



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111556754 A

(43)申请公布日 2020.08.18

(21)申请号 201880052093.9

(72)发明人 夏滢

(22)申请日 2018.06.13

(74)专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司 11245

(30)优先权数据

代理人 姚远

62/519,093 2017.06.13 US

62/519,096 2017.06.13 US

62/595,002 2017.12.05 US

62/670,275 2018.05.11 US

(51)Int.Cl.

A61K 31/5377(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

A61K 31/517(2006.01)

A61K 31/519(2006.01)

A61K 31/337(2006.01)

A61K 35/60(2006.01)

A61K 33/04(2006.01)

A61K 45/06(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2020.02.11

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2018/037274 2018.06.13

(87)PCT国际申请的公布数据

W02018/231943 EN 2018.12.20

(71)申请人 夏滢

地址 美国加利福尼亚州

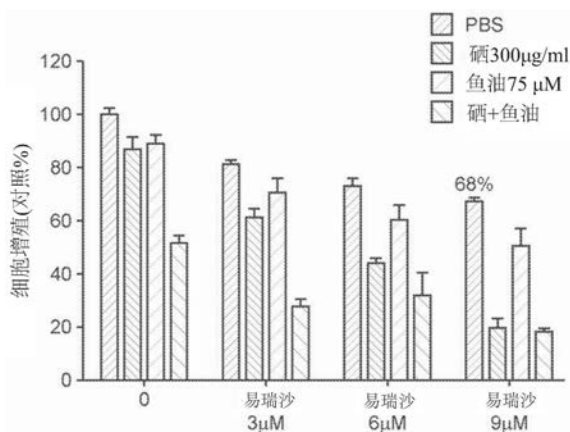
权利要求书12页 说明书27页 附图78页

(54)发明名称

增强癌症化学疗法的组合物和方法

(57)摘要

已发现包括鱼油和硒的营养补充剂提供有益于治疗癌症和相关状况的各种活性。当与化学治疗药物组合使用时,这种补充剂在减少癌细胞增殖方面提供协同效应,并且当与细胞对其具有抗性的化学治疗药物组合使用时,可减少耐药性癌细胞的增殖。还发现在减少血管发生、减少转移、减少循环癌细胞的数量以及改变AXL信号传导方面的作用。另外,发现使用这种补充剂减少与恶病质相关的消耗并减少与炎症相关的循环细胞因子。在临床研究发现延长存活的总体作用。



1. 用于治疗癌症的组合物, 包含:
药物制剂, 所述药物制剂包含用于治疗癌症并有效抑制肿瘤细胞复制的化合物;
鱼油; 和
硒。
2. 权利要求1所示的组合物, 其中所述药物化合物选自易瑞沙、特罗凯、力比泰、顺铂和多西他赛。
3. 权利要求1或权利要求2所述的组合物, 其中所述药物制剂包含多种化学治疗化合物。
4. 权利要求3所述的组合物, 其中所述多种化学治疗化合物选自易瑞沙、特罗凯、力比泰、顺铂、泰克索、阿霉素、阿瓦斯汀和多西他赛。
5. 权利要求1至4中任一项所述的组合物, 其中所述硒作为由硒酵母制备的肽或氨基酸提供。
6. 权利要求1至5中任一项所述的组合物, 其中所述硒和鱼油作为营养补充剂提供。
7. 权利要求6所述的组合物, 其中所述营养补充剂包含表1中列出的至少三种组分。
8. 权利要求7所述的组合物, 其中所述营养补充剂根据表1中列出的量配制。
9. 增加癌症化学治疗剂的有效性的方法, 包括与所述癌症化学治疗剂组合给予包含鱼油和硒肽的营养补充剂, 其中所述癌症化学治疗剂包含一种或多种药物化合物。
10. 权利要求9所述的方法, 其中所述药物化合物选自易瑞沙、特罗凯、力比泰、顺铂和多西他赛。
11. 权利要求9或权利要求10所述的方法, 其中所述药物制剂包含多种化学治疗化合物。
12. 权利要求11所述的方法, 其中所述多种化学治疗化合物选自易瑞沙、特罗凯、力比泰、顺铂、泰克索、阿霉素、阿瓦斯汀和多西他赛。
13. 权利要求9至12中任一项所述的方法, 其中所述硒作为由硒酵母制备的肽或氨基酸提供。
14. 权利要求9至13中任一项所述的方法, 其中所述营养补充剂包含表1中列出的成分。
15. 权利要求15所述的方法, 其中所述营养补充剂根据表1中列出的量配制。
16. 改变肿瘤细胞的细胞周期分布的方法, 包括将包含鱼油和硒肽的营养补充剂与癌症化学治疗剂组合给予至第一肿瘤细胞群, 以产生部分肿瘤细胞在细胞周期时相方面的改变。
17. 权利要求16所述的方法, 其中所述改变包括相对于单独用所述癌症化学治疗剂处理的第二肿瘤细胞群, 处于S时相的肿瘤细胞的部分增加。
18. 权利要求16或权利要求17所述的方法, 其中所述改变包括相对于单独用所述癌症化学治疗剂处理的第二肿瘤细胞群, 处于亚G1时相的肿瘤细胞的部分增加。
19. 权利要求16至18中任一项所述的方法, 其中所述药物化合物选自易瑞沙、特罗凯、力比泰、顺铂、泰克索、阿霉素、阿瓦斯汀和多西他赛。
20. 权利要求16至19中任一项所述的方法, 其中所述硒作为由硒酵母制备的肽或氨基酸提供。
21. 权利要求16至20中任一项所述的方法, 其中所述营养补充剂包含表1中列出的成

分。

22. 权利要求21所述的方法,其中所述营养补充剂根据表1中列出的量配制。

23. 增加抗性肿瘤细胞对癌症化学治疗剂的敏感性的方法,包括使所述抗性肿瘤细胞与包含硒、鱼油或硒和鱼油的组合的营养补充剂接触,其中所述癌症化学治疗剂包含一种或多种药物化合物。

24. 权利要求23所述的方法,其中所述药物化合物选自易瑞沙、特罗凯、力比泰、顺铂、泰克索、阿霉素、阿瓦斯汀和多西他赛。

25. 权利要求23或权利要求24所述的方法,其中所述药物制剂包含多种化学治疗化合物。

26. 权利要求25所述的方法,其中所述多种化学治疗化合物选自易瑞沙、特罗凯、力比泰、顺铂、泰克索、阿霉素、阿瓦斯汀和多西他赛。

27. 权利要求23至26中任一项所述的方法,其中所述硒作为由硒酵母制备的肽或氨基酸提供。

28. 权利要求23至27中任一项所述的方法,其中所述营养补充剂包含表1中列出的成分。

29. 权利要求28所述的方法,其中所述营养补充剂根据表1中列出的量配制。

30. 降低癌症化学治疗剂的恶病质作用的方法,包括向接受具有所述癌症化学治疗剂的化学疗法的人提供包含硒、鱼油、或硒和鱼油的组合的营养补充剂,其中所述癌症化学治疗剂包含一种或多种药物化合物。

31. 权利要求30所述的方法,其中所述药物化合物选自易瑞沙、特罗凯、力比泰、顺铂、泰克索、阿霉素、阿瓦斯汀和多西他赛。

32. 权利要求30或权利要求31所述的方法,其中所述药物制剂包含多种化学治疗化合物。

33. 权利要求32所述的方法,其中所述多种化学治疗化合物选自易瑞沙、特罗凯、力比泰、顺铂和多西他赛。

34. 权利要求30至33中任一项所述的方法,其中所述硒作为由硒酵母制备的肽或氨基酸提供。

35. 权利要求30至34中任一项所述的方法,其中所述营养补充剂包含表1中列出的至少三种组分。

36. 权利要求35所述的方法,其中所述营养补充剂根据表1中列出的量配制。

37. 用于治疗癌症的组合物,包含:

鱼油;和

硒,

其中鱼油和硒以有效提供对癌症治疗模式具有协同效应的量提供,并且其中当以对应量单独提供时,所述协同效应超过鱼油或硒的加成作用。

38. 权利要求37所述的组合物,其中所述癌症治疗模式选自抑制癌细胞的复制、减少转移、增加化学治疗药物的有效性、使抗性癌细胞对化学治疗药物敏化、和减少化学治疗药物的恶病质副作用。

39. 权利要求37或38所述的组合物,其中所述硒作为由硒酵母制备的肽或氨基酸提供。

40. 权利要求37至39中任一项所述的组合物,其中所述组合物包含表1中列出的至少三种组分。

41. 权利要求40所述的组合物,其中所述组合物根据表1中列出的量配制。

42. 减少癌症干细胞的干细胞特性的方法,包括使所述癌症干细胞与包含硒、鱼油、或硒和鱼油的组合的组合物接触。

43. 权利要求42所述的方法,其中硒酵母为源自硒酵母的肽或氨基酸的形式。

44. 权利要求42或43所述的方法,其中在所述癌症干细胞中p-mTOR或波形蛋白表达被降低。

45. 权利要求42至44中任一项所述的方法,其中在所述癌症干细胞中Beclin-1增加。

46. 权利要求42至45中任一项所述的方法,其中通过向患有癌症的患者给予包含表1中列出的多种化合物的组合物来提供接触。

47. 权利要求42至46中任一项所述的方法,其中所述多种化合物以包含表1中列出的所述多种化合物的量的配方提供。

48. 减少癌症干细胞增殖的方法,包括使所述癌症干细胞与包含硒、鱼油或硒和鱼油的组合的组合物接触。

49. 权利要求48所述的方法,其中硒为源自硒酵母的肽或氨基酸的形式。

50. 权利要求48或49所述的方法,其中在所述癌症干细胞中GRP78表达降低。

51. 权利要求48至50中任一项所述的方法,其中在所述癌症干细胞中CHOP表达增加。

52. 权利要求48至51中任一项所述的方法,其中通过向患有癌症的患者给予包含表1中列出的多种化合物的组合物来提供接触。

53. 权利要求52所述的方法,其中所述多种化合物以包含表1中列出的所述多种化合物的量的配方提供。

54. 治疗癌症的方法,包括:

在第一时间点,给予包含鱼油和硒的营养补充剂;

在第二时间点,给予化学治疗药物,

其中所述第一时间点超过所述第二时间点预治疗间隔。

55. 权利要求54所述的方法,其中所述预治疗间隔为约72小时。

56. 权利要求54或55所述的方法,其中所述营养补充剂包含表1的组分。

57. 减少肿瘤中血管形成的方法,包括给予包含鱼油和硒的营养补充剂的步骤。

58. 权利要求57所述的方法,进一步包括给予化学治疗药物的步骤。

59. 权利要求57或58所述的方法,其中所述营养补充剂包含表1的组分。

60. 减少对肿瘤中氧化胁迫响应的能力的方法,包括给予包含鱼油和硒的营养补充剂的步骤。

61. 权利要求60所述的方法,进一步包括给予化学治疗药物的步骤。

62. 权利要求60或61所述的方法,其中所述营养补充剂包含表1的组分。

63. 减少患有肿瘤的患者中循环肿瘤细胞的方法,包括给予包含鱼油和硒的营养补充剂的步骤。

64. 权利要求63所述的方法,进一步包括给予化学治疗药物的步骤。

65. 权利要求63或64所述的方法,其中所述营养补充剂包含表1中列出的至少三种组

分。

66. 权利要求63至65中任一项所述的方法,其中在给予所述营养补充剂之前患者的第一循环肿瘤细胞含量比给予所述营养补充剂之后患者的第二循环肿瘤细胞含量大至少10倍。

67. 增强肿瘤特异性免疫疗法的方法,包括给予包含鱼油和硒的营养补充剂的步骤。

68. 权利要求67所述的方法,进一步包括给予化学治疗药物的步骤。

69. 权利要求67或68所述的方法,进一步包括给予肿瘤特异性免疫疗法的步骤。

70. 权利要求67至69中任一项所述的方法,其中所述营养补充剂包含表1中列出的至少三种组分。

71. 在肿瘤中诱导凋亡的方法,包括给予包含鱼油和硒的营养补充剂的步骤。

72. 权利要求71所述的方法,进一步包括给予化学治疗药物的步骤。

73. 权利要求71或72所述的方法,其中所述营养补充剂包含表1中列出的至少三种组分。

74. 改善荷瘤患者群两年存活率的方法,包括给予包含鱼油和硒的营养补充剂的步骤。

75. 权利要求74所述的方法,进一步包括给予化学治疗药物的步骤。

76. 权利要求74或75所述的方法,其中所述营养补充剂包含表1中列出的至少三种组分。

77. 权利要求74至76中任一项所述的方法,其中接受所述营养补充剂的荷瘤患者群的两年存活率是接受通用补充剂的荷瘤群的两年存活率的至少两倍。

78. 权利要求74至76中任一项所述的方法,其中接受所述营养补充剂并且BMI小于19的荷瘤患者群的两年存活率比接受通用补充剂并且BMI小于19的荷瘤群的两年存活率高至少五倍。

79. 权利要求77或78所述的方法,其中所述荷瘤患者群包含患有头和/或颈肿瘤的患者。

80. 调节肿瘤细胞中AXL的方法,包括:

以有效降低所述肿瘤细胞中AXL浓度的量给予包含鱼油和硒的营养补充剂。

81. 权利要求80所述的方法,其中所述肿瘤细胞是耐药性肿瘤细胞。

82. 权利要求80或81所述的方法,其中所述营养补充剂包含表1中列出的至少三种组分。

83. 权利要求80至82中任一项所述的方法,进一步包括给予化学治疗药物的步骤。

84. 调节肿瘤细胞中热休克蛋白的方法,包括:

以有效降低所述肿瘤细胞中热休克蛋白浓度的量给予包含鱼油和硒的营养补充剂。

85. 权利要求84所述的方法,其中所述热休克蛋白是HSP90。

86. 权利要求84或85所述的方法,其中所述肿瘤细胞是耐药性肿瘤细胞。

87. 权利要求84至86中任一项所述的方法,其中所述营养补充剂包含表1中列出的至少三种组分。

88. 权利要求84至87中任一项所述的方法,进一步包括给予化学治疗药物的步骤。

89. 调节肿瘤细胞中mTOR磷酸化的方法,包括:

以有效降低所述肿瘤细胞中mTOR的磷酸化的量给予包含鱼油和硒的营养补充剂。

90. 权利要求89所述的方法,其中所述肿瘤细胞是耐药性肿瘤细胞。
91. 权利要求89或90所述的方法,其中所述营养补充剂包含表1中列出的至少三种组分。
92. 权利要求89至91中任一项所述的方法,进一步包括给予化学治疗药物的步骤。
93. 调节肿瘤细胞中AXL和热休克蛋白的方法,包括:
以有效降低所述肿瘤细胞中AXL浓度和所述热休克蛋白浓度的量给予包含鱼油和硒的营养补充剂。
94. 权利要求93所述的方法,其中所述热休克蛋白是HSP90。
95. 权利要求93或94所述的方法,其中所述肿瘤细胞是耐药性肿瘤细胞。
96. 权利要求93至95中任一项所述的方法,其中所述营养补充剂包含表1中列出的至少三种组分。
97. 权利要求93所述的方法,进一步包括给予化学治疗药物的步骤。
98. 调节肿瘤细胞中m-TOR磷酸化和AXL的方法,包括:
以有效降低所述肿瘤细胞中AXL浓度和mTOR磷酸化的量给予包含鱼油和硒的营养补充剂。
99. 权利要求98所述的方法,其中所述肿瘤细胞是耐药性肿瘤细胞。
100. 权利要求98或99所述的方法,其中所述营养补充剂包含表1中列出的至少三种组分。
101. 权利要求98至100中任一项所述的方法,进一步包括给予化学治疗药物的步骤。
102. 调节肿瘤细胞中mTOR磷酸化和热休克蛋白的方法,包括:
以有效降低所述肿瘤细胞中所述热休克蛋白的浓度和mTOR磷酸化的量给予包含鱼油和硒的营养补充剂。
103. 权利要求102所述的方法,其中所述热休克蛋白是HSP90。
104. 权利要求102或103所述的方法,其中所述肿瘤细胞是耐药性肿瘤细胞。
105. 权利要求102至104中任一项所述的方法,其中所述营养补充剂包含表1中列出的至少三种组分。
106. 权利要求102至105中任一项所述的方法,进一步包括给予化学治疗药物的步骤。
107. 调节肿瘤细胞中mTOR磷酸化、AXL和热休克蛋白的方法,包括:
以有效降低所述肿瘤细胞中AXL浓度、热休克蛋白浓度和mTOR磷酸化中的所有的量给予包含鱼油和硒的营养补充剂。
108. 权利要求107所述的方法,其中所述热休克蛋白是HSP90。
109. 权利要求107或108所述的方法,其中所述肿瘤细胞是耐药性肿瘤细胞。
110. 权利要求107至109中任一项所述的方法,其中所述营养补充剂包含表1中列出的至少三种组分。
111. 权利要求107至110中任一项所述的方法,进一步包括给予化学治疗药物的步骤。
112. 减少肿瘤中VEGF的方法,包括以足以降低所述肿瘤中VEGF浓度的量提供营养补充剂,其中所述营养补充剂包含硒和鱼油。
113. 权利要求112所述的方法,其中所述营养补充剂包含表1中列出的至少三种组分。
114. 权利要求112或113所述的方法,包括提供化学治疗剂的另外步骤。

115. 减少肿瘤中HIF- α 的方法,包括以有效降低所述肿瘤中HIF- α 浓度的量提供化学治疗药物。

116. 权利要求115所述的方法,其中所述化学治疗药物选自泰克索、阿霉素和阿瓦斯汀。

117. 权利要求115或116所述的方法,包括提供包含硒和鱼油的营养补充剂的另外步骤。

118. 权利要求117所述的方法,其中所述营养补充剂包含表1中列出的至少三种组分。

119. 减少肿瘤中HIF- α 的方法,包括以足以降低所述肿瘤中HIF- α 浓度的量提供营养补充剂,其中所述营养补充剂包含硒酵母和鱼油。

120. 权利要求119所述的方法,其中所述营养补充剂包含表1中列出的至少三种组分。

121. 权利要求119或120所述的方法,包括提供化学治疗剂的另外步骤。

122. 减少肿瘤中CD31的方法,包括以有效降低所述肿瘤中CD31浓度的量提供化学治疗药物。

123. 权利要求122所述的方法,其中所述化学治疗药物选自泰克索、阿霉素和阿瓦斯汀。

124. 权利要求122或123所述的方法,包括提供包含硒和鱼油的营养补充剂的另外步骤。

125. 权利要求124所述的方法,其中所述营养补充剂包含表1中列出的至少三种组分。

126. 减少肿瘤中CD31的方法,包括以足以降低所述肿瘤中CD31浓度的量提供营养补充剂,其中所述营养补充剂包含硒和鱼油。

127. 权利要求126所述的方法,其中所述营养补充剂是表1中所示的补充剂。

128. 权利要求126或127所述的方法,包括提供化学治疗剂的另外步骤。

129. 降低癌细胞中PD-L1表达的方法,包括使所述癌细胞与化学治疗药物接触,其中所述化学治疗药物以足以降低所述癌细胞中PD-L1表达的量提供。

130. 权利要求129所述的方法,进一步包括使所述肿瘤细胞与包含鱼油和硒的营养补充剂接触的步骤,其中所述补充剂以足以降低所述癌细胞中PD-L1表达的量提供。

131. 权利要求130所述的方法,其中硒作为硒酵母提供。

132. 权利要求130或131所述的方法,其中所述营养补充剂包含表1的至少三种组分。

133. 权利要求132所述的方法,其中所述至少三种组分以表1中所示的量提供。

134. 降低癌细胞中PD-L1表达的方法,包括使所述癌细胞与包含鱼油和硒的营养补充剂接触,其中所述补充剂以足以降低所述癌细胞中PD-L1表达的量提供。

135. 权利要求134所述的方法,进一步包括使所述肿瘤细胞与包含鱼油和硒的营养补充剂接触的步骤,其中所述补充剂以足以降低所述癌细胞中PD-L1表达的量提供。

136. 权利要求134或135所述的方法,其中硒作为硒酵母提供。

137. 权利要求134至136中任一项所述的方法,其中所述营养补充剂包含表1中的至少三种组分。

138. 权利要求137所述的方法,其中所述至少三种组分以表1中所示的量提供。

139. 化学治疗化合物和营养补充剂在制造有效治疗癌症的药物中的应用,其中所述化学治疗化合物是用于治疗癌症并有效抑制肿瘤细胞复制的化合物,并且其中所述营养补充

剂包含鱼油和硒。

140. 权利要求139所述的应用,其中所述药物化合物选自易瑞沙、特罗凯、力比泰、顺铂和多西他赛。

141. 权利要求139或权利要求140所述的应用,其中所述化学治疗化合物包含多种用于治疗癌症并有效抑制肿瘤细胞复制的化合物。

142. 权利要求141所述的应用,其中所述多种化学治疗化合物选自易瑞沙、特罗凯、力比泰、顺铂、泰克索、阿霉素、阿瓦斯汀和多西他赛中的两种或更多种。

143. 权利要求138至142中任一项所述的应用,其中硒作为由硒酵母制备的肽或氨基酸提供。

143. 权利要求138至142中任一项所述的应用,其中所述营养补充剂包含表1中列出的三种或更多种成分。

144. 权利要求7所述的应用,其中所述营养补充剂根据表1中列出的量配制。

145. 营养补充剂在制造有效增加癌症化学治疗剂的有效性的药物中的应用,其中所述营养补充剂包含鱼油和硒,其中所述营养补充剂以足以增加所述癌症化学治疗剂的有效性的量提供,并且其中所述癌症化学治疗剂包含一种或多种药物化合物。

146. 权利要求145所述的应用,其中所述一种或多种药物化合物选自易瑞沙、特罗凯、力比泰、顺铂和多西他赛。

147. 权利要求145或146所述的应用,其中硒作为由硒酵母制备的肽或氨基酸提供。

148. 权利要求145至147中任一项所述的应用,其中所述营养补充剂包含表1中列出的三种或更多种成分。

149. 权利要求148所述的应用,其中所述营养补充剂根据表1中列出的量配制。

150. 营养补充剂在制造当与化学治疗剂组合使用时有效改变多种肿瘤细胞的细胞周期分布的药物中的应用,其中所述营养补充剂包含鱼油和硒,并且其中所述营养补充剂以当与所述化学治疗剂组合使用时有效使所述多种肿瘤细胞的细胞周期分布产生改变的量提供。

151. 权利要求150所述的应用,其中所述改变包含相对于单独用所述癌症化学治疗剂处理的第二比例的对应多个肿瘤细胞,处于S时相的第一比例的所述多个肿瘤细胞增加。

152. 权利要求150或权利要求151所述的应用,其中所述改变包含相对于单独用所述癌症化学治疗剂处理的第四比例的对应多个肿瘤细胞,处于亚G1时相的第三比例的所述多个肿瘤细胞增加。

153. 权利要求150至152中任一项所述的应用,其中所述药物化合物选自易瑞沙、特罗凯、力比泰、顺铂、泰克索、阿霉素、阿瓦斯汀和多西他赛。

154. 权利要求150至153中任一项所述的应用,其中硒作为由硒酵母制备的肽或氨基酸提供。

155. 权利要求150至154中任一项所述的应用,其中所述营养补充剂包含表1中列出的三种或更多种成分。

156. 权利要求155所述的应用,其中所述营养补充剂根据表1中列出的量配制。

157. 营养补充剂在制造有效增加对癌症化学治疗剂具有抗性的肿瘤细胞的敏感性药物中的应用,其中所述营养补充剂包含硒、鱼油、或硒和鱼油的组合,并且其中所述癌症化

学治疗剂包含一种或多种药物化合物。

158. 权利要求157所述的应用,其中所述药物化合物选自易瑞沙、特罗凯、力比泰、顺铂、泰克索、阿霉素、阿瓦斯汀和多西他赛。

159. 权利要求157至158中任一项所述的应用,其中所述硒作为由硒酵母制备的肽或氨基酸提供。

160. 权利要求157至159中任一项所述的应用,其中所述营养补充剂包含表1中列出的三种或更多种成分。

161. 权利要求160所述的应用,其中所述营养补充剂根据表1中列出的量配制。

162. 营养补充剂在制造有效降低癌症化学治疗剂的恶病质作用的药物中的应用,其中所述营养补充剂包含硒、鱼油、或硒和鱼油的组合,并且其中所述癌症化学治疗剂包含一种或多种药物化合物。

163. 权利要求162所述的应用,其中所述药物化合物选自易瑞沙、特罗凯、力比泰、顺铂、泰克索、阿霉素、阿瓦斯汀和多西他赛。

164. 权利要求162或163所述的应用,其中硒作为由硒酵母制备的肽或氨基酸提供。

165. 权利要求162至164中任一项所述的应用,其中所述营养补充剂包含表1中列出的三种或更多种成分。

166. 权利要求165所述的应用,其中所述营养补充剂根据表1中列出的量配制。

167. 营养补充剂在制造有效改变癌症干细胞的干细胞特性的药物中的应用,其中所述营养补充剂包含硒、鱼油、或硒和鱼油的组合。

168. 权利要求167所述的应用,其中硒为源自硒酵母的肽或氨基酸的形式。

169. 权利要求167或168所述的应用,其中所述干细胞特性为p-mTOR或波形蛋白表达,并且其中在所述癌症干细胞中p-mTOR或波形蛋白表达降低。

170. 权利要求167至169中任一项所述的应用,其中所述干细胞特性是Beclin-1表达,并且其中在所述癌症干细胞中Beclin-1表达增加。

171. 权利要求167至170中任一项所述的应用,其中所述营养补充剂包含表1中列出的三种或更多种化合物。

172. 营养补充剂在制造有效减少癌症干细胞增殖的药物中的应用,其中所述营养补充剂包含硒、鱼油、或硒和鱼油的组合。

173. 权利要求172所述的应用,其中硒为源自硒酵母的肽或氨基酸的形式。

174. 权利要求172或173所述的应用,其中所述药物有效降低所述癌症干细胞中的GRP78表达。

175. 权利要求172至174中任一项所述的应用,其中所述药物有效增加所述癌症干细胞中的CHOP表达。

176. 权利要求172至175中任一项所述的应用,其中所述营养补充剂包含表1中列出的三种或更多种组分。

177. 权利要求176所述的应用,其中所述三种或更多种组分以包含表1中列出的量的配方提供。

178. 营养补充剂在制造有效减少肿瘤中血管生成的药物中的应用,其中所述营养补充剂包含鱼油和硒。

179. 权利要求178所述的应用,其中当与化学治疗药物组合使用时,所述药物在减少肿瘤中血管形成方面提供协同效应。

180. 权利要求178或179所述的应用,其中所述营养补充剂包含表1中列出的三种或更多种组分。

181. 营养补充剂在制造有效降低对肿瘤中氧化胁迫的响应能力的药物中的应用,其中所述营养补充剂包含鱼油和硒。

182. 权利要求181所述的应用,其中当与化学治疗药物组合使用时,所述药物在降低肿瘤对氧化胁迫的响应能力方面提供协同效应。

183. 权利要求181或182所述的应用,其中所述营养补充剂包含表1中列出的三种或更多种组分。

184. 营养补充剂在制造有效减少患有肿瘤的患者中的循环肿瘤细胞的药物中的应用,其中所述营养补充剂包含鱼油和硒。

185. 权利要求184所述的应用,其中当与化学治疗药物组合使用时,所述药物在减少所述患者中的循环肿瘤细胞方面提供协同效应。

186. 权利要求184或185所述的应用,其中所述营养补充剂包含表1中列出的三种或更多种组分。

187. 权利要求184至186中任一项所述的应用,其中所述药物有效地将给予所述营养补充剂之前的所述患者的第一循环肿瘤细胞含量降低至给予所述营养补充剂之后的所述患者的第二循环肿瘤细胞含量,其中所述第二循环肿瘤细胞含量为所述第一循环肿瘤细胞含量的10%或更少。

188. 营养补充剂在制造有效增强肿瘤特异性免疫疗法的药物中的应用,其中所述营养补充剂包含鱼油和硒。

189. 权利要求188所述的应用,其中当与化学治疗药物组合使用时,所述药物在增强肿瘤特异性免疫疗法方面提供协同效应。

190. 权利要求188或189所述的应用,其中所述营养补充剂包含表1中列出的三种或更多种组分。

191. 营养补充剂在制造在肿瘤中有效诱导凋亡的药物中的应用,其中所述营养补充剂包含鱼油和硒。

192. 权利要求191所述的应用,其中当与化学治疗药物组合使用时,所述药物在所述肿瘤中诱导凋亡方面提供协同效应。

193. 权利要求191或192所述的应用,其中所述营养补充剂包含表1中列出的三种或更多种组分。

194. 营养补充剂在制造有效改善荷瘤患者群的两年存活率的药物中的应用,其中所述营养补充剂包含鱼油和硒。

195. 权利要求194所述的应用,其中当与化学治疗药物组合使用时,所述药物在改善荷瘤患者群的两年存活率方面提供协同效应。

196. 权利要求194或195所述的应用,其中所述营养补充剂包含表1中列出的三种或更多种组分。

197. 权利要求194至196中任一项所述的应用,其中所述药物有效地将接受所述营养补

充剂的荷瘤患者的两年存活率提高至接受通用补充剂的荷瘤患者群的两年存活率的至少两倍。

198. 权利要求194至196中任一项所述的应用,其中所述药物有效地将接受所述营养补充剂并且BMI小于19的荷瘤患者群的两年存活率提高至比接受通用补充剂并且BMI小于19的荷瘤患者群的两年存活率高至少五倍。

199. 权利要求14至198中任一项所述的应用,其中所述荷瘤患者群包含患有头和/或颈肿瘤的患者。

200. 营养补充剂在制造有效调节肿瘤细胞中的AXL的药物中的应用,其中所述营养补充剂包含有效降低所述肿瘤细胞中AXL浓度的量的鱼油和硒。

201. 权利要求200所述的应用,其中所述肿瘤细胞是耐药性肿瘤细胞。

202. 权利要求200或201所述的应用,其中所述营养补充剂包含表1中列出的三种或更多种组分。

203. 权利要求200至202中任一项所述的应用,其中当进一步包括给予化学治疗药物的步骤、与化学治疗药物组合使用时,所述药物在降低所述肿瘤细胞AXL浓度方面提供协同效应。

204. 营养补充剂在制造有效调节肿瘤细胞中热休克蛋白表达的药物中的应用,其中所述营养补充剂包含有效降低所述肿瘤细胞中所述热休克蛋白浓度的量的鱼油和硒。

205. 权利要求204所述的应用,其中所述热休克蛋白是HSP90。

206. 权利要求204或205所述的应用,其中所述肿瘤细胞是耐药性肿瘤细胞。

207. 权利要求204至206中任一项所述的应用,其中所述营养补充剂包含表1中列出的三种或更多种组分。

208. 权利要求204至207中任一项所述的应用,其中当进一步包括给予化学治疗药物的步骤、与化学治疗药物组合使用时,所述药物在降低所述肿瘤细胞中HSP90表达方面提供协同效应。

209. 营养补充剂在制造有效调节肿瘤细胞中mTOR磷酸化的药物中的应用,其中所述营养补充剂包含有效降低所述肿瘤细胞中mTOR磷酸化的量的鱼油和硒。

210. 权利要求209所述的应用,其中所述肿瘤细胞是耐药性肿瘤细胞。

211. 权利要求209或210所述的应用,其中所述营养补充剂包含表1中列出的三种或更多种组分。

212. 权利要求209至211中任一项所述的应用,其中当进一步包括给予化学治疗药物的步骤、与化学治疗药物组合使用时,所述药物在降低所述肿瘤细胞中mTOR磷酸化方面提供协同效应。

213. 营养补充剂在制造有效调节肿瘤细胞中AXL和热休克蛋白的药物中的应用,其中所述营养补充剂包含有效降低所述肿瘤细胞中AXL浓度和所述热休克蛋白浓度的量的鱼油和硒。

214. 权利要求213所述的应用,其中所述热休克蛋白是HSP90。

215. 权利要求213或214所述的应用,其中所述肿瘤细胞是耐药性肿瘤细胞。

216. 权利要求213至215中任一项所述的应用,其中所述营养补充剂包含表1中列出的三种或更多种组分。

217. 权利要求213至216中任一项所述的应用,其中当进一步包括给予化学治疗药物的步骤、与化学治疗药物组合使用时,所述药物在降低所述肿瘤细胞中热休克蛋白和AXL表达方面提供协同效应。

218. 营养补充剂在制造有效调节肿瘤细胞中m-TOR磷酸化和AXL的药物中的应用,其中所述营养补充剂包含有效降低所述肿瘤细胞中AXL浓度和mTOR磷酸化的量的鱼油和硒。

219. 权利要求218所述的应用,其中所述肿瘤细胞是耐药性肿瘤细胞。

220. 权利要求218或219所述的应用,其中所述营养补充剂包含表1中列出的三种或更多种组分。

221. 权利要求218至220中任一项所述的应用,其中当进一步包括给予化学治疗药物的步骤、与化学治疗药物组合使用时,所述药物在降低所述肿瘤细胞中mTOR磷酸化和AXL的表达方面提供协同效应。

222. 营养补充剂在制造有效调节肿瘤细胞中mTOR磷酸化和热休克蛋白的药物中的应用,其中所述营养补充剂包含有效降低所述肿瘤细胞中热休克蛋白的浓度和mTOR磷酸化的量的鱼油和硒。

223. 权利要求222所述的应用,其中所述热休克蛋白是HSP90。

224. 权利要求222或223所述的应用,其中所述肿瘤细胞是耐药性肿瘤细胞。

225. 权利要求222至224中任一项所述的应用,其中所述营养补充剂包含表1中列出的三种或更多种组分。

226. 权利要求222至225中任一项所述的应用,其中当进一步包括给予化学治疗药物的步骤、与化学治疗药物组合使用时,所述药物在降低所述肿瘤细胞中mTOR磷酸化和热休克蛋白的表达方面提供协同效应。

227. 营养补充剂在制造有效调节肿瘤细胞中mTOR磷酸化、AXL表达和热休克蛋白表达的药物中的应用,其中营养补充剂包含有效降低所述肿瘤细胞中AXL浓度、热休克蛋白浓度、和mTOR磷酸化中的所有的量的鱼油和硒。

228. 权利要求227所述的应用,其中所述热休克蛋白是HSP90。

229. 权利要求227或228所述的应用,其中所述肿瘤细胞是耐药性肿瘤细胞。

230. 权利要求227至229中任一项所述的应用,其中所述营养补充剂包含表1中列出的三种或更多种组分。

231. 权利要求227至230中任一项所述的应用,其中当与化学治疗药物组合使用时,所述药物在降低所述肿瘤细胞中mTOR的磷酸化、热休克蛋白的表达、和AXL的表达方面提供协同效应。

232. 营养补充剂在制造有效减少肿瘤中血管生长因子的药物中的应用,其中所述营养补充剂包含硒和鱼油并以足以降低所述肿瘤中VEGF浓度的量提供。

233. 权利要求232所述的应用,其中所述营养补充剂包含表1中列出的三种或更多种组分。

234. 权利要求232或233所述的应用,包括提供化学治疗剂的另外步骤。

235. 化学治疗药物在制备有效降低肿瘤中HIF- α 的药物中的应用,其中所述化学治疗药物以有效降低所述肿瘤中HIF- α 浓度的量提供。

236. 权利要求235所述的应用,其中所述化学治疗药物选自泰克索、阿霉素和阿瓦斯

汀。

237. 权利要求235或236所述的应用,其中所述药物进一步包括包含硒和鱼油的营养补充剂。

238. 权利要求237所述的应用,其中所述营养补充剂包含表1中列出的至少三种组分。

239. 营养补充剂在制造有效降低肿瘤中HIF- α 的药物中的应用,其中所述营养补充剂包含鱼油和硒,并且其中所述营养补充剂以足以降低所述肿瘤中HIF- α 浓度的量提供。

240. 权利要求239所述的应用,其中所述营养补充剂包含表1中列出的至少三种组分。

241. 化学治疗药物在制备有效减少肿瘤中CD31的药物中的应用,其中所述药物包含有效降低所述肿瘤中CD31浓度的量的所述化学治疗药物。

242. 权利要求241所述的应用,其中所述化学治疗药物选自泰克索、阿霉素和阿瓦斯汀。

243. 权利要求241或242所述的应用,其中所述药物进一步包括包含硒和鱼油的营养补充剂。

244. 权利要求243所述的应用,其中所述营养补充剂包含表1中列出的三种或更多种组分。

245. 营养补充剂在制造有效减少肿瘤中CD31的药物中的应用,其中所述营养补充剂包含足以降低所述肿瘤中CD31浓度的量的硒和鱼油。

246. 权利要求245所述的应用,其中所述营养补充剂包含表1中列出的三种或更多种组分。

247. 化学治疗药物在制备有效降低癌细胞中PD-L1表达的药物中的应用,其中所述药物包含足以降低所述癌细胞中PD-L1表达的量的所述化学治疗药物。

248. 权利要求247所述的应用,其中所述药物进一步包括含鱼油和硒的营养补充剂。

249. 权利要求248所述的应用,其中硒作为硒酵母提供。

250. 权利要求248或249所述的应用,其中所述营养补充剂包含表1中列出的至少三种组分。

251. 权利要求250所述的应用,其中所述至少三种组分以表1所示的量提供。

252. 营养补充剂在制造有效降低癌细胞中PD-L1表达的药物中的应用,其中所述营养补充剂包含鱼油和硒,并且其中所述补充剂以足以降低所述癌细胞中PD-L1表达的量提供。

253. 权利要求252所述的应用,其中硒作为硒酵母提供。

254. 权利要求252或253所述的应用,其中所述营养补充剂包含表1中列出的至少三种组分。

255. 权利要求254所述的应用,其中所述至少三种组分以表1中所示的量提供。

增强癌症化学疗法的组合物和方法

[0001] 本申请要求2017年6月13日提交的美国临时申请号62/519,093、2017年6月13日提交的美国临时申请号62/519,096、2017年12月5日提交的美国临时申请号62/595,002、和2018年5月11日提交的美国临时申请号62/670,275的权益。这些以及所有其它引用的外部材料通过引用其整体并入本文。在通过引用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的情况下,本文提供的此术语的定义被认为是控制性的。

技术领域

[0002] 本发明的领域是癌症化学疗法,特别是与营养补充剂组合的癌症化学疗法。

背景技术

[0003] 背景说明包括可用于理解本发明的信息。不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,或者明确或隐含引用的任何出版物均为现有技术。

[0004] 用于治疗癌症的化学治疗方案可使患者明显受益,但对于一些癌症(特别是复发性或抗性肿瘤)可以是无效的或效果较差的。另外,化学疗法与显著的副作用(包括恶心、体重减轻、脱发、免疫抑制和皮肤刺激)相关。

[0005] 还已尝试增强化学疗法的作用。一些研究已表明食用鱼油可改善化学疗法的结果,然而其它研究已表明鱼油可以干扰(Daenen et al, JAMA Oncol (2015) 1 (3) :350-358)。还已尝试将化学治疗剂配制成纳米颗粒(Xu et al, Coll.Surf.B:Biointerfaces (2006) 48 (1) :50-57)。然而,尚不清楚是否所有的化学治疗药物适用于这种重新配制。还已探究了化学治疗药物与被设计以干扰多药耐药性的siRNA的共同递送。然而,这些siRNAs是序列特异性的并且可不适用于一些肿瘤。

[0006] 减轻化学疗法的副作用总体上旨在提供症状缓解。例如,止吐药可用于减少恶心,以及饮食调整和避免某些食物而少食多餐。不幸的是,这种方法并不总是有效的。在一些情况下,选择具有降低的毒性以减少副作用的化学治疗剂,然而,这种药剂也可具有降低的针对肿瘤细胞的有效性。

[0007] 还已尝试改善对化学治疗剂具有抗性的癌细胞的敏感性。例如,授予Kelley的美国专利号7906554描述了异黄酮在改善化学治疗剂有效性中的应用。然而,由于提供的唯一数据涉及已知本身具有显著抗癌活性的化合物(脱氢雌马酚),因此作用似乎并未得到明确证明。授予Kim和Kim的美国专利号83463943描述了葡萄糖胺在使癌细胞对化学治疗剂敏感中的应用。然而,不清楚是否可在体内实现被发现有效的葡萄糖胺浓度(1mM或更高)。授予Gleave et al的美国专利号9095602描述了使用反义DNA抑制TRPM-2基因活性,以增强抗性癌症的化学敏感性。然而,这种方法需要安全且选择性地向肿瘤提供反义DNA的手段。另外,不清楚这种特定基因抑制将在不同的癌细胞类型和化学治疗机制中有效。

[0008] 因此,仍然需要安全且有效的组合物和方法,以增强癌症化学疗法的有效性和/或减少副作用,并增加化学疗法抗性癌细胞的敏感性。

发明内容

[0009] 本发明的主题提供了组合物和方法,其中包括鱼油和硒的补充剂可单独使用或与化学治疗剂组合使用以改善癌症的治疗。提供了包括鱼油和硒的优选膳食补充剂的特定配方,该配方已被证明既有效又可口。

[0010] 发现使用含有鱼油和硒的补充剂减少不同肿瘤细胞系的增殖,并且在与多种化学治疗剂组合使用时以协同方式减少不同肿瘤细胞系的增殖。在如此治疗的癌细胞中也发现与凋亡和氧化胁迫相关的生化标志物的增加,以及细胞周期时相分布的变化。类似地,在单独用这种补充剂或与化学治疗剂组合治疗后,在不同肿瘤类型的动物模型中发现肿瘤大小减小。除减小肿瘤大小之外,发现含有鱼油和硒的补充剂(单独或与化学治疗药物组合)的使用减小肿瘤相关血管的数量和大小,表明具有抗血管生成作用。还发现某些化学治疗药物在单独使用时具有先前未记录的抗血管发生作用。除了减小肿瘤大小之外,发现这种补充剂(单独或与化学治疗剂组合)的使用减少肿瘤进展和转移发生的指标。类似地,在临床环境中,发现使用含有鱼油和硒的补充剂减少循环肿瘤细胞(circulating tumor cells)的数量。

[0011] 令人惊讶地,通过使用含有鱼油和硒的补充剂降低了癌症干细胞和球细胞(sphere cells)的干细胞特性。AXL信号传导也被改变。还发现这种补充剂使耐药性肿瘤细胞对其具有抗性的化学治疗剂敏感。发现用含有鱼油和硒的补充剂治疗以改变与癌细胞和免疫系统细胞中对癌细胞的免疫响应有关的生化标志物的表达,表明这种补充剂可补充或增强免疫疗法。

[0012] 还发现含有鱼油和硒的补充剂有效缓解与恶病质相关的消耗,并且与恶病质相关的消耗的有效缓解超过了其热量贡献。尽管同时进行化学疗法,但是脂肪、肌肉和各种器官组织的质量得到改善或维持。在使用这种补充剂时也增加了与恶病质影响的组织相关的生化标志物。在使用这种补充剂时,各种细胞因子(其中许多与炎症相关)的循环浓度也已被正常化。

[0013] 总体上,使用含有鱼油和硒的补充剂——特别是在与化学治疗药物的联合疗法中——提供抗肿瘤作用并减少与疾病相关的恶病质和炎症。这种效应的组合被发现在癌症患者的临床研究中改善存活率。

[0014] 从以下优选实施方式的详细描述,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。

附图说明

[0015] 图1:用易瑞沙(Iressa) (3 μ M-9 μ M) 与PBS或各种补充剂的组合治疗对A549肺肿瘤细胞增殖的作用的直方图。

[0016] 图2:用易瑞沙(0.125 μ M-1 μ M) 与PBS或各种补充剂的组合治疗对A549肺肿瘤细胞增殖的作用的直方图。

[0017] 图3:用易瑞沙(0.5 μ M-4 μ M) 与PBS或各种补充剂的组合治疗对A549肺肿瘤细胞增殖的作用的直方图。

[0018] 图4:用特罗凯(Tarceva) (5 μ M-20 μ M) 与PBS或各种补充剂的组合治疗对A549肺肿瘤细胞增殖的作用的直方图。

[0019] 图5:用特罗凯(0.625 μ M-5 μ M)与PBS或各种补充剂的组合治疗对A549肺肿瘤细胞增殖的作用的直方图。

[0020] 图6:用力比泰(Alimta)(0.125 μ M-1 μ M)与PBS或各种补充剂的组合治疗对A549肺肿瘤细胞增殖的作用的直方图。

[0021] 图7:用顺铂(0.125 μ g/mL-1 μ g/mL)与PBS或各种补充剂的组合治疗对A549肺肿瘤细胞增殖的作用的直方图。

[0022] 图8:用多西他赛(Docetaxel)(1.25 μ M-5 μ M)与PBS或各种补充剂的组合治疗对MDA-MB-231乳腺癌细胞增殖的作用的直方图。

[0023] 图9:用顺铂(1.25 μ g/mL-10 μ g/mL)与PBS或各种补充剂的组合治疗对MDA-MB-231乳腺癌细胞增殖的作用的直方图。

[0024] 图10:含有硒的补充剂、含有鱼油的补充剂以及含有鱼油和硒两者的营养补充剂对培养物中A549细胞增殖的作用。

[0025] 图11:显示含有鱼油和硒的营养补充剂和/或化学治疗剂对Ki-67表达的作用的图。

[0026] 图12:特罗凯和含有鱼油和硒研究的营养补充剂中利用的小鼠的初始体重。

[0027] 图13:显示用特罗凯、含有鱼油和硒的营养补充剂或这些的组合处理的小鼠中的肿瘤重量的直方图。

[0028] 图14:含有鱼油和硒的营养补充剂和/或化学治疗剂在植入有人乳腺癌细胞的小鼠中的作用的直方图。

[0029] 图15:通过含有鱼油和硒的营养补充剂和化学疗法的联合治疗对肿瘤体积和质量的作用的图形描述。

[0030] 图16:用易瑞沙以及易瑞沙与含有鱼油和硒的营养补充剂的组合治疗对通过注入肺癌细胞产生的肿瘤重量和重量分布的作用的直方图和照片。

[0031] 图17:在体内乳腺癌模型中,向泰克索(Taxol)和阿霉素(Adriamycin)治疗方案中添加含有鱼油和硒的营养补充剂对肿瘤重量的作用的图。

[0032] 图18:在体内乳腺癌模型中,向泰克索和阿霉素治疗方案中添加含有鱼油和硒的营养补充剂对肿瘤体积的作用的图。

[0033] 图19:用含有鱼油和硒的营养补充剂和阿瓦斯汀(Avastin)治疗对肿瘤体积的作用的直方图。

[0034] 图20:用含有鱼油和硒的营养补充剂和泰克索治疗对肿瘤体积的作用的直方图。

[0035] 图21:用含有鱼油和硒的营养补充剂和/或化学治疗剂治疗对肿瘤体积和肿瘤重量的作用的图。

[0036] 图22:现有技术营养补充剂和含有鱼油和硒的营养补充剂与化学疗法组合对肿瘤重量分布和体重增加的作用的照片和直方图。

[0037] 图23:用于评估用含有鱼油和硒的营养补充剂与泰克索或阿霉素的组合治疗的作用的典型测试方案的示意图。

[0038] 图24:显示未处理对照组小鼠中的肿瘤和相关血管的图。

[0039] 图25:显示用营养补充剂处理的小鼠的肿瘤和相关血管的照片,显示肿瘤的照片。

[0040] 图26:显示用泰克索处理的小鼠的肿瘤和相关血管的照片。

[0041] 图27:显示用泰克索和含有鱼油和硒的营养补充剂的组合处理的小鼠的肿瘤和相关血管的照片。

[0042] 图28:显示用泰克索或泰克索与含有鱼油和硒的营养补充剂的组合处理的小鼠的肿瘤和相关血管的对比照片。

[0043] 图29:显示用阿霉素处理的小鼠的肿瘤和相关血管的照片。

[0044] 图30:显示用阿霉素和含有鱼油和硒的营养补充剂的组合治疗的小鼠的肿瘤和相关血管的照片。

[0045] 图31:显示用阿霉素组合或阿霉素与含有鱼油和硒的营养补充剂的组合处理的小鼠的肿瘤和相关血管的对比照片。

[0046] 图32:显示在体内人类癌症模型中,含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗剂的组合对氧化胁迫(即HIF- α)和血管发生(即VEGF)标志物的肿瘤表达的作用的Western印迹图。包括肌动蛋白作为对照。

[0047] 图33:显示在体内人类癌症模型中,含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗剂的组合对血管发生(即CD31)和转移(即MMP-9)标志物的肿瘤表达的作用的Western印迹图。包括肌动蛋白作为对照。

[0048] 图34:用化学治疗剂(力比泰1 μ M或特罗凯5 μ M)和含有鱼油和硒的营养补充剂处理的A549肿瘤细胞的细胞周期时相分布。

[0049] 图35:显示在体内乳腺癌模型中,含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗剂的组合对各种凋亡标志物的肿瘤表达的作用的Western印迹图。包括肌动蛋白作为对照。

[0050] 图36:显示在体内乳腺癌模型中,含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗剂的组合对Bcl-2、p-Bcl-2和胱天蛋白酶3凋亡标志物的肿瘤表达的作用的Western印迹图。包括肌动蛋白作为对照。

[0051] 图37:显示在体内乳腺癌模型中,含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗剂的组合对胱天蛋白酶8凋亡标志物的肿瘤表达的作用的Western印迹图。包括肌动蛋白作为对照。

[0052] 图38:在体内乳腺癌模型中,含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗剂组合对细胞色素C的表达的作用的Western印迹图。包括肌动蛋白作为对照。

[0053] 图39:显示用含有鱼油和硒的补充剂处理的A549肺癌细胞的凋亡的细胞培养板的照片。

[0054] 图40:用含有鱼油和硒的补充剂处理的A549肺癌细胞的台盼蓝染色。

[0055] 图41:在体内乳腺癌模型中,含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗剂的组合对肿瘤MDA的血浆浓度的作用的直方图。

[0056] 图42:在体内乳腺癌模型中,含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗剂的组合对肿瘤MDA的浓度的作用的直方图。

[0057] 图43:用易瑞沙(0.625 μ M-5 μ M)与PBS或各种补充剂的组合治疗对A549肿瘤球(即干)细胞增殖的作用的直方图。

[0058] 图44:用特罗凯(1.25 μ M-10 μ M)与PBS或各种补充剂的组合治疗对A549肿瘤球(即干)细胞增殖的作用的直方图。

[0059] 图45:用多西他赛(1.25 μ M-5 μ M)与PBS或各种补充剂的组合治疗对MDA-MB-231肿

瘤球(即干)细胞增殖的作用的直方图。

[0060] 图46:用顺铂(1.25 μ g/mL-10 μ g/mL)与PBS或各种补充剂的组合治疗对MDA-MB-231肿瘤球(即干)细胞增殖的作用的直方图。

