



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2010-0024930
(43) 공개일자 2010년03월08일

(51) Int. Cl.

A61K 36/48 (2006.01) A61K 38/40 (2006.01)
A61K 31/593 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2009-7025876

(22) 출원일자 2008년05월14일

심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2009년12월11일

(86) 국제출원번호 PCT/NZ2008/000105

(87) 국제공개번호 WO 2008/140335

국제공개일자 2008년11월20일

(30) 우선권주장

555163 2007년05월14일 뉴질랜드(NZ)

(71) 출원인

폰테라 코-오퍼레이티브 그룹 리미티드

뉴질랜드 오클랜드 9 프린세스 스트리트

(72) 발명자

칸워 자가트 라케시

뉴질랜드 팔머스턴 노오스 데어리 팜 로드 폰테라
코-오퍼레이티브 그룹 리미티드

크리산센 제프리 웨인

뉴질랜드 팔머스턴 노오스 데어리 팜 로드 폰테라
코-오퍼레이티브 그룹 리미티드

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

김명신, 박지하, 박성용

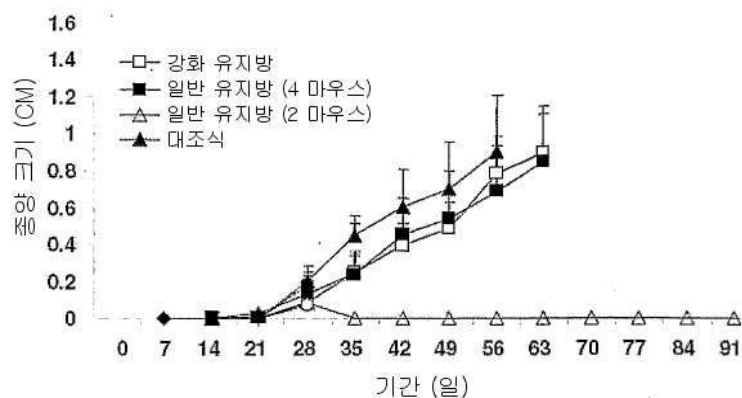
전체 청구항 수 : 총 24 항

(54) 종양 형성 또는 성장을 억제하고, 암, 암 증상 또는 암 치료 증후를 치료 또는 예방하는 면역 또는 혈액학적 강화 방법

(57) 요약

본 발명은 종양 형성의 억제 또는 종양 성장의 억제, 백혈구수, 적혈구수 또는 골수세포수 중 1개 이상의 유지 또는 개선, 악액질 감소, 점막염 감소 및 빈혈증 감소, 면역계 자극, 및 암 및 암 증상 및 암 치료요법의 부작용의 치료 또는 예방을 위해서 선택적으로 1개 이상의 추가 치료제, 바람직하게는 락토페린 또는 금속 이온 락토페린, 바람직하게는 철 락토페린, 바람직하게는 소의 락토페린, 바람직하게는 철 소의 락토페린 또는 금속 이온 관능성 변이물질 또는 이의 관능성 단편물질과 함께 유지방 또는 유지방 유사물질을 투여하는 방법에 관한 것으로서, 본 발명의 상기 방법 및 의료 용도는 식이요법(식품 또는 식품 보조제), 기능식품 또는 약물학적 조성물을 사용하여 실행할 수 있으며, 또한 본 발명의 방법에 유용한 조성물을 제공하는 것이다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

선 수에잉

뉴질랜드 팔머스턴 노오스 데어리 팜 로드 폰테라
코-오퍼레이티브 그룹 리미티드

팔마노 케이 패트리시아

뉴질랜드 팔머스턴 노오스 데어리 팜 로드 폰테라
코-오퍼레이티브 그룹 리미티드

맥기본 알래스테어 케네스 휴

뉴질랜드 팔머스턴 노오스 데어리 팜 로드 폰테라
코-오퍼레이티브 그룹 리미티드

특허청구의 범위

청구항 1

피험자의 종양 형성 억제, 종양 성장 억제, 종양 전이 억제, 또는 암 치료 또는 예방 방법으로서,

상기 방법은 이를 필요로 하는 피험자에게 유효량의 유지방 또는 유지방 유사물질, 및 1개 이상의 항-종양 치료제를 분리해서, 동시에 또는 순차적으로 투여하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 2

피험자의 면역계를 자극하는 방법으로서,

상기 방법은 유효량의 유지방 또는 유지방 유사물질을 이를 필요로 하는 피험자에게 투여하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 3

제 2 항에 있어서,

상기 투여는 피험자의 항-종양 면역 반응을 증가시키는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 4

피험자의 세포 자멸사(apoptosis)를 유도하는 방법으로서,

상기 방법은 유효량의 유지방 또는 유지방 유사물질을 이를 필요로 하는 피험자에게 투여하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 5

제 4 항에 있어서,

세포 자멸사는 종양 세포의 자멸사인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 6

피험자의 신생 혈관 형성을 억제하는 방법으로서,

상기 방법은 유효량의 유지방 또는 유지방 유사물질을 이를 필요로 하는 피험자에게 투여하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 7

제 6 항에 있어서,

신생 혈관 형성은 종양의 신생 혈관 형성인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 8

적은 헤모글로빈 또는 적혈구 양, 악액질, 점막염 또는 백혈구 감소증에 의해 야기되는 빈혈증의 치료 또는 예방, 또는 피험자의 백혈구수, 적혈구수 및 골수세포수 중 1개 이상을 유지 또는 개선시키는 방법으로서,

상기 방법은 유효량의 유지방 또는 유지방 유사물질을 이를 필요로 하는 피험자에게 투여하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 9

암 치료요법에 대한 피험자의 반응성 증가, 암 치료요법에 대한 피험자의 종양 민감도 증가, 또는 암 치료요법을 실행하고 있는 피험자의 회복 속도의 증가 방법으로서,

상기 방법은 치료요법과 분리해서, 동시에 또는 순차적으로 유효량의 유지방 또는 유지방 유사물질을 이를 필요로 하는 피험자에게 투여하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 10

제 2 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서,

1개 이상의 항-종양 치료제를 피험자에게 분리해서, 동시에 또는 순차적으로 투여하는 단계를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 11

암을 치료하고 있거나 또는 암으로 고통받고 있는 피험자를 치료하기 위해 사용하는 것을 특징으로 하여 선택적으로 1개 이상의 항-종양 치료제를 포함하는 유지방 또는 유지방 유사물질의 용도.

청구항 12

제 11 항에 있어서,

- (a) 피험자의 암 형성 억제 또는 암 성장 억제;
- (b) 피험자의 항-종양 면역 반응의 증가;
- (c) 피험자의 세포 자멸사 유도;
- (d) 피험자의 신생 혈관 형성 억제;
- (e) 적은 헤모글로빈 또는 적혈구 양, 악액질, 점막염 또는 백혈구 감소증에 의해 야기되는 빈혈증의 치료 또는 예방, 또는 피험자의 백혈구수, 적혈구수 및 골수세포수 중 1개 이상의 유지 또는 개선; 또는
- (f) 암 치료요법에 대한 피험자의 반응성 증가, 암 치료요법에 대한 피험자의 종양 민감도 증가, 또는 피험자의 회복 속도 증가를 위해 사용하는 것을 특징으로 하는 유지방 또는 유지방 유사물질의 용도.

청구항 13

제 11 항 또는 제 12 항에 있어서,

유지방 또는 유지방 유사물질은 1개 이상의 항-종양 치료제와 분리해서, 동시에 또는 순차적으로 투여하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 14

약 2 그램 내지 약 210 그램의 유지방 또는 유지방 유사물질, 및 락토페린, 아포-락토페린, 락토페린 폴리펩티드, 관능성 락토페린 변이물질, 관능성 락토페린 단편물질, 금속 이온 락토페린, 자연적으로 철-포화된 락토페린, 실제로 완전히 철-포화된 락토페린, 금속 이온 락토페린 관능성 변이물질, 금속 이온 락토페린 관능성 단편물질 또는 이의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 약 0.1 그램 내지 약 210 그램의 1개 이상의 항-종양 치료제를 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 15

제 14 항에 있어서,

- (a) 약 2 그램 내지 약 210 그램의 유지방 또는 유지방 유사물질 및 약 0.7 그램 내지 약 70 그램의 1개 이상의 항-종양 치료제;
- (b) 약 35 그램 내지 약 210 그램의 유지방 또는 유지방 유사물질 및 약 0.35 그램 내지 약 210 그램의 1개 이상의 항-종양 치료제;
- (c) 약 10 그램 내지 약 200 그램의 유지방 또는 유지방 유사물질 및 약 2.5 그램 내지 약 70 그램의 1개 이상의 항-종양 치료제;
- (d) 약 10 그램 내지 약 200 그램의 유지방 또는 유지방 유사물질 및 약 0.25 그램 내지 약 5 그램의 1개 이상의 항-종양 치료제;
- (e) 약 15 그램 내지 약 30 그램의 유지방 또는 유지방 유사물질 및 약 1 그램 내지 약 6 그램의 1개 이상의 항-종양 치료제; 또는

(f) 약 3 그램 내지 약 8 그램의 유지방 또는 유지방 유사물질 및 약 0.1 그램 내지 약 1 그램의 1개 이상의 항-종양 치료제를 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 16

유지방 또는 유지방 유사물질, 및 동시, 분리 또는 순차적 사용을 위한 통합 제제로서 1개 이상의 추가 항-종양 치료제를 포함하는 제품으로서,

상기 제품은 암을 치료하고 있거나 또는 암으로부터 고통 받는 피험자에게 투여하기 적당한 것을 특징으로 하는 제품.

청구항 17

제 16 항에 있어서,

상기 투여는

(a) 피험자의 종양 형성 억제 또는 종양 성장 억제;

(b) 피험자의 항-종양 면역 반응의 증가;

(c) 피험자의 세포 자멸사 유도;

(d) 피험자의 신생 혈관 형성 억제;

(e) 적은 헤모글로빈 또는 적혈구 양, 악액질, 점막염 또는 백혈구 감소증에 의해 야기되는 빈혈증 치료 또는 예방, 또는 피험자의 백혈구수, 적혈구수 및 골수세포수 중 1개 이상의 유지 또는 개선; 또는

(f) 암 치료요법에 대한 피험자의 반응성 증가, 암 치료요법에 대한 피험자의 종양 민감도 증가, 또는 피험자의 회복 속도를 증가시키는 것을 특징으로 하는 제품.

청구항 18

1개 이상의 항-종양 치료제는 항-종양 식품 인자, 화학요법제, 면역요법제, 조혈제, 항악액질제 또는 항점막염제로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 제 1 항 내지 제 10 항 중 어느 한 항에 따른 방법, 제 11 항 내지 제 13 항 중 어느 한 항에 따른 용도, 제 14 항 또는 제 15 항에 따른 조성물 또는 제 16 항 또는 제 17 항에 따른 제품.

청구항 19

1개 이상의 항-종양 치료제는 락토페린, 아포-락토페린, 락토페린 폴리펩티드, 관능성 락토페린 변이물질, 관능성 락토페린 단편물질, 금속 이온 락토페린, 자연적으로 철-포화된 락토페린, 실제로 완전히 철-포화된 락토페린, 금속 이온 락토페린 관능성 변이물질, 금속 이온 락토페린 관능성 단편물질, 또는 이의 2개 이상의 혼합물인 것을 특징으로 하는, 제 1 항 내지 제 10 항 중 어느 한 항에 따른 방법, 제 11 항 내지 제 13 항 중 어느 한 항에 따른 용도, 제 14 항 또는 제 15 항에 따른 조성물 또는 제 16 항 또는 제 17 항에 따른 제품.

청구항 20

제 18 항에 있어서,

항-종양 식품 인자는 비타민 D(비타민 D1[루미스테롤], 비타민 D2[칼시페롤 또는 에르고칼시페롤], 비타민 D3[콜레칼시페롤], 비타민 D4[22-디히드로에르고칼시페롤], 비타민 D5[시토칼시페롤] 및 비타민 D5[7-디히드로시토스테롤]를 포함함), 비타민 D 유사물질, 대두 단백질, 1개 이상의 대두 성분, 대두로부터의 1개 이상의 오메가-3 지방산, 대두로부터의 1개 이상의 이소플라본, 제니스테인, 다이드제인, 1개 이상의 루나신 펩티드, 1개 이상의 폴리페놀, 라이코펜, 밀기울, 플라보노이드, 이노시톨, 레스베라트롤, 프로폴리스, 버섯 추출물, 안토시아닌, 아몬드, 인삼, 카제인 가수분해물, 및 이들의 2개 이상의 결합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법, 용도, 조성물 또는 제품.

청구항 21

유지방은 낙농 지질, 낙농 지질 분획물, 낙농 지질 가수분해물, 낙농 지질 분획물 가수분해물 또는 소의 유지방

으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 제 1 항 내지 제 10 항 중 어느 한 항에 따른 방법, 제 11 항 내지 제 13 항 중 어느 한 항에 따른 용도, 제 14 항 또는 제 15 항에 따른 조성물 또는 제 16 항 또는 제 17 항에 따른 제품.

청구항 22

제 21 항에 있어서,

유지방은 크림, 버터, 무수 유지방, 버터 밀크, 버터 세럼, 경질 유지방 분획물, 연질 유지방 분획물, 스펙고리 피드 분획물, 유지방 구형 막 분획물, 인지질 분획물, 복합 지질 분획물, 이들의 결합물, 이들의 가수분해물, 가수분해물의 분획물, 및 가수분해 및/또는 비-가수분해 분획물의 결합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법, 용도, 조성물 또는 제품.

청구항 23

제 22 항에 있어서,

유지방은 무수 유지방 또는 크림인 것을 특징으로 하는 방법, 용도, 조성물 또는 제품.

청구항 24

제 1 항 내지 제 23 항 중 어느 한 항에 있어서,

유지방 또는 유지방 유사물질은

- (a) 약 23 %(w/w) 내지 약 32 %(w/w)의 팔미트산;
- (b) 약 15 %(w/w) 내지 약 22 %(w/w)의 올레산;
- (c) 약 10 %(w/w) 내지 약 15 %(w/w)의 스테아르산;
- (d) 약 9 %(w/w) 내지 약 12 %(w/w)의 미리스트산;
- (e) 약 3 %(w/w) 내지 약 5 %(w/w)의 부티르산;
- (f) 상기 a), b), c), d) 또는 e) 중 두개;
- (g) 상기 a), b), c), d) 또는 e) 중 세개;
- (h) 상기 a), b), c), d) 또는 e) 중 네개; 또는
- (i) 상기 a), b), c), d) 및 e) 각각을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법, 용도, 조성물 또는 제품.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 바람직하게는 락토페린(철-락토페린 포함)으로부터 선택된 항-종양 치료제와 같은 1개 이상의 추가 치료제를 포함하거나 또는 포함하지 않는 유지방 또는 유지방 유사물질을 투여하여 종양의 형성 또는 종양의 성장을 억제하고, 암, 암 증상 또는 암 치료 증후를 치료 또는 예방하는 면역 또는 혈액학적 향상 방법에 관한 것이다. 본 발명의 방법 및 약물의 사용은 (식품 또는 보조 식품으로서의) 식이요법, 기능식품 또는 약물학적 조성물을 사용하여 실시될 수 있다. 본 발명의 방법에 유용한 조성물도 또한 제공한다.

배경기술

[0002] 우유는 신생아의 빠른 성장 및 발달 시기에 영양물을 제공하는 풍부한 생체액이다. 이러한 이유로 우유에는 유아 발달에 필수적인 물질 뿐만 아니라 여러 성장 조절 물질이 함유되어 있다.

[0003] 암의 발병 위험에 있어서 우유를 섭취하는 것에 대한 건강상의 이점이 연구 및 광범위한 논의의 화제가 되고 있다. 고지방 낙농 식품(Larsson 등, 2005) 또는 저지방 우유(Ma 등, 2001 및 Goodman 등, 2002)의 소비가 직장암 및 난소암을 포함하는 특정 암의 위험을 감소시킬 수 있다는 것이 보고되었다. 반대로 저지방 우유를 많이

섭취하면 특정 암의 위험이 증가한다는 다른 연구 보고도 있다(Larsson 등, 2006). 우유 제품이 난소암의 위험과 관련이 있다는 것의 증거는 제한적이며, 모순이 있다는 것이 참고문헌의 재검토에서 보고되었다(Schulz 등, 2004). 전유 및 저지방 우유 둘 다는 유방암의 위험을 감소시키는 것과 관련이 있으며(Shin 등, 2002 및 Bradlow와 Sepkovic, 2002), 반면에 다른 연구에서는 위험 인자로서 보고하고 있다(Knekt 등, 1996 및 Gaard 등, 1995). 저지방 우유는 쥐에서 발암물질-유도 유선 종양의 발병을 촉진시키며(Qin 등, 2004), 저지방 우유는 전립선 암의 위험을 증가시키는 것과 관련이 있다(Tseng 등, 2005 및 Veierod 등, 1997). 하나의 크게 기대되는 연구에서는 성인 우유 소비가 유방암의 발병률에 부정적으로 관련이 있으며(Hjartaker 등, 2001), 반면에 최근의 연구에서는 저지방 또는 고지방 낙농 제품을 많이 소비하는 것과 유방암의 위험이 증가하거나 또는 감소하는 것의 패턴이 일정하지 않는 것으로 결론을 냈다(Moorman과 Terry, 2004 및 Parodi, 2005). 결론적으로 암 위험과 우유 섭취의 이점에 관한 유행병학적 증거는 일치하지 않는다.

[0004] 우유 지방은 콘주게이트형 리놀레산(CLA), 스펅고마이엘린, 부티르산, 바세닉산, 분지쇄형 사슬 지방산, 에테르 지질, β -카로틴 및 비타민 A와 D(이들의 항암 가능성을 평가하기 위해서 연구됨)(Parodi, 1999 및 Parodi, 1997에서 재검토됨)를 포함하는 다수의 성분들을 함유한다. 예를 들어 보도에 따르면 시스 9, 트랜스 11(c9, t11)-CLA 이성질체 및 이의 전구물질 바세닉산은 종양 세포주의 성장을 저해한다(Miller 등, 2003 및 O'Shea 등, 2000). 보도에 따르면 CLA 식은 세포자멸사(apoptosis)를 증가시켜 1,2-디메틸히드라진-처리된 쥐에서 결장 종양의 발병률을 감소시킨다(Kim 및 Park, 2003). 다른 연구에서는 CLA 식이 7,12-디메틸-벤즈[a]안트라센(DMBA)에 의해서 마우스의 피부 발암 현상의 개시를 억제하고(Ha 등, 1987), 벤조[a]피렌에 의해 유도되는 마우스의 전위 종양형성의 개시를 억제한다(Chen 등, 2003)고 보고하고 있다. 버터 지방으로서의 c9, t11 CLA 및 바세닉산을 공급하면 쥐에서 유선 발암 현상의 발병이 저해된다는 것이 보고되고 있다(Corl 등, 2003, Banni 등, 2001). CLA는 화학적 억제제로서 이의 효능에 기여할 수 있는 신생 혈관 생성을 저해하는 것으로 보고되었다(Masso-Welch 등, 2002).

[0005] 대조적으로 다른 연구에서는 CLA 식이 단독으로 또는 대두 단백 분리물과 함께 쥐에서의 전립선 종양 세포의 발병 및 성장을 생체내에서 억제하는 것에 실패하였으며(Cohen 등, 2003), 수컷 Sprague-Dawley 쥐의 결장에서 이상선와소(aberrant crypt foci)의 아족시메탄-유도형 발병을 생체내에서 억제하는 것에 실패했다(Ealey 등, 2001)고 보고하였다. 또한 쥐의 간종양의 중량이 CLA 식을 공급한 쥐에서 현저하게 크다고 보고되었다(Yamasaki 등, 2001). 유행병학 연구에서는 CLA-함유 음식군을 섭취하는 것과 유방암 발병률과는 관계가 없다고 보고하였다(Voorrips 등, 2002). 인간의 유지방 소비에 관한 유행병학적 연구를 보면 CLA와 항-종양 활성의 여러가지 연구 결과는 일치하지 않는다.

[0006] 이전에 종양은 모든 경우에서 화학요법에 잘 반응하지 않는다고 보고되었다. 예를 들면 화학요법의 효능은 암의 타입, 특성 및 치료에 사용하는 약물의 양, 약물 작용의 기작 및 치료 방법에 따라 다르게 암 환자에 따라 다양하다.

[0007] 완벽하게 임상 치료가 획득될 수 있는 일반적이면서 대부분의 민감한 경우[예를 들면 림프종, 급성 림프성모구성 백혈병(ALL), 만성 림프성모구성 백혈병(CLL), 호지킨병, 중 및 고등급 비호지킨 림프종, 예를 들면 미만성 거대세포 림프종, 버키트 림프종, 림프아구성 림프종, 용모상피암, 배아종양, 골수종증, 기관지의 연맥 세포암종, 고환암, 유잉 육종, 윌름즈 종양, 피부암]에서부터 저항력이 큰 경우[방광암, 식도암, 비소세포폐암, 간세포암종, 신장암종, 췌장암종, 두경부종양, 자궁경부암, 간암, 폐암(연맥 세포가 아님)]까지 화학 요법에 대한 암의 민감도가 다양하다는 것이 당업에 공지되어 있다. 이전에 직경이 0.3 cm 이상의 EL-4 종양은 면역요법 및 항-유전자 요법(Kanwar 등, 1999 및 Sun 등, 2001) 및 화학요법(Kanwar 등 - WO 2006/054908)에 완전하게 비-반응성이 된다는 것이 보고되었다.

[0008] 또한 방사선요법, 외과수술, 화학요법 또는 기타 방법에 의한 암의 치료는 흔히 관련 증상 또는 관련 질환의 원인이 되거나 또는 상기 질환을 악화시킨다. 예를 들면 치료를 실행하는 암 환자는 흔히 악액질성인 반면에 화학요법은 용모 위축이 진행되는 크립트에서의 세포의 세포자멸사와 관련된 작은 창자의 점막염을 야기시킬 수 있다(Keefe 등, 2000).

[0009] 따라서 선택적으로 1개 이상의 부가적인 치료제와 함께 유지방을 사용하여 암을 치료하거나 또는 암과 관련된 질환의 증상 또는 고통을 감소시키거나 또는 종양 형성 또는 성장을 억제하는 개선된 방법을 제공하거나 또는 적어도 대중이 유용한 선택을 하도록 하는 것이 바람직할 것이다.

발명의 상세한 설명

[0010] 발명의 요약

[0011] 따라서 본 발명의 하나의 측면은 피험자의 종양 형성의 억제, 종양 성장의 억제, 종양 전이의 억제, 또는 암 치료 또는 예방 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 유효량의 유지방 또는 유지방 유사물질 및 1개 이상의 치료제, 예컨대 1개 이상의 항-종양 치료제를 이것을 필요로 하는 피험자에게 분리해서, 동시에 또는 순차적으로 투여하는 단계를 포함하며, 상기 1개 이상의 항-종양 치료제는 항-종양 식품 인자, 화학요법제, 면역요법제, 조혈제, 항악액질제 또는 항점막염제로 이루어진 군으로부터 선택되는 것이 바람직하며, 1개 이상의 치료제는 락토페린(Lf)인 것이 보다 바람직하다.

[0012] 본 발명의 또 다른 측면은 피험자의 면역계를 자극하는 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 유효량의 유지방 또는 유지방 유사물질을 이것을 필요로 하는 피험자에게 투여하는 단계를 포함한다. 하나의 실시양태에서 면역계를 자극하는 방법은 유지방 및 1개 이상의 항-종양 치료제를 피험자에게 분리해서, 동시에 또는 순차적으로 투여하는 단계를 포함하며, 1개 이상의 항-종양 치료제는 항-종양 식품 인자, 화학요법제, 면역요법제, 조혈제, 항악액질제 또는 항점막염제로 이루어진 군으로부터 선택되는 것이 바람직하며, 1개 이상의 치료제는 락토페린인 것이 보다 바람직하다.

[0013] 하나의 실시양태에서 상기 투여로 피험자의 종양내에 Th1 및 Th2 사이토카인의 생성이 증가한다. 하나의 실시양태에서 상기 투여로 피험자의 장내에 Th1 및 Th2 사이토카인의 생성이 증가한다. 하나의 실시양태에서 상기 투여로 피험자의 체순환에서 Th1 및 Th2 사이토카인의 양이 증가한다. 하나의 실시양태에서 상기 투여로 피험자의 항-종양 면역 반응이 증가한다.

[0014] 본 발명의 또 다른 측면은 피험자의 세포자멸사를 유도하는 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 유효량의 유지방 또는 유지방 유사물질을 이를 필요로 하는 피험자에게 투여하는 단계를 포함한다. 하나의 실시양태에서 이를 필요로 하는 피험자에게 세포자멸사를 유도하는 방법은 유지방 및 1개 이상의 항-종양 치료제를 피험자에게 분리해서, 동시에 또는 순차적으로 투여하는 단계를 포함하며, 상기 1개 이상의 항-종양 치료제는 항-종양 식품 인자, 화학요법제, 면역요법제, 조혈제, 항악액질제 또는 항점막염제로 이루어진 군으로부터 선택되는 것이 바람직하며, 상기 1개 이상의 부가적 치료제는 락토페린인 것이 보다 바람직하다. 하나의 실시양태에서 세포자멸사는 종양 세포의 자멸사이다.

[0015] 본 발명의 또 다른 측면은 피험자에게서 신생 혈관 형성을 억제하는 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 유효량의 유지방 또는 유지방 유사물질을 이것을 필요로 하는 피험자에게 투여하는 단계를 포함한다. 하나의 실시양태에서 이를 필요로 하는 피험자에게 신생 혈관 형성을 억제하는 방법은 유지방 및 1개 이상의 항-종양 치료제를 피험자에게 분리해서, 동시에 또는 순차적으로 투여하는 단계를 포함하며, 상기 1개 이상의 항-종양 치료제는 항-종양 식품 인자, 화학요법제, 면역요법제, 조혈제, 항악액질제 또는 항점막염제로 이루어진 군으로부터 선택되는 것이 바람직하며, 상기 1개 이상의 부가적 치료제는 락토페린인 것이 보다 바람직하다. 하나의 실시양태에서 신생 혈관 형성 반응은 종양의 신생 혈관 형성 반응이다.

[0016] 본 발명의 또 다른 측면은 적은 헤모글로빈 또는 백혈구 양, 악액질, 점막염 또는 백혈구 감소증에 의해 야기되는 빈혈증을 치료하거나 또는 예방하는 방법, 또는 1개 이상의 피험자의 백혈구수, 적혈구수 및 골수 세포수를 유지하거나 또는 개선시키는 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 유효량의 유지방 또는 유지방 유사물질을 이를 필요로 하는 피험자에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0017] 본 발명의 또 다른 측면은 1개 이상의 피험자의 백혈구수, 적혈구수 또는 골수 세포수를 유지하거나 또는 개선시키는 방법에 관한 것으로서, 피험자에게 유지방 또는 유지방 유사물질을 투여하는 단계를 포함하며, 바람직하게는 피험자에게 1개 이상의 항-종양 치료제를 분리해서, 동시에 또는 순차적으로 함께 투여하며, 상기 1개 이상의 항-종양 치료제는 항-종양 식품 인자, 화학요법제, 면역요법제, 조혈제, 항악액질제 또는 항점막염제로 이루어진 군으로부터 선택되는 것이 바람직하며, 상기 1개 이상의 부가적인 치료제는 락토페린인 것이 보다 바람직하다.

[0018] 본 발명의 또 다른 측면은 바람직하게 1개 이상의 항-종양 치료제를 피험자에게 분리해서, 동시에 또는 순차적으로 투여하면서 피험자에게 유지방 또는 유지방 유사물질을 투여하는 단계를 포함하는 피험자의 빈혈증을 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것으로서, 상기 1개 이상의 항-종양 치료제는 항-종양 식품 인자, 화학요법제, 면역요법제, 조혈제, 항악액질제 또는 항점막염제로 이루어진 군으로부터 선택되는 것이 바람직하며, 상기 1개 이상의 부가적인 치료제는 락토페린인 것이 보다 바람직하다.

[0019] 본 발명의 또 다른 측면은 바람직하게는 1개 이상의 항-종양 치료제를 피험자에게 분리해서, 동시에 또는 순차

적으로 투여하면서 피험자에게 유지방 또는 유지방 유사물질을 투여하는 단계를 포함하는 악액질을 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것으로서, 상기 1개 이상의 항-종양 치료제는 항-종양 식품 인자, 화학요법제, 면역요법제, 조혈제, 항악액질제 또는 항점막염제로 이루어진 군으로부터 선택되는 것이 바람직하며, 상기 1개 이상의 부가적인 치료제는 락토페린인 것이 보다 바람직하다.

[0020] 본 발명의 또 다른 측면은 바람직하게 피험자에게 1개 이상의 항-종양 치료제를 분리해서, 동시에 또는 순차적으로 투여하면서 피험자에게 유지방 또는 유지방 유사물질을 투여하는 단계를 포함하는 피험자의 점막염을 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것으로서, 상기 1개 이상의 항-종양 치료제는 항-종양 식품 인자, 화학요법제, 면역요법제, 조혈제, 항악액질제 또는 항점막염제로 이루어진 군으로부터 선택되는 것이 바람직하며, 상기 1개 이상의 부가적인 치료제는 락토페린인 것이 보다 바람직하다.

[0021] 본 발명의 또 다른 측면은 피험자에게 유지방 분획물, 예컨대 인지질 분획물, 경질 유지방 분획물, 연질 유지방 분획물, 스펅고리피드 분획물, 유지방 구형막 분획물, 인지질 분획물 또는 복합 지질 분획물, 또는 이들의 2개 이상의 결합물을 선택적으로 1개 이상의 부가적인 치료제와 함께 투여하는 단계를 포함하는 피험자의 종양 형성 억제, 종양 성장 억제, 종양 전이 억제 또는 암의 치료 또는 예방 방법에 관한 것으로서, 상기 1개 이상의 부가적인 치료제는 항-종양 식품 인자, 화학요법제, 면역요법제, 조혈제, 항악액질제 또는 항점막염제로 이루어진 군으로부터 선택되는 것이 바람직하며, 상기 1개 이상의 부가적인 치료제는 락토페린(Lf)인 것이 보다 바람직하다.

[0022] 본 발명의 또 다른 측면은 바람직하게는 1개 이상의 항-종양 치료제를 피험자에게 분리해서, 동시에 또는 순차적으로 투여하면서 피험자에게 유지방 또는 유지방 유사물질을 투여하는 단계를 포함하는 암 치료에 대한 피험자의 반응성을 증가시키는 방법에 관한 것으로서, 상기 1개 이상의 항-종양 치료제는 항-종양 식품 인자, 화학요법제, 면역요법제, 조혈제, 항악액질제 또는 항점막염제로 이루어진 군으로부터 선택되는 것이 바람직하며, 상기 1개 이상의 부가적인 치료제는 락토페린인 것이 보다 바람직하다.

[0023] 본 발명의 또 다른 측면은 바람직하게 피험자에게 1개 이상의 항-종양 치료제를 분리해서, 동시에 또는 순차적으로 투여하면서 피험자에게 유지방 또는 유지방 유사물질을 투여하는 단계를 포함하는 암 치료에 대한 피험자의 종양의 민감도를 증가시키는 방법에 관한 것으로서, 상기 1개 이상의 항-종양 치료제는 항-종양 식품 인자, 화학요법제, 면역요법제, 조혈제, 항악액질제 또는 항점막염제로 이루어진 군으로부터 선택되는 것이 바람직하며, 상기 1개 이상의 부가적인 치료제는 락토페린인 것이 보다 바람직하다.

[0024] 본 발명의 또 다른 측면은 바람직하게 피험자에게 1개 이상의 항-종양 치료제를 분리해서, 동시에 또는 순차적으로 투여하면서 피험자에게 유지방 또는 유지방 유사물질을 투여하는 단계를 포함하는 암 치료를 실행하는 피험자의 회복 속도를 신속화시키는 방법에 관한 것으로서, 상기 1개 이상의 항-종양 치료제는 항-종양 식품 인자, 화학요법제, 면역요법제, 조혈제, 항악액질제 또는 항점막염제로 이루어진 군으로부터 선택되는 것이 바람직하며, 상기 1개 이상의 부가적인 치료제는 락토페린인 것이 보다 바람직하다.

[0025] 본 발명의 또 다른 측면은 여기서 기재하는 목적 용의 조성물의 제조에서의 유지방 사용 용도에 관한 것으로서, 상기 조성물은 1개 이상의 부가적인 치료제를 포함하거나, 또는 분리해서, 동시에 또는 순차적으로 투여하는 것이 바람직하며, 상기 1개 이상의 부가적인 치료제는 항-종양 치료제인 것이 바람직하며, 상기 항-종양 치료제는 항-종양 식품 인자, 면역요법제, 조혈제, 항악액질제 또는 항점막염제로 이루어진 군으로부터 선택되는 것이 바람직하며, 상기 1개 이상의 부가적인 치료제는 락토페린인 것이 보다 바람직하다.

[0026] 본 발명의 또 다른 측면은 여기서 기재하는 목적 용의 조성물의 제조에서 선택적으로 1개 이상의 부가적인 치료제와 함께 유지방을 사용하는 용도에 관한 것이다.

[0027] 본 발명의 또 다른 측면은 여기서 기재하는 목적 용의 조성물의 제조에서 유지방과 1개 이상의 부가적인 치료제의 사용 용도에 관한 것으로서, 상기 조성물은 유지방 및 1개 이상의 부가적인 치료제를 분리해서, 동시에 또는 순차적으로 투여하여 제조된다.

[0028] 본 발명의 또 다른 측면은 여기서 기재하는 목적 용의 조성물의 제조에서 유지방 및 1개 이상의 부가적인 치료제의 사용 용도에 관한 것으로서, 상기 유지방은 부가적인 치료제와 분리해서, 동시에 또는 순차적으로 투여된다.

[0029] 본 발명의 또 다른 측면은 여기서 기재하는 목적 용의 조성물의 제조에서 유지방 및 1개 이상의 부가적인 치료제의 사용 용도에 관한 것으로서, 상기 유지방은 1개 이상의 치료제와 분리해서, 동시에 또는 순차적으로 투여

하여 제조된다.

