或传真反馈服务,看可视信息或联系提供者或指导者,以得到如何使用套盒或安全性或关于一种或多种套盒组分的技术信息的指导。

[0034] 除非另外说明,否则文中所述的剂量是毫克每千克体重每天 (mg/kg/天)。

[0035] 除非另外特别说明,否则文中所述的所有百分数是基于干物质的组合物重量的百分数。技术人员应理解术语“基于干物质”意指组合物中成分的浓度或百分数是已除去组合物中任何游离水分后测量或确定的。

[0036] 如文中所用的,将范围以速记法用于文中,以避免不得不列出和描述范围内的各个和每个值。如果需要,可以选择范围内任何适合的值作为上限值、下限值或范围的终点。

[0037] 除非上下文清楚地另外说明,否则本文所用的词的单数形式包括复数,且反之亦然。因此,“一个(种)”或“该”通常包括各术语的复数。例如,当提及“一种补充剂”、“一种方法”或“一种食物”包括此类“补充剂”、“方法”或“食物”的复数。类似地,词“包含”和“包括”应包含在内理解,而不是排除在外地理解。同样,术语“包括”和“或”都应理解为包含在内的,除非上下文清楚地排除该含义。相似地,术语“实例”,特别是当位于一系列术语的后面时,仅仅是示例性和解释性的,并且不应认为是排外的或广泛的。

[0038] 本文公开的方法和组合物以及其它进步不限于本文描述的特别的方法学、方案和试剂,因为正如技术人员应理解的,它们可以不同。此外,本文所用的术语仅仅是为了描述特别的实施方案,并且不旨在限制和不限公开的或要求的所述术语的范围。

[0039] 除非另外定义,否则本文所用的所有技术和科学术语、专业术语和缩略语具有本领域普通技术人员所理解的本发明领域内或者使用该术语的领域内的通用含义。尽管任何

组合物、方法、生产物品或其它类似于或相当于本文所述的那些的其它方法或物质可以用于本发明的实践中,但是本文描述了优选的组合物、方法、生产物品或其它方法或物质。

[0040] 将本文引用或提到的所有专利、专利申请、出版物、技术和 / 或学术论文,以及其它参考文献在法律允许的范围内,以其全部内容并入本文作为参考。那些参考文献的讨论仅旨在概括文中提出的主张。没有认为任何此类专利、专利申请、出版物或参考文献或其任何部分是相关的、重要的或现有技术。挑战此类相关的、重要的或现有技术的专利、专利申请、出版物或其它参考文献的任何主张的准确性和适当性的权利是特别保留的。

[0041] 本发明

[0042] 一方面,本发明提供了预防和治疗动物骨关节炎的方法。该方法包括给动物施用治疗有效量的 DGLA。

[0043] 另一方面,本发明提供了预防和治疗动物关节软骨退化的方法。该方法包括给动物施用治疗有效量的 DGLA。

[0044] 另一方面,本发明提供了促进和维持动物关节健康的方法。该方法包括给动物施用治疗有效量的 DGLA。

[0045] 进一步的方面,本发明提供了促进动物身心健康的方法。该方法包括给动物施用治疗有效量的 DGLA。

[0046] 另一方面,本发明提供了延长动物生命中最佳期的方法。该方法包括给动物施用治疗有效量的 DGLA。

[0047] 本发明是基于 DGLA 能积极调节骨关节炎标志物的发现。特别地, DGLA 能抑制 NF- κ B 活化,并且降低炎性介质。先前,在 W02005075685 中已经鉴定了与骨关节炎相关的基因。还可以将本发明的方法用于治疗炎性相关的病症、癌转移和其它变性关节障碍。

[0048] 在本发明的方法中,将 DGLA 以约 0.01 至约 100mg/kg/天、优选约 0.05 至约 50mg/kg/天、最优选约 0.1 至约 10mg/kg/天的量施用于动物。在多个实施方案中,将 DGLA 以约 0.5 至约 5mg/kg/天的量施用。

[0049] DGLA 可以衍生自任何适合的来源。DGLA 具有非常少的天然来源。由于发酵技术的新近进展, DGLA 可以衍生自生物体例如微藻、真菌、细菌和酵母。在优选的实施方案中, DGLA 衍生自微藻,更优选衍生自 IKG-1 微藻株系。在另一个实施方案中, DGLA 衍生自真菌,优选真菌属于毛霉菌目 (Mucorales)。属于毛霉菌目的真菌的实例包括但不限于被孢霉属 (Mortierella)、腐霉属 (Pythium) 和虫霉属 (Entomophthora)。在优选的实施方案中, DGLA 衍生自被孢霉属,更优选高山被孢霉 (Mortierella alpina)。