[0061] 图47:用化学治疗剂(力比泰1 μ M或特罗凯5 μ M)和含有鱼油和硒的营养补充剂处理的A549肿瘤球细胞(即干细胞)的细胞周期时相分布。

[0062] 图48:显示亲本和球(即干)A549细胞中各种蛋白质的表达的Western印迹图。

[0063] 图49:显示A549球(即干)细胞中干细胞相关蛋白的表达升高的Western印迹图。

[0064] 图50:显示用含有鱼油和硒的营养补充剂处理的A549球(即干)细胞中干细胞特性降低的Western印迹图。

[0065] 图51:显示用含有鱼油和硒的营养补充剂处理的A549球(即干)细胞中干细胞特性降低的Western印迹图。

[0066] 图52:显示用含有鱼油和硒的营养补充剂处理的A549球(即干)细胞中干细胞特性降低的Western印迹图。

[0067] 图53:显示在体内乳腺癌模型中,含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗剂的组合对癌症干细胞标志物的作用的Western印迹图。包括肌动蛋白作为对照。

[0068] 图54:用含有鱼油和硒的营养补充剂和/或易瑞沙处理的抗易瑞沙癌细胞的显微照片。

[0069] 图55:HCC827和抗性HCC827Gr细胞系对易瑞沙的响应的直方图。

[0070] 图56:显示HCC827和抗性HCC287Gr细胞之间各种标志物表达的差异的Western印迹图。抗性HCC287Gr细胞显示干细胞特性。

[0071] 图57:显示在与含有鱼油和硒的营养补充剂共治疗后,抗性HCC827Gr细胞对上至1 μ M易瑞沙的敏化作用的直方图。

[0072] 图58:显示在与含有鱼油和硒的营养补充剂共治疗后,抗性HCC827Gr细胞对上至4 μ M易瑞沙的敏化作用的直方图。

[0073] 图59:通过用易瑞沙与含有鱼油和硒的营养补充剂的组合治疗,抗性HCC827Gr细胞的菌落形成抑制。

[0074] 图60:显示通过用易瑞沙与含有鱼油和硒的营养补充剂的组合治疗,抗性HCC827Gr细胞的菌落形成抑制的直方图。

[0075] 图61:用易瑞沙、含有鱼油和硒的营养补充剂、和组合治疗对抗易瑞沙HCC827GR细胞治疗后细胞周期时相的频数分布。

[0076] 图62:在添加或不添加易瑞沙的情况下,在抗易瑞沙HCC827GR细胞中,用本发明构思的营养补充剂预处理后细胞周期时相的频数分布。

[0077] 图63:在用含有鱼油和硒的营养补充剂和/或化学治疗剂处理的动物模型中肺癌转移的频数。

[0078] 图64:显示用特罗凯、含有鱼油和硒的营养补充剂、以及特罗凯和补充剂的组合处理的被移植小鼠中,带有肿瘤标志物的细胞的免疫组织化学染色结果的显微照片。

[0079] 图65:在体内乳腺癌模型中,当与泰克索或阿霉素组合使用时,含有鱼油和硒的营养补充剂对转移性肿瘤负荷的作用的图。

[0080] 图66:用含有鱼油和硒的营养补充剂和/或多种化学治疗药物处理的荷瘤小鼠的

转移频数。

[0081] 图67:显示在体内乳腺癌模型中,含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗剂的组合对MMP-9的肿瘤表达的作用的Western印迹图。包括肌动蛋白作为对照。

[0082] 图68:用含有鱼油和硒的营养补充剂处理的临床患者中循环肿瘤细胞的减少。

[0083] 图69:显示在体内乳腺癌模型中,含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗剂的组合对免疫检查点蛋白(immune checkpoint proteins) CD279和CD274的作用的Western印迹图。包括肌动蛋白作为对照。

[0084] 图70:显示在体内人类癌症模型中,含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗剂的组合对原发性肿瘤PD-L1和T细胞PD-1的作用的Western印迹图。包括肌动蛋白作为对照。

[0085] 图71:显示在转移性体内人类癌症模型中,含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗剂的组合对转移性肿瘤(即乳腺)PD-L1和T细胞PD-1的作用的Western印迹图。包括肌动蛋白作为对照。

[0086] 图72:显示在体内人类癌症模型中,含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗剂的组合对肿瘤PD-L1和T细胞PD-1的作用的直方图和Western印迹图。包括肌动蛋白作为对照。

[0087] 图73:显示接受含有鱼油和硒的营养补充剂的乳腺癌患者的CD4/CD8比的图。

[0088] 图74:显示接受含有鱼油和硒的营养补充剂的淋巴瘤患者的CD4/CD8比的图。

[0089] 图75:显示用含有鱼油和硒的营养补充剂和/或化学治疗剂处理的肿瘤植入小鼠中脂肪组织和肌肉质量的相对损失的直方图。

[0090] 图76:肿瘤基因产物对能量消耗的影响的示意图。

[0091] 图77:显示用含有鱼油和硒的营养补充剂治疗以及这种补充剂和化学治疗剂共治疗对肿瘤中PTHrP和IL-6表达的作用的直方图。

[0092] 图78:用于表征在植入肿瘤小鼠中利用含有鱼油和硒的营养补充剂和化学治疗药物的联合治疗的作用的典型研究设计。

[0093] 图79:显示在用 ω -3脂肪酸处理的荷瘤小鼠中自噬相关蛋白表达的表达的Western印迹图、直方图和显微照片。

[0094] 图80:显示用含有鱼油和硒的营养补充剂和/或化学治疗剂处理的荷瘤小鼠中脂肪组织的滞留的直方图和显微照片。

[0095] 图81:显示用含有鱼油和硒的营养补充剂和/或化学治疗剂对荷瘤小鼠中白色和棕色脂肪组织滞留的作用的直方图。

[0096] 图82:显示用含有鱼油和硒的营养补充剂和/或化学治疗剂对荷瘤小鼠中腓肠肌群(gastrocnemius muscle mass)滞留的作用的直方图。

[0097] 图83:显示用含有鱼油和硒的营养补充剂和/或化学治疗剂对荷瘤小鼠中腓肠肌群和总骨骼肌群的滞留作用的直方图。

[0098] 图84:显示用含有鱼油和硒的营养补充剂和/或化学治疗剂治疗对荷瘤小鼠中的脑重量和肝重量的作用的直方图。

[0099] 图85:显示用含有鱼油和硒的营养补充剂和/或化学治疗剂对荷瘤小鼠中的心脏重量和脾重量的作用的直方图。

[0100] 图86:显示用含有鱼油和硒的营养补充剂和/或化学治疗剂治疗对荷瘤小鼠中的肺重量和无转移乳腺重量的作用的直方图。

[0101] 图87:显示在体内乳腺癌模型中,含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗剂的组合对肌肉线粒体和炎症(即IL6)标志物的作用的Western印迹图。包括GAPDH作为对照。

[0102] 图88:显示在体内人类癌症模型中,含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗剂的组合对复合物III和复合物IV线粒体复合蛋白的作用的Western印迹图。包括GAPDH作为对照。

[0103] 图89:在人类癌症动物模型中,IL-6、PTHrP、UCP-1、ATGL和HSL表达的rtPCR和Western印迹研究结果。

[0104] 图90:显示利用含有鱼油和硒的营养补充剂的患头颈癌患者中的恶病质减少的图。左图显示用含有鱼油和硒的营养补充剂(正方形)和通用补充剂(三角形)治疗的患者的平均体重变化。右图显示用含有鱼油和硒的营养补充剂(正方形)治疗的BMI小于或等于19的患者的平均体重变化、用含有鱼油和硒的营养补充剂(空心圆)治疗的BMI>19的患者的平均体重变化、用通用补充剂(三角形)治疗的BMI小于或等于19的患者的平均体重变化和用通用补充剂(实心圆)治疗的BMI大于19的患者的平均体重变化。

[0105] 图91:在体内人类癌症模型中,含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗剂的组合对食物摄入的作用的图。

[0106] 图92:在体内乳腺癌模型中,含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗剂的组合对VEGF血浆浓度的作用的图。

[0107] 图93:在体内乳腺癌模型中,含有鱼油和硒的营养补充剂与泰克索、阿霉素、或阿瓦斯汀剂的组合对VEGF血浆浓度的作用的直方图。

[0108] 图94:在体内乳腺癌模型中,含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗剂的组合对TNF- α 血浆浓度的作用的图。

[0109] 图95:在体内乳腺癌模型中,含有鱼油和硒的营养补充剂与泰克索、阿霉素或阿瓦斯汀剂的组合对TNF- α 和IL6的血浆浓度的作用的直方图。

[0110] 图96:在体内人类癌症模型中,含有鱼油和硒的营养补充剂单独以及与泰克索、阿霉素或阿瓦斯汀的组合对IL1- β 和IL-10的血浆浓度的作用的图。

[0111] 图97:在体内乳腺癌模型中,含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗剂的组合对IL1- β 的血浆浓度的作用的图。

[0112] 图98:在体内乳腺癌模型中,含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗剂的组合对IL6血浆浓度的作用的图。

[0113] 图99:在体内乳腺癌模型中,含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗剂的组合对IL2血浆浓度的作用的图。

[0114] 图100:在体内乳腺癌模型中,含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗剂的组合对IFN- γ 和IL-2血浆浓度的作用的直方图。

[0115] 图101:在体内乳腺癌模型中,含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗剂的组合对IL10血浆浓度的作用的图。

[0116] 图102:在体内乳腺癌模型中,含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗剂的组合对IFN- γ 血浆浓度的作用的图。

[0117] 图103:AXL信号传导和影响肿瘤进展的因子的示意图。

[0118] 图104:在HCC827和HCC827GR(抗易瑞沙)细胞中AXL和p-MET表达的Western印迹

图。

[0119] 图105:硒(营养素A)和鱼油(营养素B)对耐药(易瑞沙)HCC827GR细胞中AXL表达的组合作用的Western印迹图。提供GAPDH作为对照。

[0120] 图106:AXL蛋白表达途径的示意图,其为AXL表达的调控提供各个点。

[0121] 图107:耐药(易瑞沙)HCC827GR细胞和非抗性亲本HCC827细胞中HSP90和AXL表达的Western印迹图。提供GAPDH作为对照。

[0122] 图108:显示利用硒(营养素A)和鱼油(营养素B)的组的耐药(易瑞沙)肿瘤细胞中AXL和HSP90表达的减少的Western印迹图。

[0123] 图109:mTOR途径的示意图。

[0124] 图110:显示利用硒(营养素A)和鱼油(营养素B)的组的耐药(易瑞沙)肿瘤细胞中AXL、HSP90和p-mTOR表达的减少的Western印迹图。

[0125] 图111:显示在来自体内人类癌症模型的肿瘤细胞中,单独用含有鱼油和硒的营养补充剂以及与化学治疗化合物组合的治疗对热休克蛋白(HSP90)的作用的Western印迹图。

[0126] 图112:显示在来自体内人类癌症模型的肿瘤细胞中,单独用含有鱼油和硒的营养补充剂以及与化学治疗化合物组合的治疗对p-AXL的作用的Western印迹图。

[0127] 图113:使用含有鱼油和硒的营养补充剂和通用的现有技术补充剂的患头颈癌患者的两年存活率的图。

具体实施方式

[0128] 以下描述包括在理解本发明中可能有用的信息。不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,或者明确或隐含引用的任何出版物均为现有技术。

[0129] 本发明主题提供了组合物和方法,其中营养补充剂(如包括鱼油、硒酵母形式的硒、铬、和某些植物来源的材料(NutraWell)的补充剂和/或包括硒和鱼油的补充剂)与化学疗法组合使用。化学治疗剂和补充剂的组合疗法在减小肿瘤大小和/或减少细胞增殖方面令人惊讶地提供了显著的协同效应。另外,减轻了放射疗法的副作用,并调节了肿瘤细胞中与凋亡相关的基因的表达。令人惊讶地,还发现本发明构思的补充剂增加了抗性癌细胞对化学治疗剂的敏感性。

[0130] 应理解,本公开的技术提供了多种有利的技术效果,包括增强用于癌症治疗的现有当前疗法方案的有效性,同时减少与这些方法相关的副作用,以及用于治疗对化学疗法具有抗性的癌症。

[0131] 以下讨论提供了本发明主题的多种示例性实施方式。尽管每个实施方式代表发明要素的单个组合,但本发明主题被认为包括所公开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,而第二实施方式包括要素B和D,那么即使没有明确地公开,本发明主题也被认为包括A、B、C或D的其它剩余组合。

[0132] 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达成分数量、性质(如浓度、反应条件等)的数字被理解为在一些情况下被术语“约”修饰。因此,在一些实施方式中,在书面描述和所附权利要求中提出的数字参数是近似值,其可根据特定实施方式试图获得的期望性质而变化。在一些实施方式中,应根据报道的显著数字的数量并通过应用普通的舍入技术来解释数字参数。尽管阐述本发明一些实施方式的广泛范围的数

值范围和参数是近似值,在具体实例中阐述的数值被尽可能精确地报道是可行的。本发明的一些实施方式中呈现的数值可含有必然由其各自的测试测量中发现的标准偏差引起的某些误差。

[0133] 虽然以下描述的一些发现是针对鱼油和硒来源的使用,但申请人注意到表1中提供的营养补充剂配方(即NutraWell)包括鱼油和硒。硒优选作为硒酵母或其组分(如由硒酵母制备的肽和/或氨基酸)提供。因此,在鱼油和硒酵母研究中发现的作用可扩展到这种营养补充剂的应用。已发现与常规疗法组合,NutraWell具有高的接受水平,并且具有意想不到的有益抗肿瘤活性。如下所示,当与一种或多种化学治疗剂组合使用时,这种营养补充剂还显示出惊人的有益作用。

[0134]

组分	最小值	最大值	单位
麦芽糖糊精	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
颗粒蜂蜜	1000	9000	mg
燕麦纤维	500	15000	mg
天然法式香草调味剂(Natural French Vanilla Flavor)	500	20000	mg
大豆蛋白	500	50000	mg
棕化粉状红糖(Brownulated Powdered Brown Sugar)	500	10000	mg
天然香草掩蔽剂(Natural Vanilla Masking Flavor)	500	5000	mg
卵磷脂	200	10000	mg
脱脂牛奶	50	5000	mg
大米蛋白粉	50	5000	mg
酪蛋白酸钙	50	2000	mg
油			
亚麻子油	100	7000	mg
菜籽油(Canola Oil)	100	7000	mg
琉璃苣油(Borage Oil)	100	7000	mg
橄榄油	100	7000	mg
鱼油	150	10,000	mg
纯柠檬油	100	1000	mg
纯橘油	50	1000	mg
混合生育酚	0.5	200	mg
维生素/矿物			
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
三元磷酸钙	100	2000	mg
抗坏血酸	50	3000	mg
氯化钾	50	2000	mg

[0135]

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 乙酸盐(Dry Vitamin E Acetate)	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	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
HCl 吡哆醇	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
氨基酸			
左旋肉碱	300	30000	mg
L-谷氨酰胺	500	60000	mg
L-精氨酸碱	500	30000	mg
硫磺酸	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
	细菌培养物			
	嗜酸乳杆菌(Lact. Acidophilus) (总计约 100 亿)	2	500	mg
	两歧双歧杆菌(Bifido Bifidium) (总计约 100 亿)	2	500	mg
	保加利亚乳杆菌(Lac. Bulgaricus) (总计约 100 亿)	2	500	mg
	长双歧杆菌(Bifido Longum) (总计约 100 亿)	2	500	mg
	嗜热链球菌(Strep. Thermophilus) (总计约 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
[0136]	胰酶 4X	0.5	100	mg
	乳糖酶	1	100	mg
	甜菜碱 HCl	3	100	mg
	植物产品			
	菠萝汁粉	2	500	mg
	番木瓜果粉	2	500	mg
	槲皮素	30	3000	mg
	EGCG	25	600	mg
	OPC	15	500	mg
	花色素苷	15	5000	mg
	鞣花酸	10	300	mg
	虾青素	2	90	mg
	墨角藻聚糖	20	1500	mg
	蘑菇制剂			
	冬虫夏草属(cordyceps)	5	6000	mg
	灵芝(Ganoderma Lucidum)	15	10000	mg
	香菇(Shiitake)	40	15000	mg
	舞茸(Maitake)	30	15000	mg
[0137]	云芝(Turkey Tail)	30	15000	mg

[0138] 表1

[0139] 表1中所示的组合物还包括除硒和鱼油外的还具有各种生理和生化作用(包括抗炎活性、降低血糖水平、降低胆固醇和抗肿瘤活性)的组分。在优选的实施方式中,营养补充剂包括表1中所示的至少三种组分。这种另外的组分提供高水平必需维生素、矿物和氨基酸的补充。当消耗时,其它组分(例如酶、卵磷脂)用于帮助消化和吸收组合物的组分。这些互补活性的组合提供了超过个体组分的简单加成作用的协同效应。应理解,表1中所示的组合物还包括用于改善可口性和可接受性的某些调味剂(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)可提供风味和热量。发明人已发现,上述调味剂的组合有效地提供了有效量的营养补充剂的摄取的依从性。在一些实施方式中,可排除这种调味剂而不负面影响营养补充剂的有效性。

[0140] 表1中所示的组分可作为单一制剂(例如,丸剂、片剂、胶囊、粉剂、液体、悬浮液等)提供,或者可被分为不同的制剂(例如,丸剂、片剂、胶囊、粉剂、液体、悬浮液或其组合)。表1中所示的量是示例性的,并且代表提供给具有正常身材和其它正常健康状况的成年人的典型每日剂量。可调整这些数量以解决体重、性别、医疗状况等的差异。例如,体重在40公斤或以下的相对小的患者可从在所提供范围的下限或以下处提供的剂量中受益,然而体重在100公斤或以上的相对大的患者可能需要在注意范围的上限(或更多)处提供的剂量。在一些实施方式中,这种每日剂量可以全天分散为多个剂量。在一些这样的实施方式中,每个这种分散剂量的组成可以相同。在其它实施方式中,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。

[0141] 肿瘤细胞增殖

[0142] 令人惊讶地,发明人已发现用鱼油和硒酵母的组合对各种癌细胞的治疗对于细胞增殖具有直接影响,特别是当与癌症化学治疗剂组合使用时。用化学治疗剂和包括鱼油和硒肽的营养补充剂共同治疗肿瘤细胞的作用的实例可参见图1、图2、图3、图4、图5、图6、图7、图8、图9和图10。这些图显示了用化学治疗剂和鱼油补充剂、硒肽(selenium peptide)补充剂以及通过将鱼油和硒肽组合制成的补充剂治疗各种癌细胞系的作用。图1、图2和图3显示了用易瑞沙与PBS或各种补充剂的组合治疗对A549肺肿瘤细胞增殖的作用。如图所示,使用含有鱼油和硒的补充剂减少A549细胞的增殖,并且当与易瑞沙组合使用时,该组合在减少A549细胞增殖中还提供意外的协同效应。当这种营养补充剂与特罗凯组合使用以治疗A549癌细胞时,在图4和图5中看到类似的作用。含有鱼油和硒的营养补充剂与力比泰的组合对A549癌细胞增殖的作用显示于图6中,而这种营养补充剂与顺铂组合对A549癌细胞增殖的作用显示于图7中。在多种情况下,特别是在较低药物浓度下,含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗剂的组合的协同效应是显著的。

[0143] 发明人已惊讶地发现,化学治疗剂和鱼油/硒肽补充剂的共同治疗在无关的三阴性乳腺癌细胞系(unrelated triple-negative breast cancer cell line)(MDA-MB-231)中也提供类似的作用。这些细胞与多西他赛和鱼油/硒补充剂共同治疗72小时对细胞增殖的典型结果显示于图8中。尽管此化学治疗剂与含有鱼油和硒的补充剂均提供减少增殖,但当将其组合使用时,注意到令人惊讶的协同效应。当用含有鱼油、硒的营养补充剂、鱼油和硒的组合以及顺铂处理MDA-MB-231细胞时,看到类似的作用。令人惊讶地,当与顺铂组合使用时,对于含硒的补充剂和硒/鱼油补充剂都发现了在减少增殖方面的协同效应。

[0144] 在体内研究中还鉴定了包括鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗药物的组合的作用,其中通过免疫细胞化学法 (immunocytochemistry) 在鼠模型的乳腺肿瘤中鉴定了Ki-61增殖指数标志物。这种研究的典型结果显示于图11中,其中Ki-61细胞用箭头表示。如图所示,用鱼油/硒补充剂(“N”)治疗降低了阳性细胞的数目(表明增殖指数的降低),与用化学治疗剂(泰克索、阿霉素)治疗一样。用营养补充剂和化学治疗剂的组合治疗提供甚至更大的增殖指数降低。

[0145] 总体上,发明人已发现,包括鱼油和硒的营养补充剂(例如,以硒酵母或酵母产物的形式)可以减少多种肿瘤细胞类型的增殖,并且在与多种不同化学治疗剂组合使用时可提供协同效应。在细胞培养物和体内人类疾病动物模型中都可以看到此作用。

[0146] 肿瘤大小

[0147] 发明人还已发现,包括鱼油和硒的营养补充剂减小体内人类疾病动物模型中的肿瘤大小,并且令人惊讶地,当与化学治疗药物组合使用时,可以协同方式减小体内人类疾病动物模型中的肿瘤大小。图8A提供了这种营养补充剂(“Nutrawell”)和化学治疗药物特罗凯的典型测试方案的实例。可用于计算肿瘤重量的在这些研究中使用的小鼠的初始体重显示于图12中。肿瘤重量(上图)和肿瘤重量分布(下图)的研究结果示显示于图13中。如图所示,在肿瘤植入后28天,处死小鼠并表征肿瘤。未处理的小鼠均发展成大于5g肿瘤。用特罗凯或NutraWell处理的小鼠仍显示出大量的这种大肿瘤。然而,用特罗凯和鱼油/硒营养补充剂组合处理的小鼠未显示任何大的肿瘤,并且有大比例的小(<3g)肿瘤。

[0148] 在植入有源自人类乳腺癌的细胞的并用鱼油/硒营养补充剂与通常用于治疗乳腺癌的化学治疗药物(例如,泰克索、阿霉素、阿瓦斯汀等)的组合处理的小鼠中发现了类似的结果。图14显示在对照(未处理)小鼠、用鱼油/硒营养补充剂处理的小鼠以及在与和与不与鱼油/硒营养补充剂共同处理的情况下经各种化学治疗剂处理的小鼠上进行的示例性治疗方案(上图)和肿瘤体积研究结果(下图)。在两个不同的时间段记录肿瘤体积,并显示对生长的作用。未处理的(对照)小鼠在4天内显示约120mm³的肿瘤体积增加。如图所示,相对于单独使用这些化学治疗剂,与鱼油/硒营养补充剂组合使用的化学治疗药物泰克索、阿霉素和/或阿瓦斯汀显示出显著降低的肿瘤生长速率。还应理解,鱼油/硒营养补充剂单独提供肿瘤生长的减少。

[0149] 令人惊讶地,发现与鱼油/硒营养补充剂联合治疗以协同方式增强化学治疗试剂的作用。如图15所示,通过用力比泰和顺铂治疗没有显著影响植入小鼠中的肿瘤体积(上图),表明对此组合化学疗法具有抗性。在此化学治疗方案中添加特罗凯仅在减小肿瘤体积方面提供了略微改善。然而,当将力比泰和顺铂与鱼油/硒营养剂组合使用时,观察到大量减少,而将NutraWell与所有三种化学治疗药物组合使用时,则看到更大的减少。针对肿瘤重量观察到类似的结果(下图)。

[0150] 用含有鱼油和硒的营养补充剂以及化学治疗药物易瑞沙共同治疗对植入有肺癌细胞的小鼠中的肿瘤重量的作用可参见图16。如图所示,与未处理的对照小鼠相比,单独用易瑞沙治疗仅能使肿瘤重量略有减少(左上图),而用易瑞沙和含有鱼油和硒的营养补充剂共同治疗可使肿瘤重量减少50%以上。重量分布(右上图)还显示,在用化学治疗剂治疗后,肿瘤的重量有所减轻(大多数小鼠的肿瘤>6克),而与含有鱼油和硒的营养补充剂共同治疗导致所有肿瘤的重量小于6克,许多肿瘤的重量小于3克。从对照组和处理组中的小鼠获得

的肿瘤的典型实例的照片显示在图16的下部。

[0151] 利用表2中所示的方案进行进一步的体内研究。

[0152]

组 1 , n=10, 肿瘤阳性对照
组 2 , n=10, 总营养配方
组 3 , n=10, 泰克索 [®] (紫杉醇) (ip,5mg/kg 每 4 天)
组 4 , n=10, 泰克索 [®] (ip,5mg/kg 每 4 天)+ 总营养配方
组 5 , n=10, 阿霉素 [®] (多柔比星) (iv, 2mg/kg 每 4 天)
组 6 , n=10, 阿霉素 [®] (iv, 2mg/kg 每 4 天)+ 总营养配方

[0153] 表2

[0154] 图17和图18(分别)显示了表2中所描述的植入有乳腺癌细胞的小鼠的测试组中肿瘤重量和体积的典型数据。如图所示,相对于单独使用这些化学治疗剂,向利用泰克索或阿霉素的治疗方案中添加含有鱼油和硒的营养补充剂导致肿瘤重量显著降低。进行类似的研究以确定本发明构思的营养补充剂与阿瓦斯汀或泰克索的组合的作用。向植入有肿瘤细胞的小鼠提供含有鱼油和硒的营养补充剂(0.4g,每天两次),其中腹膜内提供阿瓦斯汀或紫杉醇(5mg/kg,每4天)。在用含有鱼油和硒的营养补充剂和阿瓦斯汀处理的小鼠中对肿瘤体积的作用可参见图19。在用含有鱼油和硒的营养补充剂和泰克索处理的小鼠中对肿瘤体积的作用可参见图20。在通过营养补充剂与阿瓦斯汀和泰克索共同治疗的情况下看到肿瘤体积的减小得到改善。显示用含有鱼油和硒的营养补充剂与泰克索、阿霉素或阿瓦斯汀共同治疗对肿瘤体积(左图)和肿瘤重量(右图)的作用的类似研究的结果显示于图21中。

[0155] 为确定体内研究的结果是否受接受营养补充的动物对象的总体营养状况影响,发明人比较了含有鱼油和硒的营养补充剂(“TNuF”)与同等热量的补充剂和商业营养补充剂(Prosure[™],“P”)共同处理的结果。如图22(上图)所示,相对于仅用化学治疗药物的治疗,用化学治疗药物和Prosure[™]共同治疗导致表观肿瘤大小略有减小。然而,相对于仅用化学治疗药物治疗的对象,用含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗药物共同治疗使肿瘤的表观大小减小约50%。在肿瘤重量分布中可看到类似的作用(参见20180449S4,下图)。显然,减小肿瘤大小和重量的改善不仅是因为营养状况改善。

[0156] 新血管形成/血管发生的抑制

[0157] 在多种情况下,实体瘤的生长由血管发生和/或新血管形成促进,导致肿瘤团块内血管的发展。发明人还发现,在单独或与化学治疗剂组合使用时,含有鱼油和硒的营养补充剂均可减少肿瘤中的血管发生/新血管形成。令人惊讶地,发明人还注意到单独降低一些化学治疗剂的血管发生/新血管形成作用。发明人认为,这种新血管形成的减少在肿瘤中引

起氧化胁迫和/或使如此治疗的肿瘤更易受氧化胁迫的影响。

[0158] 发明人已发现,在体内乳腺癌鼠模型中,使用含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗剂(例如泰克索、阿霉素、阿瓦斯汀)的组合对肿瘤的血管形成具有直接和可观察的作用。在示例性研究中,以图23所描述的方案处理小鼠。图24提供了未处理的对照组中小鼠的典型肿瘤和相关血管的照片。可以看到与肿瘤相关的若干相对大直径的血管。图25提供了在仅用营养补充剂处理的组中取自小鼠的类似照片。相对于未处理的对照组,与肿瘤相关的血管数量及其直径均减小。图26和图27分别提供了取自用泰克索处理和用泰克索与含有鱼油和硒的营养补充剂(“N”)的组合处理的组中的小鼠的典型肿瘤的照片。令人惊讶地,发现单独用泰克索治疗减少了与肿瘤相关的血管的数目,并且还减小了其直径,这不是用此化学治疗药物治疗的已知作用(参见图26)。如图27所示,用泰克索和含有鱼油和硒的营养补充剂共同治疗导致肿瘤相关血管的显著减少。在图28所示的研究中发现了类似的结果。

[0159] 图29和图30提供了在类似研究中分别取自用阿霉素和用阿霉素与含鱼油和硒的营养剂的组合处理的组中的小鼠的典型肿瘤的照片。对于含有鱼油和硒的营养补充剂与阿霉素或阿瓦斯汀的组合作用,在单独但类似研究中发现了类似的结果,如图31所示。在所有情况下,相对于没有营养补充剂的类似治疗,用含有鱼油和硒的营养补充剂的治疗显著减少肿瘤的血管形成并显著减小肿瘤体积。显然,营养补充剂可减少实体瘤的血管形成,并且可增强用常规化学治疗剂治疗中看到的实体瘤的血管形成的减少。

[0160] 还可在分子水平上观察到用含有鱼油和硒的补充剂以及化学治疗剂治疗对血管发生/新血管形成的作用。VEGF和CD31是通过HIF- α 途径与肿瘤血管发生相关的标志物。图32显示了用含有鱼油和硒的营养补充剂(“N”)、泰克索、阿霉素、阿瓦斯汀和营养补充剂与这些化学治疗剂的组合处理的肿瘤中HIF- α 和VEGF的Western印迹图。如图所示,营养补充剂降低了HIF- α 水平,其中化学治疗剂具有相对小的作用。对于含有鱼油和硒的营养补充剂以及少量的泰克索和阿霉素看到VEGF的类似减少。在所有情况下,营养补充剂和化学治疗剂的组合均提供HIF- α 和VEGF的显著减少。其中表征CD31的类似研究的结果显示在图33中。含有鱼油和硒的营养补充剂提供CD31的显著减少,在用阿霉素和阿瓦斯汀治疗后看到类似的减少。营养补充剂与化学治疗剂联合治疗后,发现CD31甚至更大减少。

[0161] 对细胞周期时相分布的作用

[0162] 发明人已发现含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗药物的联合治疗对体内和体外癌细胞的细胞周期时相分布也有深远的作用。如图34所示,当用含有鱼油和硒的补充剂处理时,A549肺癌细胞显示出向亚G1略微转移,而当用力比泰处理时,向亚G1中度转移。营养补充剂和力比泰的共同治疗显示比向亚G1的相加转移更大,表明具有协同效应。相对于未处理的对照细胞,单独用特罗凯治疗显示几乎对细胞周期分布没有影响,然而当与含有鱼油和硒的营养补充剂组合使用时,发现向亚G1的显著转移。利用化学治疗药物特罗凯的类似研究的结果显示于8图3B中。结果总结在表3中。

[0163]

	亚 G1	G0/G1	S	G2/M
对照	1.2%	62.1%	17.6%	20.3%
硒 300ng/ml + 鱼油 75 μM	19.6%	60.6%	19.2%	20.3%
力比泰 1μM	45%	58.4%	36.3%	5.3%
力比泰 1μM+鱼油 75μM 硒 300ng/ml	60.1%	80.9%	17.2%	1.8%
特罗凯 5μM	5.9%	70.9%	14.2%	14.8%
特罗凯 5μM+鱼油 75μM 硒 300ng/ml	9.6%	77.5%	11%	11.6%

[0164] 鱼油的浓度代表其DHA含量。

[0165] 每克鱼油含有220mg DHA和330mg EPA

[0166] 表3

[0167] 显然,用含有鱼油和硒的补充剂与各种化学治疗药物的组合治疗可使癌细胞的细胞周期分布朝向亚G1时相转移。应理解,亚G1时相与凋亡相关;因此,利用化学治疗药物和含有鱼油和硒的补充剂的组合疗法在诱导癌细胞的凋亡和/或凋亡事件方面可以是有用的。

[0168] 凋亡/自噬

[0169] 如上所述,细胞周期时相分布的研究表明,含有鱼油和硒的补充剂与化学治疗药物组合的联合治疗可诱导癌细胞凋亡和/或凋亡事件。发明人已发现,在体内乳腺癌模型中,含有鱼油和硒的营养补充剂有效增强肿瘤凋亡。例如,图35显示使用这种营养补充剂、化学治疗剂泰克索、阿瓦斯汀或阿霉素,以及这些化学治疗剂与营养补充剂的组合对注射有乳腺癌细胞的小鼠晚期肿瘤中凋亡标志物(特别是VEGF、p53和HIF-α)表达的作用。如图所示,营养补充剂的使用增加了p53的表达,同时降低了VEGF和HIF-α的表达。当营养补充剂单独或与化学治疗剂组合使用时,看到这种作用,并且组合提供增强的作用。

[0170] 针对Bcl-2、p-Bcl-2和胱天蛋白酶3的类似研究的结果显示在图36中;针对胱天蛋白酶8的类似研究的结果显示在图37中。如图所示,当单独使用和与化学治疗药物组合使用时,使用含有鱼油和硒的营养补充剂降低Bcl-2的表达,并增加p-Bcl-2和胱天蛋白酶3的表达。当单独使用和与化学治疗药物组合使用时,胱天蛋白酶8的表达降低。图38显示了用含有鱼油和硒的营养补充剂(“N”)、泰克索、阿霉素、阿瓦斯汀治疗以及组合治疗对细胞色素C的作用。如图所示,用补充剂治疗可使细胞色素C略有增加,而用泰克索或用阿霉素治疗则几乎未发现增加。在若干情况下,当含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗药物组合使用时,这些作用被协同地增强。

[0171] 除凋亡的生化标志物外,可直接观察到凋亡作用。例如,如图39所示,培养物中

A549细胞的生长通过暴露于含有硒的补充剂或含有鱼油的补充剂中而被轻微地影响,但被含有鱼油和硒的补充剂而显著影响。类似地,当暴露于含有硒的补充剂或含有鱼油的补充剂时,培养物中A549细胞的台盼蓝染色仅显示出轻微的诱导细胞死亡的作用,但在暴露于含有鱼油和硒的补充剂时,则显示细胞死亡显著增加,如图40所示。尽管硒或鱼油显示出一些作用,但这些组合使用时的作用明显大于加和的效果(即协同效应)。

[0172] 氧化胁迫/低氧

[0173] 发明人已发现,在体内乳腺癌模型中,本发明构思的营养补充剂有效增强肿瘤的氧化胁迫(例如,抑制肿瘤对氧化胁迫的响应能力)。例如,图41显示了使用含有鱼油和硒的营养补充剂、化学治疗剂泰克索或阿霉素以及这些化学治疗剂与营养补充剂的组合对注射乳腺癌细胞的小鼠的肿瘤中丙二醛(MDA)水平的作用。如图所示,营养补充剂(单独或与化学治疗药物组合)的使用有效增加MDA的相对浓度,表明肿瘤中氧化胁迫的增强。在阿瓦斯汀中看到类似的作用(参见图42)。还发现了协同效应(例如,当营养补充剂与阿霉素组合使用时)。这与针对HIF- α (作为低氧标志物)所发现的结果一致,如图32所示。应理解,这种作用与上述和图24和25所示的新血管形成的减少相辅相成。

[0174] 球/干细胞特性

[0175] 发明人还已发现,含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗药物组合可有效降低癌细胞的干细胞特性。显示这种特性的癌细胞的发展被认为与转移和化学治疗药物的耐药性的发展有关。应理解,在细胞培养物中形成的球细胞被认为在体内至少部分复制了癌症干细胞的发展。

[0176] 如图43所示,A549球细胞对用易瑞沙的治疗相对抗性,但在含有鱼油和硒的补充剂的存在下,显示增殖降低。当易瑞沙和补充剂组合使用时,作用增强,并且可以是协同的(例如,在较高的易瑞沙浓度下)。A549肺癌球细胞类似地对特罗凯具有抗性,当用特罗凯(例如,以10 μ M)和含有鱼油和硒的补充剂的组合处理细胞时,观察到增殖的协同减少(参见图44)。

[0177] 在MDA-MB-231乳腺癌球细胞中观察到类似的作用。如图45所示,当暴露于含有鱼油和硒的补充剂时,这些细胞显示出小的增殖下降,并且对多西他赛显示中度敏感性,而当将多西他赛和补充剂组合使用时,发现导致增殖大幅降低的协同效应。MDA-MB-231乳腺癌球细胞对顺铂和含有鱼油和硒的补充剂两者均具有相对抗性,然而当将顺铂和这种补充剂组合使用时,发现增殖大幅降低(参见图46)。

[0178] 顺铂、硒、鱼油、硒和鱼油的组合以及顺铂与组合补充剂对细胞周期时相分布的作用显示于图3C中。如图所示,单独的硒和鱼油提供朝向亚-G1的非常较小转移,而硒和鱼油组合提供相对大的转移。单独的顺铂提供朝向亚-G1的较小转移,当与含有鱼油和硒的补充剂组合使用时,这种转移增强。结果列于表4中。

	亚 G1	G0/G1	S	G2/M
对照	5.2%	67.4%	9.8%	22.8%
硒 500ng/ml	12.3%	60.3%	13.9%	25.7%
鱼油 75 μ M	13.6%	66.3%	14.3%	19.4%
鱼油 75 μ M 硒 500ng/ml	39.1%	57.9%	28.9%	13.1%
顺铂 5 μ g/ml	11.7%	48.5%	45.4%	6.1%
顺铂 5 μ g/ml+鱼油 75 μ M 硒 500ng/ml	14.2%	30.9%	52.7%	16.4%

[0180] 鱼油的浓度代表其DHA含量。

[0181] 每克鱼油含有220mg DHA和330mg EPA

[0182] 表4

[0183] 对于用力比泰、特罗凯和这些化学治疗剂与含有鱼油和硒的补充剂的组合处理的A549肺癌球细胞发现类似的结果,如图47所示。这些研究的结果总结在表5中。

	亚 G1	G0/G1	S	G2/M
力比泰 1 μ M	20.9%	62.4%	30.4%	7.2%
力比泰 1 μ M+鱼油 75 μ M 硒 300ng/ml	28.9%	50.1%	40.4%	9.6%
特罗凯 5 μ M	42.8%	58.3%	32.7%	8.9%
特罗凯 5 μ M+鱼油 75 μ M 硒 300ng/ml	51.9%	50.7%	41.2%	8.1%

[0185] 表5

[0186] 应理解,亚-G1与凋亡相关。因此,发明人认为,即使当这种细胞对化学治疗剂具有抗性时,使用含有鱼油和硒的补充剂与化学治疗剂组合的组合可有效诱导癌症球或干细胞的凋亡。

[0187] 发明人还已发现,将含有鱼油和硒的补充剂与化学治疗剂组合使用可改变与癌症球或干细胞相关的生化标志物的表达,使其符合与非干性癌细胞相关的水平。如图48所示,在亲本A549肺癌细胞和源自同一细胞系的球细胞之间,各种生化标志物(特别是CD133、C-myc、IL-6和CD44)的表达不同。图49显示相对于亲本A549细胞,在这种A549球细胞中与干细胞相关(即与“干性”相关)的标志物(特别是E-钙粘素(上皮标志物)和波形蛋白(间充质标志物))的表达水平。

[0188] 如图50所示,使用含有鱼油和硒的补充剂改变了A549球细胞中各种生化标志物

(特别是p-AMPK α 、p-mTOR和波形蛋白)的水平。应理解,p-mTOR和波形蛋白在A549球细胞中升高,并且在暴露于含有鱼油和硒的补充剂后降低至与亲本A549细胞类似的水平,表明干细胞特性降低。对A549球细胞进行的类似研究的结果显示于图51中,显示暴露于含有鱼油和硒的补充剂后LC3-I和LC3II增加。类似的研究显示GRP78、N-钙粘素和 β -联蛋白减少(参见图52)。

[0189] 尽管以上研究聚焦在A549球细胞上,但从人类乳腺癌动物模型的体内研究中获得了类似的结果。图53显示了表征用含有鱼油和硒的营养补充剂(“N”)、泰克索、阿霉素、阿瓦斯汀以及这些化学治疗剂与营养补充剂的组合处理的动物肿瘤中CD29和CD24表达的研究结果。如图所示,用含有鱼油和硒的营养补充剂治疗产生CD29表达的适度降低,而用化学治疗药物治疗具有非常小的作用。然而,发现组合疗法强烈降低CD29水平,表明这种组合在降低体内肿瘤干细胞特性中提供协同效应。CD24的表达对含有鱼油和硒的营养补充剂的治疗更敏感,然而与化学治疗剂(特别是阿瓦斯汀)组合使用时,降低CD24水平的协同效应是明显的。

[0190] 总体上,发明人已发现使用包括鱼油和硒的营养补充剂可降低癌细胞中的干细胞特性和/或“干性”,并且当与化学治疗药物组合使用时可以协同方式降低癌细胞中的干细胞特性和/或“干性”。

[0191] 耐药性的逆转

[0192] 如上所述,癌细胞中干细胞特性(例如“干性”)的发展已与耐药性的发展相关。令人惊讶地,发明人已发现包括鱼油和硒的营养补充剂有效地使耐药性癌细胞对已证明其具有抗性的化学治疗药物敏感。例如,HCC827Gr细胞是已对化学治疗剂(如易瑞沙)发展抗性的源自人类肺癌的细胞。在存在和不存在硒+鱼油补充剂的情况下,将培养物中的这种细胞暴露于易瑞沙的结果显示于图54中。如图54所示,暴露于易瑞沙不显著减少存活的抗性HCC827Gr细胞的数量,然而当易瑞沙与硒+鱼油补充剂组合使用时,发现存活细胞的数量显著减少。

[0193] 当表征细胞增殖时,也发现了这种敏化作用。如图55所示,亲本HCC827肺癌细胞系(左图)对易瑞沙敏感,在0.125 μ M易瑞沙时增殖减少超过80%。相比之下,即使在1 μ M易瑞沙的存在下,耐药性HCC827Gr肺癌细胞(右图)继续以对照值的近80%增殖。药物敏感性亲本细胞系和耐药细胞系之间的差异在若干生化标志物的表达中也明显。如图56所示,在易感的亲本HCC827细胞和抗性HCC287Gr细胞之间,各种干细胞、代谢和上皮-间充质转化(EMT)基因的基因表达差异(显示为mRNA)是明显的。

[0194] 图57和图58显示用易瑞沙和硒、鱼油或含硒和鱼油的补充剂共同治疗抗性HCC827Gr细胞的作用。如图所示,在不存在补充剂下,易瑞沙最多仅产生20%的细胞增殖减少。用含有鱼油和硒的补充剂治疗导致增殖的适度减少(约50%)。然而,用含有硒和鱼油的补充剂治疗将细胞增殖减少至与敏感性HCC827亲本细胞系所见水平类似的水平(即未处理对照的大约20%)。显然,使用含有鱼油和硒的补充剂有效地使耐药性癌细胞对化学治疗药物(包括已证明其具有抗性的药物)敏化。

[0195] 如图59和图60所示,在用包括硒和鱼油的补充剂治疗后发现关于减少菌落形成的类似敏化作用。在0.5 μ M易瑞沙的存在下,发现HCC827Gr细胞的显著菌落形成,但在用硒和鱼油的组合处理的细胞中大大减少菌落形成。易瑞沙(其不阻止抗性HCC827Gr细胞的菌落

形成的增加)和硒+鱼油补充剂之间在抑制这些抗性癌细胞的菌落形成中的协同效应是明显的,因为菌落形成减少到单独用硒+鱼油补充剂处理的细胞以下。

[0196] 发明人还发现,用鱼油和硒酵母治疗这种抗性癌细胞改变这些细胞的细胞周期时相分布,如图61所示。数值结果总结在表6中。如图所示,单独用易瑞沙治疗对抗性HCC827GR细胞的细胞周期时相分布几乎没有影响。然而,用鱼油和硒酵母的组合处理这种细胞使细胞周期分布强烈地朝向S和亚G1时相转移。在利用易瑞沙和营养补充剂的共同治疗中看到类似的结果,亚G1中细胞的百分比显著增加,而G2/M时相中的细胞随之减少。这表明,含有鱼油和硒酵母的营养补充剂对这种抗化学疗法细胞的细胞周期分布具有意外的协同效应。

	亚 G1	G0/G1	S	G2/M
对照	1.5%	72.45%	5.49%	22.05%
硒+鱼油	24.5%	62.6%	20.5%	16.9%
易瑞沙 1 μ M	1.51%	76.1%	4.9%	18.9%
易瑞沙 1 μ M +硒+鱼油	32.3%	68.4%	20.9%	10.7%

[0197] 表6

[0198] 发明人已令人惊讶地发现,用含有鱼油和硒酵母的营养补充剂对抗化学疗法细胞(如HCC827GR)的预处理可具有使这些抗性细胞对随后暴露于已证明其具有抗性的化学治疗剂敏感的作用。X图4显示在将细胞暴露于易瑞沙之前,用含有鱼油和硒的营养补充剂预处理抗易瑞沙HCC827GR细胞72小时的结果。如图所示,相对于用PBS预处理的细胞,这种预处理的细胞显示出细胞增殖的显著减少。

[0199] 如图62所示,用含有鱼油和硒酵母的营养补充剂进行的这种预处理相对于未处理的细胞也影响细胞周期时相分布。这种研究的数值结果总结于表7中。

[0200] 用硒+鱼油预处理72h

72h-预处理		亚 G1	G0/G1	S	G2/M
无	对照	3.99%	55.7%	16.6%	27.7%
无	易瑞沙 1 μ M	6.95%	56.5%	16.2%	27.3%
硒+鱼油	对照	26.5%	46.2%	28.6%	25.2%
硒+鱼油	易瑞沙 1 μ M	40.4%	47.3%	29.2%	23.5%

[0201]

[0203] 表7

[0204] 如图所示,用含有鱼油和硒酵母的营养补充剂进行的预处理使这些抗易瑞沙细胞的细胞周期时相分布朝向显著较高比例的亚G1和S时相细胞改变。将易瑞沙应用于这种预处理细胞提供仍然较高百分比的处于亚-G1时相的细胞。应理解,亚G1时相与凋亡相关。

[0205] 进展/转移的减少

[0206] 发明人已发现,含有鱼油和硒的补充剂可有效地减少肿瘤转移和/或进展,特别是当与化学治疗剂组合使用时。例如,发明人已发现,将含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗剂组合使用可减少从原发性肿瘤部位的转移。如图63所示,未处理的小鼠显示肿瘤细胞从肺癌细胞的植入部位广泛转移。转移部位在图63的上图中由箭头指示,而下图中列出了发现。这通过用特罗凯(“TT”)或含有鱼油和硒的补充剂(“TN”)治疗而降低至一定程度,然而使用两者的组合(“TTN”),淋巴结转移的程度最明显。不希望受理论的束缚,发明人认为这可由于通过含有鱼油和硒的补充剂和/或通过降低有利于转移的干细胞特性使癌症干细胞对特罗凯的作用敏化。在通过免疫组织化学鉴定为表达EGFR和VEGF的细胞数量减少方面,也可在微观水平上观察到这种转移的降低,这是植入的肿瘤细胞的特性。如图64所示,在取自用含有鱼油和硒的补充剂和化学治疗剂处理的小鼠的肺组织切片中鉴定出的这种细胞的数量显著减少。在减少植入乳腺癌细胞的试验动物的乳腺中的转移性肿瘤负荷方面,使用含有鱼油和硒的营养补充剂观察到类似的结果,如图65所示。如图所示,使用含有鱼油和硒的营养补充剂(N)或泰克索提供乳腺肿瘤的负荷的适度减少,而将泰克索和补充剂组合使用时,则发现显著减少。发现阿霉素在减少转移性肿瘤负荷中比泰克索更有效,然而与含有鱼油和硒的营养补充剂联合治疗提供甚至较大的转移减少。

[0207] 当将含有鱼油和硒的营养补充剂与多种化学治疗药物疗法组合使用时,也发现转移减少。相对于单独使用化学治疗药物,含有鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗药物联合治疗也可减少转移的发生。如图66所示,在所有未接受治疗的荷瘤小鼠中发生肺转移,其中40%这种小鼠发生肝转移。这在接受化学疗法与多种药物(AC=阿霉素/顺铂,Tarc=特罗凯)组合的荷瘤小鼠中减少,然而80%的这种小鼠仍发展了肺转移。然而,相对于未治疗的对照小鼠,与含有鱼油和硒的营养补充剂(“Nutra”)联合治疗使肺转移发生降低40%。

[0208] 除了观察到转移性肿瘤和肿瘤细胞的减少外,在用含有鱼油和硒的营养补充剂治疗后,还发现与肿瘤转移和进展相关的生化标志物减少,其通过与化学治疗剂联合治疗而增强。如图67所示,使用营养补充剂显著降低MMP-9(与乳腺癌细胞中肿瘤进展相关的肿瘤相关蛋白)的表达。当与化学治疗剂(例如泰克索(“tax”)、阿霉素(“adyri”)、阿瓦斯汀)组合使用时尤其如此。MMP-9的丧失与肿瘤恶性程度的降低相关。

[0209] 令人惊讶地,发明人还已发现使用含有鱼油和硒的营养补充剂可减少人类患者中循环癌细胞的数量。来自用含有鱼油和硒的营养补充剂治疗16周的患者数据显示于图68中。上图显示了第一周的结果,其中循环肿瘤细胞“CTC”计数为187。下图显示了16周的结果,其中CTC计数为9(基本上本底)。发明人认为用含有鱼油和硒的营养补充剂进行治疗可提供循环肿瘤细胞的显著减少,例如将表观CTC计数减少至基本本底或正常水平(或更低),进而减少转移的机会和/或程度。发明人认为,可通过与一种或多种化学治疗剂联合治疗来增强这种作用。

[0210] 免疫检查点(Immune Checkpoint)/免疫疗法

[0211] 尽管化学治疗剂长期以来一直用于治疗癌症,但最近已探索免疫学方法。通常,这些方法涉及免疫检查点分子的调节,提供免疫系统组分的活化和/或降低对肿瘤细胞的免疫响应的组分的抑制。令人惊讶地,发明人已发现含有鱼油和硒的营养补充剂可改变这种免疫检查点分子的表达。例如,发明人已发现含有鱼油和硒的营养补充剂有效减少免疫检查点蛋白(例如,CD279、CD274),并且在与常规化学治疗药物(例如泰克索(“tax”)、阿霉素(“adyri”)、阿瓦斯汀)组合使用时也能够有效减少免疫检查点蛋白,如图69所示。