- [0030] 본 발명의 또 다른 측면은 유지방 및 1개 이상, 2개 이상 또는 3개 이상의 부가적인 치료제로 이루어지거나 또는 필수적으로 이루어진 조성물에 관한 것이다.
- [0031] 본 발명의 또 다른 측면은 유지방 및 1개 이상, 2개 이상 또는 3개 이상의 부가적인 치료제(여기서 기재하는 목적 용으로 동시에, 분리해서 또는 순차적으로 사용하기 위해 결합 제조된 것임)로 기본적으로 구성되거나 또는 구성되는 제품에 관한 것이다.
- [0032] 하기 실시양태는 상기 측정 중 어느 하나에 관한 것이다.
- [0033] 바람직한 실시양태에서 1개 이상의 치료제는 항-종양 치료제이다. 바람직한 실시양태에서 항-종양 치료제는 락토페린이다.
- [0034] 하나의 실시양태에서 락토페린은 락토페린 폴리펩티드, 관능성 락토페린 변이물질(functional lactoferrin variant), 관능성 락토페린 단편물질(functional lactoferrin fragment), 금속 이온 락토페린, 금속 이온 락토페린 관능성 변이물질 및 금속 이온 락토페린 관능성 단편물질, 또는 이의 2개 이상의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된다. 하나의 실시양태에서 락토페린은 아포-락토페린이다. 또 다른 실시양태에서 락토페린은 자연적으로 철이 포화 형태이다. 또 다른 실시양태에서 락토페린은 실제로 완전하게 철이 포화된 형태이다.
- [0035] 여기서 기재된 목적은 종양 형성 억제, 종양 성장 억제, 종양 전이 억제, 이를 필요로 하는 피험자의 암 치료 또는 예방, 이를 필요로 하는 피험자의 면역계 자극, 이를 필요로 하는 피험자의 종양 내의 Th1 및 Th2 사이토카인 생성의 증가, 이를 필요로 하는 피험자의 장내에서 Th1 및 Th2 사이토카인 생성의 증가, 이를 필요로 하는 피험자의 체순환에서의 Th1 및 Th2 사이토카인 양의 증가, 이를 필요로 하는 피험자의 항-종양 면역 반응의 증가, 이를 필요로 하는 피험자의 세포자멸사 유도, 이를 필요로 하는 피험자의 종양 세포의 세포자멸사 유도, 이를 필요로 하는 피험자의 신생 혈관 생성 반응 억제, 이를 필요로 하는 피험자의 종양의 신생 혈관 생성 반응 억제, 이를 필요로 하는 1개 이상의 피험자의 백혈구수, 적혈구수 또는 골수 세포수의 유지 또는 개선, 이를 필요로 하는 피험자의 빈혈증 치료 또는 예방, 이를 필요로 하는 피험자의 악액질 치료 또는 예방, 이를 필요로 하는 피험자의 점막염 치료 또는 예방, 피험자의 암 치료 반응성 증가, 피험자의 암 치료에 대한 종양 민감도 증가, 및 암 치료를 실행하는 피험자의 회복 속도 증가 목적으로 이루어진 군으로부터 선택된 목적을 포함한다.
- [0036] 하나의 실시양태에서 1개 이상의 치료제 또는 항-종양 치료제는 항-종양 식품 인자, 화학요법제, 면역요법제, 조혈제, 항악액질제 또는 항점막염제로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0037] 하나의 실시양태에서 항-종양 식품 인자는 비타민 D 및 비타민 D 유사물질(제한하지는 않지만 하기에 참조한 것들을 포함함), 대두 단백질, 1개 이상의 대두 성분들(하기에 참조한 것들을 포함함), 폴리페놀, 라이코펜, 밀기울, 플라보노이드, 이노시톨, 레스베라트롤, 프로폴리스, 버섯 추출물, 안토시아닌, 아몬드, 인삼, 카제인 가수분해물 및 이들의 결합물로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0038] 하나의 실시양태에서 항-종양 식품 인자는 항-종양 식품 및 항-종양 식품 성분들을 포함하는 군으로부터 선택된다. 1개 이상, 2개 이상 또는 3개 이상의 항-종양 식품 인자들을 투여하는 것이 바람직하다.
- [0039] 하나의 실시양태에서 항-종양 식품은 여기서 기재한 것들을 포함하는 항-암 특성을 가지는 관능성 식품 또는 이의 유도물질일 수 있다.
- [0040] 하나의 실시양태에서 항-종양 식품 성분은 여기서 기재한 것들로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.
- [0041] 하나의 실시양태에서 본 발명의 방법은 유지방 및 1개 이상의 부가적인 치료제로 이루어진 또는 필수적으로 이루어진 조성물을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 1개 이상의 부가적인 치료제는 락토페린, 관능성 락토페린 변이물질, 관능성 락토페린 단편물질, 금속 이온 락토페린, 금속 이온 락토페린 관능성 변이물질, 금속 이온 락토페린 관능성 단편물질 또는 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 것이 바람직하다. 조성물은 1개 이상, 2개 이상 또는 3개 이상의 항-종양 식품 인자로 구성되거나 또는 필수적으로 구성되는 것이 바람직하다.
- [0042] 본 발명의 용도의 하나의 실시양태에서 조성물은 피험자에서의 종양 형성 억제, 피험자에서의 종양 성장 억제, 피험자에서의 종양 전이 억제, 피험자에서의 암 치료 또는 예방, 피험자에서의 면역계 자극, 피험자에서의 종양 내 Th1 및 Th2 사이토카인 생성의 증가, 피험자 장내에서의 Th1 및 Th2 사이토카인 생성의 증가, 피험자의 체순환에서의 Th1 및 Th2 사이토카인 양의 증가, 피험자에서의 항-종양 면역 반응의 증가, 피험자에서의 세포자멸사 유도, 피험자에서의 종양 세포의 세포자멸사 유도, 피험자에서의 신생 혈관 형성 반응 억제, 피험자에서의 종양

의 신생 혈관 형성 반응 억제, 피험자에서의 1개 이상의 백혈구수, 적혈구수 또는 골수 세포수의 유지 또는 개선, 이를 필요로 하는 피험자에서의 빈혈증의 치료 또는 예방, 이를 필요로 하는 피험자에서의 악액질의 치료 또는 예방, 이를 필요로 하는 피험자에서의 점막염의 치료 또는 예방, 이를 필요로 하는 피험자에서의 적혈구 감소증의 치료 또는 예방, 피험자의 암 치료 반응성의 증가, 피험자에서의 암 치료에 대한 종양의 반응성 증가, 또는 암 치료를 실행하는 피험자의 회복 속도의 증가를 위해 제조된다.

- [0043] 하나의 실시양태에서 투여 방법은 경구, 국소 또는 비경구 투여이다.
- [0044] 하나의 실시양태에서 피험자는 암으로 고통받거나 또는 암에 민감한 사람; 치료를 실행하고 있지만 재발되었거나 또는 재발 가능성이 높은 사람; 화학요법제, 방사선요법제, 항-혈관신생요법제 또는 면역요법제로 치료하는 종양 물질을 가진 사람; 또는 이전에 수술, 수술 실패, 화학요법제, 방사선요법제, 항-혈관신생요법제 또는 면역요법제의 치료 실패 경험에 있는 사람이다.
- [0045] 하나의 실시양태에서 유지방은 낙농 지질, 낙농 지질 분획물, 낙농 지질 가수분해물질 및 낙농 지질 분획 가수분해물질로 이루어진 군으로부터 선택된다. 바람직한 유지방은 낙농 지방, 특히 소 유지방이다.
- [0046] 다른 실시양태에서 유지방은 이에 제한하지는 않지만 양, 염소, 돼지, 마우스, 물소, 낙타, 야크, 말, 당나귀, 라마 또는 인간의 유지방을 포함하는 임의의 포유류 유지방이다.
- [0047] 하나의 실시양태에서 락토페린은 이에 제한하지는 않지만 양, 염소, 돼지, 마우스, 물소, 낙타, 야크, 말, 당나귀, 라마, 소 또는 인간의 락토페린을 포함하는 임의의 포유류 락토페린이다. 락토페린은 소의 락토페린이 바람직하다.
- [0048] 하나의 실시양태에서 락토페린은 아포-락토페린이다. 하나의 실시양태에서 락토페린, 관능성 락토페린 변이물질 또는 관능성 락토페린 단편물질은 금속 이온이 없다. 하나의 실시양태에서 락토페린, 또는 이의 관능성 변이물질 또는 이의 관능성 단편물질은 화학양론적 기본 상으로 약 5, 10 또는 20 % 이상의 금속 이온이 포화되어 있다.
- [0049] 하나의 실시양태에서 금속 이온은 알루미늄, 비스무트, 구리, 크롬, 코발트, 금, 철, 망간, 오스뮴, 백금, 루테튬 및 아연 이온, 또는 이의 2개 이상의 결합물, 또는 락토페린 금속 이온 결합 포켓에 특이적으로 혼입되어 있는 기타 이온으로 이루어진 군으로부터 선택된 이온이다. 금속 이온은 철 이온인 것이 바람직하다.
- [0050] 하나의 실시양태에서 락토페린, 관능성 락토페린 변이물질 또는 관능성 락토페린 단편물질은 비-특이적 이온 결합으로 포함된다. 바람직하게 락토페린, 관능성 락토페린 변이물질 또는 관능성 락토페린 단편물질과 비-특이적으로 결합할 수 있는 이온은 알루미늄, 칼슘, 비스무트, 구리, 크롬, 코발트, 금, 철, 망간, 오스뮴, 백금, 루테튬, 셀레늄 및 아연 이온, 또는 이의 임의의 2개 이상의 결합물로 이루어진 군으로부터 선택된다. 상기 이온은 락토페린, 관능성 락토페린 변이물질 또는 관능성 락토페린 단편물질, 바람직하게는 칼슘 및 셀레늄 이온과 비-특이적으로 결합하는 임의의 이온 또는 이온 혼합물일 수 있다.
- [0051] 하나의 실시양태에서 금속 이온 락토페린 또는 금속 이온 관능성 변이물질 또는 이의 관능성 단편물질은 화학양론 기본 상에서 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99.5 또는 100 % 이상의 금속 이온이 포화되어 있다.
- [0052] 하나의 실시양태에서 금속 이온 락토페린 또는 금속 이온 관능성 변이물질 또는 이의 관능성 단편물질은 화학양론 기본상에서 약 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195 또는 200 % 이상의 금속 이온이 포화되어 있다.
- [0053] 하나의 실시양태에서 여기에 유용한 조성물은 약 2 그램 내지 약 210 그램의 유지방 또는 유지방 유사물질 및 약 0.1 그램 내지 약 210 그램의 1개 이상의 항-종양 치료제를 포함한다. 하나의 실시양태에서 상기 조성물은 약 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195, 200, 205 또는 210 그램의 유지방 또는 유지방 유사물질을 포함하며, 유용한 범위는 임의의 상기 값 사이에서 선택할 수 있다. 하나의 실시양태에서 조성물은 약 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195, 200, 205 또는 210 그램의 1개 이상의 항-종양 치료제를 포함하며, 유용한 범위는 임의의 상기 값 사이에서 선택할 수 있다. 바람직하게 1개 이상의 항-종양 치료제는 락토페린, 아포-락토페린, 락토페린 폴리펩티드, 관능성 락토페린 변이물질, 관능성 락토페린 단편물질, 금속 이온 락토페린, 자연적으로 철-포화된 락토

페린, 실질적으로 완전하게 철-포화된 락토페린, 금속 이온 락토페린 관능성 변이물질, 금속 이온 락토페린 관능성 단편물질 또는 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 다양한 실시양태에서 조성물은 하기를 포함한다:

- [0054] (a) 약 2 그램 내지 약 210 그램의 유지방 또는 유지방 유사물질 및 약 0.7 그램 내지 약 70 그램의 1개 이상의 항-종양 치료제;
- [0055] (b) 약 35 그램 내지 약 210 그램의 유지방 또는 유지방 유사물질 및 약 0.35 그램 내지 약 210 그램의 1개 이상의 항-종양 치료제;
- [0056] (c) 약 10 그램 내지 약 200 그램의 유지방 또는 유지방 유사물질 및 약 2.5 그램 내지 약 70 그램의 1개 이상의 항-종양 치료제;
- [0057] (d) 약 10 그램 내지 약 200 그램의 유지방 또는 유지방 유사물질 및 약 0.25 그램 내지 약 5 그램의 1개 이상의 항-종양 치료제;
- [0058] (e) 약 15 그램 내지 약 30 그램의 유지방 또는 유지방 유사물질 및 약 1 그램 내지 약 6 그램의 1개 이상의 항-종양 치료제; 또는
- [0059] (f) 약 3 그램 내지 약 8 그램의 유지방 또는 유지방 유사물질 및 약 0.1 그램 내지 약 1 그램의 1개 이상의 항-종양 치료제.
- [0060] 하나의 실시양태에서 방법은 금속 이온 락토페린 및 1개 이상의 금속 이온 관능성 변이물질 또는 이의 관능성 단편물질의 혼합물을 유지방과 함께 투여하는 단계를 포함한다.
- [0061] 하나의 실시양태에서 유지방 및 부가적인 치료제, 바람직하게 락토페린은 하나만의 효과 보다 더 크거나 또는 하나만의 부가 효과 보다 더 큰 상승 치료 효과를 제공한다. 예를 들면 종양 형성 또는 성장의 억제, 종양 퇴화, 세포용해 효과, 면역 강화, Th1 및 Th2 사이토카인의 발생, 백혈구수, 적혈구수 또는 골수 세포수의 유지 또는 개선, 빈혈증의 치료 또는 예방, 악액질의 치료 또는 예방, 점막염의 치료 또는 예방, 또는 치료 방법에 대한 피험자 또는 종양의 반응성에 더 효과적이다. 하나의 실시양태에서 락토페린 및 항-종양 식품 인자는 적합하게 투여 기간 또는 투여량을 감소 또는 증가시킨 암 치료요법과 함께 투여하거나 또는 순차적으로 투여할 수 있다.
- [0062] 하나의 실시양태에서 본 발명의 방법은 추가로 1개 이상의 암 치료요법을 분리해서, 동시에 또는 순차적으로 투여하는 단계를 포함한다.
- [0063] 하나의 실시양태에서 암 치료요법은 항-종양 치료제 또는 항-종양 치료요법이다.
- [0064] 하나의 실시양태에서 유지방은 선택적으로 1개 이상의 부가적인 치료제, 및 1개 이상의 항-종양 치료제 또는 항-종양 치료요법과 분리해서, 동시에 또는 순차적으로 투여한다.
- [0065] 하나의 실시양태에서 항-종양 치료요법은 이에 제한하지는 않지만 수술, 화학요법, 방사선 요법, 호르몬 요법, 생물학적 요법/면역 요법, 세포 요법, 항-신생혈관 형성 요법, 세포독성 요법, 백신, 핵산-기본 백신(예를 들면 p185 백신을 포함하는 DNA 백신과 같은 암 항원을 발현하는 핵산), 바이러스-기본 요법(예를 들면 아데노-관련 바이러스, 렌티바이러스), 유전자 요법, 작은 분자 억제 요법, 뉴클레오타이드-기본 요법(예를 들면 RNAi, 안티센스, 리보자임 등), 항체-기본 요법. 산소 및 오존 치료, 색전에 의한 폐색, 및/또는 화학 색전 요법으로 이루어진 치료요법으로부터 선택한다. 하나의 실시양태에서 항-종양 치료제는 1개 이상의 신생 혈관 형성 억제제를 포함한다.
- [0066] 하나의 실시양태에서 항-종양 치료제는 화학 요법제 또는 면역 요법제이다. 하나의 실시양태에서 1개 이상의 항-종양 치료제는 화학 요법제이다. 바람직하게 화학 요법제는 투블린 디스립터, DNA 인터칼레이터 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된다. 하나의 실시양태에서 투블린 디스립터는 이에 제한하지는 않지만 여기에 참고문헌으로 혼입된 공개된 국제 특허 출원 WO 2006/054908에 나열된 것들을 포함한다. 하나의 실시양태에서 DNA 인터칼레이터는 이에 제한하지는 않지만 여기에 참고문헌으로 혼입된 공개된 국제 특허 출원 WO 2006/054908에 나열된 것들을 포함한다. 하나의 실시양태에서 화학 요법제는 파클리탁셀, 독소루비신, 에피루비신, 플루오로우라실, 사이클로포스파미드 또는 메토트레사이트이다.
- [0067] 하나의 실시양태에서 항-종양 치료제는 면역요법제이다. 바람직하게 면역요법제는 T 세포 공자극제 B7-1, T 세포 공자극제 또는 관능성 관련 분자, 예를 들면 가용성 B7-1Ig 키메라를 암호화하는 발현 플라즈미드이다. 하나

의 실시양태에서 항-종양 치료제는 면역 세포 치료요법을 포함한다. 치료 요법은 수지상 세포 치료요법이 바람직하다.

- [0068] 하나의 실시양태에서 화학요법제는 파클리탁셀, 독소루비신, 에피루비신, 플루오로우라실, 사이클로포스파미드 또는 메토트레사이트이다.
- [0069] 하나의 실시양태에서 항-종양 치료제는 면역요법제이다. 바람직하게 면역요법제는 T 세포 공자극제 B7-1, T 세포 공자극제 또는 관능성 관련 분자, 예를 들면 가용성 B7-Ig 키메라를 암호화하는 발현 플라스미드이다.
- [0070] 하나의 실시양태에서 항-종양 치료제는 면역 세포 치료요법을 포함한다. 치료 요법은 수지상 세포 치료요법인 것이 바람직하다.
- [0071] 하나의 실시양태에서 항-종양 치료제는 1개 이상의 신생 혈관 형성 억제제를 포함한다.
- [0072] 하나의 실시양태에서 1개 이상의 항-종양 치료제는 경구 또는 비경구, 바람직하게는 정맥내, 복강내 또는 종양 내 주입에 의해 투여한다.
- [0073] 하나의 실시양태에서 유지방은 선택적으로 1개 이상의 부가적인 치료제와 함께 항-종양 치료제 또는 항-종양 치료요법 투여 전에 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10 주 이상 동안 경구로 투여한다.
- [0074] 하나의 실시양태에서 유지방은 선택적으로 1개 이상의 부가적인 치료제와 함께 항-종양 치료제 또는 항-종양 치료요법을 투여하기 전에 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 21 일 이상 동안, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8 주 이상 동안, 또는 약 1, 2, 3, 4, 5 또는 6 개월 이상 동안 투여한다.
- [0075] 하나의 실시양태에서 유지방은 선택적으로 1개 이상의 부가적인 치료제와 함께 항-종양 치료제 또는 항-종양 치료요법 투여를 시작하기 전에 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 21 일 이상 동안, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8 주 이상 동안, 또는 약 1, 2, 3, 4, 5 또는 6 개월 이상 동안 투여한다.
- [0076] 하나의 실시양태에서 유지방은 선택적으로 1개 이상의 부가적인 치료제와 함께 암 치료 요법과 함께 또는 암 치료 요법 없이 경구 또는 비경구 점적, 또는 투여 경로를 결합하여 하루 동안 지속적인 방법을 포함하여 매일 한 번 이상 투여한다.
- [0077] 하나의 실시양태에서 종양 또는 암은 고형 종양, 백혈병, 림프종, 다발 골수종, 림프계열의 조혈조직 종양, 골수계열의 조혈조직 종양, 결장암, 유방암, 흑색종, 피부암 또는 폐암이다.
- [0078] 하나의 실시양태에서 종양 또는 암은 백혈병, 예컨대 이에 제한하지는 않지만 급성 백혈병, 급성 림프모구 백혈병, 급성 과립구 백혈병, 급성 골수성 백혈병 예컨대 골수아세포, 전골수세포, 골수단핵구, 단핵구, 적백혈병 및 골수이형성 증후군, 만성 백혈병, 예컨대 이에 제한하지는 않지만 만성 골수성 백혈병, 만성 과립구 백혈병, 만성 림프모구 백혈병 및 모발상 세포 백혈병이다.
- [0079] 하나의 실시양태에서 종양 또는 암은 림프종, 예컨대 이에 제한하지는 않지만 호지킨병 및 비-호지킨병이다.
- [0080] 하나의 실시양태에서 종양 또는 암은 골수계열의 조혈조직 종양, 예컨대 이에 제한하지는 않지만 급성 및 만성 골수성 백혈병, 무증상 다발성 골수종, 비분비형 골수종 및 골경화성 골수종을 포함한다.
- [0081] 하나의 실시양태에서 종양 또는 암은 백혈병, 급성 및 만성 림프모구 백혈병, 급성 및 만성 림프아구성 백혈병, B-세포 골수종, T-세포 골수종, 버키트 골수종을 포함하는 골수계열의 조혈조직 종양을 포함한다.
- [0082] 하나의 실시양태에서 종양 또는 암은 B 림프계열의 조혈조직 종양을 포함한다.
- [0083] 하나의 실시양태에서 종양 또는 암은 T 림프계열의 조혈조직 종양을 포함한다.
- [0084] 하나의 실시양태에서 종양은 큰 종양이다. 하나의 실시양태에서 종양은 하기이며, 암은 하기를 포함한다:
- [0085] (a) 직경이 약 0.3, 0.4 또는 0.5 이상의 종양, 또는
- [0086] (b) 1개 이상의 면역요법제, 항-신생혈관생성제 또는 화학요법제의 치료에 저항하는 종양.
- [0087] 하나의 실시양태에서 피험자의 백혈구수, 적혈구수 또는 골수 세포수 중 1개 이상을 유지 또는 개선시킨다.
- [0088] 하나의 실시양태에서 종양은 크기가 감소하거나 또는 실질적으로 근절된다.

- [0089] 하나의 실시양태에서 락토페린을 투여하는 경우 가소화 단백질, 바람직하게는 카제인 또는 기타 단백질, 예컨대 기타 식용가능한 단백질을 포함하는 투여 형태로 투여한다.
- [0090] 하나의 실시양태에서 조성물은 식품, 음료, 식품 첨가물, 음료 첨가물, 식이 보조제, 영양제, 의료용 식품, 기능 식품, 약제 또는 약물이다. 바람직하게 조성물은 경구 또는 국소적 투여 용으로 제조된다. 바람직하게 조성물은 경구 또는 비경구 투여 용으로 제조된다. 하나의 실시양태에서 조성물은 유지방 및 유 단백질 분획물을 포함한다.
- [0091] 하나의 실시양태에서 조성물은 신선한 또는 재조합된 전유, 재조합 또는 신선한 탈지 우유, 재구성된 전유 또는 탈지 우유 분말, 탈지 우유 농축물, 탈지 우유 분말, 탈지 우유 보유물, 농축된 우유, 버터밀크, 초여과 우유 보유물, 우유 단백질 농축물(MPC), 우유 단백질 분리물(MPI), 칼슘 고갈 우유 단백질 농축물(MPC), 저지방 우유, 저지방 우유 단백질 농축물(MPC), 초유, 초유 분획물, 초유 단백질 농축물(CPC), 초유 유청, 초유로부터의 면역글로블린 분획물, 유청, 유청 단백질 분리물(WPI), 유청 단백질 농축물(WPC), 감성 유청, 락트산 유청, 미네랄산 유청 또는 재구성된 유청 분말로 이루어진 군으로부터 선택된 우유 조성물을 포함한다.
- [0092] 하나의 실시양태에서 유지방은 1개 이상의 부가적 치료제와 함께 투여하도록 제조된다. 하나의 실시양태에서 유지방은 1개 이상의 부가적인 인자와 함께 순차적으로 투여하기 위해 제조된다.
- [0093] 하나의 실시양태에서 본 발명의 조성물 또는 본 발명의 방법에 사용하는 조성물이 락토페린을 포함하는 경우 조성물은 락토페린 폴리펩티드 또는 이의 관능성 변이물질 또는 이의 단편물질의 전집단을 제공하며, 전집단에 약 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99.5 또는 100 % 이상의 이용가능한 금속 이온-결합 포켓이 금속 이온, 바람직하게는 철 이온에 결합되어 있다.
- [0094] 하나의 실시양태에서 본 발명의 조성물 또는 본 발명의 방법에 사용하는 조성물이 락토페린을 포함하는 경우에 조성물은 락토페린 폴리펩티드 또는 이의 관능성 변이물질 또는 이의 단편물질의 전집단을 제공하며, 전집단에 이용가능한 금속 이온-결합 포켓의 약 100 %는 금속 이온, 바람직하게는 철 이온에 결합되어 있으며, 부가적인 금속 이온은 비-특이적 결합 부위에서 락토페린 분자와 결합되어 있어서 락토페린은 화학량론 기본으로 약 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195 또는 200 % 이상의 금속 이온이 포화되어 있다.
- [0095] 하나의 실시양태에서 유지방 또는 유지방 유사물질은 하기를 포함한다:
- [0096] (a) 약 23 %(w/w) 및 약 32 %(w/w)의 팔미트산;
- [0097] (b) 약 15 %(w/w) 및 약 22 %(w/w)의 올레산;
- [0098] (c) 약 10 %(w/w) 및 약 15 %(w/w)의 스테아르산;
- [0099] (d) 약 9 %(w/w) 및 약 12 %(w/w)의 미리스트산;
- [0100] (e) 약 3 %(w/w) 및 약 5 %(w/w)의 부티르산;
- [0101] (f) 상기 a), b), c), d) 또는 e) 중 두개;
- [0102] (g) 상기 a), b), c), d) 또는 e) 중 세개;
- [0103] (h) 상기 a), b), c), d) 또는 e) 중 네개; 또는
- [0104] (i) 상기 a), b), c), d) 및 e) 각각.
- [0105] 여기서 개시하는 숫자의 범위(예를 들면 1 내지 10)에 대한 참조는 또한 상기 범위내의 모든 유리수(예를 들면, 1, 1.1, 2, 3, 3.9, 4, 5, 6, 6.5, 7, 8, 9 및 10)의 참조에 편입되며, 또한 상기 범위 내의 임의의 유리수 범위(예를 들면 2 내지 8, 1.5 내지 5.5 및 3.1 내지 4.7)의 참조에 편입되므로, 여기서 특별히 개시하는 모든 범위의 모든 부분 범위는 이에 의해서 특별히 개시하였다. 상기는 단지 특이적으로 언급하고자 하는 것의 예이며, 열거한 하한값과 상한값 사이의 수적인 값의 모든 가능한 결합을 유사한 방법으로 본 명세서에 특별하게 설명하기 위한 것이다.
- [0106] 본 명세서에서 특허 명세서의 참조, 다른 외부 서류 또는 다른 정보 공급물의 참조는 통상적으로 본 발명의 특성을 설명하기 위한 내용을 제공하는 것을 목적으로 한다. 다르게 특별히 언급하지 않는 한은 상기 외부 서류의 참조는 권한에서 상기 서류 또는 이러한 정보 공급물은 종래 문헌이며, 또는 당업에서의 일반적인 지식 부분

이다.

[0107] 본 발명은 또한 대체적으로 본 명세서에서 참조하거나 또는 저격한 일부, 요소 및 특성에서 지적하는 것을 상기 일부, 요소 또는 특성 중 2개 이상의 결합 또는 각각을 개별적으로 또는 결합하여 언급할 수 있으며, 특수한 정수는 본 발명과 관련된 당업에서의 공지된 균등물을 가지는 것으로 언급하였으며, 상기 공지된 균등물은 개별적으로 밝히는 것과 같이 여기에 혼입되는 것으로 간주한다.

[0108]

실시예

[0375] 본 발명의 다양한 측면은 하기 실시예를 참조해서 이에 제한하지 않는 방법으로 지금부터 설명할 것이다.

[0376] 마우스 및 시약

[0377] 6주 내지 9주의 암컷 C57BL/6 및 Balb/c 마우스(뉴질랜드, University of Auckland)가 사용되며, 각각의 식이 그룹(diet group)은 달리 지시하지 않는 한 5개 또는 6개의 마우스를 포함한다. 마우스는 제어된 습도, 온도 및 12h의 낮:밤 사이클(12h light:dark cycle)을 갖춘 공조실(air-conditioned room)에 둔다. 마우스는 C57BL/6 기원의 EL-4 T 세포 가슴샘림프종(cell thymic lymphoma) 및 BALB/c (H-2b) 기원의 4T1 유방암 세포주는 American Type Culture Collection (Rockville, MD, USA)에서 구매하였다. EL-4 세포는 37 °C에서 DMEM 배지(Gibco BRL, Grand Island, NY, USA)에서 배양하고, 4T1 세포는 37 °C에서 RPMI 1640 배지(Gibco BRL, Grand Island, NY, USA)에서 단층 배양(monolayer cultures)으로 유지한다. 배지에 10% 태아 송아지 혈청(foetal calf serum), 50 U/ml 페니실린/스트렙토마이신, 2 mM L-글루타민 및 1 mM 피루베이트를 보충한다. 파클리탁셀(Paclitaxel)은 미국 워싱턴의 Bristol-Meyers Squibb로부터 얻는다. 모든 실험은 오클랜드 대학의 동물 윤리 위원회로부터 승인된 프로토콜하에서 실시된다.

[0378] 유지방 제조

[0379] 콘주게이트된 리놀레산 및 바세닉산에 풍부한 유지방이 Harfoot 등의 방법에 따라 목초를 먹인 소(cow)에게 보충적으로 유리 지방산을 먹여서 제조할 수 있다⁽⁵⁸⁾. 일반적인 무수 지방산이 뉴질랜드의 Fonterra Co-operative Group Limited로부터 얻어진다. 유지방의 조성물 및 식이 요법에 사용되는 농축 유지방을 표 6a 및 표 6b에 요약하였다. 표 6a 및 표 6b에서의 데이터는 당분야에 공지되어 있는 FAMES, 확장된 FAMES, CLA 및 유지방 분석을 사용하여 얻어진다.

표 6a

유지방식의 함량			
CLA 성분	정상 (% w/w)	농축 (% w/w)	증가율
CLA (c-9, t-11)	1.17	5.04	3.3
CLA (t-10, c-12)	-	-	-
CLA (소량의 c18:2 이성질체)	0.55	1.30	1.4
TOTAL CLA (모든 형태)	1.72	6.34	2.7
c-9, t-11 CLA 대 총 CLAs의 비율	68.0%	79.5%	

[0380]

표 6b

유지방식의 함량			
지방산 성분	정상 (% w/w)	농축 (% w/w)	감소율 (%)
c4:0 (부티르산)	3.2	3.2	
c6:0 (카프로산)	2.3	1.7	26%
c8:0 (카프릴산)	1.3	1	23%
c10:0 (카프르산)	2.8	2.2	21%
c10:1 (2-데세노에이트)	0.3	0.2	33%
c12:0 (라우르산)	3.2	2.5	22%
c12:1 (11-도데세노산)	0.2	0.1	50%
c13:0 br (트리데카노산 br)	0.1	0	100%
c13:0 (트리데카노산)	0.1	0.1	
c14:0 br (미리스틴산 br)	0.2	0.1	50%
c14:0 (미리스틴산)	10.9	9.1	17%
c14:1 (미리스톨레산)	0.9	0.8	11%
c15:0 이소 br	0.4	0.3	25%
c15:0 ante-이소 br	0.6	0.6	
c15:0 (펜타데카노산)	1.3	1.2	8%
c16:0 br	0.2	0.2	
c16:0 (팔미트산)	30.6	19.7	36%
c16:1 (팔미톨레산)	1.8	3	
c17:0 이소 br	0.6	0.6	
c17:0 ante-이소 br	0.4	0.5	
c17:0 (마르가르산)	0.8	0.5	38%
c17:1	0.3	0.3	
c18:0 (스테아르산)	10.5	4.6	56%
c18:1 n-9 (올레산)	16.6	11.9	28%
c18:1 n-7 (바렌산)	4.7	22.9	
c18:2 n-6 (리놀레산)	1.4	2.1	
c18:3 n-3	0.8	0.4	50%
c18:2 (CLA)	1.2	5.3	
c18:4 + CLA 이성질체	0	0	
c20:0 (아라키드산)	0.2	0.1	50%
c20:1 n-11	0.1	0.1	
c20:1 n-9 (에이코세노산)	0	0.1	
c20:2 n-6	0	0	
c20:3 n-3 (에이코사트리엔노산)	0.1	0	100%
c20:4 n-6 (아라카돈산)	0.1	0	100%
c20:3 n-3	0	0.1	
c20:4 n-3 (에이코사테트라엔노산)	0.1	0.2	
c20:5 n-3 (에이코사펜타엔노산, EPA)	0.1	0.2	
c22:0 (베렌산)	0.1	0.1	
c22:1 n-13, n-11 (도코세노산)	0	0.1	
c22:2 n-9	0	0	
c22:4 n-6	0	0	
c22:5 n-3 (도코사펜타엔노산)	0.1	0	100%
c24:0 (리그노세르산)	0	0	
c22:6 n-3 (DHA)	0	0	
c24:1	0	0	

[0381]

[0382]

지방산은 FAME 분석에 의해서 측정된다. 증가율(fold increase)은 유지방에 대한 농축 유지방에서 지방 수준의 증가를 나타낸다. c18:1 n-7은 c18:1 트랜스 지방산 함량의 평가를 제공한다.

[0383]

락토페린 제조

[0384]

소(bovine) 락토페린은 Norris 등의 방법(Norris, G E et al., 1989)을 사용하여 탈지유(Fonterra Co-Operative Group Limited, New Zealand)로부터 제조된다. SP 빅 비즈 이온 교환기(SP Big Beads ion exchanger)에 탈지유를 적하하고 물로 세척한다. 컬럼은 0-0.5 M NaCl 용액으로 용출시키고 용출액을 버린다. 그후 컬럼을 0.5-1.0 M NaCl로 용출시키고 용출액을 회수한다. 회수된 용출액을 30 kDa 막을 사용하는 UF/DF로 처리하여 염 및 저분자량 성분을 감소시킨다. 보유물(retentate)이 소 락토페린 90-93 %가 될 때까지 여과(filtration)를 계속한다. 수득된 락토페린 추출물은 대략 15%의 정상 수준의 철-포화율(iron-saturation)을 가지며, 이는 하기 실시예에서는 bLf로서 나타낸다. 철이 포화된 소 락토페린 추출물(100% 포화)이 Law 등의 방법(Law and Reiter, 1977)에 의해서 정상 bLf로부터 제조되며, 이는 하기 실시예에서 Lf+로 나타낸다.

[0385]

식이(Diets)

[0386]

실험식(experimental diets)은 기제로서 분말형 AIN93G 제제를 사용하는 뉴질랜드 팔머스턴 노스의 Crop & Food Research에 의해서 제조된다. AIN93G식에서카제인은 단백질 공급원으로 사용되고 대두유는 지질 공급원으로 사용되며 락토페린은 포함하지 않는다. 상기 카제인은 실험식에서 상기에 기술된 바와 같이 제조된 정상 bLf 또는 Lf+로 대체되어, 식이의 전체 단백질 함량은 변경되지 않는다. 상기 식은 식 2.4 Kg 당 28 g의 철이 포화된 bLf 또는 28 g의 정상 bLf 추출물을 포함한다. 대두유는 실험식에서 상기에 기술된 바와 같이 제조된 농축 유지방 또는 일반적 무수 유지방으로 대체되어 식이의 전체 지방 함량은 변경되지 않는다. 새로운 식이

격주로 제공되며, 마우스는 연구 기간 동안 음식과 물에 자유롭게 접근할 수 있다. Phospholipid Concentrate Phospholac 600™(PC600™) 인지질 분획물은 뉴질랜드의 Fonterra Co-operative Group Limited로부터 공급된다.

