



등록특허 10-2775757



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년02월28일
(11) 등록번호 10-2775757
(24) 등록일자 2025년02월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 35/60 (2015.01) A61K 33/04 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 35/60 (2013.01)
A61K 33/04 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2020-7000858
(22) 출원일자(국제) 2018년06월13일
심사청구일자 2021년06월09일
(85) 번역문제출일자 2020년01월10일
(65) 공개번호 10-2020-0078467
(43) 공개일자 2020년07월01일
(86) 국제출원번호 PCT/US2018/037263
(87) 국제공개번호 WO 2018/231937
국제공개일자 2018년12월20일
(30) 우선권주장
62/519,087 2017년06월13일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
US20140294795 A1*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
샤, 호운 사이먼
미국 92780 캘리포니아 터스틴 마이포드 로드
14791
(72) 발명자
샤, 호운 사이먼
미국 92780 캘리포니아 터스틴 마이포드 로드
14791
(74) 대리인
특허법인(유)남아이피그룹, 특허법인 남앤남

전체 청구항 수 : 총 9 항

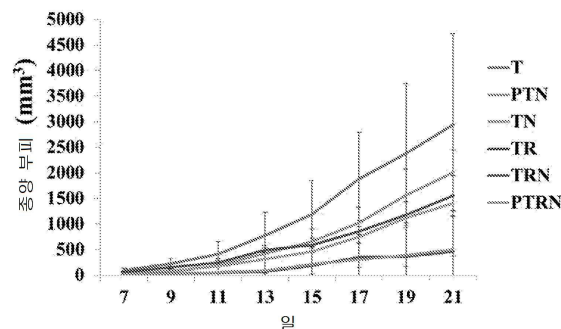
심사관 : 정혜진

(54) 발명의 명칭 암 방사선요법을 향상시키기 위한 조성물 및 방법

(57) 요약

어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물은 상승적인 방식으로 종양의 방사선요법을 강화시키는 것으로 확인되었다. 이러한 보충물과 방사선요법의 공동요법은 방사선요법 단독에 비해 동물 모델의 종양 부피의 감소를 실질적으로 개선시키고, 체중 감소, 염증, 및 위장관에 대한 손상과 같은 일반적인 부작용을 감소시킨다. 이러한 공동요법은 또한 원발성 이식 부위로부터 전이의 발생을 감소시키고, 종양 세포에서 아포토시스와 관련된 유전자의 발현을 조절하는 것으로 나타났다. 잘 관용되고 맛도 좋은 이러한 보충물의 제형이 또한 제공된다.

대표도 - 도3a



(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)

명세서

청구범위

청구항 1

암을 갖는 개인에서 방사선요법을 개선하기 위한 영양 보충물로서, 어유 및 셀레늄을 포함하고, 여기서 어유 및 셀레늄은 방사선요법 프로토콜과 조합하여 사용될 때 종양 부피 또는 중량을 감소시키는데 상승적인 효과를 제공하는 양으로 제공되며, 영양 보충물이 방사선요법의 개시 전에 개인에게 제공되도록 제형화되고, 그리고 상기 보충물의 성분이 하기에 기재된 양으로 제공되도록 영양 보충물이 제형화되는 영양 보충물:

성분	최소	최대	단위
말토덱스트린	10000	50000	mg
유장 단백질 분리물	5000	60000	mg
유장 단백질 농축물	1000	50000	mg
프록토올리고당류/이눌린	40	15000	mg
과립화된 꿀	1000	9000	mg
귀리 섬유	500	15000	mg
천연 프렌치 바닐라 향	500	20000	mg
대두 단백질	500	50000	mg
갈색화 분말 흑설탕	500	10000	mg
천연 바닐라 마스킹 향	500	5000	mg
레시틴	200	10000	mg
우유, 무지방	50	5000	mg
쌀 단백질 분말	50	5000	mg
칼슘 카세이네이트	50	2000	mg
오일			
아마인유	100	7000	mg
카놀라유	100	7000	mg
보리지 오일	100	7000	mg

올리브유	100	7000	mg
어유	150	10000	mg
순수한 레몬 오일	100	1000	mg
순수한 오렌지 오일	50	1000	mg
혼합 토크페롤	0.5	200	mg
비타민/무기질			
포타슘 포스페이트	200	1500	mg
칼슘 카르보네이트	100	5000	mg
콜린 바이타르트레이트	150	2500	mg
소듐 클로라이드	100	2000	mg
3염기 칼슘 포스페이트	100	2000	mg
아스코르브산	50	3000	mg
포타슘 클로라이드	50	2000	mg
마그네슘 옥사이드	50	500	mg
셀레늄 효모	30	4000	mcg
크롬 효모	30	3000	mcg
몰리브덴 효모	30	2000	mcg
이노시톨	10	5000	mg
아연 셀레이트 모노하이드레이트	5	200	mg
건조 비타민 E 아세테이트	5	2000	IU

니아신아미드	5	500	mg
페릭 오르소포스페이트	3	100	mg
칼슘 판토테네이트	3	200	mg
망간 설페이트 모노하이드레이트	3	100	mg
베타 카로틴	1	100	mg
구리 글루코네이트	1	15	mg
비타민 D3	25	5000	IU
비타민 K2	2	1000	mcg
피리독신 HCl	0.5	200	mg
포타슘 요오다이드	0.5	1500	mg
리보플라빈	0.5	1000	mg
티아민 하이드로클로라이드	0.5	2500	mg
건조 비타민 K1	1	500	mcg
비타민 A 아세테이트	500	100000	IU
엽산	100	10000	mcg
d-비오틴	10	10000	mcg
비타민 B12	1	3000	mcg
아미노산			
L-카르니틴	300	30000	mg
L-글루타민	500	60000	mg

L-아르기닌 염기	500	30000	mg
타우린	50	2000	mg
L-리신	50	2000	mg
알파 리포산	10	1000	mg
레스베라트롤	15	1500	mg
코-엔자임 Q10	10	5000	mg
글리신	5	1000	mg
프롤린	5	1000	mg
박테리아 배양물			
락트. 아시도필루스 (총 약 100 억개)	2	500	mg
비피도 비피둠 (총 약 100 억개)	2	500	mg
락트. 불가리쿠스 (총 약 100 억개)	2	500	mg
비피도 롱굴 (총 약 100 억개)	2	500	mg
스트렙트. 써모필루스 (총 약 100 억개)	2	500	mg
효소			
파파인	5	100	mg
펩신	5	100	mg
리파제	5	100	mg
브로멜라인	5	100	mg
판크레아틴 4X	0.5	100	mg

락타제	1	100	mg
베타인 HCl	3	100	mg
식물 생성물			
파인애플 주스 분말	2	500	mg
파파야 과일 분말	2	500	mg
케르세틴	30	3000	mg
EGCG	25	600	mg
OPC	15	500	mg
안토시아닌	15	5000	mg
엘라그산	10	300	mg
아스타잔틴	2	90	mg
푸코이단	20	1500	mg
버섯 제조물			
코르디셉스	5	6000	mg
가노더마 루시둠	15	10000	mg
시이타케	40	15000	mg
마이타케	30	15000	mg
터키 테일	30	15000	mg

청구항 2

제1항에 있어서, 개선은 종양으로부터 전이를 감소시키는 것이며, 여기서 영양 보충물은 종양의 전이 활성을 감소시키는 양으로 제공되는 영양 보충물.

청구항 3

제1항에 있어서, 개선은 종양에서 혈관형성을 감소시키는 것이며, 여기서 영양 보충물은 종양의 혈관형성 활성을 감소시키는 양으로 제공되는 영양 보충물.

청구항 4

제1항에 있어서, 개선은 종양의 암 줄기 세포 함량을 감소시키는 것이며, 여기서 영양 보충물은 종양에서 암 줄기 세포의 발생을 감소시키는데 효과적인 양으로 제공되는 영양 보충물.

청구항 5

제1항에 있어서, 개선은 종양의 암 세포에서 PDL-1 발현을 감소시키는 것이며, 여기서 영양 보충물은 암 세포의 PDL-1을 감소시키는데 효과적인 양으로 제공되는 영양 보충물.

청구항 6

방사선요법을 받는 종양에서 혈관형성 또는 아픔토시스 관련 유전자 발현을 억제하기 위한 영양 보충물로서, 어유 및 셀레늄을 포함하고, 여기서 영양 보충물은 종양 유전자의 발현을 조절하는 양으로 제공되며, 영양 보충물

이 방사선요법의 개시 전에 환자에게 제공되도록 제형화되고, 그리고 상기 영양 보충물의 모든 성분이 제1항의 표에 기재된 양으로 제공되도록 영양 보충물이 제형화되는 영양 보충물.

청구항 7

제6항에 있어서, 유전자가 혈관형성 인자를 인코딩하는 영양 보충물.

청구항 8

제6항에 있어서, 유전자가 아폽토시스 인자를 인코딩하는 영양 보충물.

청구항 9

제6항에 있어서, 유전자가 EGFR을 인코딩하는 영양 보충물.

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

청구항 100

삭제

청구항 101

삭제

청구항 102

삭제

청구항 103

삭제

청구항 104

삭제

청구항 105

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 출원은 2017년 6월 13일에 출원된 미국 가출원 번호 62/519,087호에 대한 이익을 주장한다. 이들 및 모든 다른 참조된 외부 자료는 이들의 전체내용이 참조로서 본원에 포함된다. 참조로서 포함되는 참고문헌에서의 용어의 정의 또는 사용이 본원에 제공된 그 용어의 정의와 불일치하거나 상반되는 경우, 본원에 제공된 용어의 정의가 우선하는 것으로 간주된다.

[0002] **발명의 분야**

[0003] 본 발명의 분야는 암 방사선요법이다.

배경 기술

[0004] **배경**

[0005] 배경 설명은 본 발명의 이해에 유용할 수 있는 정보를 포함한다. 본원에 제공된 임의의 정보가 선행 기술이거나 본원에 청구된 발명과 관련이 있거나, 구체적 또는 암시적으로 언급된 임의의 간행물이 선행 기술임을 인정하는 것은 아니다.

[0006] 암의 치료에 이용되는 방사선요법 및 화학요법 프로토콜은 환자에게 명백히 도움이 되지만, 일부 암에서는 효과가 없거나 효과가 덜할 수 있다. 또한, 방사선요법 및 화학요법 둘 모두는 구역, 체중 감소, 탈모, 위장관에 대한 손상, 및 피부 자극을 포함하는 상당한 부작용과 관련된다.

[0007] 방사선요법의 효과를 향상시키기 위한 시도가 이루어졌다. 예를 들어, 종양 세포를 표적화하도록 변형된 금 나노입자가 방사선요법을 향상시키기 위해 사용되어 왔다(Yang et al, ACS Nano, 2014, 8(9):8992-9002). 본원의 모든 간행물은 각각의 개별적 간행물 또는 특허 출원이 구체적 및 개별적으로 참조로서 포함된다고 지시된 것과 동일한 정도로 참조로서 포함된다. 포함된 참고문헌에서의 용어의 정의 또는 사용이 본원에 제공된 그 용어의 정의와 불일치하거나 상반되는 경우, 본원에 제공된 용어의 정의가 적용되며, 참고문헌에서의 그 용어의 정의는 적용되지 않는다. 유사하게, COX-2 억제제가 종양 세포를 방사선의 효과에 선택적으로 민감화시키기 위해 사용되어 왔다(Choy and Milas, J. Natl Cancer Inst (2003) 95(19):1140-1452). 그러나, 이러한 접근법은 선택성에 문제가 있을 수 있으며, 모든 종양 유형에 효과적이지 않을 수 있다. 현재까지 방사선요법의 부작용을 감소시키기 위한 시도는 주로 전체 방사선 선량을 다수의 더 작은 방사선 선량으로 분할하고(회복을 허용하기 위해 그 사이에 시간을 둬), 차폐를 이용하여 종양을 표적화하고, 종양의 경계를 확인하고, 그 부위에 방사선요법을 국소화시키는 것에 관한 것이다. 불행히도, 이러한 접근법은 모든 종양 세포를 적절히 치료하는데 실패할 수 있다.

[0008] 화학요법의 효과를 향상시키기 위한 시도가 또한 이루어졌다. 일부 연구에서는 어유(fish oil)의 섭취가 화학요법으로부터의 결과를 개선시킬 수 있음을 제안하였으나, 다른 연구에서는 어유가 지장을 줄 수 있다고 제안하였다(Daenen et al, JAMA Oncol (2015) 1(3):350-358). 나노입자로서의 화학요법제의 제형화가 또한 시도되어 왔다(Xu et al, Coll. Surf. B: Biointerfaces (2006) 48(1):50-57). 그러나, 모든 화학요법 약물이 이러한 재제형화에 적합한지의 여부는 불분명하다. 다약제 내성을 간섭하기 위해 설계된 siRNA와 화학요법 약물의 공동전달이 또한 연구되었다. 그러나, 이러한 siRNA는 서열 특이적이며, 일부 종양에 적합하지 않을 수 있다.

[0009] 화학요법의 부작용의 완화는 일반적으로 증상 경감을 제공하도록 한다. 예를 들어, 식이 변형 및 소량의 식사, 특정 음식을 피하는 빈번한 식사와 함께 구역을 감소시키기 위한 항구토제가 사용될 수 있다. 불행히도, 이러한 접근법은 항상 효과적이지는 않다. 일부 예에서, 화학요법제는 부작용을 감소시키기 위해 감소된 독성을 갖도록 선택되나, 이러한 제제는 또한 종양 세포에 대해 감소된 효과를 가질 수 있다.

[0010] 따라서, 암 방사선요법 및/또는 화학요법의 효과를 향상시키고/시키거나 부작용을 감소시키기 위한 안전하고 효과적인 조성물 및 방법이 여전히 필요하다.

발명의 내용

[0011] **발명의 개요**

[0012] 본 발명의 주제는 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물의 사용을 통해 상승적인 방식으로 종양의 방사선요법을 향상시키고 개선하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다.

[0013] 본 발명의 개념의 일 구현에는 종양 부피 또는 종양을 감소시키는데 있어서 상승적인 효과를 제공하는 양의 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물(예를 들어, 표 1에 제시된 바와 같음)를 환자에게 제공하면서, 치료를 필요로 하는 환자에게 방사선요법 프로토콜을 적용함으로써 종양을 치료하는 방법이다. 일부 구현예에서, 영양 보충물은 방사선요법의 개시 전에 환자에게 제공된다. 이러한 영양 보충물은 보충물의 성분 중 2개 이상이 표 1에 기재된 양으로 제공되도록 제형화될 수 있다.

[0014] 본 발명의 개념의 또 다른 구현에는 방사선요법 프로토콜의 부작용을 감소시키는 양의 어유 및 셀레늄을 포함하는 제형화된 영양 보충물(예를 들어, 표 1에서와 같이)을 환자에게 제공하면서, 부작용을 감소시키는 방법이다. 일부 구현예에서, 영양 보충물은 방사선요법의 개시 전에 환자에게 제공된다. 이러한 영양 보충물은 보충물의 성분 중 2개 이상이 표 1에 기재된 양으로 제공되도록 제형화될 수 있다.

[0015] 본 발명의 개념의 또 다른 구현에는 종양을 갖는 동물 또는 종양에 영양 보충물을 제공함으로써 종양에서 유전자(예를 들어, 혈관형성-관련 유전자, 아폽토시스-관련 유전자 등) 발현을 조절하는 방법이며, 여기서 영양 보충물은 어유 및 셀레늄을 포함하고(예를 들어, 표 1에서와 같이), 종양의 유전자의 발현을 조절하는 양으로 제공된다. 일부 구현예에서, 영양 보충물은 방사선요법의 개시 전 및 방사선요법 동안에 환자에게 제공되고; 다른 구현예에서, 이러한 보충물은 방사선요법의 적용 동안 또는 처음에 제공된다. 바람직한 구현예에서, 영양 보충물은 보충물의 2개 이상의 성분이 표 1에 기재된 양으로 제공되도록 제형화된다.

[0016] 본 발명의 개념의 또 다른 구현에는 전이성 종양을 갖는 환자에게 어유 및 셀레늄을 포함하는 영양 보충물(예를 들어, 표 1에서와 같이)을 제공함으로써 종양으로부터의 전이를 감소시키는 방법이고, 여기서 영양 보충물은 종양의 전이 활성을 감소시키는 양으로 제공된다. 일부 구현예에서, 이러한 영양 보충물은 방사선요법의 개시 전 및 처음에 제공되고, 방사선요법의 과정 동안 제공될 수 있다. 바람직한 구현예에서, 영양 보충물은 보충물 중 2개 이상의 성분이 표 1에 기재된 양으로 제공되도록 제형화된다.

[0017] 본 발명의 개념의 또 다른 구현에는 종양을 갖는 환자에게 방사선요법과 함께 어유 및 셀레늄을 포함하는 영양 보충물(예를 들어, 표 1에서와 같이)을 제공하는 것을 포함하는 종양에서 혈관형성을 감소시키는 방법이고, 여기서 영양 보충물은 종양의 혈관형성 활성을 감소시키는 양으로 제공된다. 일부 구현예에서, 이러한 영양 보충물은 방사선요법의 개시와 동시에 제공되고, 방사선요법의 적용 동안 환자에게 제공될 수 있다. 바람직한 구현예에서, 영양 보충물은 보충물 중 2개 이상의 성분이 표 1에 기재된 양으로 제공되도록 제형화된다.

[0018] 본 발명의 개념의 또 다른 구현에는 종양을 갖는 환자에게 어유 및 셀레늄을 포함하는 영양 보충물(예를 들어, 표 1에서와 같이)을 제공함으로써 종양에서 암 줄기 세포의 발생률을 감소시키는 방법이고, 여기서 영양 보충물은 종양에서 줄기 세포의 발생률을 감소시키는 양으로 제공된다. 바람직한 구현예에서, 영양 보충물은 방사선요법의 적용과 동시에 제공된다. 영양 보충물은 보충물의 2개 이상의 성분이 표 1에 기재된 양으로 제공되도록 제형화될 수 있다.

[0019] 본 발명의 주제의 다양한 목적, 특징, 양태 및 장점은 동일한 숫자가 동일한 구성요소를 나타내는 첨부된 도면과 함께 하기 바람직한 구현예의 상세한 설명으로부터 더욱 명백해질 것이다.

도면의 간단한 설명

[0020] **도면의 간단한 설명**

도 1: 도 1은 방사선요법의 수행 7일 전 또는 종양 세포 이식과 동시에 시작하여 영양 보충이 제공되는 치료 프로토콜을 도시한다. 마우스를 종양 세포 이식 21일 후에 희생시켰다.

도 2a 및 2b: 도 2a는 다양한 치료 그룹에 대한 시간 경과에 따른 체중 변화를 도시한다. 도 2b는 연구 과정 동안 다양한 치료 그룹에서의 체중 변화를 도시한다. 체중은 원발성 종양 덩어리를 제거한 후 보고된 것임에 유의한다.

도 3a 내지 3d: 도 3a 내지 3d는 방사선요법과 어유 및 셀레늄을 함유하는 보충물로의 공동-치료의 종양 부피 및 중량에 대한 전형적인 상승 효과를 보여준다. 도 3a는 다양한 치료 그룹에 대한 시간 경과에 따른 종양 부피의 변화를 보여준다. 도 3b는 도 3a에 도시된 치료의 처음 11일의 상세도를 제공한다. 도 3c는 다양한 치료 그룹에 대한 종양 중량의 히스토그램을 제공한다. 도 3d는 다양한 치료 그룹으로부터의 예시적인 종양의 사진을 제공한다.

도 4a 내지 4g: 도 4a: 종양 세포 주입 21일 후에 비복근 질량에 대한 방사선요법, 어유 및 셀레늄을 함유하는 보충물, 및 조합 치료를 이용한 치료 효과. 도 4b: 종양 세포 주입 21일 후에 가자미근 질량에 대한 방사선요법, NutraWell 보충물, 및 조합 치료를 이용한 치료 효과. 도 4c: 종양 세포 주입 21일 후에 폐(전이성 종양 포함) 중량에 대한 방사선요법, NutraWell 보충물, 및 조합 치료를 이용한 치료 효과. 도 4d: 종양 세포 주입 21일 후에 간(전이성 종양 포함) 중량에 대한 방사선요법, NutraWell 보충물, 및 조합 치료를 이용한 치료 효과. 도 4e: 종양 세포 주입 21일 후에 비장(전이성 종양 포함) 중량에 대한 방사선요법, NutraWell 보충물, 및 조합 치료를 이용한 치료 효과. 도 4f는 어유 및 셀레늄을 함유하는 보충물 및/또는 방사선요법으로 치료된 동물 대상체에서 폐 전이 연구의 정량적 결과를 제공한다. 도 4g는 어유 및 셀레늄을 함유하는 보충물 및/또는 방사선요법으로 치료된 동물 대상체에서 원발성 종양 부위 및 전이성 부위에서의 Ki-67 발현의 연구 결과를 보여준다.

도 5a 내지 5e: 도 5a: 종양 세포 주입 21일 후에 혈소판 수에 대한 방사선요법, NutraWell 보충물, 및 조합 치료를 사용한 치료 효과. 도 5b: 종양 세포 주입 21일 후에 백혈구 수에 대한 방사선요법, NutraWell 보충물, 및 조합 치료를 이용한 치료 효과. 도 5c: 종양 세포 주입 21일 후에 림프구 수에 대한 방사선요법, NutraWell 보충물, 및 조합 치료를 이용한 치료 효과. 도 5d: 종양 세포 주입 21일 후에 과립구 수에 대한 방사선요법, NutraWell 보충물, 및 조합 치료를 이용한 치료 효과. 도 5e: 종양 세포 주입 21일 후에 호중구/림프구 백분율 비에 대한 방사선요법, NutraWell 보충물, 및 조합 치료를 이용한 치료 효과.