[0212] 针对肺癌细胞(图70)和乳腺癌(图71)显示了在单独用含有鱼油和硒的营养补充剂或用含有鱼油和硒的营养补充剂与各种化学治疗剂(泰克索、阿霉素、阿瓦斯汀)的组合处理的动物模型中肿瘤细胞中的PD-L1和T细胞中的PD-1的调节。如图所示,肿瘤相关PD-L1通过用营养补充剂和每种化学治疗剂治疗降低至一定程度,但通过其组合使用而显著降低(表明协同效应)。还可通过用含有鱼油和硒的补充剂治疗来调节相同动物的T细胞中的PD-1表达,其中作用通过与化学治疗剂联合治疗而增强。利用含有鱼油和硒的营养补充剂(“N”)与易瑞沙(“I”)或特罗凯(“T”)组合进行的类似研究的结果显示于图72中。如图所示,T细胞中PD-1的表达(左图)通过用易瑞沙或特罗凯(分别为TI和TT)治疗而略有降低,但通过与营养补充剂(分别为TIN和TTN)联合治疗而恢复至近似正常水平。相反,PD-L1在肿瘤细胞中的表达基本不受单独的化学治疗剂影响,但通过与含有鱼油和硒的营养补充剂联合治疗而降低。总体上,这表明用含有鱼油和硒的补充剂、化学治疗剂治疗、或用这种补充剂和一种或多种化学治疗剂治疗的组合可增强或改善癌症患者的免疫治疗结果。

[0213] 临床数据还证明,接受含有鱼油和硒的营养补充剂的癌症患者的免疫功能得到改善。例如,如图73和图74所示,如此治疗的乳腺癌患者和淋巴瘤患者的CD4/CD8的比相对于接受安慰剂的患者得到改善。

[0214] 总体上,发明人认为这表明含有鱼油和硒的营养补充剂可以互补、加成或协同方式增强癌症治疗的免疫治疗方法。发明人认为,这表明含有鱼油和硒的营养补充剂可以互补、加成或协同方式增强癌症治疗的免疫治疗方法。

[0215] 消耗/恶病质

[0216] 由于脂肪组织的损失和肌肉消耗(恶病质),患有癌症的个体经常呈现出体重减轻。除了直接由肿瘤生长和进展引起的那些外,这种体重减轻可导致严重的健康问题。发明人已发现包括鱼油和硒的营养补充剂可减轻恶病质症状,特别是当与一种或多种化学治疗剂组合使用时。用或不用化学治疗剂治疗的患有肿瘤的小鼠也经历恶病质。使用这种动物模型,发明人已令人惊讶地发现,用包括鱼油和硒的营养补充剂治疗可减轻这些作用。如图75所示,在荷瘤小鼠中观察到白色脂肪组织(WAT)、棕色脂肪组织(BAT)、和肌肉群(胃)的损失与恶病质一致,并且仅通过用特罗凯化学治疗而略微缓解。在与或不与化学治疗共同治疗的情况下,用包括鱼油和硒的营养补充剂(“NutraWell”)治疗改善脂肪组织和肌肉的滞留。

[0217] 如图76所示,肿瘤细胞可表达能够导致过多细胞能量支出和消耗的基因产物(如PTHrP和IL-6)。这些基因产物中的一些(如IL-6)也与炎症相关。这些过程被认为与恶病质的发展相关。如图77所示,用化学治疗剂(如特罗凯)治疗实际上可增加这些基因产物的表达。令人惊讶地,用包括鱼油和硒的营养补充剂(“NutraWell”)治疗或化学治疗-共同治疗降低了这些基因的表达。这种过多能量消耗的减少可有益地帮助减少炎症和消耗,并提供

更多能量用于恢复和对肿瘤的和免疫响应。

[0218] 除了肿瘤提供的负担外,化学治疗本身与多种令人不快且潜在危险的恶病质作用相关。令人惊讶地,发明人已发现通过提供包括鱼油和硒的营养补充剂作为与化学治疗药物的联合疗法可减少或消除这些恶病质作用。利用植入小鼠中的人类肿瘤细胞和这种包括鱼油和硒的营养补充剂(“Nutrawell”)的典型研究的实例显示于图78中。如图所示,用多种化学治疗药物处理一些组的小鼠。如图79所示,用 ω -3脂肪酸(例如T ω 3、T ω 6)(如在鱼油中发现)治疗可抑制荷瘤小鼠中与自噬相关的蛋白质(如LC3B-I和/或LC3B-III)的表达。这种自噬的减少可与荷瘤小鼠中体重和身体组织的滞留相关,特别是在化学治疗期间。如图80和图81所示,用化学治疗剂治疗荷瘤小鼠降低脂肪组织重量,超出单独的肿瘤的作用。然而,这种化学疗法与包括鱼油和硒的营养补充剂(“Nutra”)的组合提供脂肪组织重量的显著改善。

[0219] 如图82所示,与包括鱼油和硒的营养补充剂联合治疗还可缓解肌肉消耗(在这种情况下,以腓肠肌群为特征)。对于腓肠肌重量和总骨骼肌重量都获得了类似的数据(参见图83)。如图所示,相对于发现未被补充的化学治疗药物的治疗,用包括鱼油和硒的营养补充剂(“N”)与化学治疗药物(力比泰/顺铂或AC、特罗凯或T)的联合治疗提供肌肉群滞留的改善。在评估包括鱼油和硒的营养补充剂(“N”)以及不同化学治疗剂对包括脑(图84,左图)、肝(图84,右图)、心脏(图85,左图)、脾(图85,右图)、肺(图86,右图)、和无转移乳腺(图86,右图)的各种器官的重量的作用时发现类似的结果。

[0220] 在用包括鱼油和硒的营养补充剂与化学治疗剂组合治疗后,恶病质症状的减轻在分子水平也是明显的。发明人已观察到无论是单独使用还是与化学治疗剂(例如泰克索、阿霉素、阿瓦斯汀)组合使用,使用这种营养补充剂有效预防或逆转与肌肉消耗和炎症相关的特定生化标志物的表达的改变。这在分子水平也是显而易见的,如图87所示。图87显示了在线粒体中发现的肌肉相关蛋白(UCP3、UCP2)和在细胞溶胶中的炎症相关细胞因子(IL6)的表达。图88显示了另一组线粒体肌肉标志物复合物IV和复合物III的表达。无论是单独使用还是与泰克索、阿霉素、或阿瓦斯汀组合使用,使用包括有鱼油和硒的营养补充剂导致线粒体蛋白质显著增加。相反,无论是单独使用还是与泰克索、阿霉素、或阿瓦斯汀组合使用,IL6的降低表明肌肉组织中炎症减轻。

[0221] 在或不在利用化学治疗剂进行联合治疗的情况下,用含有鱼油和硒的营养补充剂治疗还被发现调节与脂肪组织和代谢相关的生化标志物的表达。如图89(左下图)所示,相对于非肿瘤组织(NT),UCP-1和ATGL在肿瘤组织(T)中的表达增加。这通过用泰克索(TT)治疗和通过用包括鱼油和硒的营养补充剂(TN)治疗而有所降低,然而,在组合治疗(TTN)后看到表达的显著(即协同)降低。在Western印迹(图89,右图)中,激素敏感性脂肪酶(HLS)和甘油三酸脂肪酶(ATGL)以及UCP-1的类似结果是明显的。

[0222] 令人惊讶地,用包括鱼油和硒的营养补充剂治疗还被发现降低荷瘤动物中PTHrP的表达(TN,参见图89的左上图)。当化学治疗剂(泰克索)(其在单独使用(TT)时实际上提高表达)用于联合治疗(TTN)时,这种效果以协同方式增强。

[0223] 在临床研究中还观察到使用包括鱼油和硒的营养补充剂改善头颈癌症患者中的恶病质。如图90所示,这种营养补充剂在保持体重(左图)和在一些增加体重的情况下(例如具有BMI<19)(右图)中是有效的。在动物模型中看见类似结果,如图22(左图)所示。应理解,

这些作用不是由于热量摄入的简单增加,因为以类似热量利用常规营养补充剂进行治疗没有提供这种作用。

[0224] 肿瘤的存在和化学疗法的使用经常与可有助于恶病质的恶心和食欲不振相关。令人惊讶地,发明人已发现用包括鱼油和硒的营养补充剂可增加动物模型中的食物摄取,尽管添加剂本身提供另外的热量(参见图91)。

[0225] 细胞因子表达

[0226] 肿瘤的存在经常与炎症(至少部分由细胞因子介导的过程)相关。细胞因子也可参与其它肿瘤相关的过程,如血管发生。令人惊讶地,发明人已发现包括鱼油和硒的营养补充剂可调节多种细胞因子的水平,特别是当与化学治疗药物组合使用时。如图92所示,发现在体内乳腺癌模型中,这种营养补充剂与化学治疗剂(此实例中为泰克索或“tax”和阿霉素或“adria”)的组合使用降低血浆VEGF浓度,表明其可提供抗炎症和抗血管发生作用。用阿瓦斯汀看见类似的结果(参见图93)。单独用补充剂看到类似作用,并且用这种补充剂联合治疗增强化学治疗药物的降低VEGF的作用。

[0227] 如图94和图95(左图)所示,在体内乳腺癌模型中,与肿瘤血管发生、生长和转移相关的TNF- α 的减少见到类似的作用。在IL1- β 的减少中看见类似的结果(也参见图96,左图),IL1- β 与肿瘤血管发生、生长和转移相关。在体内乳腺癌模型中,含有鱼油和硒的组合的营养补充剂(单独和与化学治疗药物组合)对血浆IL-1 β 的作用显示于图97中。类似的研究(参见图98和图95,右图)显示血浆IL6减少,IL6与肿瘤血管发生、保护肿瘤免受氧化胁迫、和抗凋亡作用相关。在用包括鱼油和硒的补充剂(N)(单独使用和与化学治疗药物组合使用时——尽管单独使用这种药物时浓度提高)处理的这种体内肿瘤模型中,IL-10的血浆浓度类似地降低(在一些情况下降低至不能检测到的水平)(图96,右图)。

[0228] 相反,发明人已发现在单独和与化学治疗药物组合时,使用含有鱼油和硒的营养补充剂可增加一些细胞因子的血浆浓度。例如,如图99和图100(右图)所示,在显示处理的体内乳腺癌模型中,IL2的血浆浓度增加。应理解,IL2被认为是用于治疗一些癌症的免疫治疗药物。在体内乳腺癌模型中发现针对IL10的类似结果(参见图101),IL10是另一种免疫激活细胞因子。在这种研究中还观察到另一种免疫激活细胞因子IFN- γ 的血浆浓度,如图102和图100(左图)所示。

[0229] 总体上,发明人认为包括鱼油和硒的营养补充剂(作为单一疗法和与一种或多种化学治疗药物组合)可用于降低与炎症和肿瘤生长/进展相关的细胞因子的血浆浓度。应理解,即使当这种化学治疗药物在缺乏这种补充剂的情况下使用时导致这种细胞因子的血浆浓度增加,这种减少也可被提供,并且应理解通过联合治疗加强这种减少(表明协同效应)。类似地,当用作单一疗法以及当与一种或多种化学治疗药物组合使用时,使用这种补充剂可导致免疫激活细胞因子的血浆浓度增加。

[0230] AXL信号传导

[0231] 如图103所示,肿瘤中的AXL信号传导与促进肿瘤进展的多种下游作用相关。如图所示,肿瘤微环境中的AXL信号传导可促进免疫抑制、癌症干细胞表型的发展、对各种抗癌疗法(包括抗癌药物)的抗性、肿瘤细胞增殖、对凋亡和/或自噬的抗性、上皮到间充质的过渡和转移。因此,对AXL信号传导的调控(例如,使细胞回到与正常细胞的状态更类似的状态)可提供用于治疗癌症(特别是耐药性癌症)的治疗靶标。

[0232] 在本发明构思的一些实施方式中,发明人已发现包括鱼油和硒的营养补充剂在改变细胞(特别是耐药性肿瘤细胞)中的AXL信号传导中特别有效。如图104所示,相对于敏感的亲本HCC827细胞,耐药(易瑞沙)性HCC827GR细胞表达水平升高的AXL和p-MET蛋白。令人惊讶地,发明人已发现硒酵母(营养素A)和鱼油(营养素B)的组合显著降低耐药性HCC827GR中AXL的表达(参见图105)。应理解,用1 μ M易瑞沙治疗没有作用。

[0233] 发明人已进一步研究所描述的营养补充剂可通过其调节细胞中AXL蛋白浓度的机制。图106描绘了AXL表达的途径,其各个点可被靶向以调节AXL表达。如图所示,AXL依赖于热休克蛋白90(HSP90)以正确折叠。不正确的蛋白折叠可导致降解速率增加。如图107所示,相对于非抗性亲本HCC827细胞,在耐药(易瑞沙)性HCC827GR肿瘤细胞中,AXL和HSP90蛋白水平显著升高。

[0234] 令人惊讶地,发明人已发现含有硒酵母(营养素A)和鱼油(营养素B)的补充剂降低耐药(易瑞沙)性HCC827GR细胞中的AXL和HSP90(参见图108)。当组合营养补充剂与易瑞沙组合使用时,也发现明显的协同效应。

[0235] mTOR途径也已与肿瘤细胞的耐药性有关。如图109所示,mTOR可响应生长因子而被磷酸化,以影响细胞生长和增殖。令人惊讶地,发明人已发现在缺乏和存在药物的情况下,使用组合硒酵母(营养素A)和鱼油(营养素B)的补充剂可降低耐药(易瑞沙)性HCC827GR细胞中p-mTOR的水平(参见图110)。甚至更令人惊讶地,组合的营养补充剂能够逆转用化学治疗剂处理的耐药性细胞中升高的p-mTOR水平。

[0236] 还使用体内三阴性人类乳腺癌动物模型研究了含有鱼油和硒的营养补充剂(单独的和与化学治疗剂组合)的作用的研究。结果显示于图111和图112中。用含有鱼油和硒的营养补充剂(例如,表1中描述的配方)、泰克索(“tax”)、阿霉素(“adyri”)、阿瓦斯汀、或营养补充剂与个体化学治疗剂的组合处理动物。如图111所示,在未处理的肿瘤样品中,HSP90表达(通过Western印迹确定)是高的。令人惊讶地,这通过仅用含有鱼油和硒的营养补充剂治疗而降低至一定程度。用泰克索治疗对HSP90表达具有最小的影响,然而,当泰克索与含有鱼油和硒的营养补充剂组合使用时,发现显著的降低。用阿霉素治疗以及阿霉素与这种补充剂共同治疗看到类似的结果。尽管通过用阿瓦斯汀治疗将这种肿瘤中的HSP90表达降低至一定程度,但用阿瓦斯汀和含有鱼油和硒的营养补充剂组合治疗导致HSP90表达的显著下降,表明具有协同效应。

[0237] 图112显示了类似研究的结果,其中肿瘤的p-AXL含量被表征。如图所示,p-AXL在未处理的肿瘤中是明显的,并且仅用含有鱼油和硒的营养补充剂治疗时令人惊讶地降低。单独用泰克索治疗降低p-AXL表达,并且通过用泰克索和含有鱼油和硒的营养补充剂联合治疗将p-AXL表达降低至几乎不能检测的量(表明具有协同效应)。单独用阿霉素或阿瓦斯汀治疗提供几乎不或不明显的p-AXL表达降低,其中将这些药物中的每一种与这种补充剂联合治疗使表达大幅降低。总体上,明显的是,使用含有鱼油和硒的营养补充剂可有效改变AXL信号传导(例如降低p-AXL和HSP90的表达),并且这种补充剂可与各种化学治疗药物联合治疗以在改变这种AXL信号传导中实现协同效应。

[0238] 存活

[0239] 如上所述,使用含有鱼油和硒的营养补充剂在治疗癌症方面具有许多有益作用,包括减少肿瘤细胞增殖、肿瘤大小和血管形成、对化学治疗的抗性和转移。通过与一种或多

种化学治疗剂联合治疗以协同方式增强这些作用。另外,这种补充剂能够降低或逆转与癌症相关的恶病质的症状,以及改变血浆细胞因子的浓度。这些益处直接解决了癌症人员的多种生活质量问题。另外,发明人已发现使用含有鱼油和硒的营养补充剂在存活率发面还提供直接的益处。如图113所示,接受这种营养补充剂(“营养配方”)的癌症患者显示出接受等效热量的现有技术补充剂(“通用配方”)的类似处理患者的两年存活率的两倍以上的两年存活率。当研究BMI小于19的患者时,相对于通用配方,使用含有鱼油和硒的营养补充剂提供500%的两年存活率增加。发明人认为使用包括鱼油和硒的营养补充剂可提供患者(尤其是那些低BMI患者)存活率的非常显著的改善。

[0240] 对于本领域技术人员应显而易见的是,在不背离本发明的发明构思的情况下,除了已经描述的修改之外,更多的修改是可能的。因此,除了所附权利要求的精神之外,本发明主题不受限制。此外,在解释说明书和权利要求书时,应以与本文一致的尽可能广泛的方式解释所有术语。特别地,术语“包含(comprises)”和“包含(comprising)”应被解释为以非排他性的方式指代要素、组分或步骤,表明引用的要素、组分或步骤可以存在,或可被利用,或与未明确引用的其它要素、组分或步骤组合。在说明书权利要求指代选自A、B、C...和N的至少一个的情况下,本文应被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。

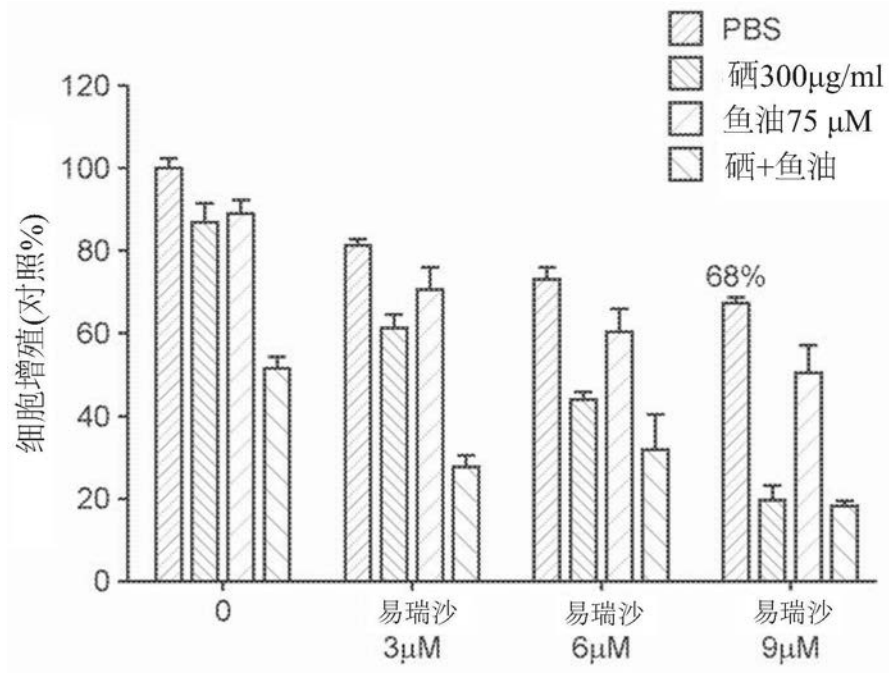


图1

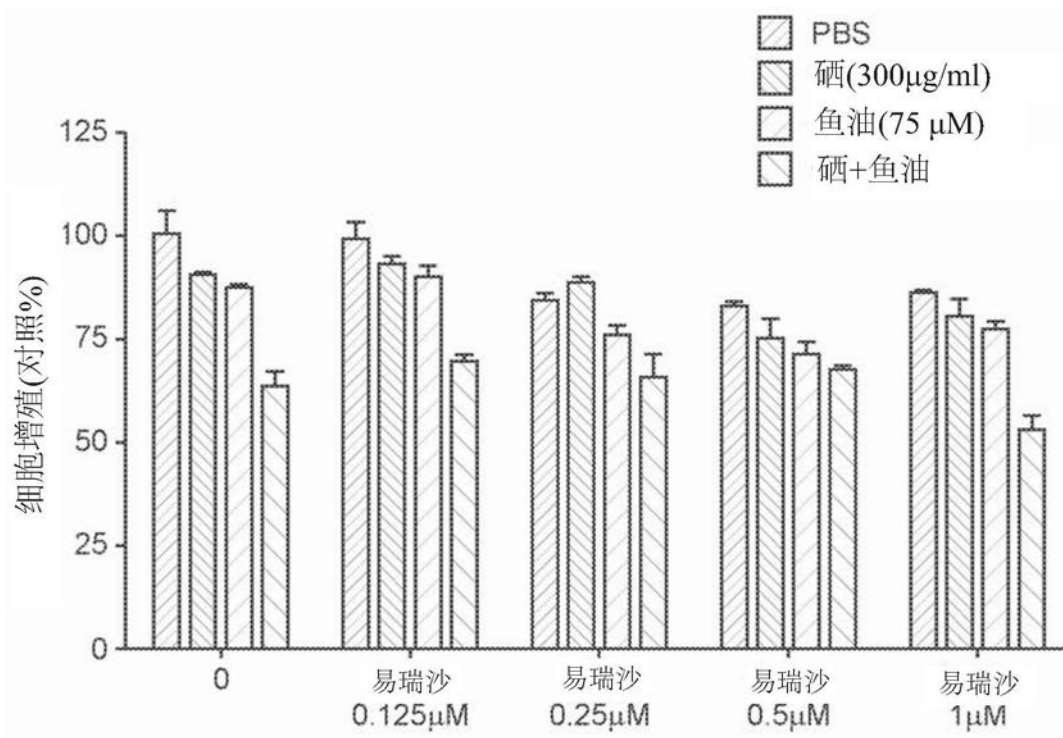


图2

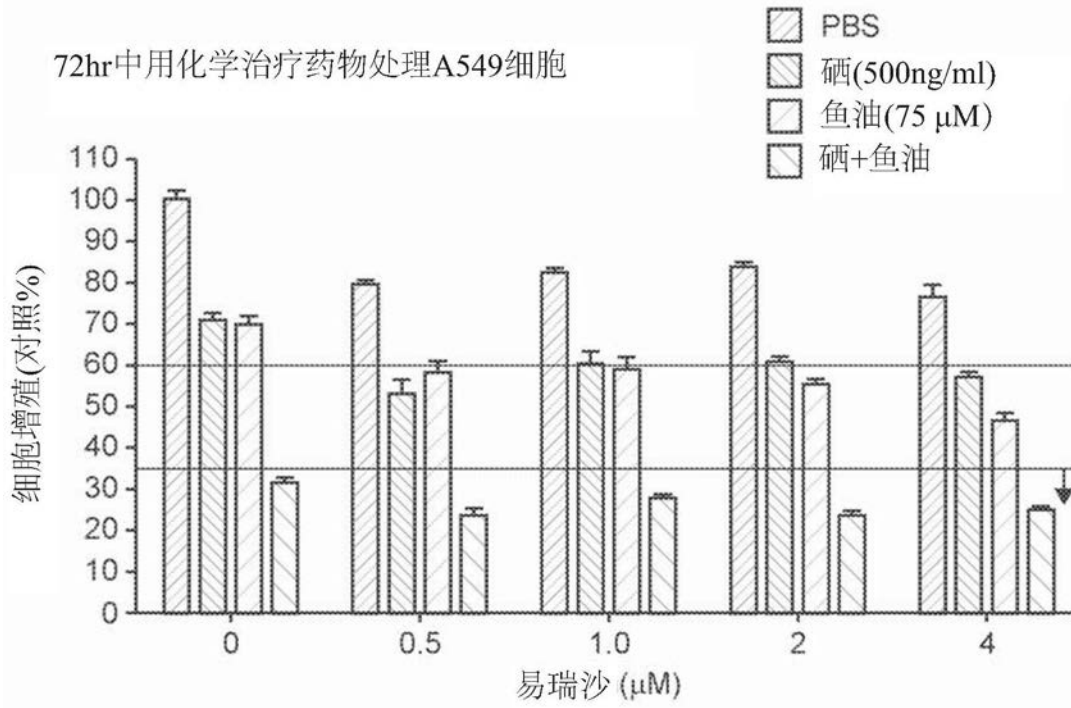


图3

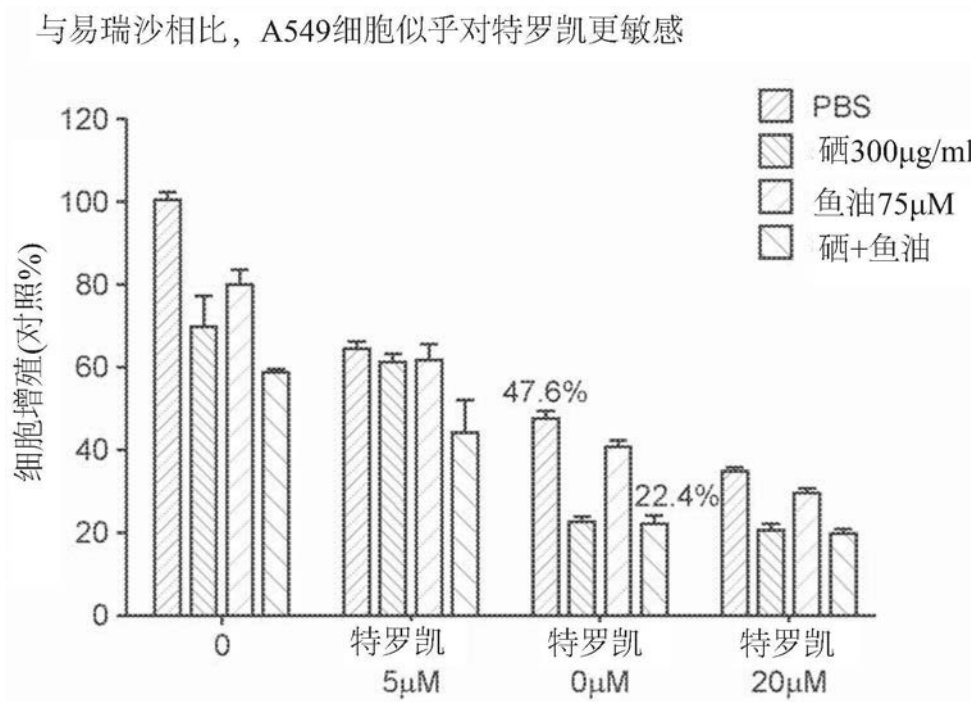


图4

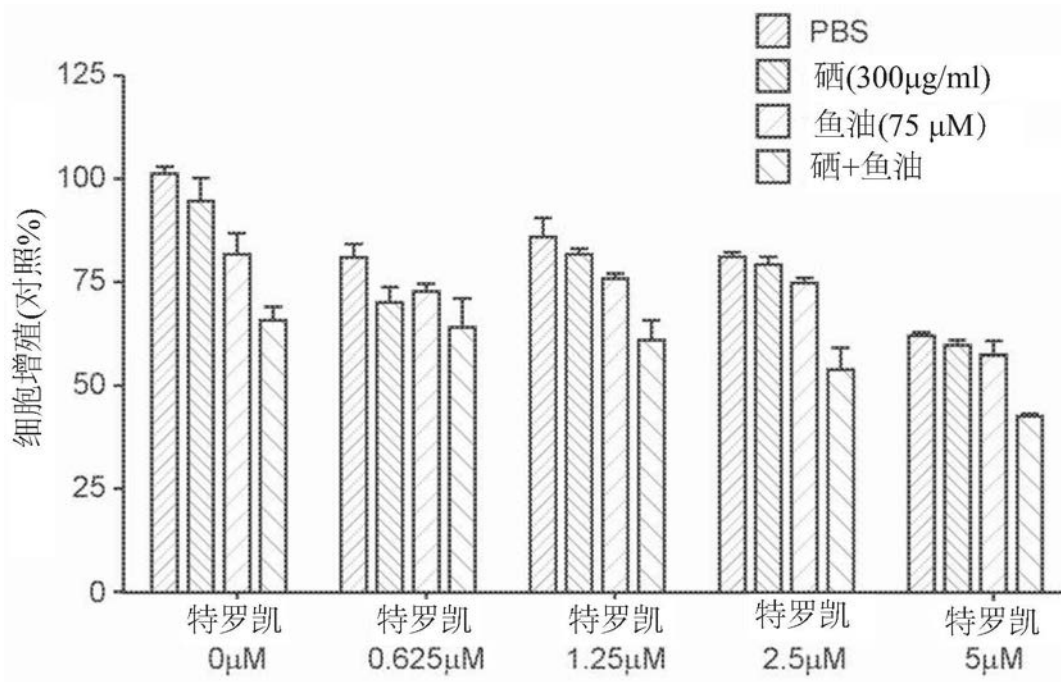


图5

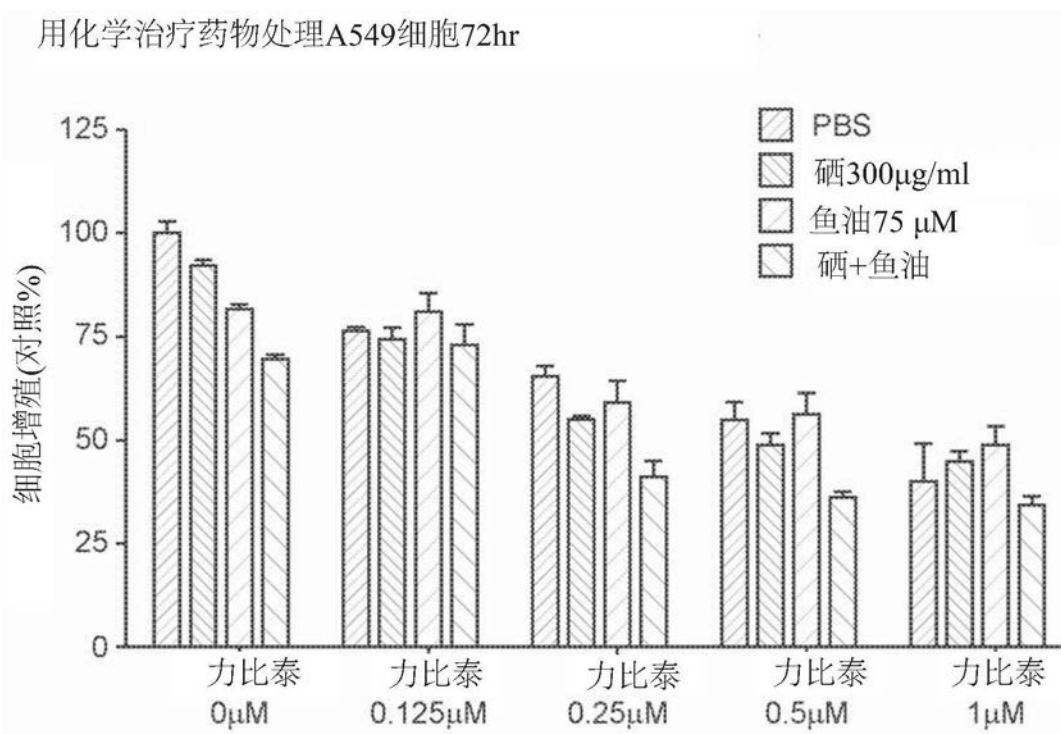


图6

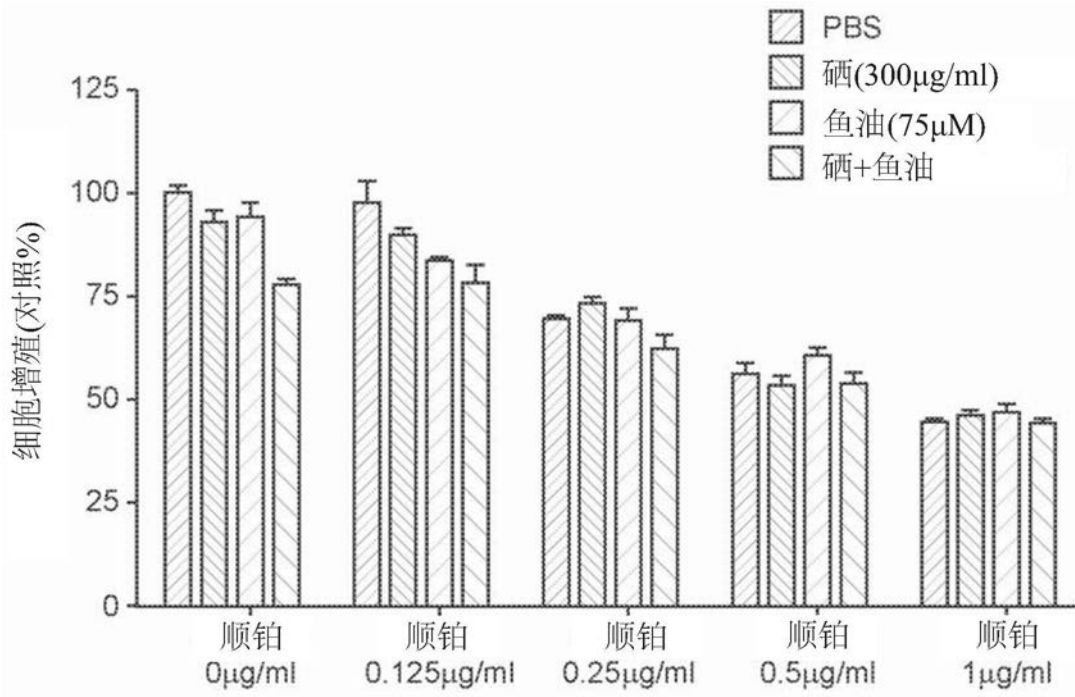


图7

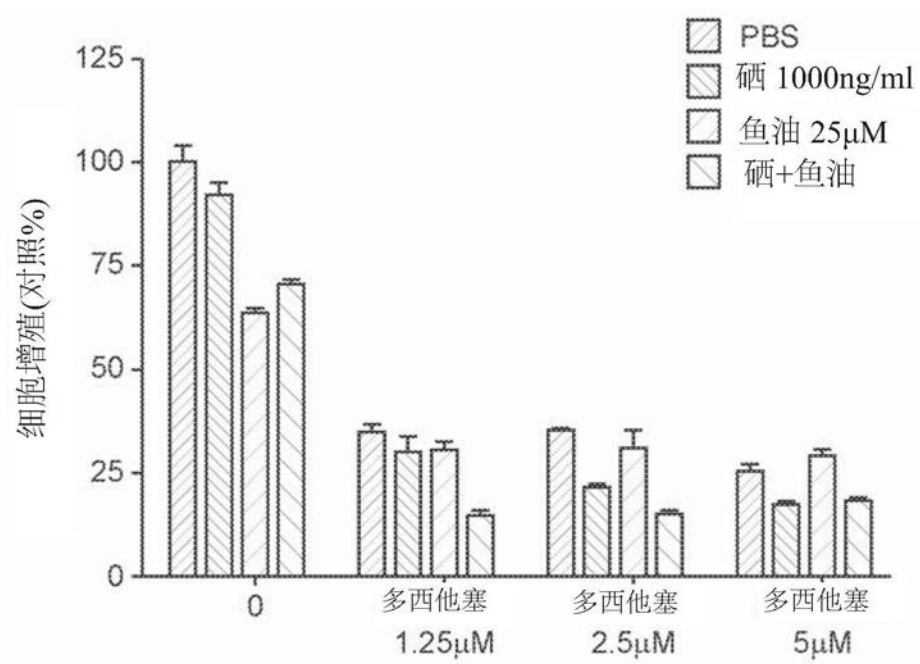


图8

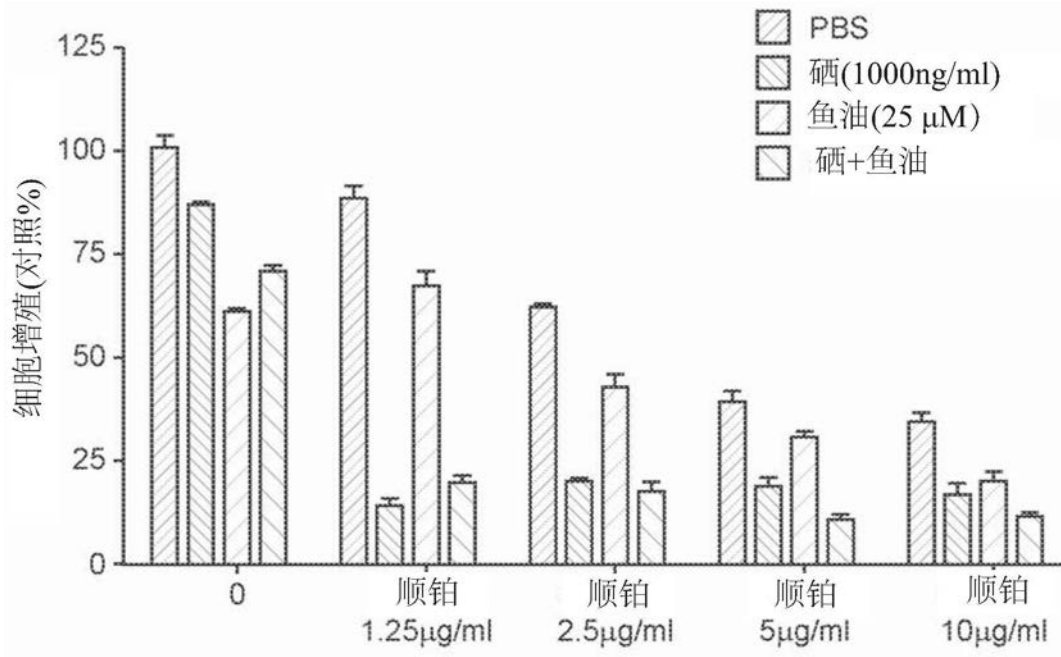


图9

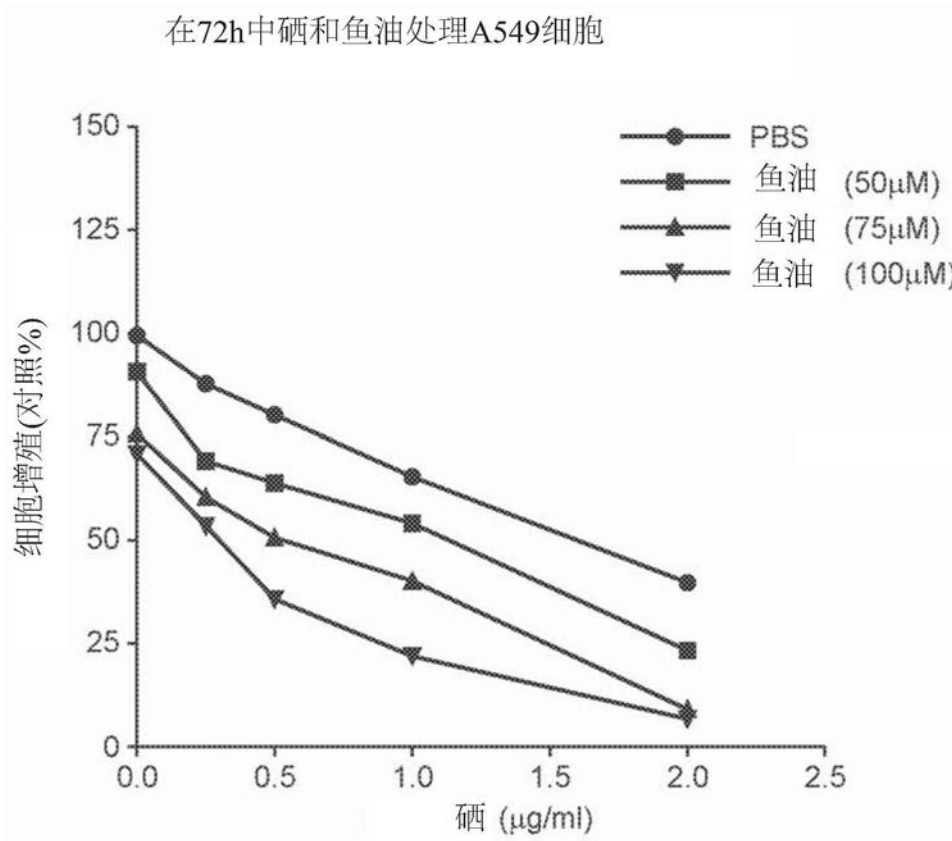


图10

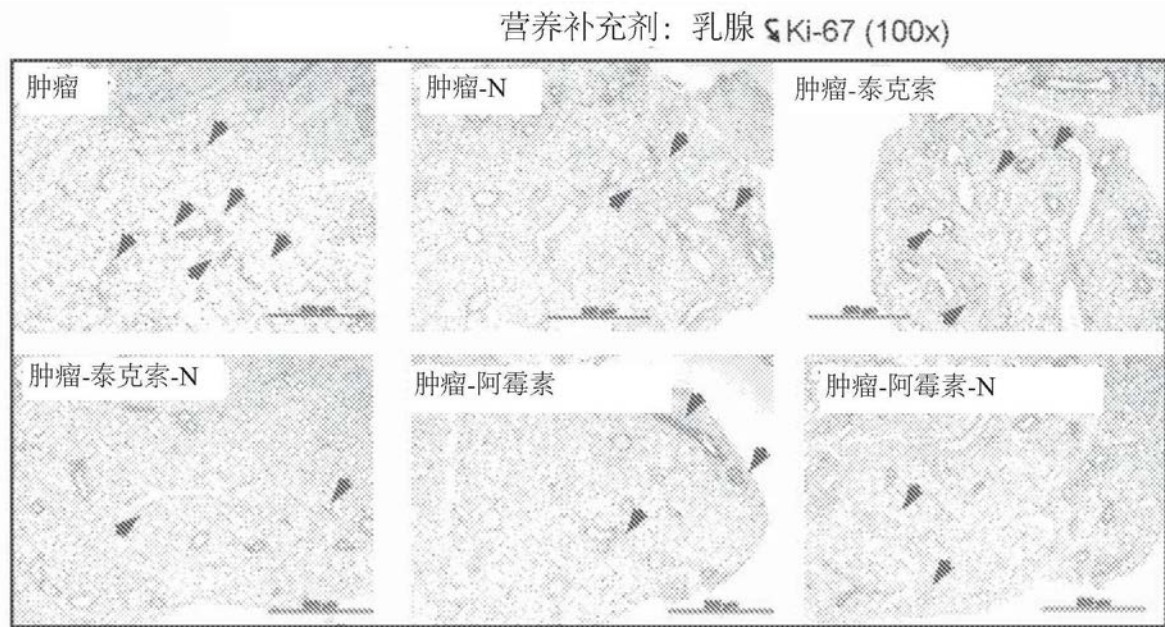


图11

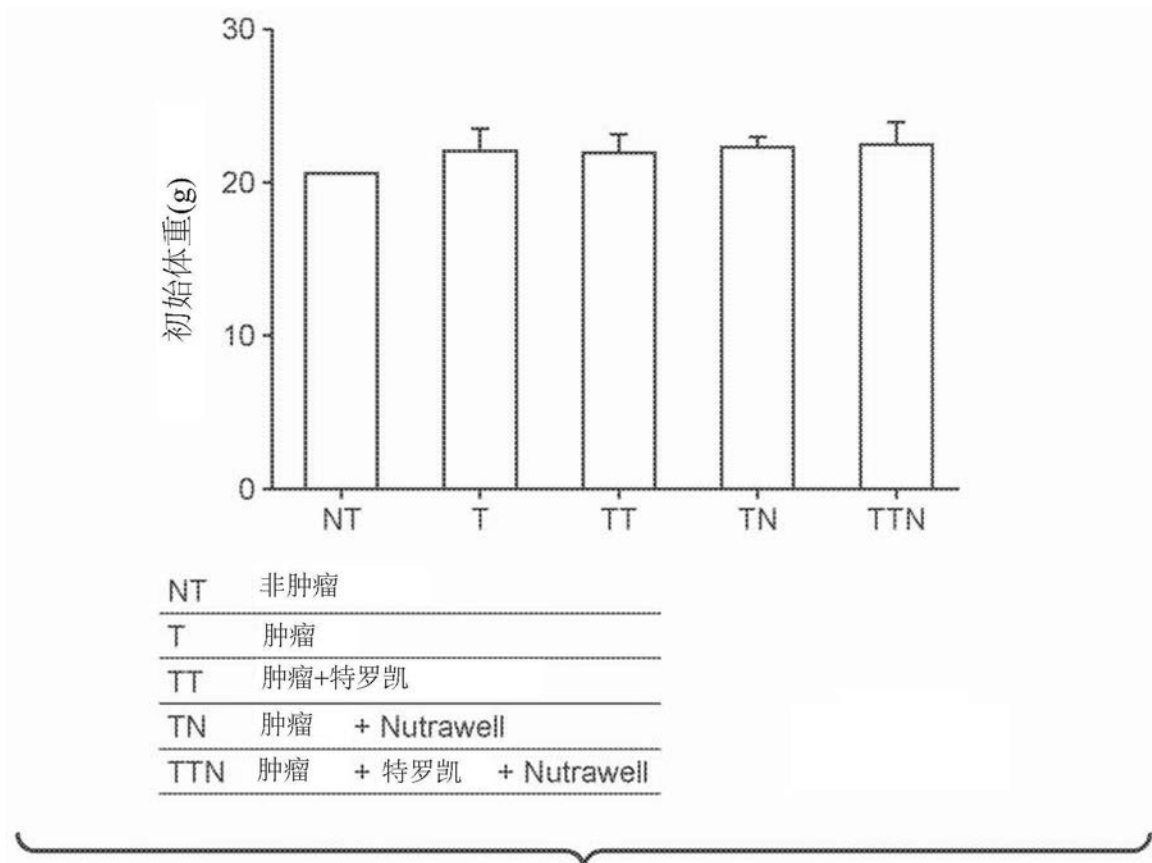


图12

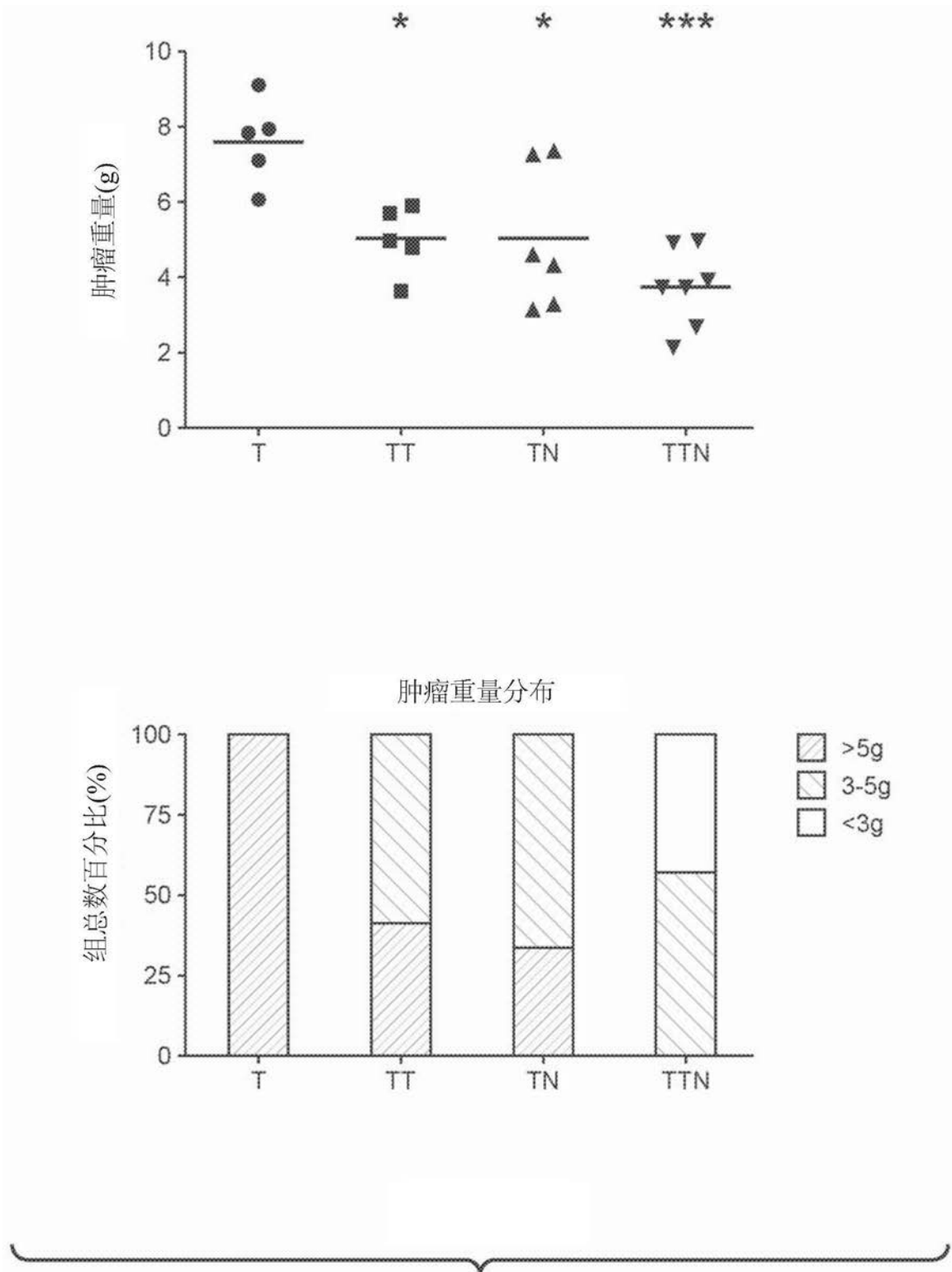


图13

实验设计

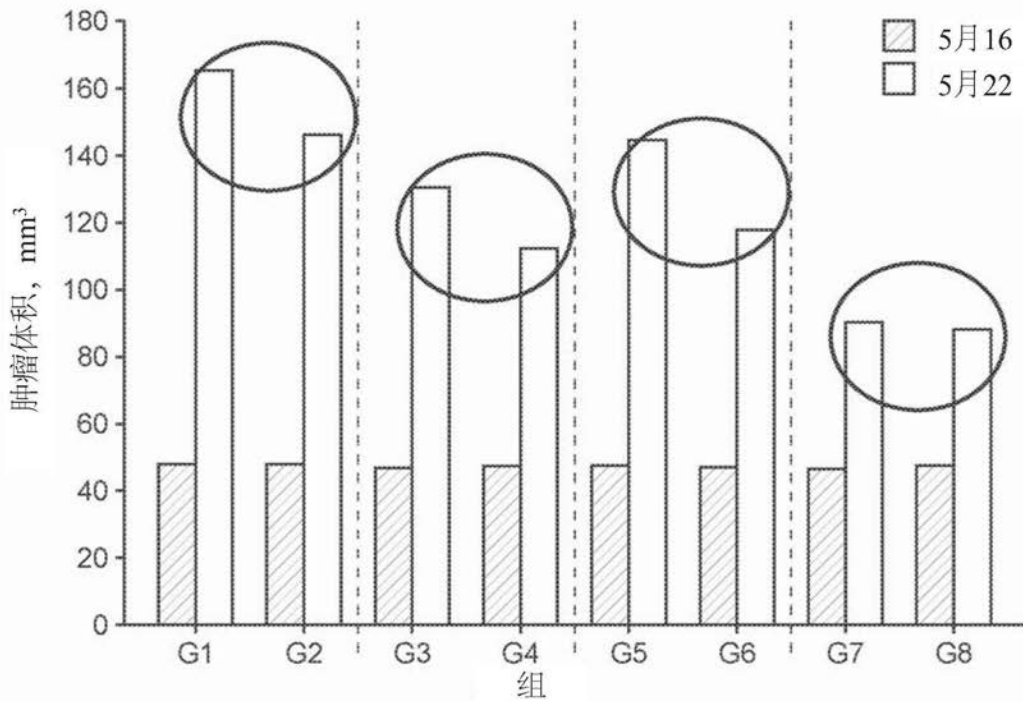
- 组1 (n=10), 肿瘤阳性对照
- 组2 (n=10), Nutrawell (0.4g*2/天)