[0387] 실험 종양 모델 및 치료요법

[0388] 마우스의 왼쪽 옆구리에 2×10^5 EL-4 또는 2×10^4 4T1 세포를 피하 주사함으로써 종양을 생성시키고, 2개의 수직 직경을 측정함으로써 종양의 성장을 측정한다. 종양의 직경이 1.0 cm 이상에 도달하면 Animal Ethics Approval(University of Auckland)에 따라 동물을 안락사시킨다. 모든 실험은 달리 지시하지 않는 한 치료 그룹당 5개 또는 6개의 마우스를 포함한다. 크렘포르(Cremophor® EL 및 탈수 알콜 5 ml에 용해된 30 mg)을 0.9% NaCl에 희석시키고, 30 mg/Kg에서 복강내로 투여한다. 유방암의 4T1 전이 모델의 경우에 마우스는 실험 마지막에 안락사시킨 이후에, 폐, 간 및 비장을 포함하는 기관을 제거하고 칭량한다. 폐의 표면 전이의 수가 카운트된다. 간을 4%의 파라포름알데히드로 고정시키고, 전체 간을 커버하기위해서 5개의 상이한 수준으로 가로 10 μ m 섹션을 만든다. 상기 섹션을 헤마톡실린 및 에오신으로 염색한다. 6개 이상의 암세포를 포함하는 전이 덩어리(Metastatic nodules)를 카운트하고 전이 수를 나타내기위해서 평균을 구한다. 부검시에 심장 천자(cardiac puncture)에 의해서 혈액을 수집하고 혈구 세포(blood cells)를 혈구계(hemocytometer)로 카운트한다.

[0389] 항암 세포독성 T-림프구(CTLs)의 생성 측정

[0390] 종양 세포를 특정 일에 주사한 후에 비장세포(splenocytes)를 수집한다. 이를 96-웰 둥근바닥 플레이트에서 그레이드 E:T 비율(graded E:T ratios)로 EL-4 표적 세포와 37 °C에서 배양하였다. 4시간 배양한 후에, 50 μ l의 상층액(supernatant)을 수집하고, Cyto Tox 96 어세이 키트(Promega, Madison, WI, USA)를 사용하여 분해(lysis)를 측정한다. 비특이적 표적 및 이펙터 세포 분해(non-specific target and effector cell lysis)에 대한 대조 실험을 포함한다. 배경 차분(background subtraction) 이후에, 세포 분해율을 하기 식을 사용하여 계산한다: $100 \times (\text{실험 자연 이펙터} - \text{자연 표적} / \text{최대 표적} - \text{자연 표적})$.

[0391] 세포자멸사(apoptosis)의 측정

[0392] 종양을 절개하고 즉시 드라이 아이스에서 동결시키고 이후 종양내 세포자멸 세포의 계내(*in situ*) 검출을 위해서 -70 °C에서 보관한다. 6- μ m 두께의 동결 연속 절편(frozen serial sections)을 파라포름알데히드 용액(PBS에서 4%, pH 7.4)으로 고정시키고, 0.1% 트리톤 X-100 및 0.1% 시트르산나트륨을 포함하는 용액으로 삼투시킨다. 이들을 37 °C에서 60분동안 20 μ l TUNEL 시약(독일 베링거 만하임의 계내 세포자멸 검출 키트)과 배양시키고, 형광 현미경으로 조사한다. 인접 섹션을 헤마톡실린으로 대조염색(counter-stain)하여 10개의 임의로 선택된 필드에서 전체 세포수를 카운트하거나 또는 세포자멸사 세포의 수를 카운트한다(40배율). 세포고사지수(apototic index, AI)가 세포자멸사 세포의 수 $\times$ 100/유효세포의 전체수로 계산된다. 시험관내 세포자멸사 세포의 검출을 위해서, 세포자멸사 및 괴사성 종양 세포의 수는 annexin-V-fluos, TUNEL 및 트리판 블루(trypan blue)로 염색시킴으로써 측정된다. 소화관 세포자멸사(gut apoptosis)의 측정을 위해, 공장 섹션(jejunal sections)을 DeadEnd™ Fluorometric TUNEL 시스템(Promega, Madison, WI, USA)을 사용하여 TUNEL 방법에 의해서 염색한다. 10개의 임의로 선택된 크립트(crypt)에서 세포자멸사 세포가 계수되고, 크립트당 세포자멸체로서 데이터를 나타낸다.

[0393] 혈관분포 정도의 평가

[0394] 종양 혈관분포 정도(tumour vascularity)를 측정하기위해, 10- μ m 동결 종양 섹션을 아세톤으로 고정시키고 PBS로 행구고 2시간동안 2% BSA로 블로킹(blocking)하여 항-CD31 항체 MEC13.3 또는 항-CD105 mAb로 한밤동안 배양한다. 연이어 이들을 VECTASTAIN Universal 퀵 키트(Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA)를 사용하여 2차 항체로 30분동안 배양하고 시그마 FAST DAB (3,3'-디아미노벤지딘 테트라히드로클로라이드) 및 CoCl₂ 인핸서 정제(enhancer tablets)(Sigma)로 발현시키고 헤마톡실린으로 대조염색한다. 5개 또는 6개의 마구잡이로 선택된 임의 분야(0.155 mm²)에서 40배율로 염색된 혈관을 계수하고, 최고의 3개의 계수의 평균을 계산한다. 흐르도록 혈관 개방을 가시화하기위해서, DiO7(Molecular Probes, Eugene, OR)은 상술된 바와 같이(Ding et al, 2001) 조직을 수집하기 1분 전에 1.0 mg/Kg의 농도로 꼬리 혈관으로 주사한다. 동심원법(concentric circles method)이 또한 사용되어 혈관분포 정도를 평가한다.

[0395] 약액질의 분석

- [0396] 마우스를 실험 전 그리고 실험 후에 칭량한다. 마우스를 안락사시킨 이후에, 종양을 절개하고 칭량한다. 지방 조직(adipose tissue) 및 근육 소모(muscle wasting)의 정도를 측정하기위해서, 부고환 지방 조직 및 왼쪽 장딴지근(gastrocnemius muscle)을 절단하고 칭량한다. 사체 중량(carass weight)은 전신 중량과 종양 중량사이의 차이로 계산된다.
- [0397] **소화관 손상의 측정**
- [0398] 마우스로부터 유래된 공장(jejuni)는 4% 파라포름알데히드로 고정시키고, 파라핀에 넣고, 4 μ m로 분할하고, 상기 섹션을 헤마톡실린-에오신으로 염색한다. 각 표본에서, 20개의 웰 보존된 융모(villi)가 임의로 선택되며, 이들의 길이는 대물마이크로미터(objective micrometer)를 사용하는 현미경에 의해서 측정된다.
- [0399] 공장 γ -글루타밀 트란스펩티다제(jejunal γ -glutamyl transpeptidase, γ -GGT)의 활성은 상술된 바와 같이 (Ziotnik et al, 2005) 소화관 손상의 개별된 조치로서 기록된다. 공장의 세그먼트(대략 5 cm)를 절개하고 10 ml의 PBS로 플러시(flush)하고 2개의 2 cm² 세그먼트로 자르고 1.0 ml의 1.0% 트리톤 X-100, 0.15 M NaCl, 100 mM 트리스, pH 8.0 (트리스 완충액)에 넣는다. 0.3 ml의 100 mM 글리실-글리신, pH 8.0, 0.08 ml 트리스 완충액, 0.5 ml의 5 mM γ -글루타밀-p-니트로아닐라이드를 포함하는 용액의 20 마이크로리터를 최종 부피 0.9 ml에 첨가한다. 소화관 슬라이스를 37 °C 진탕된 수조에서 10분동안 배양하고, γ -GGT 활성을 405 nm에서 관독한다. 결과는 공장의 cm당 γ -GGT 활성의 유닛으로 표현하며, 1 유닛은 γ -GGT 활성으로 정의되며, 1시간내에 p-니트로아닐린의 1.0 몰을 방출한다.
- [0400] **통계 분석**
- [0401] 결과는 평균값 $\pm$ SEM 또는 $\pm$ 95% 신뢰구간으로 표현되며, 통계적 유의도(statistical significance)는 스튜던트 t 테스트(Student's t test)(실시에 1 내지 17) 또는 분산 또는 공분산(covariance)의 분석한 후 터키의 다중 비교절차(Tukey's multiple comparison procedure) 또는 1면 듀넛트 시험(1-sided Dunnett's test)(실시에 18 내지 21)을 사용하여 평가된다. P < 0.05의 값은 통계적 유의도를 나타내며, 반면에 P < 0.001는 매우 중요한 결과를 나타낸다.
- [0402] **실시예 1**
- [0403] 순도 90% 이상의 소 락토페린을 Fonterra Cooperative Group으로부터 공급받았다. 아포-Lf(apo-Lf)를 제조하기위해서, 밀리 Q 워터내 대략 80 mg/mL의 Lf 용액(pH ~5.7)에 6 M HCl을 조심스럽게 첨가함으로써 pH 2.08로 조절한다. 상기 용액을 실온에서 1시간동안 교반한 후 3.5 kDa의 명목 분자량 분획(nominal molecular weight cut-off)을 갖는 SpectraPor tubing(Spectrum Companies, Ranco Dominguez, CA, USA)을 사용하여 4 °C에서 한밤동안 0.1 M 시트르산 10부피에 대해서 투석한다. 투석액을 24시간에 걸쳐서 두번 교환해주고, Lf 용액을 백색 반결정 분말로 동결건조시킨다. 50% Fe-포화 락토페린을 제조하기위해서, 0.1 M 중탄산나트륨내 락토페린 8% 용액에 6 M NaOH를 조심스럽게 첨가함으로써 pH 8.2로 조절한다. 50 mM 제2철 니트릴로-트리아세테이트(ferric nitrilo-triacetate, Fe-NTA)의 적당한 부피(Bates et al., 1967; Brock & Arzabe, 1976)를 첨가하여 락토페린 ~ 50% 포화도를 제공한다(Lf 및 이의 고유 Fe 포화도의 순도가 ~ 12%임). 실온에서 1시간동안 교반한 후에, 상기 용액(pH 8.01)을 상기에서와 같이 SpectraPor tubing을 사용하여 4 °C에서 한밤동안 밀리-Q 워터 10 부피에 대해서 투석한다. 상기 투석액을 24시간에 걸쳐서 두번 교환해주고, Lf 용액은 담홍색(salmon red) 반결정 분말로 동결건조시킨다. ~100% Fe 포화도의 락토페린을 본질적으로 50% Fe-포화 물질에 대해서 제조되며, 단 Fe-NTA의 양은 조절되고 이후에 Fe-NTA를 첨가하고 6M NaOH를 조심스럽게 첨가함으로써 pH를 8.0으로 재조절한다. 최종 생성물은 진홍색(deep salmon red) 반결정 분말이다. 최종 생성물의 Fe 포화도는 분광 적정(spectrophotometric titration)에 의해서 확인되었다(Bates et al., 1967; Brock & Arzabe, 1976). 아포-락토페린(apo-lactoferrin)은 대략 5% Fe-포화되었다.
- [0404] **실시예 2**
- [0405] 본 실시예는 유지방이 EL-4 종양의 성장을 억제하는 반면에 콘주게이트 리놀레산 및 마세닉산에 풍부한 유지방은 유효하지 않다는 것을 보여준다.
- [0406] 6마리의 C57BL/6 마우스의 그룹에는 기본 AIN-93 식이를 공급하거나 또는 식이 중 지방 성분 ~71%를 나타내도록 2.4 Kg의 식이당 유지방 또는 강화 유지방 120 g으로 대체시킨 동일한 식이를 공급한다. 상기 식이를 제공하고 2주 후에 2 x 10⁵ EL-4 종양 세포를 피하로 마우스에 주입한다. 2개의 수직 직경(센티미터)에 의해서 측정된 종양 크기는 91일까지 모니터하거나, 또는 종양이 직경 1 cm에 도달할 때까지 모니터 한다. 각 포인트는 각 6

마리의 마우스 또는 지정된 마우스의 수에 대해서 95% 신뢰 구간으로 평균 종양 크기를 나타낸다.

[0407] 강화 유지방은 대조식과 비교하여 49일에 종양이 25%까지 성장하는 것을 보여주지만, 결과는 현저하지 않다(도 1). 극명한 대조로, 유지방은 마우스 6마리중 2마리에서 종양의 발생을 완전히 억제한다. 유지방식을 제공한 다른 4마리의 마우스에서 종양 성장은 강화 유지방을 제공한 것과 유사하다.

[0408] 실시예 3

[0409] 본 실시예는 유지방이 면역요법과 상승작용으로 EL-4 종양을 제거하는 것을 보여준다.

[0410] 상기 실시예 2에 기술된 바와 같이, 각각 강화 유지방식, 유지방식 또는 대조식이 제공된 5마리의 마우스 그룹들에서 종양을 발생시킨다. 3개의 수직 직경들(센티미터)에 의해서 측정된 종양 크기가 모니터되었다. 상기 종양이 직경 ~0.4 cm에 도달될 때 60 μ g의 B7-1 발현 플라스미드를 함유하는 DNA-리포좀 착체를 종양에 주입한다. 플라스미드를 투여하는 시간은 화살표로 나타낸다. 2개의 수직 직경(센티미터)에 의해서 측정된 종양 크기는 91일까지 모니터하거나, 또는 종양이 직경 1 cm에 도달될 때까지 모니터 한다. 상기 특정 크기의 종양은 B7-1 면역원 요법(immunogene therapy)에 부분적으로 영향을 받으며, 이는 4마리의 대조군 마우스의 종양이 1주 동안 천천히 퇴화되다가 그후 재성장한다는 사실에 의해서 입증되었다. 그러나, 마우스 1마리의 종양은 B7-1 플라스미드를 주입한 후에 4주에 걸쳐서 퇴화되고 모두 사라졌다(도 2).

[0411] 유지방을 제공한 마우스의 종양은 대조군의 마우스보다 더 빠르게 퇴화되며, B7-1 플라스미드 주입후 사라지는 데 단 2주 걸린다. 대조적으로, 강화 유지방을 제공한 마우스의 종양은 B7-1 면역원 요법에 저항하며, 대조식을 제공한 마우스의 종양과 유사한 속도로 성장한다. 그러므로, 유지방은 암 면역요법을 증대시키는 반면, 강화 유지방은 효과가 떨어진다.

[0412] 실시예 4

[0413] 본 실시예는 유지방이 철-포화 락토페린과 상승작용으로 종양 발생(tumorigenesis)을 완전히 억제하는 것을 보여준다.

[0414] 본 출원인의 이전 연구에서 철-포화 Lf(Lf+)는 종양 성장을 억제할 수 있다는 것을 개시하였다(WO/2006/054908). 본 실험은 유지방과 Lf+의 공동-투여의 영향을 조사하였다. 본 발명자들은 림프종(lymphoma) 치료시에 유지방이 Lf+와 상승작용을 하는지를 측정하고자 하였다.

[0415] 6마리의 마우스의 그룹들에게 AIN-93G 대조식, 식 2.4 Kg당 28 g의 Lf+ 또는 120 g의 유지방(AMF)을 각각 함유하는 식단, 또는 Lf와 유지방의 배합물을 포함하는 식단을 제공하였다. 0일은 마우스가 상기 식단들을 받은 날을 나타낸다. 식사 2주 후에, 2×10^5 EL-4 세포를 마우스의 옆구리살에 주입한다. 2개의 수직 직경(센티미터)에 의해서 측정된 종양 크기는 56일까지 모니터한다. 각 시점은 각 6마리의 마우스, 또는 지적된 마우스의 수에 대해서 95% 신뢰 구간에서 평균 종양 크기를 나타낸다.

[0416] 종양의 출현(appearance)은 Lf+를 제공한 마우스 6마리중 5마리에서 1주까지는 지연되고, 유지방식을 제공한 마우스 6마리 모두에서 1주까지 지연되었다(도 3A). Lf+를 제공한 6마리 마우스 중 한마리는 종양 공격(tumour challenge)을 완전히 거부하였다. 대조적으로, Lf+ 및 유지방의 배합물을 제공하는 모두 6마리의 마우스는 종양 공격을 완전히 거부하였으며, 이는 유지방이 Lf+와 상승작용하여 림프종을 제거하는 것을 나타낸다.

[0417] 실시예 5

[0418] 본 실시예는 유지방이 Lf+의 역량을 증대시켜 항-종양성 백혈구 세포독성(anti-tumour leukocyte cytotoxicity) 및 종양 사멸(tumour apoptosis)을 개선시키는 것을 나타낸다.

[0419] 56일에 실시예 4에서 기술된 마우스로부터 비장세포를 수득하고, EL-4 표적 세포에 대한 이들의 세포용해 활성(cytolytic activity)을 시험한다. Lf+ 또는 유지방을 각각 제공한 마우스로부터 수득된 비장세포의 항-종양성 세포용해 활성은 대조식을 제공한 마우스와 비교하여 각각 66% ($P < 0.001$) 및 61% ($P < 0.01$)까지 크게 증가하였다(도 3B). 항-종양성 세포용해 활성은 대조식과 비교하여 Lf+ 및 유지방의 배합물로 제공된 마우스에 대해서 86% ($P < 0.001$)까지 추가로 증가하였다.

[0420] 56일에 실시예 4에 기술된 마우스로부터 수득된 종양으로부터 섹션(sections)이 제조되고, 말단 테옥시뉴클레오티딜트랜스퍼라제-매개 테옥시우리딘 트리포스페이트-디고옥시게닌 니크 엔드 라벨링(terminal deoxynucleotidyltransferase-mediated deoxyuridine triphosphate-digoxigenin nick end labeling, TUNEL) 방법 및 또한 애넥신-V-플루오스(annexin-V-fluos) 방법에 의해서 염색한다. 종양 섹션의 TUNEL 또는 애넥신-

V-플루오스 염색에 의해서 검출된 세포자멸 세포의 수는 x40 배율로 관찰된 10개의 임의로 선택된 필드에 대해서 측정된다. 세포자멸지수(apoptotic index, A/I)는 세포자멸(TUNEL 또는 애넥신-V-플루오스 포지티브) 세포의 수 x (100/전체 세포수)이다. 유지방 및 Lf+는 대조식과 비교하여 종양 세포자멸을 각각 73% 및 68%까지 자극한다(도 3C). 이의 증가된 항-종양성 세포용해 활성에 따라, 유지방 및 Lf+의 배합물은 종양 세포자멸을 84%까지 증가시킨다.

[0421] 실시예 6

[0422] 본 실시예는 유지방이 종양의 신생 혈관 형성을 억제하는 것을 보여준다.

[0423] 종양 혈류 및 맥관조직(vascularity)에 있어서 Lf와 유지방의 효과가 실시예 5에 기술된 바와 같이 제조된 종양 섹션을 항-CD31 및 항-CD105 mAbs로 염색하고, DiO7의 관류에 의해서 분석된다. 종양 섹션은 56일에 실시예 4에 기술된 바와 같이 처리된 마우스로부터 제조되고, 혈관을 관찰하기위해서 항-CD31 mAb MEC13.3 또는 항-CD105 mAb로 염색하거나, 또는 선택적으로 DiO7을 혈류를 관찰하기위해서 조직을 수집하기 1분전에 꼬리 혈관으로 주입한다. 염색된 혈관을 6개의 무계획적으로 선택된 임의 필드에서 6마리의 마우스로부터 계수한다.

[0424] 도 3D에 도시한 바와 같이, 대조식에서 유지된 마우스와 비교하여 Lf+, 유지방, 또는 유지방 및 Lf+의 배합물을 제공한 마우스의 종양에서 CD31+ 혈관의 수는 각각 84% ($P < 0.001$), 72% ($P < 0.001$), 및 84% ($P < 0.01$)로 상당히 감소하며, 혈류는 84% ($P < 0.001$), 68% ($P < 0.001$) 및 84% ($P < 0.001$)까지 감소되었다. 유사한 결과는 종양 맥관조직의 다른 마커로서 CD105+ 혈관에 대한 염색 및 DiO7의 관류로부터 수득된다. 상기 결과는 유지방이 혈관신생을 저해하는 것을 나타낸다.

[0425] 실시예 7

[0426] 본 실시예는 알파 지질 분말(Phospholac 600™), 스핑고마이엘린(sphingomyelin) 및 9,11 CLA 이성질체는 종양의 성장을 저해하지만, 종양을 제거하기위해서 Lf와 효과적으로 상승작용을 하지 않는다는 것을 나타낸다.

[0427] 5마리의 C57BL/6 마우스의 그룹에 기본 AIN-93 식단(도 4A), 또는 식단 2.4 Kg당 28 g의 Lf+(도 4B), 120 g의 phospholac 600™ (도 4C), 또는 1.2 g의 스핑고마이엘린(도 4D)으로 대체된 동일한 식단(각각 식단의 지방 성분의 ~71% 및 0.71%를 나타냄)을 제공한다. 마우스에게 식단을 제공하고 2주후에 EL-4 종양 세포로 피하를 통해 공격한다. 종양 크기는 2개의 수직 직경(센티미터)으로 다시 측정된다.

[0428] Lf+는 종양 성장을 지연시키고, 2개 종양의 성장은 2주까지 지연되며, 1개 종양의 성장은 적어도 1주까지 지연된다. 대조식을 제공받은 마우스와 비교하여, Phospholac 600™은 1마리의 마우스에서 종양 형성이 완전히 저해되며, 또다른 마우스에서 24일까지 종양 형성을 지연시키는 반면, 나머지 3마리의 마우스에서 종양 성장에 명확한 영향을 주지 않는다. 스핑고마이엘린은 2마리의 마우스에서 ~1주까지 및 다른 2마리의 마우스에서 ~2주까지 종양 성장이 지연된다는 점에서 Lf+만큼 효과적이며, 반면에 나머지 마우스의 종양 성장에 있어서는 평가할 수 있는 효과를 주지는 않는다. 추가의 5마리 마우스의 그룹에게는 Lf+(2.4 Kg의 식단당 28 g) 및 Phospholac 600™ (2.4 Kg의 식단당 120 g)의 배합물(도 4E) 또는 스핑고마이엘린(2.4 Kg의 식단당 1.2 g)(도 4F)을 제공한다. phospholac 600™과의 배합물내 Lf+는 종양을 완전히 제거하도록 유도하지 않는다(Lf+ 및 유지방의 배합물로 본원에 개시된 바와 같음). 오히려, 전체 효과는 phospholac 600™ 단독요법(monotherapy)으로 관찰된 것과 유사하다.

[0429] 스핑고마이엘린과 Lf+의 배합물은 각 단독 요법보다 효과가 떨어지며, 종양 성장은 대조식 마우스와 유사하며, 2개의 바이오액티브(bioactives)는 서로 반대로 작용하는 것을 나타낸다(도 4F).

[0430] 식단 중 지방 성분의 3%를 나타내는 식단 2.4 Kg 당 5g의 마우스 식단에서 c-9, t-11 CLA 이성질체의 함유물은 4T1 종양의 성장을 약하게 저해시키며, Lf와 상승작용을 나타내지 않는다.

[0431] 실시예 8

[0432] 본 실시예는 유지방이 단독으로 또는 화학요법과 조합하여 4T1 유방암 종양의 성장을 지연시키는 것을 나타낸다.

[0433] 6 Balb/c 마우스의 그룹에 기본 AIN-93 식단, 또는 식단 중 지방 성분의 ~71%를 나타내는 5% 유지방으로 대체시킨 동일한 식단을 제공한다. 마우스에게 식단을 제공하고 2주 후에 2×10^4 4T1 종양 세포를 피하로 공격하였다. 마우스는 종양 성장에 대해서 모니터하고, 종양 크기는 3일마다 측정하였다.

[0434] 대조식을 제공받은 마우스와 비교하여 유지방식을 제공받은 마우스에서 3일 후에 명백하게 종양이 있었고 35일

에 공격한 후에, 마우스가 안락사되는 경우 형성된 종양은 평균 21% 더 작았다($P < 0.05$)(도 5). 화학요법 약물 파클리탁셀을 종양의 직경이 ~0.5 cm에 도달되면 복강내로 주입하여(30 mg/kg 체중), 대조식을 제공받은 종양의 크기에서 31%($P < 0.05$) 감소(35일)되었다. 35일에, 대조식을 제공받은 파클리탁셀-처리된 마우스 및 대조식을 제공받은 비처리된 마우스와 비교하여, 파클리탁셀 처리로 유지방을 제공받은 마우스의 종양 크기를 각각 35% ($P < 0.05$) 및 49% ($P < 0.01$)까지 감소시켰다.

[0435] 실시예 9

[0436] 본 실시예는 폐와 간에 전이되는 4T1 유방암 종양의 성장을 유지방이 억제하는 것을 보여준다.

[0437] **폐 전이의 억제:** 4T1 유방암 세포주는 매우 전이가 높아서 폐와 간에 전이된다. 실시예 8의 마우스 폐(35일)에서 종양과 미세전이(micrometastases)가 관찰되었다. 대조식이 제공된 처리되지 않은 마우스, 대조식이 제공된 파클리탁셀-처리된 마우스, 유지방이 제공된 처리되지 않은 마우스 및 유지방이 제공된 파클리탁셀-처리된 마우스의 폐 표면에서 종양의 평균 수는 각각 32, 18, 22 및 10이다(도 6).

[0438] 대조식이 제공된 처리되지 않은 마우스와 비교하여, 파클리탁셀 요법 및 다량의 유지방의 복용으로 폐 표면에서 종양의 수가 각각 44% 및 31%까지 상당히 감소된다($P < 0.01$).

[0439] 파클리탁셀 요법과 조합된 유지방 식이는 대조식이 제공된 처리되지 않은 마우스 및 대조식이 제공된 파클리탁셀 처리된 마우스와 비교하여 종양의 수가 각각 63% ($P < 0.001$) 및 44% ($P < 0.05$)로 크게 감소되었다. 따라서, 대조식이 제공된 파클리탁셀-처리된 마우스, 유지방이 제공된 처리되지 않은 마우스, 및 유지방이 제공된 파클리탁셀-처리된 마우스의 폐 중량은 대조식이 제공된 처리되지 않은 마우스와 비교하여 30%, 22% 및 40%까지 상당히 감소되었다(표 7).

표 7

체중, 종양, 기관 및 조직 중량 및 혈구수¹

	종양을 지닌 마우스				종양을 갖지 않은 마우스	
	대조식 (n=6)	대조식+ 파클리탁셀(n=6)	유지방식 (n=6)	유지방식+ 파클리탁셀(n=6)	대조식 (n=6)	유지방식 (n=6)
체중 (g)	18.7 ± 2.7 ²	17.7 ± 1.5	20.3 ± 2.0	20.8 ± 1.4 ⁵	20.8 ± 0.98	21.3 ± 2.3
카카스 체중 (g)	18.4 ± 2.8 ²	17.6 ± 1.4	20.1 ± 1.9 ⁴	20.7 ± 1.3 ⁵	--	--
종양 (mg)	263.5 ± 31.7	103.4 ± 24.1 ³	143 ± 20.9 ⁴	48.3 ± 11.2 ⁴	--	--
비장 (mg)	79.2 ± 9.4	72.35 ± 8.2 ³	82.34 ± 7.5 ⁴	80.28 ± 4.9 ⁵	82.6 ± 12.7	82.3 ± 9.5
간 (mg)	1268.9 ± 86.3	1210.1 ± 72.4	1230.8 ± 63.7	1201.3 ± 82.9 ⁵	1204.5 ± 102.5	1221.2 ± 94.3
폐 (mg)	389.8 ± 24.6 ²	274.5 ± 30.6 ³	302.1 ± 9.7 ⁴	234.5 ± 25.6 ⁵	183.4 ± 13.9	190.1 ± 17.8
비복근 (mg)	96.3 ± 8.6 ²	101.2 ± 9.3	128.5 ± 7.9 ⁴	129.2 ± 10.8 ⁵	158.7 ± 25.2	171.7 ± 12.5 ²
부고환 지방 조직 (mg)	26.7 ± 8.2 ²	24.3 ± 6.7	55.3 ± 7.1 ⁴	58.6 ± 6.0 ⁵	154.4 ± 23.9	172.5 ± 31.8 ²
WBC (x 10 ³ /μl)	4.21 ± 0.57 ²	2.37 ± 0.39 ³	5.34 ± 0.76 ⁴	5.48 ± 0.56 ⁵	5.89 ± 0.74	6.12 ± 0.93
RBC (x 10 ⁶ /μl)	6.35 ± 0.62 ²	3.21 ± 0.74 ³	8.65 ± 0.93 ⁴	7.36 ± 0.87 ⁵	8.23 ± 0.58	8.67 ± 0.62

[0440] ¹데이터는 평균 ± SEM을 나타낸다. 통계적 유의도(statistical significance)는 스튜던트 t 테스트에 의해서 결정한다. ² $P < 0.05$ 는 대조식이 제공된 종양을 포함하지 않는 마우스의 체중과 비교하며; ^{3,4} $P < 0.05$ 는 대조식이 제공된 종양을 포함하는 마우스와 비교하고; ⁵ $P < 0.05$ 는 대조식이 제공되고 파클리탁셀로 처리된 종양을 포함하는 마우스와 비교한다.

[0442] **간 전이의 억제:** 유사하게, 상기 마우스의 간에서 종양과 미세전이가 관찰되었다. 간을 제거하고, 절개하여, 헤마톡실린/에오신으로 염색하고, 간 내부의 전이 덩어리의 수를 계수한다. 대조식이 제공된 처리되지 않은 마우스, 대조식이 제공된 파클리탁셀-처리된 마우스, 유지방이 제공된 처리되지 않은 마우스 및 유지방이 제공된

파클리탁셀-처리된 마우스에 있어서 전이의 평균 수는 각각 108, 59, 74 및 36이다(도 7). 그러므로, 대조식이 제공된 처리되지 않은 마우스와 비교하여, 파클리탁셀 요법 및 다량의 유지방의 복용으로 간에서 종양의 수가 각각 45% 및 32%까지 상당히 감소된다($P < 0.01$).

[0443] 파클리탁셀 요법과 조합된 유지방 식이는 대조식이 제공된 처리되지 않은 마우스 및 대조식이 제공된 파클리탁셀 처리된 마우스와 비교하여 종양의 수가 각각 67% ($P < 0.001$) 및 39% ($P < 0.05$)로 크게 감소되었다.

[0444] 실시예 10

[0445] 본 실시예는 유지방이 종양의 신생 혈관 형성을 저해하는 것을 보여준다.

[0446] 대조식이 제공된 처리되지 않은 마우스, 대조식이 제공된 파클리탁셀-처리된 마우스, 유지방이 제공된 처리되지 않은 마우스, 및 유지방이 제공된 파클리탁셀-처리된 마우스의 상기 4T1 원발성 종양(primary tumours)(실시예 8; 35일)을 절개하고, 분할하며, 혈관내피세포(vascular endothelial cells)를 확인하기위해서 항-CD31 항체로 염색하여 종양 혈관신생을 측정하였다. 항-CD31 mAb로 염색된 혈관을 블라인드로 선택된 임의 필드에서 계수하여 평균 혈관 밀도(8A) 또는 어레이 포인트(array point)로부터 가장 가까운 CD31 mAb-라벨된 혈관의 중간 거리(8B)를 기록한다.

[0447] 대조식이 제공된 처리되지 않은 마우스와 비교하여, 파클리탁셀 요법 및 다량의 유지방의 복용으로 미세혈관 밀도가 각각 37% 및 31%까지 상당히 감소된다($P < 0.05$)(도 8A). 따라서, 이는 가장 가까운 CD31+ 혈관까지의 중간 거리는 각각 71% 및 59%까지 크게 증가된다($P < 0.05$)(도 8B).

[0448] 파클리탁셀 요법과 조합된 유지방 식이는 대조식이 제공된 처리되지 않은 마우스 및 대조식이 제공된 파클리탁셀 처리된 마우스와 비교하여 미세혈관 밀도가 각각 52% ($P < 0.001$) 및 22% ($P < 0.05$)까지 크게 감소되었다. 따라서, 파클리탁셀 요법과 조합된 유지방 식이는 대조식이 제공된 처리되지 않은 마우스 및 대조식이 제공된 파클리탁셀 처리된 마우스와 비교하여 가장 가까운 CD31+ 혈관으로의 중간 거리는 125% ($P < 0.001$) 및 31% ($P < 0.05$)로 크게 증가되었다.

[0449] 실시예 11

[0450] 악액질(cachexia)은 육체적으로 환자가 약해졌을 때 암 환자에 있어서 심각한 문제이며, 치료에 대한 이들의 반응성을 감소시킨다. 영양공급을 향상시키는 것은 악액질을 치료하기위한 한가지 방법이다. 본 실험은 유지방의 공급이 출원인의 유방암 모델에서 마우스의 악액질 상태를 향상시킬 수 있는지 여부 및 하이퍼콜레스테롤 포화 지방산(예컨대, 스테아레이트)을 포함하는 다량의 유지방의 장기간 복용이 간과 비장과 같이 특정 기관에 유해한지 여부를 조사하였다. 본 실시예는 다량의 유지방식이 명백하게 기관 독성을 나타내지 않으며, 진행되는 암에 의해서 원인이 되는 악액질을 약하게 하는 것을 보여준다.

[0451] 기관 독성의 결여. 다량의 유지방이 제공된 마우스의 비장과 간은 명백하게 독성의 증후는 보이지 않았으며, 대조식이 제공된 마우스와 비교하여 이들 체중에 있어서도 상당한 변화는 없었다($P > 0.05$)(표 7).

[0452] 악액질의 감소. 전이 유방암의 4T1 모델은 이상적인 암 악액질 모델을 나타낸다. 동일한 대조식을 제공한 종양을 포함하지 않는 마우스와 비교하여 비복근(gastrocnemius muscle) 및 부고환 지방 조직(epididymal adipose tissues)의 중량이 각각 40%($P < 0.05$) 및 83%($P < 0.01$) 손실되는 것을 반영하여, 종양의 발생으로 사체 체중이 12%로 상당히 감소된다($P < 0.05$)(표 7). 대조식이 제공된 처리되지 않은 마우스 및 대조식이 제공된 파클리탁셀-처리된 마우스 각각과 비교하여 유지방이 공급된 처리되지 않은 마우스 및 유지방이 제공된 파클리탁셀이 처리된 마우스에서 상당히 증가된($P < 0.05$) 사체 중량(9.2% 및 17.6%), 및 비복근의 중량(33.4% 및 27.6%) 및 부고환 지방 조직의 중량(107% 및 141%)에 의해서 입증된 바와 같이, 유지방식이 제공된 마우스에서 악액질이 감소된 것을 관찰하였다. 비복근 및 부고환 지방 조직의 중량의 증가는 종양을 포함하는 마우스에 국한되는 것은 아니며, 건강한 종양을 포함하지 않는 마우스에 유지방을 제공함으로써 건강하고 종양을 포함하지 않는 대조식이 제공된 마우스와 비교하여 상기 조직들이 각각 8.2% 및 12%($P < 0.05$)까지 증가된다.

[0453] 실시예 12

[0454] 암과 암 치료, 가령 화학요법의 가장 심각한 부작용 중 하나는 혈액성 억제(hematologic suppression)이며, 면역학적 부적합성을 유도할 수 있고, 차례로 심각한 감염을 일으키고 결국에는 죽음에 이를 수 있다. 본 실시예는 유지방식이 암과 화학요법에 의해서 야기된 혈액성 억제를 감소시키는 것을 보여준다.