[0050] 应用任何适合的施用途径,可以将 DGLA 以任何适合的形式施用于动物。例如,可以将 DGLA 以 DGLA 组合物、以食物组合物、以膳食补充剂、以药物组合物、以营养食物组合物或作为药物施用。类似地,可以应用多种施用途径包括口服、鼻内、静脉内、肌内、胃内、经幽门、皮下、直肠等施用。优选地,可以将 DGLA 口服施用于动物。最优选地,可以将 DGLA 作为膳食补充剂或作为食物组合物的成分口服施用于动物。

[0051] 在优选的实施方案中,可以将 DGLA 作为适合于动物消耗的食物组合物中的成分施用于动物,所述动物包括人和伴侣动物,例如狗和猫。此类组合物包括旨在为动物提供必需膳食需求的完全食物或膳食补充剂例如动物零食。

[0052] 在多个实施方案中,食物组合物例如宠物食物组合物或宠物零食组合物包含约 5%

至约 50% 的粗蛋白质。粗蛋白质材料可以包含植物蛋白质例如大豆粉、大豆蛋白浓缩物、玉米谷蛋白粉、小麦谷蛋白、棉籽和花生粉或者动物蛋白质例如酪蛋白、清蛋白和肉蛋白质。本文可用的肉蛋白质的实例包括牛肉、猪肉、羊肉、马肉、禽肉、鱼肉及其混合物。

[0053] 食物组合物还可以包含约 5% 至约 40% 的脂肪。适合的脂肪的实例包括动物脂肪和植物脂肪。优选地,脂肪源是动物脂肪源例如动物脂或家禽脂肪。还可以使用植物油例如玉米油、葵花油、红花油、葡萄籽油、豆油、橄榄油和其它富含单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸的油。

[0054] 食物组合物还可以包含约 10% 至约 60% 的碳水化合物。适合的碳水化合物的实例包括谷粒或谷物例如稻、玉米、粟、高粱、紫花苜蓿、大麦、大豆、芸苔、燕麦、小麦、裸麦、黑小麦及其混合物。组合物还可以任选包含其它物质例如干乳清和其它乳制品副产物。

[0055] 此类食物组合物的含水量取决于食物组合物的性质而不同。食物组合物可以是干燥的组合物(例如磨成粗粒的食物)、半湿润的组合物、湿润的组合物或其任何混合物。在优选的实施方案中,组合物是完全且营养均衡的宠物食物。在该实施方案中,宠物食物可以是“湿润的食物”、“干燥的食物”或“中等含水量”的食物。“湿润的食物”描述通常以罐或铝箔袋出售的宠物食物,并且通常具有约 70% 至约 90% 的含水量。“干燥的食物”描述宠物食物,其与湿润食物相似的组合物但通常包含有限的含水量范围为约 5% 至约 15% 或 20%(通常是小饼干样的粗粒食物形状)。在一个优选的实施方案中,组合物具有约 5% 至约 20% 的含水量。干燥的食物产品包括多种不同含水量的食物,以便它们相对储存稳定,并且对微生物或真菌变质或污染具有抵抗力。还优选的是干燥的食物组合物,其是用于人或伴侣动物的挤出食物产品,例如宠物食物或小吃食物。

[0056] 食物组合物还可以包含一种或多种纤维源。术语“纤维”包括可消化的或不可消化的,可溶解的或不可溶解的,可发酵的或不可发酵的食物中所有的“膨胀(bulk)”源。优选的纤维来自植物来源例如海洋植物,但是也可以使用微生物来源的纤维。可以利用多种可溶的或不可溶的纤维,所述是本领域普通技术人员已知的。纤维源可以是甜菜渣(来自甜菜)、阿拉伯胶、塔尔哈胶(gum talha)、蚤草、稻糠麸、角豆胶、柑橘渣、果胶、低聚果糖、短链低聚果糖、甘露聚糖低聚果糖(mannanligofructose)、大豆纤维、阿拉伯半乳聚糖、低聚半乳糖、阿拉伯糖基木聚糖或其混合物。