도 6a 및 6b: 도 6a: 종양 세포 주입 21일 후에 혈청 알부민에 대한 방사선요법, NutraWell 보충물, 조합 치료를 이용한 치료 효과. 도 6b: 종양 세포 주입 21일 후에 혈청 크레아티닌에 대한 방사선요법, NutraWell 보충물, 및 조합 치료를 이용한 치료 효과.

도 7a 및 7b: 도 7a: 종양 세포 주입 21일 후에 혈청 IL-6에 대한 방사선요법, NutraWell 보충물, 조합 치료를 이용한 치료 효과. 도 7b: 종양 세포 주입 21일 후에 혈청 IL-1 β 에 대한 방사선요법, NutraWell 보충물, 및 조합 치료를 이용한 치료 효과.

도 8a 내지 8g: 도 8a: 종양 세포 주입 21일 후에 이식된 종양에서 VEGF 유전자의 발현에 대한 방사선요법, NutraWell 보충물, 및 조합 치료를 이용한 치료 효과. 도 8b: 종양 세포 주입 21일 후에 이식된 종양에서 BAX 유전자의 발현에 대한 방사선요법, NutraWell 보충물, 및 조합 치료를 이용한 치료 효과. 도 8c: 종양 세포 주입 21일 후에 이식된 종양에서 Bcl-2 유전자의 발현에 대한 방사선요법, NutraWell 보충물, 및 조합 치료를 이용한 치료 효과. 도 8d: 종양 세포 주입 21일 후에 이식된 종양에서 카스파제 3 유전자의 발현에 대한 방사선요법, NutraWell 보충물, 및 조합 치료를 이용한 치료 효과. 도 8e: 종양 세포 주입 21일 후에 폐에서 BAX 유전자의 발현에 대한 방사선요법, NutraWell 보충물, 및 조합 치료를 이용한 치료 효과. 도 8f: 종양 세포 주입 21일 후에 폐에서 Bcl-2 유전자의 발현에 대한 방사선요법, NutraWell 보충물, 및 조합 치료를 이용한 치료 효과. 도 8g: 종양 세포 주입 21일 후에 폐에서 카스파제 3 유전자의 발현에 대한 방사선요법, NutraWell 보충물, 및 조합 치료를 이용한 치료 효과.

도 9a 및 9b: 도 9a는 방사선요법의 처음에 영양 보충을 시작하면서, 마우스가 8, 10, 및 12일에 방사선요법을 받는 시험 프로토콜을 도시한다. 마우스를 종양 세포 이식 14일 또는 24일 후에 희생시킨다. 도 9b: 도 9a에 도시된 프로토콜로부터 유래된 치료 그룹.

도 10a 내지 10c: 도 10a: 도 9a에 제시된 바와 같이 치료된 마우스에서 종양 세포 이식 14일 및 24일 후에 혈청 알부민 농도. 도 10b: 도 9a에 제시된 바와 같이 치료된 마우스에서 종양 세포 이식 14일 및 24일 후에 림프

구 수. 도 10c: 도 9a에 제시된 바와 같이 치료된 마우스에서 종양 세포 이식 14일 및 24일 후에 N/L 비.

도 11a 내지 11d: 도 11a: 도 9a에 제시된 바와 같이 치료된 마우스에서 종양 세포 이식 24일 후에 종양 덩어리 내의 VEGF 발현. FITC는 VEGF-특이적 염색을 나타낸다. 도 11b: 도 9a에 제시된 바와 같이 치료된 마우스에서 종양 세포 이식 24일 후에 폐(전이) 내의 VEGF 발현. FITC는 VEGF-특이적 염색을 나타낸다. 도 11c: 도 9a에 제시된 바와 같이 치료된 마우스에서 종양 세포 이식 24일 후에 폐(전이) 내의 EGFR 발현. FITC는 EGFR-특이적 염색을 나타낸다. 도 11d: 도 9a에 제시된 바와 같이 치료된 마우스에서 종양 세포 이식 24일 후에 종양 덩어리 내의 EGFR 발현. FITC는 EGFR-특이적 염색을 나타낸다.

도 12: 도 9a에 제시된 바와 같이 치료된 마우스에서 종양 세포 이식 24일 후에 종양 덩어리 및 폐 조직(전이) 내의 CD31(암 줄기 세포 마커) 발현. FITC는 CD31-특이적 염색을 나타낸다.

도 13a 및 13b: 도 13a는 도 9a에 제시된 나타낸 바와 같이 치료된 마우스에서 종양 세포 이식 24일 후에 종양 덩어리 및 폐 조직(전이) 내의 HIF1- α (저산소증 마커) 단백질의 존재를 나타낸다. FITC는 HIF1- α 특이적 염색을 나타낸다. 도 13b는 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물 및/또는 방사선요법으로 치료된 대상체로부터의 종양 샘플의 유전자 발현 연구의 결과를 보여준다.

도 14: 도 9a에 제시된 바와 같이 치료된 마우스에서 종양 세포 이식 24일 후에 아포토시스 마커의 발현.

도 15a 및 15b: 도 15a는 어유 및 셀레늄을 함유하는 보충물 및/또는 방사선요법으로 치료된 인간 질환의 동물 모델에서 원발성 및 전이성 종양 부위에서 PDL-1 유전자 발현을 특성규명하는 연구의 결과를 보여준다. 도 15b는 어유 및 셀레늄을 함유하는 보충물 및/또는 방사선요법으로 치료된 인간 질환의 동물 모델에서 원발성 및 전이성 종양 부위에서 PD-1 유전자 발현을 특성규명하는 연구의 결과를 보여준다.

도 16a 및 16b: 도 16a는 종양 세포 이식 전, 종양 세포 이식 시점, 또는 방사선요법의 처음에 영양 보충을 제공하면서, 마우스가 8, 10, 및 12일에 방사선요법을 받는 시험 프로토콜을 도시한다. 마우스를 종양 세포의 이식 21일 후에 희생시킨다. 도 16b: 도 16a에 도시된 프로토콜로부터 유래된 치료 그룹.

도 17: 도 16a에 기술된 프로토콜에 의해 치료된 마우스의 장 단면의 현미경사진.

도 18a 내지 18f: 도 18a: 종양 세포 주입 21일 후에 VEGF 유전자의 발현에 대한 방사선요법, NutraWell 보충물, 및 조합 치료를 이용한 치료 효과. 도 18b: 종양 세포 주입 21일 후에 BAX 유전자의 발현에 대한 방사선요법, NutraWell 보충물, 및 조합 치료를 이용한 치료 효과. 도 18c: 종양 세포 주입 21일 후에 Bcl-2 유전자의 발현에 대한 방사선요법, NutraWell 보충물, 및 조합 치료를 이용한 치료 효과. 도 18d: 종양 세포 주입 21일 후에 카스파제 3 유전자의 발현에 대한 방사선요법, NutraWell 보충물, 및 조합 치료를 이용한 치료 효과. 도 18e: 종양 세포 주입 21일 후에 폐(즉, 전이)에서 Bcl-2 유전자의 발현에 대한 방사선요법, NutraWell 보충물, 조합 치료를 사용한 치료 효과. 도 18f: 종양 세포 주입 21일 후에 폐(즉, 전이)에서 카스파제 3 유전자의 발현에 대한 방사선요법, NutraWell 보충물, 조합 치료를 사용한 치료 효과.

도 19a 및 19b: 도 19a는 종양 세포 이식 전 7일 동안 영양 보충을 제공하면서, 마우스가 8, 10, 및 12일에 방사선요법을 받는 시험 프로토콜을 도시한다. 마우스를 종양 세포의 이식 24일 후에 희생시킨다. 도 19b: 도 19a에 도시된 프로토콜로부터 유래된 치료 그룹.

도 20a 및 20b: 도 20a: 도 19a에 제시된 프로토콜을 사용하여 종양 세포 이식 후에 반복된 방사선요법을 받은 마우스에서 체질량에 대한 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물의 효과. 도 20b: 도 19a에 제시된 프로토콜을 사용하여 종양 세포 이식 21일 후에 비복근 질량에 대한 방사선요법, 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물, 및 조합 치료의 치료 효과.

도 21a 및 21b: 도 21a는 종양 세포 이식 전 7일 동안, 당일, 또는 종양 세포 이식 후 8일 동안 영양 보충을 제공하면서, 마우스가 8, 10, 및 12일에 방사선요법을 받는 시험 프로토콜 마우스를 묘사한다. 마우스를 종양 세포의 이식 21일 후에 희생시킨다. 도 21b: 도 21a에 도시된 프로토콜로부터 유래된 치료 그룹.

도 22: 도 21a에 도시된 프로토콜을 사용하여 종양 세포 이식 후에 반복된 방사선요법을 받은 마우스에서 체질량에 대한 NutraWell 보충의 효과.

도 23: 도 21a에 제시된 프로토콜에서와 같이 치료된 마우스에서 NutraWell 보충물과 함께 반복된 방사선요법에 대한 시간 경과에 따른 종양 부피의 변화.

도 24a 및 24b: 도 24a: 도 21a에 제시된 프로토콜을 사용하여 치료된 마우스에서 종양 세포 주입 21일 후에 혈

청 TNF- α 에 대한 NutraWell 보충물과 함께 반복된 방사선요법, 및 조합 치료를 이용한 치료 효과. 도 24b: 도 21a에 제시된 프로토콜을 사용하여 치료된 마우스에서 종양 세포 주입 21일 후에 혈청 IL-6에 대한 NutraWell 보충물과 함께 반복된 방사선요법, 및 조합 치료를 이용한 치료 효과.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0021] 상세한 설명

[0022] 하기 설명은 본 발명의 이해에 유용할 수 있는 정보를 포함한다. 본원에 제공된 임의의 정보가 선행 기술이거나 본원에 청구된 발명과 관련이 있거나, 구체적 또는 암시적으로 언급된 임의의 간행물이 선행 기술임을 인정하는 것은 아니다.

[0023] 본 발명의 주제는 어유 및 셀레늄을 포함하는 영양 보충물(예를 들어, 어유, 셀레늄 효모로부터 유래된 셀레늄, 및 특정 비타민, 무기질, 아미노산, 및 당류를 함유하는 보충물, 예를 들어, "NutraWell")을 방사선요법과 함께 사용하는 조성물 및 방법을 제공한다. 방사선 및 이러한 보충물의 조합 요법은 놀랍게도 종양 크기의 감소에 상당한 상승적인 효과를 제공한다. 또한, 이러한 보충물을 사용하지 않은 방사선요법의 적용에 비해 방사선요법의 부작용(예를 들어, 호중구감소증, 체질량 감소, 근육량 손실, 위장관의 아실 세포에 대한 손상 등)이 감소 및/또는 완화된다. 놀랍게도, 혈관형성 및 아포토시스와 관련된 유전자의 발현은 또한 방사선요법의 적용 여부에 관계없이, 어유 및 셀레늄을 함유하는 보충물을 사용할 때 종양 세포에서 조절되는 것으로 밝혀졌다. 또한, 전이가 예방되고, 암 줄기 세포의 성장 및 확산이 감소되는 것으로 나타났다.

[0024] 개시된 기술이 이들 접근법과 관련된 부작용을 감소시키면서 암의 치료에서 사용되는 현재의 방사선요법 프로토콜의 효과를 향상시키는 것을 포함하는 많은 유리한 기술적 효과를 제공한다는 것을 인지해야 한다.

[0025] 하기 논의는 본 발명의 주제의 많은 예시적 구현예를 제공한다. 각각의 구현예가 본 발명의 요소의 단일 조합을 나타내지만, 본 발명의 주제는 개시된 요소의 모든 가능한 조합을 포함하는 것으로 고려된다. 따라서, 하나의 구현예가 요소 A, B, 및 C를 포함하고, 제2의 구현예가 요소 B 및 D를 포함하는 경우, 본 발명의 주제는 비록 명백히 개시되지 않더라도 A, B, C, 또는 D의 다른 나머지 조합을 포함하는 것으로 또한 고려된다.

[0026] 일부 구현예에서, 본 발명의 특정 구현예를 기재하고 청구하기 위해 사용되는 성분, 특성, 예를 들어, 농도, 반응 조건 등의 양을 표현하는 숫자는 일부 경우에 용어 "약"에 의해 수식되는 것으로 이해되어야 한다. 따라서, 일부 구현예에서, 기재된 설명 및 첨부된 청구범위에 기재된 수치 파라미터는 특정 구현예에 의해 획득하고자 하는 원하는 특성에 따라 가변적일 수 있는 근사치이다. 일부 구현예에서, 수치 파라미터는 보고된 유효 숫자의 수의 견지에서 일반적인 반올림 기술을 적용하여 해석되어야 한다. 본 발명의 일부 구현예의 넓은 범위를 기재하는 수치 범위 및 파라미터가 근사치임에도 불구하고, 특정 실시예에 기재된 수치 값은 실시 가능한 한 정확하게 보고된다. 본 발명의 일부 구현예에 제시된 수치 값은 이들 각각의 시험 측정에서 발견되는 표준 편차로부터 반드시 발생하는 특정 오차를 함유할 수 있다.

[0027] 본 발명의 개념의 일 구현예에서, 표 1에 제시된 바와 같은 영양 보충 조성물("NutraWell")이 방사선요법의 결과를 개선시키기 위해 제공된다.

성분	최소	최대	단위
말토덱스트린	10000	50000	mg
유장 단백질 분리물	5000	60000	mg
유장 단백질 농축물	1000	50000	mg
프룩토올리고당류/이눌린	40	15000	mg
과립화된 꿀	1000	9000	mg
귀리 섬유	500	15000	mg
천연 프렌치 바닐라 향	500	20000	mg
대두 단백질	500	50000	mg
갈색화 분말 흑설탕	500	10000	mg
천연 바닐라 마스킹 향	500	5000	mg
레시틴	200	10000	mg
우유, 무지방	50	5000	mg
쌀 단백질 분말	50	5000	mg
칼슘 카세이네이트	50	2000	mg
오일			
아마인유	100	7000	mg
카놀라유	100	7000	mg
보리지 오일	100	7000	mg

[0028]

올리브유	100	7000	mg
어유	150	10000	mg
순수한 레몬 오일	100	1000	mg
순수한 오렌지 오일	50	1000	mg
혼합 토크페롤	0.5	200	mg
비타민/무기질			
포타슘 포스페이트	200	1500	mg
칼슘 카르보네이트	100	5000	mg
콜린 바이타르트레이트	150	2500	mg
소듐 클로라이드	100	2000	mg
3염기 칼슘 포스페이트	100	2000	mg
아스코르브산	50	3000	mg
포타슘 클로라이드	50	2000	mg
마그네슘 옥사이드	50	500	mg
셀레늄 효모	30	4000	mcg
크롬 효모	30	3000	mcg
몰리브덴 효모	30	2000	mcg
이노시톨	10	5000	mg
아연 설페이트 모노하이드레이트	5	200	mg
건조 비타민 E 아세테이트	5	2000	IU

[0029]

니아신아미드	5	500	mg
페릭 오르소포스페이트	3	100	mg
칼슘 판토테네이트	3	200	mg
망간 설페이트 모노하이드레이트	3	100	mg
베타 카로틴	1	100	mg
구리 글루코네이트	1	15	mg
비타민 D3	25	5000	IU
비타민 K2	2	1000	mcg
피리독신 HCl	0.5	200	mg
포타슘 요오다이드	0.5	1500	mg
리보플라빈	0.5	1000	mg
티아민 하이드로클로라이드	0.5	2500	mg
건조 비타민 K1	1	500	mcg
비타민 A 아세테이트	500	100000	IU
엽산	100	10000	mcg
d-비오틴	10	10000	mcg
비타민 B12	1	3000	mcg
아미노산			
L-카르니틴	300	30000	mg
L-글루타민	500	60000	mg

[0030]

L-아르기닌 염기	500	30000	mg
타우린	50	2000	mg
L-리신	50	2000	mg
알파 리포산	10	1000	mg
레스베라트롤	15	1500	mg
코-엔자임 Q10	10	5000	mg
글리신	5	1000	mg
프롤린	5	1000	mg
박테리아 배양물			
락트. 아시도필루스 (총 약 100 억개)	2	500	mg
비피도 비피둠 (총 약 100 억개)	2	500	mg
락트. 불가리쿠스 (총 약 100 억개)	2	500	mg
비피도 롱굴 (총 약 100 억개)	2	500	mg
스트렙트. 써모필루스 (총 약 100 억개)	2	500	mg
효소			
파파인	5	100	mg
펩신	5	100	mg
리파제	5	100	mg
브로멜라인	5	100	mg
판크레아틴 4X	0.5	100	mg

[0031]

락타제	1	100	mg
베타인 HCl	3	100	mg
식물 생성물			
파인애플 주스 분말	2	500	mg
파파야 과일 분말	2	500	mg
케르세틴	30	3000	mg
EGCG	25	600	mg
OPC	15	500	mg
안토시아닌	15	5000	mg
엘라그산	10	300	mg
아스타잔틴	2	90	mg
푸코이단	20	1500	mg
버섯 제조물			
코르디셉스	5	6000	mg
가노더마 루시둠	15	10000	mg
시이타케	40	15000	mg
마이타케	30	15000	mg
터키 테일	30	15000	mg

표 1

표 1에 제시된 조성물은 항-염증 활성, 혈당 수준 저하, 콜레스테롤 저하, 및 항-종양 활성을 포함하는 다양한 생리학적 및 생화학 효과를 갖는 성분을 포함한다. 다른 성분은 상승된 수준으로 필요한 비타민, 무기질, 및 아미노산의 보충을 제공한다. 다른 성분(예를 들어, 효소, 레시틴)은 섭취시 조성물의 성분의 소화 및 흡수에 도움을 준다. 이러한 보충 활성의 조합은 개별 성분의 단순한 부가 효과를 초과하는 상승적인 효과를 제공한다. 표 1에 제시된 조성물이 또한 맛조음 및 용인성을 개선시키는 역할을 하는 특정 착향제(예를 들어, 흑설탕, 꿀, 바닐라 향 및/또는 마스킹 제제)를 포함하는 것이 인지되어야 한다. 특정 성분(예를 들어, 꿀, 흑설탕, 우유, 쌀 단백질, 카세인)은 향 및 칼로리 에너지 둘 모두를 제공할 수 있다. 본 발명자는 상기 기재된 착향제의 조합이 유효량의 영양 보충물의 섭취에 대한 순응을 제공하는데 효과적인 것을 발견하였다. 일부 구현예에서, 이러한 착향제는 영양 보충물의 효과에 부정적인 영향을 미치지 않으면서 배제될 수 있다.

표 1에 제시된 성분은 단일 제형(예를 들어, 환제, 정제, 캡슐, 분말, 액체, 현탁액 등으로서)으로서 제공되거나 상이한 제형(예를 들어, 환제, 정제, 캡슐, 분말, 액체, 현탁액, 또는 이의 조합으로서)으로서 분리될 수 있다. 표 1에 제시된 양은 예시적이며, 정상 키 및 다른 정상 건강상태의 성인에게 제공되는 전형적인 일일 투여량을 나타낸다. 이러한 양은 체질량, 성별, 의학적 상태 등의 차이를 설명하기 위해 조정될 수 있다. 예를 들어, 체중이 40킬로 이하인 비교적 작은 환자는 제공된 범위의 하한 또는 그 밑으로 제공된 투여량으로부터 이익을 얻을 수 있는 한편, 체중이 100킬로그램 이상인 비교적 큰 환자는 언급된 범위의 상한(또는 초과)으로 제공되는 투여량을 요구할 수 있다. 일부 구현예에서, 이러한 일일 용량은 하루 종일 다회 용량으로 배분될 수 있다. 이러한 일부 구현예에서, 이렇게 배분되는 각 용량의 조성물은 동일할 수 있다. 다른 구현예에서, 이러한 용량의 합이 필요한 보충을 제공한다면, 이렇게 분배되는 용량의 조성물은 상이할 수 있다.

[0036] 예시적인 구현예에서, 인간 종양 세포(누드 마우스로 이식 후)는 일당 1그램의 영양 보충물, 방사선요법, 또는 일당 1그램의 영양 보충물과 방사선요법으로 치료된다. 구역 및 식욕 상실과 같은 부작용을 특성규명하기 위해 치료 동안 마우스의 체중을 잰다. 몇 주 후에 마우스를 희생시키고 종양을 특성규명한다. 종양 부피를 결정하고, 장기 및 근육 부피에 대한 요법의 영향을 결정한다. 호중구감소증 정도도 특성규명된다. 전형적인 프로토콜이 표 2에 제시되어 있다.

			희생 (21일)
1	C	대조군	N=6
2	T	종양	N=6
3	PTN	종양 + Nutrawell (-7일 시작)	N=6
4	TN	종양 + Nutrawell (0일 시작)	N=6
5	TR	종양 + 방사선요법 (3 Gy × 3)	N=6
6	PTRN	종양 + 방사선요법 (3 Gy × 3) + Nutrawell (-7일 시작)	N=6
7	TRN	종양 + 방사선요법 (3 Gy × 3) + Nutrawell (8일 시작)	N=6

[0037]

[0038] 표 2

[0039] 체중/소모병

[0040] 전형적인 치료 일정은 도 1에 개략적으로 도시되어 있다. 일부 대상체는 종양 세포 이식 전에 어유 및 셀레늄을 함유하는 보충물로 치료를 받았고(PTN, PTRN), 이들 중 일부(PTRN)는 방사선요법을 받았다. 다른 대상체는 종양 세포 이식 시점에 이러한 보충물로 치료를 시작하였고(TN, TRN), 이들 중 일부는 방사선요법을 받았다(TRN). 대조군 대상체(C) 및 종양 세포가 이식되고 달리 치료되지 않은 대상체(T)와 비교한 체중 연구의 결과는 도 2a 및 2b에 도시되어 있다. 도시된 바와 같이, 방사선요법 및 어유 및 셀레늄을 함유하는 보충물 둘 모두를 받은 마우스는 방사선요법만을 받은 마우스보다 훨씬 더 빠른 속도로 체중이 증가하였는데, 이는 상기 치료 방식과 일반적으로 관련된 부작용의 감소를 나타낸다. 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 전처리는 특히 두드러진 효과를 가졌다.