- 组3 (n=10), 泰克索(紫杉醇) ip, 每4天5mg/kg
- 组4 (n=10), 泰克索(ip, 每4天5mg/kg+Nutrawell (0.4*2/天)

- 组5 (n=10), 阿霉素(多柔比星) iv, 每4天2mg/kg
- 组6 (n=10), 阿霉素iv, 每4天2mg/kg+Nutrawell (0.4*2/天)

- 组7 (n=10), 阿瓦斯汀(贝伐珠单抗), ip, 每4天5mg/kg
- 组8 (n=10), 阿瓦斯汀(ip, 每4天5mg/kg) + Nutrawell (0.4*2/天)

	肿瘤 5月18	体积 5月22
G1	48.2999	166.2051
G2	48.6052	146.7858
G3	47.4819	131.0154
G4	47.7441	112.8271
G5	47.8926	145.3242
G6	47.3287	118.3223
G7	46.9694	90.7488
G8	48.1281	88.3151



1. Nutrawell自身仅具有减慢肿瘤生长的作用。
2. Nutrawell与化学治疗药物也显示较好的结果。

图14

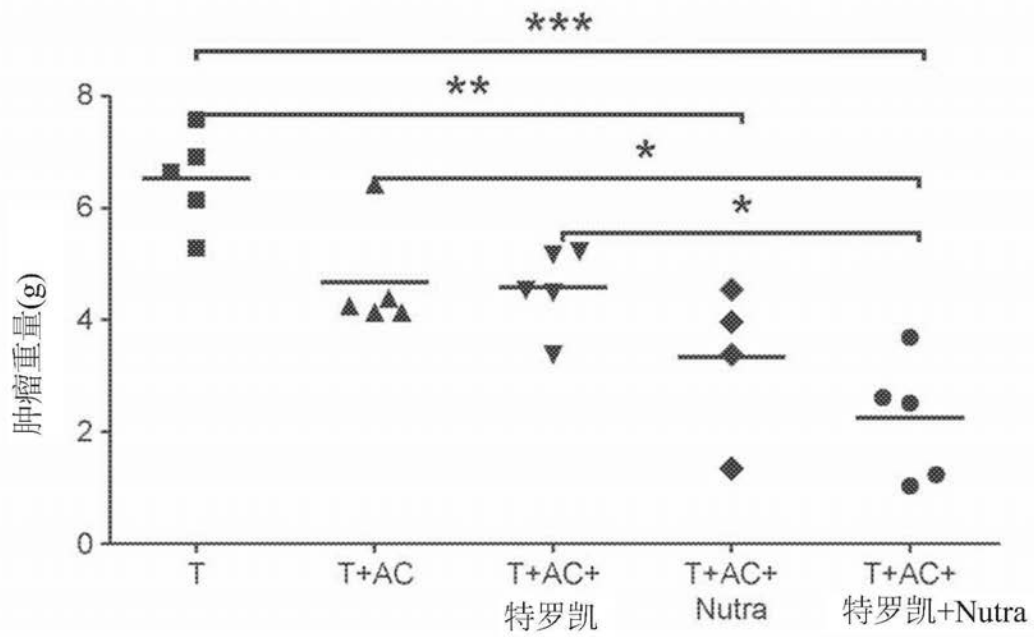
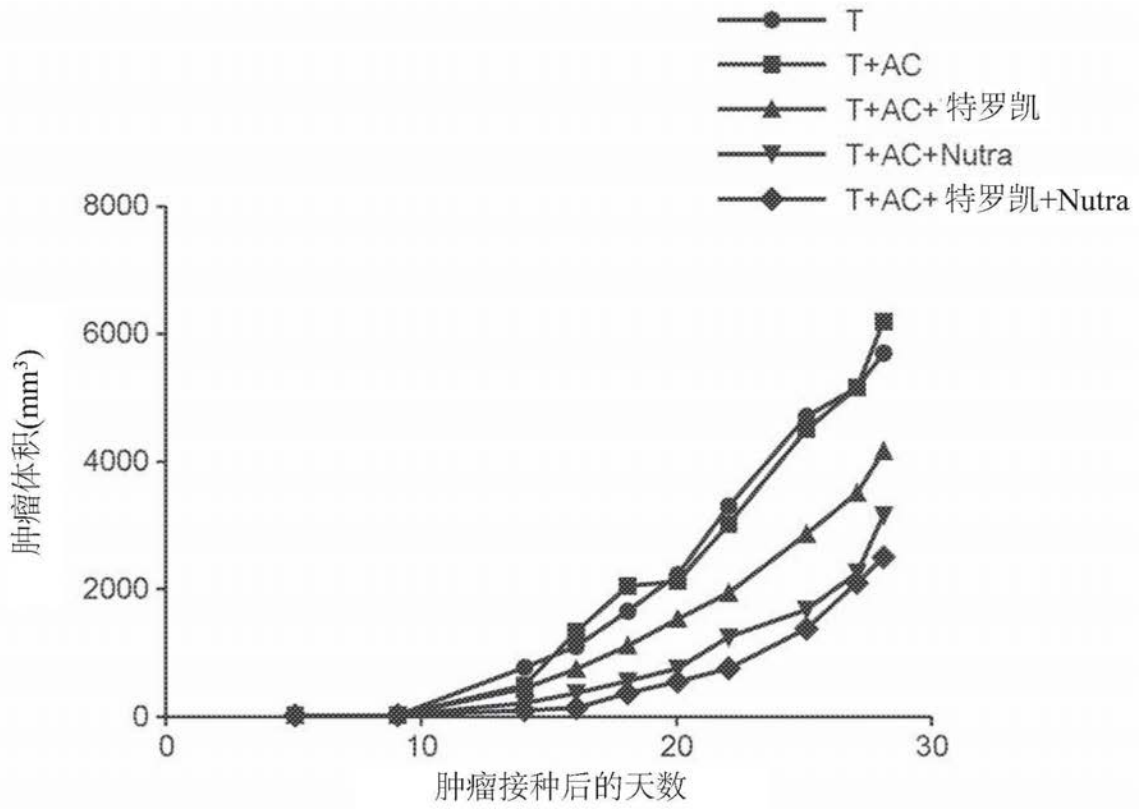


图15

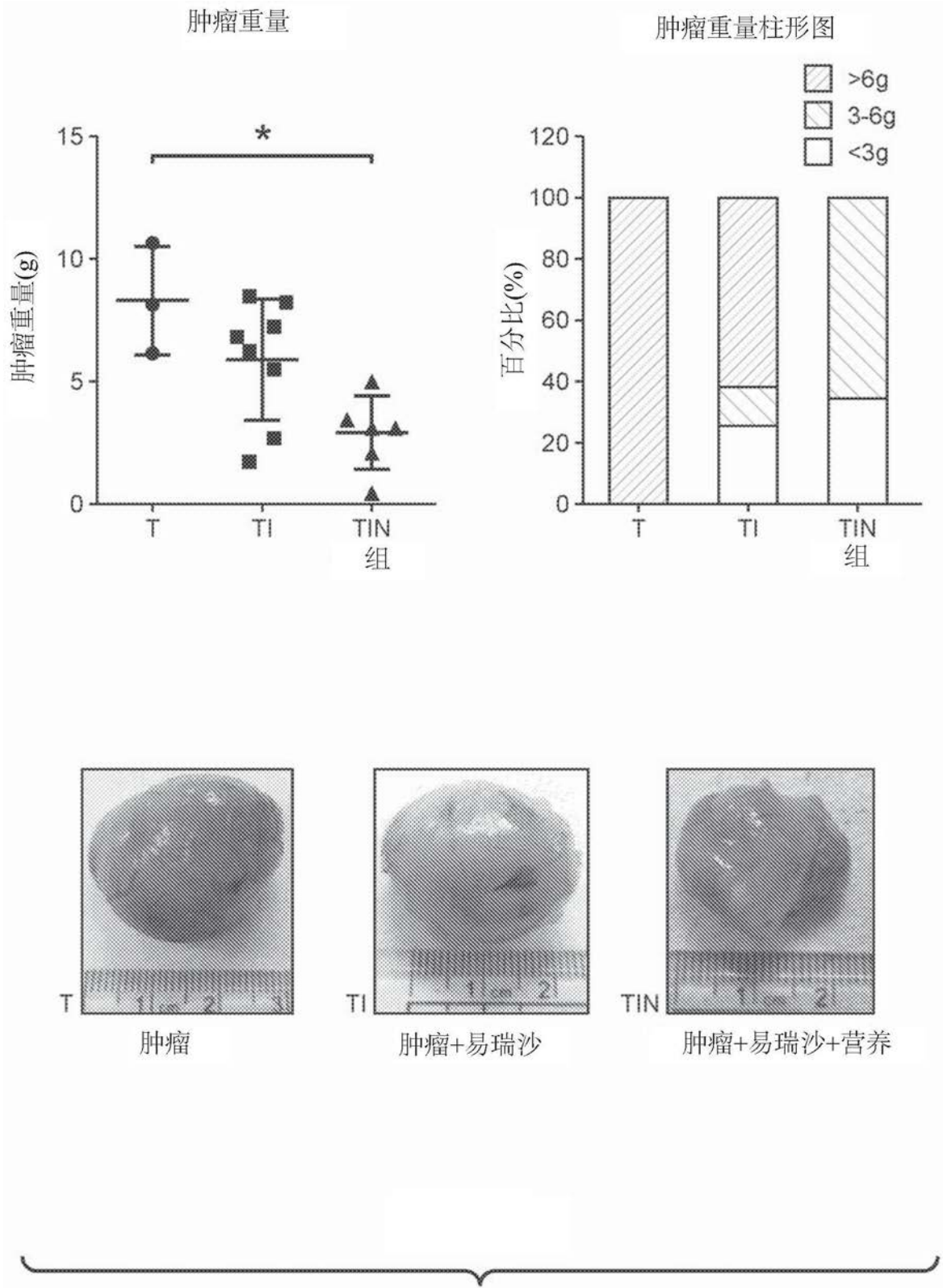


图16

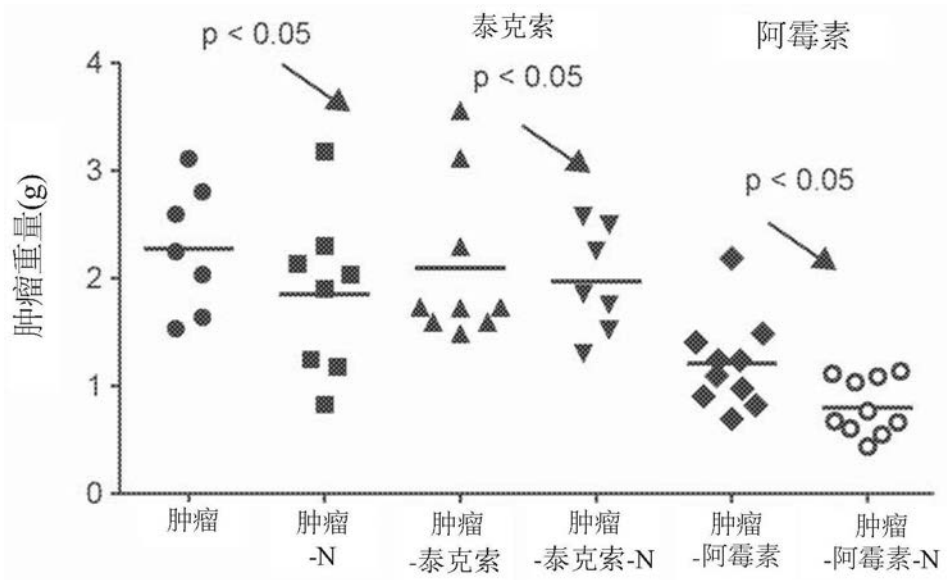


图17

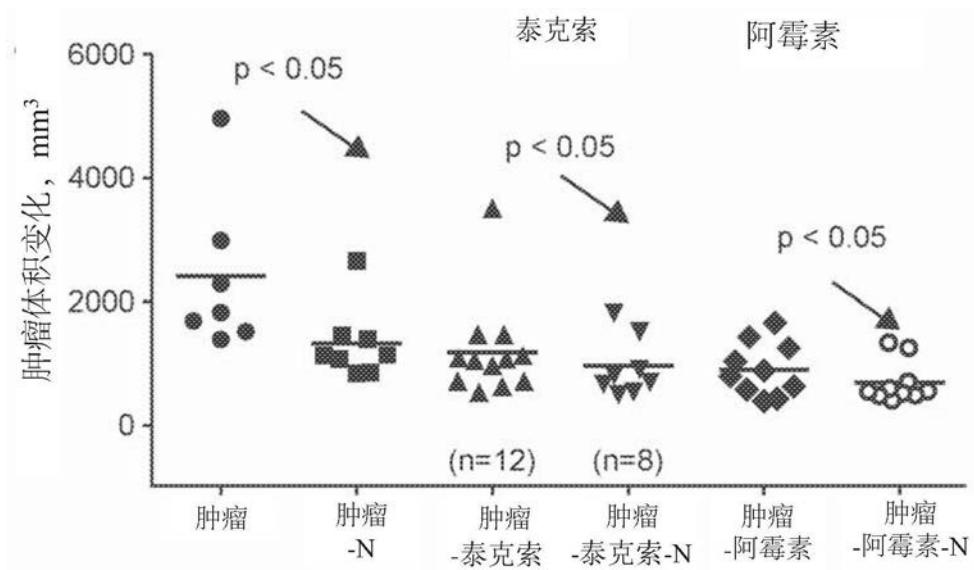


图18

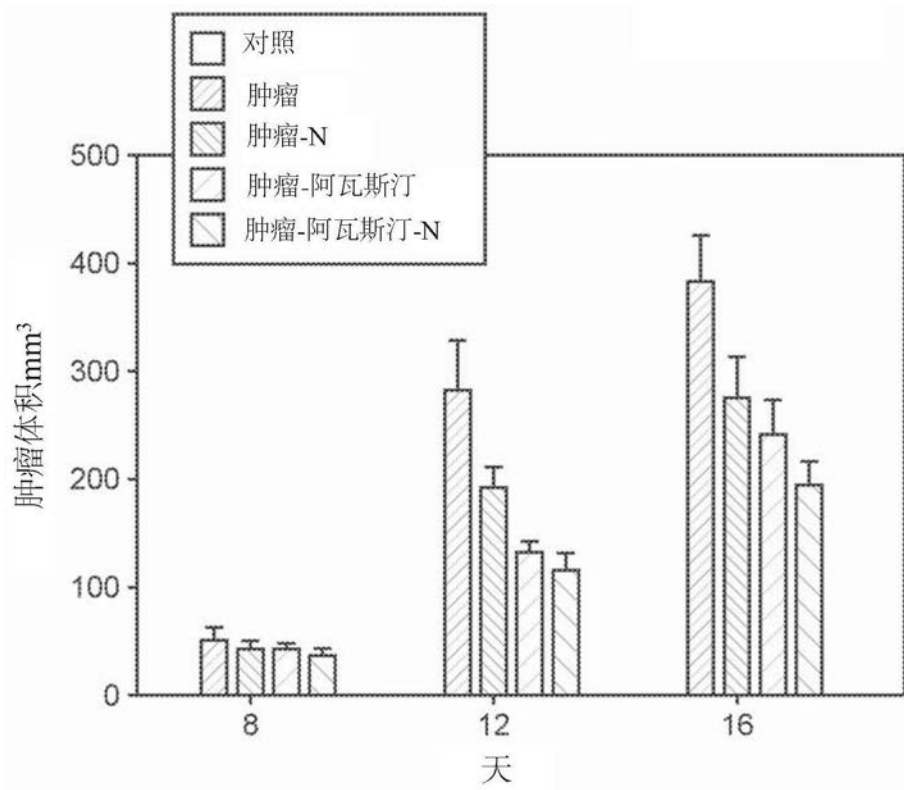


图19

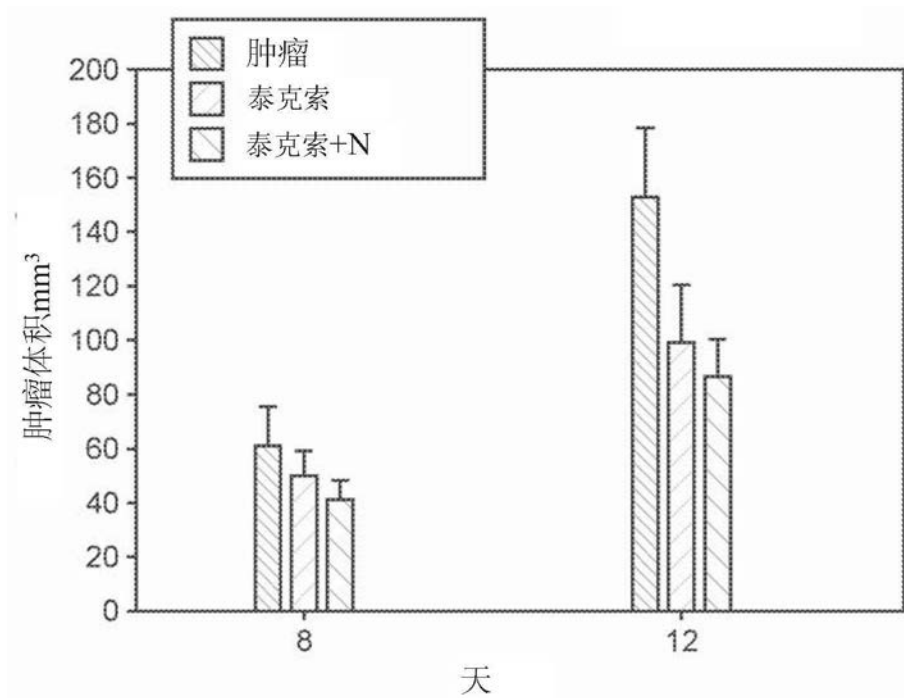


图20

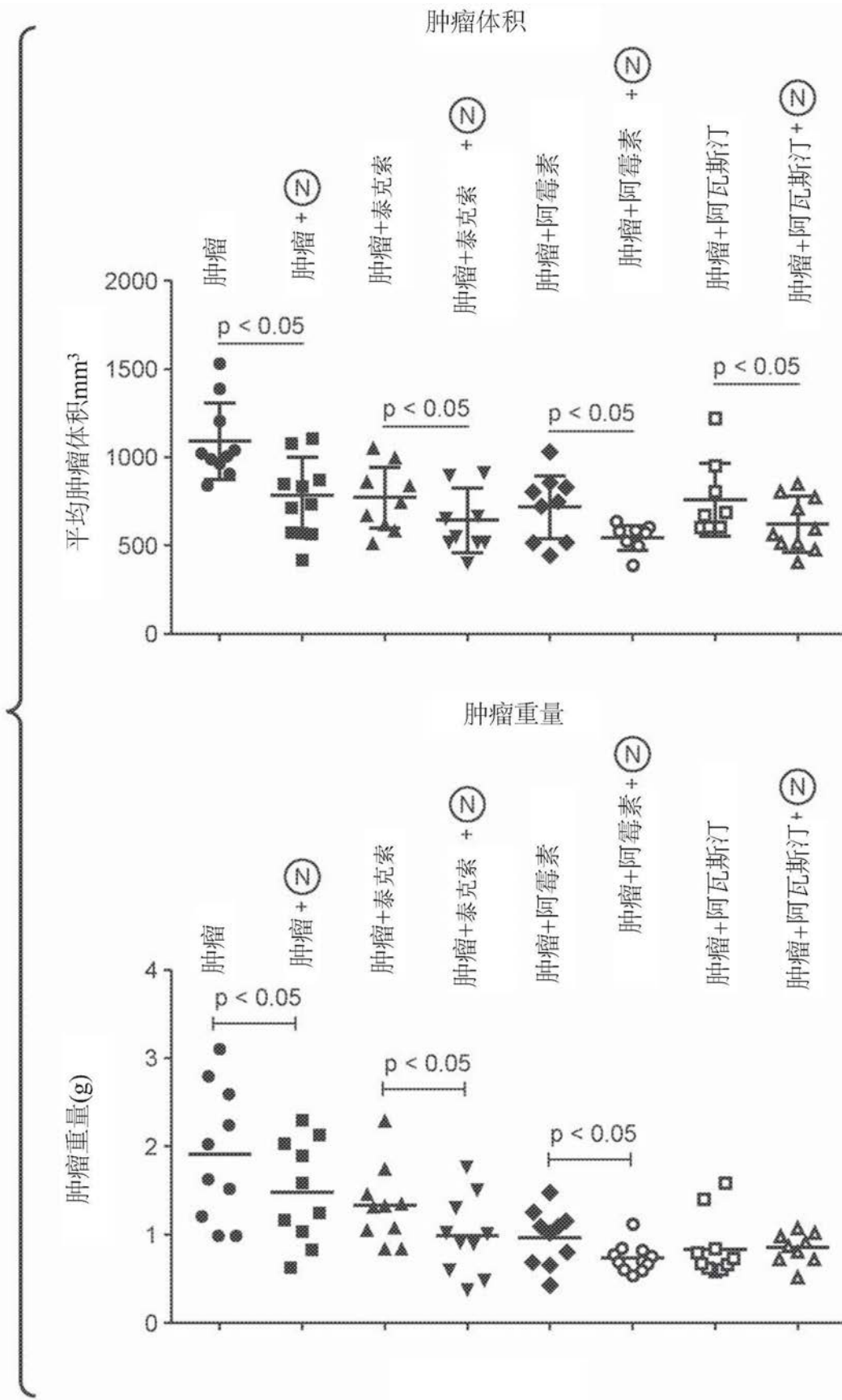


图21

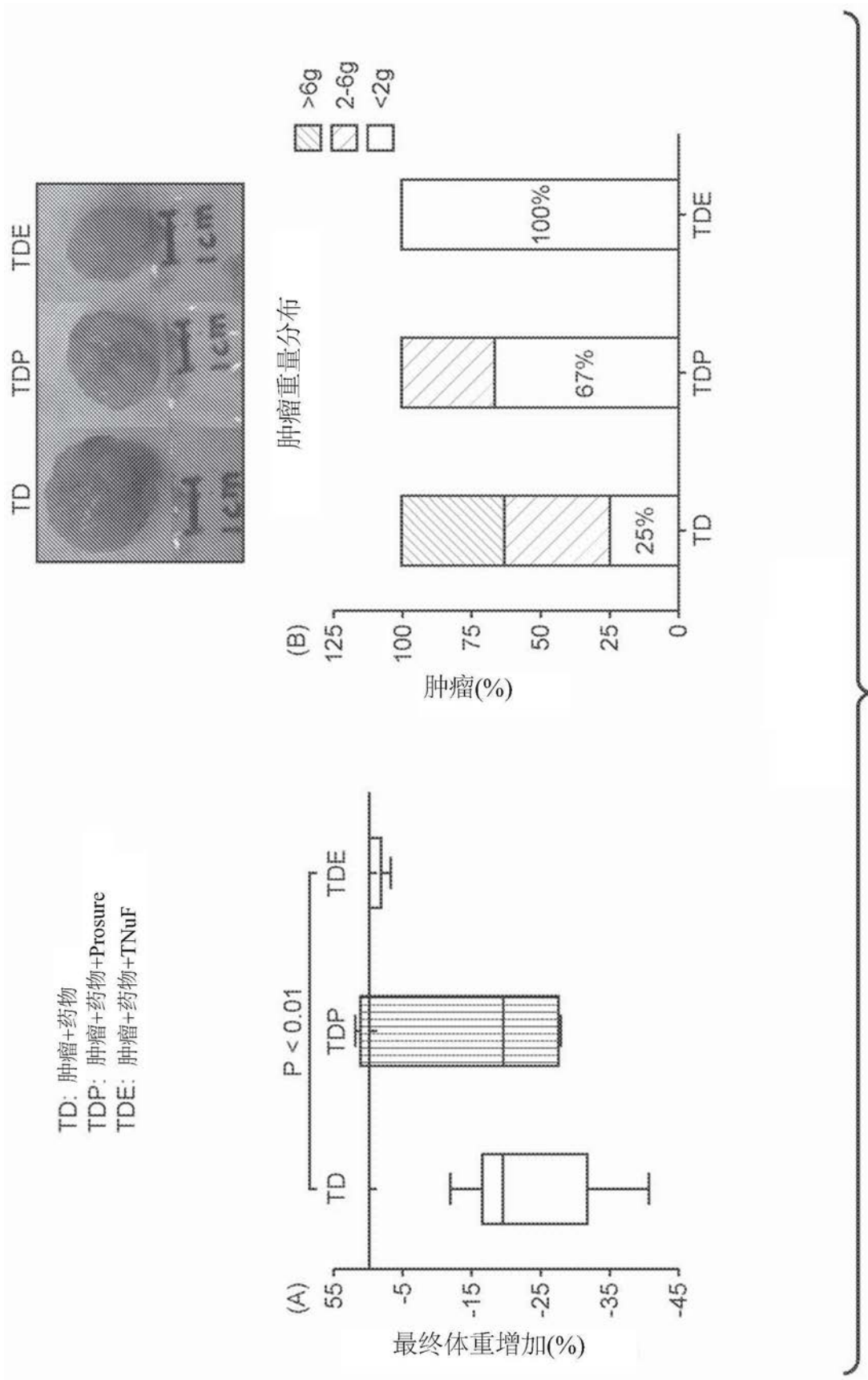


图22

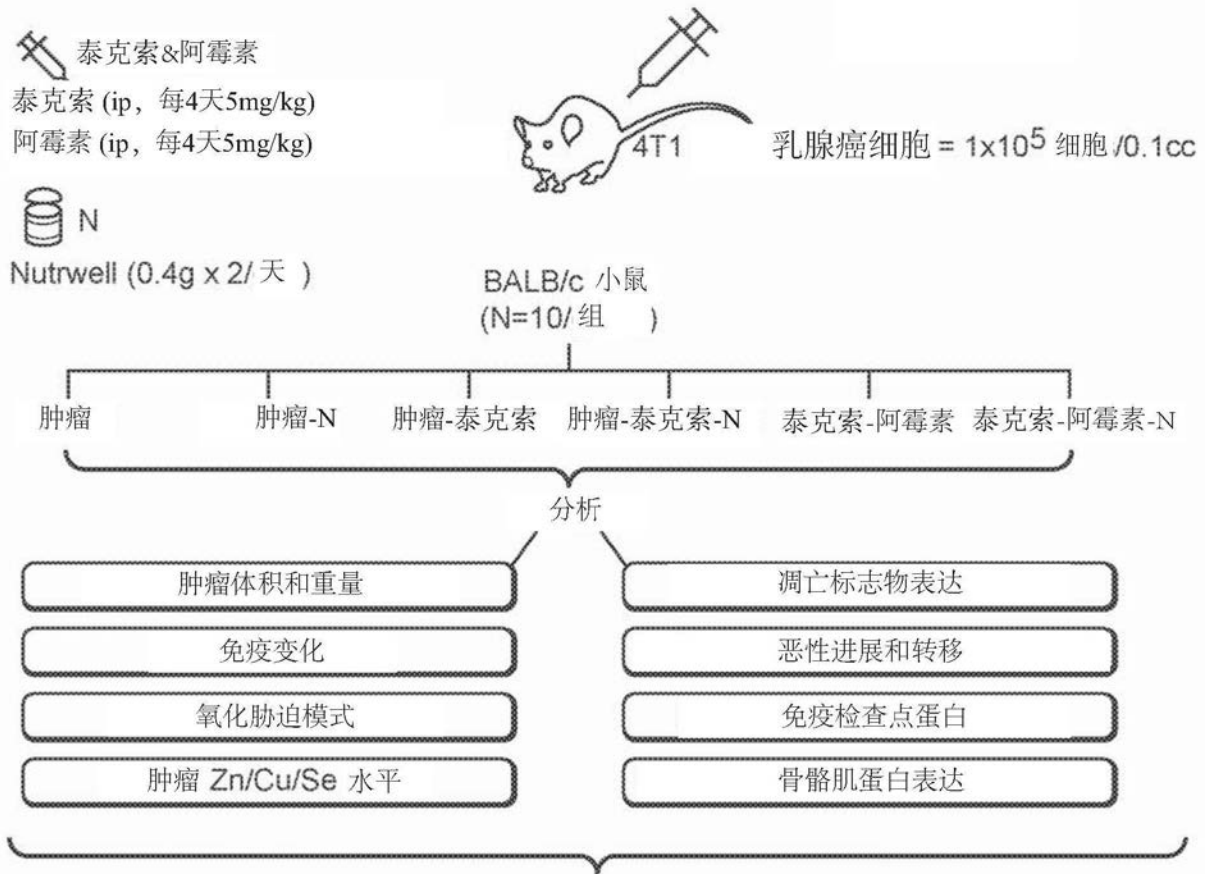


图23

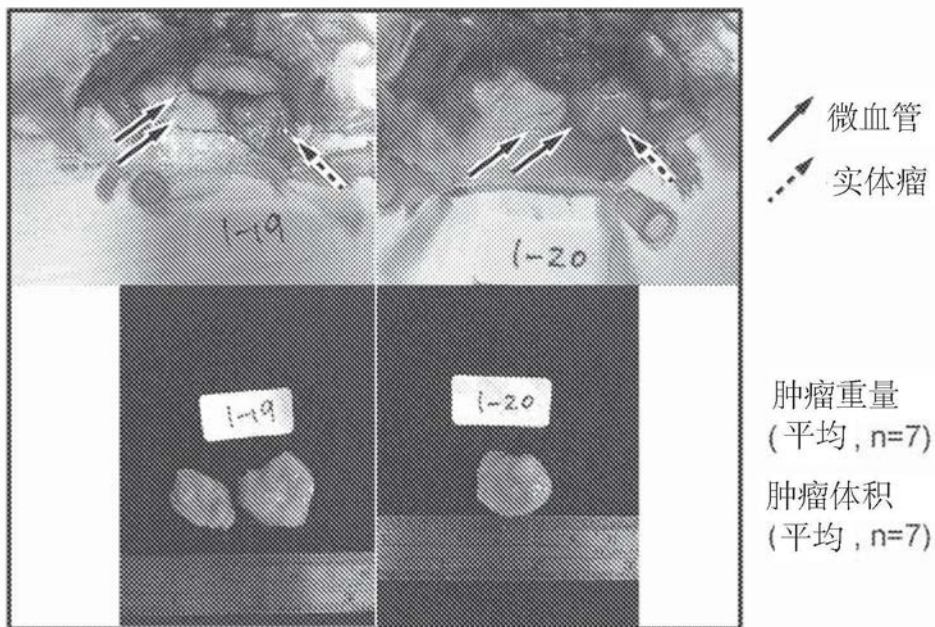


图24

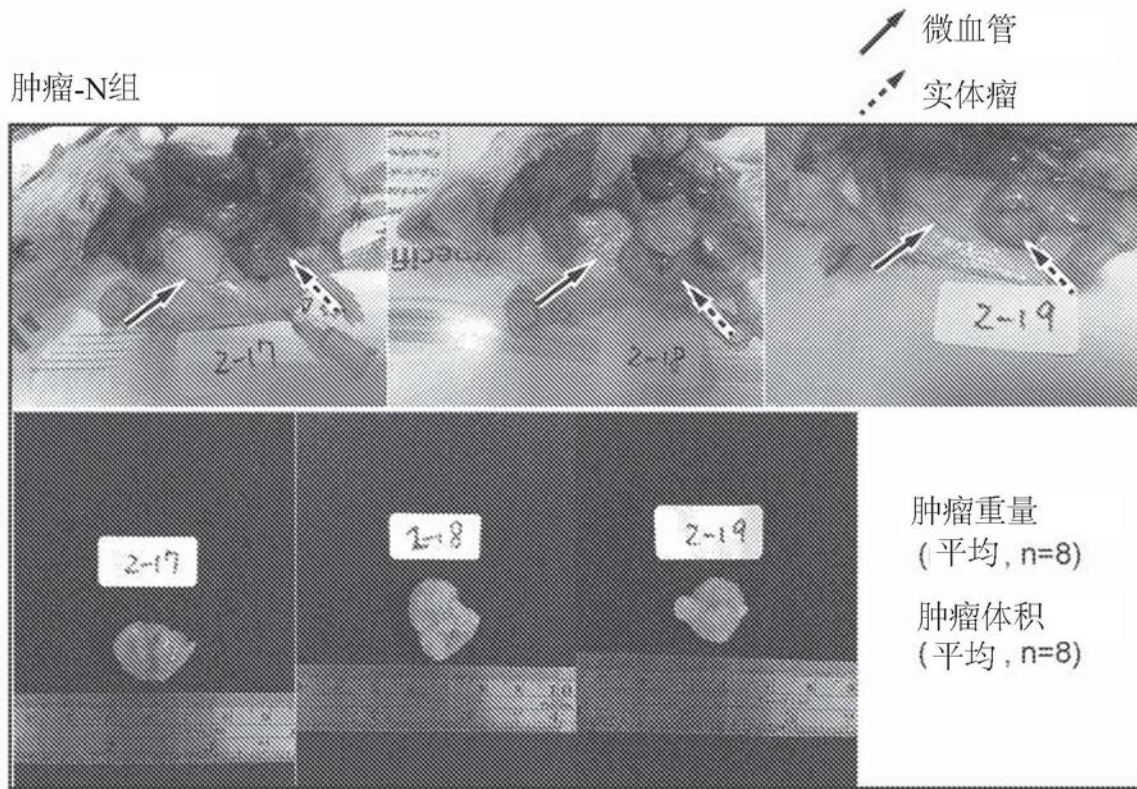


图25

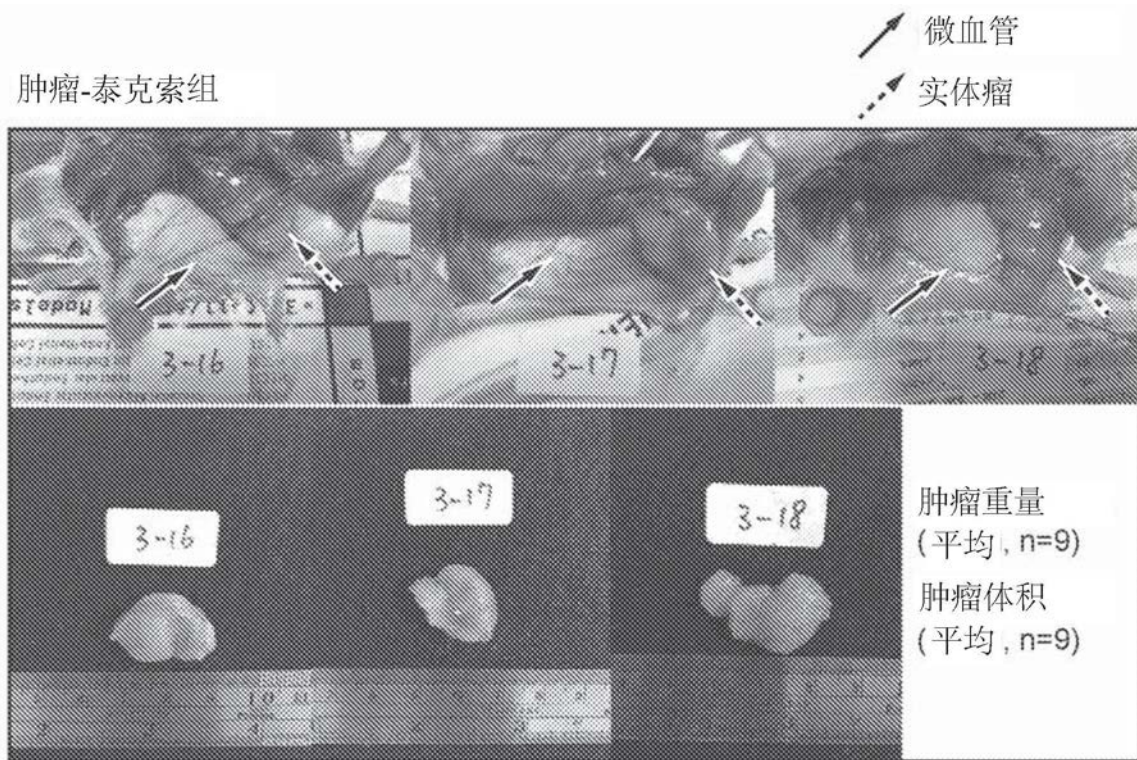


图26

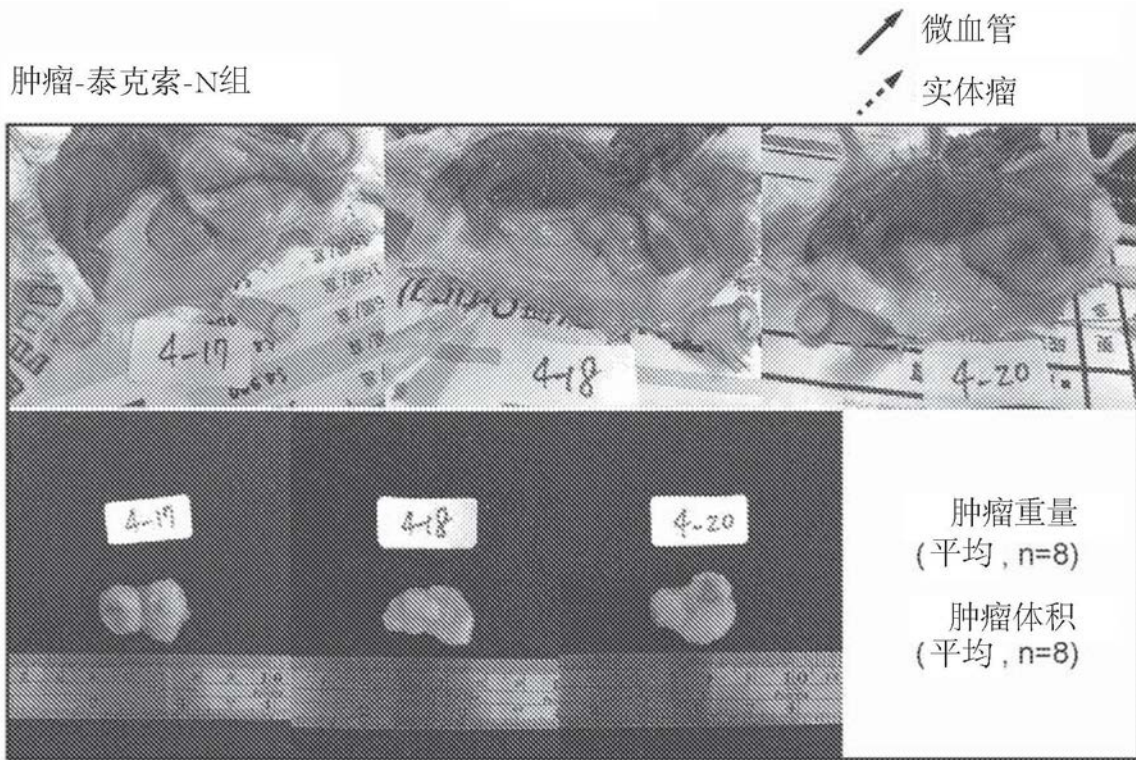


图27



图28

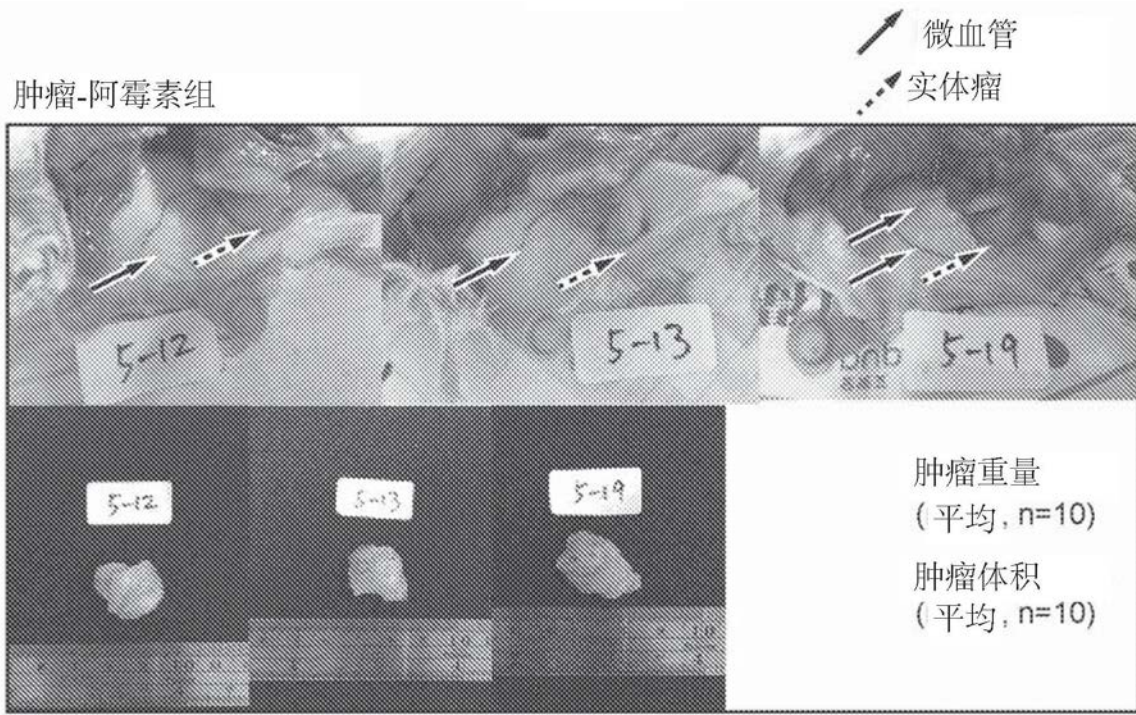


图29

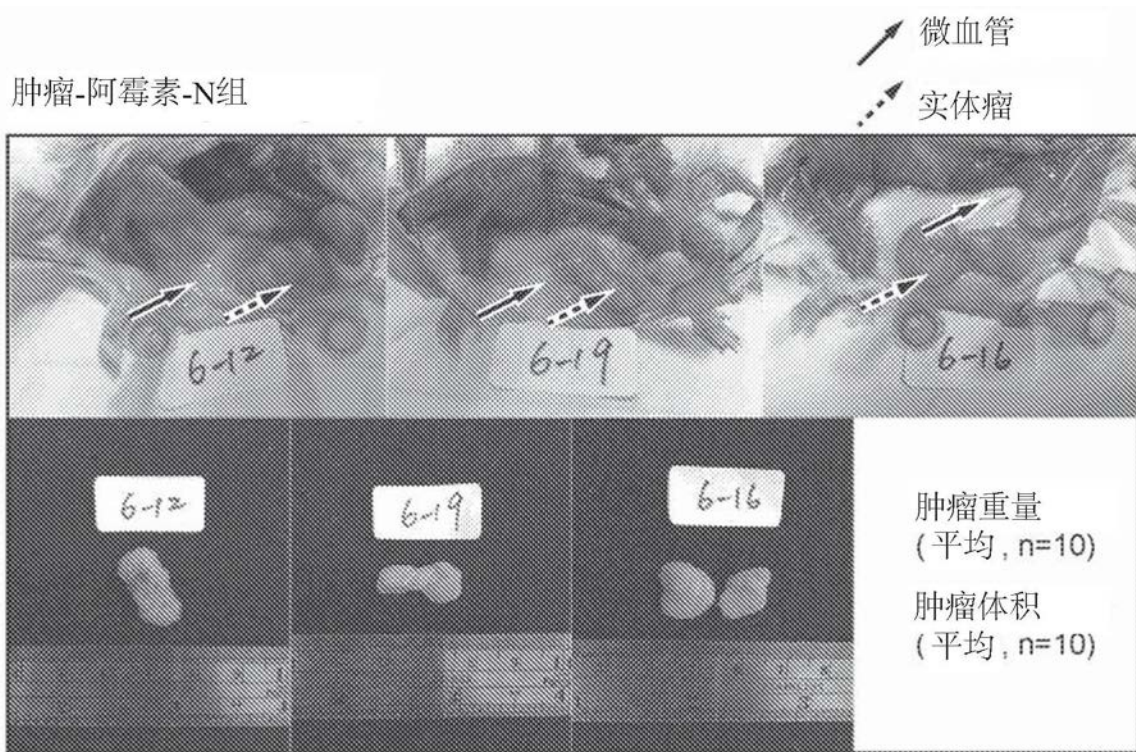


图30

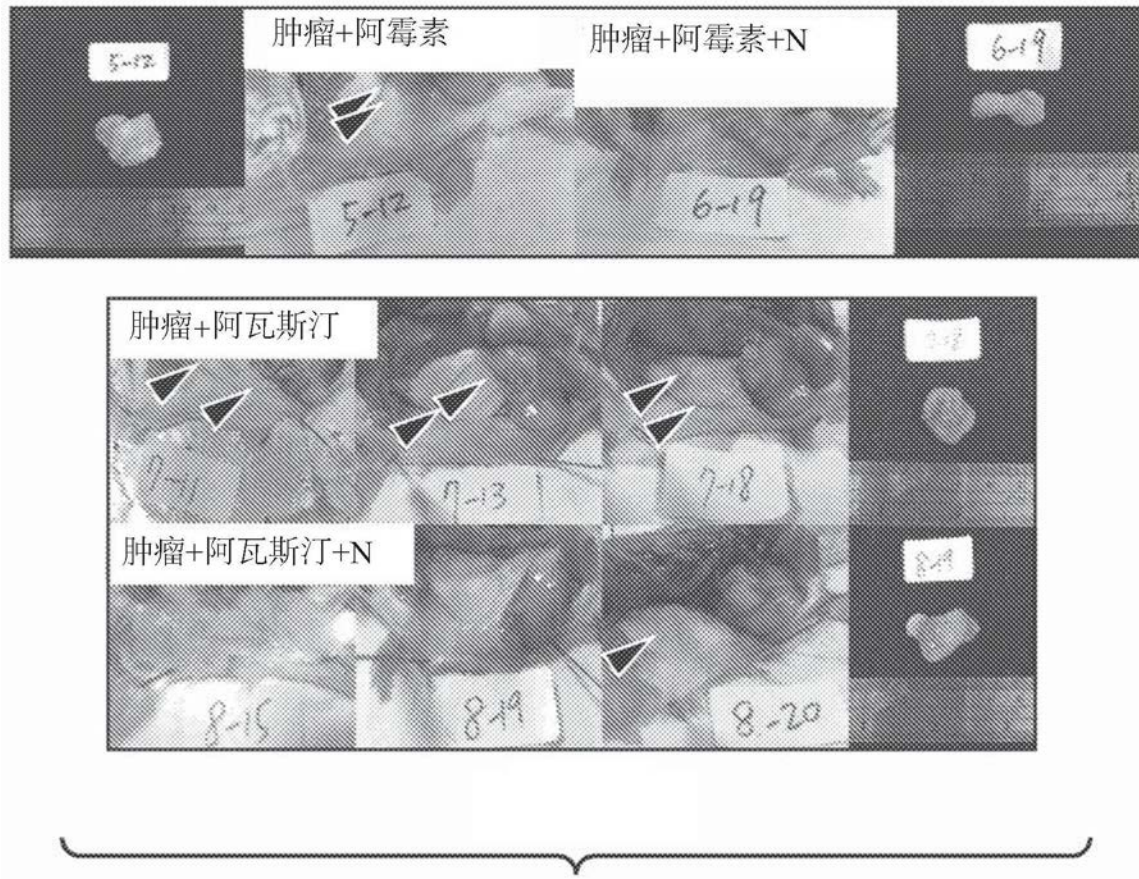


图31

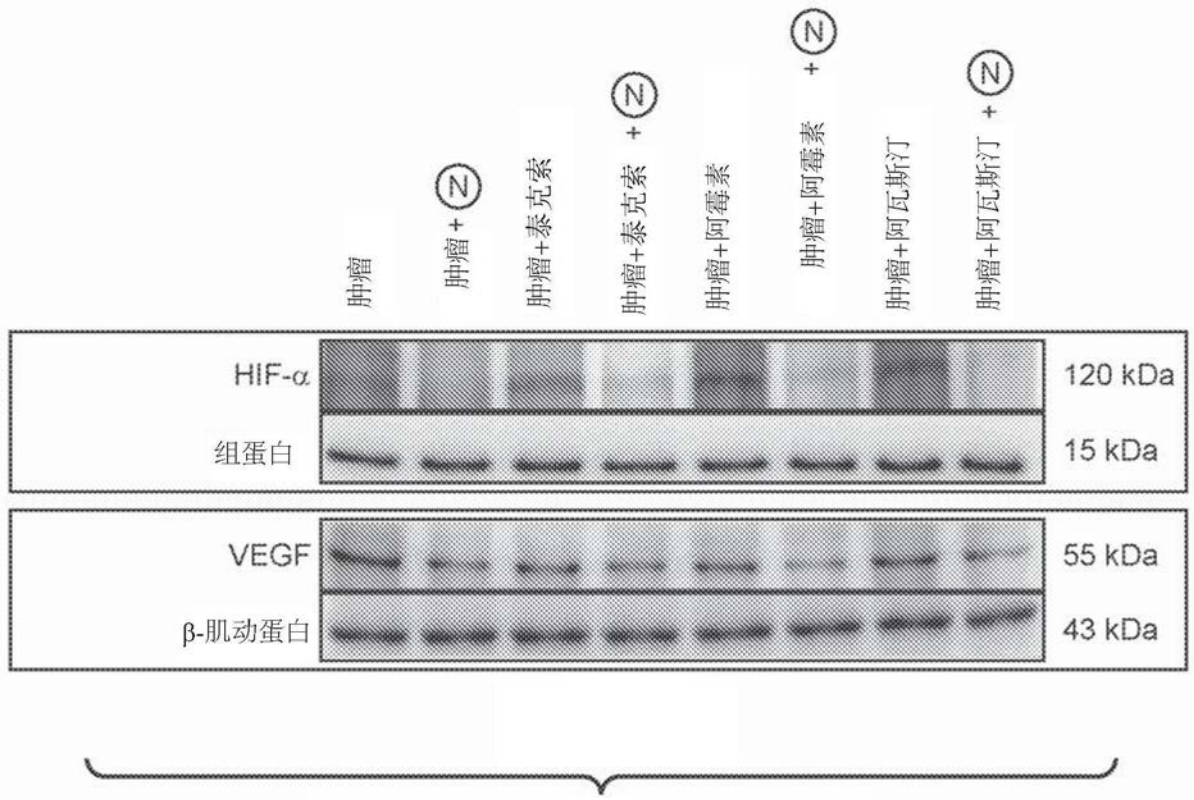


图32

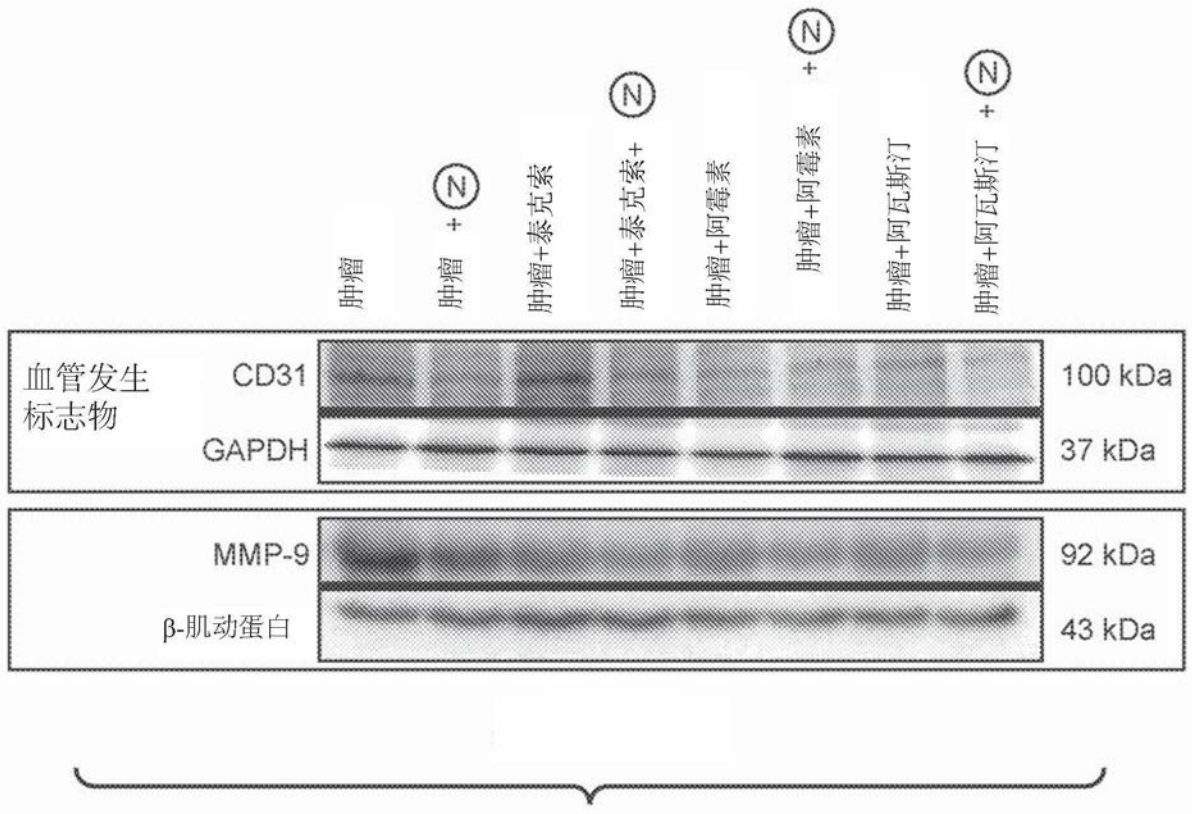


图33

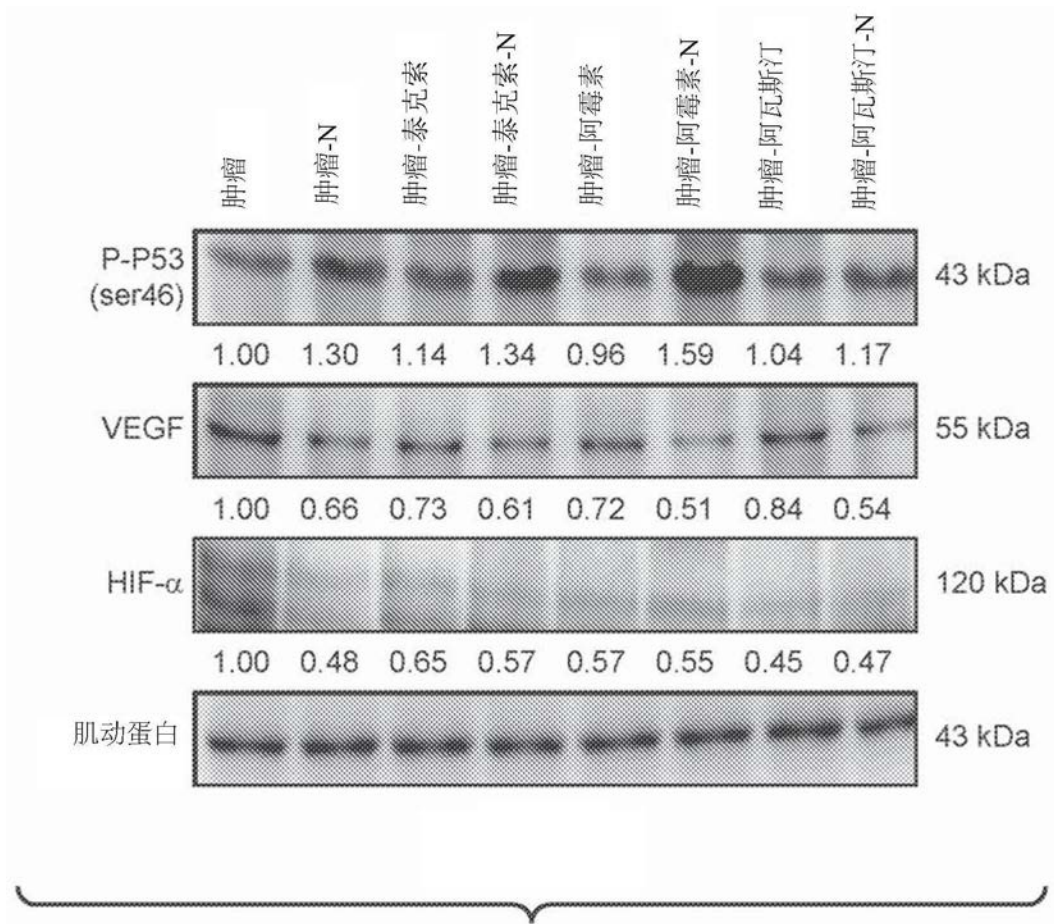


图35

硒酵母和鱼油对A549细胞周期分布的作用 (处理72h)