[0057] 或者,纤维源可以是可发酵的纤维。先前已描述可发酵的纤维为伴侣动物的免疫系统提供益处。还可以将可发酵纤维或技术人员已知的其它组合物掺入组合物中,以有助于本发明给动物免疫系统提供的益处的增强,所述的可发酵纤维或技术人员已知的其它组合物提供增加肠道内益生菌生长的益生元。

[0058] 在某些实施方案中,食物组合物的灰分含量范围为低于 1% 至约 15%,优选约 5% 至约 10%。

[0059] 在优选的实施方案中,组合物是食物组合物,其包含 DGLA 和约 15% 至约 50% 的蛋白质、约 5% 至约 40% 的脂肪、约 5% 至约 10% 的灰分含量,以及具有约 5% 至约 20% 的含水量。在其它实施方案中,食物组合物还包含本文描述的益生元或益生菌。

[0060] 当以食物组合物施用, DGLA 占食物组合物的约 0.001 至约 40%,优选约 0.0025 至约 30%,更优选约 0.005 至约 20%。在多个实施方案中,食物组合物包含约 1%、2%、4%、6%、8%、10%、12%、14%、16%、18%、20%、22%、24%、26%、28%、30%、32%、34%、36%、38% 或 40%。

[0061] 在其它实施方案中,将 DGLA 以膳食补充剂施用于动物。膳食补充剂可以具有任何适合的形式例如肉汁、饮用水、饮料、酸乳、粉末、颗粒、糊、混悬液、咀嚼物、分碎物、零食、小吃、丸、滴丸、胶囊剂、片剂、小药囊或任何其它适合的递送形式。膳食补充剂可以包含 DGLA 和任选的化合物例如维生素、防腐剂、益生菌、益生元和抗氧化剂。这使得补充剂可以以小量施用于动物,或者可选择的是,可以将其在施用于动物前稀释。膳食补充剂可能需要与食物组合物或与水或其它稀释剂混合,然后施用于动物。当以膳食补充剂施用时, DGLA 占补充剂的约 0.001 至约 90%,优选约 0.0025 至约 70%,更优选约 0.005 至约 60%。

[0062] 在另一个实施方案中,将 DGLA 以药物组合物或营养组合物施用于动物。药物组合物包含 DGLA 和一种或多种药学上或营养学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。通常,通过将化合物或组合物与赋形剂、缓冲剂、粘合剂、增塑剂、着色剂、稀释剂、压制剂、润滑剂、矫味剂、润湿剂等包括其它技术人员已知的可用于制备药物和配制组合物的成分混合来制备药物组合物,所述的组合物适合于作为药物施用于动物。当以药物组合物或营养组合物施用时, DGLA 占组合物的约 0.001 至约 90%,优选约 0.0025 至约 70%,更优选约 0.005 至约 60%。

[0063] 可以将 DGLA 基于需要、基于期望或基于规律施用于动物。基于规律施用的目的是给动物提供规律的且一致的 DGLA 剂量或者此类摄入产生的直接或间接的代谢产物。此类规律和一致的给药将有助于产生稳定血液水平的 DGLA,及其直接或间接代谢物。因此,基于规律施用可以是每月一次,每周一次,每天一次或者每天多于一次。类似地,施用可以是每隔一天、一周或一个月;每隔二天、二周或二个月;每隔三天、三周或三个月等。施用可以是每天多次。当作为正常饮食需求的补充剂使用时,可以将 DGLA 直接施用于动物例如经口服或其它途径。或者,可以将 DGLA 与日常进食或食物包括流体例如饮用水接触或混合,或者将 DGLA 与接受所述治疗的动物进行静脉连接。还可以将施用作为动物膳食方案的一部分。例如,膳食方案可以包含动物对有效量的 DGLA 的规律摄食,以实现本发明的方法。

[0064] 根据本发明的方法, DGLA 的施用包括作为膳食方案的部分的施用可以跨越动物分娩到成年的一段时间。在多个实施方案中,动物是人或伴侣动物例如狗或猫。在某些实施方案中,动物是年轻或成长期动物。在更优选的实施方案中,动物是老年动物。在其它实施方案中,当动物超过其计划的或预期寿命的大于约 30%、40% 或 50% 时,施用例如基于规律或预期的规律开始。在某些实施方案中,动物达到其预期寿命的 40%、45% 或 50%。还在其它实施方案中,动物是年长的,已达到其可能寿命的 60%、66%、70%、75% 或 80%。寿命的测定可以基于保险精算师的表格、计算、评估等,并且可以考虑过去、现在和将来已知的积极或消极影响寿命的影响或因素。当测定寿命时,认为物种、性别、大小、遗传因素、环境因素和应激物、现在和过去的健康状态、过去和现在的营养状态、应激物等还可能影响或者纳入考虑因素。