[0041] 종양 크기

[0042] 도 3a 내지 3d는 인간 암의 무린 모델에서 유사한 치료 그룹에 대해 방사선요법과 어유 및 셀레늄을 함유하는 보충물로의 공동-치료의 종양 부피 및 종양에 대한 통상적인 상승 효과를 제시한다. 도 3a는 3주의 과정에 걸친 종양 부피에 대한 다양한 치료 프로토콜의 효과를 보여주고, 도 3b는 초기 11일 동안의 효과의 확대도(scaled view)를 제공한다. 제시된 바와 같이, 어유 및 셀레늄을 함유하는 보충물만으로도 치료는 종양 부피를 대략 60% 감소시킨다. 방사선 단독을 이용한 치료는 종양 부피에서 유사한 감소를 제공한다. 따라서, 상승적인 효과의 부재하에서, 치료되지 않은 종양의 종양 부피의 약 25%까지 종양 부피의 감소가 예상된다. 놀랍게도, 관찰된 것은 치료되지 않은 종양의 약 7%까지 종양 부피에서의 90% 초과 감소를 나타낸다. 도 3c는 종양 중량을 특성규명할 때 유사한 효과가 발견됨을 보여준다. 도 3d는 치료 후 시험 동물로부터 절제된 종양의 전형적인 예를 사진으로 나타내고; 방사선요법과 함께 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 공동요법의 효과는 육안 검사에서 쉽게 드러난다. 이와 같이, 어유 및 셀레늄을 함유하는 보충물과 방사선요법의 공동요법은 종양 부피 및/또는 질량을 감소시키는데 상승적인 효과를 제공할 수 있음이 명백하다.

[0043] 근육 소모병

[0044] 방사선요법의 부작용은 식욕 감소 및 체중 감소를 넘어서고, 내부 장기에 대한 손상, 근육량 감소, 빈혈, 호중구감소증, 신장 기능의 감소 등을 포함할 수 있다. 이러한 부작용과 관련하여 어유 및 셀레늄을 함유하는 보충물과의 공동요법의 보호 효과를 결정하기 위해, 치료된 마우스의 근육량 및 장기 중량을 또한 요법 후에 특성규명하였다. 결과는 도 4a 내지 4e에 도시되어 있다. 도 4a 및 4b는 (각각) 비복근 및 가자미근의 중량에 대한 어유 및 셀레늄을 함유하는 보충물, 방사선요법, 및 방사선요법과 함께 이러한 보충물을 사용한 공동요법(보충물 전처리의 유무와 함께)의 치료 효과를 보여주며, 시험 그룹은 상기 기술된 바와 같이 지정된다. 도시된 바와 같이, 이러한 보충물과 방사선요법의 공동요법은 근육 중량의 거의 완전한 보유를 제공한다.

[0045] 전이

- [0046] 도 4c, 4d, 및 4e는 임의의 전이성 종양을 포함하는 폐(도 4c), 임의의 전이성 종양을 포함하는 간(도 4d), 및 임의의 전이성 종양을 포함하는 비장(도 4e) 종양에 대한 상기 기술된 바와 같은 치료 효과를 도시한다. 도시된 바와 같이, 치료의 부족은, 적어도 부분적으로 전이성 종양의 존재로 인해, 체중의 증가로 이어진다. 이러한 증가는 방사선요법 단독(TR)에 의해 완전히 완화되지는 않지만, 어유 및 셀레늄을 함유하는 보충물로 치료를 받은 대상체는 방사선요법과의 공동요법의 유무에 관계없이, 대조군 대상체의 장기 중량과 유사한 장기 중량을 가졌다.
- [0047] 유사하게, 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물 및/또는 방사선요법으로 치료된 인간 질환의 동물 모델의 폐 내의 전이성 부위의 정량. 전형적인 전이성 부위는 도 4f의 좌측 패널의 사진에 도시되어 있고, 우측 패널에 히스토그램으로 표시된다. 도시된 바와 같이, 이러한 보충물(TN) 또는 방사선요법(TR)으로의 치료는 전이성 부위의 수를 어느 정도 감소시켰지만, 보충물 및 방사선 요법(TRN) 둘 모두로의 치료는 대부분의 대상체에서 명백한 전이성 부위가 완전히 결여되었다.
- [0048] 이론에 구속되기를 바라지 않으며, 본 발명자는 전이에 대한(및 상기 제시된 바와 같이, 또한 종양 크기 및 질량에 대한) 이러한 효과가 종양 세포 증식에 대한 방사선요법과 함께 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물의 사용에 의해 제공되는 상승적인 효과 때문일 수 있다고 생각한다. 도 4g에 도시된 바와 같이, 증식 마커 Ki-67의 발현은 어유 및 셀레늄을 함유하는 보충물로의 치료(TN), 방사선요법으로의 치료(TR), 또는 둘 모두의 방식을 사용한 치료(TRN)시에 원발성 종양 부위에서 억제된다. 전이성 부위(우측 패널)는 영양 보충물 또는 방사선요법 단독으로의 치료가 이 증식 마커의 발현을 약간 감소시키지만, 놀랍게도 전이성 부위에서는 Ki-67의 발현을 감소시키는데 상승적인 효과를 나타낸다는 관련 경향을 보여준다. 이것은 어유 및 셀레늄을 함유하는 보충물의 사용이 방사선요법으로 예방되지 않는 전이를 포함하는 종양 전이를 감소시킬 수 있고, 상승적인 방식으로 그렇게 할 수 있다는 것을 나타낸다.
- [0049] 호중구감소증/빈혈
- [0050] 빈혈 및 호중구감소증은 종종 암에서 그리고 방사선요법의 부작용으로 발견되는데, 이는 적어도 부분적으로 골수 활성의 억제 때문이다. 다양한 혈액 세포 집단에 대한 어유 및 셀레늄을 함유하는 보충물로의 공동요법의 효과는 도 5a 내지 5e에 도시되어 있다. 도 5b는 도 5b에 도시된 대로 백혈구에 대한, 그리고 도 5c에 도시된 대로 림프구에 대한 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물, 방사선요법, 및 이러한 보충물과 방사선요법의 공동요법의 효과를 나타낸다. 이것은 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물이 종양의 존재 및 이러한 종양의 치료에 이용되는 방사선요법으로 인한 적혈구, 과립구, 백혈구, 및/또는 림프구 억제를 개선하는데 유용할 수 있음을 나타낸다.
- [0051] 도 5a에 도시된 바와 같이, 혈소판은 종양을 갖는 치료되지 않은 동물(T)에서 상승하는 것으로 나타났다. 혈소판 농도는 어유 및 셀레늄을 함유하는 보충물 또는 방사선요법으로의 치료에 의해 감소하였으나, 이러한 보충물과 방사선요법의 공동요법을 받은 동물에서 가장 두드러졌다. 이 효과는 어유 및 셀레늄을 함유하는 보충물로 전처리를 받은 대상체에서 특히 뚜렷하였고, 이는 혈소판 농도를 대조군 동물에서 발견된 값까지 감소시켰다. 과립구 농도는 치료되지 않은 종양 보유 동물에서 유사하게 상승하였고(도 5d에 도시된 바와 같음), 방사선요법만을 받은 이러한 동물에서 추가로 상승하였다. 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물과 방사선요법의 공동요법은 이 효과를 감소시키는 것으로 밝혀졌다. 도 5e에 도시된 바와 같이, 종양 보유 동물은 대조군 동물에 비해 상승된 호중구/림프구 비(NLR)를 나타내는데, 이는 방사선요법만을 받은 유사한 대상체에서 심지어 더 상승한다. 어유 및 셀레늄을 함유하는 보충물로의 치료는 단일요법으로서 그리고 방사선요법과의 공동요법의 일부 둘 모두로서, 이 비를 보다 정상적인 값으로 이동시키는데 효과적인 것으로 나타났다. 이것은 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물이 종양의 존재 및 이러한 종양을 치료하는데 사용되는 방사선요법으로 인해 상승된 혈소판 농도, 과립구 농도, 및/또는 호중구/림프구 비를 감소시키는데 유용할 수 있음을 나타낸다.
- [0052] 혈청 단백질
- [0053] 신장 기능, 간 기능, 및/또는 영양 상태에 관한 정보를 제공하는 다양한 혈청 생화학 마커에 대한 어유 및 셀레늄을 함유하는 보충물과의 공동요법의 효과는 도 6a 및 6b에 도시되어 있다. 도 6a는 동물 종양 모델에 대한 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물, 방사선요법, 및 이러한 보충물과 방사선요법의 공동요법의 효과를 보여준다. 도시된 바와 같이, 혈청 알부민 농도(영양 상태의 지표)는 치료되지 않은 종양-보유 동물에서 감소되며, 방사선요법만으로 단지 약간 개선된다. 단일요법 또는 방사선요법과의 공동요법으로서, 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 치료는 -특히 이러한 보충물이 전처리로서 제공될 때 혈청 알부민 농도를 개선시킨다. 이는 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물과의 공동요법으로 개선된다. 이것은 단일요법 또는 방사선요법과의

공동요법으로서, 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 치료가 종양-보유 대상체의 영양 상태를 개선할 수 있음을 나타낸다.

[0054] 도 6b는 혈청 크레아티닌(신장 기능의 척도)을 특성규명한 유사한 연구의 결과를 보여준다. 도시된 바와 같이, 치료되지 않은 종양 보유 대상체는 신장 손상을 나타내는 상승된 크레아티닌 농도를 나타내었다. 이는 방사선요법만으로도 약간 개선된다. 그러나, 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물과 방사선요법의 공동요법은 -특히 이러한 영양 보충물이 전처리로서 제공될 때 혈청 크레아티닌 농도를 감소시키는데 상승적인 효과를 나타낸다.

[0055] 사이토카인

[0056] 종양의 성장 및 확산은 방사선요법의 적용과 마찬가지로 염증과 관련이 있다. 놀랍게도, 발명자들은 어유 및 셀레늄을 함유하는 보충물과의 공동요법이 전염증성 사이토카인의 농도를 감소시키는데 효과적이며, 이러한 공동-치료가 종양 및 종양의 방사선요법과 관련된 염증을 감소시키는데 효과적이라는 것을 나타낸다. 전염증성 사이토카인의 혈청 농도에 대한 NutraWell 보충물의 효과는 도 7a 및 7b에 도시되어 있다. 도 7a는 대조군 동물, 치료되지 않은 종양-보유 동물, 및 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물, 방사선요법, 또는 이러한 보충물과 방사선요법을 조합시켜 치료한 종양-보유 동물에서 IL-6의 농도를 나타낸다. 도시된 바와 같이, 치료되지 않은 종양-보유 동물은 혈청 IL-6 농도의 큰 증가를 나타낸다. 이는 방사선요법에 의해서 단지 다소 감소한다. 단일 요법 또는 방사선요법과의 공동요법으로서, 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물의 사용은 종양-보유 동물에서 혈청 IL-6 농도를 감소시키는 것으로 나타났다. 도 7b는 IL-1 β 의 유사한 연구 결과를 보여준다. IL-1 β 의 결과는 IL-6의 결과와 유사하다. 이것은 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물이 단일요법 또는 방사선요법과의 공동 요법으로서, 종양-보유 대상체에서 염증-관련 사이토카인의 혈청 농도를 효과적으로 감소시킬 수 있음을 나타낸다. 본 발명자는 이러한 감소가 상기 동물에서의 염증 감소를 동반한다고 생각한다.

[0057] 종양 유전자 발현

[0058] 놀랍게도, 발명자들은 또한 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 치료가 생체내에서 종양 세포에서의 유전자 발현을 변형시킬 수 있고, 방사선요법으로 인한 유전자 발현의 이러한 변화에 상승적인 효과를 제공할 수 있음을 발견하였다. 일부 구현예에서, 유전자는 사이토카인과 관련이 있고/있거나 아포토시스와 관련이 있다. 생체내 이식된 종양 세포에서 유전자 발현에 대한 방사선요법, 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 치료, 및 방사선요법과의 공동요법의 효과의 예가 도 8a 내지 8g에 도시되어 있다. 도 8a는 종양 세포에서 VEGF의 발현에 대한 이러한 치료의 결과를 보여준다. 도시된 바와 같이, 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 단일요법 및 방사선요법은 VEGF 발현을 감소시켰다. 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물과 방사선요법의 공동요법은 VEGF의 발현을 현저하게 감소시켰다.

[0059] 도 8b 및 8d는 각각 종양 BAX 발현 및 전이성(폐) 종양 BAX 발현에 대한 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 치료, 방사선요법, 및 이러한 보충물과 방사선요법의 공동요법의 효과를 보여준다. BAX는 아포토시스의 마커로 간주된다. 도시된 바와 같이, 치료되지 않은 종양에서의 BAX 발현은 낮고, 방사선요법에 의해 영향을 받지 않는다. 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 단일요법은 BAX 발현을 급격히 증가시켰고, 방사선요법과의 공동요법(특히 보충물이 전처리로서 제공됨)으로 사용될 때 BAX 발현을 상승시켰다. 도 8c 및 8e에 도시된 바와 같이, Bcl-2 발현은 종양 세포 및 전이성(폐) 종양 세포에서 (각각) 증가하는 것으로 나타났고, 단일요법으로서 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물 또는 방사선요법으로의 치료에 의해 감소하였다. 이러한 보충물 및 방사선요법이 공동요법으로 사용될 때 Bcl-2 발현의 더 큰 감소가 발견되었다. 카스파제 3(아포토시스와 관련됨)의 발현은 단독의 방사선요법 또는 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로 치료된 종양(도 8d)에서 상승하며, 보충물과 방사선요법의 공동요법(특히 보충물은 전처리로서 제공됨)에 의해서도 상승한다. 도 8f에 도시된 바와 같이, 카스파제 3의 발현은 대조군 대상체의 폐 조직에 비해 전이성(폐) 종양에서 감소한다. 도시된 바와 같이, 이러한 종양에서의 카스파제 3 발현은 방사선요법 또는 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 치료 뿐만 아니라 공동요법에 의해 증가한다.

[0060] 반복된 방사선요법

[0061] 변형된 치료 프로토콜을 사용하여 유사한 연구를 수행하였다. 인간 방사선요법에서 통상적인 바와 같이, 여러 라운드의 방사선요법을 이용하는 하나의 변형된 치료 프로토콜이 도 9a 및 9b에 도시되어 있다.

[0062] 도 9a에 제시된 프로토콜을 사용한 NutraWell, 방사선요법, 및 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물과 방사선요법으로의 조합 치료 후 혈청 알부민 및 혈액 세포 특성규명 연구의 결과는 도 10a 내지 10c에 도시되어 있다. 도 10a에 도시된 바와 같이, 혈청 알부민 농도는 종양 보유 동물에서, 특히 후기 시점에 감소한다. 이는 단

일요법으로서 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물 또는 방사선요법으로의 치료, 및 공동요법에 의해 개선된다. 도 10b에 도시된 바와 같이, 종양 보유 동물은 대조군 대상체에 비해, 특히 후기 시점에 억제된 림프구 수를 나타내었다. 이는 방사선요법만으로는 단지 약간 개선되었지만, 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물(단일요법으로서 또는 방사선요법과 조합하여)로의 치료는 -특히 후기 시점에 림프구 농도를 증가시키는데 효과적이었다. 도 10c는 호중구/림프구 비(NLR)가 특정규명된 유사한 연구의 결과를 보여준다. 도시된 바와 같이, 종양 보유 동물은 후기 시점에 이 값의 극적인 상승을 나타낸다. 이는 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 치료, 방사선요법, 및 이러한 보충물과 방사선요법의 공동요법에 의해 감소한다.

[0063] 놀랍게도, 도 9a에 도시된 프로토콜을 사용한 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 치료, 방사선요법, 및 이러한 보충물과 방사선요법의 조합 치료는 또한 종양 세포 마커의 발현 및 종양 세포 전이 둘 모두에 영향을 미친다. 하기 연구에서, 이식을 위해 선택된 종양 세포는 폐 종양으로부터 유래되며, 이식 부위로부터 폐로 전이하는 경향이 강하다. 도 11a 내지 11d는 도 9a에 제시된 프로토콜로 치료된 마우스로부터의 상이한 조직의 면역세포화학 연구의 결과를 나타낸다. NutraWell 보충만으로 전이를 줄이거나 없앨 수 있다는 점이 주목할 만하다.

[0064] 도 11a에 도시된 바와 같이, 치료되지 않은 마우스의 종양 내에서 VEGF 발현(좌측 패널, FITC 염색)은 명백하다. 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물 또는 방사선요법 단독으로의 치료는 공동요법과 마찬가지로 VEGF 발현을 현저하게 감소시켰다. 수치 결과는 도 11a의 우측 패널에 제공된다. 도 11b에 도시된 바와 같이, 폐로 전이된 종양에서 유사한 결과가 발견된다. 도시된 바와 같이, VEGF 발현은 치료되지 않은 전이성 종양(좌측 패널, FITC 염색)에서 명백하고 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 치료, 방사선요법, 또는 둘 모두로 치료된 동물에서 급격하게 감소한다. 이러한 연구의 수치 결과는 도 11b의 우측 패널에 제공된다.

[0065] EGFR의 발현에서도 유사한 결과가 발견되며, 이의 과발현은 종양과 관련이 있다. 도 11c에 도시된 바와 같이, EGFR의 상승된 발현(좌측 패널, FITC 염색)은 치료되지 않은 종양에서 명백하고, 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물, 방사선요법, 또는 이러한 보충물과 방사선요법의 공동요법으로 치료된 대상체에서 감소한다. 수치 결과는 도 11c의 우측 패널에 제공된다. 도 11d에 도시된 바와 같이, 폐로 전이된 종양의 EGFR 발현에 대해 유사한 결과가 발견된다. 도시된 바와 같이, 상승된 EGFR 발현(좌측 패널, FITC 염색)은 치료되지 않은 전이 부위에서 명백하고, 단일요법으로서 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물 또는 방사선요법, 및 이러한 보충물과 방사선요법을 사용한 공동요법으로 치료된 대상체에서 감소한다. 이는 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물, 방사선요법, 및/또는 이러한 보충물과 방사선요법에 의한 치료 조합의 사용이 암 치료를 받는 개인에서 EGFR-관련 치료 프로토콜을 향상시키는데 효과적일 수 있음을 제안한다.

[0066] 놀랍게도, 도 9a에 도시된 프로토콜을 사용한 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 치료, 방사선요법, 및 이러한 보충물과 방사선요법의 조합 치료는 또한 종양 줄기 세포에 영향을 미친다. 이러한 줄기 세포는 전이 및 다양한 암 요법에 대한 내성의 발달과 관련이 있다. 하기 연구에서, 이식을 위해 선택된 종양 세포는 폐 종양으로부터 유래되며, 이식 부위로부터 폐로 전이하는 경향이 강하다. 도 12는 도 9a에 제시된 프로토콜로 치료된 마우스로부터의 상이한 조직의 면역세포화학 연구의 결과를 제시한다. 도 12의 좌측 패널은 종양 세포에서 줄기 세포 마커인 CD31(FITC 염색)에 대한 염색 결과를 보여준다. 우측 패널은 폐의 전이성 세포에 대한 유사한 결과를 보여준다. 치료되지 않은 대상체는 CD31의 발현이 증가된 수많은 세포를 보여준다. 놀랍게도, 방사선요법의 부재하에 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 치료는 종양 이식 부위 및 폐 전이 부위 둘 모두에서 암 줄기 세포의 발생을 감소시키거나 제거한다.

[0067] 도 9a에 도시된 프로토콜을 사용한 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 치료, 방사선요법, 및 조합된 NutraWell 보충 및 방사선요법은 또한 종양 세포에서 또는 종양 세포 중에서 종종 발견되는 저산소증에 영향을 미친다. HIF1- α 는 저산소증과 관련된 마커이다. 하기 연구에서, 이식을 위해 선택된 종양 세포는 폐 종양으로부터 유래되며, 이식 부위로부터 폐로 전이하는 경향이 강하다. 도 13a는 도 9a에 제시된 프로토콜로 치료된 마우스로부터의 상이한 조직의 면역세포화학 연구의 결과를 제시한다. 좌측 패널은 종양 세포에서 HIF1- α (FITC 염색)에 대한 면역세포화학 염색의 결과를 보여주는 한편, 우측 패널은 폐 전이 부위에서 유사한 염색의 결과를 보여준다. 치료되지 않은 대상체는 HIF1- α 수준이 상승한 수많은 세포를 보여준다. 놀랍게도, 방사선요법의 부재하에 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 치료는 종양 이식 부위 및 폐 전이 부위 둘 모두에서 이러한 저산소증 마커의 발생을 감소시키거나 제거한다. 도 13b는 종양 샘플에서의 유전자 발현이 특정규명된 유사한 연구로부터의 전형적인 수치 결과를 보여준다. 도시된 바와 같이, 1주일 동안 어유 및 셀레늄을 함유하는 보충물로의 치료(TN) 및 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 전처리(PTN) 둘 모두는 방사선 요법(TR)과 마찬가지로, HIF1- α 의 종양 발현을 감소시킨다. 방사선요법 및 이러한 영양 보충물을 조합하여 사용하면(PTR,

TRN), 특히 전처리된 대상체(PTRN)에서 종양 HIF1- α 발현의 현저한 감소가 명백하다(상승적인 효과를 나타냄). 방사선요법과 함께 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물의 사용은 종양 부위에서 HIF1- α 단백질 함량 및 유전자 발현 둘 모두를 감소시켜, 잠재적으로 저산소증 상태에 더욱 취약하게 만들 수 있다.