[0455] 난치성 빈혈(dyshematopoiesis)은 상기 실시예 11의 악액성 마우스에서 발견되었으며, 적혈구(RBC) 및 백혈구

(WBC) 계수는 동일한 대조식이 제공된 건강하고 종양을 포함하지 않는 마우스와 비교하여 각각 23% 및 29%로 상당히 감소하였다($P < 0.05$)(표 7). 대조식이 제공된 종양을 포함하는 마우스와 비교하여, 파클리탁셀 화학요법으로 RBC 및 WBC 계수에서 추가로 49% 및 44% 감소되었고, 비장 중량에서 8.5% 감소되었다.

[0456] 대조적으로, 유지방이 제공된 파클리탁셀-처리된 마우스의 RBC 및 WBC 계수는 대조식이 제공된 건강하고 종양을 포함하지 않는 마우스와 비교하여(표 7) 단지 11% 및 7%까지 감소되고 비장 중량은 3%까지 감소된다. 유지방이 제공된 처리되지 않은 종양을 포함하는 마우스의 WBC 계수는 단지 5% 감소된 반면에, RBC 계수는 9%까지 약간 증가되었으며($P < 0.05$), 비장 중량은 완전히 회복되었다. 유지방이 제공된 파클리탁셀-처리된 마우스의 RBC 및 WBC 계수는 대조식이 제공된 파클리탁셀-처리된 마우스와 비교하여(표 7) 56% 및 57%까지 상당히 증가하였으며($P < 0.01$), 비장 중량은 11%($P < 0.05$)까지 증가하였다. 유지방이 제공된 처리되지 않은 종양을 포함하는 마우스의 RBC 및 WBC 계수는 대조식이 제공된 처리되지 않은 종양을 포함하는 마우스와 비교하여 34% 및 27%($P < 0.05$)까지 증가한다.

[0457] 그러므로, 유지방식은 암이나 화학요법에 의해서 감소되는 적혈구 및 백혈구를 증가시키거나 또는 회복시킴으로써 혈액성 억제를 감소시킨다.

[0458] 실시예 13

[0459] 세포독성제(cytotoxic drugs)는 장융모(intestinal villi)를 손상시켜서, 이들을 납작하게 하여 소화관의 흡수 특성을 변경시킨다(Melichar et al., 2005). 본 실시예는 유지방식이 화학요법에 의해서 유도된 소화관 손상을 호전시키는 것을 보여준다.

[0460] 파클리탁셀로 유도된 손상에 대해 유지방이 소화관을 보호하는지를 측정하기 위해서, 6 Balb/c 마우스 그룹에게 기본 AIN-93 식단, 또는 식단의 지방 성분의 ~71%를 나타내는 5% 유지방으로 대체된 동일한 식단을 제공하였다. 2주일 후에, 각 마우스는 파클리탁셀을 복강내 주사하였다(30 mg/kg 체중). 1주일 후에, 이들을 죽이고, 공장이 제거되었다. 대조식, 유지방식, 대조식 + 파클리탁셀, 및 유지방식 + 파클리탁셀로 처리된 마우스들의 공장을 파라핀에 넣어 섹션을 헤마톡실린 및 에오신으로 염색한다.

[0461] 대조식 및 유지방식이 제공된 처리되지 않은 건강한 마우스는 기대된 바와 같이 손상되지 않은 장융모를 갖는다. 대조적으로, 파클리탁셀로 처리된 마우스의 섹션은 상기 마우스의 공장이 파열되고 편평한 융모를 포함한다. 유지방이 제공된 파클리탁셀-처리된 마우스의 융모는 대부분이 손상되지 않았고, 후자의 식단은 장에서 보호 효과를 발휘한다.

[0462] 융모의 평균 길이는 소화관 손상의 정도를 정량하기 위해서 측정된다. 대조군 마우스와 비교하여 파클리탁셀은 융모의 평균 길이를 61%($P < 0.01$)까지 상당히 감소시킨다(도 9A). 유지방식은 파클리탁셀에 의한 장 손상을 보호하고, 유지방식이 제공된 파클리탁셀-처리된 마우스의 융모의 평균 길이는 대조군 마우스와 비교하여 29%까지 감소된다($P < 0.05$). 유지방식이 제공된 파클리탁셀-처리된 마우스의 융모는 대조식이 제공된 파클리탁셀-처리된 마우스보다 상당히 더 길다(40%, $P < 0.05$).

[0463] 공장 γ -글루타밀 트랜스펩티다제(γ -GGT), 소장의 브러시 보더 상피(brush border epithelium)의 마커(Tate and Meister, 1981 and Ferraris, et al, 1992)는 소화관 손상의 개별 측정으로 기록하였다. 처리되지 않은 대조군 마우스와 비교하여(도 9B), 파클리탁셀 처리는 공장 점막에서 γ -GGT의 수준을 56%($P < 0.01$)까지 현저하게 감소된 반면에 유지방식이 제공된 파클리탁셀-처리된 마우스에서 γ -GGT 활성은 29% ($P < 0.05$)까지 감소되었다. 공장 γ -GGT 활성은 대조식이 제공된 파클리탁셀-처리된 마우스와 비교하여 유지방식이 제공된 파클리탁셀-처리된 마우스에서 상당히 증가되었다(78%, $p < 0.05$).

[0464] 화학요법에 의한 소장의 점막염(mucositis)은 융모위축(villous atrophy)에 선행되는 크립트(crypt)에서 세포자멸사(cellular apoptosis)와 관련이 있다(Keefe, et al., 2000). 대조식 및 유지방식이 제공된 처리되지 않은 마우스의 크립트에서 매우 적은 자멸 세포가 있다. 대조적으로, 대조식이 제공되고 파클리탁셀로 처리된 마우스의 장 부분은 다수의 사멸 세포를 포함한다. 유지방식은 사멸 세포의 수가 현저하게 감소되었다. 10개의 임의로 선택된 섹션에서 사멸 세포가 계수되고 섹션당 사멸세포로 표시된다(도 10). 파클리탁셀 처리는 처리되지 않은 마우스와 비교하여 사멸 세포의 계수는 6배까지 상당히 증가된다. 유지방식은 대조식과 비교하여 파클리탁셀-처리된 마우스의 사멸 세포가 39%까지 상당히 감소되었다($P < 0.05$).

[0465] 실시예 1-13의 토의

[0466] 상기 실험은 통상의 무수 유지방이 경구 투여되었을 때 항종양 활성을 갖는다는 것을 보여준다. 유지방의 투여

로 발생된 림프종의 면역요법을 증대시키고, 발생된 유방암 종양의 화학요법 치료를 증대시킨다.

[0467] Lf와 배합된 유지방은 림프종으로 면역검사한 모든 피험체에서 종양 발생을 완전히 저해하여, 항종양 세포용해 활성을 증가시키고 종양 세포자멸을 증가시키며 종양 맥관조직을 감소시킨다.

[0468] 화학요법 치료와 조합된 유지방의 투여는 유방암 종양의 성장을 지연시키고, 유지방 단독 또는 화학요법 치료와 조합된 유지방은 유방암 종양을 폐와 간으로 전이시키고 상기 기관에서 성장하는 것을 상당히 억제한다.

[0469] 항종양 활성이 유지방 분획물의 투여로 또한 관찰된다. 여기서, 2개의 Phospholac 600™ 및 스프링고마이엘린은 종양발생을 지연시킨다.

[0470] 더우기, 유지방의 투여로 유방암 종양 및/또는 화학요법으로부터 기인된 혈액성 억제(hematologic suppression), 악액질 및 소화관 손상을 감소시킨다.

[0471] 실시예 14

[0472] 본 실시예는 유지방이 화학요법에 의한 중량 손실을 상당히 억제하고 중량 증가를 촉진하는 것을 보여준다.

[0473] 식단

[0474] 실험식은 기본으로 분말 AIN93G 제제를 사용하는 Crop & Food Research, Palmerston North, New Zealand에 의해서 준비된다. AIN93G 식단에서 단백질 공급원으로 카제인이 사용되고 지방 공급원으로 대두유가 사용된다. 식단 중의 전체 지방 함량이 변경되지 않도록 대두유는 실험식에서 무수 유지방(AMF)로 대체한다. 상기 식단은 식단 2 Kg 당 100 g, 35.7 g 또는 7.1 g의 AMF를 포함하며, 이는 식단 중 전체 지방 함량(140 g 지방/2 Kg)의 70%, 25% 및 5%를 나타낸다. 신선한 식단이 격주로 제공되며, 마우스는 연구를 통해서 음식과 물에 자유롭게 접근할 수 있다.

[0475] 화학요법의 부작용을 분석하기 위한 실험 모델

[0476] 동물 윤리 승인(Animal Ethics Approval)에 따라 시클로포스파미드(cyclophosphamide)가 투여된다(University of Auckland). 모든 실험은 달리 지시하지 않는 한 처리 그룹당 6마리의 마우스를 포함한다. PBS로 희석된 시클로포스파미드가 복강으로 300 mg/Kg 투여된다. 부검시 심장 천자에 의해서 혈액을 수집한다.

[0477] 6마리의 C57BL/6 마우스의 그룹에게 AIN93G 식단 또는 각각 유지방이 5%, 25% 또는 70% 대체된 동일한 식단을 제공하고 식단 제공 4주후에 시클로포스파미드(300 mg/Kg 체중)를 복강으로 주입한다(0일). 상기 마우스를 4일, 8일 및 12일 후에 죽이고, 하기에 기술된 바와 같이 약물 처리의 부작용에 대해서 조직을 분석한다.

[0478] 도 11A에 개시된 바와 같이, 0일에(예컨대, 화학요법 이전에 4가지 상이한 식단을 제공하고 4주후에) 마우스의 체중에서 큰 차이는 없었다. 대조적으로, 화학요법 4일 후에, 대조식이 제공된 마우스는 이들의 체중이 7% 손실되었다(도 11B). 4일에 유지방의 2번의 최대 복용으로 체중 손실 정도가 대조식과 비교하여 각각 54% ($P < 0.001$) 및 39% ($P = 0.0017$)까지 상당히 감소되었다. 유지방의 최소 복용으로는 대조식과 비교하여 19% ($P = 0.068$)까지 체중 손실이 적게 감소되었다. 대조식의 마우스는 화학요법후 12일에 체중이 거의 증가하지 않은 반면에, 최소의 유지방을 제공한 마우스의 체중은 거의 정상($P < 0.001$)로 되돌아왔고, 유지방을 2번 최고로 복용한 마우스는 실제로 체중이 증가되었다(도 11C).

[0479] 실시예 15

[0480] 본 실시예는 유지방이 화학요법 후에 순환성 비장 백혈구(WBC)의 회복을 용이하게 하고 비장에서 콜로니 형성 유닛의 발생을 자극하며 비장의 복원을 촉진하는 것을 보여준다.

[0481] 4주 동안 상이한 유지방 식단의 제공으로는 화학요법 이전에 말초 WBC 계수에 있어서 상당한 영향을 주지 않는다는 것을 보여준다. 실시예 14의 마우스에서 4일째에 제공된 식단과 무관하게, 시클로포스파미드는 말초 WBC 계수를 90% 이상까지 크게 감소시킨다(도 12). WBC 계수는 모두 4개의 마우스 그룹에서 8일까지 회복되기 시작한다. 12일까지 WBC 계수의 회복은 유지방을 최대 복용한 마우스 그룹에서 크게 증가되었다($P = 0.0028$). 상기 마우스에 있어서, WBC 계수는 정상으로 되돌아간다. 대조적으로, 유지방의 최소 복용으로는 WBC 계수의 회복이 상당히 용이하지 않았다.

[0482] 4주동안 상이한 유지방식의 제공으로 화학요법 이전에 비장의 세포질(cellularity)에 있어서 인식할 수 있는 효과는 없었다(도 13A). 대조식이 제공된 마우스에서 4일째에 시클로포스파미드는 비장의 세포질을 매우 감소시킨다. 70%, 25% 및 5% 유지방식은 비장 세포질 손상을 대조식과 비교하여 4일째에 각각 52%, 41% 및 25%까지

감소시킨다. 70% 및 25% 유지방식은 8일째에 비장 세포질의 손상을 각각 32% 및 27%까지 감소시키는 반면, 오직 70% 유지방식은 12일째에 비장 세포질에 영향을 준다(도 13A).

[0483] 비장내 세포의 보충(replenishment)은 비장 콜로니 형성 유닛의 발생과 함께 화학요법 4일 후에 시작되었다. 각각 70%, 25% 및 5% 유지방식은 비장 콜로니 형성 유닛의 발생을 각각 207%, 130% 및 85%까지 크게 자극하였다(도 13B). 12일째까지 비장의 세포질은 70% 및 25% 유지방식이 제공된 마우스에서 거의 정상으로 되돌아가고 콜로니 형성 유닛의 수는 유지방식에서 크게 감소된 반면에, 대조식이 제공된 마우스의 비장은 여전히 회복되고 있었다(도 13B).

[0484] 실시예 16

[0485] 본 실시예는 화학요법 이후에 유지방이 적혈구(RBC)의 크기 및 헤모글로빈 함량을 증가시키는 것을 보여준다.

[0486] 실시예 14의 마우스에서 8일째에 제공된 식단과 무관하게 시클로포스파미드는 말초 RBC 계수를 감소시킨다(도 14A). RBC의 손실은 4일째에 17% 내지 22%이며, 실시예 15에서 WBC의 손실 정도보다 더 적다. RBC 수는 8일까지 계속 작아지고, 12일째에 완전하게 회복되지 않았다. 유지방식은 RBC 계수에서 시클로포스파미드-유도 감소에 있어서 상당한 영향을 주지 않았다. 유지방의 다량 복용으로 RBC 수의 회복을 향상시키는 것을 보여주며, 결과는 현저하지 않았다.

[0487] 놀랍게도, 2번의 유지방 최대 복용으로 헤마토크리트(HCT) 수준의 회복을 용이하게하고/하거나 손실을 방지한다(도 14B). 헤마토크리트는 적혈구를 포함하는 전체 혈액의 비율이며, RBC의 수와 이들의 크기의 척도이다. 유지방식은 RBC 수에 크게 영향을 미치지 않으며, HCT 수준의 증가는 RBC의 평균 적혈구 부피(mean corpuscular volume)에서 증가의 결과인 것으로 추정될 수 있다. 70% 유지방식은 8일째에 HCT 수준에서 감소가 상당히($P = 0.023$) 떨어지며(대조식에 있어서 31%와 비교하여 18% 감소), 12일째까지 HCT 수준이 거의 정상 수준으로 증가된다($P < 0.001$). 25% 유지방식은 8일째($P = 0.017$) 및 12일째($P = 0.006$)에 HCT 수준의 회복이 상당히 용이하며, 8일째 18% 감소는 대조식에 있어서 31% 감소와 비교하여 관찰되며, 12일째 9% 감소는 대조식에 있어서 24% 감소와 비교하여 관찰된다. 유지방의 최소 복용의 효과는 유의도에 도달하지는 않았다.

[0488] 중요한 문제는 HCT 수준의 증가가 헤모글로빈의 전체 수준의 증가를 또한 반영하는지의 여부이다. 70% 유지방식은 8일째에 헤모글로빈의 감소를 떨어뜨리며, 대조식에 대해서 31% 감소와 비교하여 22%의 감소가 관찰되지만, 변경은 유의도에 도달하지 않았다(도 14C). 그러나, 대조식이 제공된 마우스와 비교하여, 12일째에 헤모글로빈 수준이 18%까지 크게 증가된다. 25% 유지방식은 8일째($P = 0.030$) 및 12일째($P = 0.015$)에 헤모글로빈의 회복이 상당히 용이하며, 8일째 20% 감소는 대조식에 대한 31% 감소와 비교하여 관찰되며, 12일째 12% 감소는 대조식에 대해서 26% 감소와 비교하여 관찰된다. 유지방 최소 복용 효과는 유의도에 도달하지 않았다.

[0489] 요약하면, 유지방의 섭취는 RBC 수에 상당히 영향을 주지 않고 RBC 크기 및 헤모글로빈 함량이 증가됨으로써 빈혈에 잠재적인 영향을 주는 것을 나타낸다. 상기 결과는 철-결핍 빈혈, 예를들면 비정상적인 작은 RBC에 의해서 나타나는 소적혈구성 빈혈(microcytic anemia)의 치료에 밀접한 관계가 있다.

[0490] 실시예 17

[0491] 상기에 기술된 바와 같이, 암 화학요법은 위장관 상피 세포의 빠른 분할을 파괴하고 점막 조직이 궤양 및 감염되는 경우 점막염이 발생된다. 본 실시예는 유지방이 화학요법에 의한 소화관 손상을 감소시키는 것을 보여준다.

[0492] 유지방은 시클로포스파미드-유도 손상에 대한 소화관을 보호하는지 여부를 결정하기위해서, 실시예 14에서 마우스의 공장을 절개하고, 파라핀에 넣고, 헤마톡실린 및 에오신으로 염색한다.

[0493] 4주동안 상이한 유지방식의 제공은 화학요법 이전에 공장의 용모에 인식할 수 있는 영향을 주지 않는다(도 15). 시클로포스파미드의 단일 주입으로 처리된 마우스의 섹션은 상기 마우스의 공장이 파괴되고 평편한 용모를 포함하는 것을 나타낸다. 용모의 평균 길이는 화학요법-유도된 손상의 척도로 사용된다. 시클로포스파미드는 건강하고 대조식의 마우스와 비교하여 용모의 평균 길이가 65%($P < 0.001$)까지 상당히 감소된다(도 15). 70%, 25% 및 5% 유지방식은 시클로포스파미드에 의한 장손상을 막으며, 유지방식이 제공된 시클로포스파미드-처리된 마우스의 용모의 평균 길이는 대조식이 제공된 마우스와 비교하여, 4일째에 각각 36% ($P < 0.01$), 41% ($P < 0.01$) 및 52% ($P < 0.001$)까지 감소되고, 8일째에 21% ($P < 0.05$), 24% ($P < 0.01$) 및 31% ($P < 0.01$)까지 감소된다. 70% 및 25% 유지방식이 제공된 시클로포스파미드-처리된 마우스의 용모는 대조식이 제공된 시클로포스파미드-처리된 마우스와 비교하여 화학요법 이후에 4일째(각각 71% 및 58%, 둘다 $P < 0.01$) 및 8일째(각각 44% 및 36%,

둘다 $P < 0.05$)에 상당히 더 길어진다. 12일까지 대조식이 제공된 마우스의 장은 회복되기 시작하여, 유지방을 최고 복용한 경우만 상당한 효과를 나타내는 것을 볼 수 있다.

[0494] 상기 결과는 유지방식이 특히 화학요법후 처음 몇 일 동안 치료 효과가 가장 심각할 때 장에서 보호 효과를 발휘하는 것을 보여준다. 특정 이론에 한정되지 않고, 유지방식에 의한 장의 보호는 화학요법에 의한 감소된 중량 손실에 일부 기여하고 상기 식단이 제공된 마우스에서 관찰된 증가된 중량 증가에 기여하는 것으로 사료된다. 유지방식은 식욕을 유지하고 소화관의 흡수 특성을 도와주는 것을 나타낸다. 증가된 중량 증가는 유지방의 더 높은 발열량(calorific value)에 의해 간단하지 않으며, 식단은 에너지 함량에 대해 비교 평가하고, 유지방이 제공된 마우스는 화학요법 이전에 4주 공급 기간 동안 중량에 넣지 않는다.

[0495] 실시예 14-17의 토의

[0496] 상기 실시예 1-13은 종양을 포함하는 마우스에서 화학요법의 부작용에 있어서 유지방의 영향을 조사하였다. 실시예 14-17에서, 다른 통상의 건강한 마우스에서 시클로포스파미드-매개 화학요법의 부작용에 있어서 유지방의 직접적인 효과가 조사되었다. 시클로포스파미드는 세포 대사 및 생식을 강하게 저해하여 부작용으로서 면역계 및 혈액계의 세포의 성장 및 증식이 억제되어 골수억제(myelosuppression) 및 빈혈을 일으키는 약물이다. 연구에서는 가벼운 정도에서 중간 정도의 빈혈을 포함하는 화학요법-유도된 빈혈은 암 환자의 수명 품질에 역효과를 나타내는 것을 보고하였다(Groopman JE, Itri LM. Chemotherapy-induced anemia in adults: incidence and treatment. J Natl Cancer Inst. 1999 Oct 6;91(19):1616-34). 화학요법은 또한 식욕 감퇴, 점막염, 구역질, 소화관 손상 및 탈수의 결과로서 중량 손실을 일으킴으로써 암 환자의 수명 품질을 감소시킬 수 있다.

[0497] 본원에서 수득된 결과는 유지방이 화학요법의 부작용을 방지하거나 또는 감소시키는데 효과적이라는 것을 나타낸다.

[0498] 실시예 18

[0499] 본 실시예는 유지방이 Lf+와 상승작용으로 혈액 억제, 빈혈 및 소화관 손상을 포함하여 시험체에서 화학요법의 다수의 부작용을 감소시키는 것을 보여준다.

[0500] 식단

[0501] 실험식은 기본으로 분말 AIN93G 제제를 사용하는 Crop & Food Research, Palmerston North, New Zealand에 의해서 준비된다. AIN93G 식단에서 단백질 공급원으로 카제인이 사용되고 지방 공급원으로 대두유가 사용된다. 식단 중의 전체 지방 함량이 변경되지 않도록 대두유는 실험식에서 무수 유지방(AMF)으로 대체한다. 식단 중의 전체 단백질 함량이 변경되지 않도록 카제인은 실험식에서 Lf+로 대체한다. 상기 식단은 식단 2 Kg 당 35 g의 AMF를 포함하며, 이는 식단 중 전체 지방 함량(140 g 지방/2 Kg)의 25%를 나타낸다. 상기 식단은 식단 2 Kg 당 0.1 %, 1 g 또는 10 g의 Lf+를 포함하는 Lf+로 대체되며, 이는 식단 중 전체 단백질 함량(400 g 단백질/2 Kg)의 0.025%, 0.25% 및 2.5%를 나타낸다. 몇가지 식단은 식단 2Kg당 35Kg의 AMF와 Lf+의 상기 양들 중 하나와 배합하여 포함한다. 신선한 식단이 격주로 제공되며, 마우스는 연구를 통해서 음식과 물에 자유롭게 접근할 수 있다.

[0502] 화학요법의 부작용을 분석하기위한 실험 모델

[0503] 동물 윤리 승인에 따라 시클로포스파미드가 투여된다(University of Auckland). 모든 실험은 처리 그룹당 24마리의 마우스를 포함한다. PBS로 희석된 시클로포스파미드가 복강으로 300 mg/Kg 투여된다. 혈액 수집을 위해서, 마우스는 깊게 마취하고, 심장 천자에 의해서 사형한다.

[0504] 암컷과 수컷 마우스의 동일한 수를 포함하는 24마리의 C57BL/6 마우스의 그룹에게 AIN93G 식단 또는 유지방, Lf+, 또는 유지방과 Lf+의 배합물로 대체된 동일한 식단을 제공하고 식단 제공 4주후에 시클로포스파미드(300 mg/Kg 체중)를 복강으로 주입한다(0일). 상기 마우스는 6마리의 그룹에서 0일, 4일, 8일 및 12일 후에 죽이고, 하기에 기술된 바와 같이 약물 처리의 부작용에 대해서 혈액과 소화관 조직을 분석한다.

[0505] 8일에 평균 용모 길이는 유지방 보충(0% 대 25%), Lf+ 보충(0% 대 0.025%) 및 이들의 상호작용의 효과에 대해서 2방향 분산 분석(two-way analysis of variance) (ANOVA)을 사용하여 분석한다. 개별 그룹은 터키 다중 비교 절차(Tukey's multiple comparison procedure)를 사용하여 비교하였다.

[0506] 유지방은 Lf+와 상승작용으로 화학요법-유도 소화관 손상을 억제한다. 4주동안 상이한 유지방 식단의 제공으로 화학요법 이전에 공장의 용모 길이에 인식할 수 있는 영향을 주지는 않았다(도 16). 용모의 평균 길이는 화학

요법-유도 손상의 척도로 사용된다. 시클로포스파미드는 모든 그룹에서 용모의 평균 길이가 4일째까지 상당히 감소된다(도 16). 25% 유지방은 시클로포스파미드에 의한 장 손상으로부터 회복을 용이하게 한다. 8일째에, 유지방 그룹에서 평균 용모 길이는 대조군 그룹에서보다 상당히 더 크다($P < 0.001$).

[0507] 유지방과 Lf+의 배합으로 유지방 단독의 그룹 및 Lf+ 단독의 그룹과 비교하여 용모 길이가 상당히 더 길어졌다($P < 0.01$).

[0508] 실시예 19

[0509] 본 실시예는 유지방이 Lf+와 상승작용하여 화학요법 이후에 백혈구(WBC) 순환 회복을 용이하게하는 것을 보여준다.

[0510] 4일째와 8일째 사이의 WBC 계수의 차이를 유지방 보충(0% 대 25%), Lf+ 보충(0% 대 0.025%) 및 이들의 상호작용의 영향에 대해서 2방향 공분산 분석(ANCOVA)을 사용하여 분석한다. 화학요법시에 체중은 공변으로서 포함된다. 유지방과 Lf+의 배합물은 1측면 Dunnett 시험(one-sided Dunnett's test)을 사용하여 유지방 단독 및 Lf+ 단독과 비교한다.

[0511] 심장 천자 시료에서 WBC 계수는 실시예 18에 기술된 바와 같이 화학요법일, 4일후, 8일후 및 12일후에 기록한다. 4주 동안 유지방식 및 0.025% Lf+ 식단의 제공으로 화학요법 이전에 말초 WBC 계수에 있어서 상당한 영향을 주지는 못했다(도 17). 시클로포스파미드는 실시예 19에서 모든 마우스에서 4일째에 말초 WBC 계수가 매우 감소되었다. WBC 계수는 모든 마우스 그룹에서 8일까지 회복되기 시작하였다. 그러므로, WBC 수가 실질적으로 회복될 때 최저점(4일째) 대 8일째에 WBC의 수로 비교하였다. WBC 계수에서 증가는 0.025% Lf+ 식단($P = 0.049$) 및 유지방식($P = 0.012$)와 비교하여 0.025% Lf+와 유지방의 배합물이 제공된 마우스에서 상당히 더 크다.

[0512] 실시예 20

[0513] 본 실시예는 유지방이 Lf+와 상승작용하여 화학요법 이후에 적혈구(RBC)의 수와 크기를 증가시키고 헤모글로빈 함량을 증가시키는 경향이 있다는 것을 보여준다.

[0514] RBC 계수, HCT 및 헤모글로빈 수준은 유지방 보충(0% 대 25%), Lf+ 보충(0% 대 0.25%) 및 이들의 상호작용의 영향에 대해서 2방향 ANCOVA를 사용하여 분석한다. 화학요법시에 체중은 공변으로서 포함된다. 유지방과 Lf+의 배합물은 1측면 Dunnett 시험을 사용하여 유지방 단독 및 Lf+ 단독과 비교한다.

[0515] 심장 천자 시료에서 RBC 계수, HCT 및 헤모글로빈은 실시예 18에 기술된 바와 같이 화학요법일, 4일후, 8일후 및 12일후에 기록한다.

[0516] 시클로포스파미드는 제공된 식단과 무관하게 실시예 20의 마우스에서 4일째 및 8일째에 RBC 계수를 감소시킨다(도 18). RBC 수는 8일째까지 계속 감소되고, 그후 회복되기 시작하지만, 12일째에 완전한 회복에 도달하지는 않았다. 유지방은 4일째 및 8일째 최저로 감소되는 것으로 보이며, 0.25% Lf와 상승작용하여 12일째에 RBC 수의 회복을 용이하게 한다. 12일째 RBC 계수는 0.25% Lf+ 식단($P = 0.018$) 및 유지방식($P = 0.024$)와 비교하여 0.25% Lf+와 유지방의 배합물이 제공된 마우스에서 상당히 더 크다.

[0517] 시클로포스파미드는 제공된 식단과 무관하게 실시예 20의 마우스에서 4일째 및 8일째 HCT를 감소시킨다(도 19). HCT는 8일째까지 계속 감소되고, 그후 회복되기 시작하지만, 12일째에 완전한 회복에 도달하지는 않았다. 유지방은 4일째 및 8일째 최저로 감소되는 것으로 보이며, 0.25% Lf와 상승작용하여 12일째에 HCT 수준의 회복을 용이하게 한다. 12일째 HCT는 0.25% Lf+ 식단($P = 0.046$) 및 유지방식($P = 0.047$)와 비교하여 0.25% Lf+와 유지방의 배합물이 제공된 마우스에서 상당히 더 크다.

[0518] 시클로포스파미드는 제공된 식단과 무관하게 실시예 20의 마우스에서 4일째 및 8일째 헤모글로빈 수준을 감소시킨다(도 20). 헤모글로빈은 8일째까지 계속 감소되고, 그후 회복되기 시작하지만, 12일째에 완전한 회복에 도달하지는 않았다. 유지방은 4일째 및 8일째 최저로 감소되는 것으로 보이며, 0.25% Lf와 상승작용하여 12일째에 헤모글로빈의 회복을 용이하게 한다. 12일째 헤모글로빈은 0.25% Lf+ 식단($P = 0.038$)과 비교하여 0.25% Lf+와 유지방의 배합물이 제공된 마우스에서 상당히 더 크다. 상기는 유지방식($P = 0.094$)와 비교하여 더 높지만 상당히 더 높은 것은 아니다.

[0519] 요약하면, 0.25% Lf+와 배합하여 유지방의 섭취는 RBC 수 및 RBC 크기를 상당히 증가시키며 전체 헤모글로빈 함량을 증가시키는 경향이 있다는 것을 보여준다. 상기 결과는 화학요법에 의해 유도된 빈혈을 포함하는 빈혈의

치료에 밀접한 관계를 갖는다.

[0520] 실시예 21

[0521] 본 실시예에는 유지방이 화학요법-유도된 식욕감퇴/악액질을 상당히 감소시키는 것을 보여준다. 유지방과 Lf+의 배합물을 포함하는 식단은 화학요법-유도된 식욕감퇴/악액질을 또한 감소시킨다.

[0522] 체중은 실시예 18에 기술된 바와 같이 화학요법일, 4일후, 8일후 및 12일후에 기록한다. 유지방은 마우스의 체중을 성별, Lf+ 보충 및 일수와 무관하게 상당히 증가시키며($P = 0.004$), 예컨대 중요한 상호작용의 부족으로 인해 양쪽 성별의 동물, 모든 일수 및 모든 Lf 그룹은 분석을 위해서 이용되었다(도 21). 유지방의 효과는 화학요법에 특이적이며, 유지방식도 다른 식단도 화학요법 이전에 마우스의 체중에 상당한 영향을 주지 않는다.

산업상 이용 가능성

[0523] 본 발명의 방법, 의학적 용도 및 조성물은 종양 성장을 억제하고, 백혈구 계수, 적혈구 계수 또는 골수성 세포 계수의 1 이상을 유지하거나 또는 향상시키며, 면역계를 자극하고 암을 치료 또는 예방하는 용도를 갖는다. 상기 방법 및 의학적 용도는 식이 조성물(식품 또는 식품 보충물로서), 영양 조성물 또는 약학 조성물로서 사용함으로써 실시될 수 있다.

[0524] 당분야의 통상의 지식을 가진 사람은 상기 명세서가 본 발명을 단지 설명하기 위해서 제공되며 본 발명을 상기에 제한시키지는 않는 것을 이해할 것이다.

[0525] 참고문헌

- Ainscough, EW, Brodie A, M.; Plowman J E. The chromium, manganese, cobalt and copper complexes of human lactoferrin. *Inorganica Chimica Acta* 1979;33 (2) 149-53.
- Andrade LN, de Lima TM, Curi R, Castrucci AM. Toxicity of fatty acids on murine and human melanoma cell lines. *Toxicol In Vitro*. 2005; 19: 553-60.
- Baker EN, Baker HM, Kidd RD., Lactoferrin and transferrin: functional variations on a common structural framework. *Biochem Cell Biol*. 2002;80(1):27-34.
- Banni S, Angioni E, Murru E, Carta G, Melis MP, Bauman D, Dong Y, Ip C. Vaccenic acid feeding increases tissue levels of conjugated linoleic acid and suppresses development of premalignant lesions in rat mammary gland. *Nutr Cancer*. 2001;41:91-7.
- Bates GW and Schlabach MR (1973). The reaction of Ferric salts with Transferrin. *J Biol. Chem* 248, 3228-3232.
- Bates GW, Billups C, Saltman P, (1967). The kinetics and mechanism of iron exchange between chelates and transferrin. 1. The complexes of citrate and nitrilotriacetic acid. *J. Biol. Chem* 242, 2810-2815.
- Beer TM, Eilers KM, Garzotto M, Egorin MJ, Lowe BA, Henner WD. Weekly high-dose calcitriol and docetaxel in metastatic androgen independent prostate cancer. *J Clin Oncol*. 2003;21:123-8.
- Beer TM, Munar M, Henner WD. A Phase I trial of pulse calcitriol in patients with refractory malignancies: pulse dosing permits substantial dose escalation. *Cancer*. 2001;91:2431-9.
- Beer TM, Myrthue A. Calcitriol in cancer treatment: from the lab to the clinic. *Mol Cancer Ther*. 2004;3:373-81.
- Belobrajdic DP, McIntosh GH. Dietary butyrate inhibits NMU-induced mammary cancer in rats. *Nutr Cancer*. 2000;36:217-23.
- Bestak R, Halliday GM. Sunscreens protect from UV-promoted squamous cell carcinoma in mice chronically irradiated with doses of UV radiation insufficient to cause edema. *Photochem Photobiol*. 64:188-93, 1996.
- Bougnoux P, Chajes V, Lanson M, Hacene K, Body G, Couet C, Le Floch O. Prognostic significance of tumor phosphatidylcholine stearic acid level in breast carcinoma. *Breast Cancer Res Treat*. 1992; 20: 185-94.
- Bowie JU, Reidhaar-Olson JF, Lim WA, Sauer RT. Deciphering the message in protein sequences: tolerance to amino acid substitutions. *Science*. (1990) 247(4948):1306-10.
- Bradlow HL, Sepkovic DW. Diet and breast cancer. *Ann N Y Acad Sci*. 2002; 963: 247-67.