[0065] 将 DGLA 施用于动物达实现本发明的一个或多个目的所需要的时间,所述目的例如预防和治疗动物的骨关节炎;预防和治疗动物的关节软骨退化;促进和维持关节健康;改善生活质量;和促进动物的身心健康。优选地,将 DGLA 基于规律施用于动物。

[0066] 另一方面,本发明提供了包含治疗有效量的 DGLA 的组合物,其用于预防和治疗动物的骨关节炎;预防和治疗动物的关节软骨退化;促进和维持动物的关节健康;改善动物的生活质量;和促进动物的身心健康中的一种或多种。当将组合物作为特别组合物预期的

或推荐的施用,组合包含足够给动物施用于 0.01 至约 100mg/kg/天、优选约 0.01 至约 50mg/kg/天、最优选约 0.05 至约 10mg/kg/天的量的 DGLA 量。通常, DGLA 占组合物的约 0.001 至约 90%, 优选约 0.005 至约 70%, 更优选约 0.01 至约 60%。在多个实施方案中, 食物组合物包含约 1%、2%、4%、6%、8%、10%、12%、14%、16%、18%、20%、22%、24%、26%、28%、30%、32%、34%、36%、38%、40%、45%、50%、55%、60%、70% 或 80%。

[0067] DGLA 组合物例如食物、膳食、药物和其它组合物还可以包含一种或多种物质例如维生素、矿物质、益生菌、益生元、盐和功能添加剂例如口味增强剂 (palatants)、着色剂、乳化剂和抗菌剂或其它防腐剂。可以用于此类组合物的矿物质包括例如钙、磷、钾、钠、铁、氯化物、硼、铜、锌、镁、锰、碘、硒等。本文可用的其它维生素的实例包括脂溶性维生素例如 A、D、E 和 K。菊糖、氨基酸、酶、辅酶等可用于包括在多个实施方案中。

[0068] 在多个实施方案中, DGLA 组合物包含 (1) 一种或多种益生菌; (2) 一种或多种灭活的益生菌; (3) 一种或多种灭活的益生菌组分例如蛋白质、脂质、糖蛋白质等, 其类似于益生菌或与益生菌相同促进健康益处; (4) 一种或多种益生元; 和 (5) 其组合物中的至少一种。可以将益生菌或其组分整合到 DGLA 组合物中 (例如均匀或非均匀地分布在组合物中) 或者应用于 DGLA 组合物中 (例如有或无载体条件下的局部施用)。此类方法是技术人员已知的, 例如 US5968569 和相关专利。

[0069] 典型的益生菌包括但不限于选自下列的益生菌菌株: 乳杆菌属 (*Lactobacilli*)、双歧杆菌属 (*Bifidobacteria*) 或肠球菌属 (*Enterococci*), 例如路氏乳杆菌 (*Lactobacillus reutei*)、嗜酸乳杆菌 (*Lactobacillus acidophilus*)、动物乳杆菌 (*Lactobacillus animalis*)、瘤胃乳杆菌 (*Lactobacillus ruminis*)、约氏乳杆菌 (*Lactobacillus johnsonii*)、干酪乳杆菌 (*Lactobacillus casei*)、副干酪乳杆菌 (*Lactobacillus paracasei*)、鼠李糖乳杆菌 (*Lactobacillus rhamnosus*)、发酵乳酸杆菌 (*Lactobacillus fermentum*) 和双歧杆菌属物种 (*Bifidobacterium sp.*)、屎肠球菌 (*Enterococcus faecium*) 和肠球菌属物种 (*Enterococcus sp.*)。在某些实施方案中, 益生菌菌株选自路氏乳杆菌 (NCC2581; CNCM I-2448)、路氏乳杆菌 (NCC2592; CNCM I-2450)、鼠李糖乳杆菌 (NCC2583; CNCM I-2449)、路氏乳杆菌 (NCC2603; CNCM I-2451)、路氏乳杆菌 (NCC2613; CNCM I-2452)、嗜酸乳杆菌 (NCC2628; CNCM I-2453)、青春双歧杆菌 (*Bifidobacterium adolescentis*), (例如 NCC2627)、双歧杆菌物种 NCC2657 或者屎肠球菌 SF68 (NCIMB10415)。DGLA 组合物包含足够提供约 10^4 至约 10^{12} cfu/动物/天、优选 10^5 至约 10^{11} cfu/动物/天、最优选 10^7 至 10^{10} cfu/动物/天的量的益生菌。当益生菌是杀死的或灭活的时, 杀死的或灭活的益生菌或其组分的量应当产生与活的微生物类似的有益作用。很多此类益生菌及其益处是技术人员已知的, 例如 EP1213970B1、EP1143806B1、US7189390、EP1482811B1、EP1296565B1 和 US6929793。在优选的实施方案中, 益生菌是屎肠球菌 SF68 (NCIMB10415)。在一个实施方案中, 应用技术人员已知的方法和材料将益生菌封装于载体中。