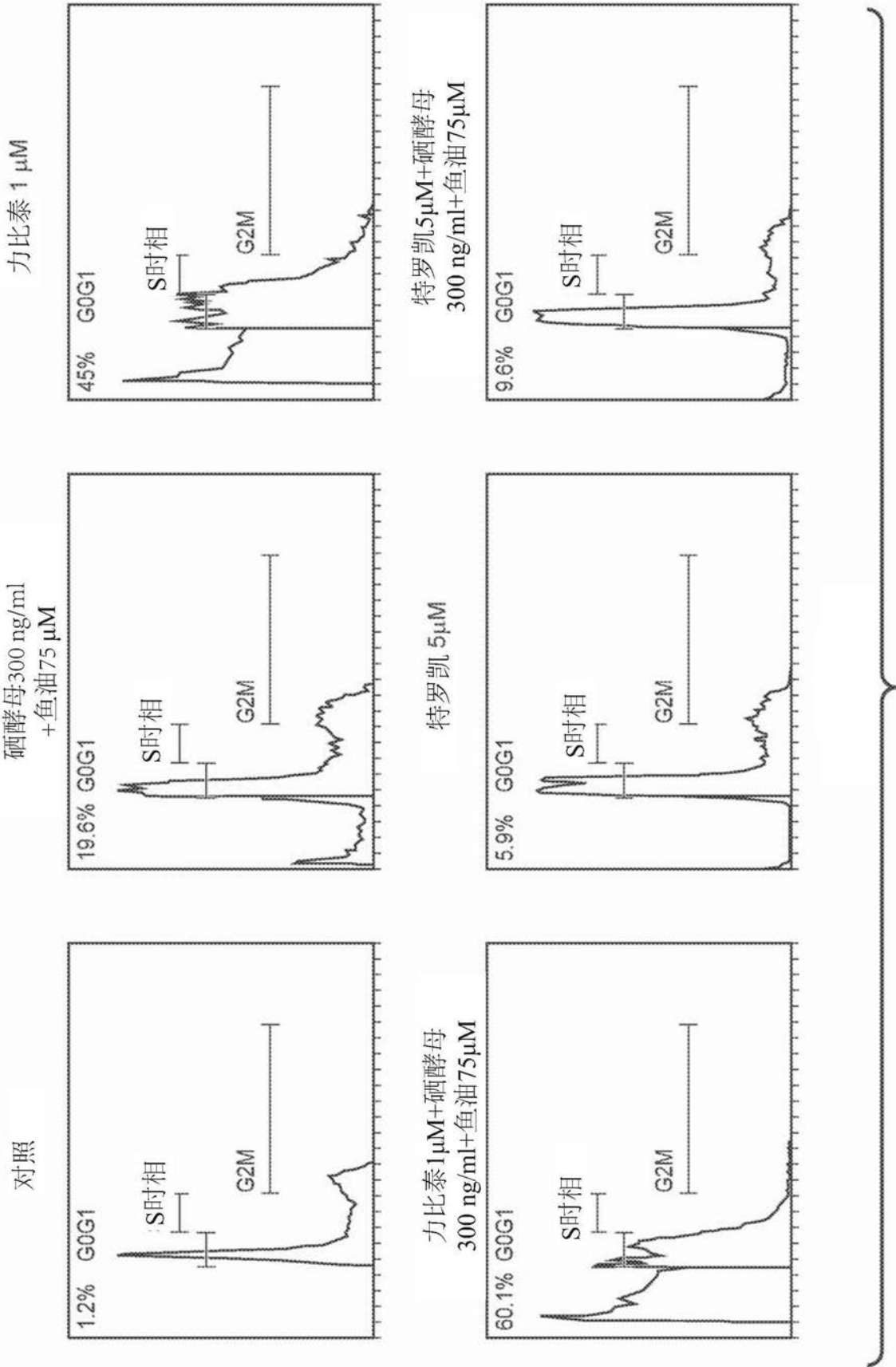


图34

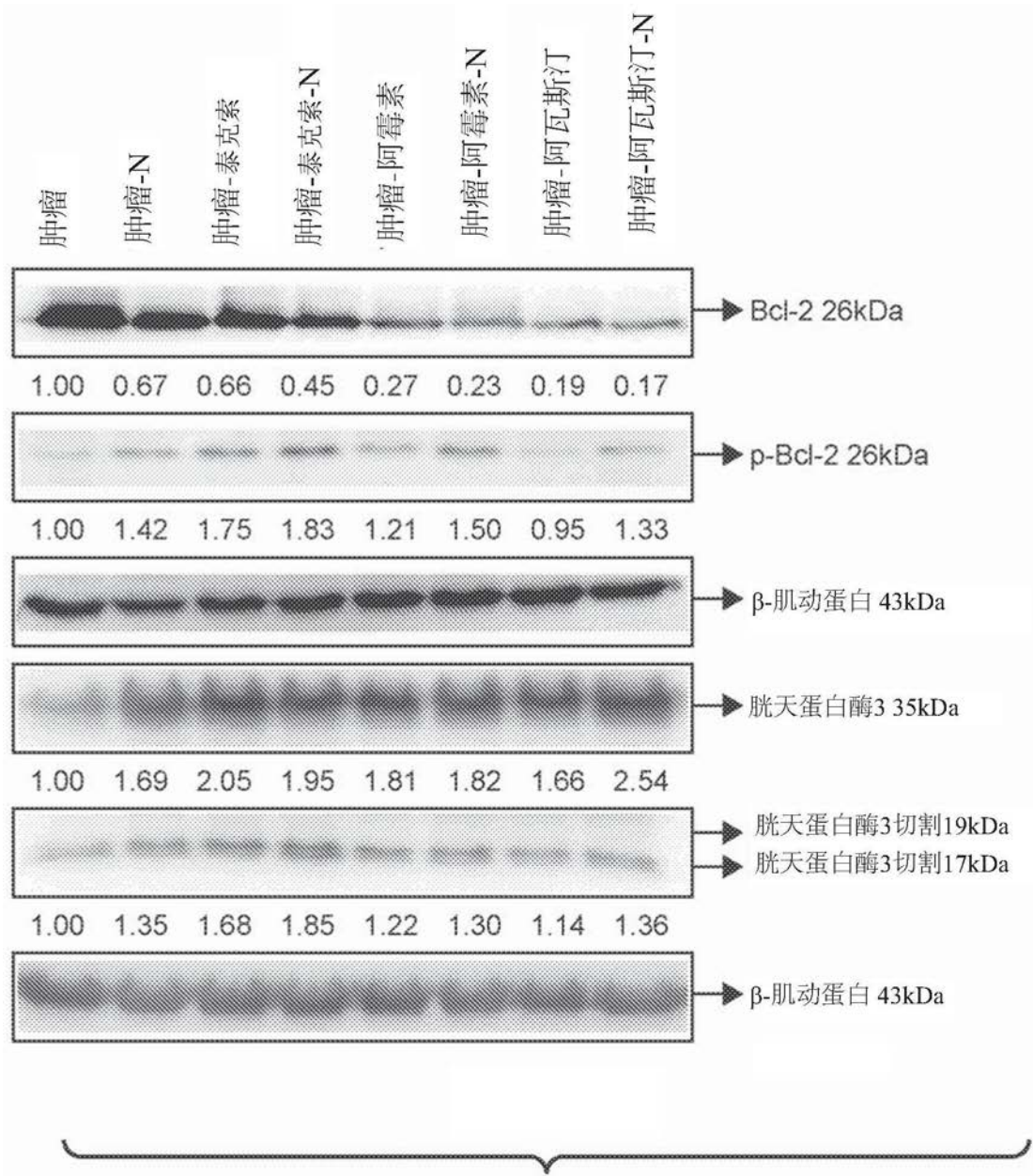


图36

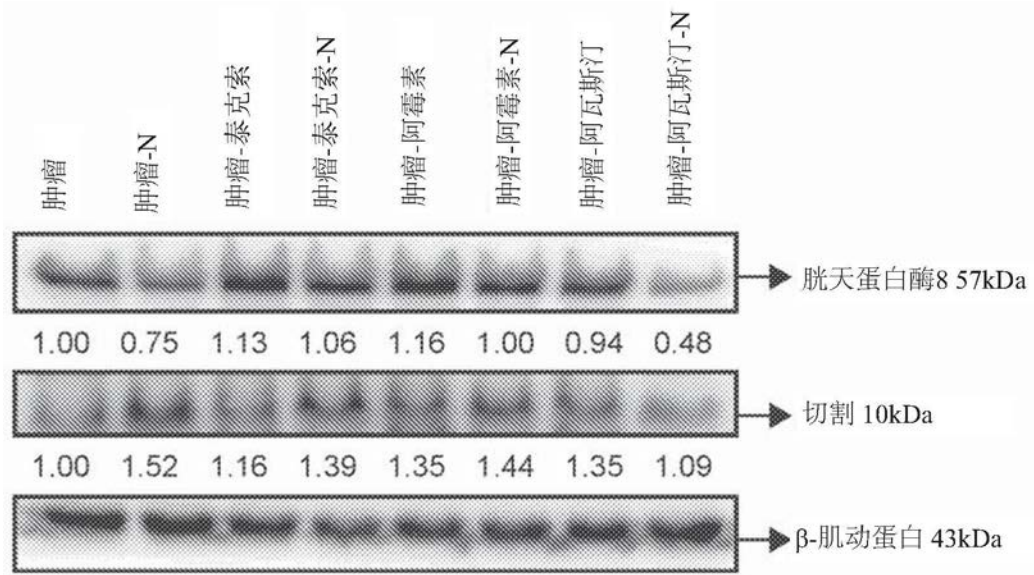


图37

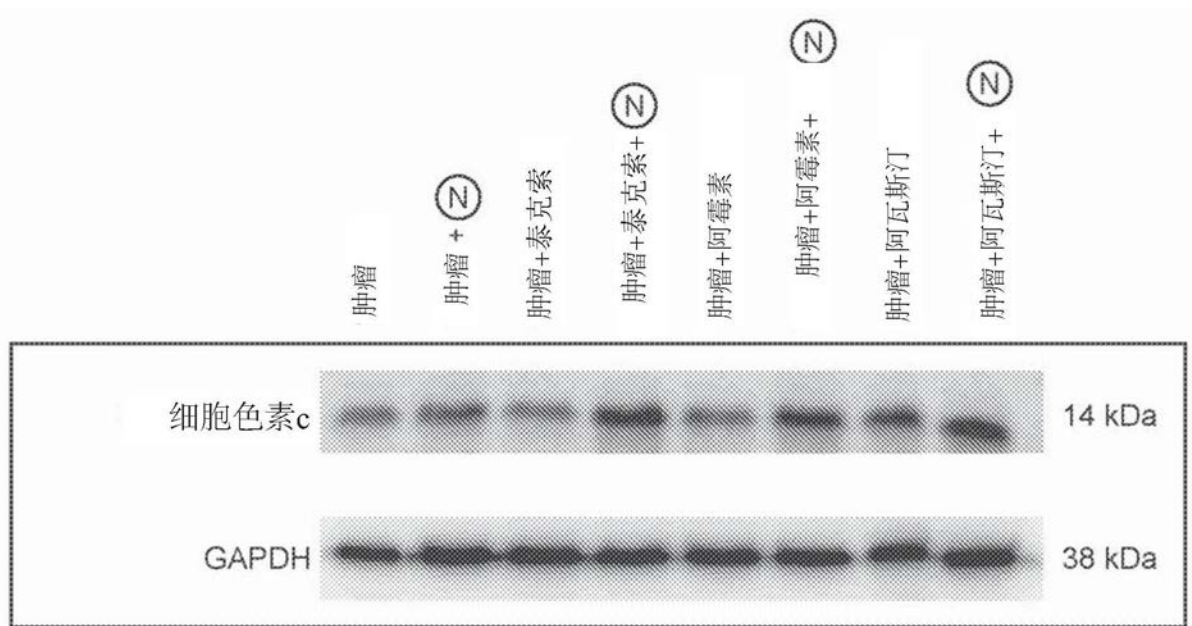


图38

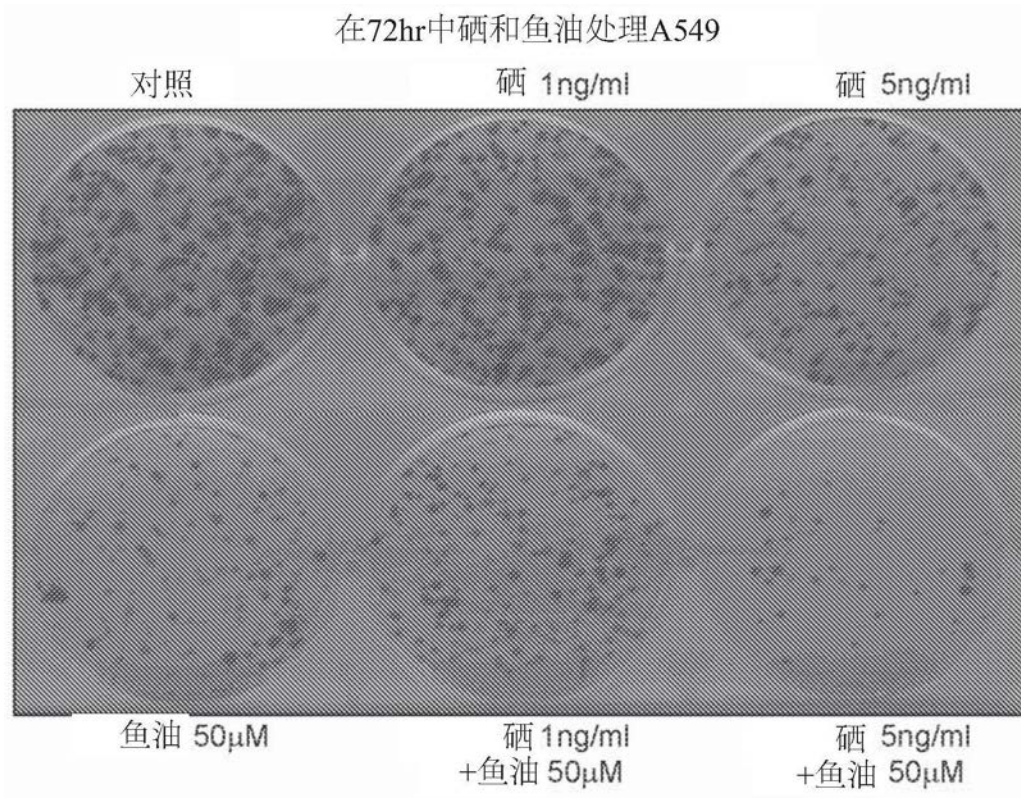


图39

用硒和鱼油处理A549肺癌72hr

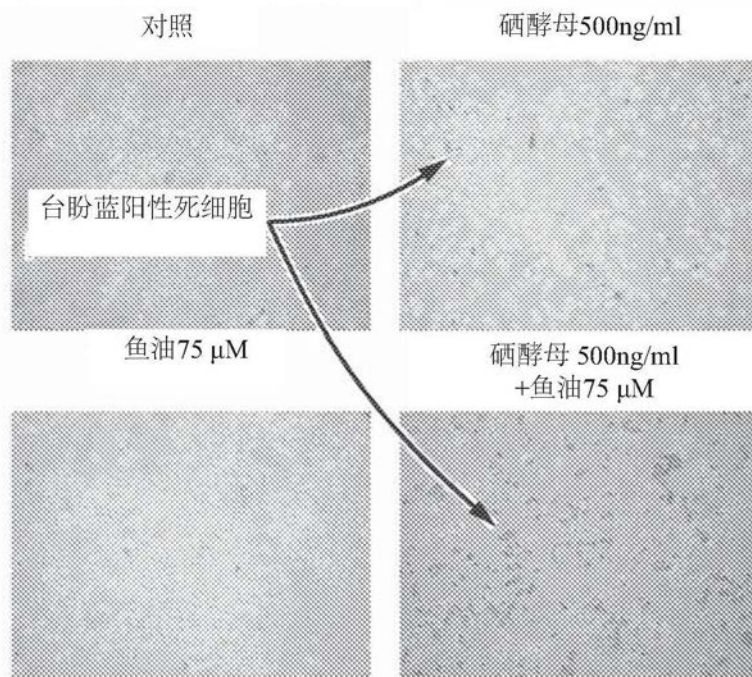


图40

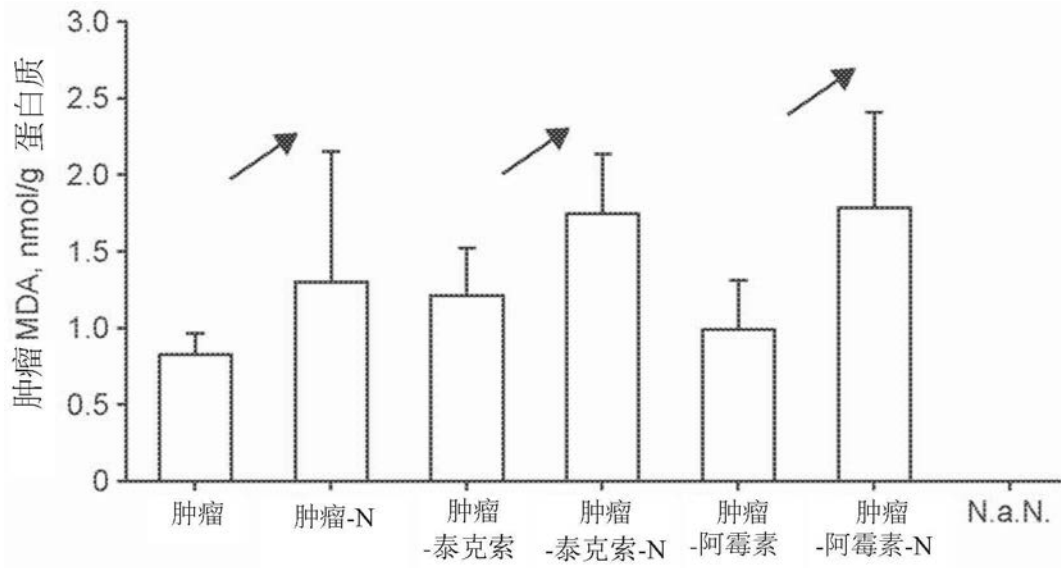


图41

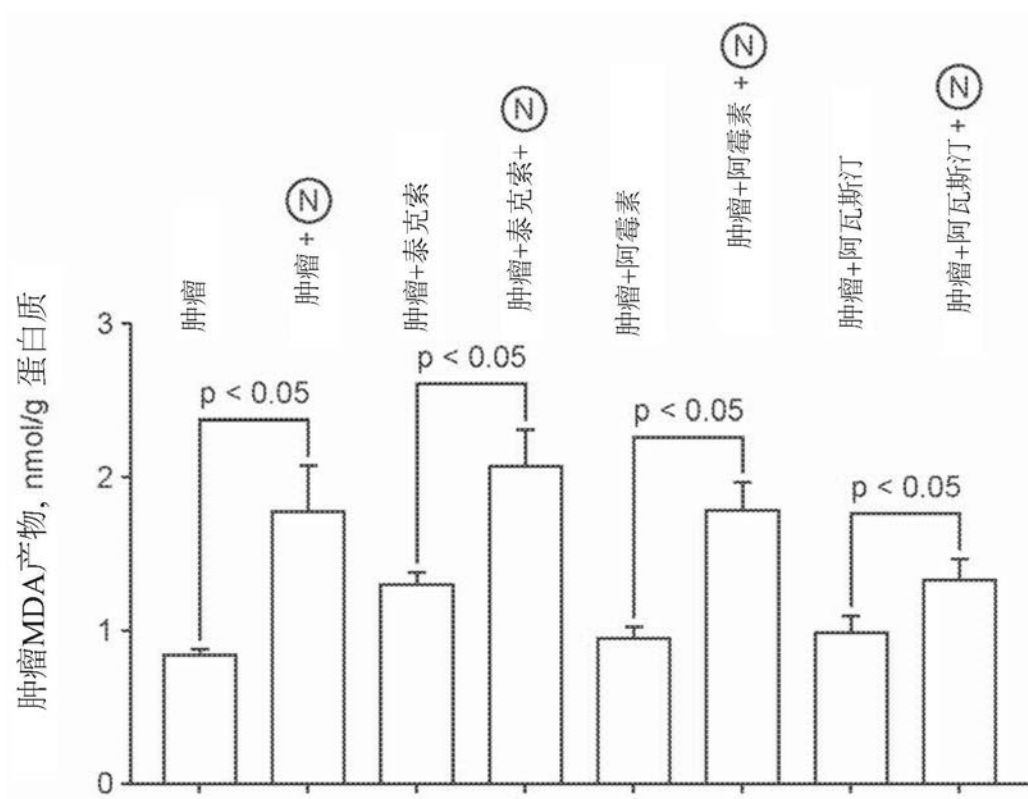


图42

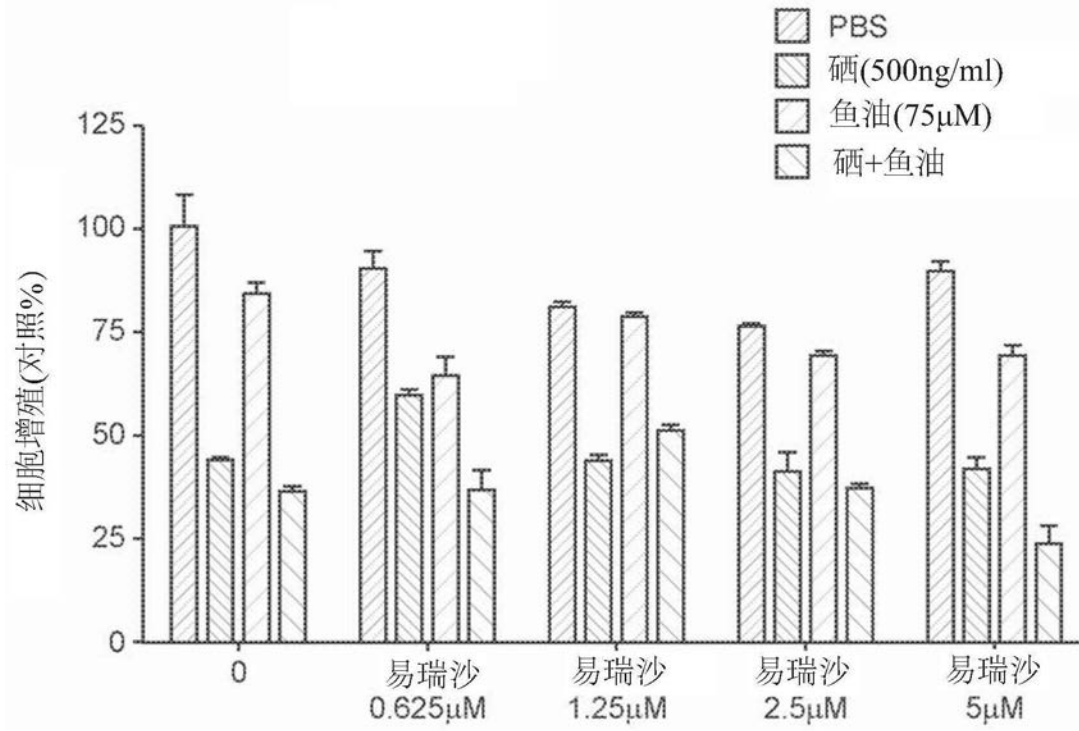


图43

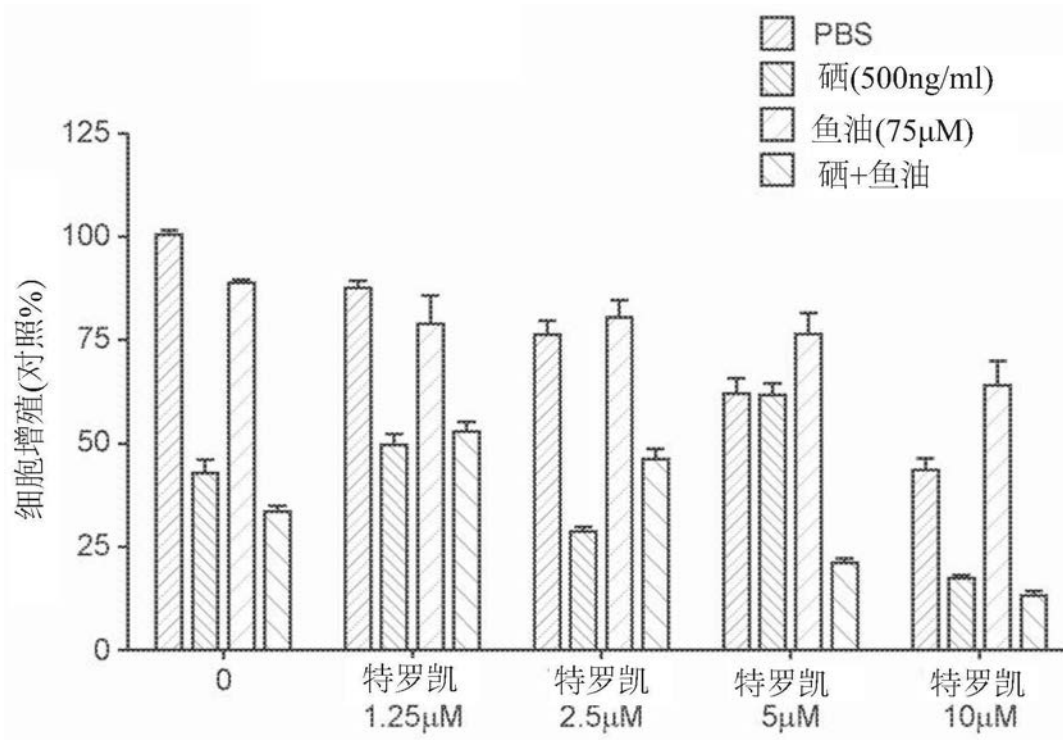


图44

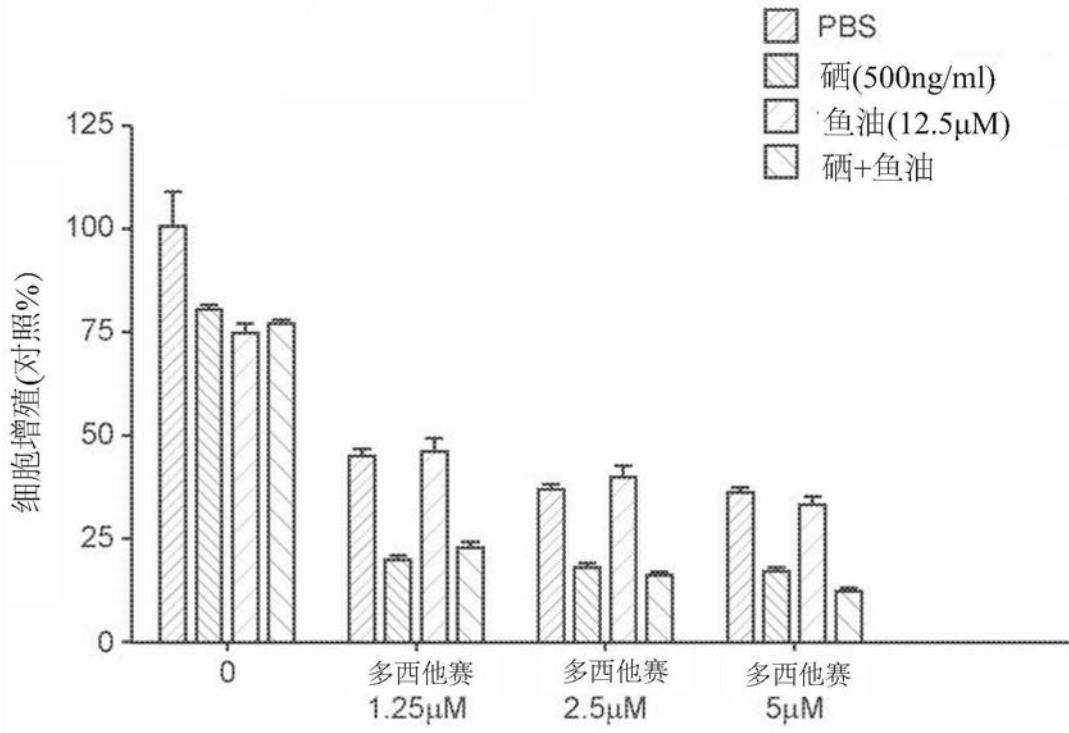


图45

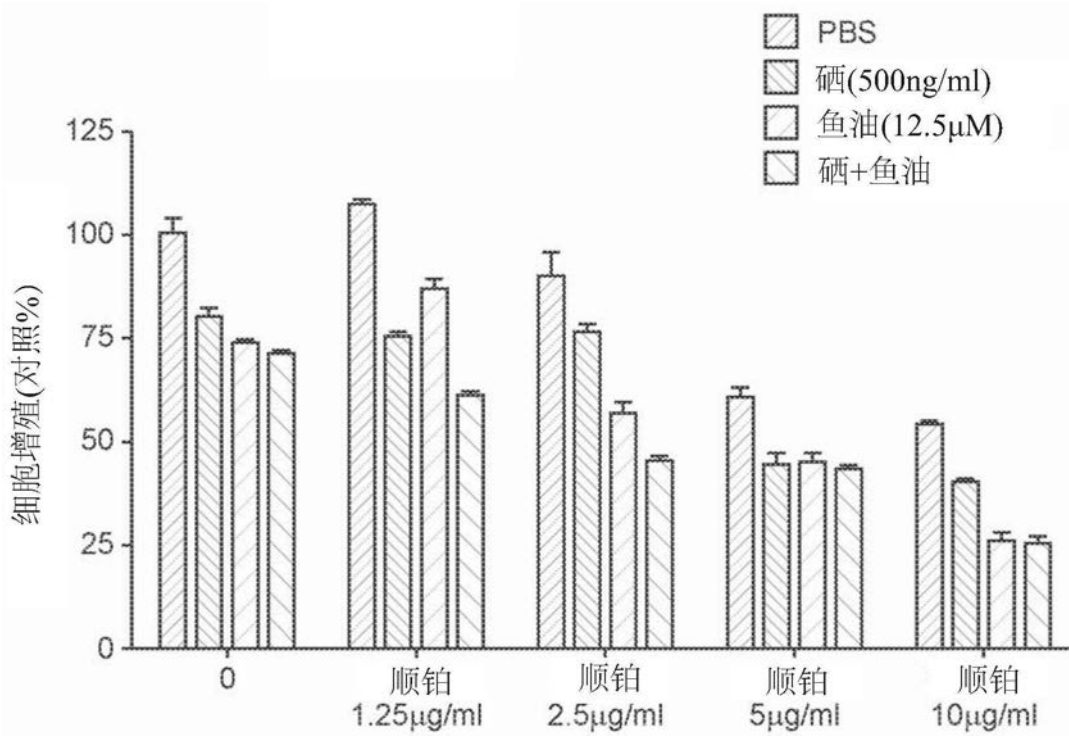


图46

硒酵母和鱼油对A549球细胞周期分布的作用(处理72h)原始数据

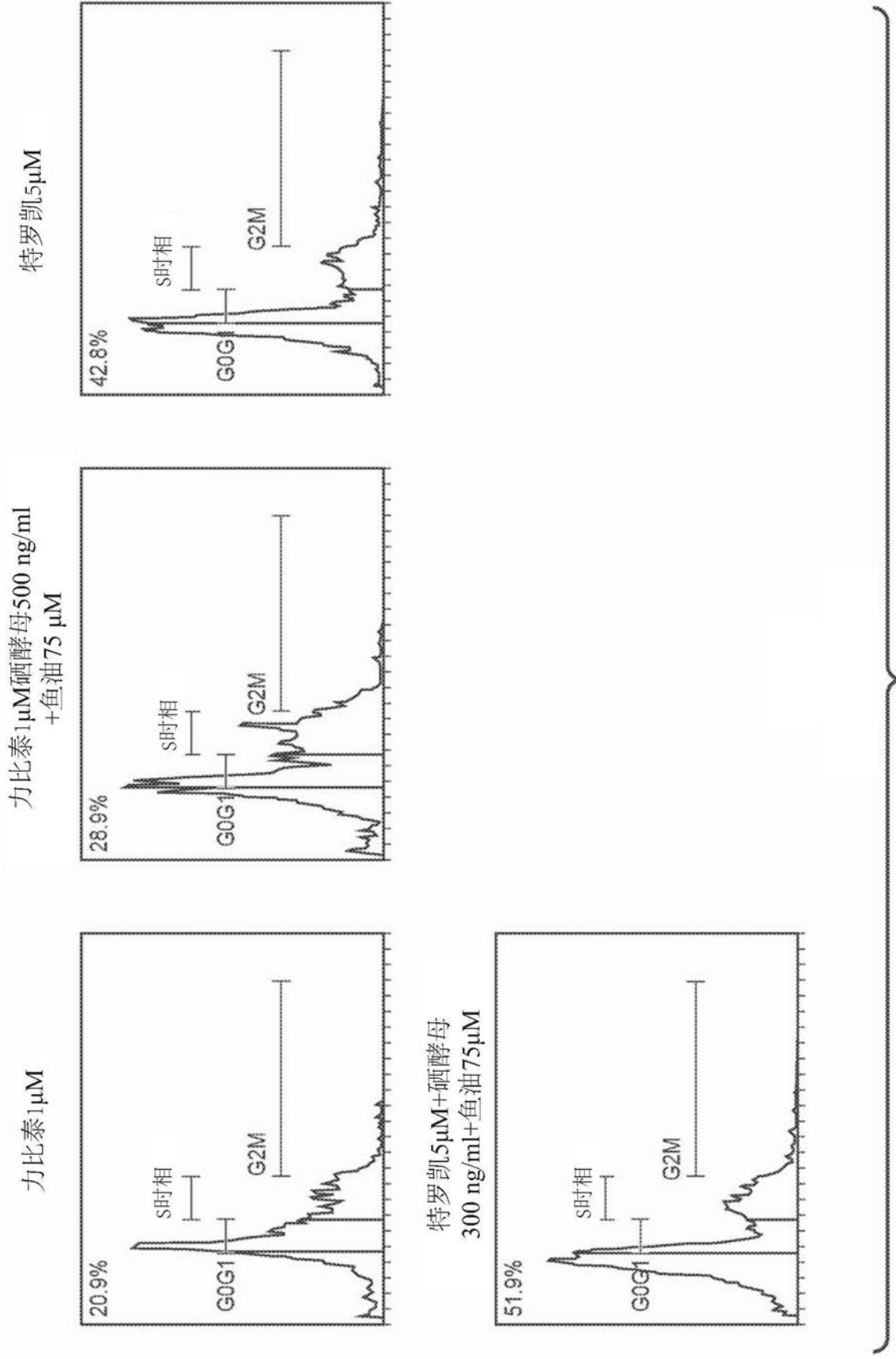


图47

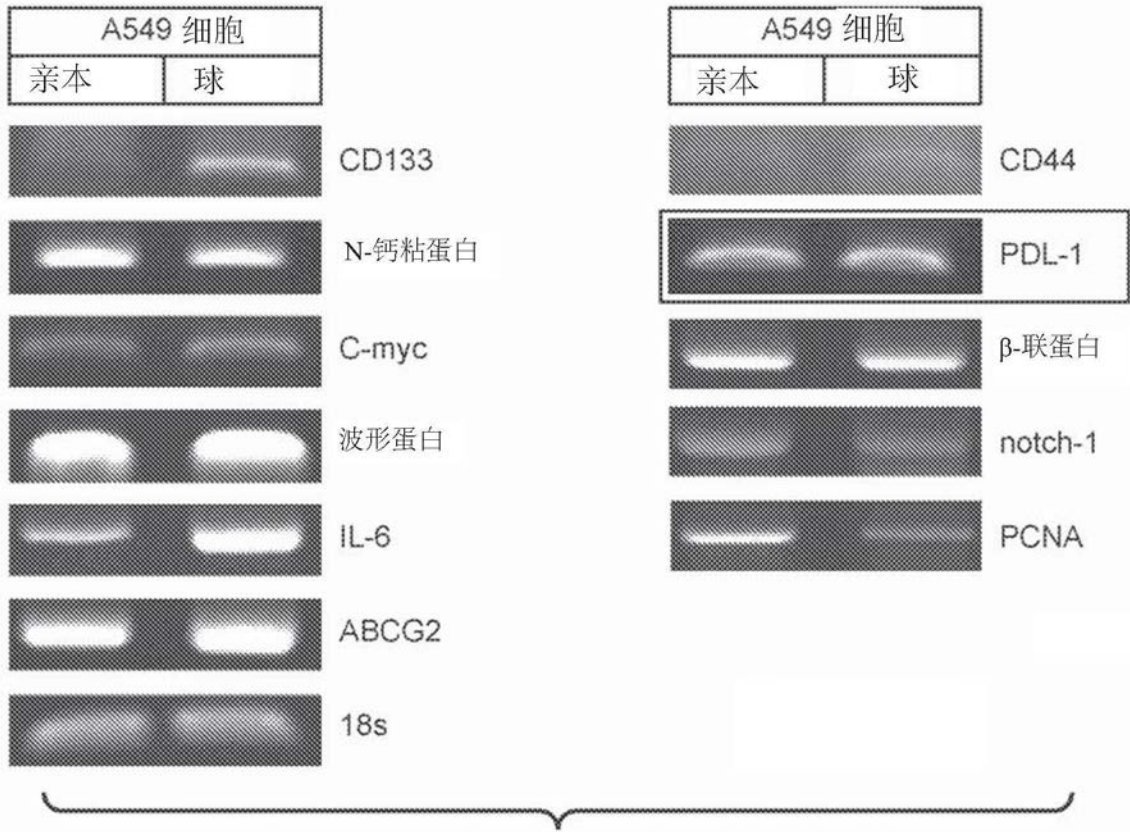


图48

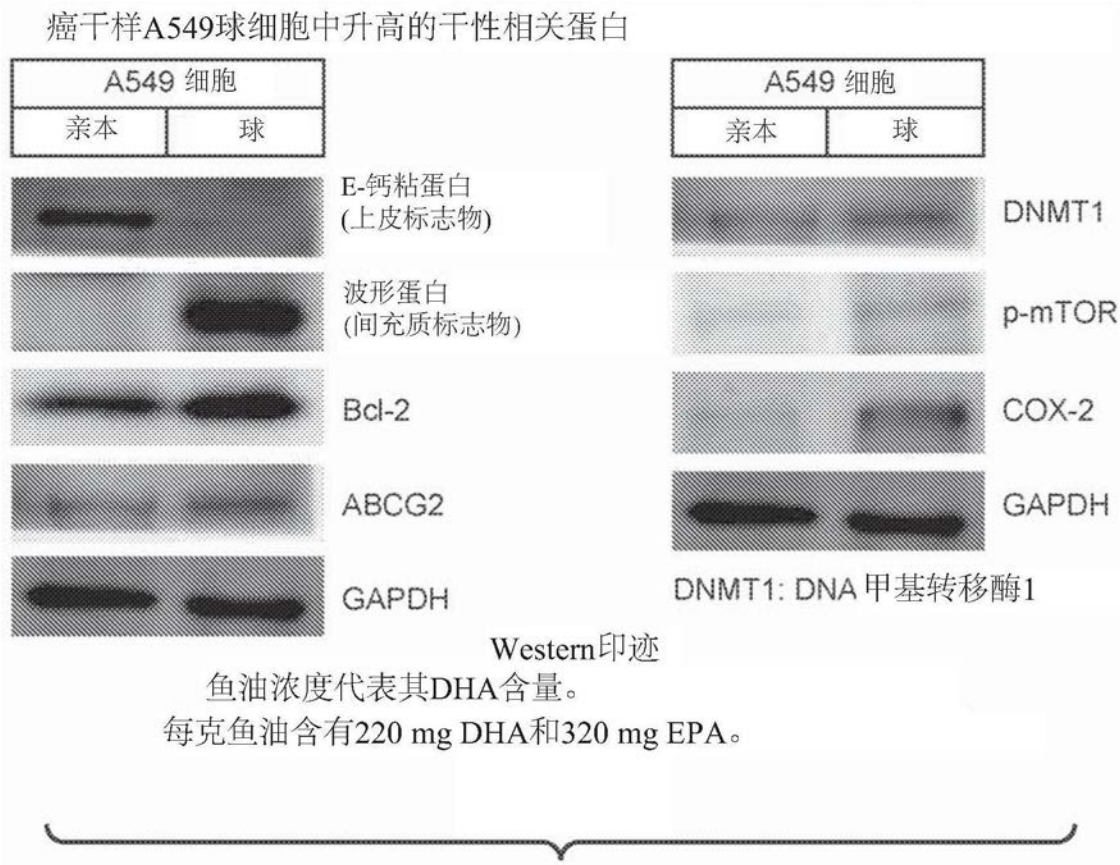


图49

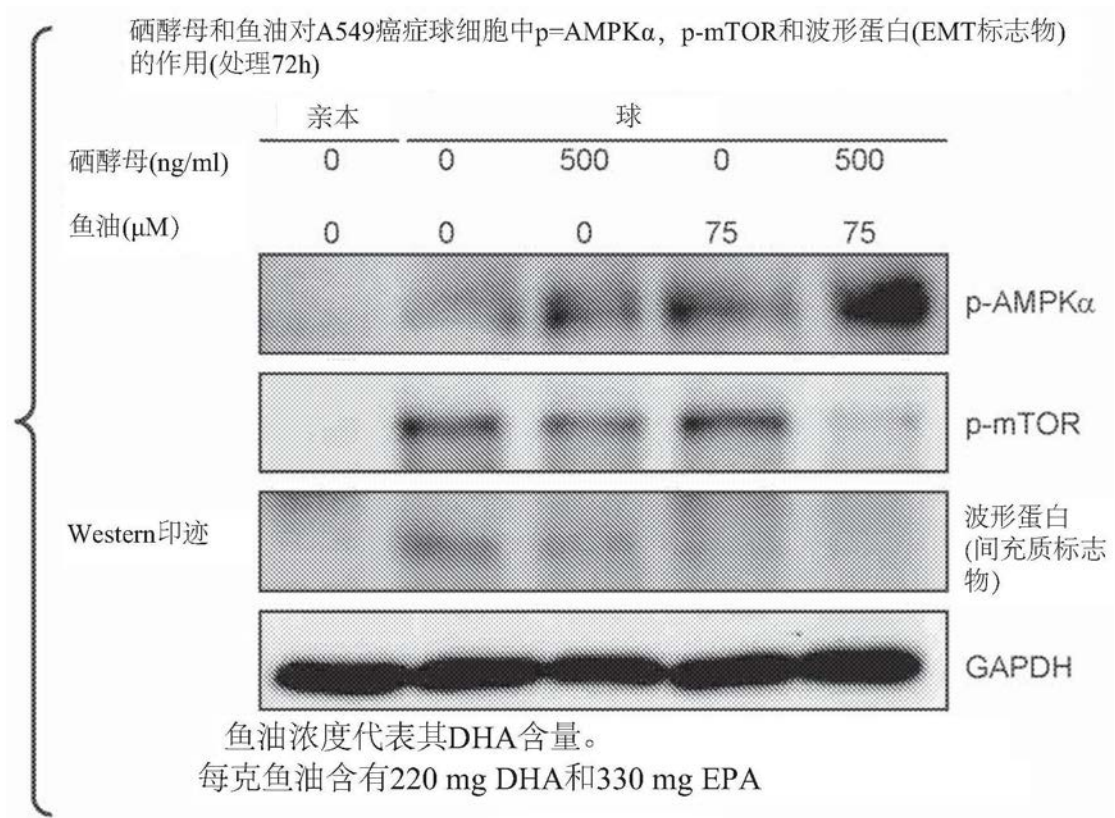


图50

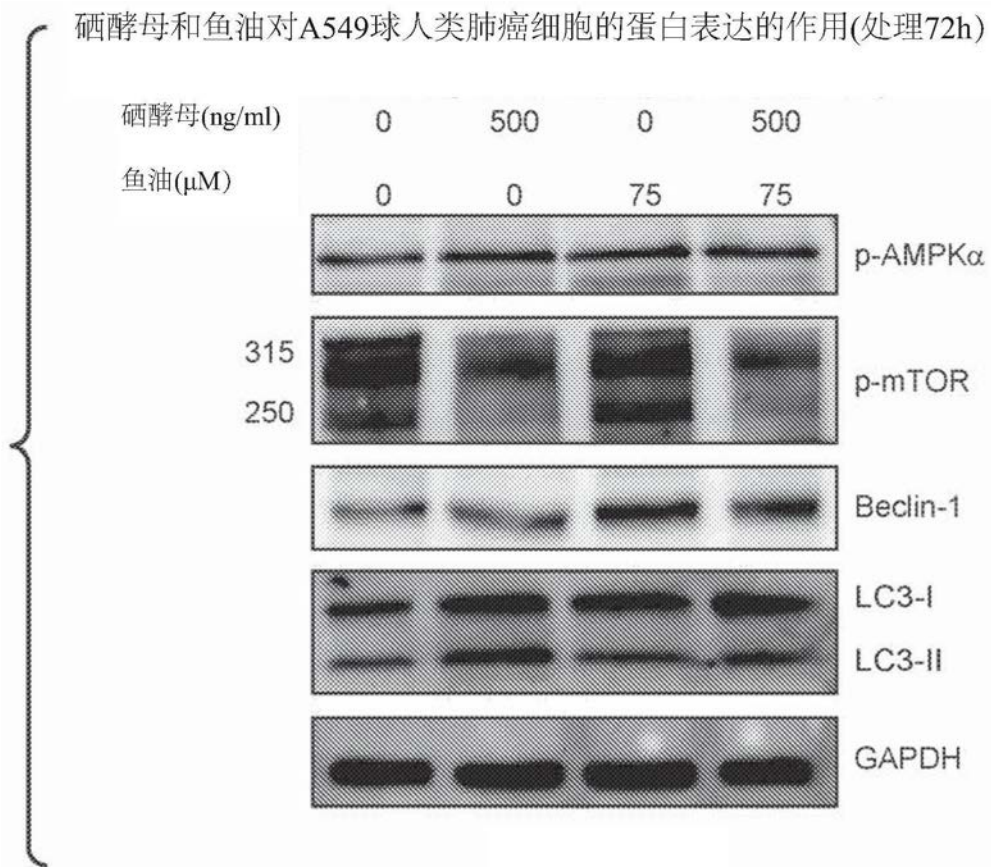


图51

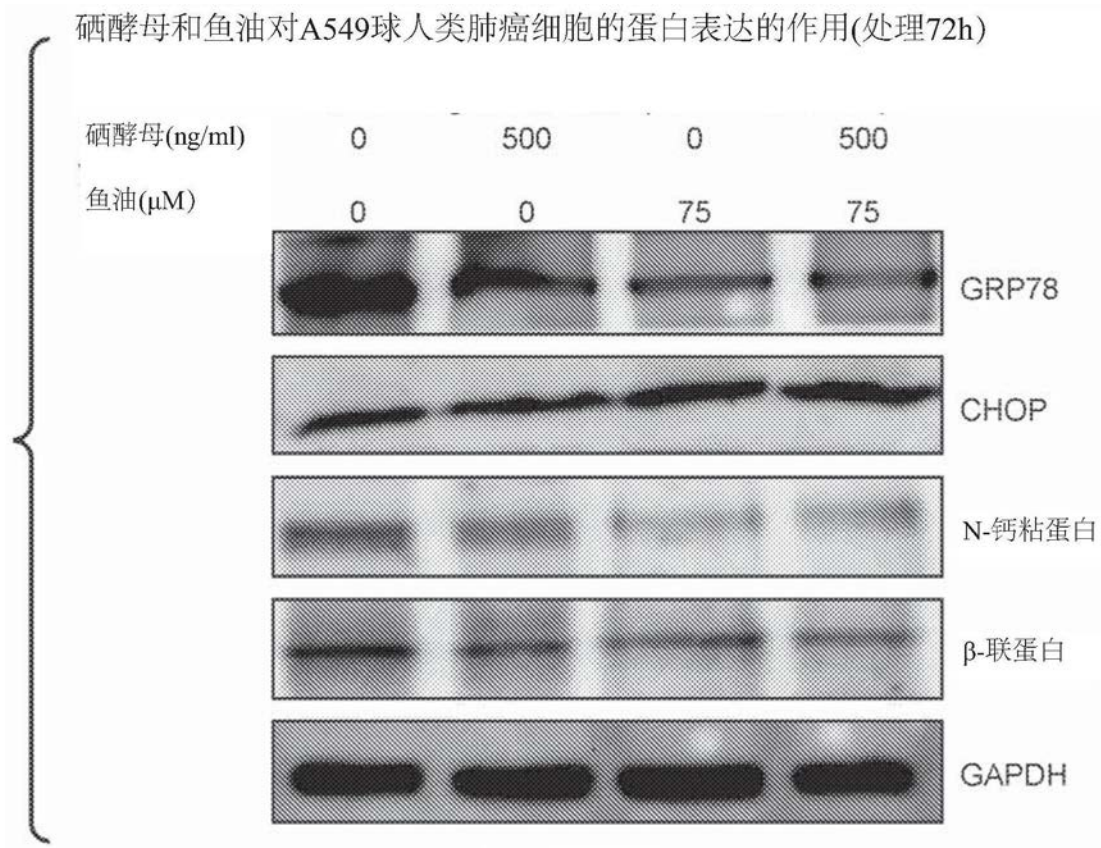


图52

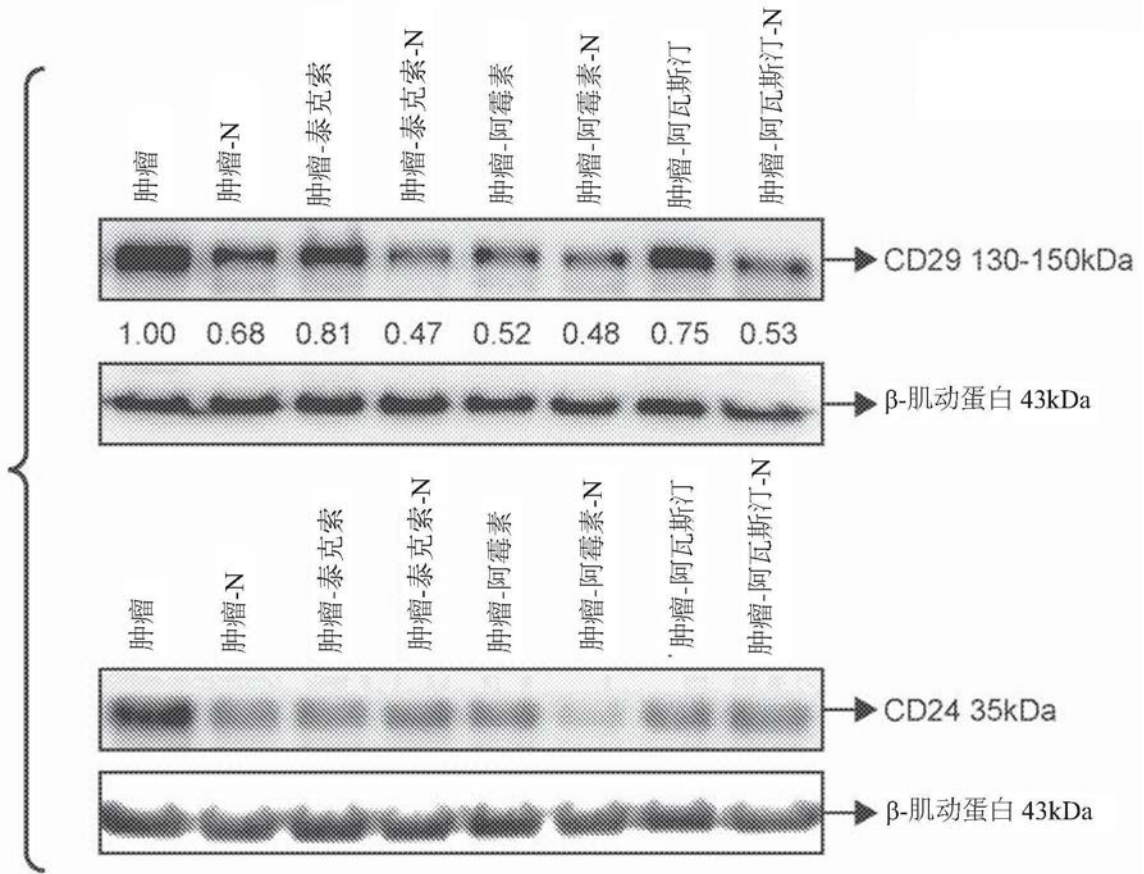


图53

HCC827Gr细胞中硒酵母和鱼油的作用(处理72小时)

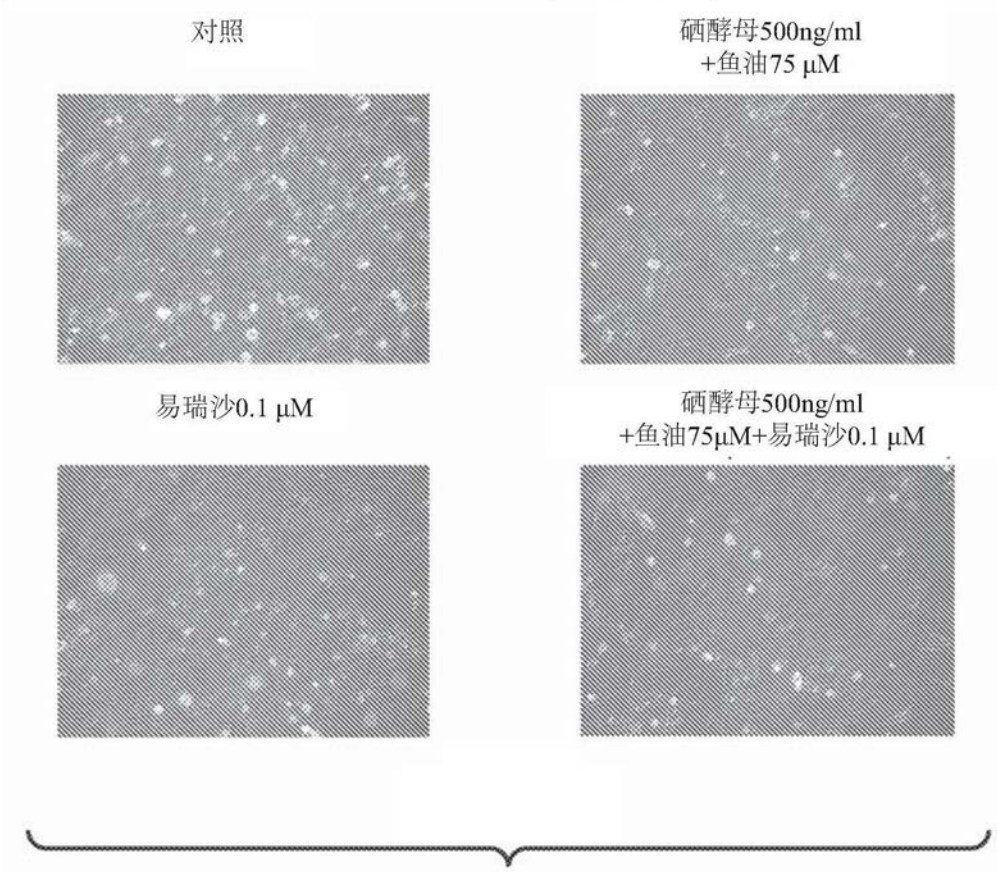


图54

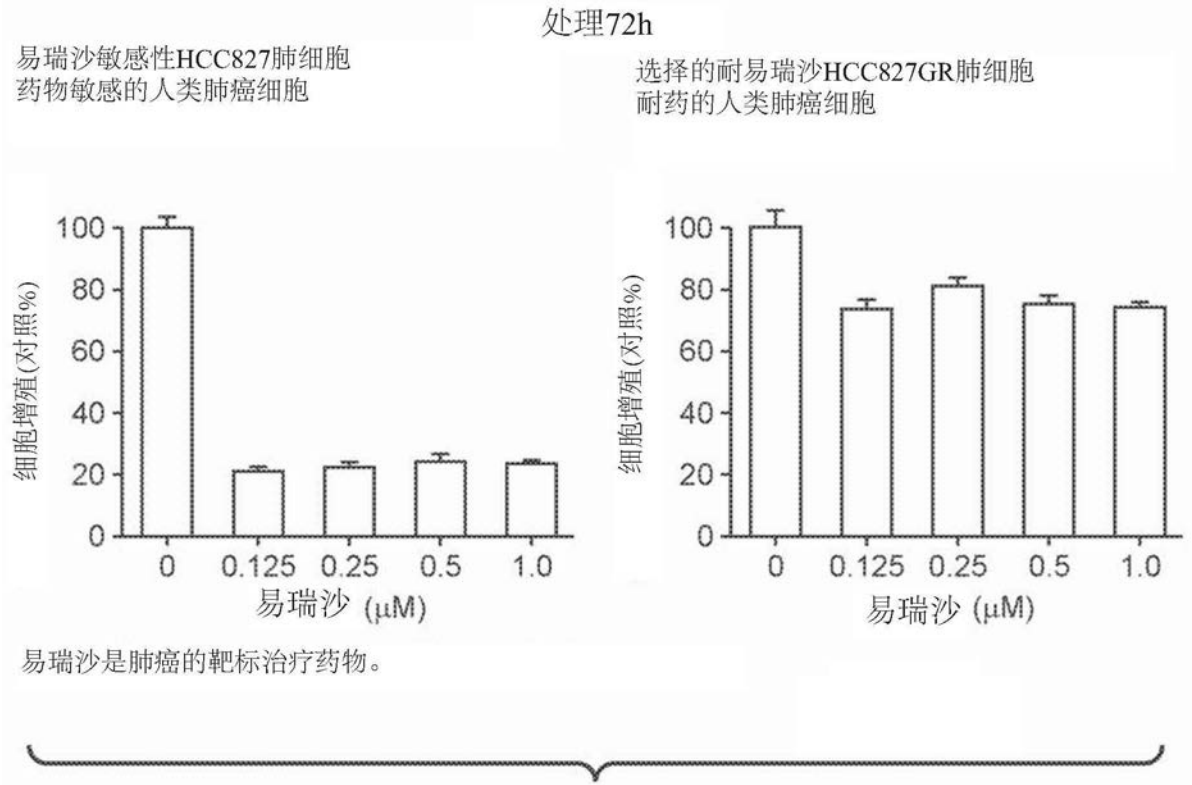