[0068] 도 9a에 도시된 프로토콜을 사용한 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 치료, 방사선요법, 및 조합된 보충 및 방사선요법은 또한 종양 세포에서 아포토틱(apoptotic) 활성에 영향을 미친다. 마우스에서 종양 세포 이식으로부터 24일째에 다양한 아포토시스 마커(Bax, Bcl-2, 및 카스파제 3)의 발현에 대한 qPCR 연구의 결과도 도 14에 도시되어 있다. 도시된 바와 같이, Bax/Bcl-2 발현 비는 종양 세포에서 낮고, 방사선요법에 의해서 단지 약간 개선된다. 놀랍게도, 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물만으로도 치료는 이 비를 크게 증가시켰다. 또한, 이러한 보충물과 방사선요법의 공동요법에서 현저한 상승적인 효과가 발견되었다. 카스파제 3 발현은 실제로 방사선요법만으로 다소 억제되었지만, 단일요법 및 방사선요법과의 공동요법 둘 모두로서, 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 치료에 의해 극적으로 증가하였다.

[0069] 방사선요법과 함께 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 치료는 또한 인간 질환의 동물 모델에서 원발성 종양 부위 및 전이성(폐) 종양 부위에서 PDL-1 및 PD-1의 발현을 조절하는 것으로 나타났다. 도 15a에 도시된 바와 같이, 원발성(좌측 패널) 및 전이성(우측 패널) 종양 세포 둘 모두는 높은 수준의 PDL-1 발현(T)을 나타낸다. 놀랍게도, 이들은 전처리(PTRN) 및 이식 시점에 치료(TN)되는 둘 모두의 경우에, 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 치료에 의해 현저하게 감소한다. 이와 같이, 본 발명자는 이러한 보충물이 암 치료에 대한 면역치료 접근법을 향상시키는데 사용될 수 있다고 생각한다. 방사선요법(TR)으로의 치료는 또한 원발성 및 전이성 부위 둘 모두에서 PD-L1 유전자 발현의 감소를 나타내며, 이는 단독의 방사선요법이 암 치료에 대한 면역치료 접근법을 향상시키는데 사용될 수 있음을 제안한다. 이러한 영양 보충물과 방사선요법의 공동요법은 보충물이 이식 전에 제공되는지(PTRN) 또는 이식 시점에 제공되는지(TRN)에 관계없이, 원발성 종양 부위 및 전이성 부위 둘 모두에서 PDL-1 발현을 감소시키는데 효과적이다. 놀랍게도, 효과는 전이성 부위보다 원발성 종양 부위에서 더 두드러진다. 이는 방사선요법과 함께 어유 및 셀레늄을 포함하는 영양 보충물로의 공동요법이 원발성 및 전이성 부위 둘 모두에서 종양 세포를 환자의 면역 시스템에 보다 민감하게 만들 수 있고/있거나 암 치료에 대한 면역요법 접근법의 효과를 향상시킬 수 있음을 제안한다.

[0070] PD-1 발현에 대해 유사한 연구가 수행되었다. 도 15b에 도시된 바와 같이, 이식 전에(PTRN) 또는 이식 시점에(TN), PD-1 발현은 방사선요법(TR)으로 치료된 원발성 부위 종양 세포에서 감소하고, 어유 및 셀레늄을 함유하는 보충물로 치료된 동물에서 원발성 부위 종양 세포(좌측 패널)에서 증가한다. 영양 보충물과 방사선요법의 공동요법은 보충물이 이식 전에(PTRN) 또는 이식 시점에(TRN) 제공되는지에 따라 차등적인 결과를 제공한다. 도 15b의 우측 패널에 도시된 바와 같이, 전이 부위의 종양 세포는 대조군 동물로부터 취한 샘플에 비해 감소된 PD-1 발현을 나타내었다. 놀랍게도, 방사선요법은 이식 전 또는 이식 시점에 어유 및 셀레늄을 함유하는 보충물로 치료한 것과 같이, 전이성 부위(우측 패널)에서 PD-1 발현을 증가시켰다. 방사선요법과 이러한 보충물의 공동요법은 단일요법으로 관찰된 것보다 더 높은 수준의 PD-1 발현을 제공하였다. 특히 방사선요법과 함께, 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 치료는 PD-1 발현을 종양-보유 대상체, 특히 전이성 부위에서 보이는 감소된 발현 수준으로부터 멀어지게 할 수 있음이 명백하다.

[0071] 이식 전, 방사선요법 전, 및 반복된 방사선요법에 의한 방사선요법 보충의 개시

[0072] 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 전처리 및 임상 적용의 전형적인 여러 라운드의 방사선요법 둘 모두를 조합한 또 다른 치료 프로토콜이 도 16a 및 16b에 도시되어 있다. 이 프로토콜에서, 보충물로의 치료는 종양 세포 이식 전, 종양 세포 이식 시점, 및 방사선요법의 처음에 개시되었다.

[0073] 장 흡수 상실 및 그로 인한 영양실조는 방사선요법, 특히 반복된 방사선요법의 부작용으로 잘 알려져 있다. 도 17은 방사선요법 동안 장의 세포 구조에 대한 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 치료 효과를 나타내는 현미경사진을 도시한다. 장의 세포 구조는 치료되지 않은 대조군 대상체(좌측 상부 패널), 여러 라운드의 방사선요법으로 치료된 종양 이식된 대상체(우측 상부 패널), 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로 전처리된 후 방사선요법으로 치료된 종양 이식된 대상체(좌측 하부 패널), 및 방사선요법의 개시 시점에 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로 치료된 종양 이식된 대상체(우측 하부 패널)에 대해 도시되어 있다. 도시된 바와 같이, 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 치료는 방사선요법 동안 장 브러시 경계(intestinal brush border)를 유지할 수 있고, 전처리는 명백히 장 브러시 경계를 향상시킨다. 이것은 이러한 보충물, 특히 전처리에 의한 치료가 방사선요법의 부작용을 효과적으로 다룰 수 있음을 나타낸다.

[0074] 이러한 치료 프로토콜은 생체내 종양 세포에서 특정 유전자의 발현을 변형시키는 것으로 나타났다. 도 16a에 도

시된 프로토콜에 의해 치료된 마우스로부터의 종양 세포에서 유전자 발현(예를 들어, 혈관형성 인자-관련, 아폽토시스-관련 등)의 qPCR 연구의 결과는 도 18a 내지 18f에 도시되어 있다. 도 18a에 도시된 바와 같이, 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 치료는 반복된 방사선 요법과 마찬가지로, 종양 세포에서 VEGF 발현을 감소시킨다. 이러한 보충물과 방사선요법의 조합 요법은, 특히 방사선요법 개시 전에 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물이 제공될 때, VEGF 발현의 강화된 감소를 제공한다.

[0075] 도 18b는 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로 치료함으로써 종양 세포에서 BAX 발현이 증가하고, 반복된 방사선요법 단독에 의해서는 비교적 영향을 받지 않음을 보여준다. 반복된 방사선요법과 함께 이러한 보충물로의 전처리는 또한 BAX 발현을 증가시켰다. 도 18d에 도시된 바와 같이, 또 다른 아폽토시스-관련 유전자(카스파제 3)의 발현에 대해 유사한 결과가 발견된다. 전이성(폐) 종양에서 카스파제-3 발현의 연구 결과는 도 18f에 도시되어 있다. 도시된 바와 같이, 이러한 전이성 종양에서 카스파제-3의 발현은 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 치료 및 반복된 방사선요법에 의해 증가하고, 보충물이 방사선요법의 개시 전에 공동요법으로서 제공될 때 대조군 세포의 발현과 유사하다.

[0076] 종양 세포에서 또 다른 아폽토시스-관련 유전자 Bcl-2의 발현은 단독의 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 치료 및 반복된 방사선요법으로 감소한다(도 18c 참조). Bcl-2 발현의 이 감소는, 특히 보충물이 방사선요법의 개시 전에 제공될 때, 이러한 보충물과 반복된 방사선요법의 공동요법에서 더욱 두드러진다. 도 18e는 전이성(폐) 종양에 대해 수행된 유사한 연구의 결과를 보여준다. 도시된 바와 같이, Bcl-2 발현의 감소는, 특히 보충물이 방사선요법의 개시 전에 제공될 때, 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물과 반복된 방사선요법의 공동요법에서 상승적인 방식으로 감소한다.

[0077] 이식-전 보충 및 반복된 방사선요법

[0078] 도 19a 및 19b는 치료 프로토콜 및 관련 시험 그룹(각각)을 나타내고, 여기서 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물은 종양 세포 이식 7일 전에 제공되고, 방사선요법은 이식 8, 10, 및 12일 후에 실시된다. 마우스를 이식 24일 후에 희생시켰다.

[0079] 암과 반복된 방사선요법 둘 모두의 잘 알려진 부작용은 체중 감소이다. 이는 질병 및 방사선요법의 부작용과 관련된 소모병 때문일 수 있다. 반복된 방사선요법 후 체질량 및 근육량의 손실에 대한 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 치료 효과는 도 20a 및 20b에 도시되어 있다. 체질량은 종양 덩어리의 제거 후에 특성규명됨을 이해해야 한다. 도 20a에 도시된 바와 같이, 종양 덩어리가 제거될 때, 남아있는 체질량의 현저한 감소는 대조군 대상체에 비해 명백하다. 이는 단일요법으로서 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물 또는 방사선요법으로의 치료에 의해 개선된다. 놀랍게도, 이러한 보충물과 반복된 방사선요법이 함께 사용될 때 체질량 증가는 대조군 대상체의 증가를 뛰어넘는다. 도 20b는 다양한 시험 그룹에서 비복근의 중량을 보여준다. 근육량의 손실은 치료되지 않은 종양 보유 동물에서 뚜렷하다. 이는 반복된 방사선요법만으로도 약간 개선된다. 놀랍게도, 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 치료는 상당한 근육량 유지를 제공한다. 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물과 반복된 방사선요법의 공동요법은 치료되지 않은 종양 보유 대상체에 비해 근육량의 상승적인 개선을 제공한다. 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 전처리는 종양의 존재 및 반복된 방사선요법 둘 모두로 인한 체질량(대조군 대상체에 비해) 및 근육량의 손실을 효과적으로 역전시키는 것이 명백하다.

[0080] 이식전 보충 및 반복된 방사선요법

[0081] 관련 치료 그룹으로의 또 다른 치료 프로토콜이 도 21a 및 21b에 도시되어 있고, 이는 도 16a 및 16b에 도시된 프로토콜과 유사하다. 이 프로토콜에서, 방사선요법은 종양 세포의 이식 8, 10, 및 12일 후에 제공된다. 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 치료는 이식 7일 전, 이식 당일, 또는 방사선요법의 처음에 제공된다. 종양 세포 이식 21일 후에 마우스를 희생시켰다.

[0082] 암과 방사선요법 둘 모두의 잘 알려진 부작용은 체중 감소이다. 반복된 방사선요법의 개시 전에 제공될 때 그리고 개시와 동시에 제공될 때 체질량의 손실 및 근육량의 손실에 대한 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 치료 효과는 도 22에 도시되어 있다. 체질량은 종양 덩어리의 제거 후에 특성규명됨을 이해해야 한다. 도시된 바와 같이, 치료되지 않은 종양 보유 대상체(종양 절제 후)의 시간 경과에 따른 체중 증가는 대조군 대상체에 비해 극적으로 감소한다. 유사한 손실이 단독으로 사용된 반복된 방사선요법에 대해 나타난다. 놀랍게도, 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 치료는 단일요법으로서 및 반복된 방사선요법과 함께 사용될 때, 시간 경과에 따라 현저하게 개선된 체중 증가를 제공한다. 이는 이러한 보충물이 전처리로서 사용될 때 특히 명백하다.

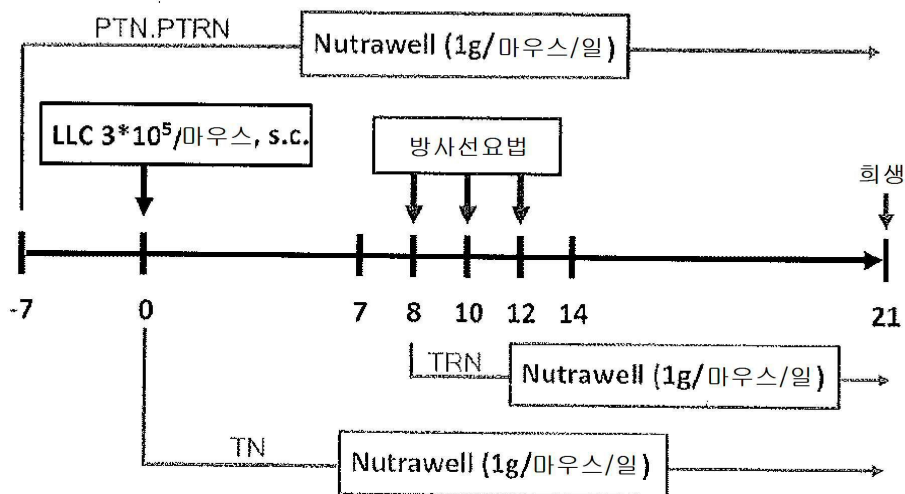
[0083] 발명자들은 또한 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 전처리가 도 23에 도시된 바와 같이 반복된 방사선요법에서 보이는 종양 부피의 감소를 향상시킨다는 것을 발견하였다. 도시된 바와 같이, 반복된 방사선요법 및 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 치료 둘 모두는 치료되지 않은 종양 보유 동물의 종양에 비해 종양 부피를 감소시키는데 적당한 효과를 갖는다. 놀랍게도, 종양 부피는 반복된 방사선 요법과 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물이 공동요법으로 사용될 때, 시간 경과에 따라 거의 변화가 없는 것으로 나타나는데, 이는 상승적인 효과를 나타낸다.

[0084] 종양의 존재 및 반복된 방사선요법은 또한 염증의 발생을 야기할 수 있고, 이는 혈청에서 전염증성 사이토카인의 존재를 특징으로 할 수 있다. 도 24a 및 24b는 도 21a에 도시된 프로토콜에서와 같이 치료된 마우스에서 전염증성 사이토카인의 농도에 대한 반복된 방사선요법과 함께 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물의 투여 효과를 나타낸다. 도 24a는 혈청 TNF- α 에 대한 값을 나타낸다. 치료되지 않은 종양 보유 동물은 반복된 방사선요법에 의해 어느 정도 감소하는 매우 상승된 농도의 TNF- α 를 나타내는 것이 분명하다. 어유 및 셀레늄을 함유하는 영양 보충물로의 치료는 또한, 특히 이러한 보충물이 반복된 방사선요법과의 공동요법으로 사용될 때, 혈청 TNF- α 를 감소시켰다. 도 24b는 유사한 결과를 나타내는 IL-6의 혈청 농도가 특성규명된 유사한 연구 결과를 보여준다.

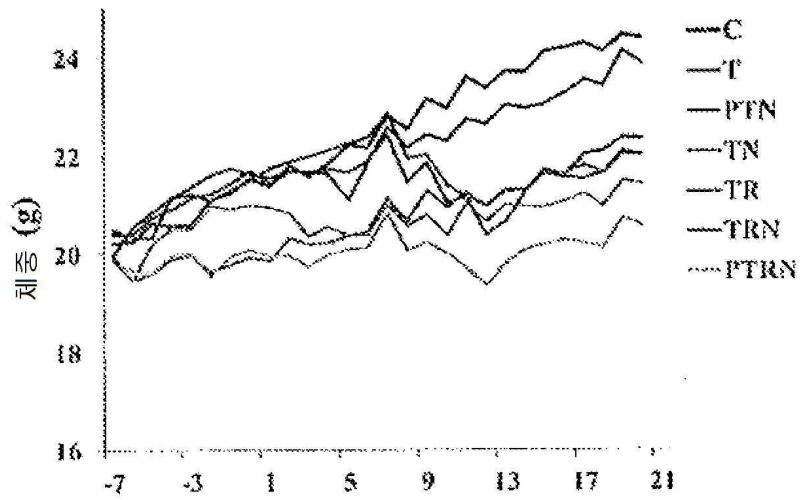
[0085] 이미 기재된 것 이외에 더 많은 변형이 본원의 본 발명의 개념을 벗어남이 없이 가능성이 당업자에게 명백할 것이다. 따라서, 본 발명의 주제는 첨부된 청구범위의 사상을 제외하고는 제한되지 않는다. 또한, 명세서 및 청구범위 둘 모두를 해석함에 있어서, 모든 용어는 문맥과 일치하는 가능한 가장 넓은 방식으로 해석되어야 한다. 특히, 용어 "포함하다" 및 "포함하는"은 배타적이지 않은 방식으로 요소, 성분 또는 단계를 언급하는 것으로 해석되어야 하며, 이는 언급된 요소, 성분 또는 단계가 명백히 언급되지 않은 다른 요소, 성분 또는 단계와 함께 존재하거나, 이용되거나, 조합될 수 있음을 나타낸다. 본 명세서의 청구범위가 A, B, C... 및 N으로 구성된 군으로부터 선택되는 것 중 적어도 하나를 나타내는 경우, 상기 원문은 A + N, 또는 B + N 등이 아니라 상기 군으로부터 하나의 요소만을 필요로 하는 것으로 해석되어야 한다.