[0070] 如所述的, DGLA 组合物可以包含一种或多种益生元, 例如低聚果糖、低聚葡萄糖、低聚半乳糖、低聚异麦芽糖、低聚木糖、大豆低聚糖、乳蔗糖 (lactosucrose)、乳果糖 (lactulose) 和异麦芽酮糖。在一个实施方案中, 益生元是菊苣根、菊苣根提取物、菊糖或其组合。通常, 将益生元以足够积极刺激肠道中的健康微生物区系并且引起所述“良好”细菌

繁殖的量施用。典型的量是每份约 1 克至约 10 克或者动物推荐每日膳食纤维的约 5% 至约 40%。通过任何适合的方法,可以使得益生菌和益生元成为组合物的一部分。通常,可以将活性剂与组合物混合或者将其例如通过喷洒或喷雾应用于组合物的表面。当活性剂是套盒的一部分时,可以将活性剂与其它物质混合或在它们的本身包装中。通常,基于干燥物质,食物组合物包含约 0.1 至约 10% 的益生元,优选约 0.3 至约 7%、最优选约 0.5 至约 5%。可以应用技术人员已知的方法例如 US5952033,将益生元整合到组合物中。

[0071] 可以将本发明的组合物和方法与其它不饱和脂肪酸组合应用。在某些实施方案中,其它不饱和脂肪酸包括但不限于二十碳五烯酸、 α -亚麻酸、二十二碳五烯酸和二十二碳六烯酸。在优选的实施方案中,其它不饱和脂肪酸是二十碳五烯酸。

[0072] 技术人员可以确定 DGLA、食物成分、维生素、矿物质、益生菌、益生元、抗氧化剂类或其它用于制备施用于特别动物的特别组合物的成分的适合的量。在确定如何更好配制包含 DGLA 和其它成分的特别组合物的过程中,所述技术人员会考虑动物的物种、年龄、大小、重量、健康等。可以考虑的其它因素包括组合物的类型(例如宠物食物组合物对膳食补充剂)、各组分需要的剂量、不同动物对特别类型组合物的平均消耗(例如基于物种、体重、活力/能量需求等)和组合物的制备要求。

[0073] 另一方面,本发明提供了适合将 DGLA 施用于动物的套盒。根据需要,该套盒包含在单独包装的不同容器中的或者在虚拟包装的不同容器中的套盒组分、DGLA,以及以下的一种或多种:(1) 一种或多种适合于动物消耗的成分;(2) 如何将 DGLA 和其它套盒组分组合以制备组合物的说明书,所述组合物用于预防和治疗骨关节炎、预防和治疗关节软骨退化、促进和维持关节健康;(3) 如何将 DGLA 用于预防和治疗骨关节炎的说明书;(4) 如何将 DGLA 用于预防和治疗关节软骨退化的说明书;(5) 如何将 DGLA 用于促进和维持关节健康的说明书;(6) 一种或多种益生菌;(7) 一种或多种灭活的益生菌;(8) 一种或多种灭活的益生菌组分例如蛋白质、脂质、糖蛋白质等,其类似于益生菌或与益生菌相同促进健康益处;(9) 一种或多种益生元;(10) 用于制备或组合套盒组分以制备适合施用于动物的组合物的装置;和(11) 用于将组合的或制备的套盒组分施用于动物的装置。在一个实施方案中,套盒包含 DGLA 和一种或多种适合于动物消耗的成分。在另一个实施方案中,套盒包含如何将 DGLA 和成分组合以制备组合物的说明书,所述组合物用于预防和治疗骨关节炎、预防和治疗关节软骨退化以及促进和维持关节健康。