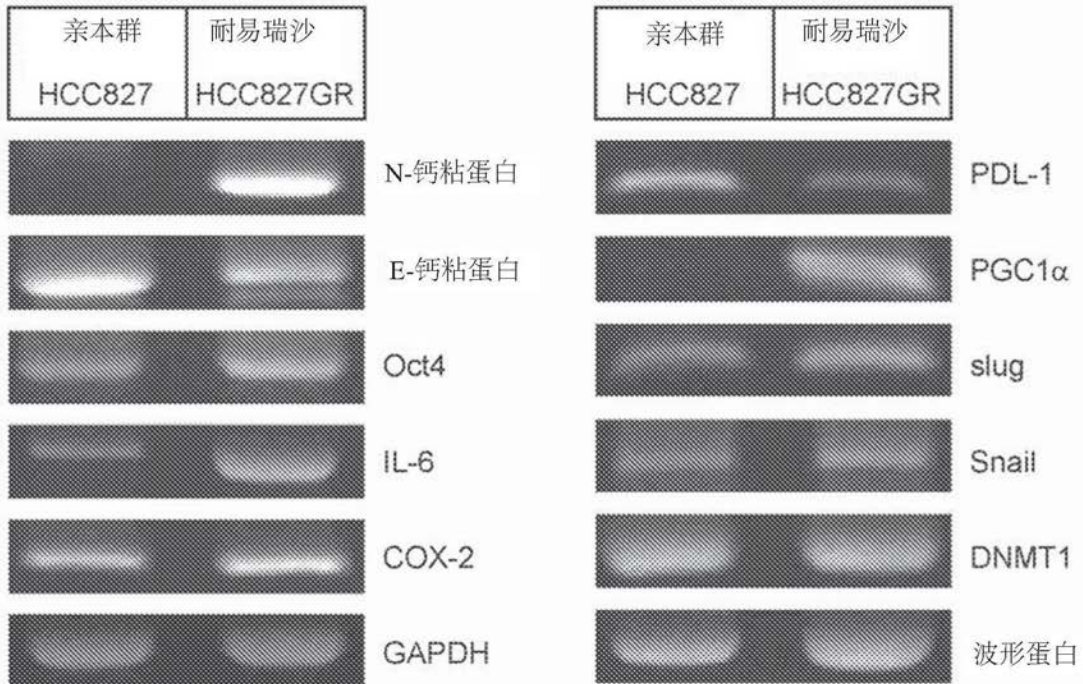


图55

在亲本易瑞沙敏感的肺癌细胞的选择的耐易瑞沙群中癌症干、代谢、免疫和EMT标志物的不同mRNA水平



HCC827GR具有癌症干细胞特性。

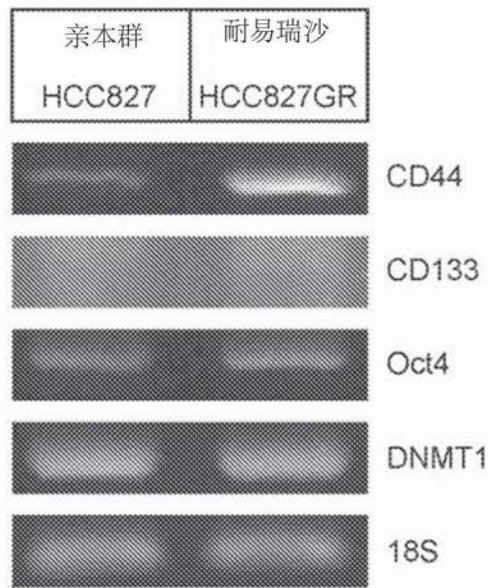


图56

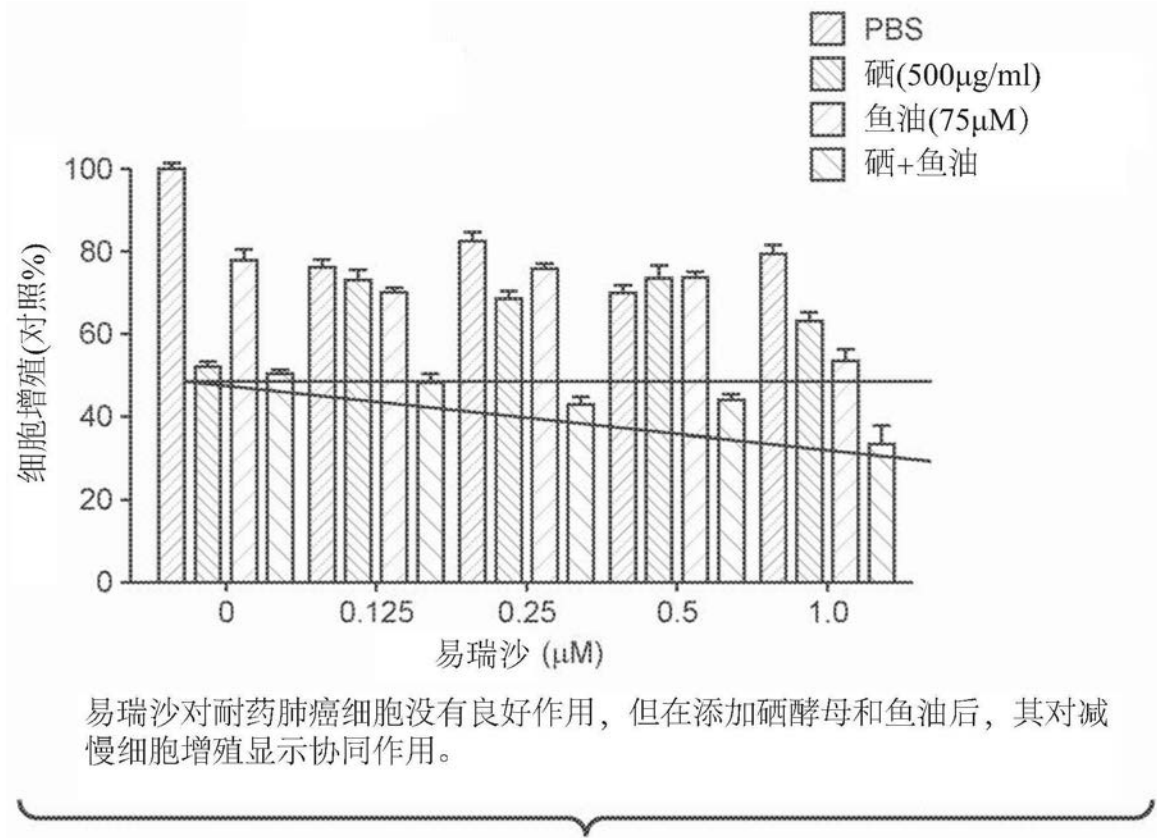


图57

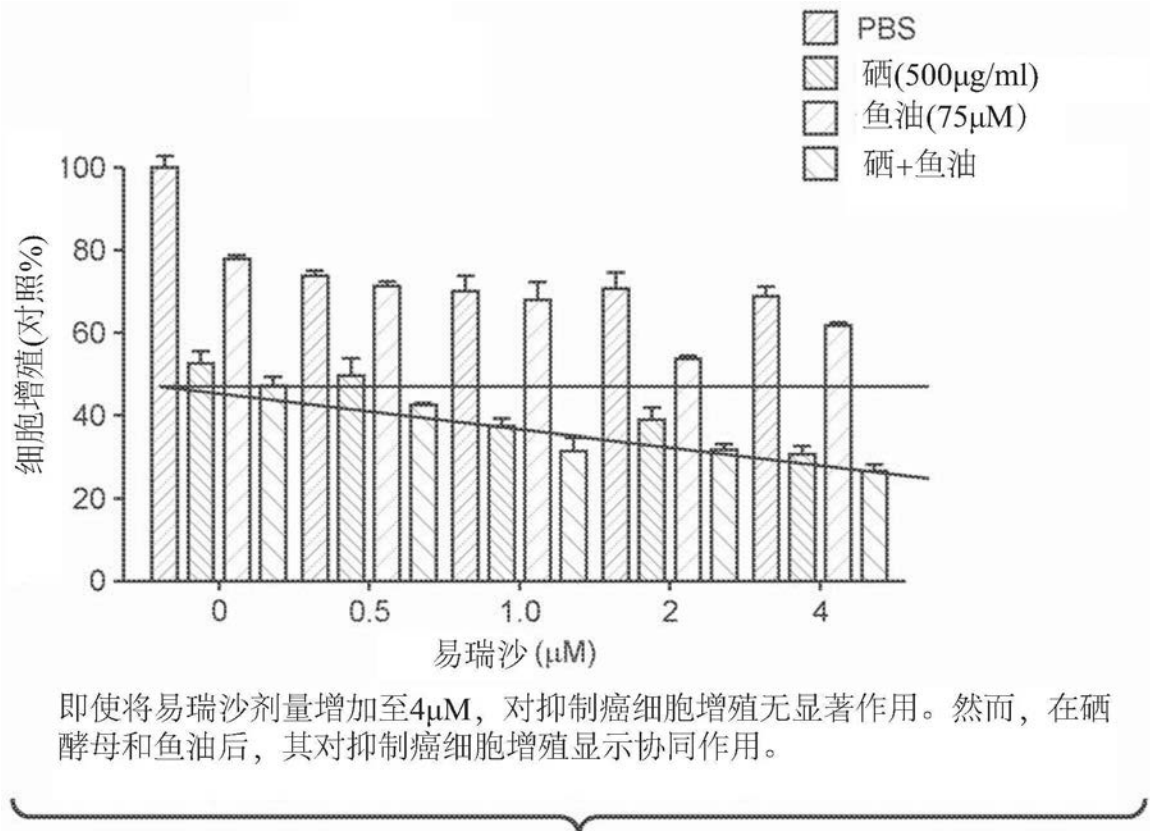


图58

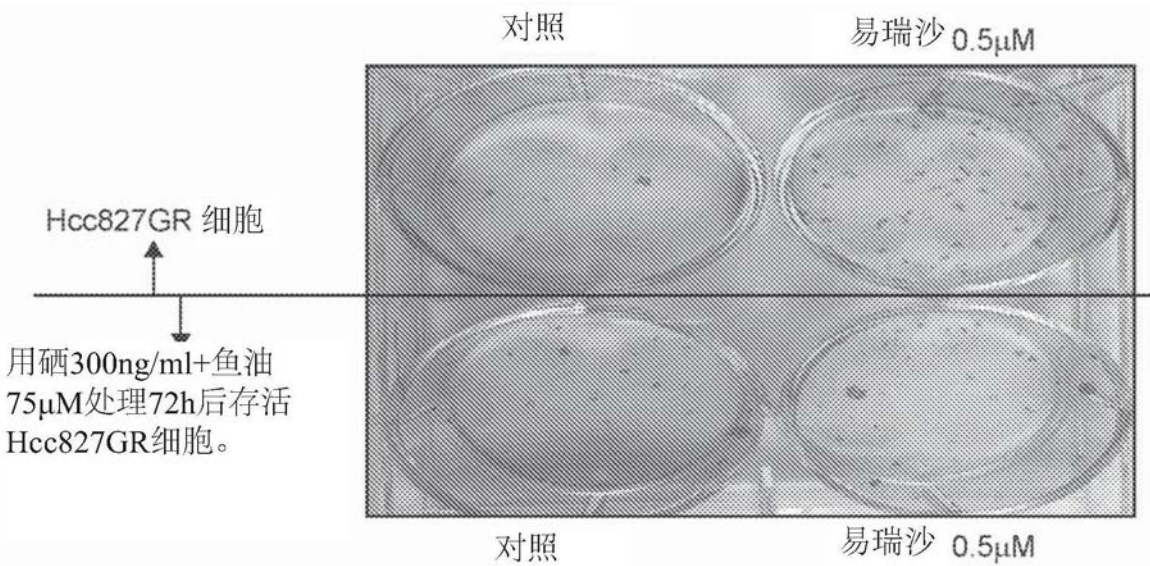


图59

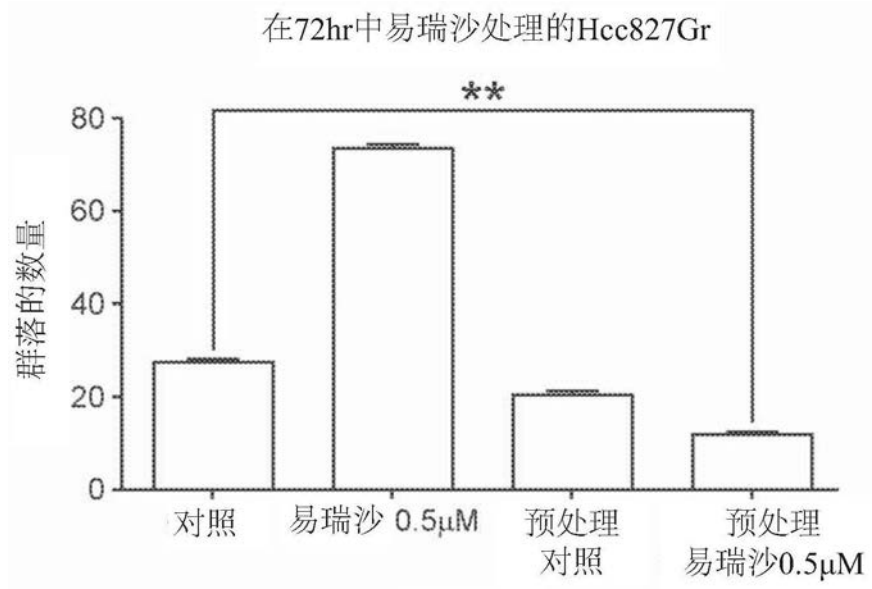


图60

硒酵母和鱼油对HCC827Gr细胞中细胞周期分布的作用(处理72小时)

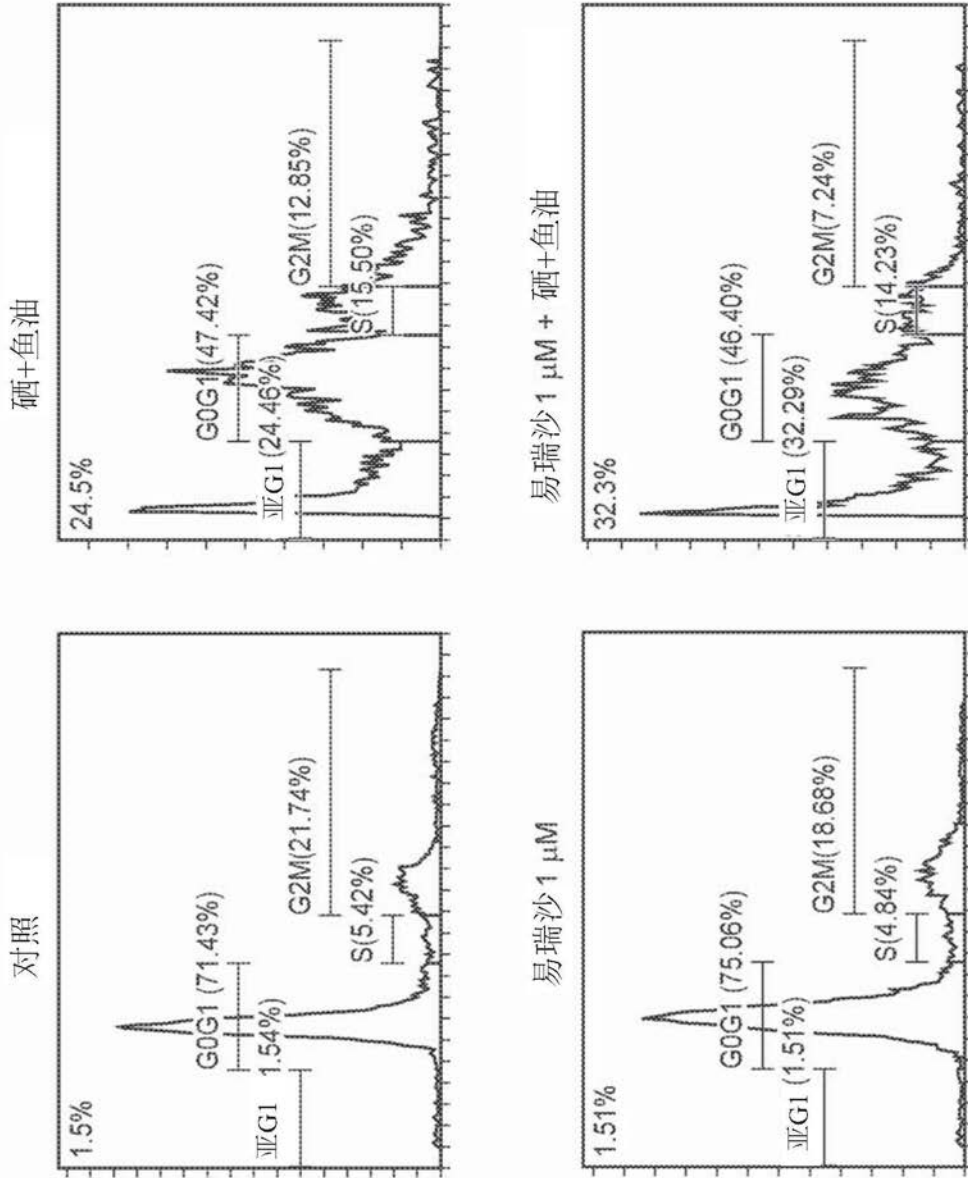
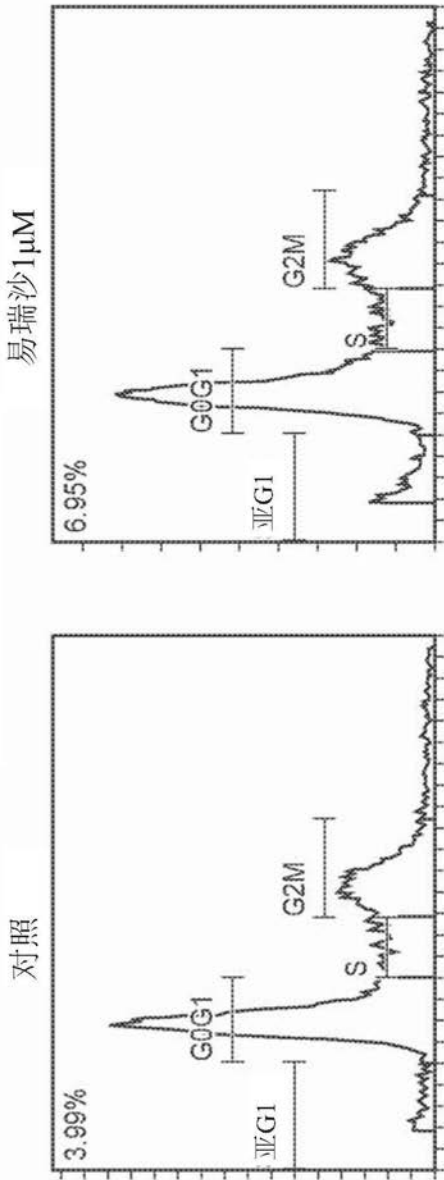


图61

72-h 易瑞沙处理对 Hcc827Gr 细胞的细胞周期分布的作用

无预处理的细胞



硒+鱼油预处理72h的细胞

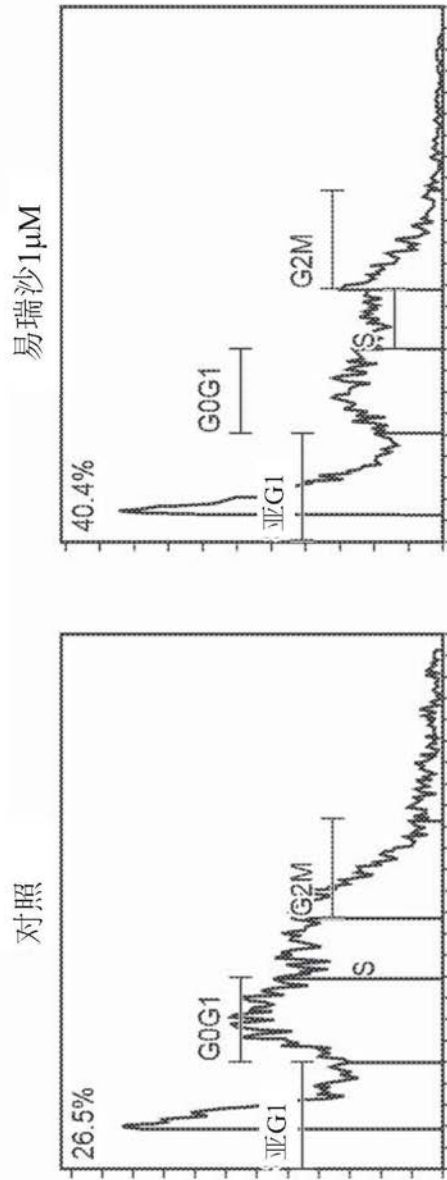


图62

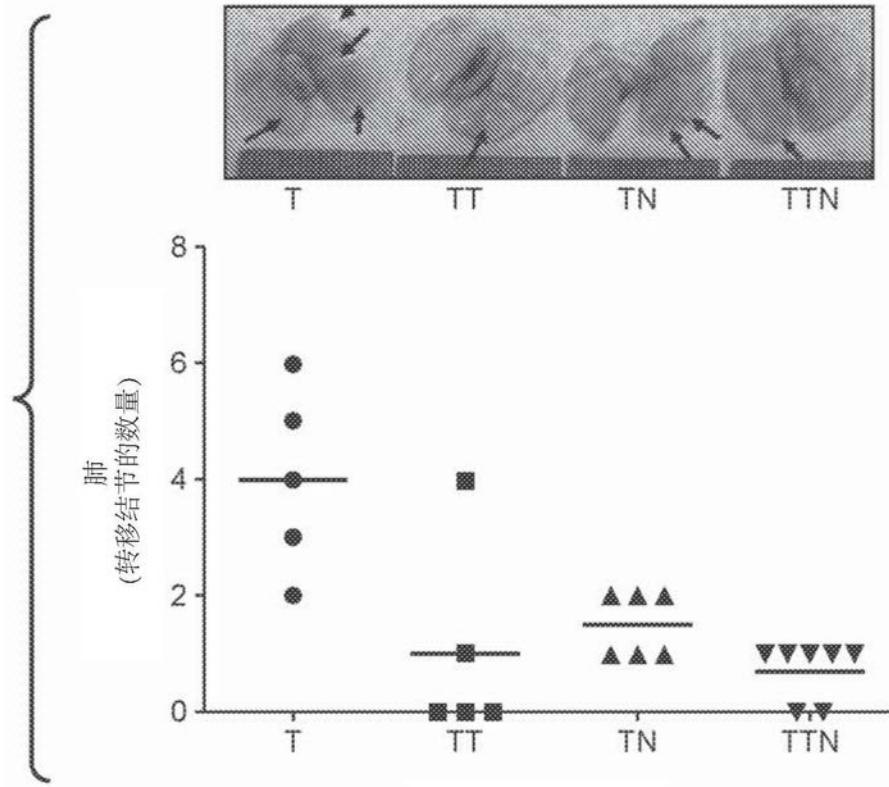


图63

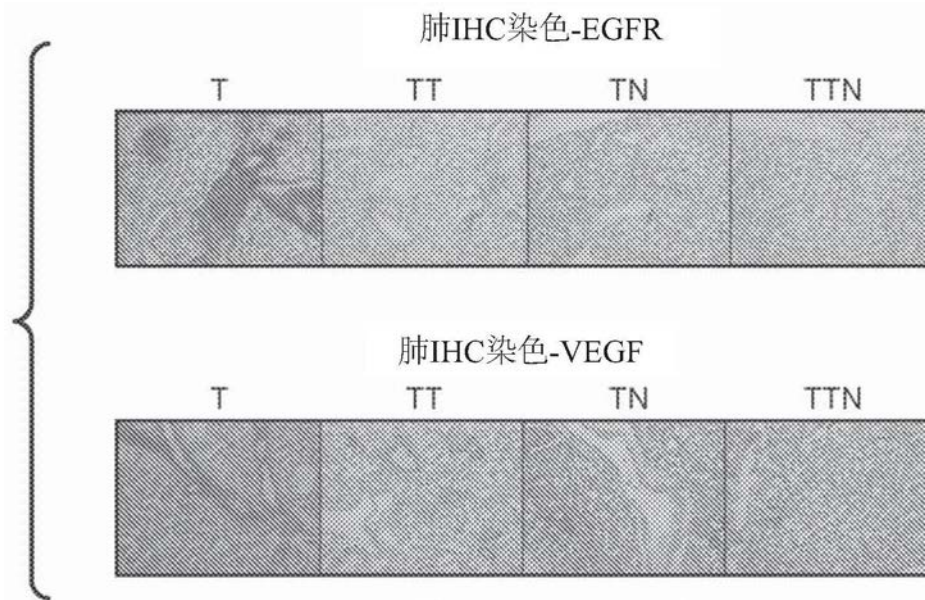


图64

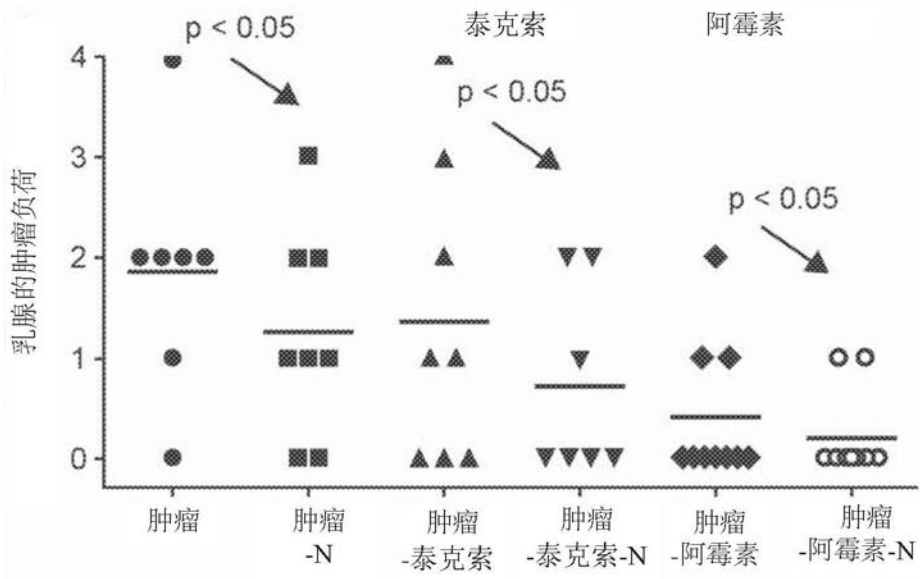


图65

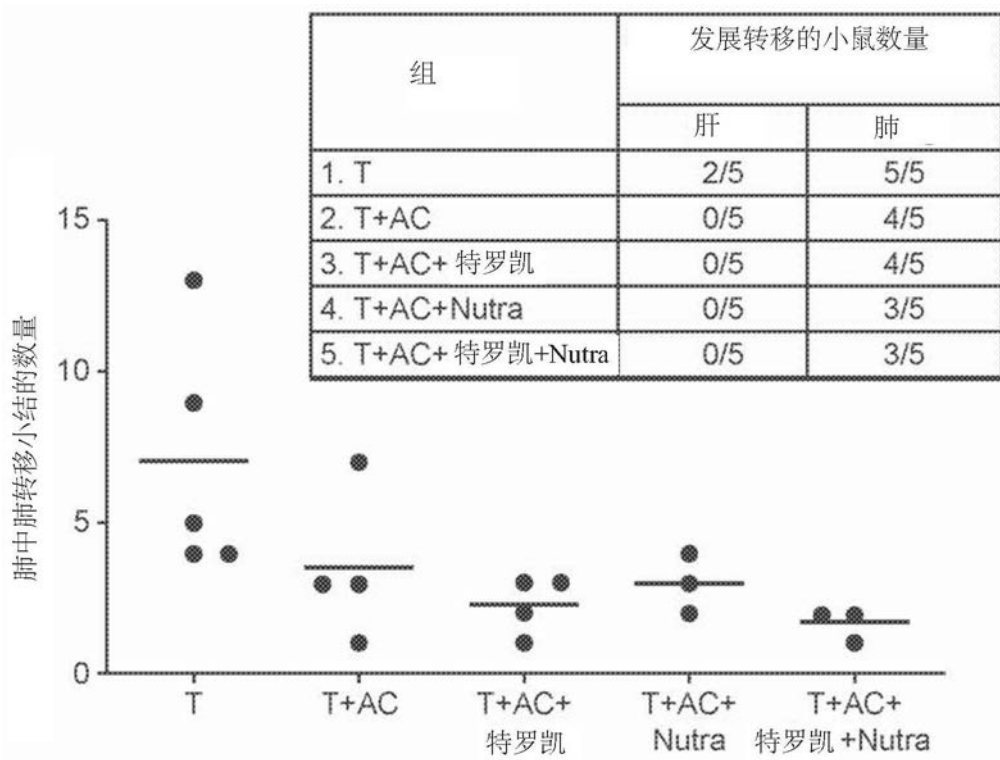


图66

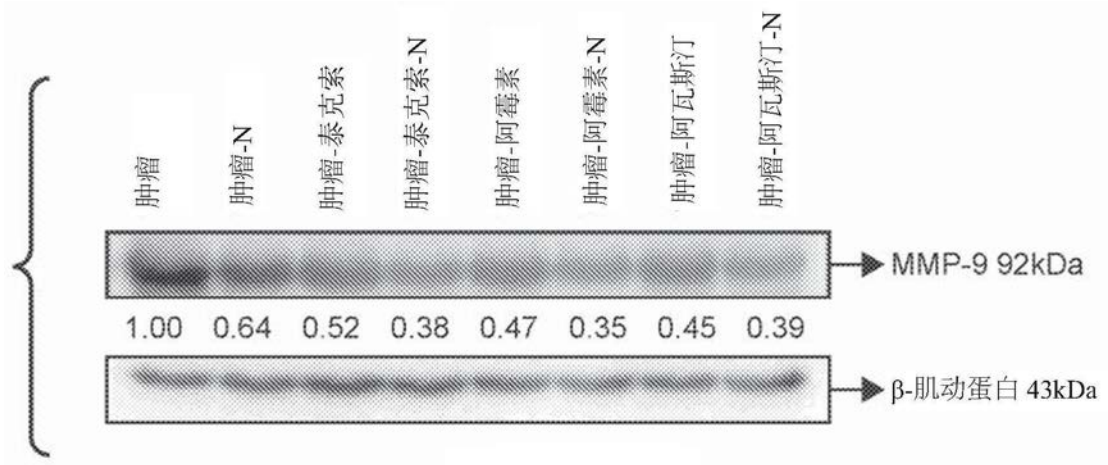


图67

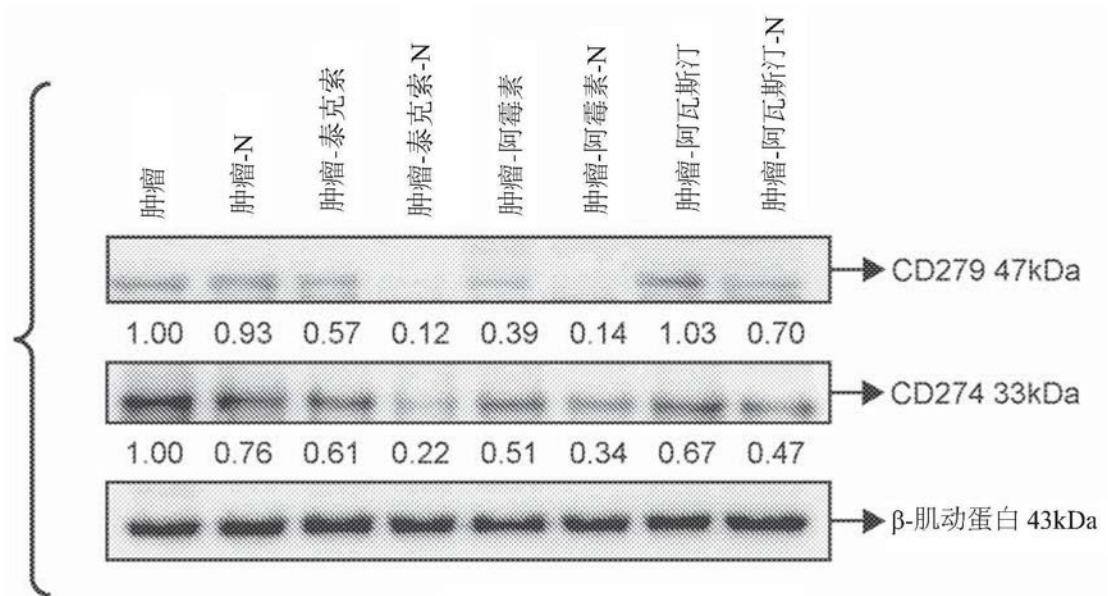


图69

编号	抽血日期	名称	模型	抗体	CTC 计数	抗 CAM	抗同型	恢复率	CTC%	平均总细胞计数	细胞分选计数
W1 P001	20170629	ShihXX	BD	EpCAM, Draq7	187	519	332	35.78%	0.12569	148775.5	198
W16 P001	20171013	ShihXX	BD	EpCAM, Draq7	9	637	628	47.75%	0.01112	80951	153