[0526]

- Brock JH, Arzabe FR (1976), Cleavage of diferric bovine transferrin into two monoferric fragments. FEBS Lett 69, 63-66.
- Brock JH. The physiology of lactoferrin. Biochem Cell Biol 2002;80:1-6.
- Buckman DK, Chapkin RS, Erickson KL. Modulation of mouse mammary tumor growth and linoleate enhanced metastasis by oleate. J Nutr. 1990; 120: 148-57.
- Bylund, G. (Ed.) Dairy processing handbook. 1995 Tetra Pak Processing Systems AB, S-221 86 Lund, Sweden.
- Cadwell, R.C. and G.F. Joyce. Randomization of genes by PCR mutagenesis. PCR Methods Appl. 1992;2: 28-33.
- Calonghi N, Pagnotta E, Parolin C, Tognoli C, Boga C, Masotti L. 9-Hydroxystearic acid interferes with EGF signalling in a human colon adenocarcinoma. Biochem Biophys Res Commun. 2006; 342: 585-8.
- Chen BQ, Xue YB, Liu JR, Yang YM, Zheng YM, Wang XL, Liu RH. Inhibition of conjugated linoleic acid on mouse forestomach neoplasia induced by benzo (a) pyrene and chemopreventive mechanisms. World J Gastroenterol. 2003; 9: 44-9.
- Cohen LA, Zhao Z, Pittman B, Scimeca J. Effect of soy protein isolate and conjugated linoleic acid on the growth of Dunning R-3327-AT-1 rat prostate tumours. Prostate. 2003; 54: 169-80.
- Colomer R, Menendez JA. Mediterranean diet, olive oil and cancer. Clin Transl Oncol. 2006; 8: 15-21.
- Colston KW, Pirianov G, Bramm E, Hamberg KJ, Binderup L. Effects of Seocalcitol (EB1089) on nitrosomethyl urea-induced rat mammary tumors. Breast Cancer Res Treat. 2003;80:303-11.
- Conneely OM. Antiinflammatory activities of lactoferrin. J Am College Nutr 2001;20:389S-395S.
- Corl BA, Barbano DM, Bauman DE, Ip C. cis-9, trans-11 CLA derived endogenously from trans-11 18:1 reduces cancer risk in rats. J Nutr. 2003;133:2893-900.
- Dass CR. Tumour angiogenesis, vascular biology and enhanced drug delivery. J Drug Target. 2004 Jun;12(5):245-55
- Ding I, Sun JZ, Fenton B et al. Intratumoral administration of endostatin plasmid inhibits vascular growth and perfusion in MCa-4 murine mammary carcinomas. Cancer Res. 2001; 61: 526-531.
- Ealey KN, el-Sohehy A, Archer MC. Conjugated linoleic acid does not inhibit development of aberrant crypt foci in colons of male Sprague-Dawley rats. Nutr Cancer. 2001; 41: 104-6.
- Facon MJ, Skura BJ. Antibacterial activity of lactoferricin, lysozyme and EDTA against Salmonella enteritidis. Int.Dairy J. 1996, 6 (3) 303-13.
- Fermor BF, Masters JR, Wood CB, Miller J, Apostolov K, Habib NA. Fatty acid composition of normal and malignant cells and cytotoxicity of stearic, oleic and sterculic acids in vitro. Eur J Cancer. 1992; 28A: 1143-7.
- Ferraris RP, Villenas SA, Diamond J.Regulation of brush-border enzyme activities and enterocyte migration rates in mouse small intestine. Am J Physiol. 1992; 262: G1047-G1059.
- Foley AA, Bates GW. The purification of lactoferrin from human whey to batch extraction Analytica lBiochemistry 1987, 162 (1) 296-300.
- Freireich EJ, Gehan EA, Rall DP, Schmidt LH, Skipper HE., Quantitative comparison of toxicity of anticancer agents in mouse, rat, hamster, dog, monkey, and man. Cancer Chemother Rep. (1966) 50(4):219-44.
- Gaard M, Tretli S, Loken EB. Dietary fat and the risk of breast cancer: a prospective study of 25,892 Norwegian women. Int J Cancer. 1995; 63: 13-7.
- Galdiero F, Carratelli CR, Nuzzo I, Bentivoglio C, De Martino L, Gorga F, Folgore A, Galdiero M. Beneficial effects of myristic, stearic or oleic acid as part of liposomes on experimental infection and antitumor effect in a murine model. Life Sci. 1994; 55: 499-509.
- Goldbohm RA. Intake of conjugated linoleic acid, fat, and other fatty acids in
- Goodman MT, Wu AH, Tung KH, McDuffie K, Kolonel LN, Nomura AM, Terada K, Wilkens LR, Murphy S, Hankin JH. Association of dairy products, lactose, and calcium with the risk of ovarian cancer. Am J Epidemiol. 2002; 156: 148-57.
- Gulaia NM, Smirnov IM, Shmal'ko IuP, Mel'nik AA, Mel'nik SN. Effect of N-palmitoyl- and N-stearoyl ethanolamines on lipid peroxidation in mouse tissues in metastatic Lewis carcinoma. Ukr Biokhim Zh. 1993; 65: 96-101.

[0527]

- Guyton KZ, Kensler TW, Posner GH. Cancer chemoprevention using natural vitamin D and synthetic analogs. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2001;41:421-42.
- Guyton KZ, Kensler TW, Posner GH. Vitamin D and vitamin D analogs as cancer chemopreventive agents. *Nutr Rev*. 2003; 61:227-38.
- Ha YL, Grimm NK, Pariza MW. Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis*. 1987; 8: 1881-7.
- Harada H, Yamashita U, Kurihara H, Fukushi E, Kawabata J, Kamei Y. Antitumor activity of palmitic acid found as a selective cytotoxic substance in a marine red alga. *Anticancer Res*. 2002; 22: 2587-90.
- Harfoot CG and Hazlewood GP. "Lipid metabolism in the rumen" in P.N. Hobson (Ed.) "The Rumen Microbial Ecosystem" at pages 285 to 322, Elsevier Applied Science Publishers, London (1988).
- Harris DM, Go VL. Vitamin D and colon carcinogenesis. *J Nutr*. 2004;134:3463S-3471S.
- Hjartaker A, Laake P, Lund E. Childhood and adult milk consumption and risk of premenopausal breast cancer in a cohort of 48,844 women - the Norwegian women and cancer study. *Int J Cancer*. 2001; 93: 888-93.
- Holick MF. Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. *Am J Clin Nutr*. 2004;79:362-71.
- Hooper CW, Robschert FS, Whipple GH. Am J Physiol. Blood regeneration following simple anemia: III. Influence of bread and milk, crackermeal, rice and potato, casein and gliadin in varying amounts and combinations. 1920; 53, 206-35.
- Inaba K, Inaba M, Romani N, Aya H, Deguchi M, Ikehara S, Muramatsu S, Steinman RM. Generation of large numbers of dendritic cells from mouse bone marrow cultures supplemented with granulocyte/macrophage colony-stimulating factor. *J Exp Med*. 1992;176:1693-1702.
- Jung KC, Park CH, Hwang YH, Rhee HS, Lee JH, Kim HK, Yang CH. Fatty acids, inhibitors for the DNA binding of c-Myc/Max dimer, suppress proliferation and induce apoptosis of differentiated HL-60 human leukemia cell. *Leukemia*. 2006; 20: 122-7.
- Kanwar J, Berg R, Lehnert K, and Krissansen GW. Taking lessons from dendritic cells: Multiple xenogeneic ligands for leukocyte integrins have the potential to stimulate anti-tumour immunity. *Gene Therapy* 1999;6:1835-44.
- Kanwar JR, Kanwar R, Pandey S, Ching L-M, and Krissansen G.W. Vascular attack by 5,6-dimethylxanthone-4-acetic acid combined with B7.1-mediated immunotherapy overcomes immune-resistance and leads to the eradication of large tumors. *Cancer Res* 2000;61:1948-56.
- Kanwar JR, Shen WP, Kanwar RK, Berg RW, Krissansen GW. Effects of survivin antagonists on growth of established tumors and B7-1 immunogene therapy. *J Natl Cancer Inst*. 2001;93:1541-52.
- Karthikeyan S, Sujata Sharma, Ashwani K. Sharma, M. Paramasivam, Savita Yadav, A. Srinivasan and Tej P. Singh, Structural variability and functional convergence in lactoferrins, *Current Science* (1999) 77(2):241
- Kawakami H et al. Effect of lactoferrin on iron solubility under neutral conditions. *BioScience Biotech Biochem* 1993; 57(8) 1376-1377.
- Keefe DMK, Brealey J, Goland GJ, Cummins AG. Chemotherapy for cancer causes apoptosis that precedes hypoplasia in crypts of the small intestine in humans. *Gut* 2000; 47: 632-637.
- Kerwin SM. Soy saponins and the anticancer effects of soybeans and soy-based foods. *Curr Med Chem Anti-Canc Agents*. 2004;4:263-72.
- Kim KH, Park HS. Dietary supplementation of conjugated linoleic acid reduces colon tumour incidence in DMH-treated rats by increasing apoptosis with modulation of biomarkers. *Nutrition*. 2003; 19: 772-7.
- Kimmerlin T, Seebach D. 100 years of peptide synthesis: ligation methods for peptide and protein synthesis with applications to beta-peptide assemblies. *J Pept Res*. 2005 Feb;65(2):229-60.
- Kimura Y. Carp oil or oleic acid, but not linoleic acid or linolenic acid, inhibits tumor growth and metastasis in Lewis lung carcinoma-bearing mice. *J Nutr*. 2002; 132: 2069-75.
- Knekt P, Jarvinen R, Seppanen R, Pukkala E, Aromaa A. Intake of dairy products and the risk of breast cancer. *Br J Cancer*. 1996; 73: 687-91.
- Kris-Etherton P. Bioactive compounds in foods: Their role in prevention of cardiovascular disease and cancer. *American Journal of Medicine* 113: 71S-88S, 2002.

- Kristiansen E, Madsen C, Meyer O, Roswall K, Thorup I. Effects of high-fat diet on incidence of spontaneous tumors in Wistar rats. *Nutr Cancer*. 1993; 19: 99-110.
- Larsson SC, Bergkvist L, Wolk A. High-fat dairy food and conjugated linoleic acid intakes in relation to colorectal cancer incidence in the Swedish Mammography Cohort. *Am J Clin Nutr*. 2005; 82: 894-900.
- Larsson SC, Orsini N, Wolk A. Milk, milk products and lactose intake and ovarian cancer risk: a meta-analysis of epidemiological studies. *Int J Cancer*. 2006; 118: 431-41.
- Law, B. A. and Reiter, B., The isolation and bacteriostatic properties of lactoferrin from bovine milk whey. *J. Dairy Res.* (1977) 44:595-599.
- Légrand D, Mazurier J, Metz-Boutigue M-H, Jolles J, Jolles P, Montreuil J & Spik G (1984). Characterization and localization of an iron-binding 18-kDa glycopeptide isolated from the N-terminal half of human lactotransferrin. *Biochimica et Biophysica acta* 787, 90-96.
- Leung, D.W., Chen, E.Y., Goeddel, D.V. A Method for Random Mutagenesis of a Defined DNA Segment Using a Modified Polymerase Chain Reaction. *Technique* 1989; 1:11-15.
- Ma J, Giovannucci E, Pollak M, Chan JM, Gaziano JM, Willett W, Stampfer MJ. Milk intake, circulating levels of insulin-like growth factor-I, and risk of colorectal cancer in men. *J Natl Cancer Inst*. 2001; 93: 1330-6.
- Masson PL, Heremans JF. Studies on lactoferrin, the iron-binding protein of secretions. *Protides of the Biological Fluids* 1966, 14, 115-24.
- Masso-Welch PA, Zangani D, Ip C, Vaughan MM, Shoemaker S, Ramirez RA, Ip MM. Inhibition of angiogenesis by the cancer chemopreventive agent conjugated linoleic acid. *Cancer Res*. 2002;62:4383-9.
- Mata L, Castillo H, Sanchez L, Puyol P, Calvo M. Effect of trypsin on bovine lactoferrin and interaction between the fragments under different conditions. *J Dairy Res.* (1994) 61(3):427-32.
- Matsubara K, Saito A, Tanaka A, Nakajima N, Akagi R, Mori M, Mizushima Y. Catechin conjugated with fatty acid inhibits DNA polymerase and angiogenesis. *DNA Cell Biol*. 2006; 25: 95-103.
- Melichar B, Dvorak J, Hyspler R, Zadak Z. Intestinal permeability in the assessment of intestinal toxicity of cytotoxic agents. *Chemotherapy*. 2005; 51: 336-8.
- Menendez JA, Vellon L, Colomer R, Lupu R. Oleic acid, the main monounsaturated fatty acid of olive oil, suppresses Her-2/neu (erbB-2) expression and synergistically enhances the growth inhibitory effects of trastuzumab (Herceptin) in breast cancer cells with Her-2/neu oncogene amplification. *Ann Oncol*. 2005; 16: 359-71.
- Metz-Boutigue MH, Jolles J, Mazurier J, Schoentgen F, Légrand D, Spik G, Montreuil J, Jolles P. Human lactotransferrin: amino acid sequence and structural comparisons with other transferrins. *Eur J Biochem*. 1984;145(3):659-76.
- Miller A, Stanton C, Murphy J, Devery R. Conjugated linoleic acid (CLA)-enriched milk fat inhibits growth and modulates CLA-responsive biomarkers in MCF-7 and SW480 human cancer cell lines. *Br J Nutr*. 2003; 90: 877-85.
- Moore SA, Anderson BF, Groom CR, Haridas M, Baker EN. Three-dimensional structure of diferric bovine lactoferrin at 2.8 Å resolution. *J Mol Biol*. 1997 Nov 28;274(2):222-36.
- Moorman PG, Terry PD. Consumption of dairy products and the risk of breast cancer: a review of the literature. *Am J Clin Nutr*. 2004; 80: 5-14.
- Nakagawa K, Sasaki Y, Kato S, Kubodera N, Okano T. 22-Oxa-1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 inhibits metastasis and angiogenesis in lung cancer. *Carcinogenesis*. 2005;26:1044-54.
- Nelson RL, Samelson SL. Inability of the mutagen-blocking agent oleic acid to protect against colon carcinogenesis in the rat. *Mutat Res*. 1984; 140(2-3): 155-7.
- Nguyen LT, Schibli DJ, Vogel J. Structural studies and model membrane interactions of two peptides derived from bovine lactoferricin. *Journal of Peptide Science* 2005, 11 (7) 379-89.
- Nolan E, Donepudi M, Van Weelden K, Flanagan L, Welsh JE. Dissociation of vitamin D3 and anti-estrogen mediated growth regulation in MCF-7 breast cancer cells. *Mol Cell Biochem* 1998;188:13-20.
- Norris GE, Baker HM, Baker EN. Preliminary crystallographic studies on human apo-lactoferrin in its native and deglycosylated forms. *J Mol Biol*. 1989; 209(2):329-31.
- O'Shea M, Devery R, Lawless F, Murphy J, Stanton C. Milk fat conjugated linoleic acid (CLA) inhibits growth of human mammary MCF-7 cancer cells. *Anticancer Res*. 2000; 20: 3591-601.

[0529]

- Park EJ and Pezzuto JM. Botanicals in cancer prevention. *Cancer and Metastasis Reviews* 21: 231-255, 2002.
- Parodi PW. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. *J Dairy Sci.* 1999; 82: 1339-49.
- Parodi PW. Cows' milk fat components as potential anticarcinogenic agents. *J Nutr.* 1997; 127: 1055-60.
- Parodi PW. Dairy product consumption and the risk of breast cancer. *J Am Coll Nutr.* 2005; 24(6 Suppl): 556S-68S.
- Peleg S, Posner GH. Vitamin D analogs as modulators of vitamin D receptor action. *Curr Top Med Chem.* 2003;3:1555-72.
- Pierce A, Colavizza D, Benaissa M, Maes P, Tartar A, Montreuil J, Spik G. Molecular cloning and sequence analysis of bovine lactotransferrin. *Eur J Biochem.* 1991; 196(1):177-84.
- Qin LQ, Xu JY, Wang PY, Ganmaa D, Li J, Wang J, Kaneko T, Hoshi K, Shirai T, Sato A. Low-fat milk promotes the development of 7,12 dimethylbenz(A)anthracene (DMBA)-induced mammary tumours in rats. *Int J Cancer.* 2004; 110: 491-6.
- Sambrook, J.; Fritsch, E.F.; Maniatis, T. (1989). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbour Lab Press, Cold Spring Harbour, New York.
- Saul AW. Vitamin D: Deficiency, diversity and dosage. *J Orthomolecular Med.* 2003;18:194-204.
- Schulz M, Lahmann PH, Riboli E, Boeing H. Dietary determinants of epithelial ovarian cancer: a review of the epidemiologic literature. *Nutr Cancer.* 2004; 50: 120-40.
- Shin MH, Holmes MD, Hankinson SE, Wu K, Colditz GA, Willett WC. Intake of dairy products, calcium, and vitamin d and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2002; 94: 1301-11.
- Siegel I, Liu TL, Yaghoubzadeh E, Keskey TS, Gleicher N. Cytotoxic effects of free fatty acids on ascites tumor cells. *J Natl Cancer Inst.* 1987; 78:271-7.
- Steinman RM, Turley S, Mellman I, Inaba K. The induction of tolerance by dendritic cells that have captured apoptotic cells. *J Exp Med.* 2000 7;191:411-416.
- Stemmer WP. DNA shuffling by random fragmentation and reassembly: in vitro recombination for molecular evolution. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:10747-10751.
- Sun, X., Kanwar, J.R., Leung, E., Lehnert, K., Wang, D., and Krissansen, G.W. Gene transfer of antisense hypoxia inducible factor-1 α enhances the therapeutic efficacy of cancer immunotherapy. *Gene Therapy* 8: 638-645, 2001.
- Superti F, Siciliano R, Rega B, Giansanti F, Valenti P, Antonini G (2001) Involvement of bovine lactoferrin metal saturation, sialic acid and protein fragments in the inhibition of rotavirus infection. *Biochim Biophys Acta* 1528 (2-3) 107-15.
- Suzuki I, Iigo M, Ishikawa C, Kuhara T, Asamoto M, Kunimoto T, Moore MA, Yazawa K, Araki E, Tsuda H. Inhibitory effects of oleic and docosahexaenoic acids on lung metastasis by colon-carcinoma-26 cells are associated with reduced matrix metalloproteinase-2 and -9 activities. *Int J Cancer.* 1997; 73: 607-12.
- Tate SS, Meister A. Gamma-glutamyl transpeptidase: catalytic, structural and functional aspects. *Mol Cell Biochem.* 1981; 39: 357-368.
- Tomita M, Bellamy W, Takase M, Yamauchi K, Wakabayashi H, Kawasi K. Potent antibacterial peptides generated by pepsin digestion of bovine lactoferrin. *J. Dairy Science* 1991, 74 (12) 4137-4
- Tomita M, Takase M, Bellamy W, Shimamura S. A review: the active peptide of lactoferrin. *Acta Paediatr. Jpn.* 1994, 36, 585-91.
- Tomita M, Takase, M, Wakabayashi H & Bellamy W (1994) Antimicrobial Peptides of Lactoferrin in *Lactoferrin Structure and Function*, pp209-218. Eds TW Hutchens, SV Rumball, B Lonnerdal, Plenum Press, New York.
- Tomita M, Wakabayashi H, Yamauchi K, Teraguchi S, Hayasawa H; Bovine lactoferrin and lactoferricin derived from milk: production and applications. *Biochemistry and Cell Biology* 2002, 80 (1) 109-12.
- Tseng M, Breslow RA, Graubard BI, Ziegler RG. Dairy, calcium, and vitamin D intakes and prostate cancer risk in the National Health and Nutrition Examination Epidemiologic Follow-up Study cohort. *Am J Clin Nutr.* 2005; 81: 1147-54.

[0530]

- Tsuda H, Sekine K, Fujita K, Iigo M. Cancer prevention by bovine lactoferrin and underlying mechanisms-a review of experimental and clinical studies. *Biochem Cell Biol* 2002;131-36.
- Tsuji S, Hirata Y, Matsuoka K. Two apparent molecular forms of bovine lactoferrin. *J Dairy Sci.* 1989;72(5):1130-6.
- van der Kraan MIA, Groenink J, Nazmi K, Veerman ECI, Bolscher JGM, Nieuw Amerongen AV. Lactoferrampin: a novel antimicrobial peptide in the N1-domain of bovine lactoferrin. *Peptides* 2004, 25 (2) 177-83.
- Van Duuren BL, Goldschmidt BM. Co-carcinogenic and tumor-promoting agents in tobacco carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst.* 1976; 56: 1237-42.
- van Veen HA, Geerts ME, van Berkel PH, Nuijens JH. The role of N-linked glycosylation in the protection of human and bovine lactoferrin against tryptic proteolysis. *Eur. J. Biochem.* (2004) 271(4): 678-684.
- van Weelden K, Flanagan L, Binderup L, Tenniswood M, Welsh JE. Apoptotic regression of MCF-7 xenografts in nude mice treated with the vitamin D analog EB1089. *Endocrinology* 1998;139:2102-10.
- Veierod MB, Laake P, Thelle DS. Dietary fat intake and risk of prostate cancer: a prospective study of 25,708 Norwegian men. *Int J Cancer.* 1997 27;73(5):634-8.
- Viejo-Diaz M, Andrés MT, Pérez-Gil J, Sánchez M, Fierro JF. Potassium Efflux Induced by a New Lactoferrin-Derived Peptide Mimicking the Effect of Native Human Lactoferrin on the Bacterial Cytoplasmic Membrane. *Biochemistry (Moscow)* 2003, 68 (2) 217 - 27.
- Voorrips LE, Brants HA, Kardinaal AF, Hiddink GJ, van den Brandt PA, relation to postmenopausal breast cancer: the Netherlands Cohort Study on Diet and Cancer. *Am J Clin Nutr.* 2002; 76: 873-82.
- Ward PP, Uribe-Luna S, Conneely OM. Lactoferrin and host defense. *Biochem Cell Biol* 2002;80:95-102.
- Watkins SM, Carter LC, Mak J, Tsau J, Yamamoto S, German JB. Butyric acid and tributyrin induce apoptosis in human hepatic tumour cells. *J Dairy Res.* 1999;66:559-67.
- Weinberg ED. Human lactoferrin: a novel therapeutic with broad spectrum potential. *Pharm Pharmacol* 2001;53:1303-10.
- Whipple GH and Robscheit FS. Blood regeneration in severe anemia. *Am J Physiol.* 1926; 79: 280-88.
- Yamaki T, Yano T, Satoh H, Endo T, Matsuyama C, Kumagai H, Miyahara M, Sakurai H, Pokorny J, Shin SJ, Hagiwara K. High oleic acid oil suppresses lung tumorigenesis in mice through the modulation of extracellular signal-regulated kinase cascade. *Lipids.* 2002; 37: 783-8.
- Yamasaki M, Ikeda A, Hirao A, Tanaka Y, Miyazaki Y, Rikimaru T, Shimada M, Sugimachi K, Tachibana H, Yamada K. Effect of dietary conjugated linoleic acid on the in vivo growth of rat hepatoma dRLh-84. *Nutr Cancer.* 2001; 40: 140-8.
- Yee YK, Chintalacharuvu SR, Lu J, Nagpal S. Vitamin D receptor modulators for inflammation and cancer. *Mini Rev Med Chem.* 2005;5:761-78.
- Yoshida, S. and Xiuyun, Ye. Isolation of Lactoperoxidase and Lactoferrins from Bovine Milk Acid Whey by Carboxymethyl Cation Exchange Chromatography. *J Dairy Sci.* 1991; 74:1439-1444.
- Ziotnik Y, Patya M, Vanichkin A, Novogrodsky A. Tyrphostins reduce chemotherapy-induced intestinal injury in mice: assessment by a biochemical assay. *Br J Cancer.* 2005; 92: 294-297.
- Zusman I, Gurevich P, Madar Z, Nyska A, Korol D, Timar B, Zuckerman A. Tumor-promoting and tumor-protective effects of high-fat diets on chemically induced mammary cancer in rats. *Anticancer Res.* 1997; 17(1A): 349-56.

도면의 간단한 설명

도 1은 유지방이 림프종의 성장을 억제하고 종양 형성을 억제하는 것을 나타낸 그래프이다. 대조식 AIN93G, 또는 유지방 또는 강화 유지방으로 지방 부분을 대체한 동일한 음식을 마우스에게 공급한다. 식이 요법 2 주 후에 2×10^5 EL-4 세포를 마우스의 측면에 주입한다. 두개의 수직면 직경(센티미터)으로 측정된 종양 크기를 91일까지 또는 종양 직경이 1 cm에 도달할 때까지 모니터링한다. 각 점은 6 마리의 마우스 또는 지시한 마우스의 숫자에 있어서의 95 % 신뢰 구간을 가지는 평균 종양 크기를 나타낸다.

도 2는 유지방이 B7-1 면역원 치료 요법이 종양의 근절을 증대시킨다는 것을 나타낸 그래프이다. 대조식 AIN93G, 또는 유지방 또는 강화 유지방으로 지방 부분을 대체한 동일한 음식을 마우스에게 공급한다. 식이 요법 2 주 후에 2×10^5 EL-4 세포를 마우스의 측면에 주입한다. 두개의 수직면 직경(센티미터)으로 측정된 종양 크기를 모니터링한다. 종양 직경이 ~0.4 cm에 도달할 때 60 ug의 B7-1 발현 플라즈미드를 함유하는 DNA-리보솜 콤플렉스를 종양에 주입한다. 플라즈미드 투여 시기는 화살표로 나타났다. 두개의 수직면 직경(센티미터)으로 측정된 종양 크기를 91일까지 또는 종양 직경이 1 cm에 도달할 때까지 모니터링한다. 각 점은 6 마리의 마우스 또는 지시한 마우스의 숫자에 있어서의 95 % 신뢰 구간을 가지는 평균 종양 크기를 나타낸다.

도 3은 유지방이 철-포화된 락토페린(Lf+)과 함께 상승작용으로 완벽하게 종양 형성을 예방한다는 것을 보여주는 4개의 그래프이다. (A)는 종양 형성 반응에 미치는 효과이다. 대조식 AIN93G, 또는 Lf+, 유지방 또는 Lf+와 유지방 결합물로 지방 및 단백질 부분을 대체한 동일한 음식을 마우스에게 공급한다. 0 일은 마우스가 식이 중에 있는 날을 나타낸다. 식이 요법 2 주 후에 2×10^5 EL-4 세포를 마우스의 측면에 주입한다. 두개의 수직

면 직경(센티미터)으로 측정된 종양 크기를 56 일까지 모니터링한다. 각 점은 6 마리의 마우스 또는 지시한 마우스의 숫자에 있어서의 95 % 신뢰 구간을 가지는 평균 종양 크기를 나타낸다. (B)는 항-종양 세포 독성 활성화에 미치는 효과를 나타낸다. 56 일에 (A)의 마우스로부터 비장세포를 수집하고, EL-4 표적 세포에 대한 이들의 세포독성 활성을 시험하였다. 세포독성 퍼센트는 여러가지 효과기 대 표적 세포 비(E:T 비)로 플롯팅한다. 각 점은 6 마리 마우스 또는 지시한 마우스의 숫자로부터 수득된 평균 세포독성 퍼센트를 나타낸다. 예러 바는 95 % 신뢰 구간을 나타낸다. (C)는 종양 세포의 세포자멸사에 미치는 효과이다. 섹션은 56 일에 (A)의 종양으로 준비하고, 터미날 데옥시뉴클레오타이드트랜스퍼라제-중재 데옥시우리딘 트리포스페이트-디고옥시제닌 닉 말단 라벨링(TUNEL) 방법 및 또한 아넥신-V-플루오 방법으로 염색한다. 종양 섹션의 아넥신-V-플루오 염색 또는 TUNEL에 의해 검출된 세포자멸 세포의 수는 x40 확대에서 관찰되는 10개의 무작위 선택 부분에서 결정하였다. 세포자멸 지수(A/I)는 세포자멸(TUNEL 또는 아넥신-V-플루오 양성) 세포 x(100/총세포 수)의 수이다. 바는 95 % 신뢰 구간을 나타낸다. (D)는 종양의 신생 혈관형성에 미치는 효과이다. 섹션은 56 일에 (A)의 마우스에서 준비하고, 항-CD31 mAb MEC13.3 또는 항-CD105 mAb로 염색하여 혈관을 가시화하고, 또는 대안적으로 DiO7을 혈액 흐름을 가시화하기 위해서 조직을 모으기 이전에 1 분 동안 꼬리 정맥에 주입하였다. 염색된 혈관을 6개의 맹목적으로 무작위 선택된 부분에서 6 마리의 마우스로부터 카운팅한다.

- [0112] 도 4는 알파 지질 분말(Phospholac 600™) 및 스펅고마이엘린이 종양 성장을 억제하는 것을 보여주는 그래프이다. 대조식 AIN93G (A), 또는 지방 또는 단백질 부분을 Lf+ (B), Phospholac 600™ (C), 스펅고마이엘린 (D), Lf+ 및 Phospholac 600™의 결합물 (E) 또는 Lf+ 및 스펅고마이엘린의 결합물 (F)로 대체한 동일한 음식을 마우스에게 공급한다. 2개의 수직면 직경(센티미터)로 측정된 종양 크기는 각 개개 마우스에 대한 시간으로 플롯팅한다. x-축 상의 시간 척도는 직선이 아니다.
- [0113] 도 5는 유지방이 초기 유방암 종양의 성장을 억제하는 것을 보여주는 그래프이다. Balb/c 마우스에게 유지방식 또는 상응하는 대조식을 준다. 2 주 후 종양은 마우스의 오른쪽 측면에 3×10^4 4T1 종양 세포를 s.c 주입하여 설정하였다. 파클리탁셀을 종양 직경이 0.5 cm에 도달하는 경우에 i.p. 투여한다. 마우스의 종양 성장을 모니터링하고, 종양 크기는 3일 마다 측정한다. *는 대조식을 공급한 마우스에 대한 유의한 차이($P < 0.05$)이다. #는 대조식을 공급하고, 파클리탁셀로 치료한 마우스에 대한 유의한 차이($P < 0.05$)이다.
- [0114] 도 6은 유지방이 폐로 전이된 유방암 종양의 성장을 억제하며, 파클리탁셀의효과를 증대시키는 것을 보여주는 그래프이다. 도 5에서 마우스를 35 일에 안락사시키고, 이의 폐를 제거한다. 대조식, 대조식과 파클리탁셀을 처리한 것, 유지방식, 또는 유지방식과 파클리탁셀을 처리한 것을 공급한 마우스의 폐 표면 상에 전이된 종양의 수를 세고, 평균 수 $\pm$ SEM으로 표현한다. *는 대조식을 공급한 마우스에 대한 유의한 차이($P < 0.05$)이다. #는 대조식을 공급하고, 파클리탁셀로 치료한 마우스에 대한 유의한 차이($P < 0.05$)이다.
- [0115] 도 7은 유지방이 간으로 전이된 유방암 종양의 성장을 억제하고, 파클리탁셀의 효과를 증대시키는 것을 보여주는 그래프이다. 도 5의 마우스를 35 일에 안락사시키고, 이들의 간을 제거, 색전화하고, 헤마톡실린/에오신으로 염색한다. 대조식, 대조식과 파클리탁셀을 처리한 것, 유지방식, 또는 유지방식과 파클리탁셀을 처리한 것을 공급한 마우스의 간 내부에 전이된 종양의 수를 세고, 평균 수 $\pm$ SEM으로 표현한다. *는 대조식을 공급한 마우스에 대한 유의한 차이($P < 0.05$)이다. #는 대조식을 공급하고, 파클리탁셀로 치료한 마우스에 대한 유의한 차이($P < 0.05$)이다.
- [0116] 도 8은 유지방이 종양의 신생 혈관형성을 억제하는 것을 보여주는 그래프이다. 도 5에서의 마우스로부터 4T1 종양을 절개하고, 색전화하고, 항-CD31 mAb로 염색하여 혈관내피세포를 규명한다. 항-CD31 mAb로 염색된 혈관을 맹목적으로 선택된 무작위 부분에서 세어 평균 관 밀도 (A)를 기록하고, 또는 나열된 점에서 가장 가까운 CD31 mAb-라벨링 혈관까지의 중간 거리 (B)를 기록한다. 예러 바는 $\pm$ SEM을 나타낸다. *는 대조식을 공급한 마우스에 대한 유의한 차이($P < 0.05$)이다. #는 대조식을 공급하고, 파클리탁셀로 치료한 마우스에 대한 유의한 차이($P < 0.05$)이다.
- [0117] 도 9는 유지방이 화학요법-유도 소화관 손상을 막는다는 것을 보여주는 그래프이다. 도 5의 마우스를 35 일에 안락사시키고, 이들의 공장(jejuni)을 절개하고, 색전화하고, 헤마톡실린/에오신으로 염색한다. (A)는 공장 용모의 평균($\pm$ SEM) 길이를 나타낸다. (B)는 γ -GGT의 평균($\pm$ SEM) 활성이다. *는 대조식을 공급한 마우스에 대한 유의한 차이($P < 0.05$)이다. #는 대조식을 공급하고, 파클리탁셀로 치료한 마우스에 대한 유의한 차이($P < 0.05$)이다.
- [0118] 도 10은 유지방이 소화관 세포의 화학요법-유도 세포자멸사를 막는다는 것을 보여주는 그래프이다. 도 9에서의

공장을 TUNEL 방법으로 염색한다. 세포자멸체를 10개의 무작위 선택 크립트에서 세고, 크립트 당 세포자멸체로서 나타낸다(평균±SEM). *는 대조식을 공급한 마우스에 대한 유의한 차이($P < 0.05$)이다. #는 대조식을 공급하고, 파클리탁셀로 치료한 마우스에 대한 유의한 차이($P < 0.05$)이다.

[0119] 도 11은 실시예 14에서 기재하는 것과 같이 유지방이 화학요법에 의한 체중 손실을 억제한다는 것을 보여주는 세개의 그래프이다. (A)는 식이요법 중 유지방이 건강한 마우스에서의 체중을 현저하게 증가시키지 않는다는 것을 보여준다. 대조식 AIN93G, 또는 지방 부분을 화학요법 전 4 주 동안 70 %, 25 % 또는 5 % 유지방으로 대체한 동일한 음식을 마우스에 공급한다. 4 주 기간 마지막에 마우스의 평균 체중을 기록한다(실제 도면에서 바의 상부에 제공됨). (B, C) 식이요법 중의 유지방은 화학요법에 의한 체중의 손실을 방지하며, 체중 회복을 돕는다. 상기 식이 요법 4 주 후에 (A)의 마우스에 사이클로포스파미드 300 mg/Kg을 주입한다. 체중의 변화 퍼센트는 4 (B) 및 12 (C) 일 후에 기록하고, 초기 체중과 비교한다. *** $P < 0.001$ 및 ** $P < 0.01$ 을 대조식 요법과 비교한다.

[0120] 도 12는 높은 양의 유지방이 실시예 15에서 기재한 것과 같이 화학요법에 의한 말초 WBC의 손실을 억제한다는 것을 보여주는 그래프이다. 말초 WBC 수는 사이클로포스파미드 주입 일, 및 4, 8 및 12 일 후에 도 11에서의 마우스에서 기록한다.