[0074] 当套盒包含虚拟包装时,套盒限于虚拟环境中的说明书,以及一种或多种物理套盒组分。该套盒包含足够预防和治疗骨关节炎、预防和治疗关节软骨退化以及促进和维持关节健康的量的 DGLA 和其它组分。通常,仅在动物消耗前,将 DGLA 和其它适合的套盒组分混合。套盒可以包含在任何多种组合和/或混合物中的套盒组分。在一个实施方案中,套盒包含含 DGLA 的包装,以及用于动物消耗的食物容器。套盒可以包含另外的项目例如用于将 DGLA 和成分混合的装置或者包含混合物的装置例如食物碗。在另一个实施方案中,将 DGLA 与另外的促进动物的健康的营养补充剂例如维生素和矿物质混合。将组分以各自置于单一包装的不同容器中提供或者以不同包装中的多种组分的混合物提供。在优选的实施方案中,套盒包含 DGLA 和一种或多种适合于动物消耗的成分。优选地,此类套盒包含描述如何将 DGLA 与其它成分组合,以形成用于动物消耗的食物组合物的说明书,通常通过将 DGLA 与其它成分混合或者通过将 DGLA 应用于其它成分例如通过将 DGLA 喷洒在食物组

合物上。

[0075] 在另一方面,本发明提供了用于交流关于以下一种或多种的信息或关于以下一种或多种的说明的装置:(1) 将 DGLA 用于预防和治疗骨关节炎;(2) 将 DGLA 用于预防和治疗关节软骨退化;(3) 将 DGLA 用于促进和维持关节健康;(4) 用于所使用消费者的联系信息,如果他们对本发明的方法和组合物质疑的话;和(5)DGLA 的营养信息。交流装置可用于说明应用本发明的益处和传递将 DGLA 和包含 DGLA 的食物组合物施用于动物的批准的方法。装置包括包含信息或说明书的物理或电子文档、数字存储介质、光存储介质、音频演示、视听展示或视觉显示。优选地,装置选自显示的网站、视觉显示亭、小册子、产品标签、包装插页、广告、印刷品、公开声明、录音带、录像带、DVD、CD-ROM、计算机可读芯片、计算机可读卡、计算机可读磁盘、USB 设备、火线设备、计算机内存及其任何组合。

[0076] 另一方面,本发明提供了制备包含 DGLA 和一种或多种适合于动物消耗的其它成分例如一种或多种蛋白质、脂肪、碳水化合物、纤维、维生素、矿物质、益生菌、益生元等的方法。该方法包括将适合于动物摄入的一种或多种成分与 DGLA 混合。或者,该方法包括单独将 DGLA 应用于食物组合物或者将其与其它成分联合或组合应用于食物组合物,例如作为包衣或层 (topping)。可以将 DGLA 在制备和 / 或加工食物组合物过程中的任何时间加入。可以根据本领域任何适合方法制备组合物。

[0077] 另一方面,本发明提供了用于容纳本发明组合物的包装。该包装包含至少一种适合于容纳 DGLA 的材料和附着于包装的标签,所述的标签上包含一个词或多个词、图片、设计、缩写、标语、短语或其它装置或其组合,其表明包装的内容物包含 DGLA。在某些实施方案中,附着于包装的标签上包含一个词或多个词、图片、设计、缩写、标语、短语或其它装置或其组合,其表明包装的内容物包含涉及骨关节炎的有益性质的 DGLA。通常,此类装置包含文字“预防和治疗骨关节炎”、“预防和治疗关节软骨退化”、“促进和维持关节健康”或印于包装上的相当表述。任何适合包含组合物的包装或包装材料都可用于本发明,例如由纸、塑料、箔、金属等制成的袋、盒、瓶子、罐子、小袋等。在优选的实施方案中,包装还包含本发明的组合物。在优选的实施方案中,包装包含适合于特别动物例如人、犬科动物或猫科动物的食物组合物,如果需要,标签优选是狗或猫的伴侣动物食物组合物。在优选的实施方案中,包装是包含本发明的食物组合物的罐子或小袋。在多个实施方案中,包装还包含至少一个窗口,其使得不打开包装而能看到包装内容物。在某些实施方案中,窗口是包装材料的透明部分。在其它实施方案中,窗口是包装材料的缺失部分。