分析CTC数量 ↓ ↓ 总细胞数量

图68

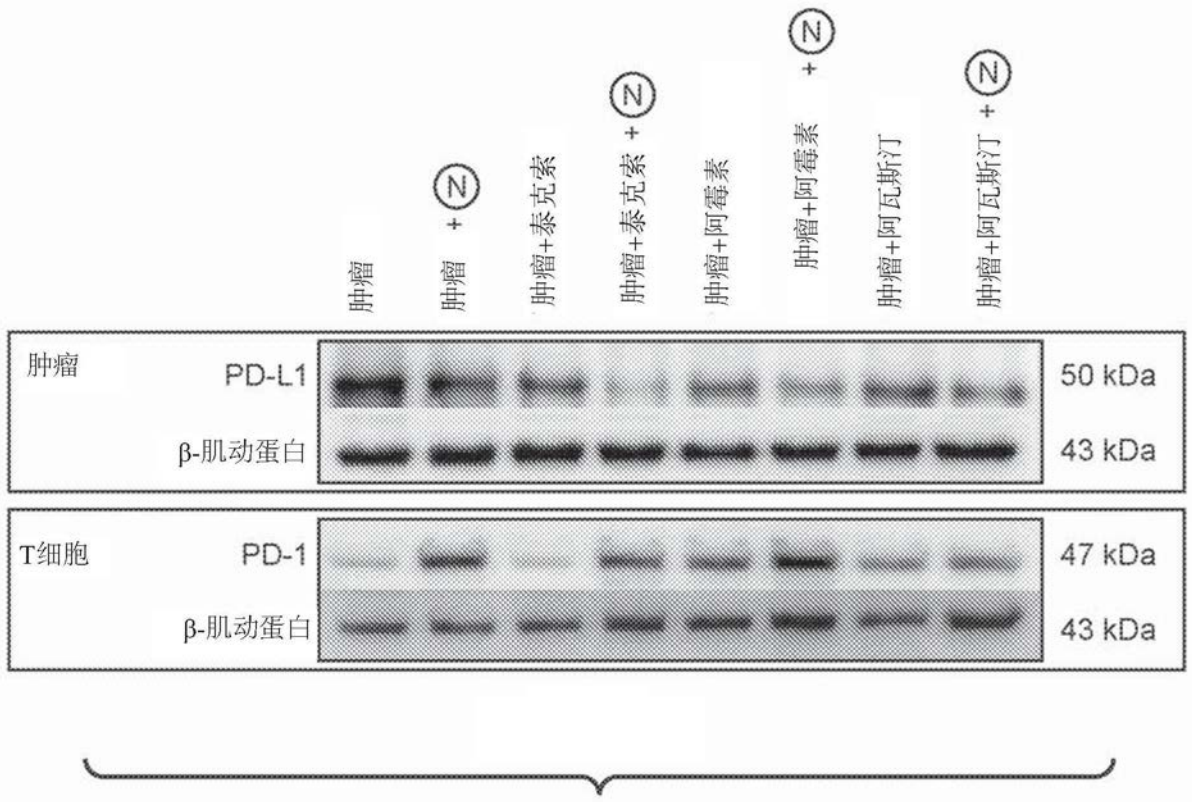


图70

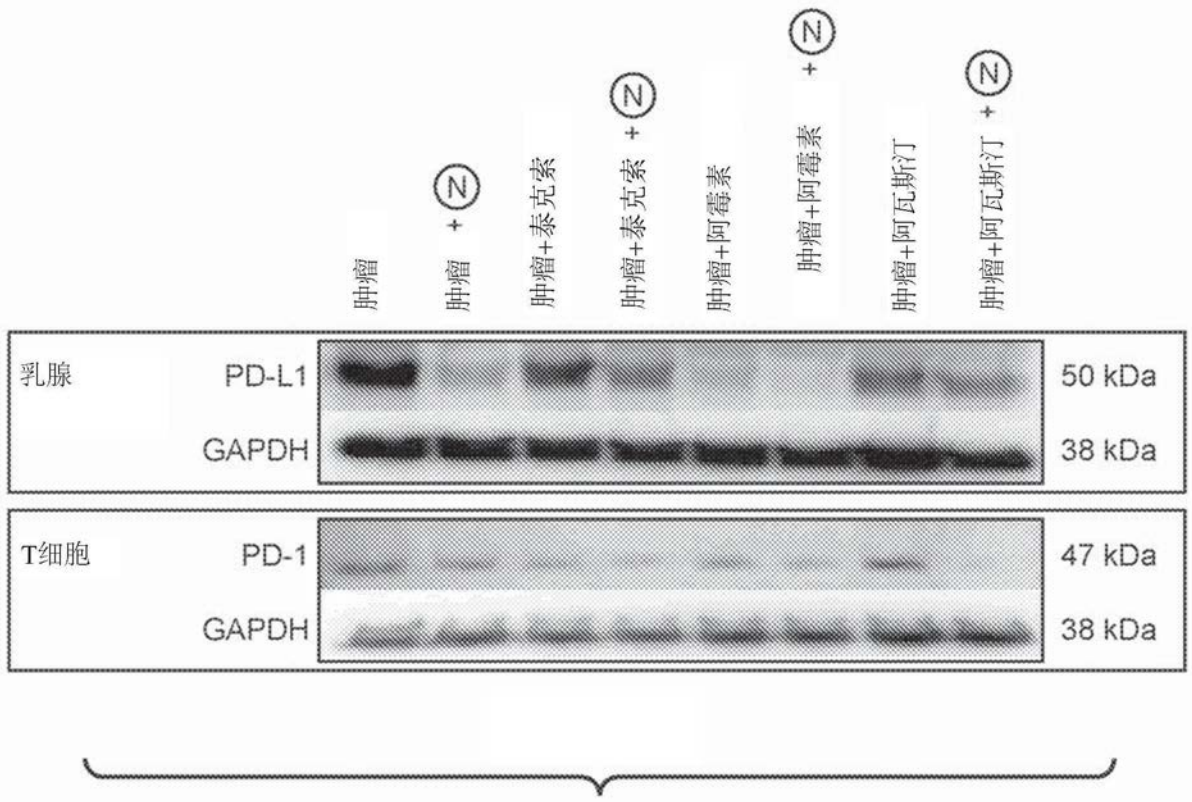


图71

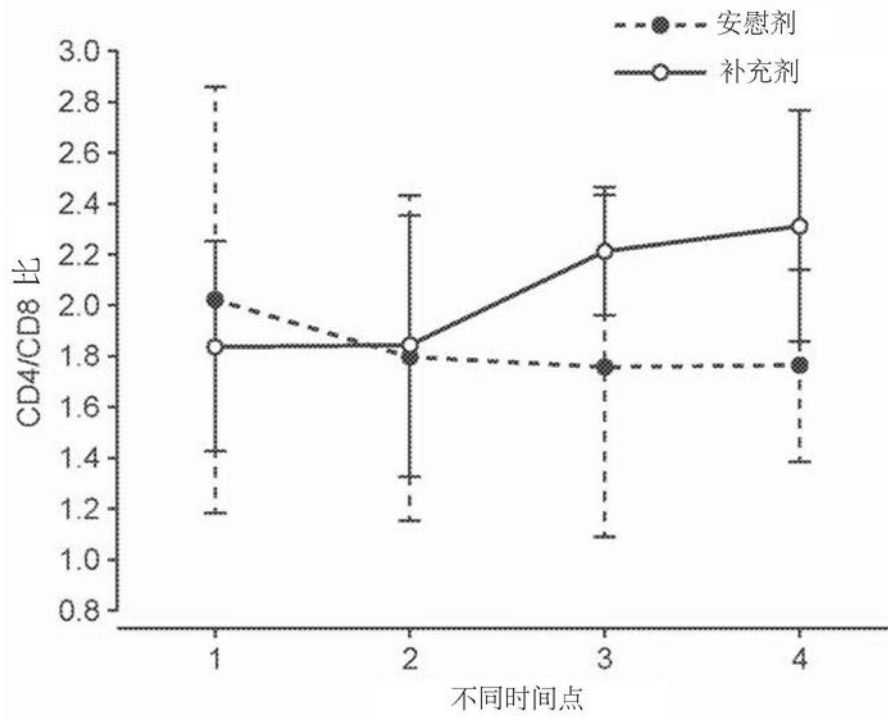


图73

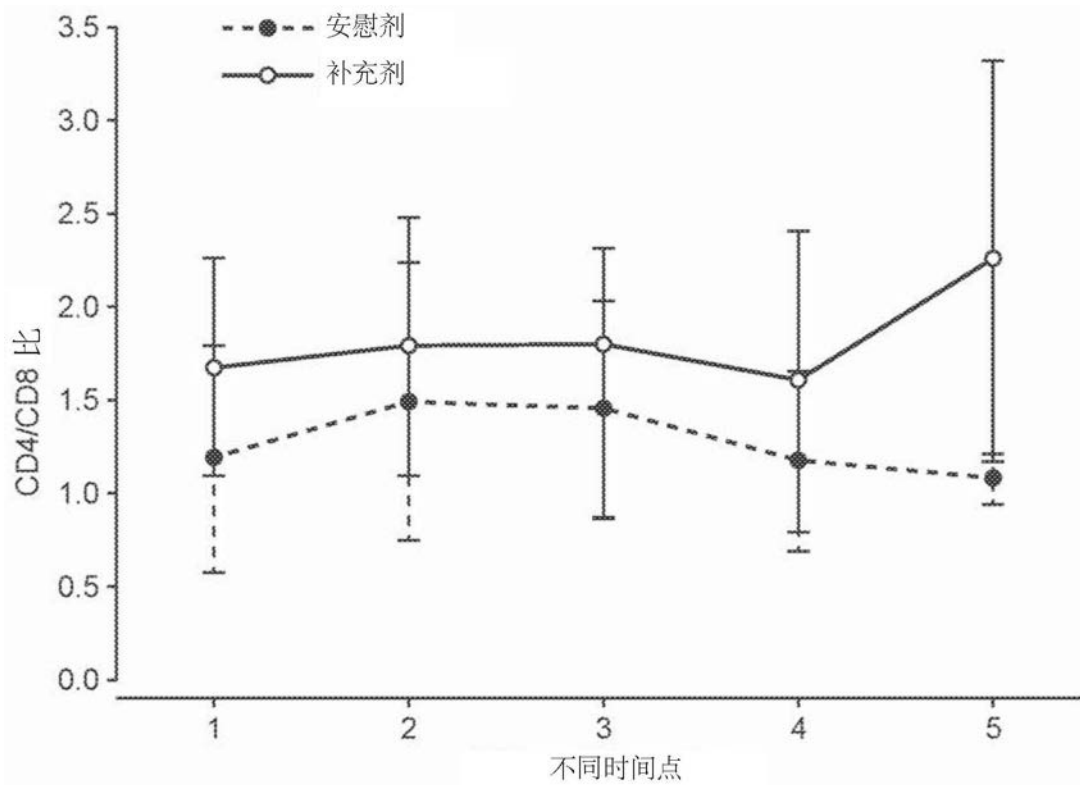


图74

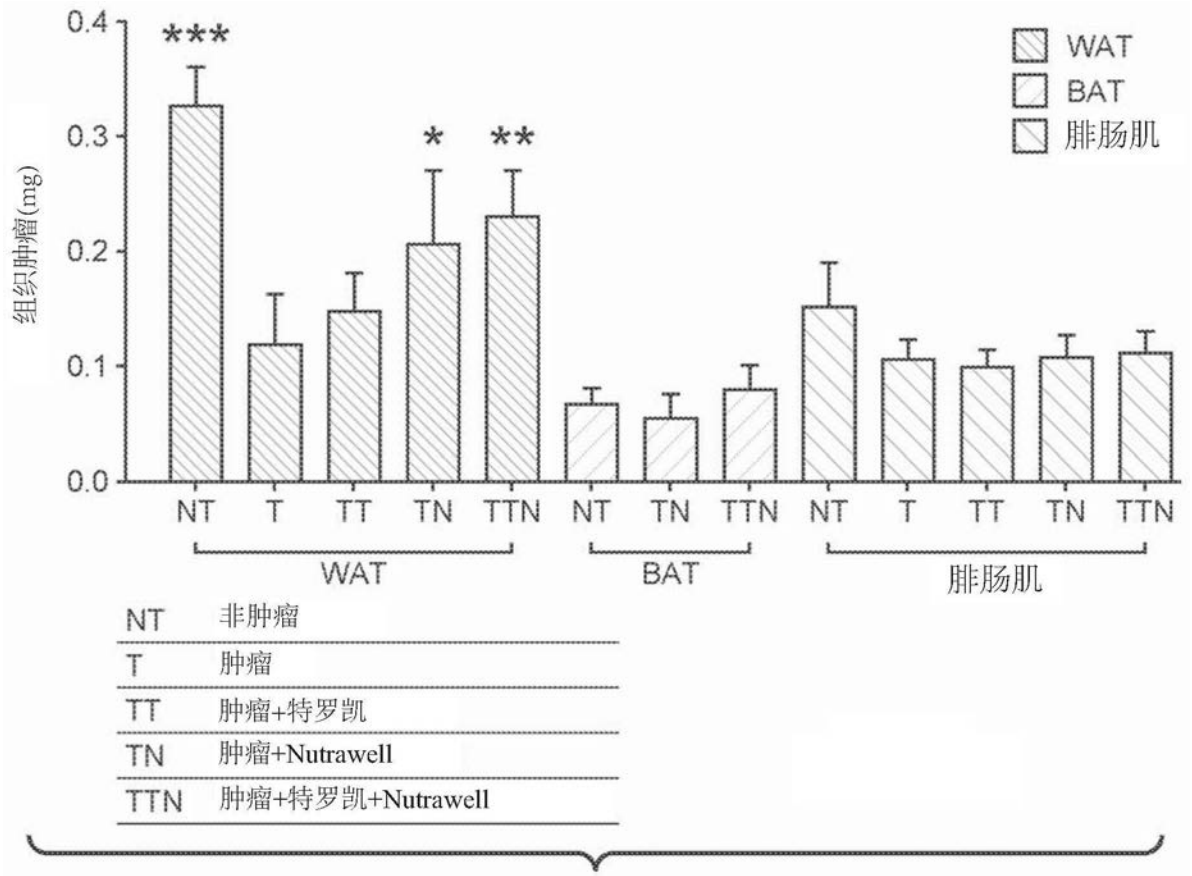


图75

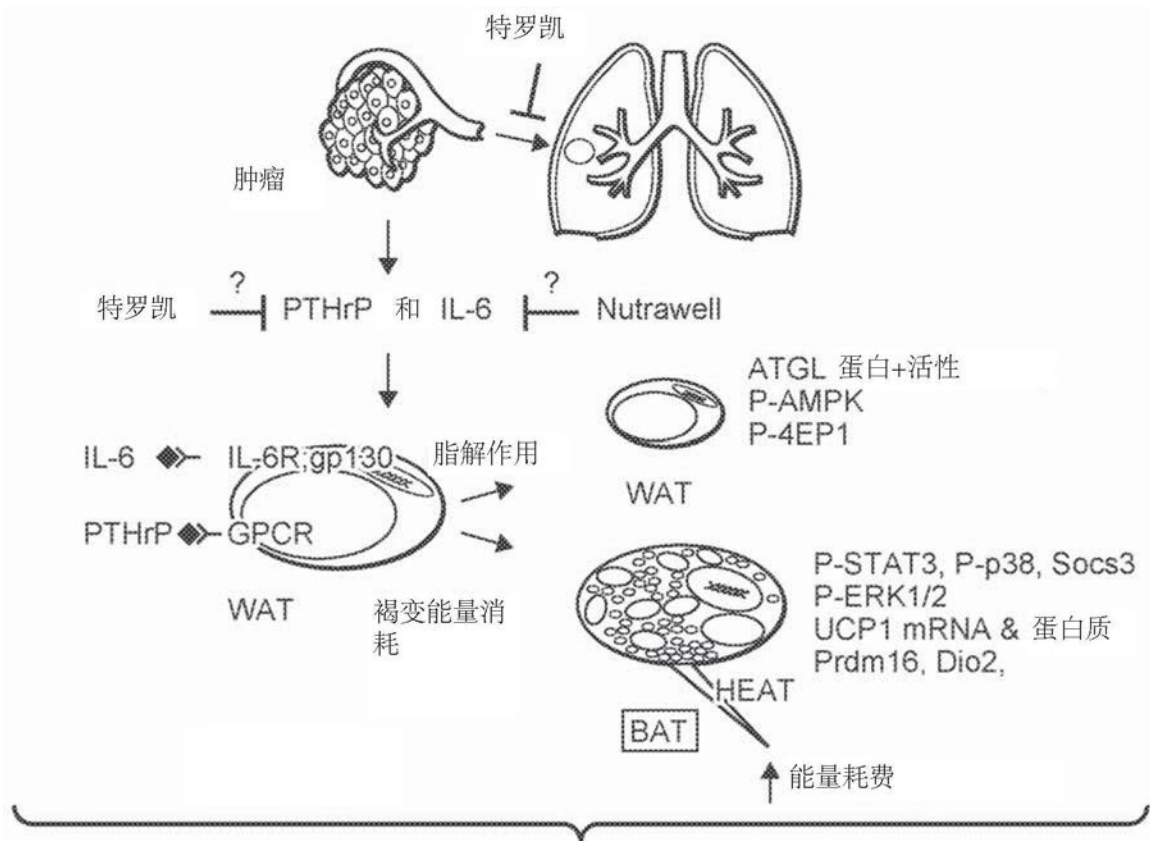


图76

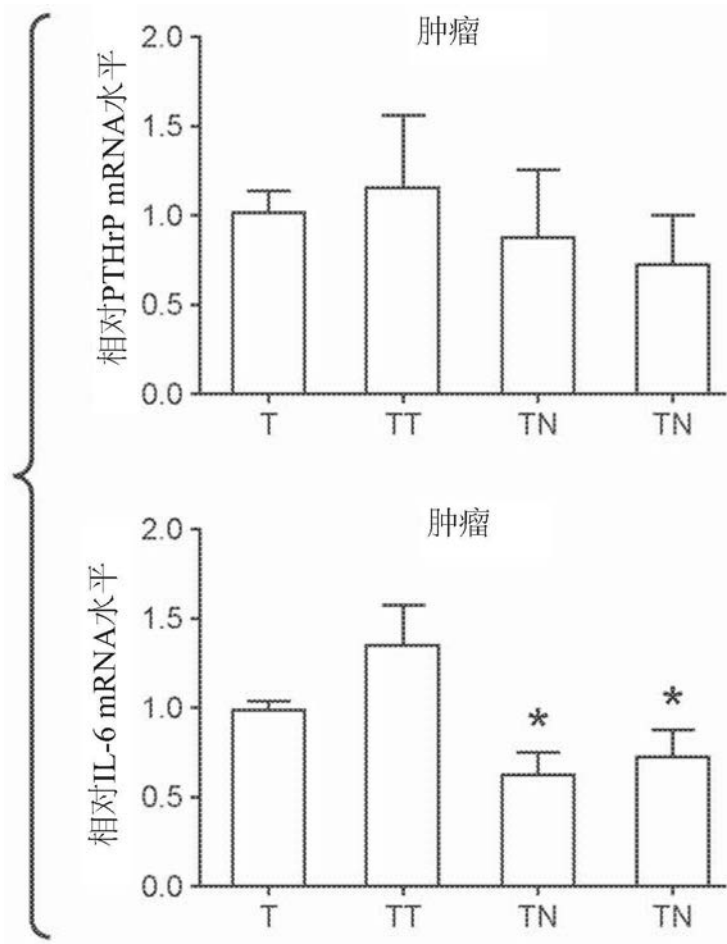



图77

动物

LLC 5*10⁵/小鼠, s.c.