도면

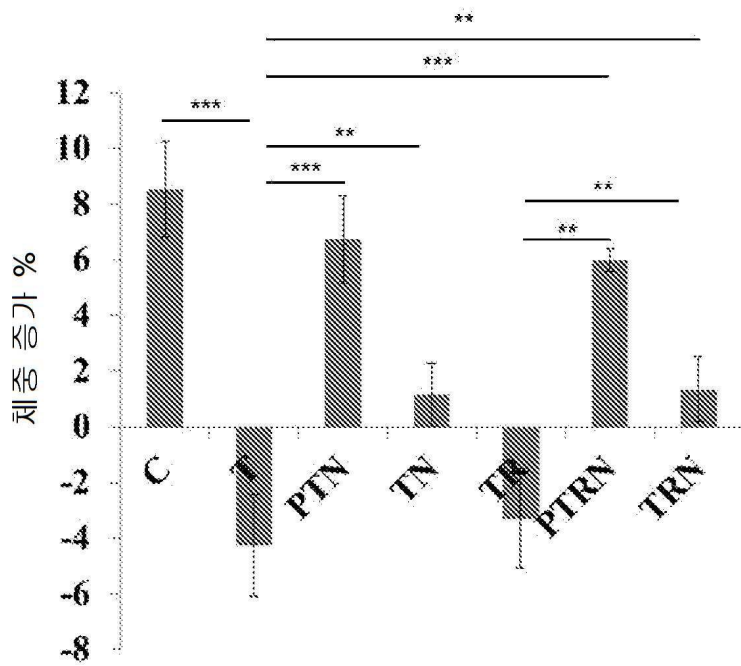
도면1



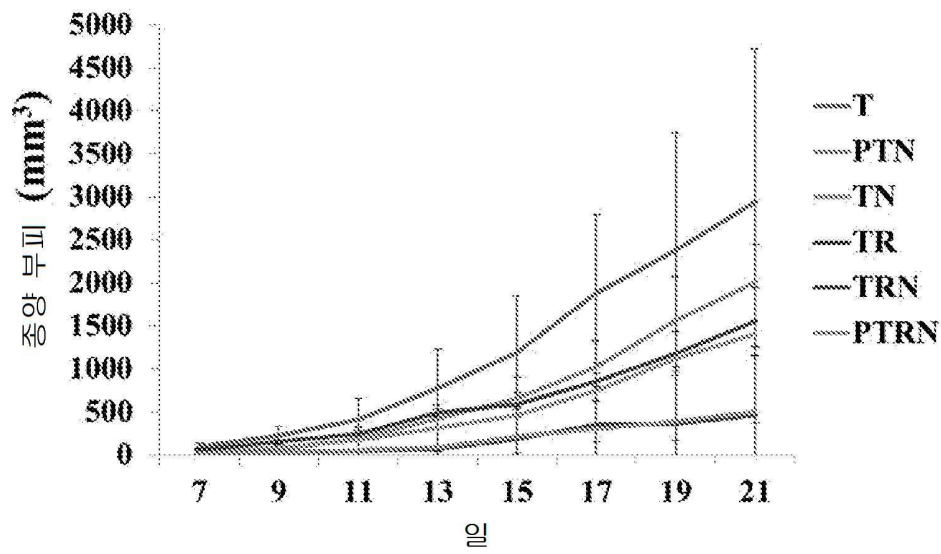
도면2a



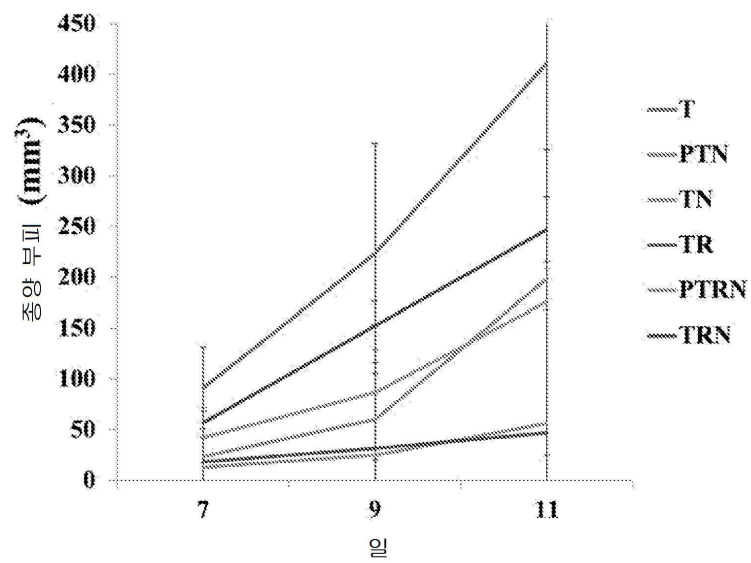
도면2b



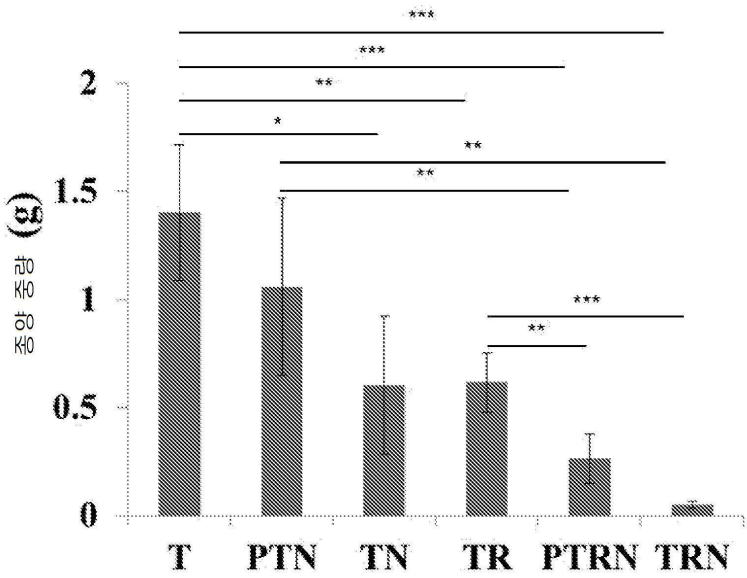
도면3a



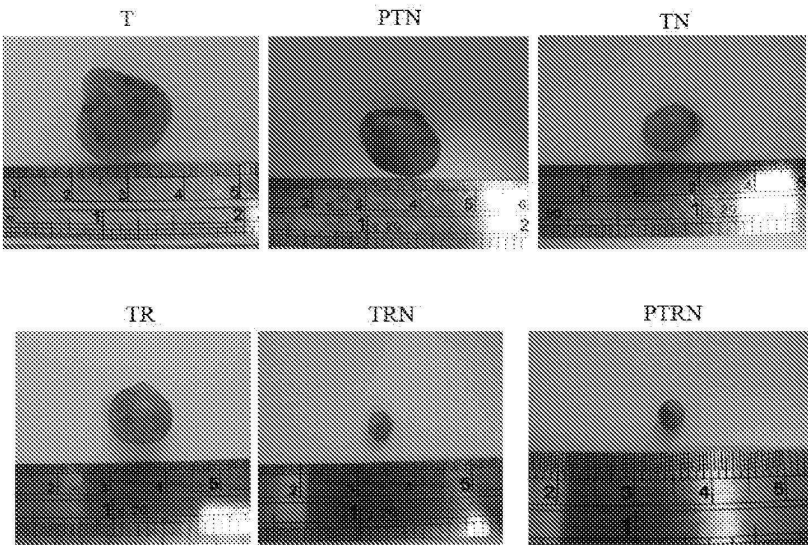
도면3b



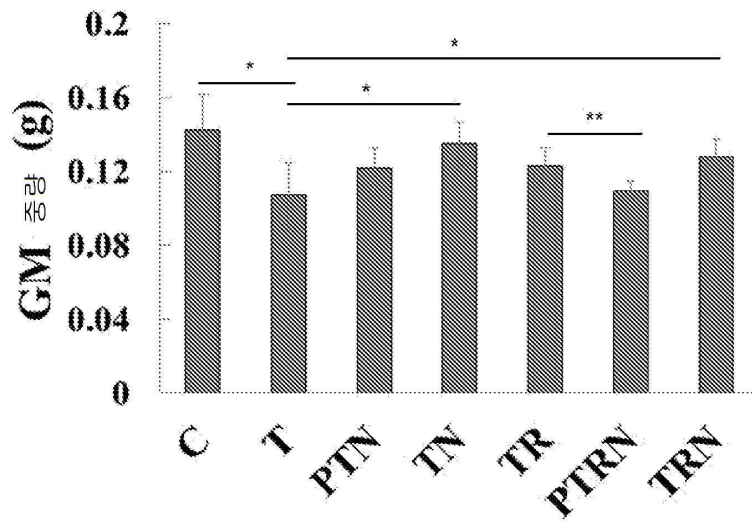
도면3c



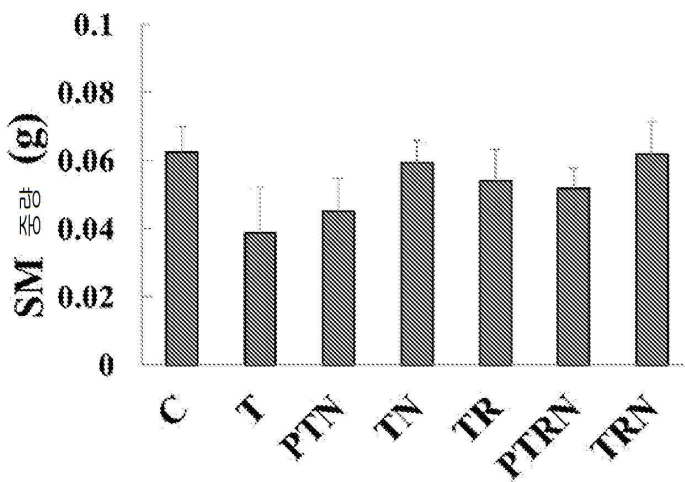
도면3d



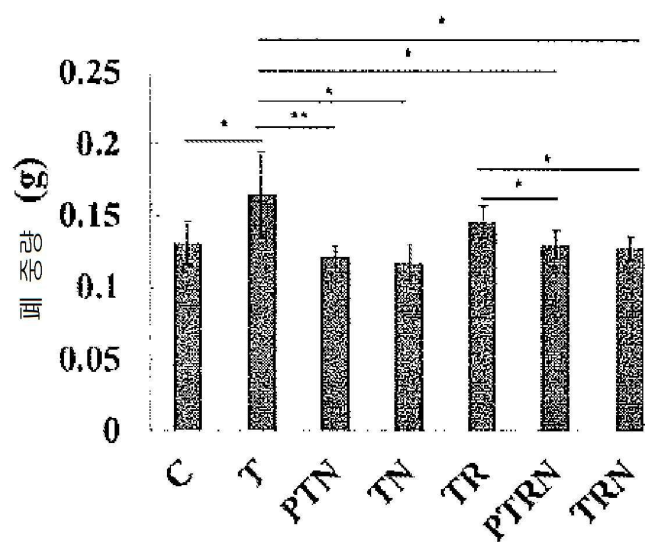
도면4a



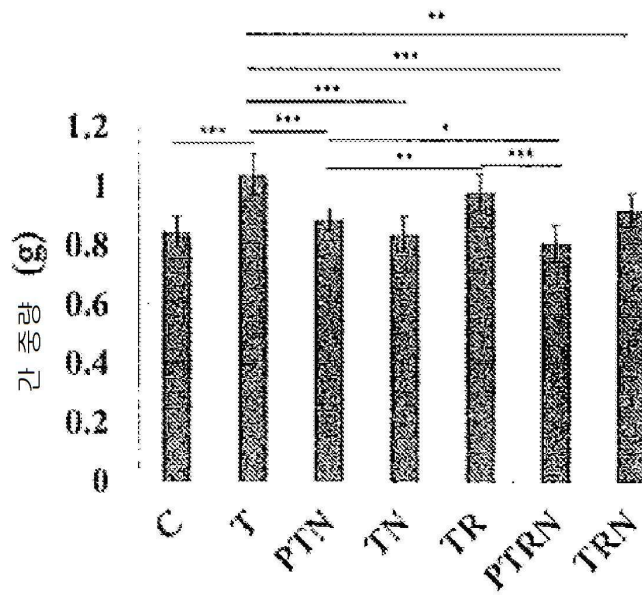
도면4b



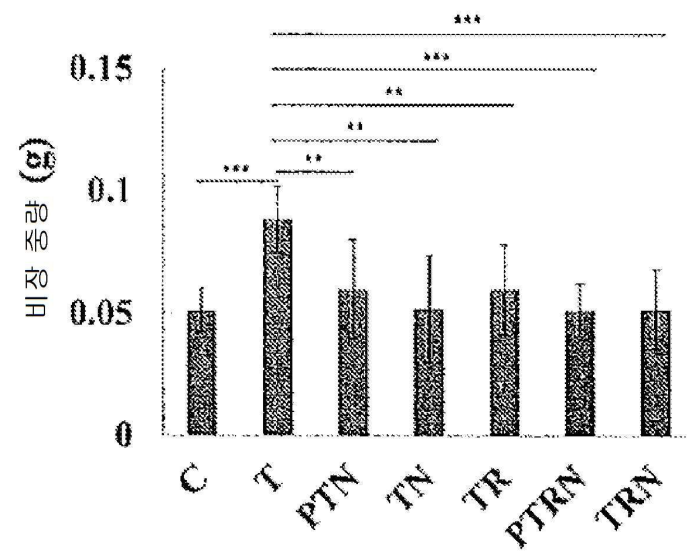
도면4c



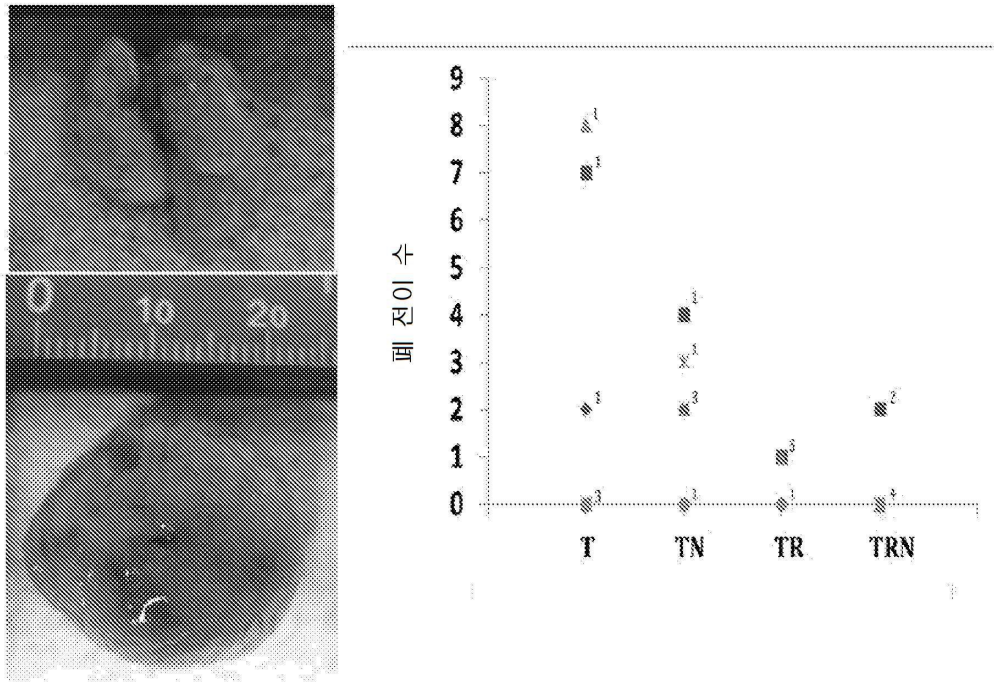
도면4d



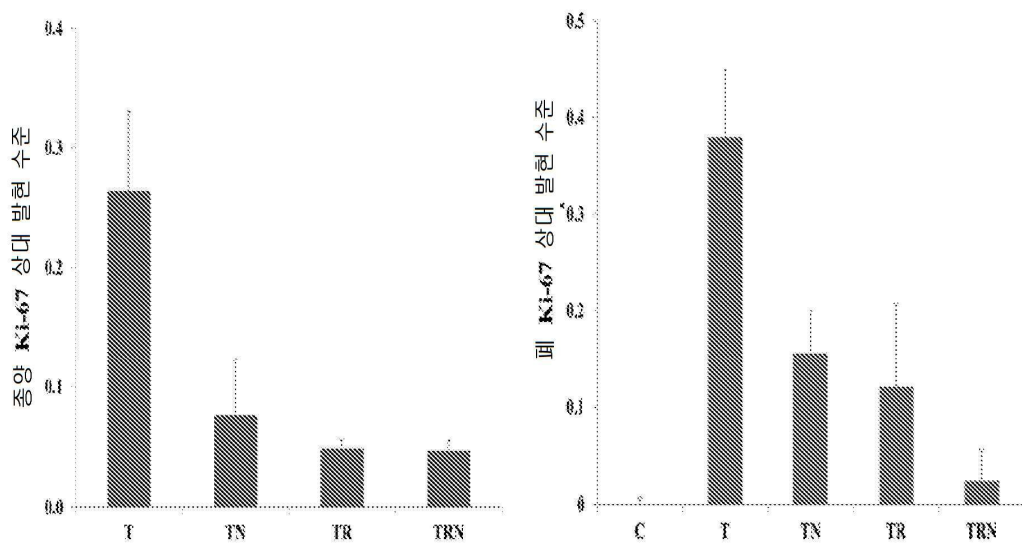
도면4e



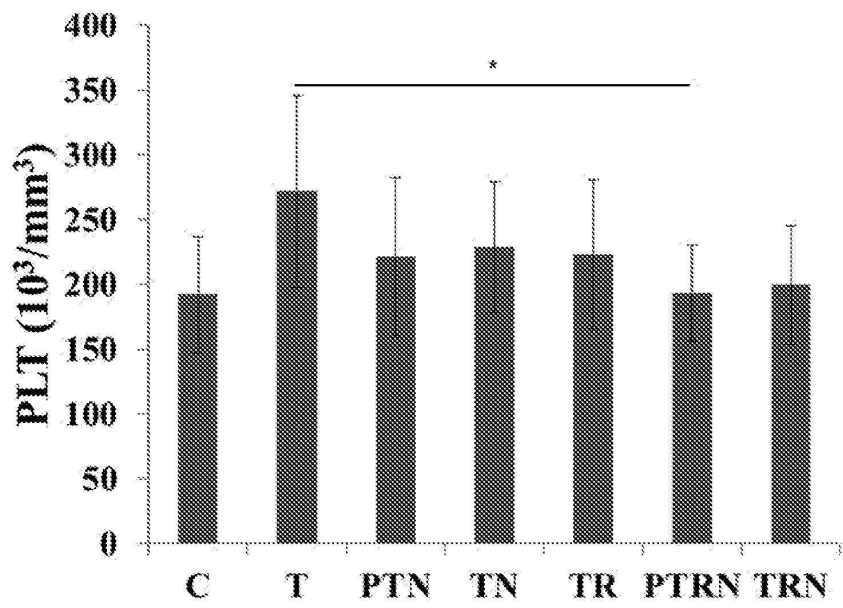
도면4f



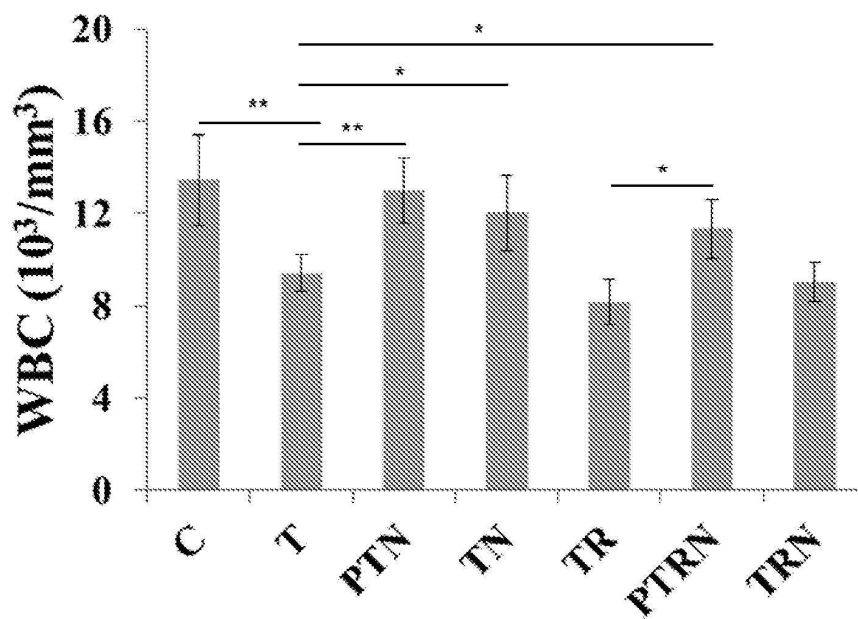
도면4g



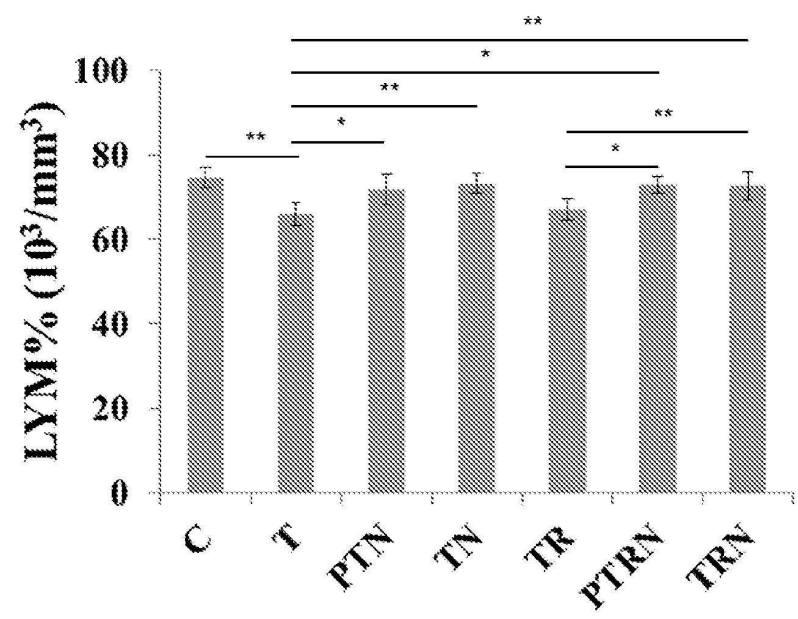
도면5a



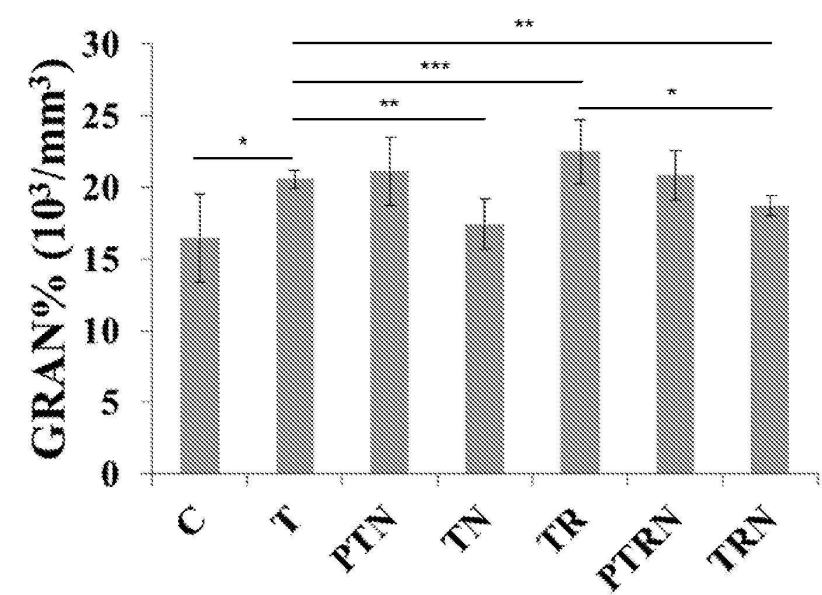
도면5b



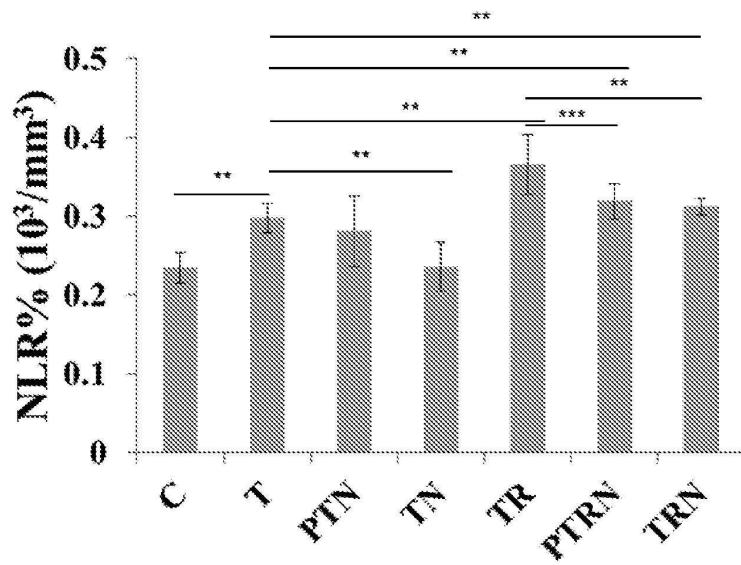
도면5c