[0121] 도 13은 유지방이 실시예 15에서 기재한 것과 같이 비장 세포질의 재생을 촉진시키고 화학요법에 의한 비장 세포질의 손실을 억제하는 것을 보여주는 2개의 그래프이다. (A) 유지방이 비장 세포질의 손실을 예방한다. 유지방은 화학요법 전 4 주 동안 마우스에게 공급하는 경우 비장 세포질에 영향을 주지 않는다. 비장 세포질에서의 손실의 현저한 억제는 대조식이 요법 (B)과 비교해서 모든 3개의 유지방 식이 요법, 8 일의 70 % 및 25 % 유지방 식이 요법, 및 12 일의 70 % 유지방 식이 요법에 의해서 화학요법 후 4 일에 획득된다. (B) 유지방은 비장 세포집락 형성 유닛의 형성을 자극한다. 비장 세포집락 형성 유닛의 형성의 현저한 자극은 대조식이 요법과 비교해서 모든 3개의 유지방 식이 요법에 의해 화학요법 8 일 후에 획득되는 반면에 12 일에는 유지방 식이 요법에 의해 형성되는 전구 세포로서의 전환 상황이 더이상 요구되지 않는다. * 대조식이 요법이 공급된 마우스에 대한 현저한 차이 ($P < 0.05$).

[0122] 도 14는 유지방 식이 요법이 실시예 16에 기재한 것과 같이 빈혈증의 양상을 감소시킨다는 것을 보여주는 3개의 그래프이다. 심장 샘플에서 RBC 수, HCT 양 및 헤모글로빈 양을 사이클로포스파미드 주입 일, 및 4, 8 및 12 일 후에 도 11의 마우스에 있어서 기록한다. (A) 유지방 식이 요법으로 RBC 수는 증가하지만 결과는 현저하지 않다. (B) 유지방 식이 요법으로 HCT 양(RBC 부피)이 증가한다. 유지방의 두개의 가장 높은 양으로 8 및 12 일에 HCT 양이 현저하게 증가한다. (C) 유지방 식이 요법으로 헤모글로빈 양이 증가한다. 유지방의 두개의 가장 높은 양으로 12 일에 헤모글로빈의 양이 현저하게 증가하며, 또한 25 % 유지방 식이 요법으로 8 일에 헤모글로빈의 양이 증가한다.

[0123] 도 15는 유지방 식이 요법이 실시예 17에서 기재한 것과 같이 소장 상의 손상을 예방한다는 것을 보여주는 그래프이다. 공장 용모 길이는 사이클로포스파미드 주입 일, 및 4, 8 및 12 일 후에 도 11의 마우스에 있어서 기록한다.

[0124] 도 16은 소장 상에서 사이클로포스파미드-중재 손상 이후의 장 용모의 회복력을 보여주는 그래프이다. 마우스에게 4개의 식이 요법(대조식 요법, 및 0.025 % Lf+, 유지방 및 후자의 결합물로 대체한 식이 요법) 중 하나를 공급하고, 공장 용모 길이를 사이클로포스파미드 주입 일, 및 4, 8 및 12 일 후에 기록한다. 8 일에 유지방 및 0.025 % Lf+ 결합물에 있어서의 평균 용모 길이가 단지 유지방 또는 단지 0.025 % Lf+를 주입한 경우에서 보다 현저하게 증가하였으며, 이것은 상승 효과의 증거이다.

[0125] 도 17은 대조식이 요법으로 공급한 마우스에서 보다 유지방, 0.025 % Lf+, 또는 후자의 결합물을 함유한 식이 요법으로 공급한 마우스에서 사이클로포스파미드 화학요법 이후에 WBC 수가 신속하게 회복한 것을 보여주는 그래프이다. WBC 수는 사이클로포스파미드 주입 일, 및 4, 8 및 12 일 후에 도 16의 마우스로부터의 심장 혈액 샘플에서 기록하였다. 유지방 및 0.025 % Lf+ 결합물에 있어서 4 일과 8 일 사이의 WBC 수의 증가는 유지방 만 또는 0.025 % Lf+ 만을 공급한 경우에서 보다 현저하게 증가하였으며, 이것은 상승 효과의 증거이다.

[0126] 도 18은 대조식이 요법을 공급한 마우스에서 보다 유지방, 0.25 % Lf+ 또는 후자의 결합물을 함유한 식이 요법을 공급한 마우스에서 사이클로포스파미드 화학요법 이후에 RBC 수가 빠르게 회복한 것을 보여주는 그래프이다. RBC 수는 사이클로포스파미드 주입 일, 및 4, 8 및 12 일 후에 도 16의 마우스로부터의 심장 혈액 샘플에서 기록하였다. 12 일에 유지방 및 0.25 % Lf+ 결합물에 있어서의 RBC 수가 단지 유지방 또는 단지 0.25 % Lf+를 주

입한 경우에서 보다 현저하게 증가하였으며, 이것은 상승 효과의 증거이다.

[0127] 도 19는 대조식이 요법을 공급한 마우스에서 보다 유지방, 0.25 % Lf+ 또는 후자의 결합물을 함유하는 식이 요법을 공급한 마우스에서 사이클로포스파미드 화학요법 후에 HCT가 신속하게 회복한 것을 보여주는 그래프이다. HCT(RBC 부피)는 사이클로포스파미드 주입 일, 및 4, 8 및 12 일 후에 도 16의 마우스로부터의 심장 혈액 샘플에서 기록하였다. 12 일에 유지방 및 0.25 % Lf+ 결합물에 있어서의 HCT가 단지 유지방 또는 단지 0.25 % Lf+에 있어서 보다 현저하게 증가하였으며, 이것은 상승 효과의 증거이다.

[0128] 도 20은 대조식이 요법에서 보다 유지방, 0.25 % Lf+ 또는 후자의 결합물을 함유하는 식이 요법을 공급한 마우스에서 사이클로포스파미드 화학요법 후의 헤모글로빈이 신속하게 회복한 것을 보여주는 그래프이다. 헤모글로빈은 사이클로포스파미드 주입 일, 및 4, 8 및 12 일 후에 도 16의 마우스로부터의 심장 혈액 샘플에서 기록하였다. 12 일에 유지방 및 0.25 % Lf+ 결합물에 있어서의 헤모글로빈이 단지 유지방 또는 단지 0.25 % Lf+에 있어서 보다 컸다. 단지 0.25 Lf+ 만을 공급한 것과 비교하면 현저하게 크다.

[0129] 도 21은 Lf+가 있거나 또는 없이 유지방을 함유하는 식이 요법을 공급한 마우스에서의 사이클로포스파미드 화학요법 이후에 유지방이 체중을 증가시킨다는 것을 보여주는 그래프이다. 체중은 사이클로포스파미드 주입 일, 및 4, 8 및 12 일 후에 도 16의 마우스에서 기록하였다. 매일 기록한 결과를 모아보면 유지방을 공급한 임의의 마우스에 있어서의 중량이 유지방을 공급하지 않은 군에서 보다 현저하게 컸다.

[0130] 본 발명의 상세한 설명

[0131] 1. 정의

[0132] "무수 유지방(anhydrous milk fat)" 및 "AMF"라는 용어는 여기서 서로 교환하여 사용하였으며, 크림의 상 전환에 의해서 또는 용융 버터로부터 생성되는 유지방 분획물을 나타낸다. 유지방은 이에 제한하지는 않지만 소, 양, 염소, 돼지, 마우스, 물소, 낙타, 야크, 말, 당나귀, 라마 또는 인간 유지방을 포함하는 임의의 포유류의 유지방일 수 있으며, 소의 유지방이 바람직한 공급원이다. AMF의 제조에 통상적으로 사용하는 방법은 이의 전문이 여기에 혼입된 Bylund(Ed., 1995)에 기재되어 있다. 바람직한 AMF는 통상적으로 약 60 %, 약 70 %, 약 80 %, 약 90 %, 약 95 %, 약 95 % 이상, 약 96 %, 약 97 %, 약 98 %, 약 99 %, 약 99.5 % 또는 100 % 지방이며, 약 99 % 지방, 99.5 % 지방 또는 그 이상의 AMF가 보다 바람직하다. AMF는 흔히 "경질"(H) 및 "연질"(S) 분획물로 추가 분획화되며, 후자는 추가로 "연질 경질"(SH) 및 "연질 연질"(SS) 분획물로 추가 분획화될 수 있으며, 후자는 다시 추가로 "연질 연질 경질"(SSH) 및 "연질 연질 연질"(SSS) 분획물로 분획화될 수 있다. 감사하게도 각 분획물의 지방산 조성이 상이하다. AMF 및 유도체 분획물에 있어서의 비-제한적인 전형적 지방산 조성은 하기 표 1 내지 5에 나타났다.

표 1

대표적인 AMF 조성물

지방산 성분	평균 (% w/w)	최소량 (% w/w)	최대량 (% w/w)
c4:0 (부티르산)	3.6	3.3	4.1
c6:0 (카프로산)	2.2	1.9	2.4
c8:0 (카프릴산)	1.2	1.1	1.4
c10:0 (카프르산)	2.6	2.2	2.8
c10:1 (2-데세노에이트)	0.3	0.3	0.3
c12:0 (라우르산)	2.9	2.5	3.2
c12:1 (11-도데세노산)	0.1	0.1	0.1
c13:0 br (트리데카노산 br)	0.1	0.1	0.1
c13:0 (트리데카노산)	0.1	0.1	0.1
c14:0 br (미리스트산 br)	0.2	0.1	0.2
c14:0 (미리스트산)	10.4	9.5	10.8
c14:1 (미리스톨레산)	0.9	0.6	1.0
c15:0 이소	0.4	0.3	0.5
c15:0 ante-이소	0.6	0.5	0.7
c15:0 (펜타데카노산)	1.4	1.1	1.5
c16:0 br	0.3	0.2	0.3
c16:0 (팔미트산)	28.7	25.4	30.4
c16:1 (팔미톨레산)	1.9	1.6	2.0
c17:0 이소	0.7	0.6	0.7
c17:0 ante-이소	0.5	0.5	0.5
c17:0 (마르가르산)	0.7	0.6	0.8
c17:1	0.3	0.3	0.4
c18:0 (스테아르산)	11.5	10.8	13.6
c18:1 (올레산)	23.4	21.8	26.4
c18:2 (리놀레산)	1.4	1.3	1.7
c18:2 conj	1.3	1.0	1.8
c18:3	0.8	0.7	0.9
c20:0 (아라키드산)	0.2	0.1	0.2
c20:1	0.3	0.2	0.3

[0133]

표 2

대표적인 분획물 H 조성물

지방산 성분	평균 (% w/w)	최소량 (% w/w)	최대량 (% w/w)
c4:0 (부티르산)	2.0	1.8	2.1
c6:0 (카프로산)	1.3	1.2	1.4
c8:0 (카프릴산)	0.8	0.8	0.9
c10:0 (카프르산)	2.2	1.9	2.4
c10:1 (2-데세노에이트)	0.2	0.1	0.2
c12:0 (라우르산)	3.0	2.6	3.4
c12:1 (11-도데세노산)	0.0	0.0	0.1
c13:0 br (트리데카노산 br)	0.1	0.1	0.1
c13:0 (트리데카노산)	0.1	0.1	0.1
c14:0 br (미리스트산 br)	0.1	0.1	0.2
c14:0 (미리스트산)	11.8	10.7	12.6
c14:1 (미리스톨레산)	0.6	0.3	0.7
c15:0 이소	0.4	0.3	0.5
c15:0 ante-이소	0.5	0.4	0.6
c15:0 (펜타데카노산)	1.6	1.2	1.7
c16:0 br	0.3	0.3	0.3
c16:0 (팔미트산)	34.8	31.5	36.6
c16:1 (팔미톨레산)	1.3	1.1	1.6
c17:0 이소	0.8	0.7	0.8
c17:0 ante-이소	0.5	0.5	0.6
c17:0 (마르가르산)	0.9	0.8	0.9
c17:1	0.2	0.2	0.3
c18:0 (스테아르산)	15.2	13.9	19.7
c18:1 (올레산)	17.0	15.5	19.8
c18:2 (리놀레산)	1.3	1.1	1.5
c18:2 conj	0.8	0.6	1.1
c18:3	0.5	0.4	0.6
c20:0 (아라키드산)	0.2	0.2	0.3
c20:1	0.2	0.1	0.2

[0134]

표 3

대표적인 분획물 SH 조성물

지방산 성분	평균 (% w/w)	최소량 (% w/w)	최대량 (% w/w)
c4:0 (부티르산)	4.0	3.7	4.3
c6:0 (카프로산)	2.4	2.1	2.6
c8:0 (카프릴산)	1.2	1.1	1.4
c10:0 (카프르산)	2.4	2.2	2.7
c10:1 (2-데세노에이트)	0.3	0.2	0.3
c12:0 (라우르산)	2.5	2.3	2.7
c12:1 (11-도데세노산)	0.1	0.0	0.1
c13:0 br (트리데카노산 br)	0.1	0.1	0.1
c13:0 (트리데카노산)	0.1	0.1	0.1
c14:0 br (미리스트산 br)	0.1	0.1	0.2
c14:0 (미리스트산)	9.8	9.0	10.3
c14:1 (미리스톨레산)	0.8	0.5	0.9
c15:0 이소	0.4	0.3	0.4
c15:0 ante-이소	0.5	0.4	0.6
c15:0 (펜타데카노산)	1.4	1.1	1.5
c16:0 br	0.2	0.2	0.3
c16:0 (팔미트산)	32.8	29.8	34.0
c16:1 (팔미톨레산)	1.5	1.3	1.8
c17:0 이소	0.6	0.6	0.7
c17:0 ante-이소	0.4	0.4	0.5
c17:0 (마르가르산)	0.8	0.8	0.9
c17:1	0.3	0.2	0.3
c18:0 (스테아르산)	13.2	12.5	16.1
c18:1 (올레산)	19.5	17.4	22.2
c18:2 (리놀레산)	1.3	1.2	1.5
c18:2 conj	1.2	1.0	1.6
c18:3	0.7	0.6	0.7
c20:0 (아라키드산)	0.2	0.2	0.3
c20:1	0.2	0.2	0.3

[0135]

표 4

대표적인 분획물 SSH 조성물

지방산 성분	평균 (% w/w)	최소량 (% w/w)	최대량 (% w/w)
c4:0 (부티르산)	4.0	3.9	4.3
c6:0 (카프로산)	2.4	2.2	2.6
c8:0 (카프릴산)	1.4	1.2	1.6
c10:0 (카프르산)	2.8	2.4	3.4
c10:1 (2-데세노에이트)	0.3	0.3	0.3
c12:0 (라우르산)	3.2	2.7	3.8
c12:1 (11-도데세노산)	0.1	0.1	0.1
c13:0 br (트리데카노산 br)	0.1	0.1	0.1
c13:0 (트리데카노산)	0.1	0.1	0.1
c14:0 br (미리스트산 br)	0.2	0.1	0.2
c14:0 (미리스트산)	11.5	10.6	12.2
c14:1 (미리스톨레산)	0.9	0.7	1.0
c15:0 이소	0.4	0.4	0.5
c15:0 ante-이소	0.6	0.6	0.7
c15:0 (펜타데카노산)	1.4	1.2	1.5
c16:0 br	0.3	0.2	0.3
c16:0 (팔미트산)	28.6	25.7	30.0
c16:1 (팔미톨레산)	1.8	1.6	2.0
c17:0 이소	0.7	0.6	0.7
c17:0 ante-이소	0.5	0.5	0.5
c17:0 (마르가르산)	0.7	0.6	0.8
c17:1	0.3	0.3	0.4
c18:0 (스테아르산)	10.6	10.2	11.3
c18:1 (올레산)	22.2	20.3	24.8
c18:2 (리놀레산)	1.4	1.3	1.5
c18:2 conj	1.3	1.1	1.7
c18:3	0.8	0.8	1.0
c20:0 (아라키드산)	0.2	0.1	0.2
c20:1	0.2	0.0	0.3

[0136]

표 5

대표적인 분획물 SSS 조성물

지방산 성분	평균 (% w/w)	최소량 (% w/w)	최대량 (% w/w)
c4:0 (부티르산)	4.4	4.0	4.7
c6:0 (카프로산)	2.7	2.4	2.8
c8:0 (카프릴산)	1.6	1.4	1.8
c10:0 (카프르산)	3.4	2.8	3.7
c10:1 (2-데세노에이트)	0.4	0.3	0.4
c12:0 (라우르산)	3.7	3.2	4.1
c12:1 (11-도데세노산)	0.1	0.1	0.1
c13:0 br (트리데카노산 br)	0.2	0.1	0.2
c13:0 (트리데카노산)	0.1	0.1	0.1
c14:0 br (미리스틴산 br)	0.2	0.2	0.2
c14:0 (미리스틴산)	10.2	9.5	11.0
c14:1 (미리스톨레산)	1.2	0.8	1.3
c15:0 이소	0.5	0.4	0.5
c15:0 ante-이소	0.8	0.7	0.9
c15:0 (펜타데카노산)	1.1	0.9	1.2
c16:0 br	0.3	0.2	0.3
c16:0 (팔미트산)	20.0	18.4	21.1
c16:1 (팔미톨레산)	2.6	2.2	3.0
c17:0 이소	0.6	0.5	0.6
c17:0 ante-이소	0.5	0.5	0.5
c17:0 (마르가르산)	0.4	0.4	0.5
c17:1	0.5	0.5	0.6
c18:0 (스테아르산)	6.7	5.8	7.8
c18:1 (올레산)	30.8	28.2	33.4
c18:2 (리놀레산)	1.9	1.7	2.1
c18:2 conj	1.7	1.3	2.3
c18:3	1.3	1.1	1.4
c20:0 (아라키드산)	0.1	0.1	0.1
c20:1	0.3	0.1	0.4

[0137]

[0138]

"항-종양 식품 인자(anti-tumour food factor)", "항-종양 식품(anti-tumour food)" 및 "항-종양 식품 성분(anti-tumour food component)"이라는 용어는 종양 형성 또는 성장을 억제할 수 있으며, 바람직하게는 유지방 및/또는 락토펜의 활성을 증가시켜 종양 형성 또는 성장을 억제할 수 있는 식품 및 식품 성분을 나타낸다.

[0139]

"항-종양 인자(anti-tumour factors)"라는 용어는 적어도 세포자멸사 인자를 나타내며, 항-종양 세포용해 항체 및 항종양 사이토카인, 예컨대 TNF- α 를 포함할 수 있다.

[0140]

"항-종양 면역 반응(anti-tumour immune response)"라는 용어는 항원-특이적 세포용해 활성(면역 세포, 특히 세포독성 T-림프구의 활성) 및/또는 NK 세포 활성의 발생을 자극하고, 항원에 대한 세포의 면역 반응을 (적어도 세포독성 T-림프구의 활성을 통해서) 개선시키고, 면역 보호를 (적어도 세포독성 T-림프구 및/또는 NK 세포의 활성을 회복시키고, 사이토카인 생성을 강화시켜) 개선시키고, 면역 보호를 (적어도 세포독성 T-림프구 활성 및/또는 NK 세포 활성을 회복 및 자극하고, 사이토카인 생성을 강화시켜) 개선시키고, 전구염증 및 면역조절 매개자(Th1 및 Th2 사이토카인)를 발생시키고 및/또는 항-종양 세포용해 항체 및 항종양 사이토카인, 예컨대 TNF- α 를 발생시키기 위한 유지방 또는 락토펜의 능력을 나타낸다.

[0141]

"항악액질제(anticachectic agent)"라는 용어 및 이의 문법상 변이물질 항악액질제는 악액질을 전환, 저지 또는 포기시킬 수 있는 치료제 또는 피험자의 진행성 체중 감소(지방분해에 의한 체중 감소 및 근육용해에 의한 체중 감소를 포함함), 빈혈증, 부종 및 식용 부진을 포함하는 악액질의 1개 이상의 증상을 경감시킬 수 있는 능력을 가진 치료제를 의미한다. 항악액질제는 사이클로옥시게나아제 억제제(예를 들면 인도메타신), 코르티코스테로이드 및 글루코코르티코이드, 예컨대 프레드니솔론, 메틸프레드니솔론 및 텍사메타존, 프로게스테론제, 예컨대 메게스트롤 아세테이트, 메드루시프로게스테론 아세테이트, 카나비노이드, 예컨대 테트라히드로카나비노이드 및 드로나비놀, 세로토닌 길항제, 예컨대 시프로헵타딘, 프로카이네틴제, 예컨대 메토클로프라미드 및 시사프라이드, 단백동화 스테로이드, 예컨대 난드로론 데카노에이트 및 플루옥시메스테론, 포스포에놀피루베이트 카복시 카이네이즈 억제제, 예컨대 히드라진 설페이트, 메틸잔틴 유사물질, 예컨대 펜톡시필린 및 리소필린, 탈리도마이드, 사이토카인 및 항사이토카인, 예컨대 항-IL-6 항체, IL-12, 분지쇄형-사슬 아미노산, 지질 대사 개선제, 예컨대 에이코사펜타노산, 프로스타글라딘 합성 억제제, 예컨대 인도메타신 및 이부프로펜, 호르몬, 예컨대 멜라토닌, β 2-아드레노셉터 작용제, 예컨대 클렌부테롤, 메토클로프라미드, 성장 호르몬, IGF-1 및 악액질-유도

인자에 대한 항체, TNF-알파, LIF, IL-6 및온코스타딘 M을 포함한다.

- [0142] "항점막염제(antimucositic agent)"라는 용어는 소화관 손상, 예컨대 열상을 개선시킬 수 있으며, 점막염을 전환, 저지 또는 정지시킬 수 있고, 또는 점막염의 증상을 경감시킬 수 있는 능력을 가지는 치료제를 의미한다.
- [0143] 본 명세서에서 사용하는 "포함하는(comprising)"이라는 용어는 "적어도 일부분을 구성하는(consisting at least in part of)"라는 것을 의미한다. 상기 용어, 특성, 각 설명에서 상기 용어로 시작되는 것을 포함하는 본 명세서에서의 설명을 해석하는 경우에 모두 존재해야 하지만 다른 특성들도 또한 존재할 수 있다. 관련된 용어, 예컨대 "포함하다(comprise)" 및 "포함된(comprised)"이라는 용어는 동일한 의미로 해석할 수 있다.
- [0144] "유효량(effective amount)"은 치료적으로 효과를 얻기 위해서 요구되는 양이다. 동물 및 인간에 있어서의 투여량(체표의 미터 제곱 당 밀리그램을 기본으로 함)의 상호관련성은 (1966) Freireich 등이 기재하였다. 체표면적은 대략적으로 피험자의 키와 체중으로부터 결정할 수 있다. 예를 들어 Scientific Tables, Geigy Pharmaceuticals, Ardley, New York, 1970, 537를 참조할 수 있다. 유효량은 또한 당업에 통상의 지식을 가진 자들에게 알려져 있는 것과 같이 투여 경로, 부형제 사용 등에 따라 다양하다.
- [0145] "면역계 강화(enhance the immune system)" 및 "면역계 자극(stimulate the immune system)"이라는 용어(및 이러한 용어의 여러가지 시제등)는 항원-특이적 세포용해 활성(면역세포, 특히 세포독성 T-림프구의 활성) 및/또는 NK 세포 활성의 발생을 자극하고, 항원에 대한 (적어도 세포독성 T-림프구의 활성을 통한) 세포의 면역 반응을 개선시키고, 면역 보호를 (적어도 세포독성 T-림프구 및/또는 NK 세포의 활성을 회복시키고, 및 사이토카인 생성을 강화시킴으로써) 개선시키고, 면역 보호를 (적어도 세포독성 T-림프구 활성 및/또는 NK 세포 활성을 복원 또는 자극시키고, 사이토카인 생성을 강화시킴으로써) 개선시키고, 또는 전구염증 및 면역조절 매개자(Th1 및 Th2 사이토카인)를 발생시키기 위한 유지방의 능력을 나타낸다.
- [0146] "관능성 락토페린 단편물질(functional lactoferrin fragment)"라는 용어는 하기 실시예에 따라 분석하는 경우의 활성을 가지는 락토페린 폴리펩티드의 일부를 자연적으로 또는 비-자연적으로 발생시키는 것을 의미하며, 금속 이온 관능성 단편물질을 포함한다. 유용한 락토페린 단편물질은 절단된 락토페린 폴리펩티드, 락토페린의 금속 이온-결합 가수분해물질, N-로브 금속 이온 결합 포켓을 포함하는 단편물질, C-로브 금속 이온 결합 포켓을 포함하는 단편물질, 및 (인공적으로 또는 자연적 과정에 의해서) 발생되고, 하기에서 언급한 것과 같이 공지된 기술에 의해서 규명된 금속-이온 결합 단편물질을 포함한다. 공개된 국제 특허 출원 WO 2006/054908 및 WO 2007/043900에서는 락토페린 단편물질의 제조 및 용도에 관해서 기록되어 있으며, 여기에 참고문헌으로 혼입되어 있다.
- [0147] "관능성 락토페린 변이물질(functional lactoferrin variant)"이라는 용어는 하기의 실시예에 따라 분석하는 경우 활성을 가지는 락토페린 폴리펩티드의 변이물질을 의미하며, 금속 이온 관능성 변이물질을 포함한다.
- [0148] 락토페린 폴리펩티드, 관능성 변이물질 또는 관능성 단편물질과 관련하여 사용하는 경우 "글리코실화(glycosylated)"라는 용어는 락토페린이 자연적으로 또는 비-자연적으로 발생하는 인간 또는 소의 글리코실 기로 완전하게 또는 부분적으로 글리코실화된 것을 의미한다. 락토페린의 글리코실화 및 글리코실 형태는 [Pierce 등 (1991); Metz-Boutigue 등 (1984); van Veen 등 (2004) 참조] 공지되어 있다.
- [0149] "조혈제(hematopoietic agent)"라는 용어는 혈액 생성 및/또는 임파구 생성을 조절 및 바람직하게는 자극할 수 있는 능력을 가진 치료제를 의미하며, 적혈구, 림프구 또는 골수 세포와 같은 혈액 세포의 수를 증가시키거나 또는 헤모글로빈의 양을 증가시켜 혈액의 질을 개선시키는 치료제를 포함한다. 바람직한 조혈제는 빈혈증의 치료에 유용하다. 대표적인 조혈제는 조혈, 림프구 생성 및 골수 성장 인자, 및 제조합 균등물, 예컨대 에포에틴 알파를 포함하는 에리스로포이에틴, 트롬보포이에틴, IL-1-12, IL-20과립구/대식세포 집락-자극 인자(GM-CSF)(사그라모스틴 포함)(LEUKINE), 단핵구/대식세포 집락-자극 인자(M-CSF 또는 CSF-1), 대식세포 집락-자극 인자(M-CSF), 과립구 집락-자극 인자(G-CSF)(필그라스틴 포함)(NEUPOGEN), 줄기 세포 인자(SCF), FTL-3 리간드(FL), 철 및 철 염, 예컨대 제1철 설페이트, 제1철 푸마레이트, 제1철 글루코네이트 등, 제2철 에데데이트, 철 텍스트란, 소듐 제2철 글루코네이트 복합체(FERRLECIT), 피리독신, 리보플라빈, B12를 포함하는 비타민 및 염산을 포함한다. 또한 Goodman & Gilman의 The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10th Edition, Harman JG 및 Limbird LE eds., McGraw-Hill, New York, Chapter 54. Hematopoietic Agents: Growth Factors, Minerals, 및 Vitamins, pp1487-1517를 참조할 수 있다.
- [0150] "피험자의 반응성 증가(increasing the responsiveness of a subject)"라는 용어는 피험자에게서 본 발명의 방법을 적용시키지 않은 피험자에서 보다 중앙 성장 비율, 중앙 크기 또는 질환의 임상적 증상을 현저하게 감소시

킨 다는 것을 나타내는 것을 의미한다. 하나의 실시양태에서 치료 피험자는 또한 비타민 영양 상태의 복원, 화학요법 시간의 감소, 화학요법의 양 감소, 면역력의 증가, 영양 건강 상태의 증가, 악액질 감소, 점막염 감소, 빈혈증 감소, 혈액적 억압 감소 또는 혈액 생성 증가 중 1개 이상의 잇점을 가진다.

- [0151] "종양의 민감도 증가(increasing the sensitivity of a tumour)"라는 용어는 종양이 종양 성장 비율, 종양 크기의 현저한 감소를 나타내거나 또는 종양이 근절되는 반면에 본 발명의 방법에 적용시키지 않은 종양이 이러한 효과를 나타내지 않는 것을 의미한다.
- [0152] "면역요법제(immunotherapeutic agent)"라는 용어는 항-종양 면역 활성을 자극하는 치료제를 의미하며, 또한 여기서는 항-종양 면역성 및 항-종양 면역 반응(들)을 나타낸다. 항-종양 면역 활성을 자극하는 치료제는 T-세포 및/또는 NK 세포가 종양 세포를 죽이도록 직접 또는 간접적으로 자극하는 것이 바람직하다. 선택 치료제가 항-종양 면역 활성을 자극하는 지를 평가하는 대표적인 생체의 분석법은 하기에 기재한 CTL 분석법이다.
- [0153] "종양 형성의 억제(inhibiting tumour formation)"라는 용어는 종양을 형성하지 않거나, 또는 종양을 형성하더라도 확립 또는 성장시키지 않거나, 또는 종양을 형성하더라도 작고, 양성 상태로 남아있도록 하거나, 독성화 또는 전이되지 않도록 하거나, 또는 종양을 아주 서서히 성장하도록 하는 것을 의미한다. 종양 형성은 CT 스캔 및 이용가능한 종양 마커를 통해 모니터링할 수 있다.
- [0154] "종양 성장 억제(inhibiting tumour growth)"라는 용어는 본 발명에 따라 치료한 피험자에게서 종양이 형성되지 않거나, 또는 본 발명에 따라 치료한 피험자에게 존재할 수 있는 1개 이상의 종양의 크기가 성장하지 않거나 또는 독성화 또는 전이되지 않거나, 또는 본 발명에 따라 치료한 피험자에 존재하는 1개 이상의 종양의 크기가 바람직하게는 약 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 또는 100 부피% 이상으로 감소하거나, 또는 본 발명에 따라 치료한 피험자에 존재하는 1개 이상의 종양이 근절되는 것을 의미한다. 종양 크기는 CT 스캔 및 이용가능한 종양 마커를 통해 모니터링할 수 있다.
- [0155] 여기서 사용하는 "철-락토페린(iron-lactoferrin)" 및 "철-포화된 락토페린(iron-saturated lactoferrin)"이라는 용어는 전집단 내에 존재하는 금속 이온-결합 포켓의 약 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99.5, 99.9 또는 100 % 이상이 철 이온 결합 상태인 철-결합 포켓의 집단을 제공하는 락토페린 폴리펩티드의 집단을 나타낸다.
- [0156] "락토페린 폴리펩티드(lactoferrin polypeptide)"라는 용어는 하기에 기재한 것과 같은 다른 종으로부터의 비-글리코실화 또는 글리코실화 야생형 락토페린 아미노산 서열 또는 상동의 락토페린 서열을 나타낸다. 락토페린 폴리펩티드는 두개의 금속-이온 결합 포켓을 가지므로 락토페린 분자 당 2개의 금속 이온의 화학량론적 비율로 금속 이온을 결합할 수 있다. 하나의 금속-이온 결합 포켓은 락토페린의 N-터미널 로브(N-로브)에 존재하며, 다른 포켓은 C-터미널 로브(C-로브)에 존재한다(Moore 등, 1997). 소 및 인간의 락토포트랜스페린(락토페린 전구 물질), 락토페린 및 이의 펩티드의 확증된 서열은 Swiss-Prot(<http://au.expasy.org/cgi-bin/sprot-search-ful>)에서 확인할 수 있다. 나타낸 락토페린 폴리펩티드는 소의 락토포트랜스페린 전구물질 등록 번호 P24627, 소의 락토페린, 인간의 락토포트랜스페린 전구물질 등록 번호 P02788 및 인간 락토페린을 포함한다. 공개된 국제 특허 출원 WO 2006/054908 및 WO 2007/043900에서는 락토페린 폴리펩티드 및 이의 아미노산 서열의 제조 및 용도를 기록하고 있으며, 각 출원은 참고문헌으로서 여기에 혼입되어 있다. 락토페린 폴리펩티드는 금속 이온, 통상적으로는 철 이온의 "천연(natural)" 양을 결합할 수 있다. 예를 들면 소 락토페린은 자연적으로 약 10 % 내지 20 % (바람직하게는 15 %)의 철이 포화되어 있다. 1 % 이상의 금속 이온 포화의 아포-락토페린 및 락토페린이 여기서 유용하다.
- [0157] "큰 종양(large tumour)"이라는 용어는 1개 이상의 면역요법, 항-혈관신생 또는 화학요법 치료제로 치료하는 것에 저항하는 종양, 바람직하게는 1개 이상의 면역요법 또는 화학요법 치료제로 치료하는 것에 저항하는 종양을 의미한다. 하나의 실시양태에서 큰 종양은 직경이 약 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 또는 0.8 cm 이상인 종양이다. 하나의 실시양태에서 큰 종양은 직경이 약 0.3 내지 약 0.8, 약 0.4 내지 약 0.8, 약 0.5 내지 약 0.8, 약 0.6 내지 약 0.8 또는 약 0.7 내지 약 0.8 cm인 종양이다. 하나의 실시양태에서 큰 종양은 면역요법 또는 항-혈관신생 요법 또는 화학요법에 의한 치료에 저항하는 종양이다.
- [0158] "금속 이온 결합(metal ion-binding)"이라는 용어는 철 결합 포켓을 형성할 수 있는 락토페린 폴리펩티드의 단편물질의 철 결합 포켓 또는 락토페린 폴리펩티드의 철 결합 포켓에서의 금속 철의 결합을 나타낸다.
- [0159] "금속 이온 락토페린(metal ion lactoferrin)" 및 "금속 이온-포화된 락토페린(metal ion-saturated lactoferrin)"이라는 용어는 집단에 존재하는 금속 이온-결합 포켓의 약 25 % 이상이 금속 철 결합을 가지는 금

속 철-결합 포켓의 집단을 제공하는 락토페린 폴리펩티드의 집단을 나타낸다. 이러한 집단은 상이한 종의 폴리펩티드를 함유할 수 있다; 예를 들면 철을 결합하지 않은 몇몇 분자 및 다른 것은 1개 또는 2개의 철을 결합한 것. 여러가지 금속 철을 사용하는 경우에 몇몇 분자들은 예를 들면 알루미늄, 비스무스, 구리, 크롬, 코발트, 금, 철, 망간, 오스뮴, 백금, 루테튬, 아연 이온 또는 기타 이온(락토페린 금속 이온 결합 포켓에 특이적으로 결합함)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 금속 이온을 결합할 수 있으며, 다른 것들은 여러가지 이온을 결합할 수 있다. 몇몇 경우에 집단은 폴리펩티드에 1개 이상의 이온, 바람직하게는 금속 이온이 비-특이적으로 결합된, 즉 금속-이온 결합 포켓에 결합되지 않은 비-특이적 이온 결합과 관련된 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 락토페린 폴리펩티드에 비-특이적으로 결합할 수 있는 비-제한적인 이온의 예로는 칼슘 및 셀레늄이 있다.

[0160] 동일하게 "금속 이온 락토페린 단편물질(metal ion lactoferrin fragment)" 및 "금속 이온-포화된 락토페린 단편물질(metal ion-saturated lactoferrin fragment)"이라는 용어는 집단에 존재하는 금속 이온 결합 포켓의 약 25 % 이상이 금속 이온 결합을 가지는 금속 이온-결합 포켓의 집단을 제공하는 락토페린 폴리펩티드 단편물질의 집단을 나타낸다.