1	T	肿瘤
2	TT	肿瘤+特罗凯
3	TAC	肿瘤+力比泰+顺铂
4	TACT	肿瘤+力比泰+顺铂+特罗凯
5	TACN	肿瘤+力比泰+顺铂+Nutrawell
6	TACNT	肿瘤+力比泰+顺铂+Nutrawell+特罗凯

图78

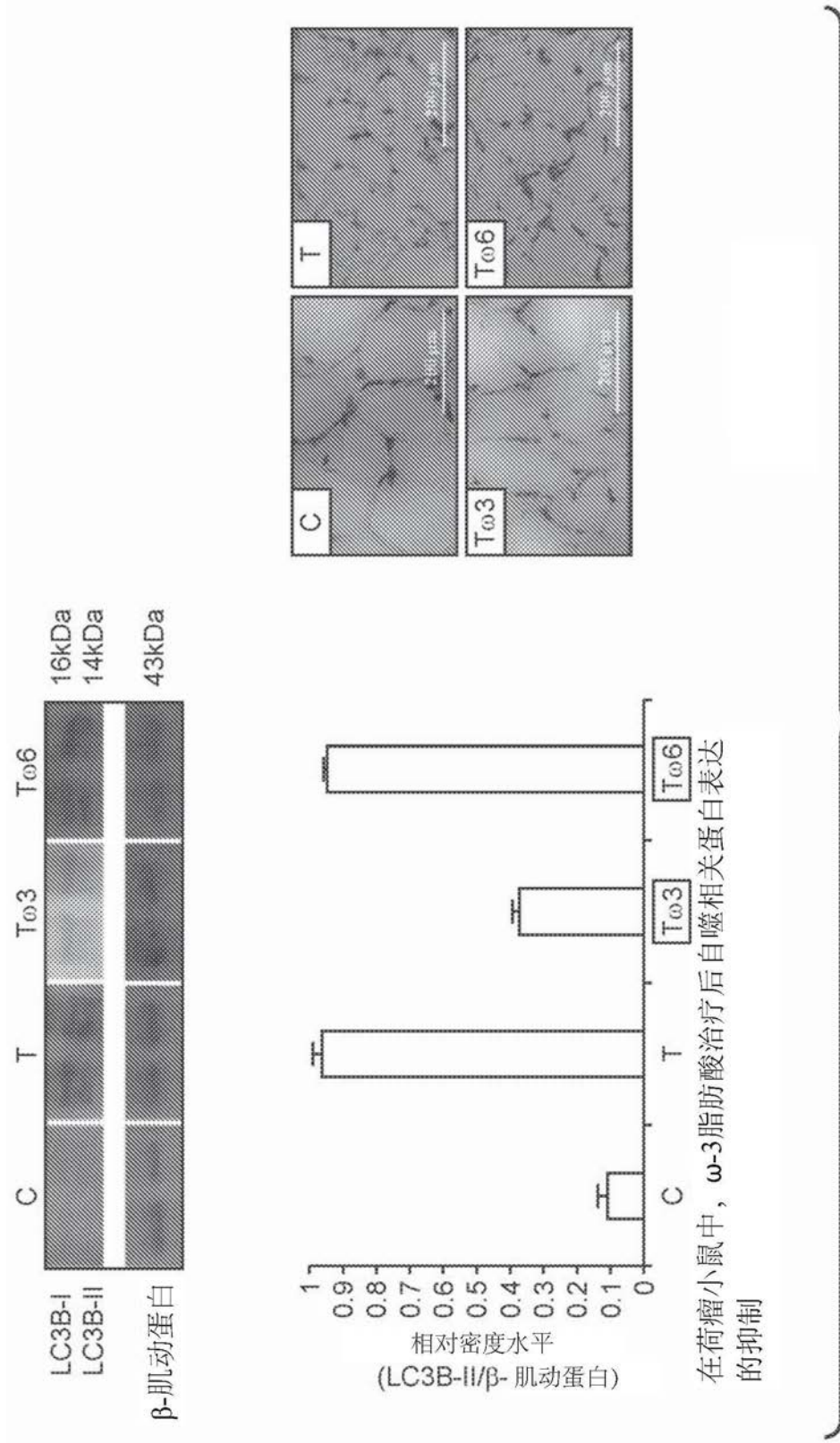


图79

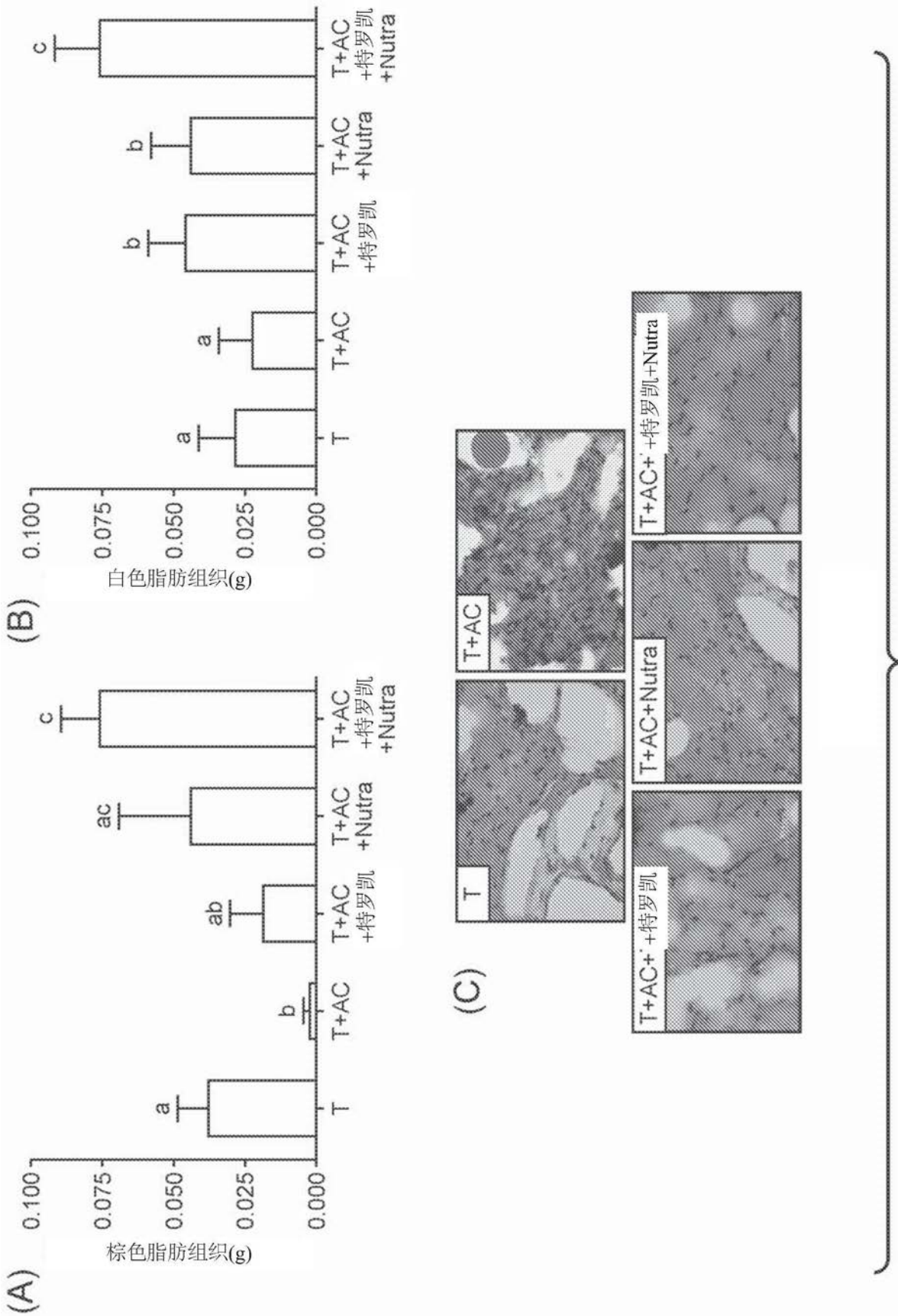


图80

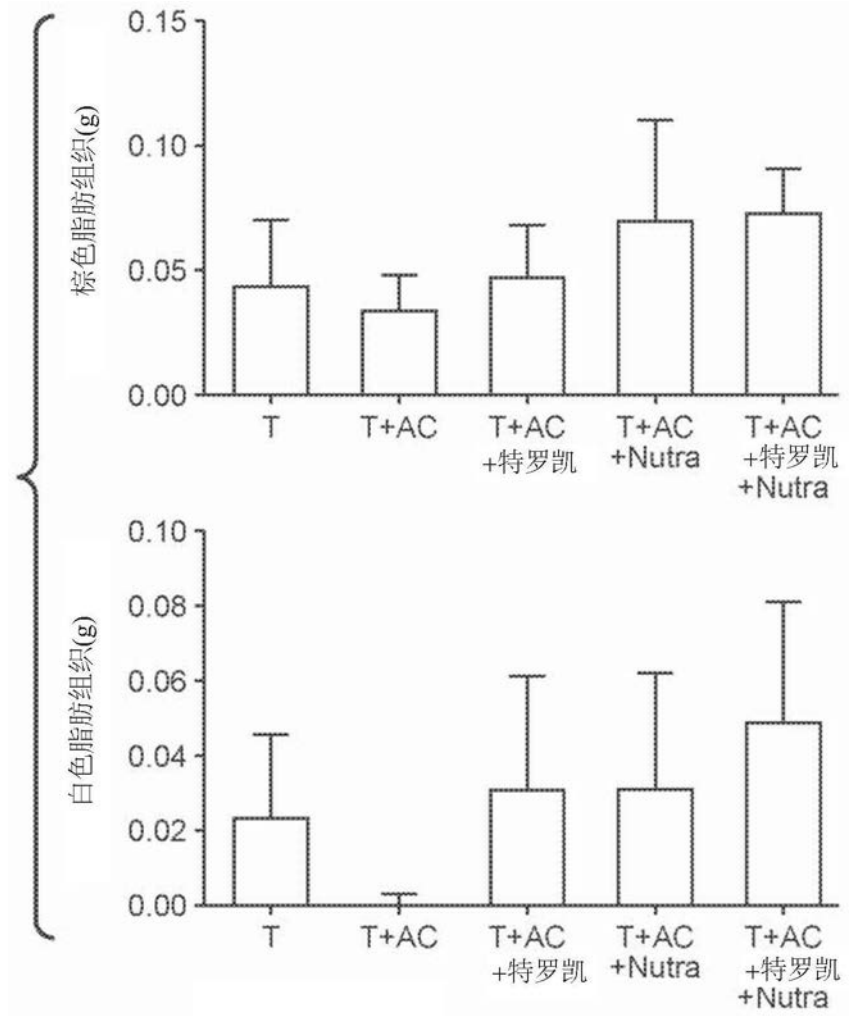


图81

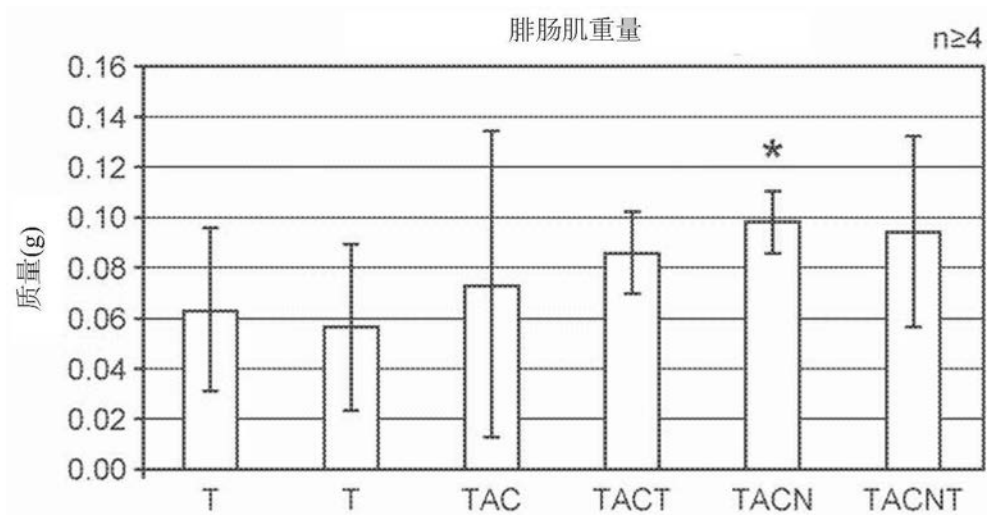


图82

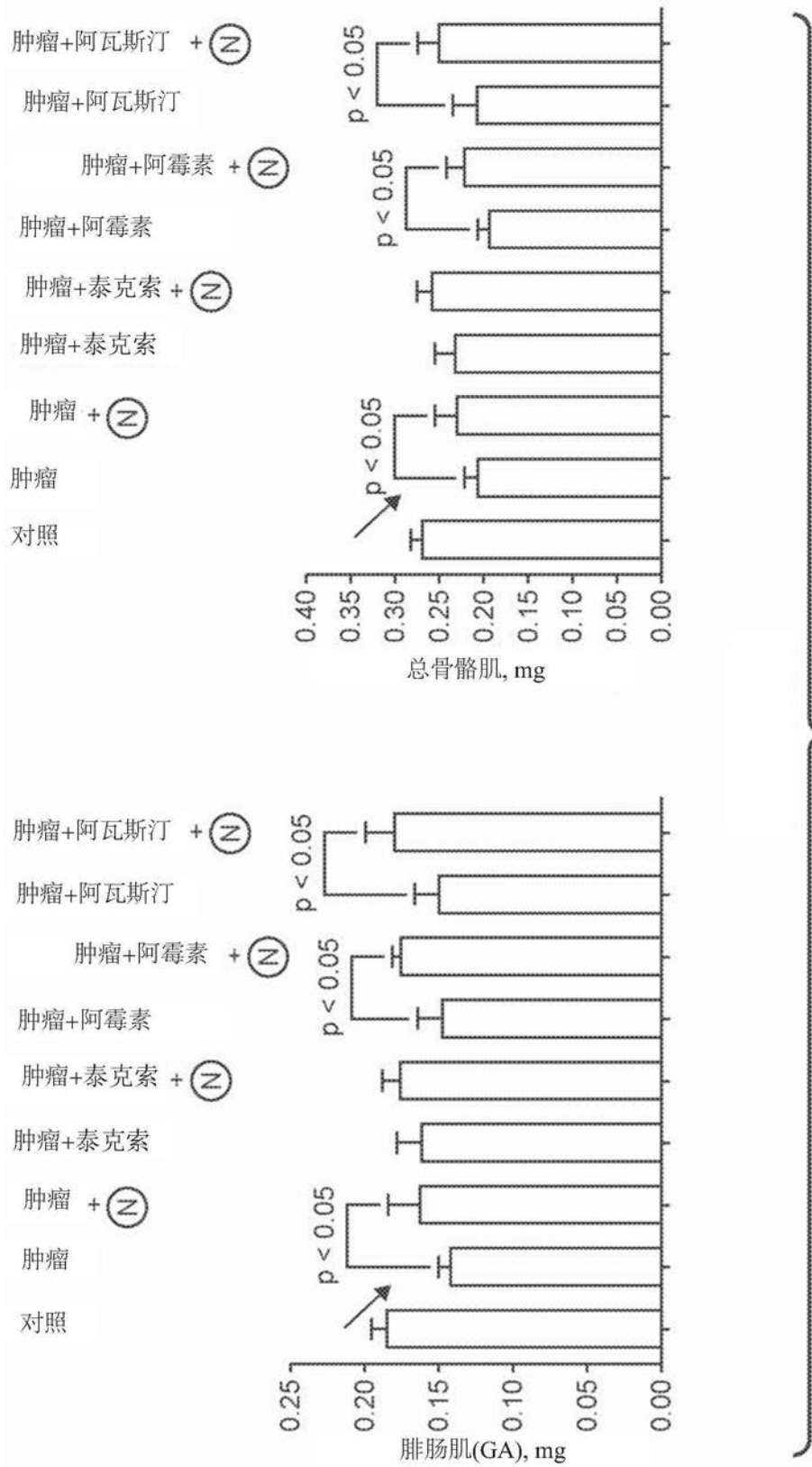


图83

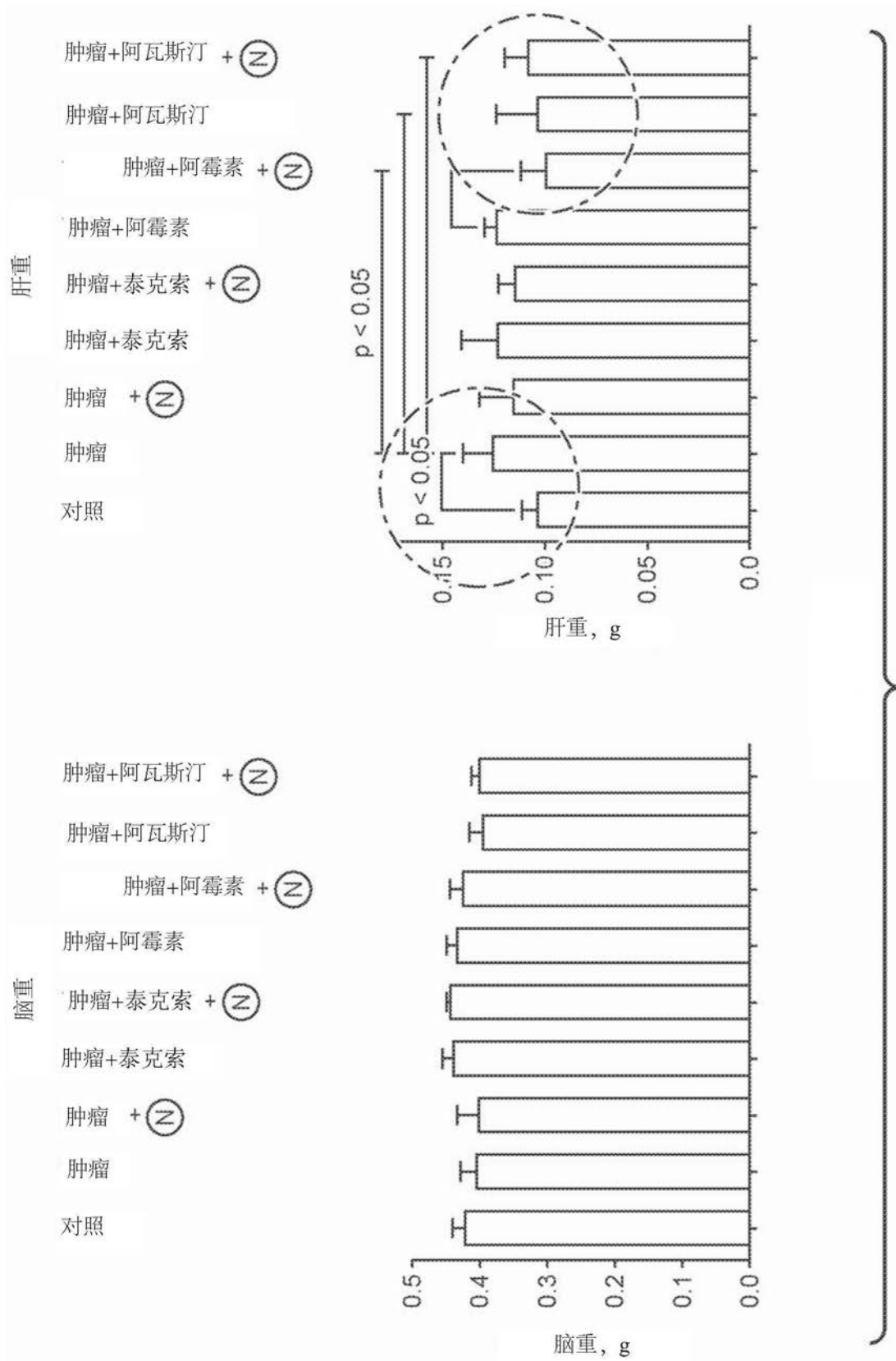


图84

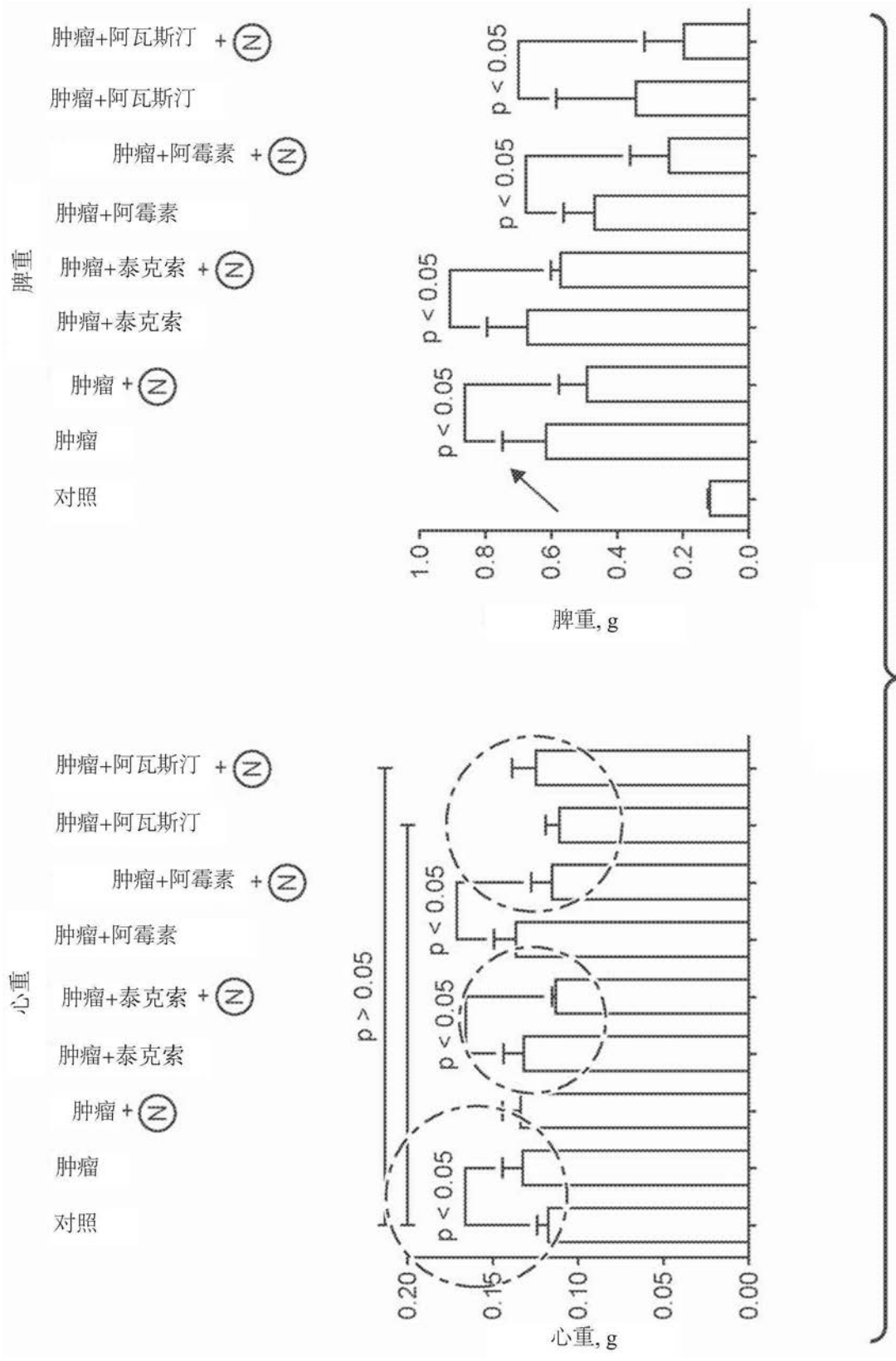


图85

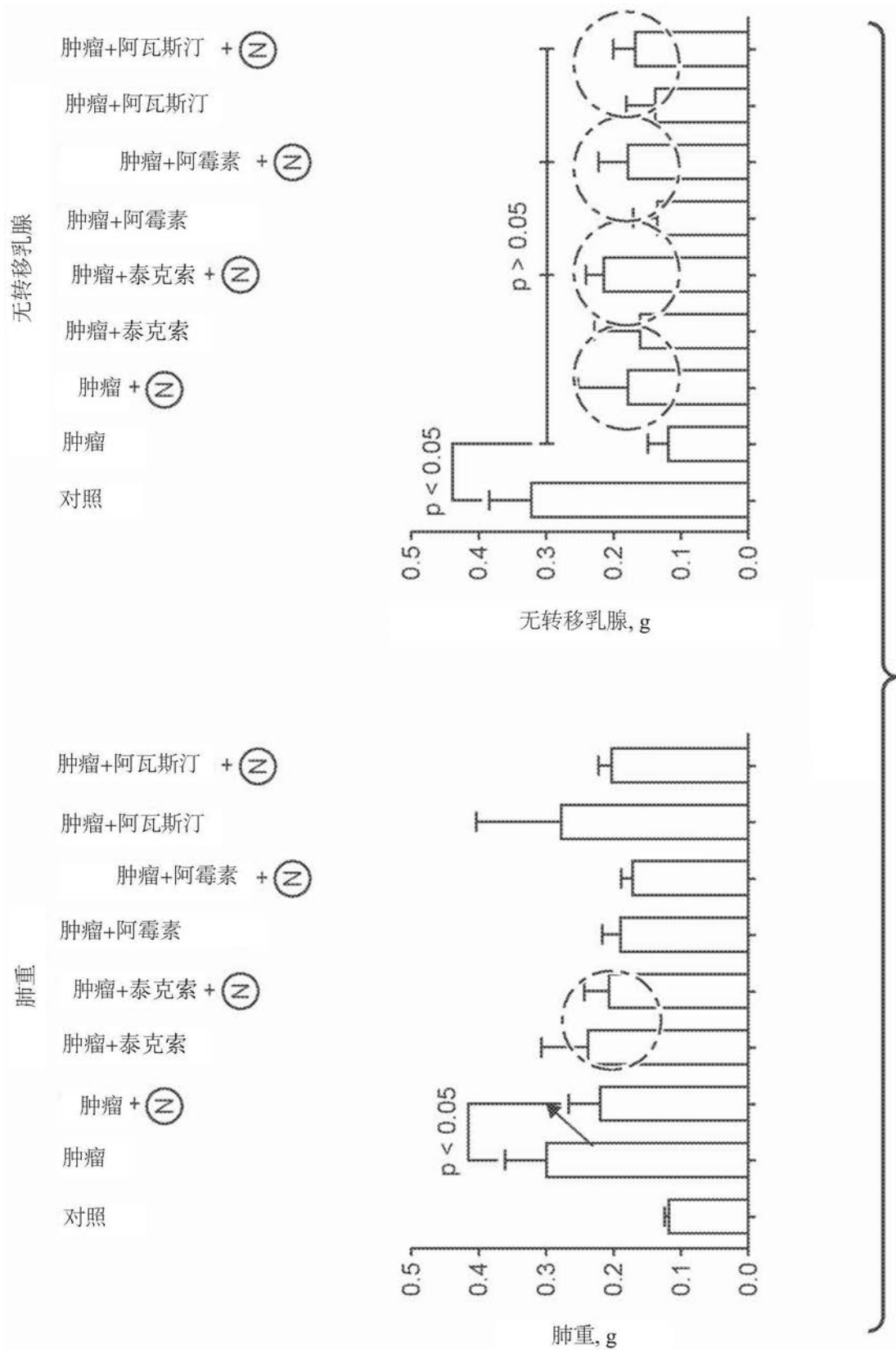


图86

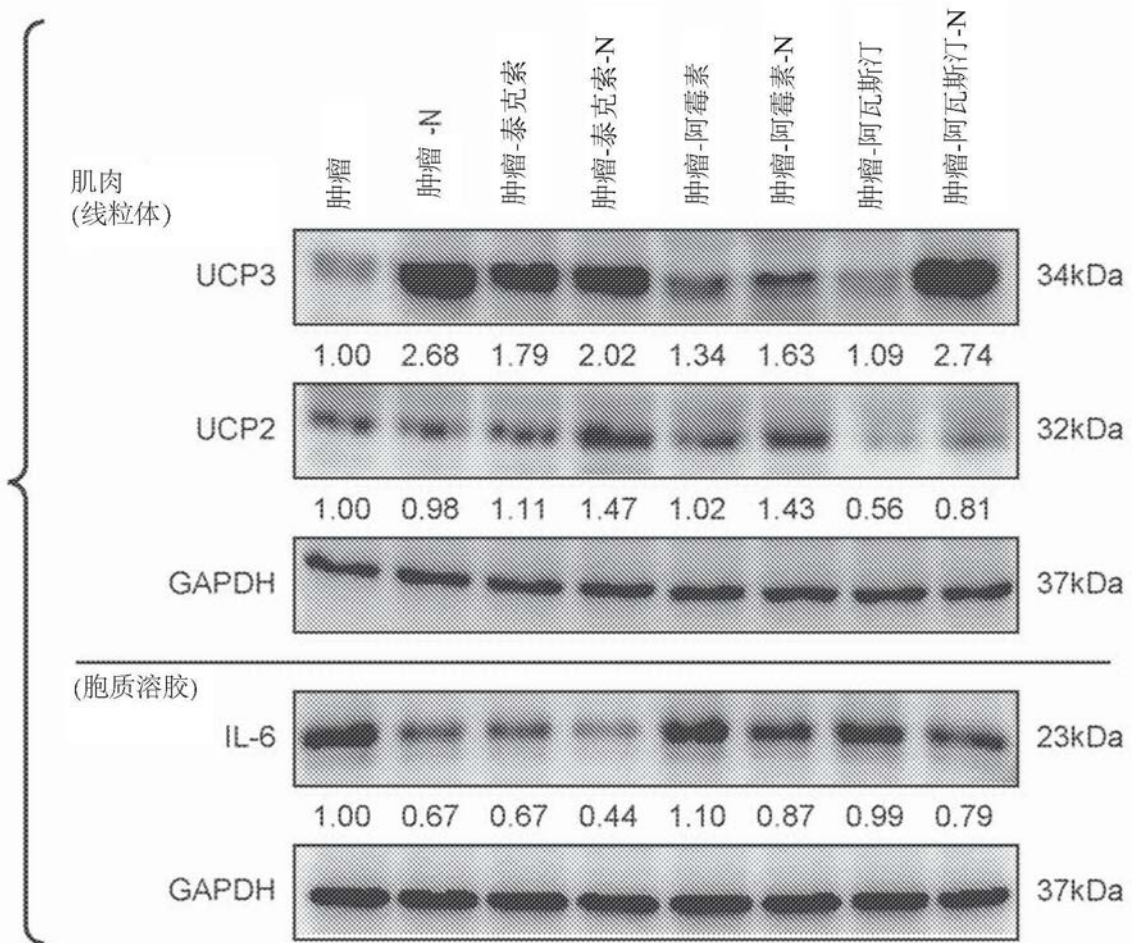


图87

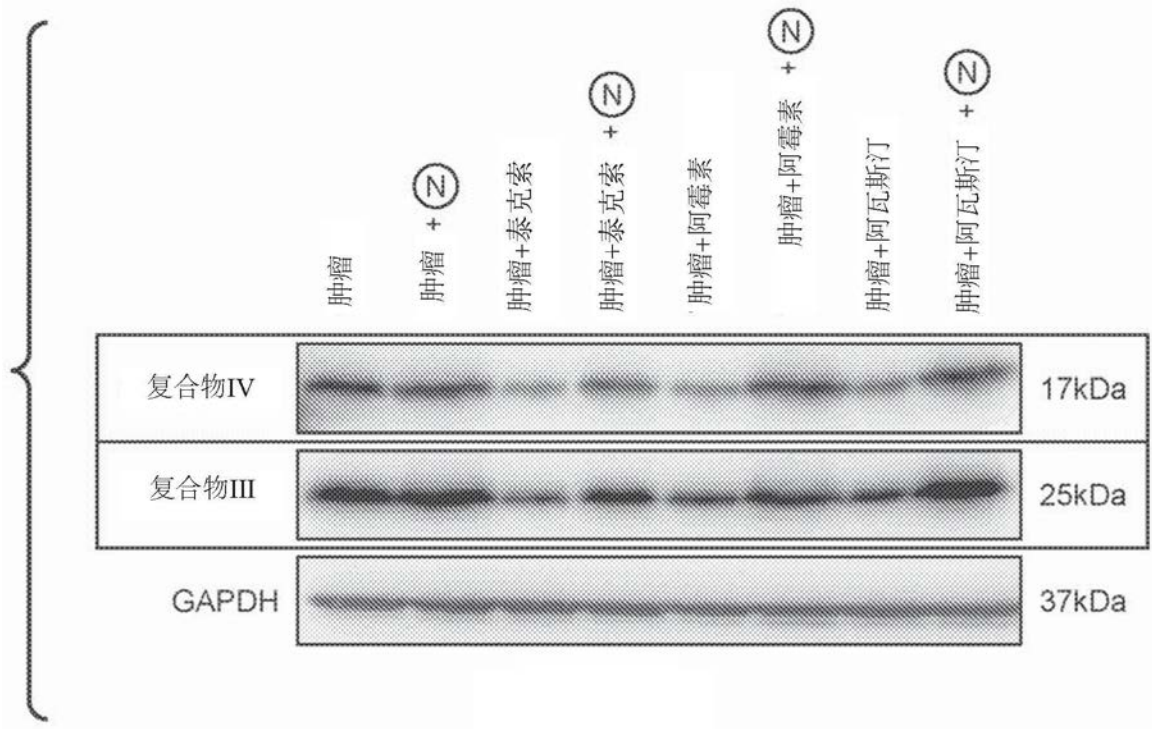


图88

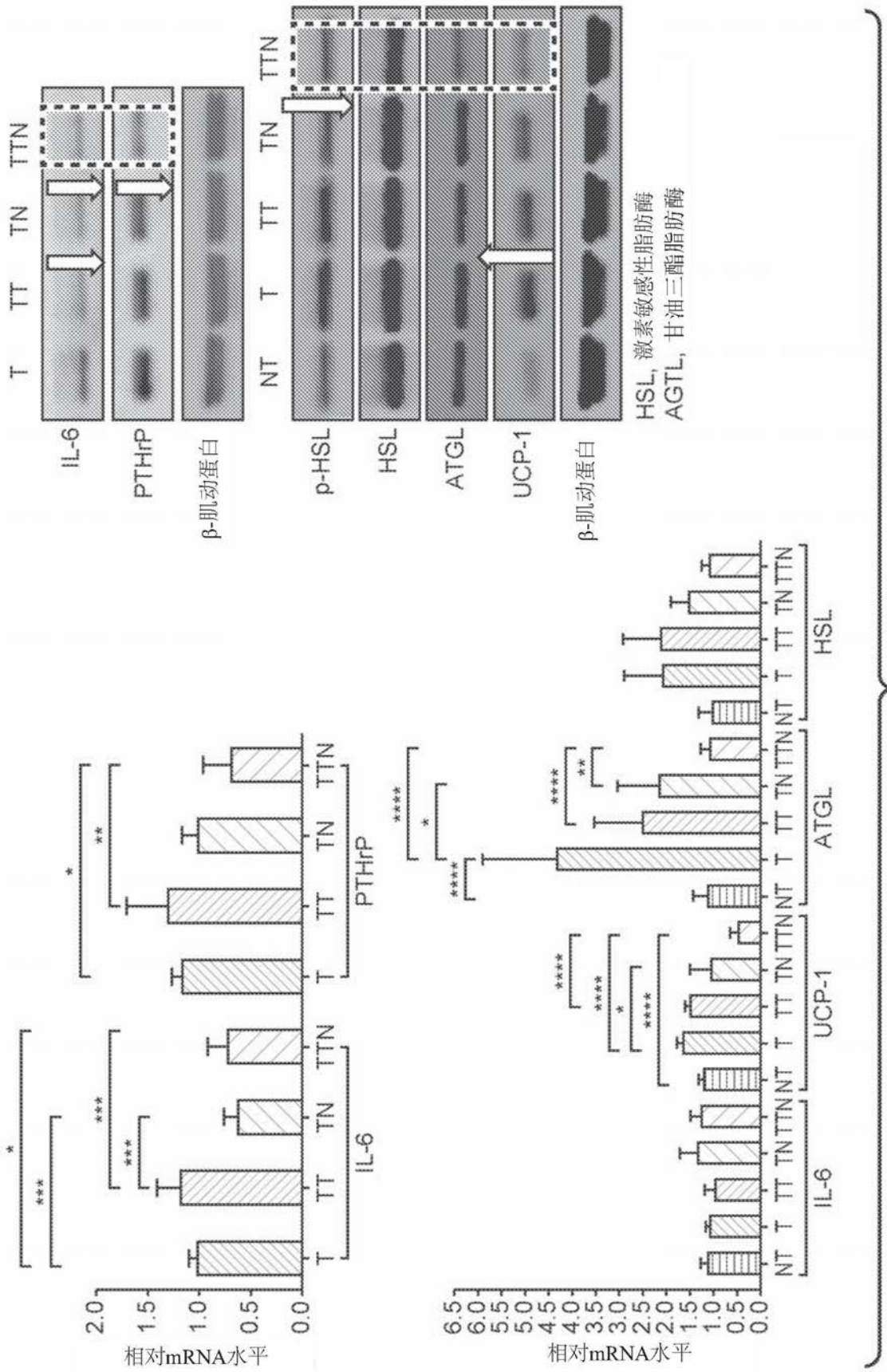


图89

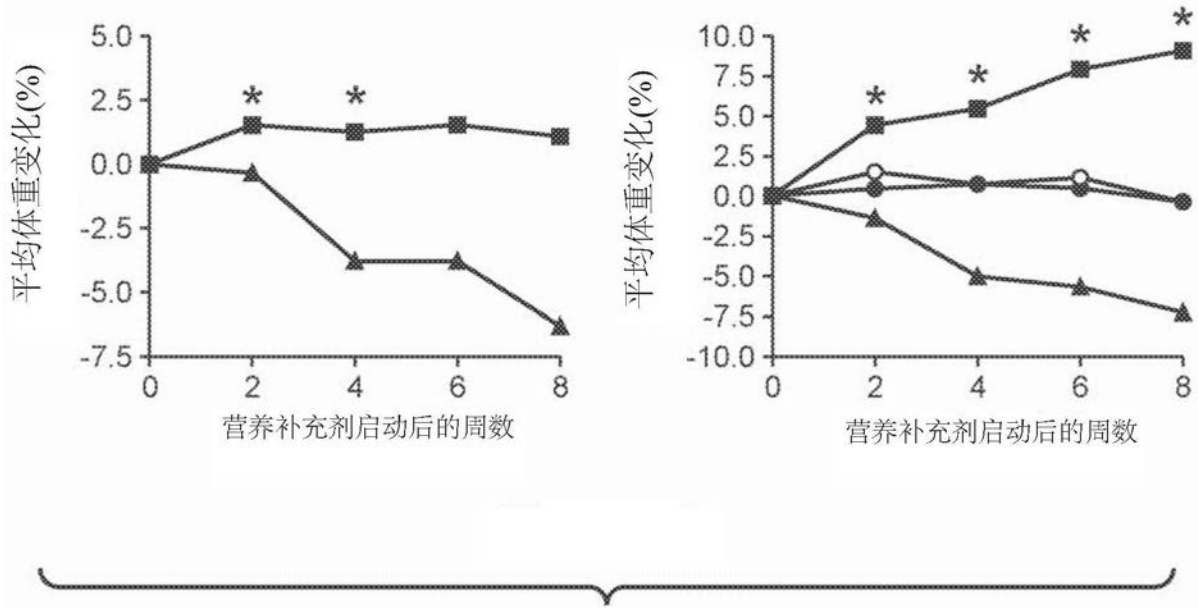


图90

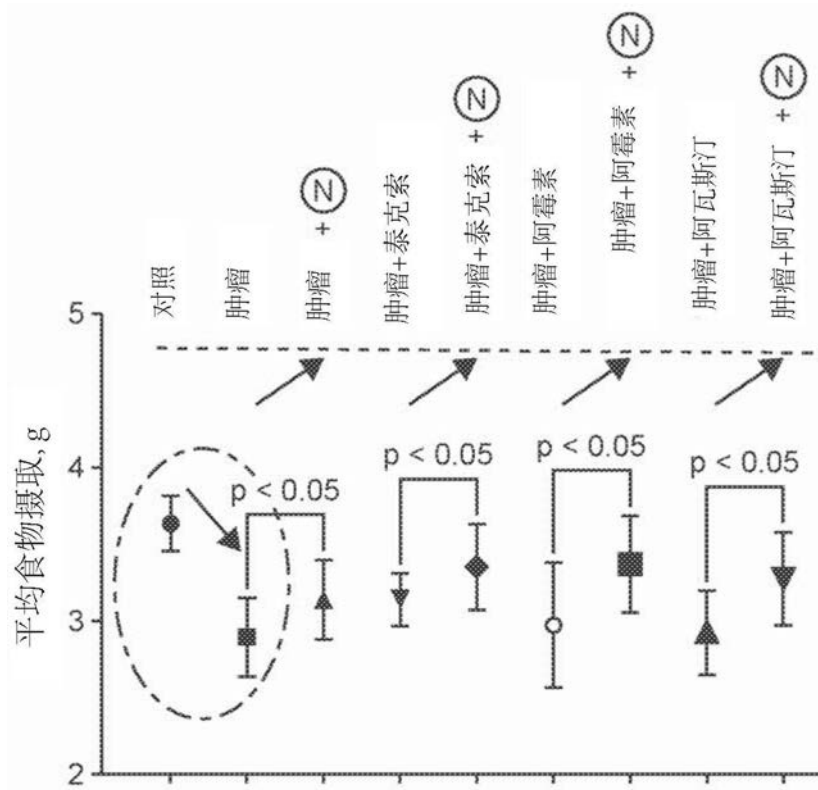


图91

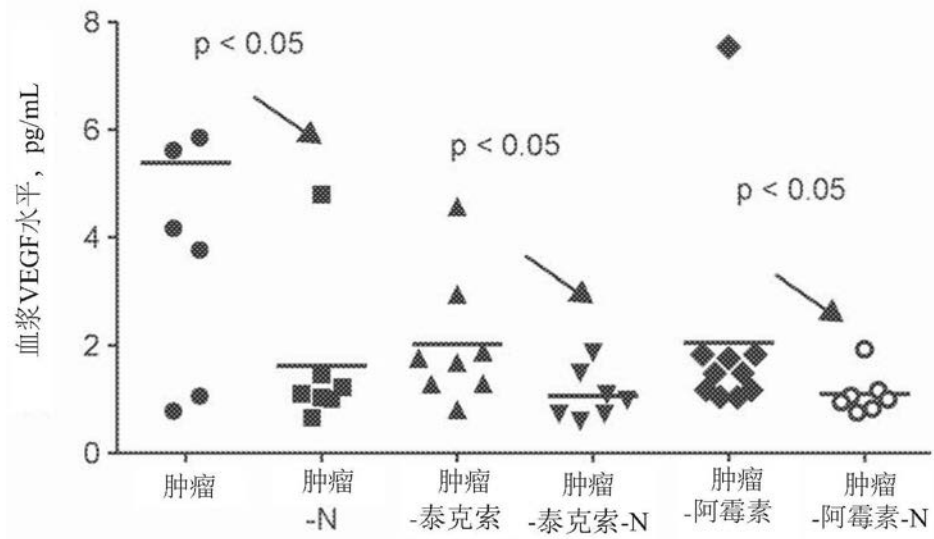


图92

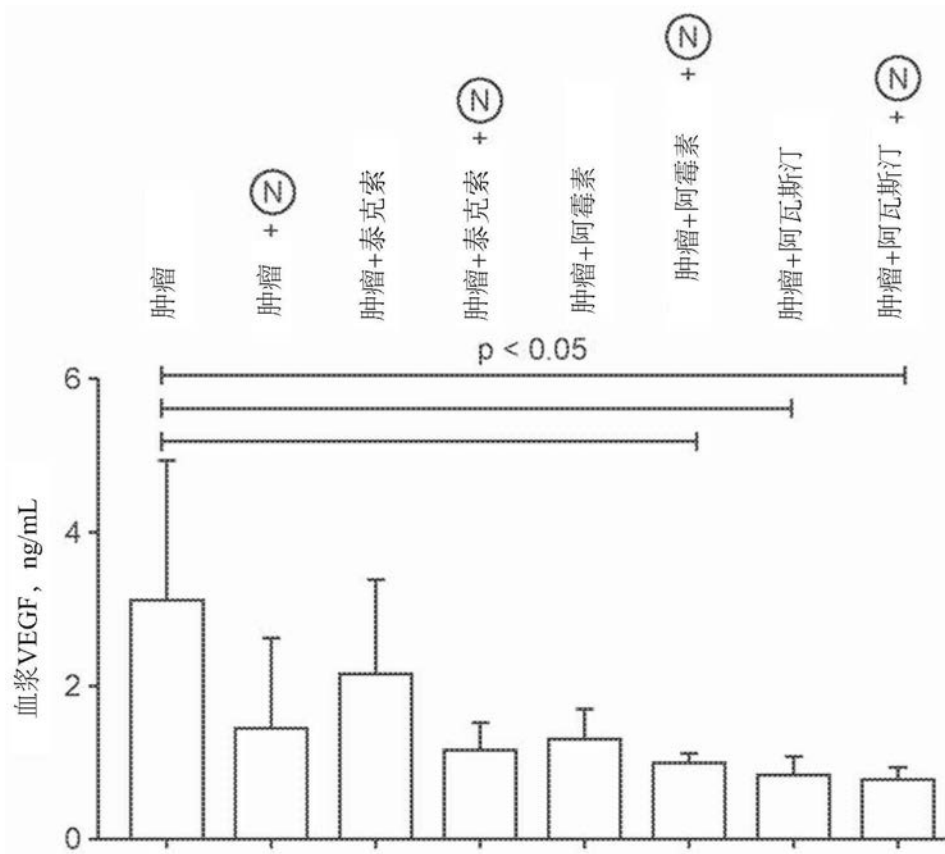


图93

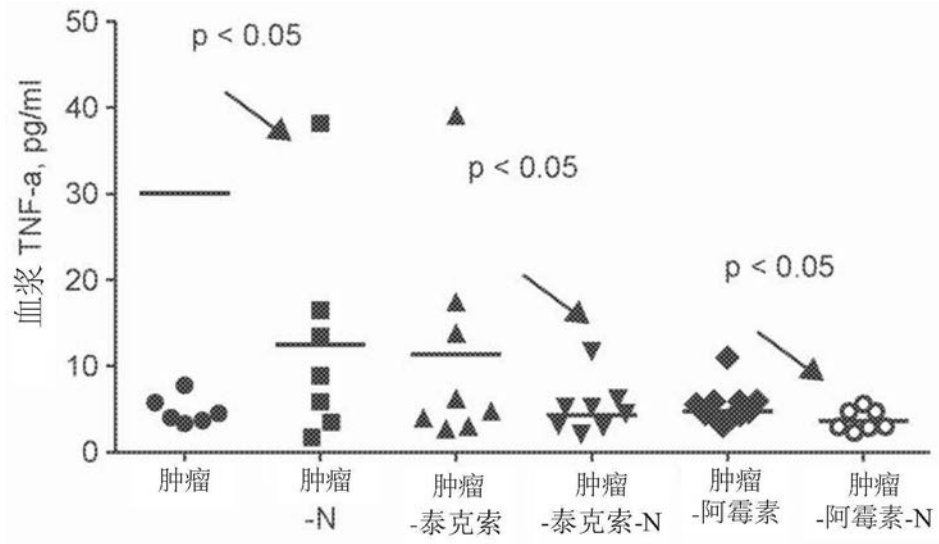


图94

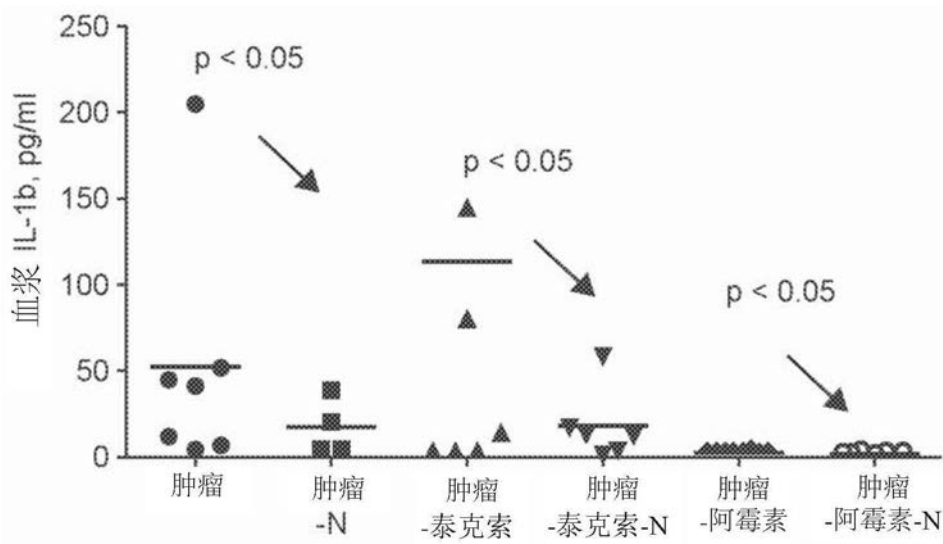


图97

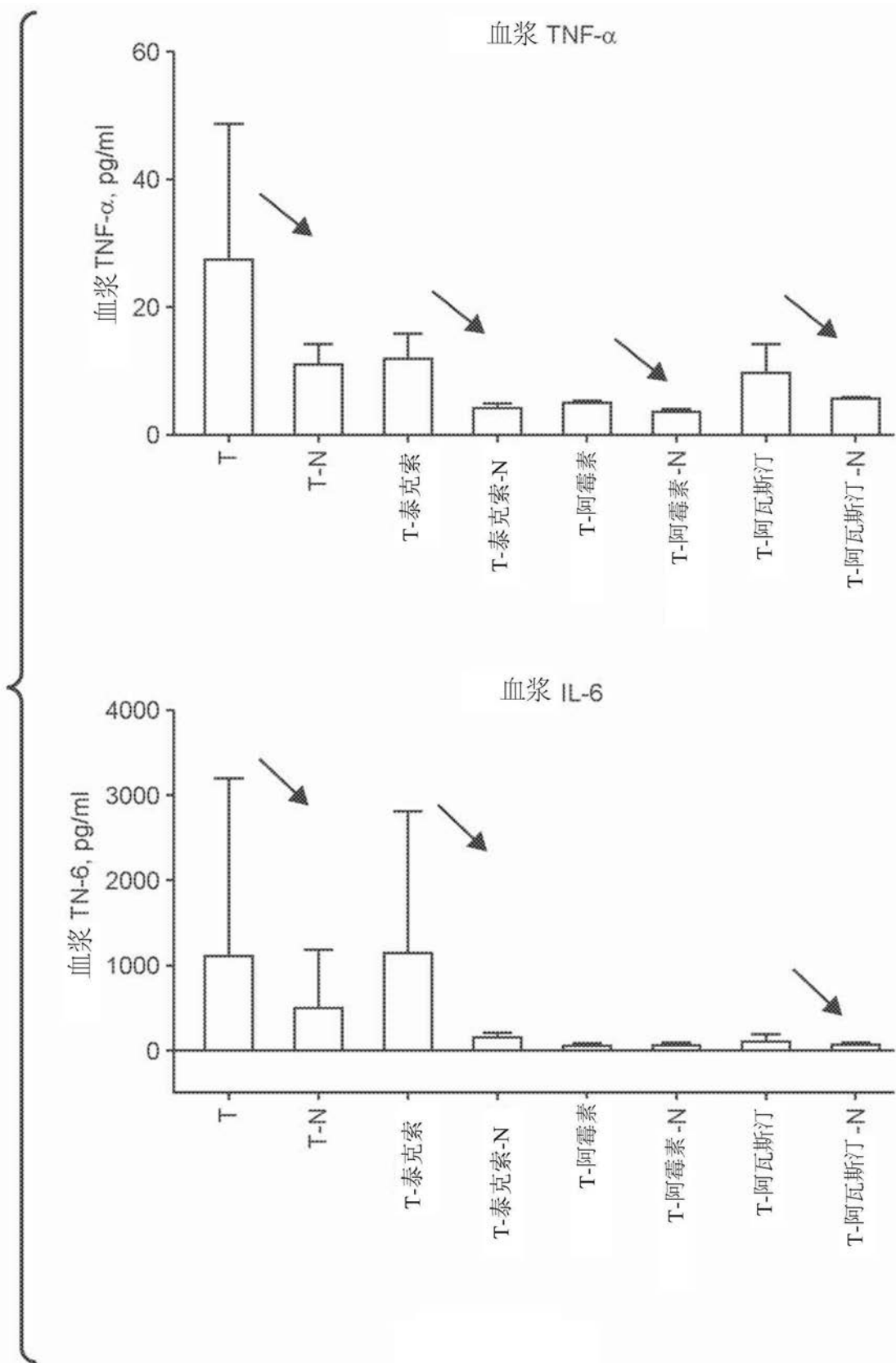


图95

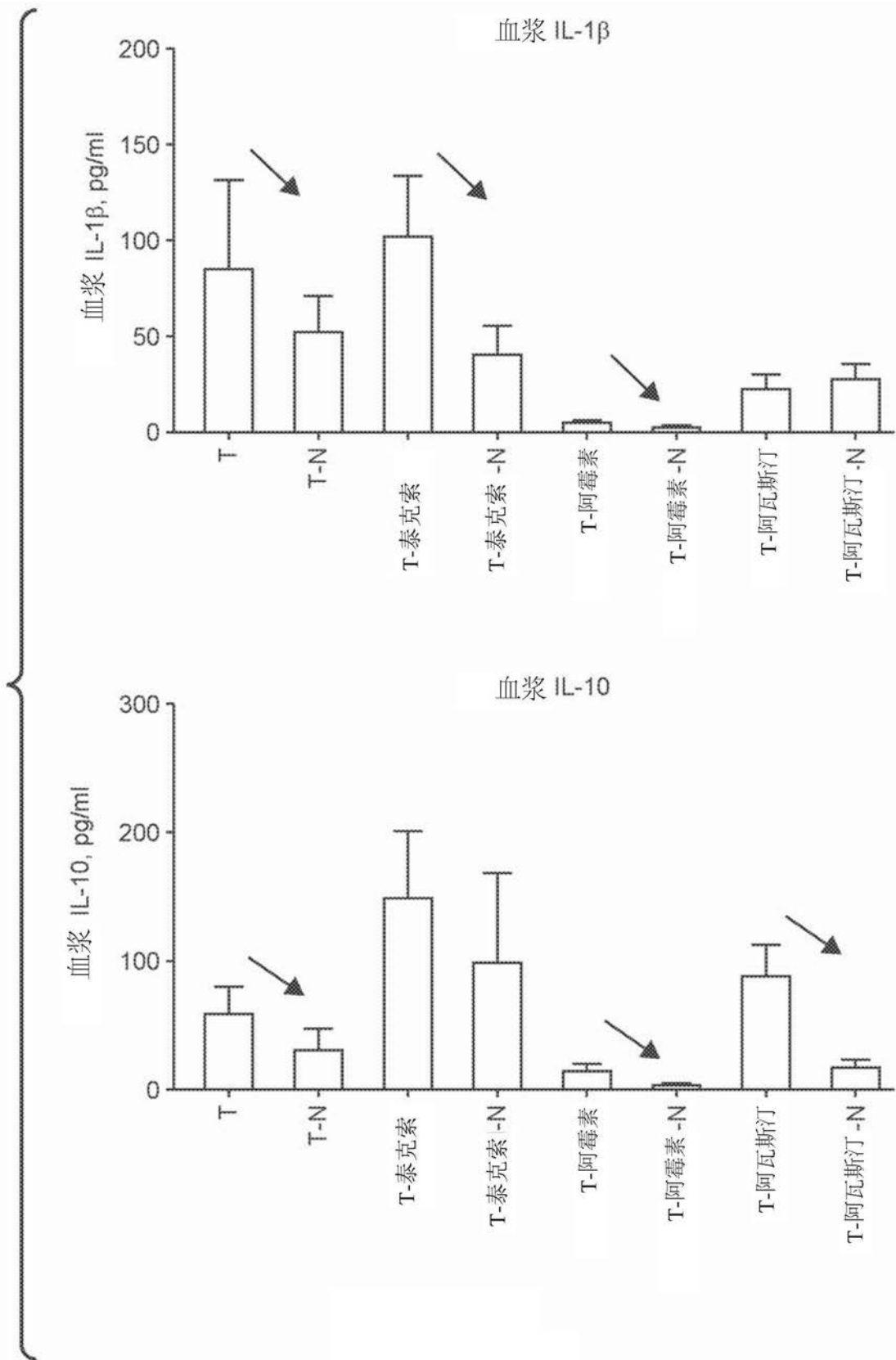


图96

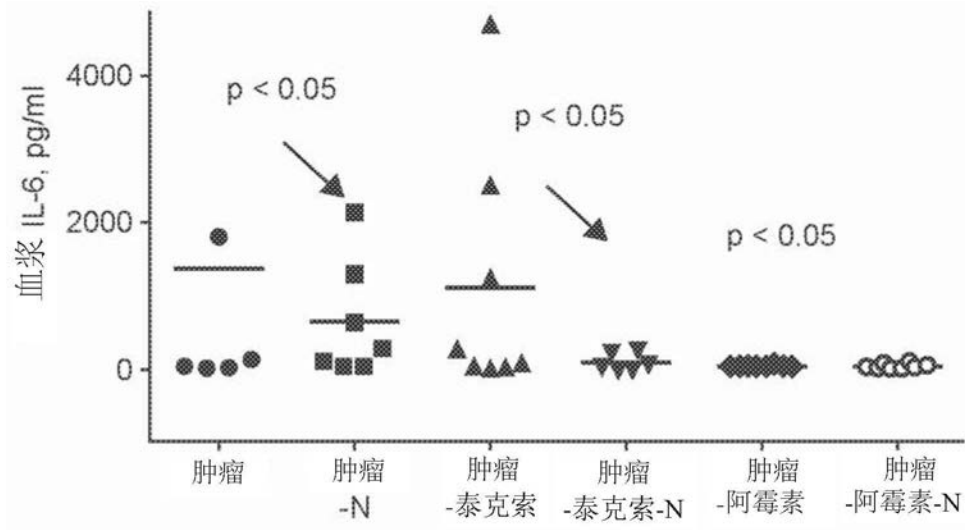


图98

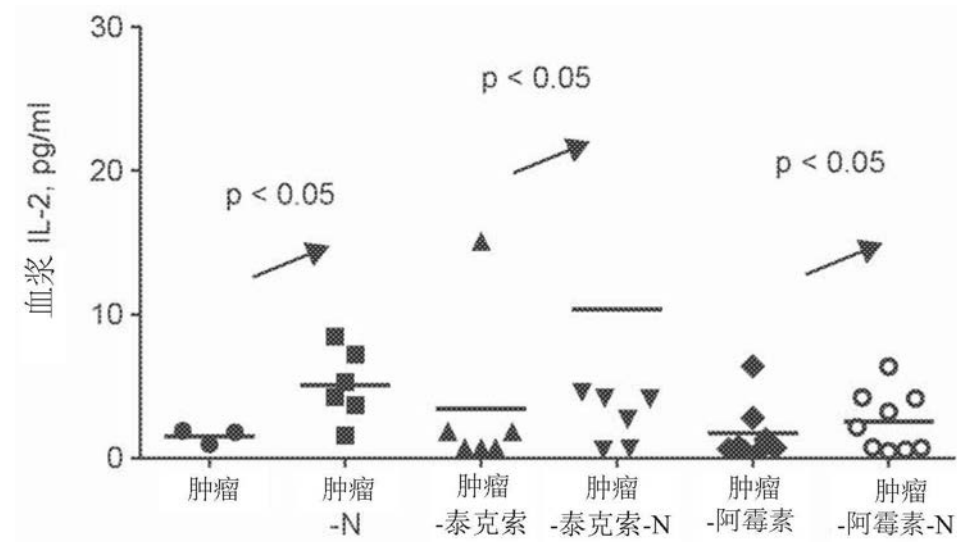


图99

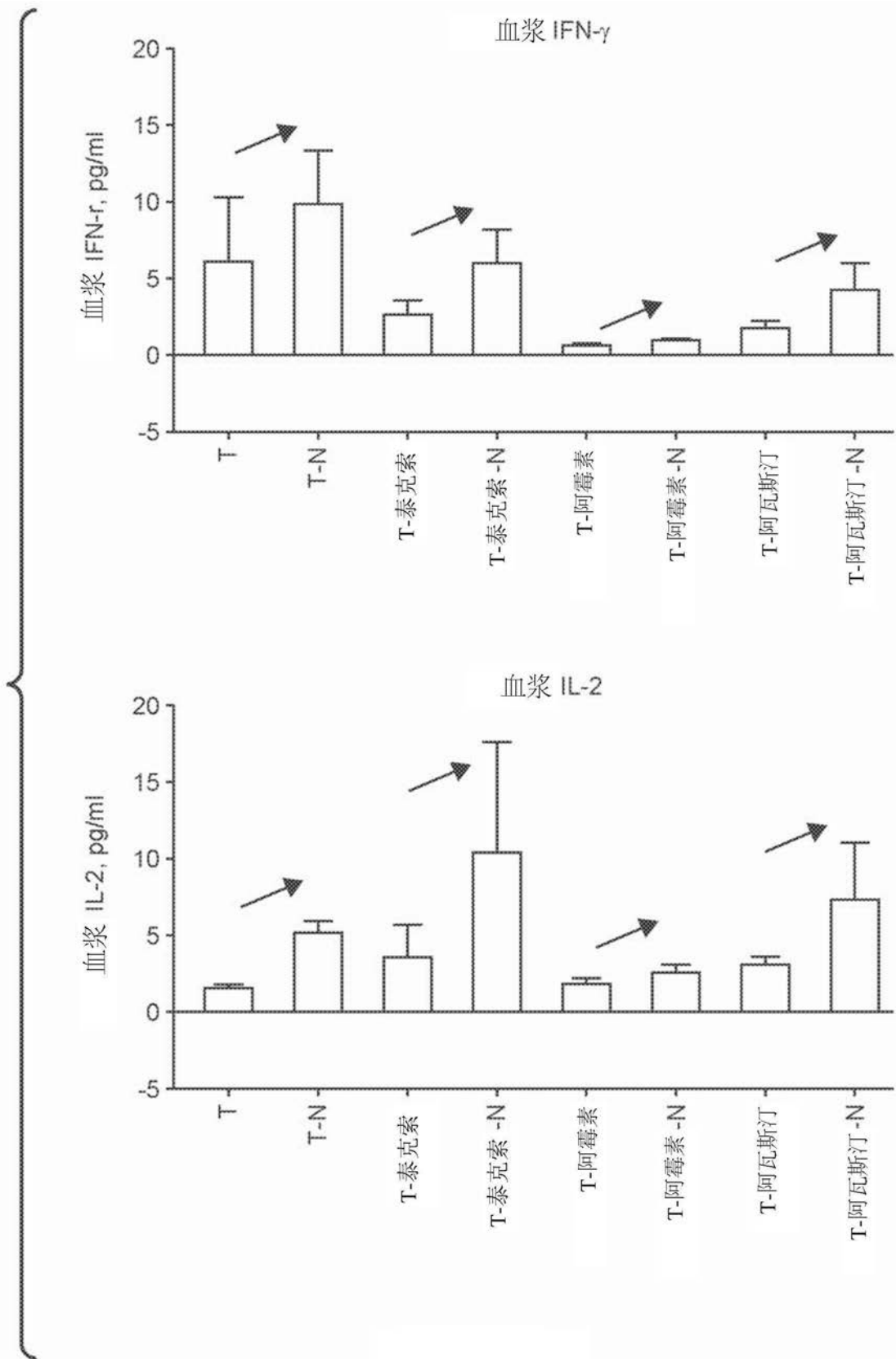


图100

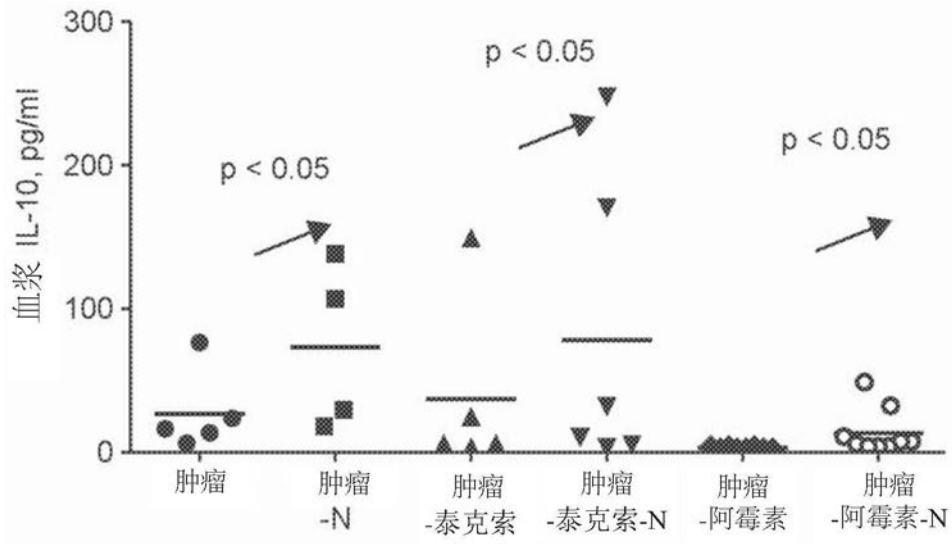


图101

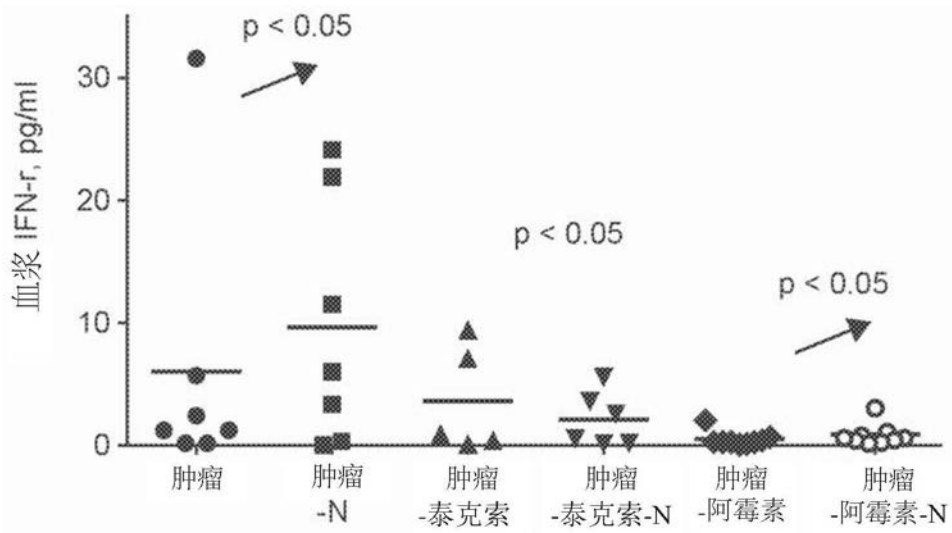


图102

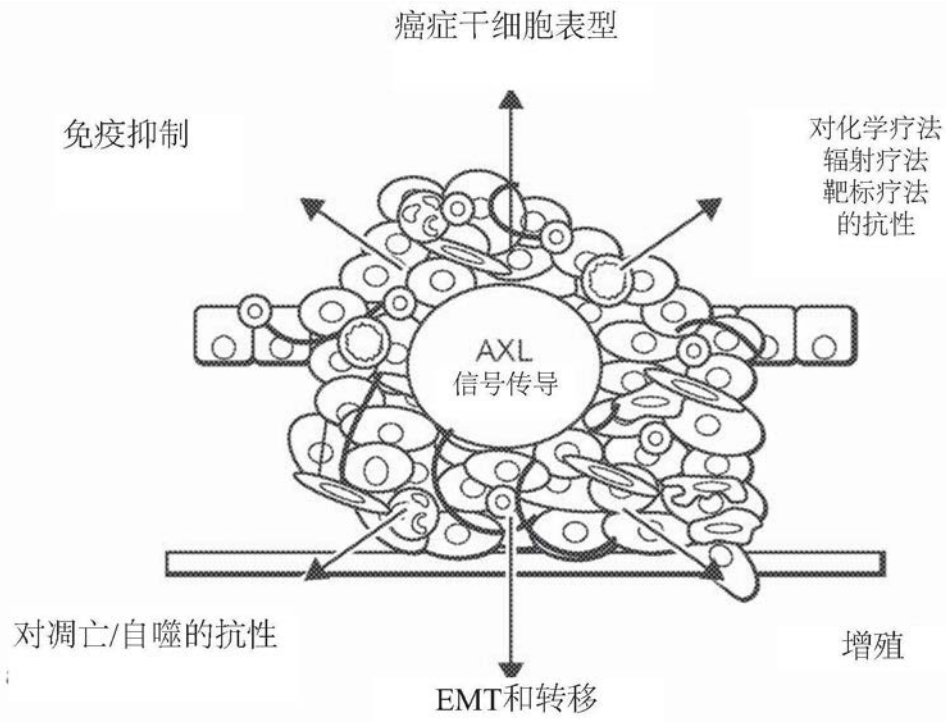


图103

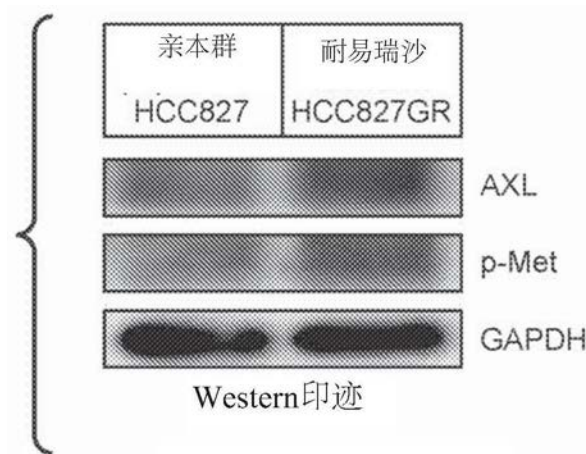


图104

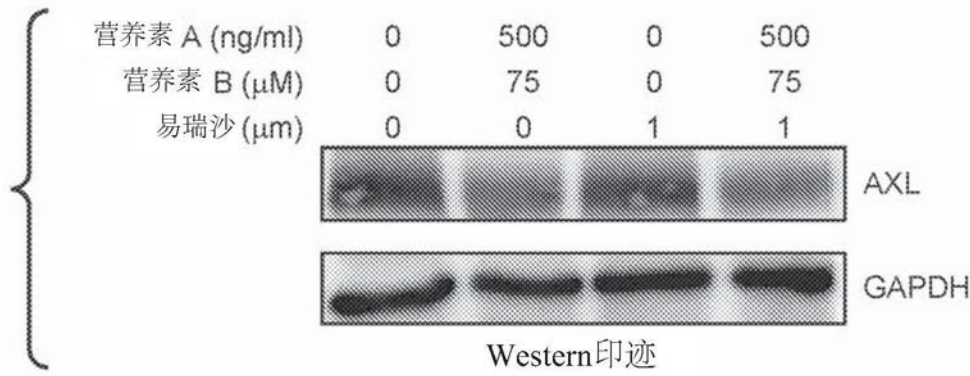


图105

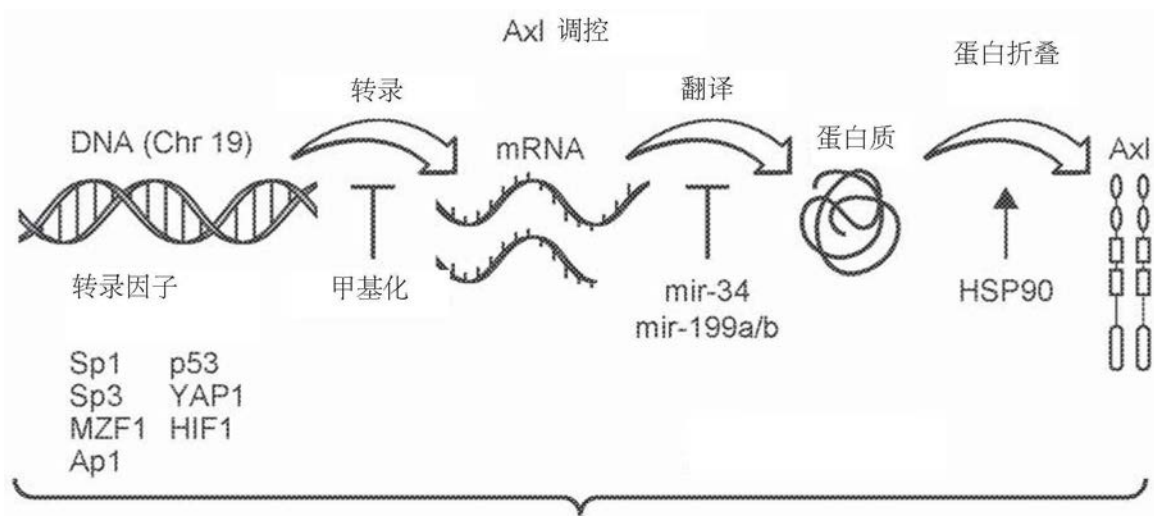


图106

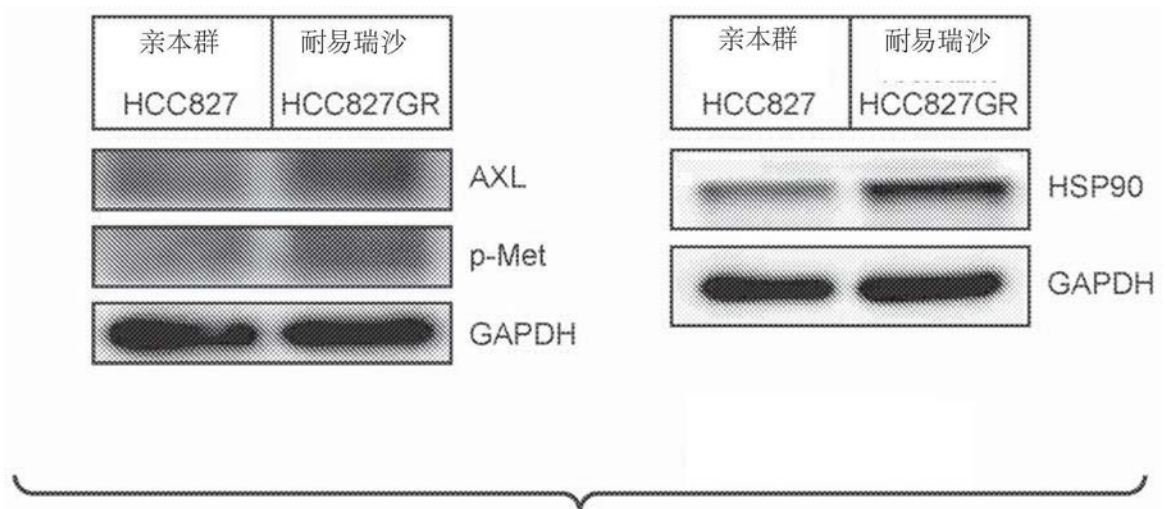


图107

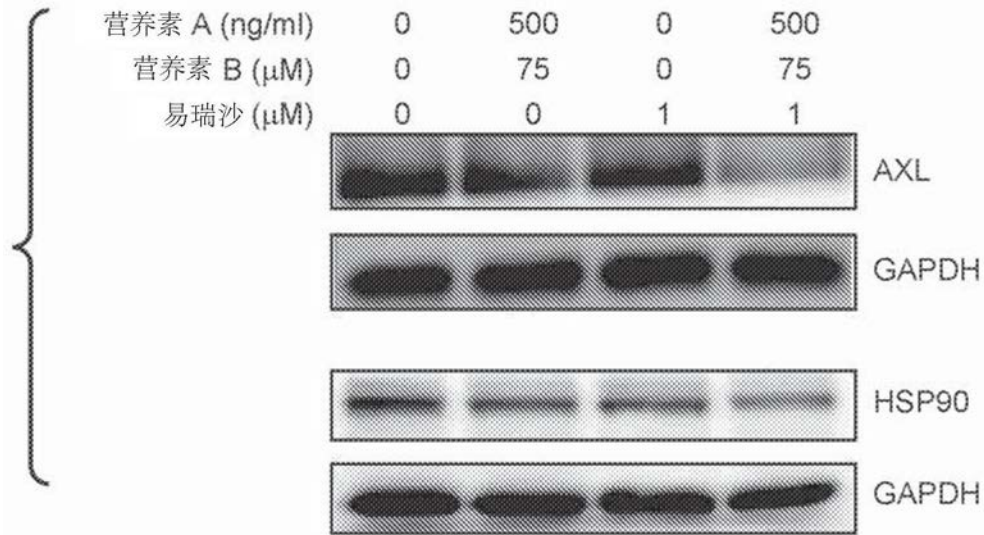


图108

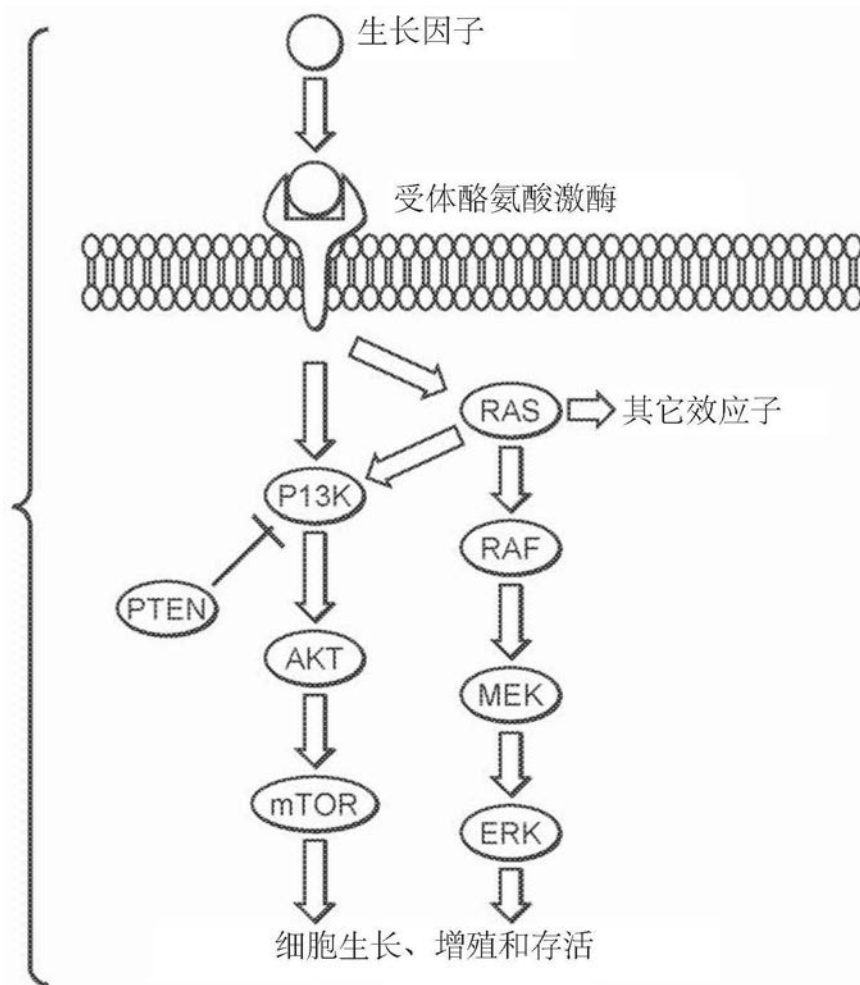


图109

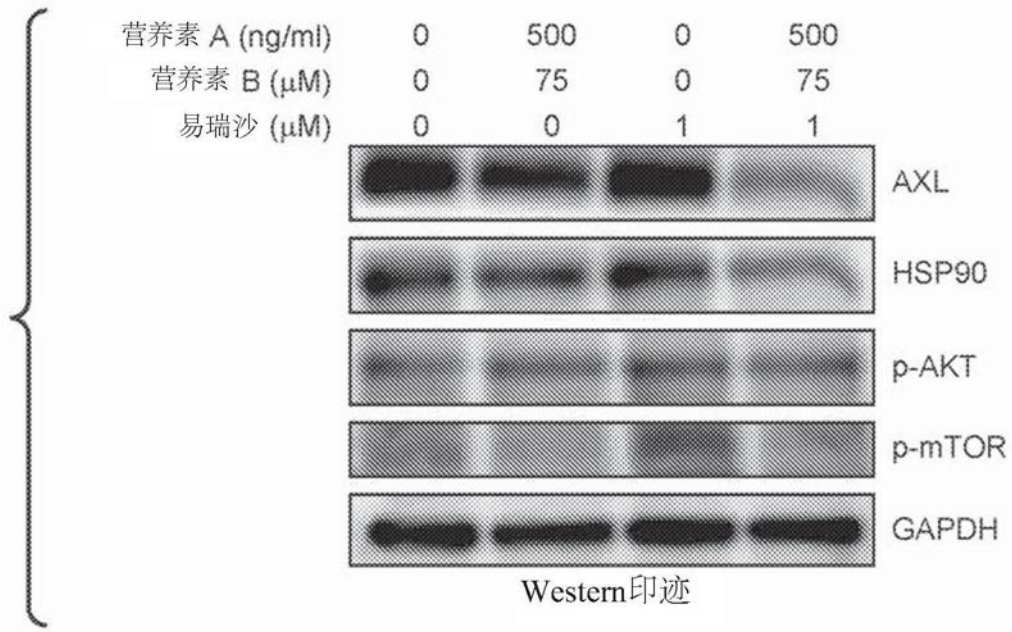


图110

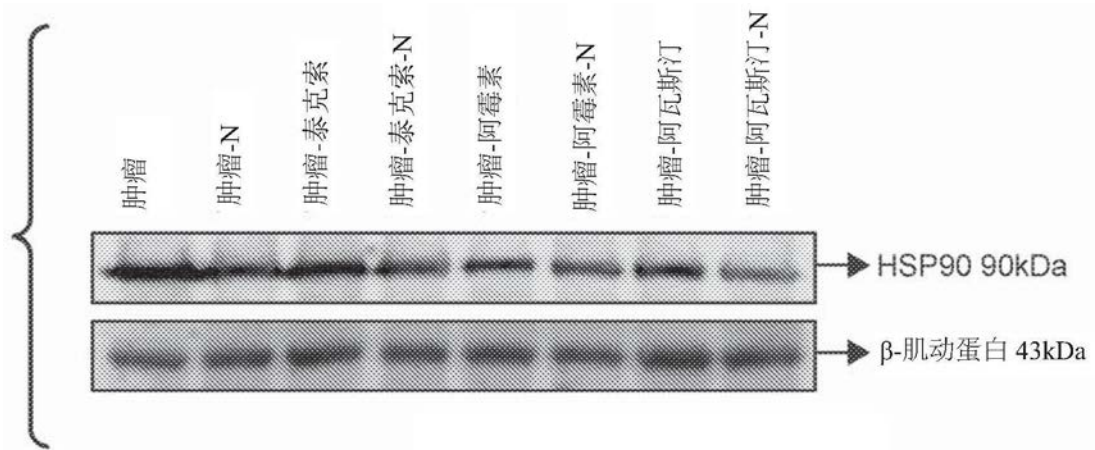


图111

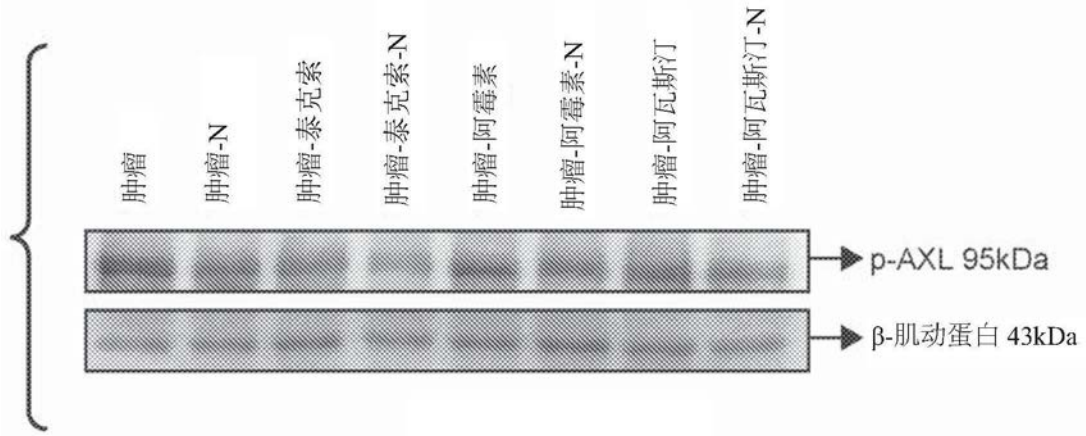


图112

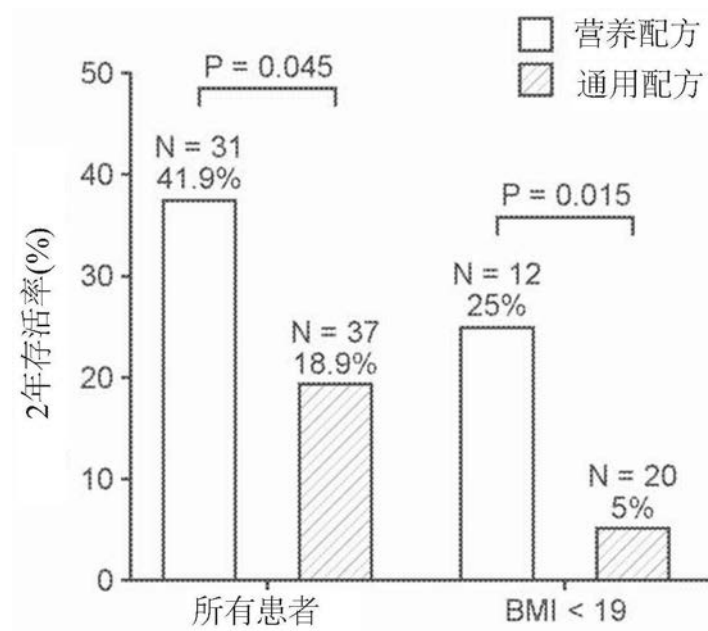


图113