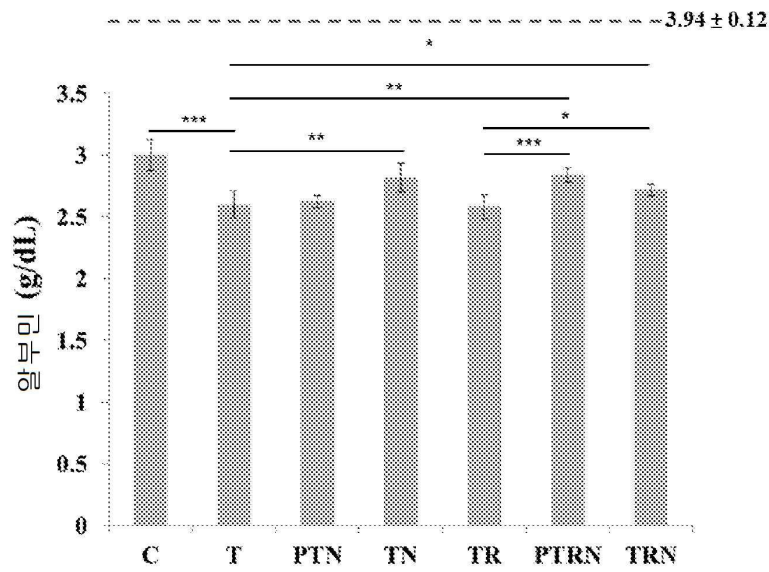
도면5d



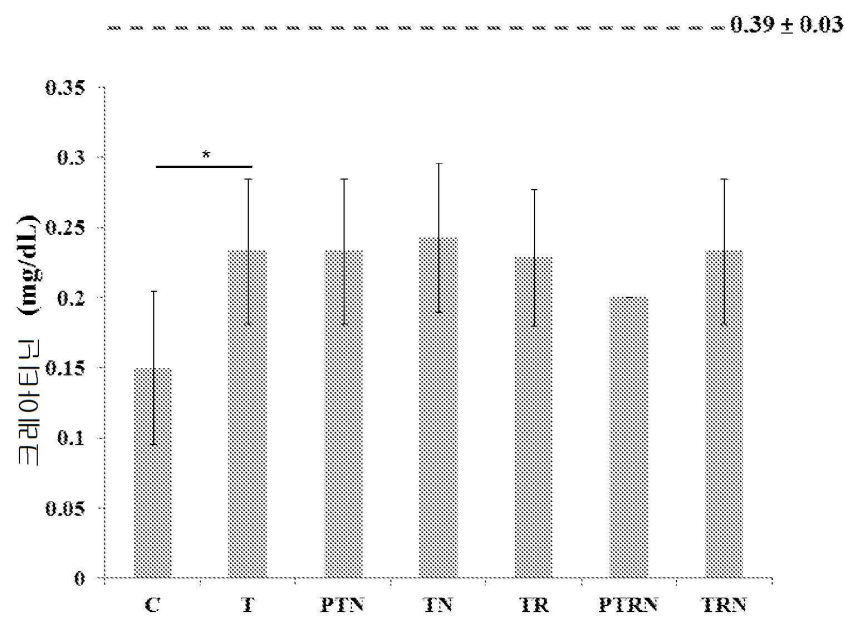
도면5e



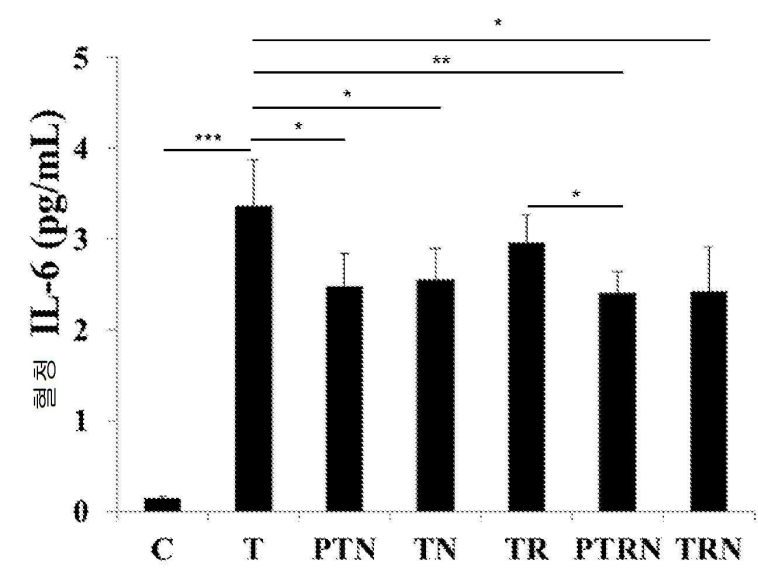
도면6a



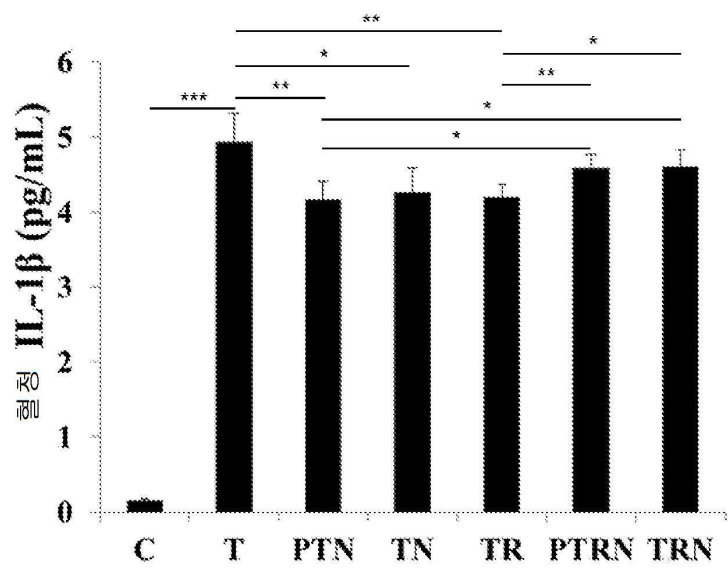
도면6b



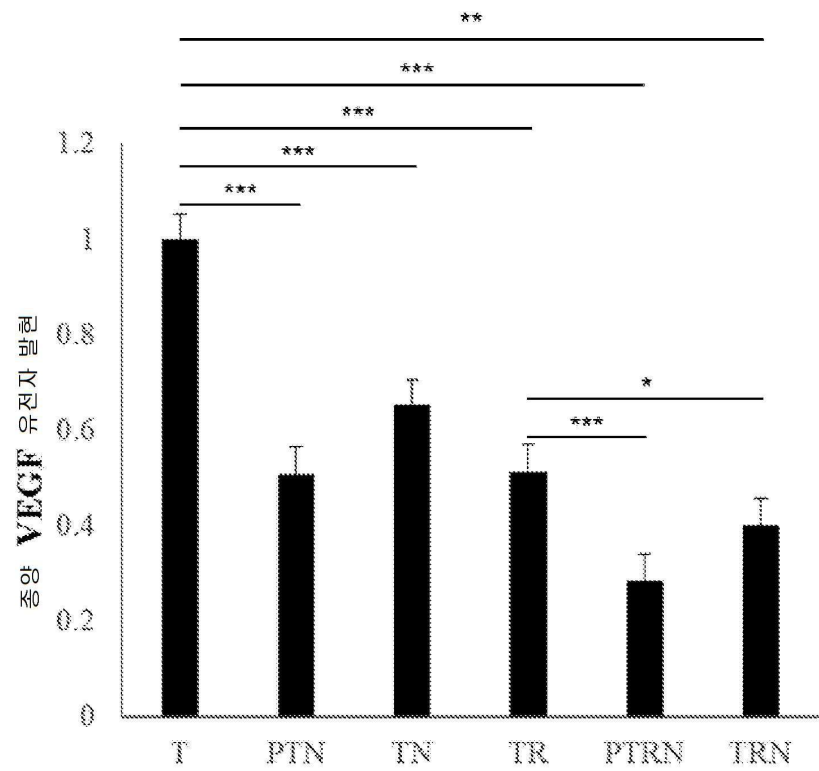
도면7a



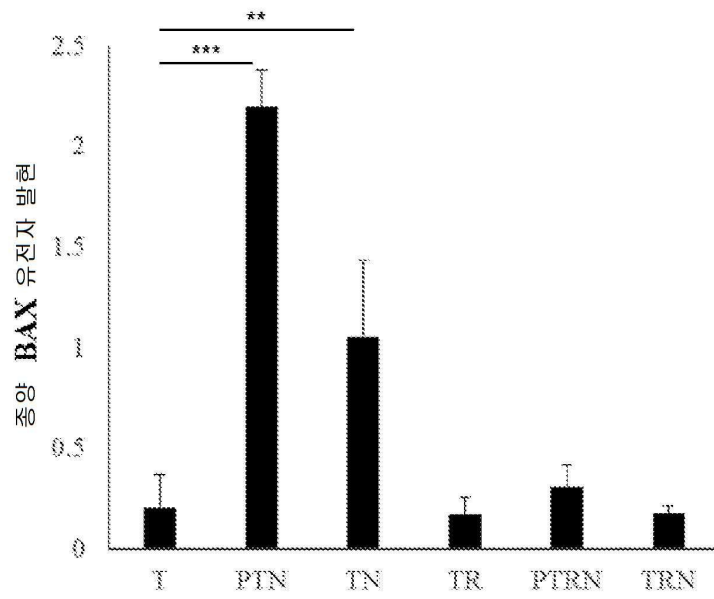
도면7b



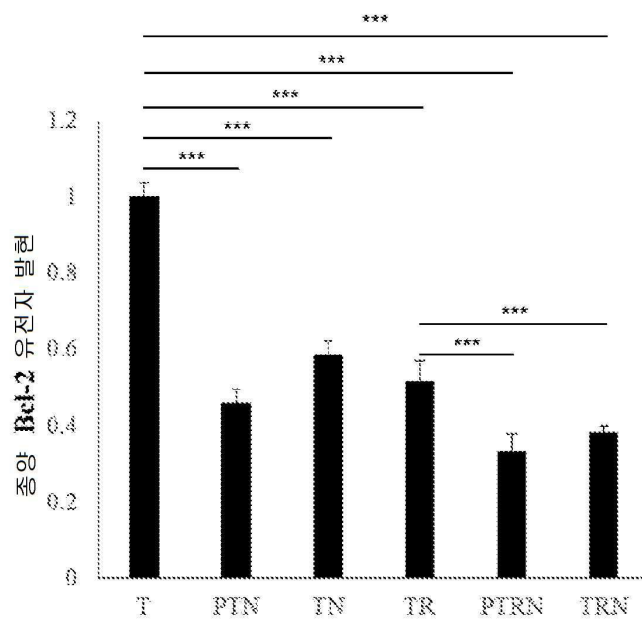
도면8a



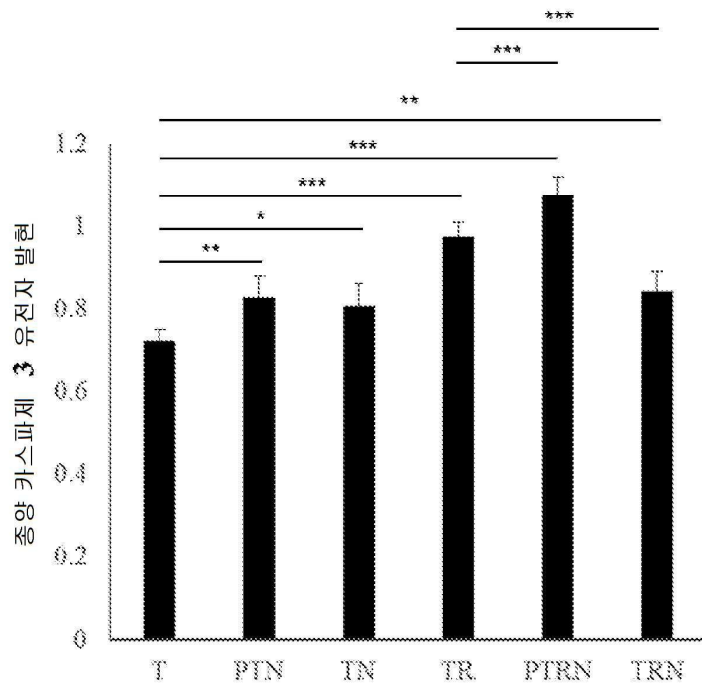
도면8b



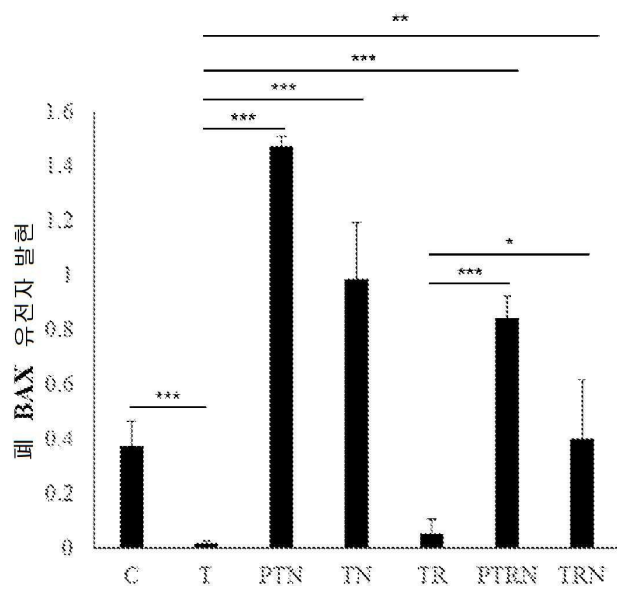
도면8c



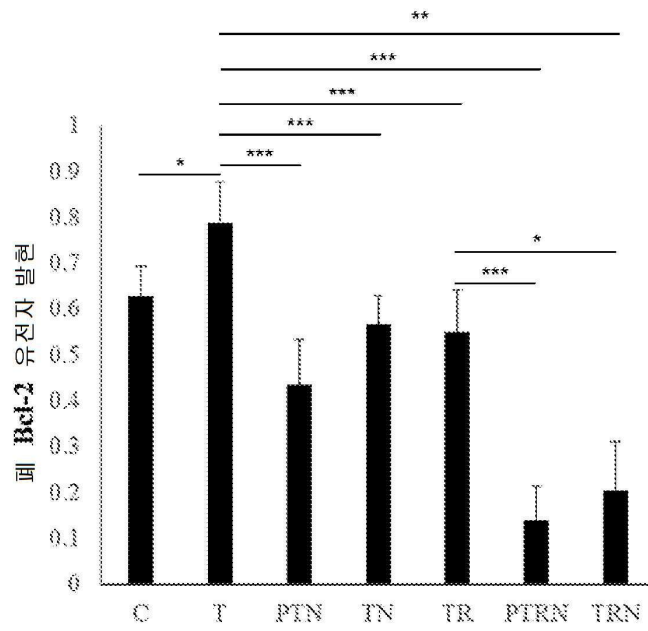
도면8d



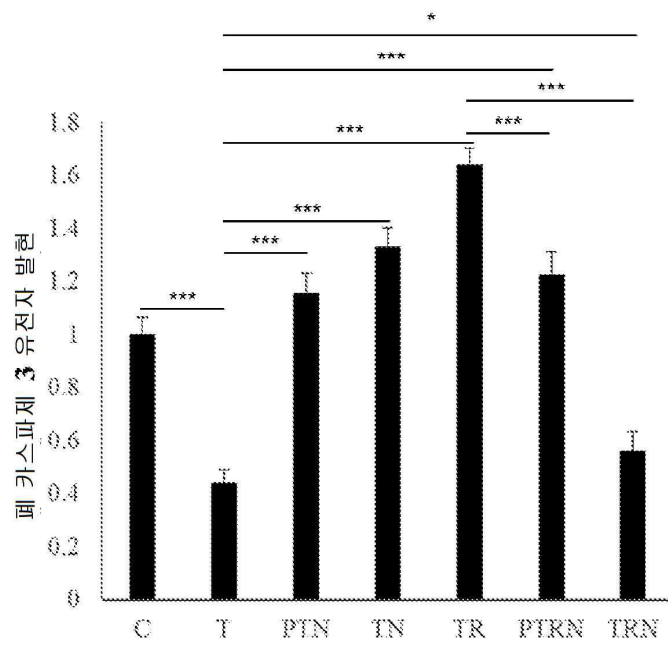
도면8e



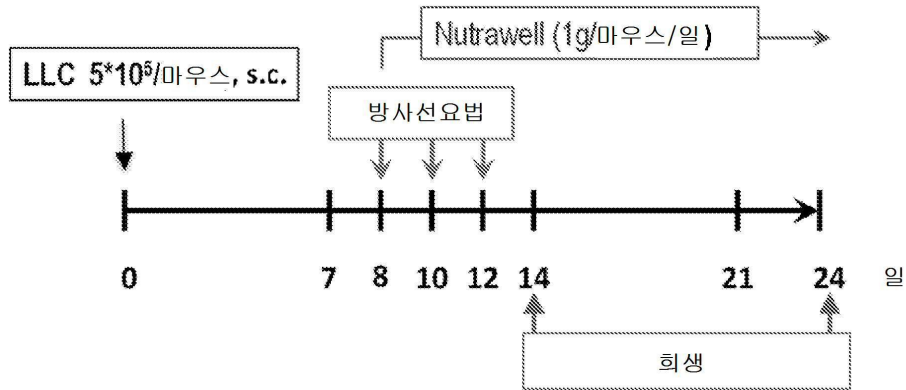
도면8f



도면8g



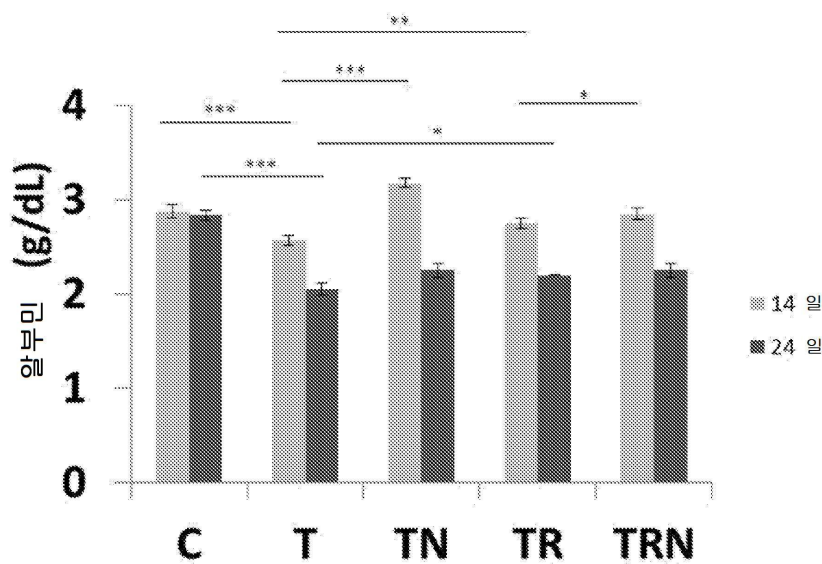
도면9a



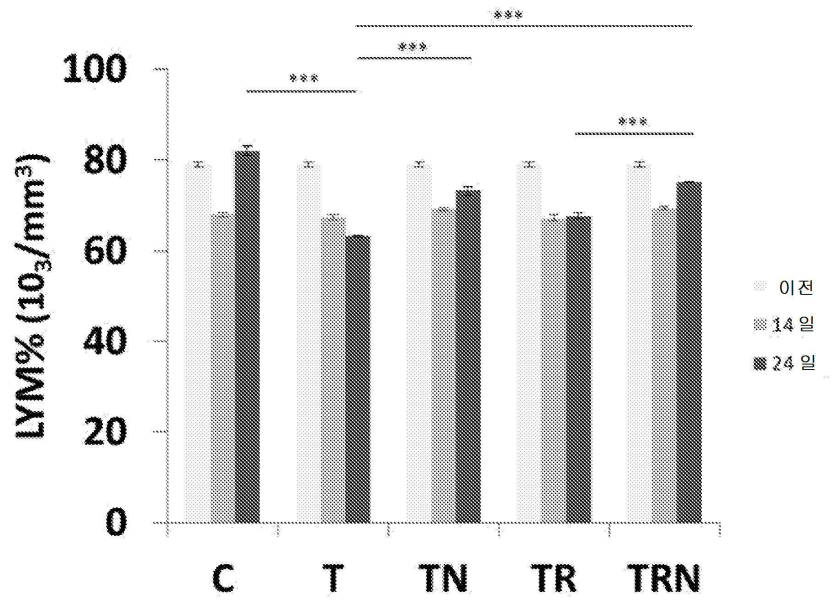
도면9b

			희생(14일)	희생(24일)
1	C	대조군	N=6	N=6
2	T	종양	N=6	N=6
3	TN	종양 + Nutrawell	N=6	N=6
4	T3R	종양 + 방사선요법 x3	N=6	N=6
5	T3RN	종양 + 방사선요법 x3+ Nutrawell	N=6	N=6