[0161] 본 발명은 락토페린 폴리펩티드 및 락토페린 단편물질의 혼합물을 이용할 수 있다. 이러한 실시양태에서 금속 이온-결합 포켓의 집단은 모든 락토페린 폴리펩티드에 있어서의 두개의 포켓 및 모든 락토페린 단편물질(단편물질의 특성에 따라 달라짐)에 있어서의 1개 또는 두개의 포켓으로 구성되어 있다.

[0162] 포화의 정도는 분광광도 분석으로 결정할 수 있다(Brock & Arzabe, 1976; Bates 등, 1967; Bates 등, 1973). 락토페린 폴리펩티드 사이에는 금속 이온-교환이 있을 수 있다는 것을 알아야 한다. 하나의 실시양태에서 철 포화 락토페린은 Law 등(1977)의 방법에 의해 제조할 수 있다. 또 다른 실시양태에서 철 포화 락토페린은 Kawakami 등(1993)의 방법에 따라 제조할 수 있다. 금속-이온 포화 락토페린은 락토페린 분자 또는 락토페린 단편물질 상에 금속 이온 결합 포켓, 예컨대 Fe 결합 포켓 및 다른 비-특이적 결합 부위를 포함하는, 락토페린에서 금속 이온 결합 부위에 금속 이온을 결합함으로써 제조할 수 있다.

[0163] 하나의 실시양태에서 락토페린 분자 집단에 존재하는 금속 이온-결합 포켓의 약 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99.5, 99.9 또는 100 % 이상이 금속 이온 결합을 가지며, 유용한 범위는 앞에서 언급한 값(예를 들면 약 25 내지 약 100 %, 약 30 내지 약 100 %, 약 35 내지 약 100 %, 약 40 내지 약 100 %, 약 45 내지 약 100 %, 약 50 내지 약 100 %, 약 55 내지 약 100 %, 약 60 내지 약 100 %, 약 65 내지 약 100 %, 약 70 내지 약 100 %, 약 75 내지 약 100 %, 약 80 내지 약 100 %, 약 85 내지 약 100 %, 약 90 내지 약 100 %, 약 95 내지 약 100 % 및 약 99 내지 약 100 %) 중에서 선택할 수 있다. 하나의 실시양태에서 금속 이온 락토페린은 과잉-포화 락토페린이다.

[0164] "금속 이온 락토페린 관능성 단편물질(metal ion lactoferrin functional fragment)"이라는 용어는 하기의 실시예에 따라 분석하는 경우 활성을 가지는 1개 또는 2개의 금속 이온 결합 포켓을 가지는 락토페린 폴리펩티드의 일부를 자연적으로 또는 비-자연적으로 발생시키는 것을 의미한다. 유용한 락토페린 단편물질은 절단된 락토페린 폴리펩티드, 락토페린의 금속 이온-결합 가수분해물질, N-로브 금속 이온 결합 포켓을 포함하는 단편물질, C-로브 금속 이온 결합 포켓을 포함하는 단편물질 및 하기에서 기재된 공지된 기술에 의해 규명되고, (인공적 또는 자연적 공정으로) 발생된 금속 이온-결합 단편물질을 포함한다.

[0165] "유지방(milk fat)"이라는 용어는 포유류의 지질 및 지질 분획물, 지질 가수분해물질 및 지질 분획물 가수분해물질을 포함한다. 바람직한 유지방은 낙농 지방, 특히 소의 유지방이다. 바람직한 유지방은 존재하는 가장 풍부한 지방산(들)인 팔미트산, 올레산, 스테아르산 및 미리스트산 중 1개 이상을 가지며, 바람직하게 팔미트산, 올레산, 스테아르산 및 미리스트산이 존재하는 가장 풍부한 지방산이다. 특히 바람직한 실시양태에서 유지방은 a) 보통의 소의 유지방에서와 같은 실제로 동일한 중량%의 팔미트산을 가지며[약 23 %(w/w) 내지 약 32 %(w/w), 통상적으로는 약 28 %(w/w) - Table 1.2, PF Fox 및 PLH McSweeney eds, Advanced Dairy Chemistry Volume 2 - Lipids, 3rd Ed, Springer NY, NY (2006) ISBN-10:0-387-26364-0 참조]; b) 보통의 소의 유지방에서와 같은 실제로 동일한 중량%의 올레산을 가지며[약 15 %(w/w) 내지 약 22 %(w/w), 통상적으로는 약 17 %(w/w) - Fox 및 McSweeney *ibid* 참조]; c) 보통의 소의 유지방에서와 같은 실제로 동일한 중량%의 스테아르산을 가지며[약 10 %(w/w) 내지 약 15 %(w/w), 통상적으로는 약 12 %(w/w) - Fox 및 McSweeney *ibid* 참조]; d) 보통의 소의 유지방에서와 같은 동일한 중량%의 미리스트산을 가지며[약 9 %(w/w) 내지 약 12 %(w/w), 통상적으로는 약 11 %(w/w) - Fox 및 McSweeney *ibid* 참조]; e) 보통의 소의 유지방에서와 같은 동일한 중량%의 부티르산을 가지며[약 3 %(w/w) 내지 약 5 %(w/w), 통상적으로는 약 4 %(w/w) - Fox 및 McSweeney *ibid* 참조]; f) 상기 a), b), c), d) 또는 e) 중 두개를 가지며; g) 상기 a), b), c), d) 또는 e) 중 세개를 가지며; h) 상기 a), b), c), d) 또는

e) 중 네개를 가지며; i) 상기 a), b), c), d) 및 e) 각각을 가진다. 무수 유지방(AMF)이 바람직하며, 특히 보통의 소 유지방과 같이 실제로 동일한 중량%의 팔미트산, 올레산 및 스테아르산 조성물을 가지는 특별한 AMF, 보다 바람직하게는 보통의 소의 유지방과 같은 실제로 동일한 지방산 조성물을 가진다(Fox 및 McSweeny *ibid* 참조).

[0166] "유지방 유사물질(milk fat analogue)"이라는 용어는 (바람직하게는 존재하는 팔미트산, 올레산, 스테아르산 및 미리스트산이 가장 풍부한 지방산임) 존재하는 가장 풍부한 지방산(들)인 팔미트산, 올레산, 스테아르산 또는 미리스트산 중 1개 이상을 제공하기 위해 혼련되는 식물, 동물 또는 해상 오일의 결합물을 포함하므로 유지방 유사물질은 a) 보통의 소의 유지방에서와 같이 실제로 동일한 중량%의 팔미트산을 가지며[약 23 %(w/w) 내지 약 32 %(w/w), 통상적으로는 약 28 %(w/w) - Fox 및 McSweeny *ibid* 참조]; b) 보통의 소의 유지방에서와 같은 실제로 동일한 중량%의 올레산을 가지며[약 15 %(w/w) 내지 약 22 %(w/w), 통상적으로는 약 17 %(w/w) - Fox 및 McSweeny *ibid* 참조]; c) 보통의 소의 유지방에서와 같은 실제로 동일한 중량%의 스테아르산을 가지며[약 10 %(w/w) 내지 약 15 %(w/w), 통상적으로는 약 12 %(w/w) - Fox 및 McSweeny *ibid* 참조]; d) 보통의 소의 유지방에서와 같은 동일한 중량%의 미리스트산을 가지며[약 9 %(w/w) 내지 약 12 %(w/w), 통상적으로는 약 11 %(w/w) - Fox 및 McSweeny *ibid* 참조]; e) 보통의 소의 유지방에서와 같은 동일한 중량%의 부티르산을 가지며[약 3 %(w/w) 내지 약 5 %(w/w), 통상적으로는 약 4 %(w/w) - Fox 및 McSweeny *ibid* 참조]; f) 상기 a), b), c), d) 또는 e) 중 두개를 가지며; g) 상기 a), b), c), d) 또는 e) 중 세개를 가지며; h) 상기 a), b), c), d) 또는 e) 중 네개를 가지며; i) 상기 a), b), c), d) 및 e) 각각을 가진다. 적당한 오일은 야자, 올리브, 대두, 캐놀라, 콘, 썬플라워, 홍화, 땅콩, 포도씨, 참깨, 넛트, 아몬드, 캐슈, 개암, 마카다미아, 피칸, 피스타치오 및 호두를 포함하는 식용가능한 또는 쿠킹 오일을 포함할 수 있으며, 다른 식용가능한 것으로는 아사이, 아마란스, 살구, 아르간, 아티초크, 아보카도, 바바슈야자, 고추냉이, 까막까치밥 씨, 보리씨, 보르네오 우지 넛트, 조롱박, 들소호리병박, 카롭 열매(알가로바), 코후네, 코리엔더 씨, 달맞이꽃, 양구슬냉이(false flax), 대마, 케이폭 씨, 라레만티아(lallemantia), 메도폼 씨, 머스타드, 오크라 씨(하이비스커스 씨), 들깨 씨, 페키, 파인넛트, 양귀비 씨, 마른자두 열매, 호박씨, 퀴노아, 람틸(ramtil), 쌀겨, 차(동백나무), 엉겅퀴, 수박씨 및 위점 오일, 조개, 어류, 멸치, 바이칼, 훈제청어, 카샤, 잉어, 뱀장어, 율라콘, 청어, 호키, 힐사, 잭 피쉬, 달고기(katla), 연어수컷, 고등어, 오렌지 러피, 팡가스(pangas), 필카드(pilchard), 은대구, 연어, 정어리, 상어, 스프라트, 송어, 참치, 뱀어 및 황새치 오일을 포함하는 해상 오일, 및 이것들의 두개 이상의 결합물을 포함한다.

[0167] "경구 투여(oral administration)"라는 용어는 경구, 구강, 장 및 위내 투여를 포함한다.

[0168] "비경구 투여(parenteral administration)"라는 용어는 이에 제한하지는 않지만 국소(진피, 상피 또는 점막 표면에 투여하는 것을 포함함), 피하, 정맥내, 복강내, 근육내 및 종양내(종양에 직접 투여하는 것을 포함함) 투여를 포함한다.

[0169] "약물학적 허용 담체(pharmaceutically acceptable carrier)"라는 용어는 이에 제한하지는 않지만 본 발명의 조성물의 성분으로서 피험자에게 투여할 수 있는 부형제, 희석제 또는 보조제를 포함하는 담체를 나타낸다. 바람직한 담체는 조성물의 활성을 감소시키지 않으며, 락토페린 폴리펩티드, 또는 이의 관능성 변이물질 또는 이의 관능성 단편물질을 투여하는 경우에 예를 들면 시스-9, 트랜스-11 CLA 및 TVA를 포함하는, 유효량의 유지방, 유지방 유도체질 또는 이의 성분을 운반하기 위해 유효량을 투여하는 경우에 독성이 없다. 상기 제제는 경구, 코 또는 비경구로 투여할 수 있다.

[0170] "피험자(subject)"라는 용어는 동물, 바람직하게는 포유류, 보다 바람직하게는 포유류 반려 동물 또는 인간을 나타낸다. 바람직한 반려 동물은 고양이, 개 및 말을 포함한다.

[0171] "과잉-포화된 락토페린(super-saturated lactoferrin)"이라는 용어는 결합 포켓의 100 %를 채우기 위해 충분한 금속 이온을 이용할 수 있으며, 추가 금속 이온이 락토페린 폴리펩티드 또는 락토페린 단편물질 상의 비-특이적 결합 부위에 의해 존재 및 결합되는 금속 이온-결합 포켓의 집단을 제공하기 위한 락토페린 폴리펩티드 또는 관능성 단편물질의 집단을 나타낸다. 즉 화학량론적 금속 이온 초과량이 제공된다. 결합 포켓 사이, 비-특이적 결합 부위 사이 및 결합 포켓과 비-특이적 결합 부위 사이에서의 금속 이온 교환이 발생하지만 과잉-포화된 락토페린을 포함하는 본 발명의 조성물에 유리 금속 이온이 존재하지 않는 것이 바람직하다. 과잉-포화된 락토페린은 불용성 응집물질을 형성하지 않는 것이 바람직하다. 하나의 실시양태에서 과잉-포화된 락토페린은 약 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195 또는 200 % 이상의 금속 이온, 바람직하게는 철이 포화되는 것이다. 유용한 포화 범위는 약 25 내지 약 200 %, 약 30 내

지 약 200 %, 약 35 내지 약 200 %, 약 40 내지 약 200 %, 약 45 내지 약 200 %, 약 50 내지 약 200 %, 약 55 내지 약 200 %, 약 60 내지 약 200 %, 약 65 내지 약 200 %, 약 70 내지 약 200 %, 약 75 내지 약 200 %, 약 80 내지 약 200 %, 약 85 내지 약 200 %, 약 90 내지 약 200 %, 약 95 내지 약 200 % 및 약 100 내지 약 200 %의 금속 이온 포화를 포함한다.

[0172] "치료(treat)"라는 용어 및 이의 파생어는 넓게 적절한 문맥으로 해석되어야 한다. 상기 용어는 피험자를 완전하게 회복시키기 전까지 치료하는 것을 의미하지는 않는다. 따라서 "치료(treat)"라는 용어는 대체로 피험자의 질병 진행 또는 증상을 실질적으로 정지된 정도로 유지하는 것, 특별한 질병의 증상 또는 고통의 징후의 회복, 개선 및/또는 예방에 대한 피험자의 속도를 증가시키는 것, 또는 피험자의 삶의 질을 연장시키는 것을 포함한다. "치료(treat)"라는 용어는 또한 대체로 민감한 개개인의 건강을 양호하게 유지하고, 질병 예방을 위한 힘을 기르는 것을 포함한다.

[0173] "변이물질(variant)"라는 용어는 1개 이상의 아미노산의 추가, 삭제 또는 치환에 의해서 주어진 종류(예컨대 하기에 나열한 것들)의 락토페린 폴리펩티드 또는 이의 단편물질의 우세한 야생형 아미노산 서열로부터 다양할 수 있는 락토페린 폴리펩티드 또는 락토페린 단편물질을 자연적으로(예를 들면 대립유전자 변이물질) 또는 비-자연적으로(예를 들면 인공적으로 발생시킨 돌연변이물질) 발생시킨 것을 나타낸다.

[0174] 통상적으로 폴리펩티드 서열 변이물질은 하기 실시예에 따라 분석하는 경우에 일반적으로 질적인 생물학적 활성을 가진다. 추가로 이러한 폴리펩티드 서열 변이물질은 약 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % 또는 99 % 이상의 서열 동일성으로 나눌 수 있다. 또한 "변이물질(variant)"이라는 용어의 의미에 포함되는 것으로서는 락토페린 폴리펩티드의 동족체가 있다. 통상적으로 동족체는 여러가지 종으로부터의 폴리펩티드이지만 여기서 기재한 상응하는 폴리펩티드로서의 동일한 생물학적 기능 또는 활성을 실질적으로 공유한다.

[0175] 바람직한 변이물질 폴리펩티드는 바람직하게 참고문헌으로서 여기에 혼입되어 있는 공개된 국제 특허 출원 WO 2006/054908 및 WO 2007/043900에서 기재한 서열을 포함하여, 여기에 기재된 락토페린 서열과 약 70, 75, 80, 85, 90, 95 또는 99 % 이상 동일성을 가지며, 바람직하게는 약 90, 95 또는 99 % 이상의 동일성을 가진다. 변이 단편물질은 바람직하게 공개된 국제 특허 출원 WO 2006/054908 및 WO 2007/043900에서 기재한 서열을 포함하여, 여기에 기재된 단편물질에 약 70, 75, 80, 85, 90, 95 또는 99 % 이상의 동일성을 가지는 것이 바람직하며, 바람직하게는 약 90, 95 또는 99 % 이상의 동일성을 가진다. 동일성은 여기서 기재된 서열, 예컨대 락토페린 폴리펩티드 또는 이의 단편물질에 후보 아미노산 서열을 NCBI (ftp://ftp.ncbi.nih.gov/blast/)로부터 공개적으로 이용가능한 프로그램의 BLAST 스위트(버전 2.2.12; 2005년 8월 28일)를 사용하여 비교함으로써 결정할 수 있다.

[0176] 특별하게 이의 생물학적 활성을 변경하지 않으면서 락토페린 폴리펩티드 서열의 1개 또는 수개의 아미노산을 신중하게 치환한 것도 또한 이용한다. 당업에 통상의 지식을 가진 자들은 표현형 잠재성 아미노산 치환(phenotypically silent amino acid substitutions)을 하는 방법을 알고 있을 것이다[예를 들어 Bowie 등 (1990) 참조].

[0177] "비타민 D(vitamin D)"라는 용어는 비타민 D1[루미스테롤], 비타민 D2[칼시페롤 또는 에르고칼시페롤], 비타민 D3[콜레칼시페롤], 비타민 D4[22-디히드로에르고칼시페롤] 및 비타민 D5[시토칼시페롤] 및 이것의 임의의 2개 이상의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 1개 이상의 비타민 D 화합물을 나타낸다. "비타민 D 유사물질(vitamin D analogue)"이라는 용어는 비타민 D 수용체(VDR)와 결합하고, 활성화시키는 임의의 화합물을 나타낸다. 상기 VDR은 이에 제한하지는 않지만 세포 사이클의 G0/G1 상에서 정지시키고, 성장 촉진 인자, 예컨대 IGF-1을 과소발현시키고, 마이너스 성장 조절제를 과대발현, 예컨대 성장 인자 베타를 형질전환시키고, 종양의 세포자멸사를 야기하고, 종양의 혈관 생성 반응을 저해하고, 종양 전이를 억제하는 종양 세포의 항증식에 영향을 미치는 유전자를 포함하는 유전자의 프로모터/강화 부위에서의 비타민 D 반응 원소(VDRs)와 결합하고, 전사 인자로서 활성을 가지는 리간드-활성 세포내 수용체이다. VDR 결합을 평가하기 위한 분석법은 공지되어 있으며; 예를 들면 비타민 D에 의해 조절되는 유전자 발현을 측정하는 면역분석법이 있다. 따라서 후보 비타민 D 유사물질은 본 발명에 따라 사용하기 위한 실험을 실행하지 않고서 용이하게 평가할 수 있다.

[0178] 2. 낙농 지질 및 지질 분획물

[0179] 낙농 지질은 이로써 참고문헌으로 혼입된 Fox 및 McSweeney(2006)에 포괄적으로 설명되어 있다. 낙농 지질의 분획물은 모두 참고문헌으로서 혼입되어 있는 the Dairy Processing Handbook, 1995 and by Illingworth,

2002, and Rombaut 등, 2006에 설명되어 있다.

- [0180] 본 발명에 따라 유용한 낙농 지질 분획물의 예로는 크림, 버터, 무수 유지방(AMF)(통상적으로 크림 또는 버터의 상 전환에 의해서 생성됨), 버터 우유, 버터 세럼, 경질 유지방 분획물, 연질 유지방 분획물, 스펀고마이엘린 분획물, 유지방 구형 막 분획물, 인지질 분획물 및 복합 지질 분획물, 및 이의 결합물, 및 이의 가수분해물을 포함한다.
- [0181] 유지방의 다단계 분획은 차별적인 결정화에 의해서 실행할 수 있다. 유지방 분획물은 설정 온도로 가열하고, 결정화 또는 고형("스테아린") 및 액상("올레인") 분획물로 분리한다. 다단계 분획은 이전의 분획 단계의 생성물을 이후의 단계에서 재-분획화하는 것을 나타낸다.
- [0182] 다른 분획 방법은 상 전환, 에스테르 교환, 글리세롤 분해, 용매 분획, 초임계 분획, 근 초임계 분획, 증류, 원심분리 분획, 현탁 결정화, 건식 결정화, 변형제(modifier)(예를 들면 비누 또는 유화제)에 의한 분획 및 상기 방법들의 결합 방법을 포함한다.
- [0183] 본 발명의 조성물에 존재하는 지질은 예를 들면 글리코실화, 시알화, 에스테르화, 인산화 또는 가수분해를 포함하는 당업에 공지된 임의의 다른 방법에 의해서 자연적으로, 화학적으로, 효소적으로 완전하게 또는 부분적으로 변형될 수 있다.
- [0184] 지질 가수분해물은 이에 제한하지는 않지만 예를 들어 Fox 및 McSweeney[(2006), Chapter 15 by HC Deeth and CH Fitz-Gerald]에 기재되어 있는 것과 같은 산 가수분해, 염기 가수분해, 리파아제를 사용하는 효소 가수분해 및 미생물 발효를 포함하는 공지된 기술을 사용하여 제조할 수 있다. 염기 가수분해의 하나의 방법은 1 % KOH (에탄올 중)를 첨가하고, 10 분 동안 가열하는 단계를 포함한다. 가수분해 물질은 아세트산 또는 염산으로 중화시킬 수 있다.
- [0185] 유지방 구형 막 물질은 Kanno & Dong-Hyun(1990)의 산화 방법에 따라 분리하고, Kanno 등(1975)에 의해 기재된 것과 같은 메탄올 첨가에 의해서 복합 지질 및 지질단백질 분획물로 추가 분획화시킬 수 있다. 인지질 분획물은 Purthi 등(1970)의 절차에 따라서 아세톤으로 지질 혼합물을 추출하여 분리할 수 있다. 지질 잔류물은 추가로 펜탄으로 간단한 지질의 선택적 추출에 의해서 복합 지질 중에 농축될 수 있다.
- [0186] 하나의 실시양태에서 유지방은 선택적으로 히드록실, 메틸, 에틸 및 프로필 기, 및 이의 염, 에스테르 및 아마이드, 및 이의 결합물로 이루어진 군으로부터 선택된 1개 이상의 기로 치환된, 부티르산(C4:0), 카프로산(C6:0), 카프릴산(C8:0), 카프르산(C10:0), 라우르산(C12:0), 미리스트산(C14:0), 팔미트산(C16:0), 팔미톨레산(C16:1), 스테아르산(C18:0), 올레산(C18:1 시스-9; 시스-9-옥타데세노산), 엘라이드산(C18:1 트랜스-9; 트랜스-9-옥타데세노산), 바세닉산(C18:1 트랜스-11; 트랜스-11-옥타데세노산), 시스-바세닉산(C18:1 시스-11; 시스-11-옥타데세노산), 아라키돈산(C20:0) 및 베헨산(C22:0)으로 이루어진 군으로부터 선택된 1개 이상의 지방산을 포함한다. 선택적 치환기(들)는 탄소 사슬을 따라 임의의 위치에 존재할 수 있다. 바람직한 유지방은 지방산 부티르산, 카프로산, 카프릴산, 카프르산, 라우르산, 미리스트산, 팔미트산, 팔미톨레산, 스테아르산, 올레산 및 엘라이드산, 이의 염, 에스테르 및 아마이드, 및 이들의 결합물을 포함한다. 이러한 지방산은 소의 유지방의 주요한 성분들이다.
- [0187] 하나의 실시양태에서 조성물은 약 0.1, 0.2, 0.5, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 99, 99.5, 99.8 또는 99.9 이상의 중량%의 신선한, 제조합 또는 분말형 전유 또는 우유 유도물질, 바람직하게는 유지방으로 구성되거나 또는 필수적으로 구성된 것을 포함하며, 유용한 범위는 앞의 값 사이에서 선택할 수 있다(예를 들면 약 0.1 내지 약 50 %, 약 0.2 내지 약 50 %, 약 0.5 내지 약 50 %, 약 1 내지 약 50 %, 약 5 내지 약 50 %, 약 10 내지 약 50 %, 약 15 내지 약 50 %, 약 20 내지 약 50 %, 약 25 내지 약 50 %, 약 30 내지 약 50 %, 약 35 내지 약 50 %, 약 40 내지 약 50 %, 약 45 내지 약 50 %, 약 0.1 내지 약 60 %, 약 0.2 내지 약 60 %, 약 0.5 내지 약 60 %, 약 1 내지 약 60 %, 약 5 내지 약 60 %, 약 10 내지 약 60 %, 약 15 내지 약 60 %, 약 20 내지 약 60 %, 약 25 내지 약 60 %, 약 30 내지 약 60 %, 약 35 내지 약 60 %, 약 40 내지 약 60 %, 약 45 내지 약 60 %, 약 0.1 내지 약 70 %, 약 0.2 내지 약 70 %, 약 0.5 내지 약 70 %, 약 1 내지 약 70 %, 약 5 내지 약 70 %, 약 10 내지 약 70 %, 약 15 내지 약 70 %, 약 20 내지 약 70 %, 약 25 내지 약 70 %, 약 30 내지 약 70 %, 약 35 내지 약 70 %, 약 40 내지 약 70 %, 약 45 내지 약 70 %, 약 0.1 내지 약 80 %, 약 0.2 내지 약 80 %, 약 0.5 내지 약 80 %, 약 1 내지 약 80 %, 약 5 내지 약 80 %, 약 10 내지 약 80 %, 약 15 내지 약 80 %, 약 20 내지 약 80 %, 약 25 내지 약 80 %, 약 30 내지 약 80 %, 약 35 내지 약 80 %, 약 40 내지 약 80 %, 약 45 내지 약 80 %, 약 0.1 내지 약 90 %, 약 0.2 내지 약 90 %, 약 0.5 내지

약 90 %, 약 1 내지 약 90 %, 약 5 내지 약 90 %, 약 10 내지 약 90 %, 약 15 내지 약 90 %, 약 20 내지 약 90 %, 약 25 내지 약 90 %, 약 30 내지 약 90 %, 약 35 내지 약 90 %, 약 40 내지 약 90 %, 약 45 내지 약 90 %, 약 0.1 내지 약 99 %, 약 0.2 내지 약 99 %, 약 0.5 내지 약 99 %, 약 1 내지 약 99 %, 약 5 내지 약 99 %, 약 10 내지 약 99 %, 약 15 내지 약 99 %, 약 20 내지 약 99 %, 약 25 내지 약 99 %, 약 30 내지 약 99 %, 약 35 내지 약 99 %, 약 40 내지 약 99 %, 및 약 45 내지 약 99%).

[0188] 하나의 실시양태에서 조성물은 제제 (I) 또는 (II)의 약 0.001, 0.01, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 또는 19 그램 이상의 신선한, 제조합 또는 분말형 전유 또는 우유 유도물질, 바람직하게는 유지방을 포함하며, 유용한 범위는 상기 앞의 값 사이에서 선택할 수 있다(예를 들면 약 0.01 내지 약 1 그램, 약 0.01 내지 약 10 그램, 약 0.01 내지 약 19 그램, 약 0.1 내지 약 1 그램, 약 0.1 내지 약 10 그램, 약 0.1 내지 약 19 그램, 약 1 내지 약 5 그램, 약 1 내지 약 10 그램, 약 1 내지 약 19 그램, 약 5 내지 약 10 그램 및 약 5 내지 약 19 그램).

[0189] 하나의 실시양태에서 조성물은 약 0.1, 0.2, 0.5, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 99, 99.5, 99.8 또는 99.9 이상의 중량%의 락토페린 폴리펩티드, 관능성 락토페린 변이물질, 관능성 락토페린 단편물질, 금속 이온 락토페린, 금속 이온 락토페린 관능성 변이물질 또는 금속 이온 락토페린 관능성 단편물질, 또는 이의 2개 이상의 혼합물로 구성되거나 또는 필수적으로 구성된 것을 포함하며, 유용한 범위는 상기 앞의 값 사이에서 선택할 수 있다(예를 들어 약 0.1 내지 약 50 %, 약 0.2 내지 약 50 %, 약 0.5 내지 약 50 %, 약 1 내지 약 50 %, 약 5 내지 약 50 %, 약 10 내지 약 50 %, 약 15 내지 약 50 %, 약 20 내지 약 50 %, 약 25 내지 약 50 %, 약 30 내지 약 50 %, 약 35 내지 약 50 %, 약 40 내지 약 50 %, 약 45 내지 약 50 %, 약 0.1 내지 약 60 %, 약 0.2 내지 약 60 %, 약 0.5 내지 약 60 %, 약 1 내지 약 60 %, 약 5 내지 약 60 %, 약 10 내지 약 60 %, 약 15 내지 약 60 %, 약 20 내지 약 60 %, 약 25 내지 약 60 %, 약 30 내지 약 60 %, 약 35 내지 약 60 %, 약 40 내지 약 60 %, 약 45 내지 약 60 %, 약 0.1 내지 약 70 %, 약 0.2 내지 약 70 %, 약 0.5 내지 약 70 %, 약 1 내지 약 70 %, 약 5 내지 약 70 %, 약 10 내지 약 70 %, 약 15 내지 약 70 %, 약 20 내지 약 70 %, 약 25 내지 약 70 %, 약 30 내지 약 70 %, 약 35 내지 약 70 %, 약 40 내지 약 70 %, 약 45 내지 약 70 %, 약 0.1 내지 약 80 %, 약 0.2 내지 약 80 %, 약 0.5 내지 약 80 %, 약 1 내지 약 80 %, 약 5 내지 약 80 %, 약 10 내지 약 80 %, 약 15 내지 약 80 %, 약 20 내지 약 80 %, 약 25 내지 약 80 %, 약 30 내지 약 80 %, 약 35 내지 약 80 %, 약 40 내지 약 80 %, 약 45 내지 약 80 %, 약 0.1 내지 약 90 %, 약 0.2 내지 약 90 %, 약 0.5 내지 약 90 %, 약 1 내지 약 90 %, 약 5 내지 약 90 %, 약 10 내지 약 90 %, 약 15 내지 약 90 %, 약 20 내지 약 90 %, 약 25 내지 약 90 %, 약 30 내지 약 90 %, 약 35 내지 약 90 %, 약 40 내지 약 90 %, 약 45 내지 약 90 %, 약 0.1 내지 약 99 %, 약 0.2 내지 약 99 %, 약 0.5 내지 약 99 %, 약 1 내지 약 99 %, 약 5 내지 약 99 %, 약 10 내지 약 99 %, 약 15 내지 약 99 %, 약 20 내지 약 99 %, 약 25 내지 약 99 %, 약 30 내지 약 99 %, 약 35 내지 약 99 %, 약 40 내지 약 99 % 및 약 45 내지 약 99 %).

[0190] 3. 본 발명에 유용한 조성물

[0191] 여기서 유용한 조성물은 식품, 음료, 식품 첨가물, 음료 첨가물,식이 보조제, 영양제, 의료용 식품, 기능 식품, 약제 또는 약물로서 제조될 수 있다. 적당한 제제는 본 명세서에 기재한 것 및 기술과 관련된 당업에 통상의 지식을 가진 자들이 제조할 수 있다.

[0192] 하나의 실시양태에서 본 발명은 식품, 음료, 식품 첨가물, 음료 첨가물,식이 보조제, 영양제, 의료용 식품, 기능식품, 약제 또는 약물의 제조에서 선택적으로 1개 이상의 항-종양 치료제, 바람직하게는 락토페린과 함께 유지방 또는 유지방 유사물질의 용도에 관한 것이다. 바람직하게 조성물은 경구 또는 국소 투여 용으로 제조된다. 바람직하게 조성물은 경구 또는 비경구 투여 용으로 제조된다. 바람직하게 조성물은 종양 성장 억제, 종양 전이 억제, 세포자멸사 유도, 종양 세포의 세포자멸사 유도, 암의 치료 또는 예방, 피험자의 반응성 증가 또는 종양의 치료에 대한 민감도의 증가, 피험자의 백혈구수, 적혈구수 또는 골수세포수 중 1개 이상의 유지 또는 개선, 피험자의 장 또는 종양 내의 Th1 및 Th2 사이토카인 생성 증가, 이를 필요로 하는 피험자에서의 빈혈증, 약액질, 점막염의 치료 또는 예방, 또는 상기에서 기재한 것과 같은 기타 용도 용이다. 바람직하게 유지방 또는 유지방 유사물질 및 1개 이상의 부가적인 치료제, 예컨대 1개 이상의 항-종양 치료제, 예컨대 락토페린은 여기서 기재한 것과 같다. 바람직하게 항-종양 인자는 여기에 기재한 것 중의 하나이다.

[0193] 하나의 실시양태에서 조성물은 정제, 캡슐, 환약, 경질 또는 연질 캡슐 또는 마름포폴 형태이다.

[0194] 하나의 실시양태에서 조성물은 교갑(cachet), 분배형 분말, 과립, 현탁물, 엘릭시르, 액상, 음료 형태, 또는 예를 들어 물 또는 과일 주스를 포함하는 식품 또는 음료에 첨가할 수 있는 임의의 다른 형태이다. 하나의 실시

양태에서 조성물은 경장 제품, 고체 경장 제품 또는 액상 경장 제품이다.