[0078] 另一方面,本发明提供了将 DGLA 用于制备药物的用途,所述药物用于预防和治疗动物的骨关节炎;预防和治疗动物的关节软骨退化;促进和维持动物的关节健康;改善动物的生活质量;和促进动物的身心健康中的一种或多种。通常,通过将化合物或组合物例如 DGLA 或 DGLA 组合物与赋形剂、缓冲剂、粘合剂、增塑剂、着色剂、稀释剂、压制剂、润滑剂、矫味剂、润湿剂和技术人员已知的其它成分混合来制备药物,所述其它成分可用于制备药物和配制适合于施用于动物的药物。

实施例

[0079] 本发明可以通过下列实施例做进一步地说明,尽管应理解为包括这些实施例仅是为了说明,而不是为了限制本发明的范围,除非另有具体说明。

[0080] 实施例 1

[0081] 应用以下酶将犬科动物软骨在 37°C 振动型恒温水浴中消化：胰蛋白酶 (0.25%) 达 25 分钟；透明质酸酶 (150U/mL) 达 1 小时和胶原酶 (0.78%) 过夜。将消化的软骨过滤，以得到软骨细胞。将软骨细胞在具有完全培养基的单层培养液中展开。完全培养基的组成是补充有 10%FBS、1%P/S(100U/mL 青霉素和 100 μg/mL 链霉素) 和 50 μg/mL 抗坏血酸的 Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM)/F12。实现亚汇合后，将软骨细胞用 0.05% 胰蛋白酶分离并且冷藏保存。冷藏保存后，将犬科动物软骨细胞单层展开，并且在实现亚汇合后，将细胞进行胰蛋白酶解，随后在藻酸盐珠中固定。将悬浮于完全培养基 +3% 藻酸盐中的细胞从 18-gauge 注射器中滴到氯化钙 (120mM) 中，以形成“珠子”。将软骨细胞珠在完全培养基中培养，并且每 2 或 3 天更换培养基。在处理末期，将软骨细胞珠再溶解于柠檬酸钠 (55mM, 在 0.15M NaCl 中) 中。将悬浮液在 2620rpm 离心 5 分钟。用磷酸盐缓冲液洗涤细胞，并且再在 2620rpm 离心 5 分钟。将 1mL RNAqueous™ 裂解结合溶液 (Ambion, Austin, TX) 加入到分离的犬科动物软骨细胞丸中，彻底混合，并且在 -80°C 贮存，直到完成 RNA 分离。

[0082] 将样品涡旋，并且根据厂商指导，应用 Quiashredder 柱 (Qiagen, Valencia, CA) 将样品匀化。收集匀化的裂解物，并且在其中加入 1 等体积的 64% 乙醇。然后，将该混合物应用到 RNAqueous™ 滤柱中，每次 700uL，并且在 10,000rpm 离心 1 分钟。将柱子用 700uL 洗涤溶液 #1 洗涤，并且用 500uL 洗涤溶液 #2/3 洗涤，每次洗涤后在 10,000rpm 离心 1 分钟。应用 30uL 等份的 95-100°C 的洗脱溶液，将 RNA 提供离心洗脱 3 次 (同上)。产生的 RNA 是 DNA 酶处理的并且在 260nm Beckman DU640B 分光光度计 (Beckman Coulter, Inc., Brea, CA) 中定量的。此外，根据厂商指导，应用生物分析仪 (Agilent, Santa Clara, CA) 评价数量和质量。

[0083] 通过根据厂商指导，应用 NycoPrep™，从犬科动物全血中分离单核细胞和嗜中性粒细胞而制备刺激的单核细胞嗜中性粒细胞条件培养基 (SMNCM)。将单核细胞和嗜中性粒细胞用脂多糖 (20ng/mL) 刺激 72 小时。将产生的上清液用作细胞培养试验中的 SMNCM (SMNCM 占试验期间所用培养基的 10%，并且以冷冻等份保持)。

[0084] 软骨细胞包在珠子中后，将软骨细胞立即用 50 μM 的脂肪酸富集。将 FBS 和乙醇用作介质。一旦制备富集的培养基，乙醇占小于 0.1%。将细胞用花生四烯酸 (AA) 和二高-γ-亚麻酸在完全培养基中共富集 3 周。第三周，富集的培养基还包含 10% 刺激的单核细胞嗜中性粒细胞条件培养基 (SMNCM)。试验末，将软骨细胞珠溶解。