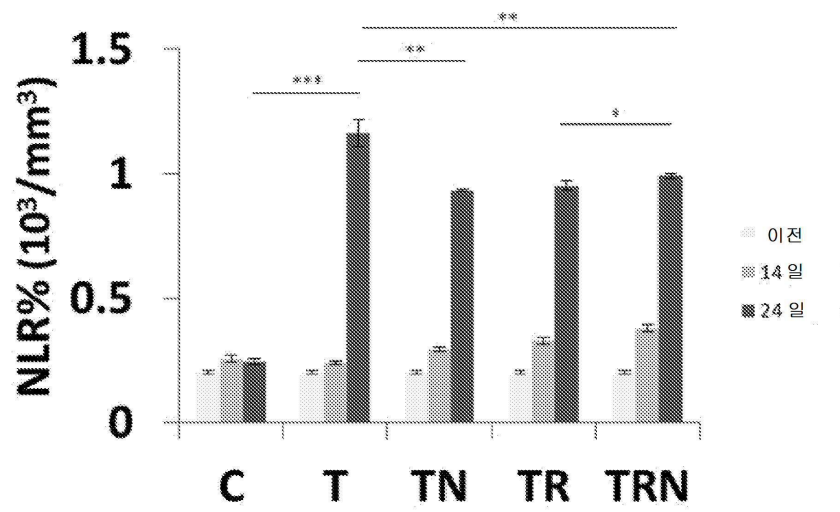
도면10a



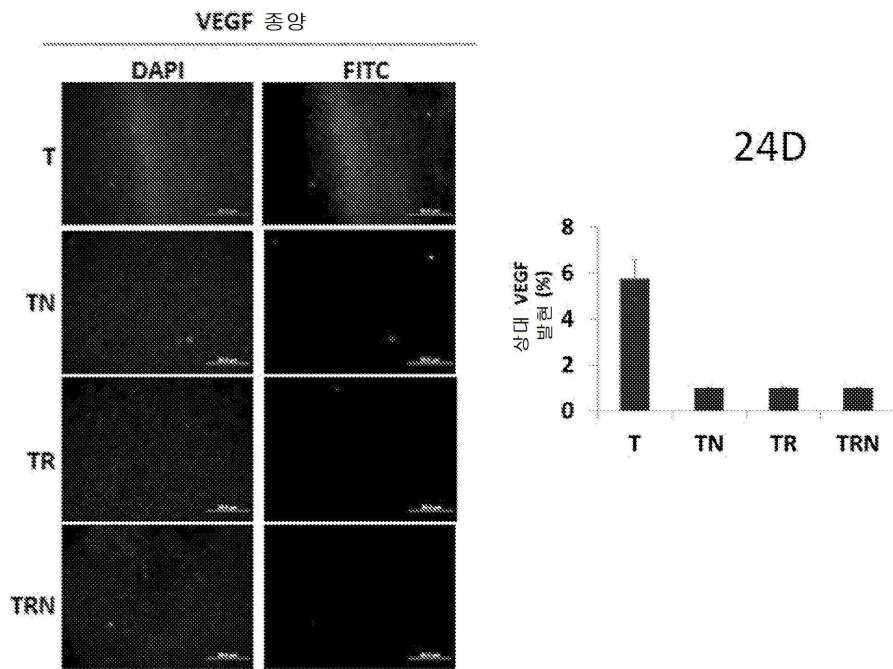
도면10b



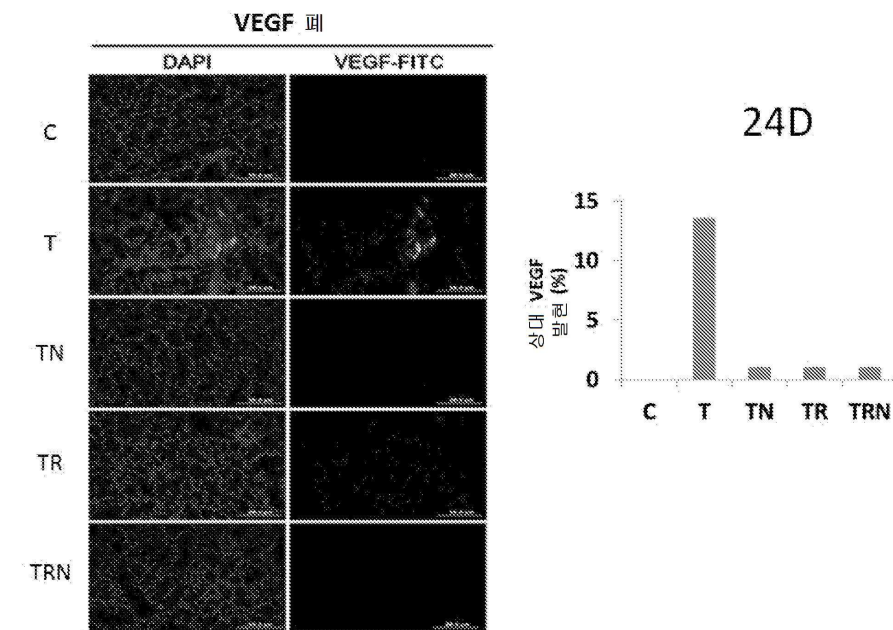
도면10c



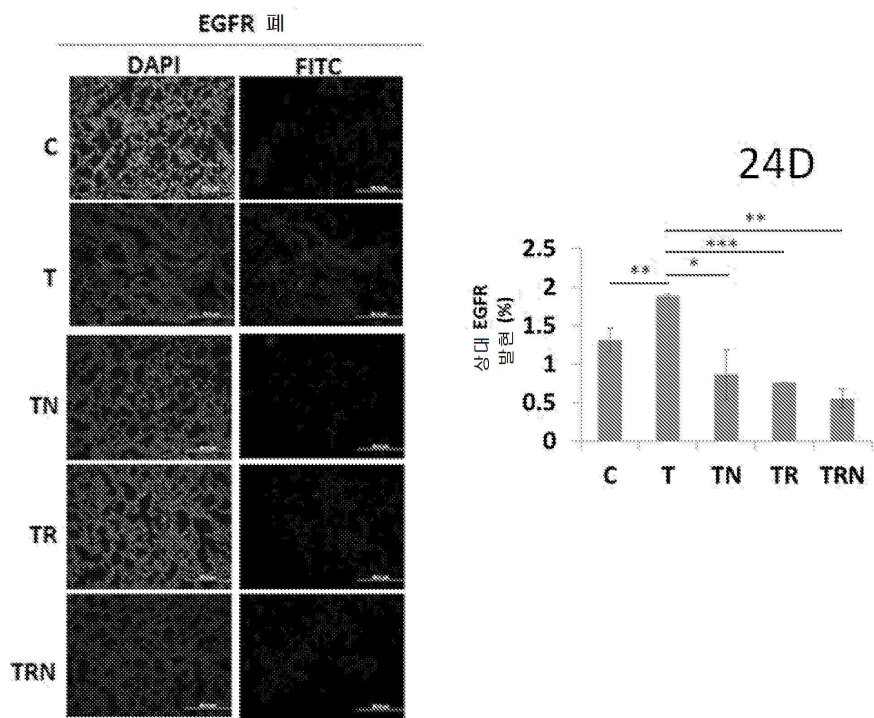
도면11a



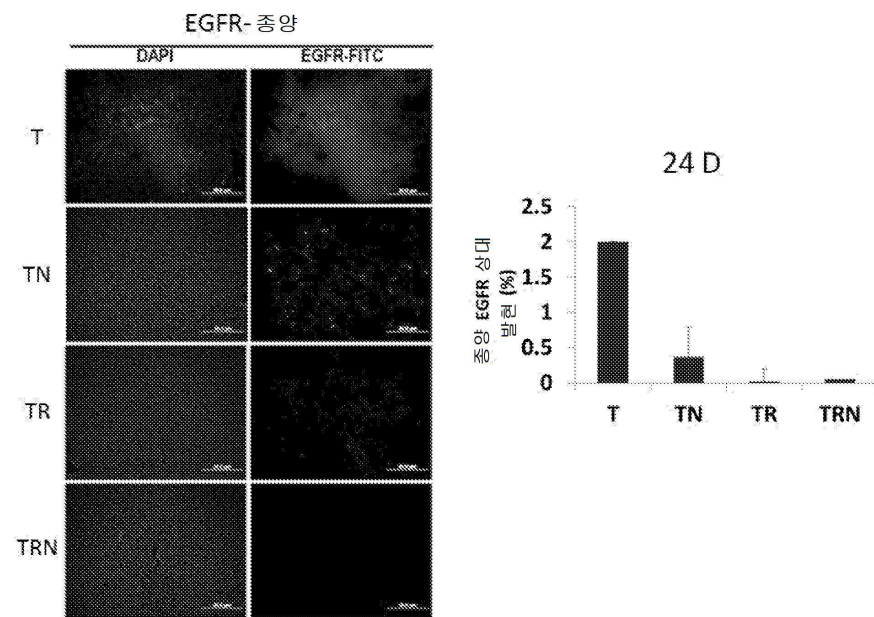
도면11b



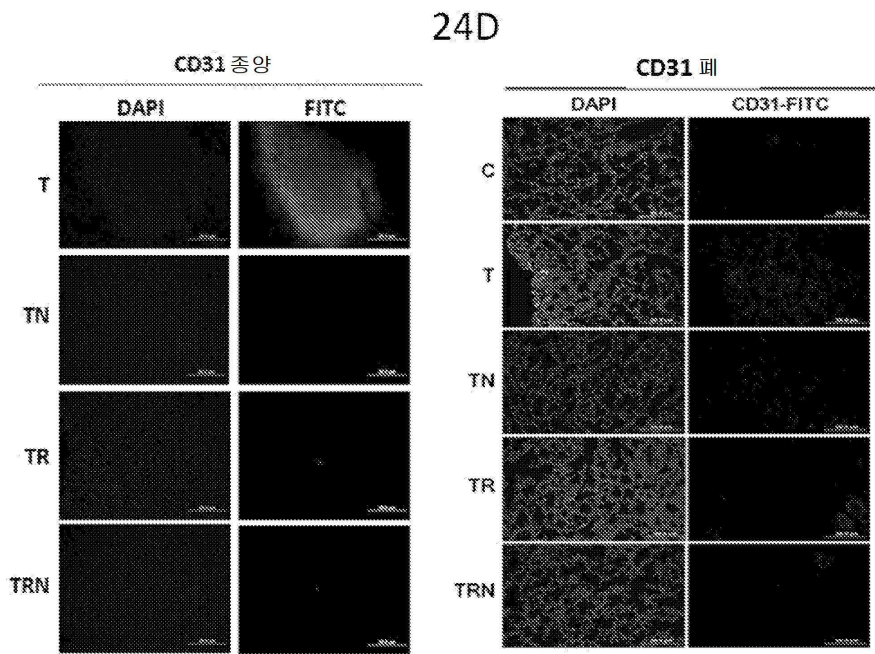
도면11c



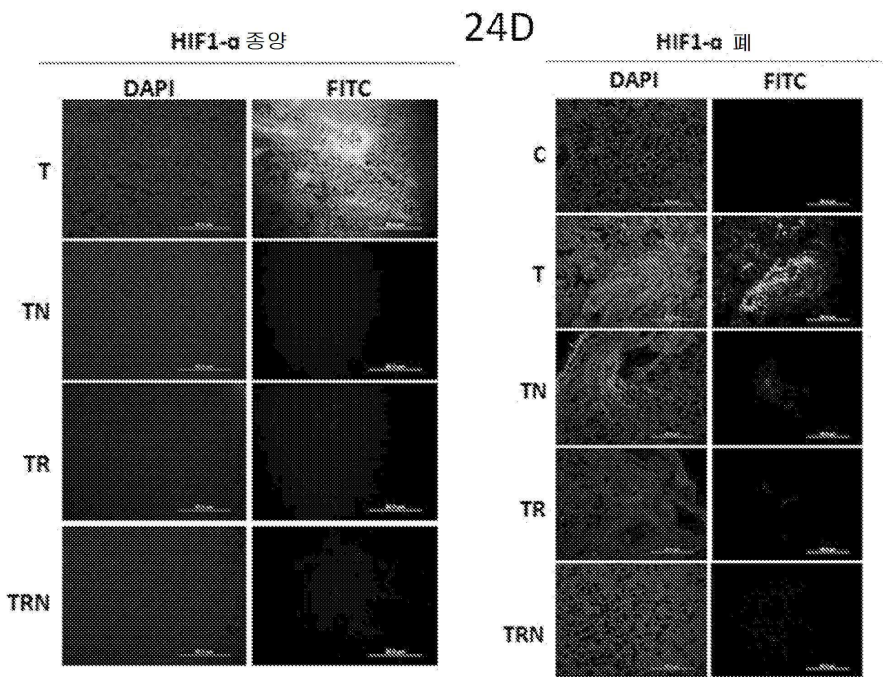
도면11d



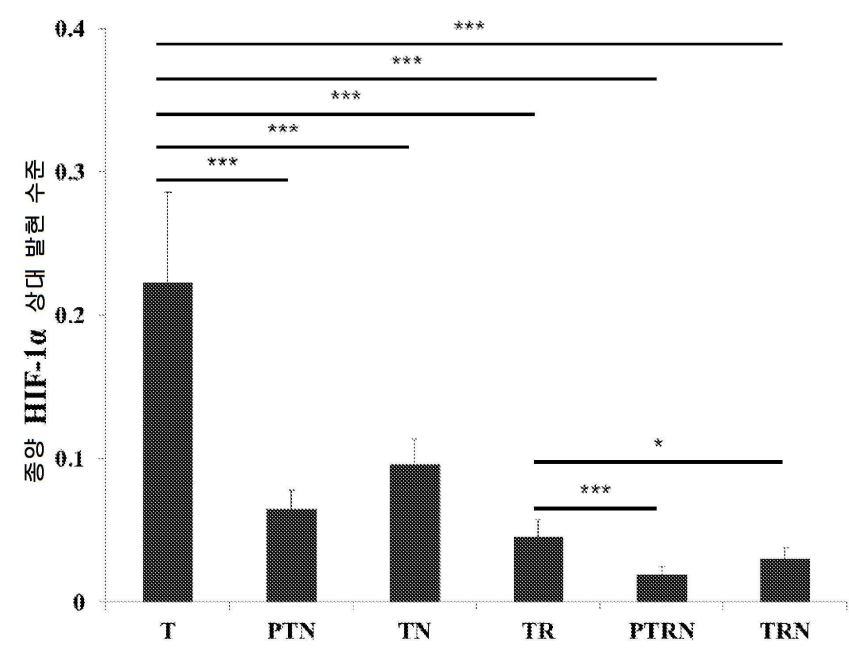
도면12



도면13a



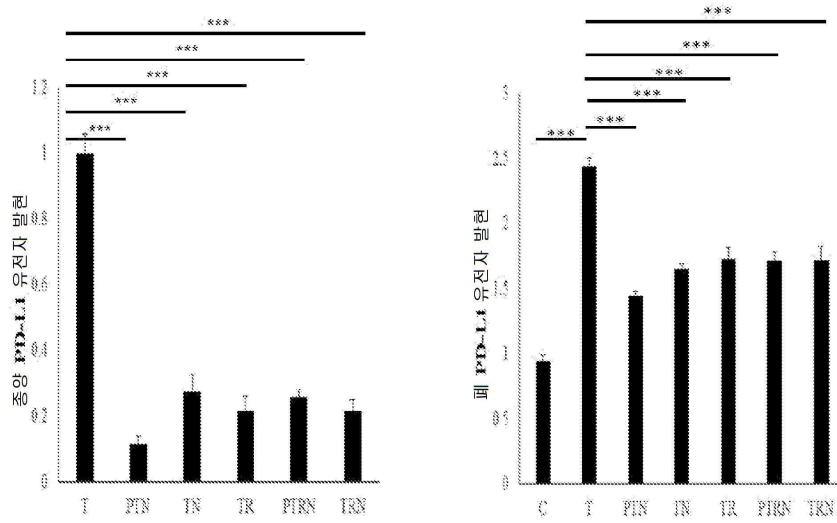
도면13b



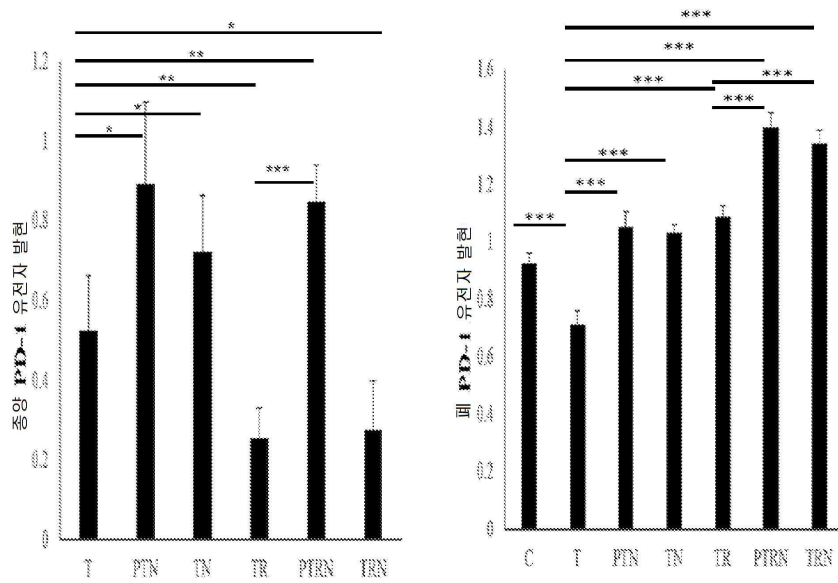
도면14

	Bax	Bcl-2	Bax/Bcl-2	카스파제 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

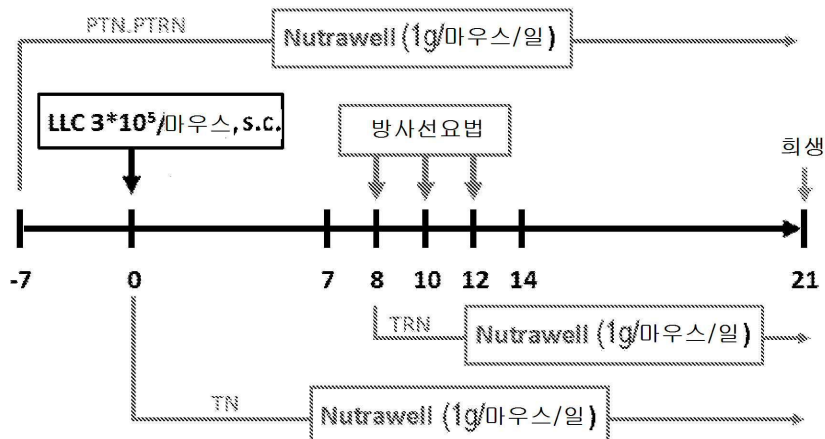
도면15a



도면15b



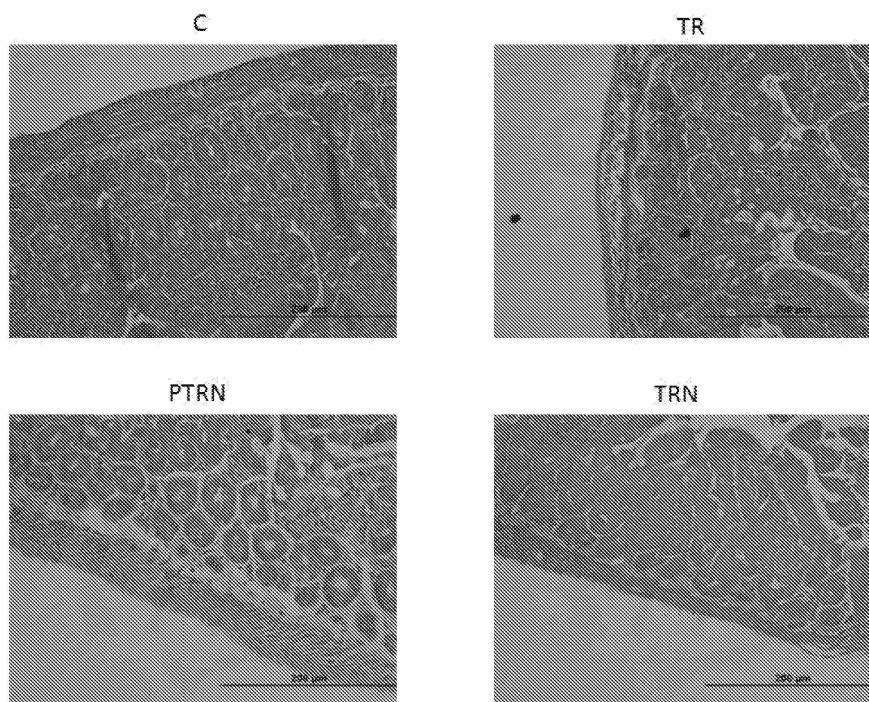
도면16a



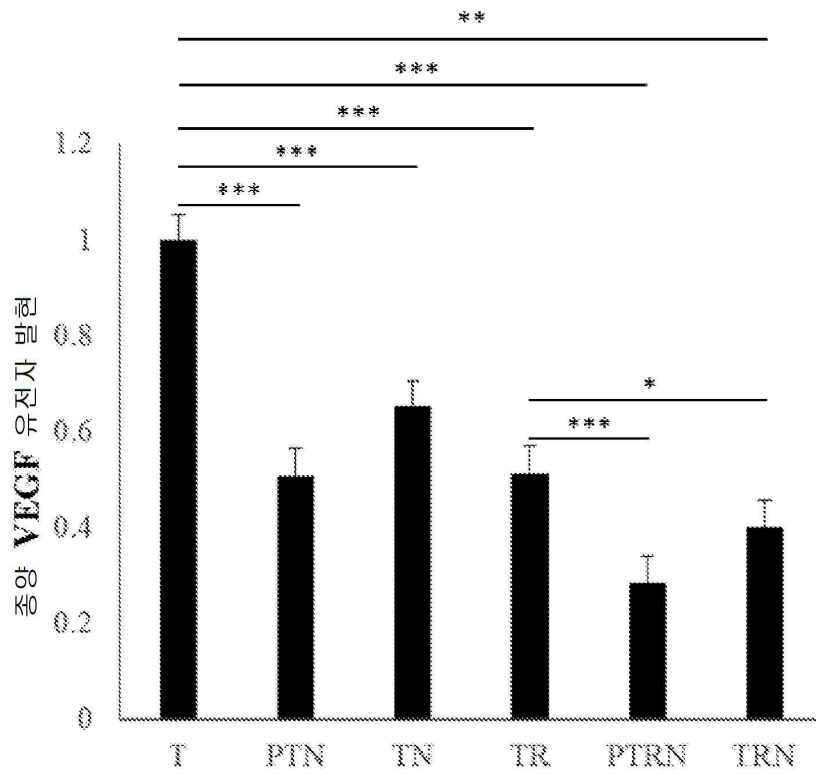
도면16b

			희생 (21일)
1	C	대조군	N=6
2	T	종양	N=6
3	PTN	종양 + Nutrawell (-7 일 시작)	N=6
4	TN	종양 + Nutrawell (0 일 시작)	N=6
5	TR	종양 + 방사선요법 (3 Gy × 3)	N=6
6	PTRN	종양 + 방사선요법 (3 Gy × 3) + Nutrawell (-7 일 시작)	N=6
7	TRN	종양 + 방사선요법 (3 Gy × 3) + Nutrawell (8 일 시작)	N=6