[0085] 对于每个引物 / 探针设定，所有样品都单独地 (singularly) 进行，以测定应当使用的标准曲线。应用肝 RNA 或试验样品中 RNA 的系列稀释得到标准曲线。或者，如果样品不落在曲线范围内，具有最小 C_T (周期阈值) 的样品应是再反转录的，并且 1:10 的系列稀释将用作引物 / 探针设定的标准曲线。根据定量 PCR 测定的，将数值标准化成亲环素 A 水平。从每个最小样品标准化值计算诱导。对于所有处理，N=4。

[0086] 表 1

[0087] 定量 PCR 表达值

[0088]

基因	AA	DGLA

[0089]

IL-6	4.8	3.9
2252B	4.3	4.7
MMP-9	9.5	22.9
IGF-2	14.7	15.9
TNF- α	26.4	18.8
ADAMTS-5	3.0	2.8
GRIA-4	5.0	4.2
TIMP-1	3.5	3.7
IL-1	4.1	2.4
IL-8	3.0	3.1
MMP-2	1.8	1.6
MMP-13	2.7	2.1
PC-2A	4.5	5.2
ADAMTS-4	1.4	1.6
CYTL-1	18.1	18.0
SOX-9	1.9	1.9
TIMP-2	1.6	1.6

[0090] 值表示相对平均诱导值。缩略语：白细胞介素 (IL)；基质金属蛋白酶 (MMP)；胰岛素样生长因子 (IGF)；肿瘤坏死因子 (TNF)；前胶原 (PC)；细胞因子样 (CYTL)；SRY (Y 染色体上的性别决定区)-盒 (SOX)；细胞因子样 (CYTL)；谷氨酸受体, Ionotropic, AMPA (GRIA)；SRY (Y 染色体上的性别决定区)-盒 (SOX)；具有 1 型凝血酶敏感蛋白基序的解聚素样和金属肽酶 (ADAMTS)；金属蛋白酶的抑制剂 (TIMP)。

[0091] 实施例 2

[0092] 将 HT-29 克隆 34 细胞以 2.0×10^5 个细胞 / 孔接种于包含 5%FCS 和 1%PS 的 DMEM 中。用在乙醇中的二高- γ -亚麻酸 (0.1、0.3、0.5、0.7 或 1mg/mL) 作为介质, 有 rhTNF- α 或无 rhTNF- α 的条件下, 将细胞在 37°C 和 5%CO₂ 下温育 24 小时。根据厂商指导, 应用 Phospha-Light™ 系统 (Applied Biosystems, Bedford, MA) 测量作为 SEAP 释放的 NF- κ B 活性。

[0093] 表 2

[0094] NF- κ B 活化

[0095]

NF-κB 活化					
处理	DGLA mg/mL				
	0.1	0.3	0.5	0.7	1.0
-TNF-α (平均值)	10	12	10	7	7
+TNF-α (平均值)	362	338	313	289	210
抑制(平均值)	16	22	28	33	51

[0096]

[0097] 实施例 3

[0098] 将细胞培养基在微量离心管中等分,并且在 -80°C 贮存,直到分析。将细胞用花生四烯酸 (AA) 和二高- γ -亚麻酸富集。应用 Amersham 前列腺素前列腺素 E_2 Biotrak 酶联免疫分析 (EIA, GE Healthcare) 测定前列腺素 E_2 (PGE_2) 水平。进行试验前,解冻培养基样品,然后用试验缓冲液稀释 50-250 倍。将标准品和样品一式两份进行。

[0099] 将溶解藻酸盐珠后得到的细胞悬浮液离心。除去上清液后,将各细胞丸再悬浮于 1mL 磷酸盐缓冲盐水中。将 $10\ \mu\text{L}$ 各样品加入到相同体积的锥虫蓝染色中,然后用血细胞计数器计数。

[0100] 表 3

[0101] PGE_2 抑制

[0102]

软骨细胞培养基的 PGE_2 水平 (fg/mL/个细胞)					
软骨细胞批次:	31010	1084	31510	41210	平均
50 μM AA	473	957	274	3950	1414
50 μM DGLA	331	800	182	1080	598
%降低	30	16	34	73	58

[0103] 在说明书中,已经公开了本发明的典型的优选实施方案。尽管使用了特别的术语,仅将其以一般性和描述性意义使用,并且不是为了限制。本发明的范围在权利要求中提出。根据上文的教导,显而易见的是,本发明的某些修饰和变通是可能的。因此,应该理解的是在附加权利要求的范围内,可以实践本发明而不是如特别描述的。