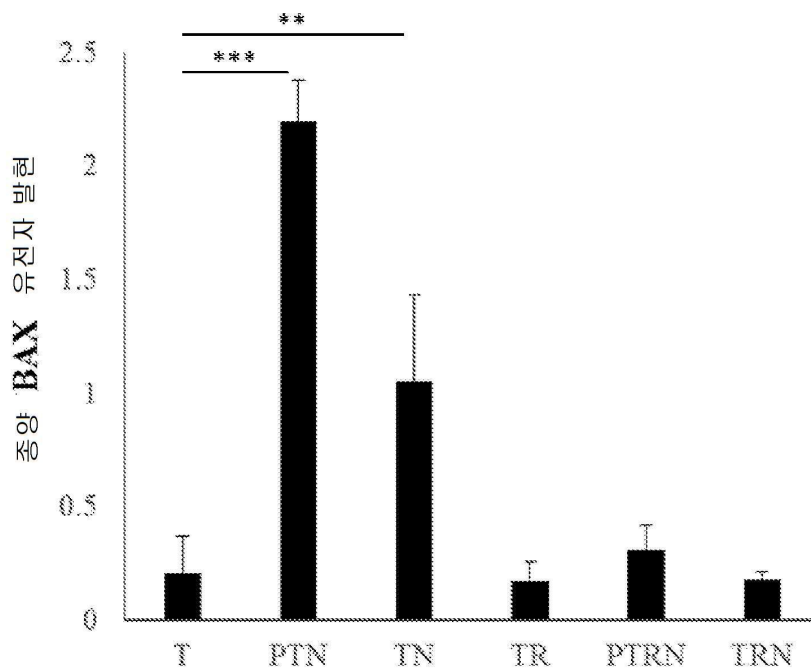
도면17



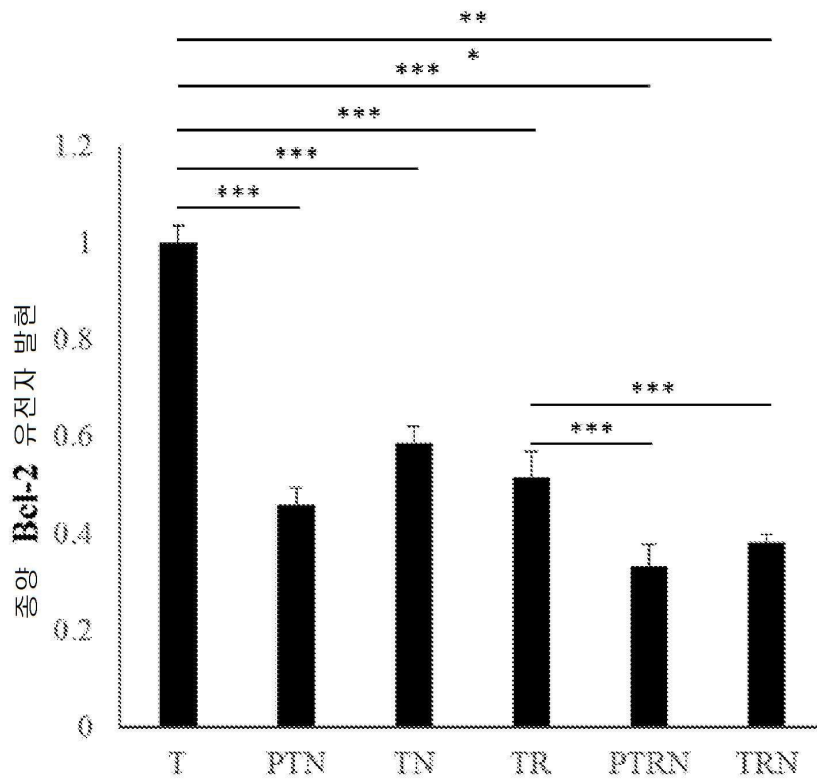
도면18a



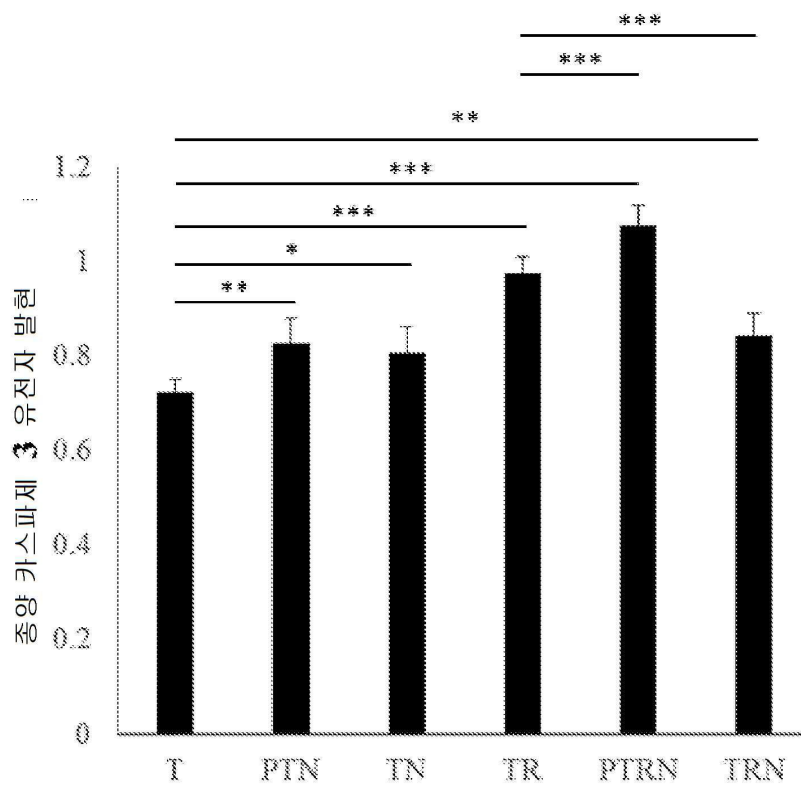
도면18b



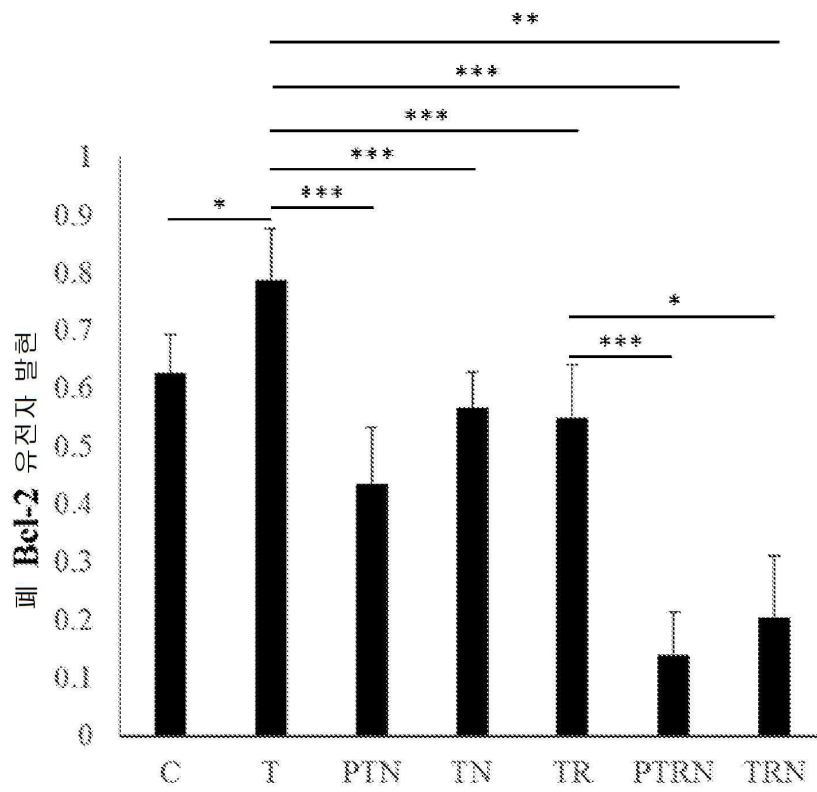
도면18c



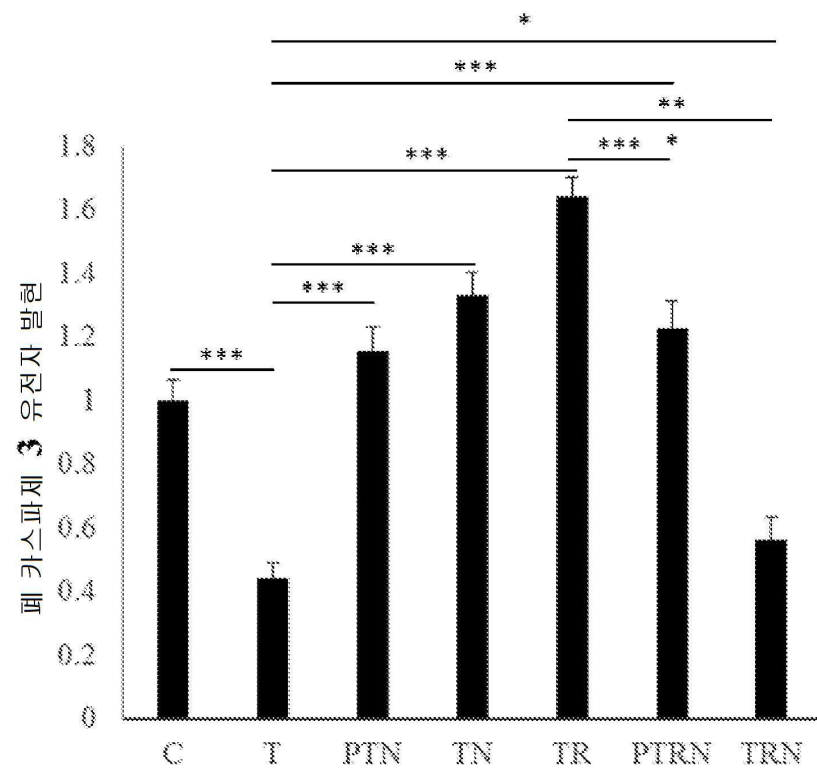
도면18d



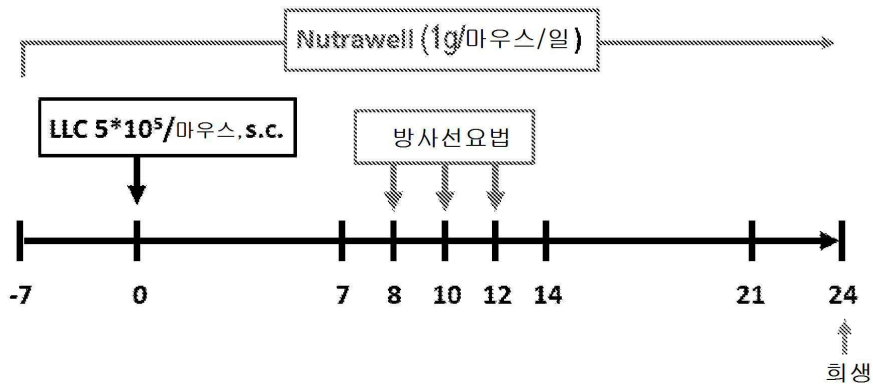
도면18e



도면18f



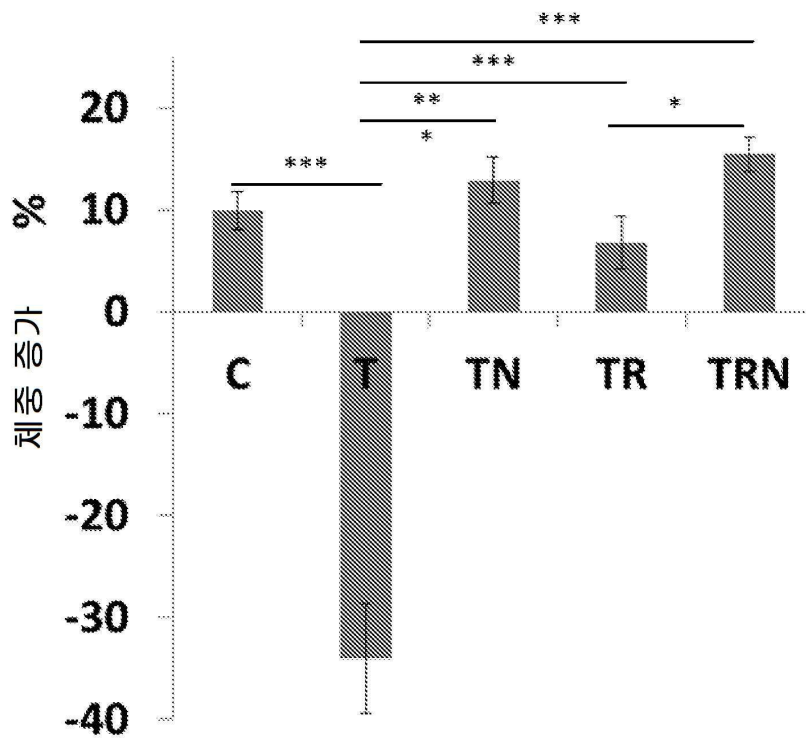
도면19a



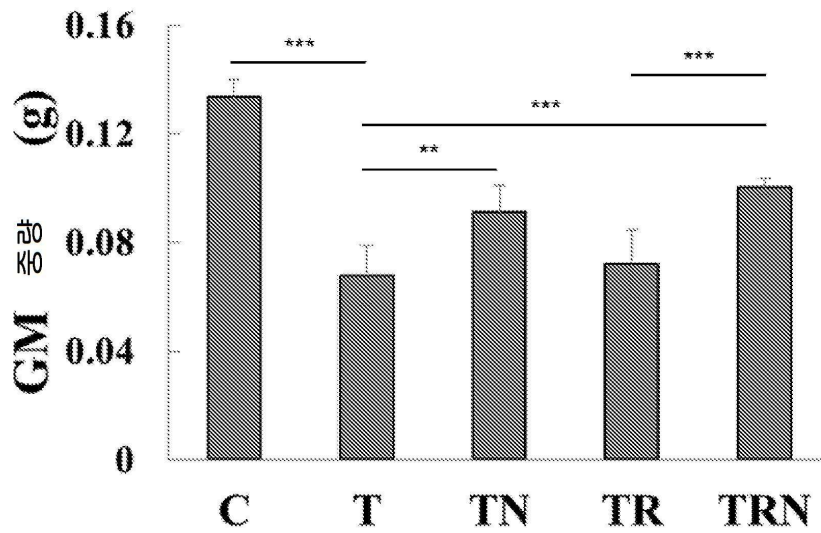
도면19b

			희생(24일)
1	C	대조군	N=6
2	T	종양	N=6
3	TN	종양 + Nutrawell	N=6
4	TR	종양 + 방사선요법 x3	N=6
5	TRN	종양 + 방사선요법 x3 + Nutrawell	N=6

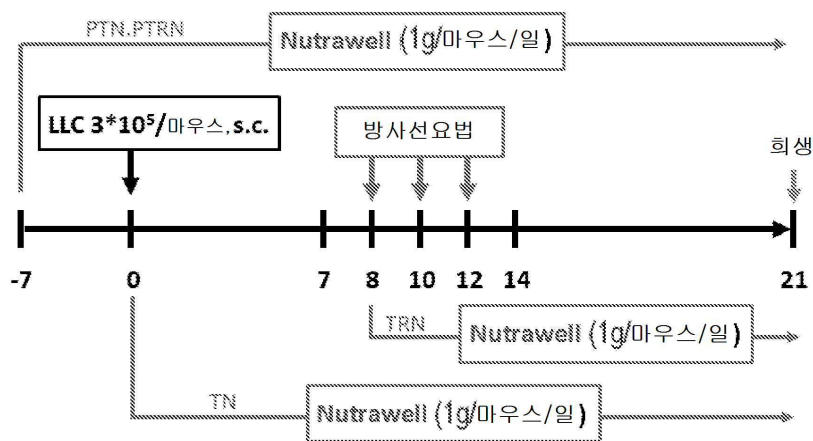
도면20a



도면20b



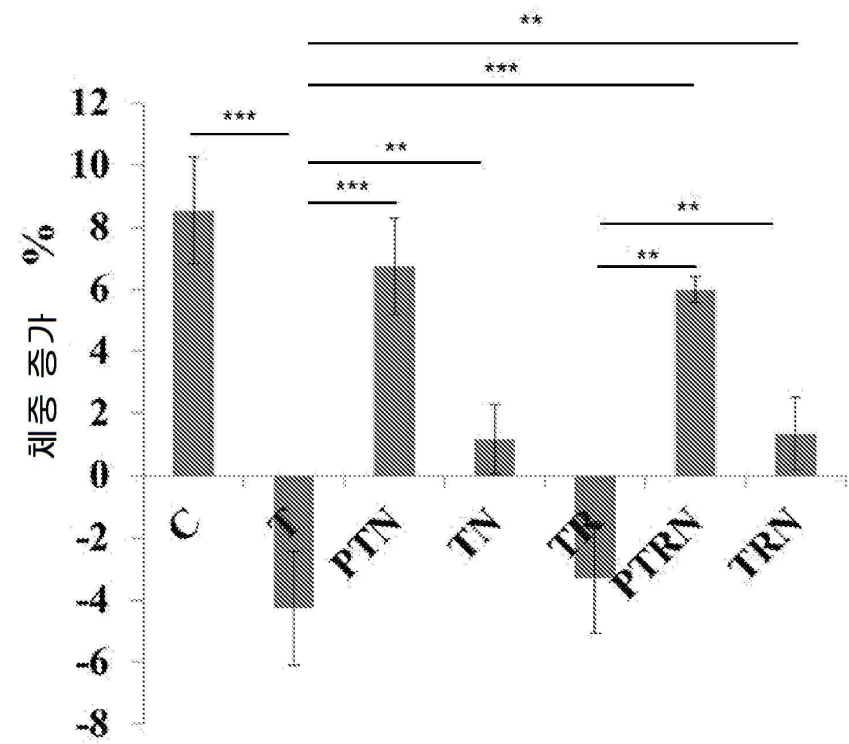
도면21a



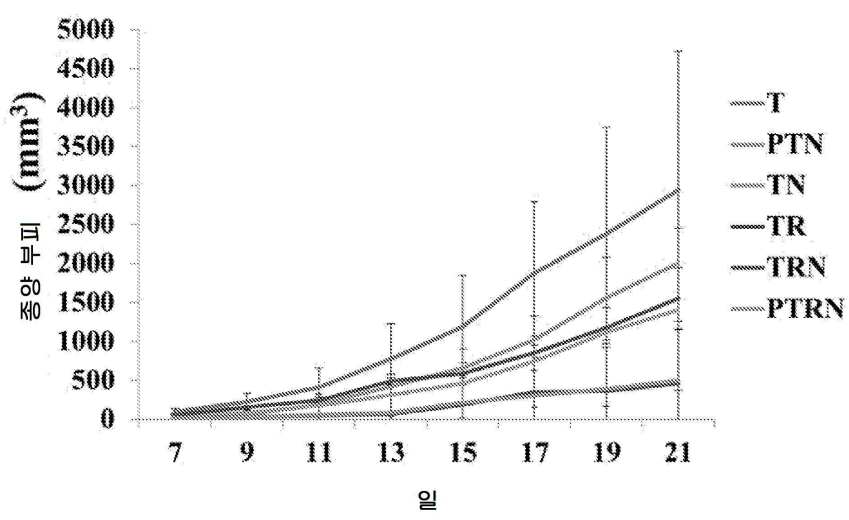
도면21b

			희생 (21일)
1	C	대조군	N=6
2	T	종양	N=6
3	PTN	종양 + Nutrawell (-7 일 시작)	N=6
4	TN	종양 + Nutrawell (0 일 시작)	N=6
5	TR	종양 + 방사선요법 (3 Gy × 3)	N=6
6	PTRN	종양 + 방사선요법 (3 Gy × 3) + Nutrawell (-7 일 시작)	N=6
7	TRN	종양 + 방사선요법 (3 Gy × 3) + Nutrawell (8 일 시작)	N=6

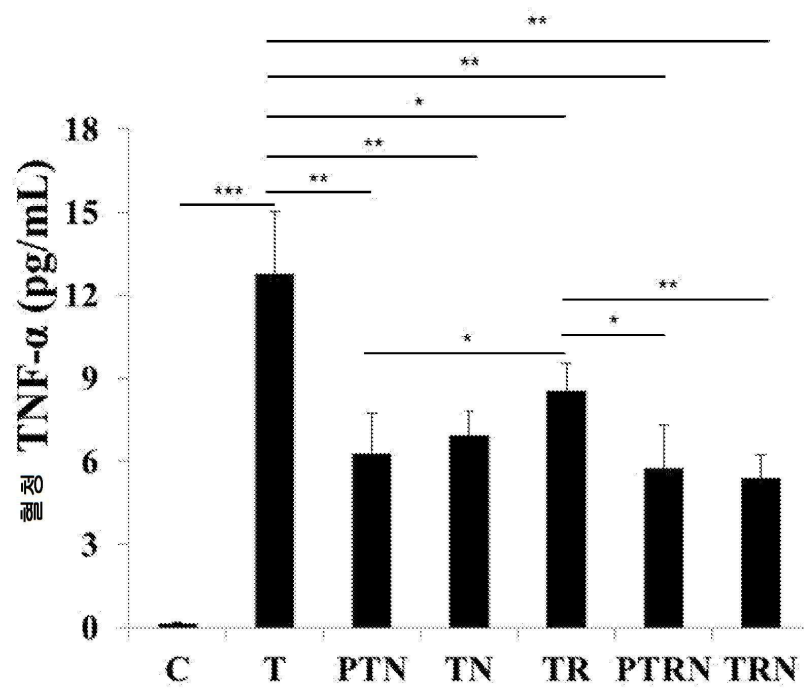
도면22



도면23



도면24a



도면24b