- [0195] 하나의 실시양태에서 조성물은 투여 후 또는 보관 중에 조성물의 분해를 막거나 또는 예방하는 1개 이상의 구성 물질(예컨대 항산화제)을 추가로 포함한다.
- [0196] 하나의 실시양태에서 여기서 유용한 조성물은 지방, 지방산 또는 지질을 운반할 수 있는 임의의 식용가능한 소비 제품을 포함한다. 조성물이 1개 이상의 추가적인 치료제를 포함하는 경우 단백질성 인자, 예컨대 락토페린, 식용가능한 소비 제품이 단백질을 운반할 수 있다. 적당한 식용가능한 소비 제품의 예로는 구운 제품들, 분말, 액상, 사탕과자 제품, 재구성 과일 제품, 스낵 바, 식품 바, 뮌슬리 바, 스프레드, 소스, 덩, 아이스크림, 요거트 및 치즈를 포함하는 낙농 제품, 낙농 및 비-낙농계 음료(예컨대 밀크 셰이크를 포함하는 밀크 음료 및 요거트 음료)를 포함하는 음료, 우유 분말, 낙농 및 비-낙농계 스포츠 보조식을 포함하는 스포츠 보조식, 식품 첨가물, 예컨대 단백질 스프린클 및 낙농 보충 정제를 포함하는 식이 보충제를 포함한다. 본 실시양태에서 유용한 조성물은 또한 분말 또는 액상 형태의 유아 분유일 수 있다. 여기서 유용한 적당한 영양 조성물은 유사한 형태로 제공될 수 있다.
- [0197] 여기서 유용한 조성물은 또한 기타 인자, 예컨대 칼슘, 아연, 망간, 세레늄, 비타민 C, 비타민 D, 비타민 E, 비타민 K2, 복합 탄수화물, 야자, 올리브, 대두, 캐놀라, 콘, 썬플라워, 홍화, 땅콩, 포도씨, 참깨, 넛트, 아몬드, 캐슈, 개암, 마카다미아, 피칸, 피스타치오 및 호두를 포함하는 식용가능한 또는 쿠키нг 오일을 추가로 포함할 수 있으며, 다른 식용가능한 것으로는 아사이, 아마란스, 살구, 아르간, 아티초크, 아보카도, 바바슈야자, 고추냉이, 까막까치밥 씨, 보리지 씨, 보르네오 우지 넛트, 조롱박, 들소호리병박, 카롭 열매(알가로바), 코후네, 코리엔더 씨, 달맞이꽃, 양구슬냉이(false flax), 대마, 케이폭 씨, 랄레만티아(lallemantia), 메도폼 씨, 머스타드, 오크라 씨(하이비스커스 씨), 들깨 씨, 페키, 파인 넛트, 양귀비 씨, 마른자두 열매, 호박씨, 퀴노아, 람틸(ramtil), 쌀겨, 차(동백나무), 엉겅퀴, 수박씨 및 위점 오일 또는 이의 결합물을 포함한다.
- [0198] 여기서 유용한 조성물은 이에 제한하지는 않지만 경구 또는 비경구(국소적, 피하, 근육내 및 정맥내를 포함함) 투여를 포함하는 임의의 경로에 의해 피험자에게 투여할 수 있도록 제제화할 수 있다.
- [0199] 일반적으로 경구 투여 용으로 여기에서 유용한 식이(예를 들면 식품, 식품 첨가물 또는 식품 보조제), 영양 또는 약물 조성물은 공지된 제제화 기술에 따라 당업의 기술자에 의해서 제제화될 수 있다.
- [0200] 따라서 본 발명에 따라 유용한 약물학적 조성물은 의도된 투여 경로 및 표준 약물학적 실행과 관련하여 선택된 적당한 약물학적 허용 담체(부형제, 희석제, 보조제 및 이들의 결합물을 포함함)와 함께 제제화할 수 있다. 예를 들어 *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 16th edition, Osol, A. Ed., Mack Publishing Co., 1980를 참조할 수 있다.
- [0201] 바람직한 투여 경로는 경구인 반면에 여러가지 제제 용의 여러가지 경로를 포함하여, 다단계 경로에 의해 투여하는 것을 포함하는 본 발명의 임의의 조성물 용으로 임의의 투여 방법이 적당할 수 있다는 것을 알아야 한다. 따라서 본 발명의 임의의 조성물의 흡입(코 또는 구강 흡입) 및 질 및 직장 투여가 또한 예상된다. 또한 본 발명의 임의의 조성물의 수질내, 경막외, 관절내 및 늑막내 투여도 예상된다. 두번째 투여에 의해 기타 치료제를 분리해서, 동시에 또는 순차적으로 투여하는 것과 함께 첫번째 투여 경로에 의해서 선택적으로 1개 이상의 추가적인 인자와 함께 유지방 또는 유지방 유사물질을 투여하는 것도 예상된다; 예를 들면 유지방의 경구 투여는 1개 이상의 추가의 치료제의 국소 투여에 의해 완성된다.
- [0202] 여기에서 유용한 투여 형태는 분말, 액상, 정제 또는 캡슐로서의 경구 투여일 수 있다. 적당한 투여 형태는 유화제, 항산화제, 향미 또는 착색제를 포함하는, 필요하다면 추가 제제를 함유할 수 있으며, 또는 장용제피를 가질 수 있다. 적당한 장용제피가 공지되어 있다. 장용제피는 활성 성분을 둘러싸고 있으며, 위내에서 활성 성분의 방출을 예방하지만 투여 형태가 위를 떠난 후에는 방출시킨다. 여기서 유용한 투여 형태는 활성 성분의 즉각적, 지연된, 변형된, 보유된, 펄스된 또는 제어된 방출에 적합할 수 있다. 적당한 제제는 필요하다면 유화제, 항산화제, 향미 또는 착색제를 포함하는 추가 제제를 함유할 수 있다.
- [0203] 캡슐은 임의의 표준 약물학적 허용 물질, 예컨대 젤라틴 또는 셀룰로스를 함유할 수 있다. 정제는 고형 담체 및 윤활제와 활성 성분의 혼합물을 압착하여 종래 절차에 따라 제제화할 수 있다. 고형 담체의 예로는 전분 및 당 벤토나이트를 포함한다. 활성 성분은 또한 경질 셀 정제 또는 결합제, 예를 들면 락토스 또는 만니톨을 함유하는 캡슐, 종래 필러 및 정제화제의 형태로 투여될 수 있다. 약물학적 조성물은 또한 비경구 경로를 통해 투여할 수 있다. 비경구 투여 형태의 예로는 활성제의 수용액, 등장성 생리 식염수 또는 5 % 글루코스, 또는 기타 잘 공지된 약물학적 허용 부형제를 포함한다. 당업과 익숙하게 잘 공지되어 있는 시클로덱스트린 또는 기

타 가용화제를 치료제 운반 용의 약물학적 부형제로서 이용할 수 있다.

- [0204] 주입가능한 투여 형태는 액상 용액 또는 현탁액으로서 제조할 수 있다. 주입 전 액상, 용액 또는 현탁액용으로 적당한 고체 형태도 또한 제조할 수도 있다. 투여 형태는 또한 유화시킬 수 있다. 유지방 또는 유지방 유사물질, 및 존재하는 경우에 1개 이상의 추가 인자는 담체, 예컨대 물, 식염수, 텍스트로스, 글리세롤, 에탄올 등 및 이들의 결합물과 혼합할 수 있다.
- [0205] 지속 방출 제제는 선택적으로 1개 이상의 추가 인자와 함께 유지방을 혼입하여 제조할 수 있다. 지속 방출 제제의 적당한 예로는 유지방을 함유하는 고체 소수성 폴리머의 반-투과성 매트릭스, 및 존재한다면 1개 이상의 추가 치료제, 예컨대 락토펜 또는 이의 관능성 변이물질 또는 이의 관능성 단편물질을 포함한다. 매트릭스는 성형 물질 형태, 예를 들면 필름 또는 마이크로캡슐일 수 있다. 지속 방출 매트릭스의 예로는 폴리에스테르, 히드로겔(예를 들면 폴리(2-히드록시에틸-메타크릴레이트), 또는 폴리(비닐알콜)], 폴리락티드(US 3,773,919 참조), L-글루타믹산 및 에틸-L-글루타메이트의 코폴리머, 비-분해가능한 에틸렌-비닐 아세테이트 및 분해가능한 락트산-글리콜산 코폴리머, 예컨대 LUPRON DEPOT™(락트산-글리콜산 코폴리머 및 루프로리드 아세테이트로 구성된 주입가능한 미소구체)를 포함한다.
- [0206] 유지방 또는 유지방 유사물질을 포함하는 국소 제제, 및 존재한다면 1개 이상의 추가 치료제는 이러한 응용 용으로 공지된 담체를 사용하는 로션, 크림, 연고, 페이스트 또는 고약으로 제조할 수 있다.
- [0207] 본 발명은 또한 선택적으로 1개 이상의 추가 치료제 및 1개 이상의 항-종양 치료제와 함께 유지방을 포함하는 비경구 유닛 투여 형태를 나타낸다. 바람직하게 1개 이상의 항-종양 치료제는 파클리탁셀, 독소루비신, 에피루비신, 플루오로우라실, 사이클로포스파미드, 메토트렉세이트, T 세포 공동-자극제 B7-1을 암호화하는 발현 플라즈미드 및 수지상세포 요법으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 대안적으로 치료제는 여기서 기재한 것들로 이루어진 군으로부터 선택한다. 유지방 또는 유지방 유사물질은 상기에서 기재한 것이 바람직하다.
- [0208] 본 발명에 따른 유용한 조성물의 효능은 생체의 및 생체내 둘 다에서 평가할 수 있다. 예를 들어 하기 실시예를 참조할 수 있다. 간단하게 하나의 실시양태에서 조성물은 예를 들면 종양 형성 또는 종양 성장을 생체외에서 억제하는 능력을 시험할 수 있다. 생체내 연구에서 조성물은 동물(예를 들면 마우스)에 주입하거나 또는 공급한 후에 종양 크기 또는 형태에 미치는 이의 효과를 평가할 수 있다. 결과를 기초로 적당한 투여량 범위 및 투여 경로를 결정할 수 있다.
- [0209] 여기서 유용한 조성물은 1개 이상의 다른 치료제와 함께 결합하거나 또는 단독으로 사용할 수 있다. 치료제는 식품, 음료, 식품 첨가제, 음료 첨가제, 식품 성분, 음료 성분,식이 보조제, 영양제, 의약품 식품, 기능 식품, 약제 또는 약물일 수 있다. 치료제는 암과 관련된 병의 증상, 또는 빈혈증(대적혈구성 빈혈과 소적혈구성 빈혈을 포함함), 혈액 억압, 점막염 또는 악액질을 야기하는 병과 관련된 증상 중 1개 이상을 악화시키기에 효과적인 것이 바람직하다. 바람직한 치료제는 항-종양 식품 인자, 면역요법제, 조혈제, 항악액질제 및 항점막염제를 포함하며, 락토펜은 특히 바람직한 치료제이다.
- [0210] 하나의 실시양태에서 선택적으로 1개 이상의 추가 치료제와 함께 유지방 또는 유지방 유사물질은 여기서 기재한 1개 이상의 항-종양 치료제 또는 항-종양 요법제와 분리해서, 동시에 또는 순차적으로 투여하는 것으로 제조한다.
- [0211] 하나의 실시양태에서 선택적으로 1개 이상의 추가 치료제와 함께 유지방 또는 유지방 유사물질은 여기서 기재한 1개 이상의 항-종양 치료제 또는 항-종양 요법과 함께 투여하는 것으로 제조된다.
- [0212] 하나의 실시양태에서 선택적으로 1개 이상의 추가 치료제와 함께 유지방 또는 유지방 유사물질은 여기서 기재한 1개 이상의 항-종양 치료제 또는 항-종양 치료요법과 순차적으로 투여하는 것으로 제조된다.
- [0213] 하나의 실시양태에서 유지방 또는 유지방 유사물질은 유지방 또는 유지방 유사물질이 항-종양 치료제 또는 항-종양 치료요법의 효과를 강화시키거나 또는 증가시키도록 항-종양 치료제 또는 항-종양 치료요법 용의 어쥘먼트로서 포함하거나 또는 운반한다. 1개 이상의 추가 치료제는 분리해서 운반할 수 있다.
- [0214] 또 다른 치료제와 함께 결합하여 사용하는 경우 여기서 유용한 조성물 및 다른 치료제의 투여는 동시에 또는 순차적으로 할 수 있다. 동시 투여는 실제로 동시에 분리된 투여 형태를 투여하거나 또는 모든 성분을 포함하는 단일 투여 형태로 투여하는 것을 포함한다. 순차적 투여는 여러 스케줄에 따라 투여하는 것을 포함하여, 여기서 유용한 조성물과 다른 치료제를 제공하는 중의 기간 동안에 중첩해서 하는 것이다.

- [0215] 동시에 투여할 수 있는 본 발명의 조성물과 함께 적당한 제제는 화학요법제, 면역요법제, 항악액질제, 항점막염제, 조절제 및 기타 당업에 공지된 적당한 제제를 포함한다. 이러한 제제는 경구, 흡입, 질 및 직장 투여 뿐만 아니라 바람직하게 정맥내, 피하내, 근육내, 복막내, 수질내, 경막외, 피부내, 경피(국소), 경점막, 관절내 및 늑막강내에 의한 비경구로 투여하는 것이 바람직하다.
- [0216] 또한 본 발명에 따른 조성물은 특별한 경우에 피험자에게 이득을 줄 수 있는 추가 활성 성분과 함께 제제화할 수 있다는 것을 예상할 수 있다. 예를 들면 질병 과정의 동일 또는 상이한 면을 표적으로 하는 치료제를 사용할 수 있다.
- [0217] 여기서 유용한 조성물과 동시에 투여할 수 있는 적당한 제제는 알파 v 베타 3 인테그린 수용체 길항제, 항에스트로젠 또는 SERMs(선택적 에스트로젠 수용체 조절제)(이에 제한하지는 않지만 타목시펜, 라록시펜, 라소폭시펜, 토레미펜, 아족시펜, 클로미펜, 드롤록시펜, 아이독시펜, 레보르메록시펜, 주클로미펜, 엔클로미펜, 나폭시펜 및 이의 염을 포함함), 항콜레스테롤제, 비스포스포네이트(이에 제한하지는 않지만 알렌드로네이트, 클로드로네이트, 에티드로네이트, 이반드로네이트, 인카드로네이트, 미노드로네이트, 네리드로네이트, 올파드로네이트, 파미드로네이트, 피리드로네이트, 리세드로네이트, 티루드로네이트, 졸레드로네이트 및 이의 약물학적 허용 염을 포함함), 칼슘수용체 길항제, 칼슘 보조제, 카텝신 K 억제제, Dual Action Bond Agents(DABAs)(이에 제한하지는 않지만 스트론티움 라벨레이트를 포함함), 에스트로젠 및 에스트로젠 유도물질(이에 제한하지는 않지만 17 베타-에스트라디올, 에스트론, 콘주게이트형 에스트로젠, 마 에스트로젠 및 17 베타-에티닐 에스트라디올을 포함함), 플라보노이드, 엽산, 오스테오아나볼릭제, 오스테오프로테저린, 프로세스틴 및 프로세스틴 유도물질(이에 제한하지는 않지만 모레티드론 및 메드록시-프로게스테론 아세테이트를 포함함), 공포 ATPase 억제제, VEGF의 길항제, 티아졸리딘디온, 칼시토닌, 단백질 키나아제 억제제, 파라티로이드 호르몬(PTH), PTH 유사물질, 제조합 파라티로이드 호르몬, 성장 호르몬 분비제, 성장 호르몬 방출 호르몬, 인슐린-유사 성장 인자, 뼈 형성 단백질(BMP), BMP 길항작용 억제제, 프로스타그라딘 유도물질, 파이프롤라스트 성장 인자, 비타민 B6, 비타민 D, 비타민 D 유도물질(이에 제한하지는 않지만 1,25-디하이드록시콜레칼시페롤을 포함함), 비타민 K, 비타민 K 유도물질, 대두 아이소플라본, 칼슘 염, 플로라이드 염, 스타틴(이에 제한하지는 않지만 로바스타틴, 심바스타틴, 프라바스타틴, 플루바스타틴, 아토르바스타틴, 세리바스타틴, 로수바스타틴 및 피타바스타틴을 포함함) 및 이의 결합물, 및 당업에 공지된 기타 적당한 제제를 포함한다.
- [0218] 하나의 실시양태에서 여기서 유용한 조성물은 기타 우유 성분, 예컨대 유청 단백질, 유청 단백질 분획물(산 또는 염기 유청 단백질 분획물 또는 이의 결합물을 포함함), 글리코마크로펩티드, 락토페린, 비타민 D 또는 칼슘, 또는 이의 결합물과 동시에 또는 순차적으로 투여하거나 또는 포함한다. 유용한 우유 성분-함유 조성물은 식품, 음료, 식품 첨가물, 음료 첨가물, 식이 보조제, 영양제, 의약품 식품 또는 기능식품과 같은 조성물을 포함한다. 이러한 성분이 풍부한 우유 분획물도 또한 이용할 수 있다.
- [0219] 상기에서 나열한 추가 치료제(식품계 및 약물 제제 둘 다)는 또한 여기서 유용한 조성물과 분리해서, 동시에 또는 순차적으로 투여되는 본 발명에 따른 방법에 이용할 수도 있다는 것을 알아야 한다.
- [0220] 인정된다면 투여 조성물의 양, 투여 기간 및 일반적인 투여 방법은 피험자 증상의 심각성, 치료 질환의 형태, 선택한 투여 방법 및 피험자의 나이 성별 및/또는 일반적 건강 상태에 따라 다양하게 피험자에 따라 상이할 수 있다. 그러나 일반적인 예에 의해서 여기서 유용한 조성물의 체중 1 kg 당 약 1 mg 내지 약 1000 mg의 본 발명자들이 예상하는 투여량을 하루에, 바람직하게는 하루에 1 kg 당 약 50 내지 약 500 mg 투여한다. 하나의 실시양태에서 본 발명자들은 여기서 유용한 약물학적 조성물을 체중 1 kg 당 약 0.05 mg 내지 약 250 mg의 투여량을 예상한다.
- [0221] 투여는 한번의 일일 투여 또는 적당하다면 다수의 분리한 분할 투여량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 당업에 통상의 지식을 가진 자들은 주어진 상태에서 효과적인 투여 방법(하루 투여량 및 투여 타이밍을 포함함)을 결정하기 위해 기술과 본 설명에 관한 실험을 실시하지 않고 결정할 수 있을 것이다.
- [0222] 본 발명은 또한 락토페린, 카제인 또는 다른 보호 단백질과 결합한 유지방 또는 유지방 유사물질로 기본적으로 구성되거나 또는 구성된 것을 포함한, 음식, 기능식품 또는 경구 약물학적 조성물에 관한 것이다. 바람직하게 상기 조성물은 필수적으로 약 0.1 내지 99 중량%의 유지방 또는 유지방 유사물질 및 약 0.1 내지 99 중량%의 락토페린, 카제인 또는 기타 보호 단백질로 구성된다. 보다 바람직하게 상기 조성물은 필수적으로 약 0.5 내지 10 중량%의 유지방 및 약 10 내지 99 중량%의 락토페린, 카제인 및 다른 보호 단백질로 구성된다. 가장 바람직하게 상기 조성물은 필수적으로 약 1 중량%의 유지방 및 약 20 중량%의 락토페린, 카제인 또는 다른 보호 단백질

질로 구성된다. 바람직하게 유지방 또는 유지방 유사물질은 상기에서 기재한 것과 같다.

[0223] 하나의 실시양태에서 본 발명의 조성물은 우유 분획물이며, 바람직하게는 유지방 분획물이다. 하나의 실시양태에서 우유 분획물은 약 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 또는 99 중량% 이상의 유지방을 포함하며, 유용한 범위는 상기 값 중에서 선택할 수 있다(예를 들면 약 1 내지 약 99 중량%, 약 5 내지 약 99 중량%, 약 10 내지 약 99 중량%, 약 15 내지 약 99 중량%, 약 20 내지 약 99 중량%, 약 25 내지 약 99 중량%, 약 30 내지 약 99 중량%, 약 35 내지 약 99 중량%, 약 40 내지 약 99 중량%, 약 45 내지 약 99 중량%, 약 50 내지 약 99 중량%, 약 55 내지 약 99 중량%, 약 60 내지 약 99 중량%, 약 65 내지 약 99 중량%, 약 70 내지 약 99 중량%, 약 75 내지 약 99 중량%, 약 80 내지 약 99 중량%, 약 85 내지 약 99 중량%, 약 90 내지 약 99 중량% 또는 약 95 내지 약 99 중량%). 바람직하게 조성물이 1개 이상의 추가 치료제를 포함하는 경우에 조성물은 추가적으로 우유 단백질 분획물을 포함할 수 있다.

[0224] 하나의 실시양태에서 유지방은 유지방 분획물로서 투여한다. 바람직한 유지방 분획물은 크림, 버터, 무수 유지방(AMF)(통상적으로는 크림 또는 버터의 상 전환에 의해서 생성됨), 버터 밀크, 버터 세럼, 경질 유지방 분획물, 연질 유지방 분획물, 스펡고리피드 분획물, 유지방 구형 막 분획물, 인지질 분획물 및 복합 지질 분획물, 및 이의 결합물, 및 이의 가수분해물, 및 상기 가수분해물의 분획물, 및 가수분해 및/또는 비-가수분해 분획물의 결합물을 포함한다.

[0225] 바람직한 인지질 분획물은 박막 크로마토그래피 및/또는 액상 크로마토그래피에 의해 무수 유지방(예컨대 Fonterra Co-operative Group Limited, New Zealand에서 이용할 수 있음)으로부터 분리해서 제조할 수 있다. 목적하는 인지질 분획물은 이러한 분리 기술을 사용하여 제조할 수 있다. 예를 들면 동량의 포스파티딜콜린 및 포스파티딜이노시톨, 소량의 포스파티딜세린을 포함하며, 3개의 스펡고마이엘린 피크 중 첫번째를 포함하며, 또는 다량의 포스파티딜에탄올아민 및 세라미드 및 리소포스포리피드를 포함하는 모든 3가지 스펡고마이엘린 피크를 포함하는 분획물은 액상 크로마토그래피에 의해 정기적으로 제조된다. 이러한 분획물의 가수분해 형태는 예를 들면 1 % KOH(에탄올 중)를 첨가하고, 교반하고, pH 9.5-10.0에서 10 분 동안 가열하여 제조할 수 있다. 일반적으로 가수분해 샘플은 예를 들면 아세트산 또는 염산으로 pH 7.0이 되도록 추가 사용 전에 중화시키고, 질소 하의 가열 맨틀에서 플러싱 건조시키는 것이 바람직하다.

[0226] 시판되는 인지질 분획물 또한 본 발명에 사용하기에 적당하다. 인지질 농축물 PC600TM 및 강리고사이드 G600TM 분획물(둘 다 Fonterra Co-operative Group Limited, New Zealand에서 이용할 수 있음)이 바람직하며, 비-가수분해 형 또는 가수분해 형태든 무관하다. 또한 상기 분획물은 상기에서와 같이 가수분해할 수 있다.

[0227] 하나의 실시양태에서 조성물은 약 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 또는 50 중량%의 신선, 재결합 또는 분말형 전유 또는 우유 유도물질, 바람직하게는 유지방으로 필수적으로 구성되거나 또는 구성되며, 유용한 범위는 상기 값 중에서 선택할 수 있다(예를 들면 약 0.1 내지 약 50 %, 약 0.2 내지 약 50 %, 약 0.5 내지 약 50 %, 약 1 내지 약 50 %, 약 5 내지 약 50 %, 약 10 내지 약 50 %, 약 15 내지 약 50 %, 약 20 내지 약 50 %, 약 25 내지 약 50 %, 약 30 내지 약 50 %, 약 35 내지 약 50 %, 약 40 내지 약 50 % 및 약 45 내지 약 50 %). 우유 유도물질은 재조합, 분말형 또는 신선한 우유, 재구성 전유 분말, 우유 농축물, 우유 보유물, 농축 우유, 초여과 우유 보유물, 우유 단백질 농축물(MPC), 우유 단백질 분리물(MPI), 칼슘 손실 우유 단백질 농축물(MPC), 카제인, 카제인에이트, 유지방, 크림, 버터, 무수 유지방(AMF), 버터 밀크, 버터 세럼, 경질 유지방 분획물, 연질 유지방 분획물, 스펡고리피드 분획물, 유지방 구형 막 분획물, 인지질 분획물, 복합 지질 분획물, 초유, 초유 분획물, 초유 단백질 농축물(CPC), 초유 유청, 초유로부터의 면역글로불린 분획물, 유청, 유청 단백질 분리물(WPI), 유청 단백질 농축물(WPC), 스위트 유청, 락트산 유청, 미네랄산 유청, 재구성 유청 분말, 임의의 우유 또는 초유 처리 스트림으로부터 유도된 조성물, 임의의 우유 또는 초유 처리 스트림의 초여과 또는 마이크로여과에 의해 수득되는 보유물 또는 투과물로부터 유도된 조성물, 또는 임의의 우유 또는 초유 처리 스트림의 크로마토그래피(이에 제한하지는 않지만 이온 및 겔 투과 크로마토그래피를 포함함) 분리에 의해 수득되는 흡착 분획물 또는 통과 분획물로부터 유도된 조성물, 및 이의 결합물, 및 이의 가수분해물, 및 상기 가수분해물의 분획물, 및 가수분해 및/또는 비-가수분해 분획물의 결합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 것이 바람직하다.

[0228] 하나의 실시양태에서 본 발명의 방법은 유지방 또는 유지방 유사물질 및 락토페린 또는 1개 이상의 관능성 변이물질 또는 하기에서 기재한 락토페린의 관능성 분획물의 혼합물을 투여하는 단계를 포함한다. 따라서 하나의 실시양태에서 조성물은 유지방 또는 유지방 유사물질 및 락토페린 또는 락토페린의 1개 이상의 관능성 변이물질 또는 락토페린의 관능성 단편물질의 혼합물을 포함한다. 대안적인 실시양태에서 조성물은 유지방 또는 유지방

유사물질의 혼합물 및 락토페린의 1개 이상의 관능성 단편물질을 포함한다.

[0229] 락토페린 또는 이의 1개 이상의 관능성 변이물질 또는 관능성 단편물질을 포함하는 본 발명의 조성물은 또한 이에 제한하지는 않지만 피하내, 정맥내, 복강내, 근육내 및 종양내 투여를 포함하는 비경구 경로에 의해서 투여할 수도 있다. 바람직하게 락토페린은 주입에 의해 비경구로 투여한다. 유지방 또는 유지방 유사물질은 분리 경로에 의해서 투여할 수 있으며, 경구로 투여하는 것이 바람직하다. 당업에 통상의 지식을 가진 자들은 과도한 실험을 하지 않고 비경구로 투여하기에 적당한 제제로 제조할 수 있을 것이다.

[0230] 하나의 실시양태에서 일일 투여량 범위(어떠한 경로에 의해서든)는 하루에 약 0.001 내지 250 g의 유지방, 바람직하게는 0.001 내지 100 g, 0.1 내지 30 g, 0.1 내지 40 g, 0.1 내지 50 g, 0.1 내지 60 g, 0.1 내지 70 g, 0.1 내지 80 g, 0.1 내지 100 g, 0.1 내지 110 g, 0.1 내지 120 g, 0.1 내지 130 g, 0.1 내지 140 g, 0.1 내지 150 g, 0.1 내지 160 g, 0.1 내지 170 g, 0.1 내지 180 g, 0.1 내지 190 g, 0.1 내지 200 g, 0.1 내지 210 g, 0.1 내지 220 g, 0.1 내지 230 g, 0.1 내지 240 g 또는 0.1 내지 250 g을 70 kg 성인에 있어서 하루의 양이며, 바람직하게는 10 mg 내지 1.5 g/kg/day, 바람직하게는 50 mg 내지 500 mg/kg/day이다. 더 높은 투여량이 짧은 기간 치료 및 예방 용으로 바람직하며, 긴 기간 치료 및 예방에 있어서는 소량이 바람직하다.

[0231] 4. 락토페린 폴리펩티드

[0232] 소의 락토페린(bLf)은 소의 우유에 존재하는 78 kDa의 단일-사슬 철-결합 당단백질이다. 상기는 우유, 초유, 눈물, 코의 분비물, 타액, 담즙, 체액, 장 점액 및 생식기 분비물을 포함하는 정상세균총에 일반적으로 노출되는 대부분의 분비물에 존재하는 자연 방어 단백질이다. 상기는 세균 감염 부위에서 다량으로 존재하며, 호중성에 의해서 분비된다. 상기는 장에서의 철 흡착을 조절하며, 장 세포 성장을 촉진하며, 미생물 감염으로부터 보호하며, 골수세포형성을 조절하고, 전신 면역 반응을 조절하고, 암 발병을 예방할 수 있는 다관능성 단백질이다 (Ward 등, 2002; Brock, J H, 2002; Weinburg, E D, 2001; Conneely, O M, 2001; Tomita 등, 2002 및 Tsuda 등, 2002에서 재검토).

[0233] 상기에서 나열한 유용한 락토페린 폴리펩티드 및 단편물질에 더하여 보고되었으며, 본 발명의 방법에 유용한 락토페린 아미노산 및 mRNA 서열의 예는 이에 제한하지는 않지만 인간 락토페린의 아미노산(등록 번호 NP_002334) 및 mRNA (등록 번호 NM_002343) 서열; 소의 락토페린의 아미노산(등록 번호 NP_851341 및 CAA38572) 및 mRNA (등록 번호 X54801 및 NM_180998) 서열; 염소 락토페린의 아미노산(등록 번호 JC2323, CAA55517 및 AAA97958) 및 mRNA(등록 번호 U53857) 서열; 말 락토페린의 아미노산(등록 번호 CAA09407) 및 mRNA(등록 번호 AJ010930) 서열; 돼지 락토페린의 아미노산(등록 번호 NP_999527, AAL40161 및 AAP70487) 및 mRNA(등록 번호 NM_214362) 서열; 마우스 락토페린의 아미노산(등록 번호 NP_032548) 및 mRNA(등록 번호 NM_008522) 서열; 물소 락토페린의 아미노산(등록 번호 CAA06441) 및 mRNA(등록 번호 AJ005203) 서열; 및 카멜 락토페린의 아미노산(등록 번호 CAB53387) 및 mRNA(등록 번호 AJ131674) 서열을 포함한다. 상기 서열은 야생 타입 또는 변이 형태로 본 발명에 따라 사용될 수 있다. 상기 서열에 의해서 암호화되는 폴리펩티드는 천연 공급물로부터 분리될 수 있으며, 재조합 단백질로서 제조되거나 또는 공지된 기술을 사용하여 유기 합성에 의해서 제조될 수 있다.

[0234] 유용한 폴리펩티드 및 변이물질의 발생 방법은 당업에 공지되어 있으며, 하기에 설명한다. 유용한 재조합 락토페린 폴리펩티드 및 단편물질 및 이를 제조하는 방법은 US 특허 명세서 US 5,571,691, US 5,571,697, US 5,571,896, US 5,766,939, US 5,849,881, US 5,849,885, US 5,861,491, US 5,919,913, US 5,955,316, US 6,066,469, US 6,080,599, US 6,100,054, US 6,111,081, US 6,228,614, US 6,277,817, US 6,333,311, US 6,455,687, US 6,569,831, US 6,635,447, US 2005-0064546 및 US 2005-0114911에 보고되어 있다.

[0235] 또한 유용한 변이물질은 소의 락토페린 변이물질 bLf-a 및 bLf-b[Tsuji 등. (1989); Yoshida 등. (1991)]를 포함한다. 추가의 유용한 변이물질은 글리코실화 및 아글리코실화 형태(aglycosyl forms)의 락토페린[Pierce 등. (1991); Metz-Boutigue 등 (1984); van Veen 등 (2004)] 및 글리코실화 돌연변이물질(글리코실화 변이물질 포인트 또는 변이물질 글리코실 측쇄를 가짐)을 포함한다.

[0236] 유용한 단편물질은 N-로브 및 C-로브 단편물질(Baker 등, 2002) 및 절단된 락토페린 폴리펩티드와 같은 락토페린 결합 포켓에 보유되는 기타 임의의 락토페린 폴리펩티드를 포함한다. 기타 락토페린 단편물질은 참고문헌으로 여기에 혼입되어 있는 공개된 국제 특허 출원 WO 2007/043900에 기재되어 있다.

[0237] 유용한 절단 락토페린 폴리펩티드는 약 1 내지 약 300 아미노산, 바람직하게는 약 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195, 200, 205, 210, 215, 220, 225, 230, 235, 240, 245,

250, 255, 260, 265, 270, 275, 280, 285, 290, 295 또는 300 아미노산 이상으로 절단된 폴리펩티드를 포함하며, N-말단, C-말단 또는 N-말단과 C-말단 둘다에서 절단된 폴리펩티드를 포함하고, 절단된 폴리펩티드는 N-로브 및 C-로브 금속 이온-결합 포켓 중 1개 이상을 보유하는 것으로서 제공된다. (신호 서열이 없는) 소의 락토페린의 잔류 Asp 60, Tyr 92, Tyr 192 및 His 253은 N-로브에서의 아미노산 금속 이온 리간드로 보고되고 있다. (신호 서열이 없는) 소의 락토페린의 Asp 395, Tyr 433, Tyr 526 및 His 595는 C-로브에서의 아미노산 금속 이온 리간드로 보고되고 있다(Karthikeyan 등, 1999).

[0238] 본 발명에 따른 용도에 있어서의 락토페린의 후보 변이물질 또는 단편물질은 이에 제한하지는 않지만 야생 타입 단백질을 돌연변이화[Sambrook 등, (1989) 및 상기 기술이 기술되어 있는 어떤 것이트 참조]시키는 기술을 포함하는 기술, 예컨대 이에 제한하지는 않지만 수득된 폴리뉴클레오티드의 발현 및 야생 타입 락토페린의 위치-특이적 돌연변이 기술; 무작위 또는 선택 프라이머의 풀을 사용하여 PCR과 같은 발현가능한 폴리뉴클레오티드 단편물질을 발생시키는 기술; 야생 타입 또는 변이물질 락토페린 폴리펩티드의 완전한 또는 부분적인 단백질을 가수분해 또는 가수분해 기술; 및 폴리펩티드의 화학적 합성 기술에 의해서 발생시킬 수 있다. 락토페린의 변이물질 또는 단편물질은 락토페린 DNA 또는 RNA, 또는 이의 변이물질 또는 단편물질로부터의 재조합 분자로서의 발현에 의해서 제조할 수 있다. 락토페린의 변이물질 또는 단편물질을 암호화하는 핵산 서열은 진핵 세포, 예컨대 이에 제한하지는 않지만 아스페르길루스 또는 박테리아 세포, 예컨대 이에 제한하지는 않지만 *E. coli*를 포함하는 세포에서의 발현에 적당한 벡터내에 삽입시킬 수 있다. 락토페린 변이물질 또는 단편물질은 이에 제한하지는 않지만 실수 유발 PCR(error-prone PCR) 및 DNA 셔플링(shuffling)을 포함하는 공지된 PCR 기술을 사용하여 제조할 수 있다. 실수 유발 PCR은 DNA 폴리머라아제의 복제 적합도(copying fidelity)가 낮아서 PCR 생성물의 전체적 길이를 따라 점 돌연변이의 발생 비율이 높게 나타나는 조건 하에서 PCR를 수행하는 공정이다[Leung 등 (1989); Cadwell 등 (1992)]. DNA 셔플링은 서열 상동성을 기본으로 DNA 분자의 무작위 단편화 이후에 PCR 반응에서 프라이머 신장에 의해 교차점의 고정을 유도하는, 생체외에서 상이하지만 관련성이 높은 DNA 서열의 DNA 분자 사이 강제된 상동 재조합을 나타낸다[Stemmer (1994)]. 상기 방법에 사용하기 위한 적당한 락토페린 핵산 서열은 상기에서 나열한 것을 포함하며, 예를 들어 조직 RNA 분리물의 역 전사-PCR(RT-PCR)을 포함하는 공지된 방법에 의해 발생시킬 수 있다. RT-PCR에 적당한 프라이머는 상기에서 나열한 mRNA 서열을 참조하여 도안할 수 있다. 시판되는 키트를 RT-PCR 용으로 이용할 수 있다(예를 들면 Ambion, USA 사의 Cells-to-cDNA™ 키트).

[0239] 락토페린의 변이물질 또는 단편물질은 또한 공지된 합성 방법에 의해 발생시킬 수도 있다(예를 들어 Kimmerlin 등 2005 참조).

[0240] 락토페린의 금속 이온-결합 변이물질 또는 단편물질은 이에 제한하지는 않지만 예를 들어 금속 친화 크로마토그래피를 포함하는 금속-결합 폴리펩티드를 분리시키기 위한 공지된 기술에 의해 수득할 수 있다. 락토페린의 후보 변이물질 또는 단편물질은 유리 또는 부동의 금속 이온, 예컨대 Fe^{3+} 와 접촉시킬 수 있으며, 적당한 방식으로 정제할 수 있다. 예를 들어 후보 변이물질 또는 단편물질은 이미노디아세트산 또는 트리스(카르복시메틸)에틸렌디아민 리간드를 포함하는 크로마토그래피 매트릭스에 킬레이트화에 의해 고정된 금속 이온과 중성 pH에서 접촉할 수 있다. 결합 변이물질 또는 단편물질을 지지 매트릭스로부터 용출시키고, 사용하는 완충액의 이온 강도 및 pH를 감소시켜 수집할 수 있다. 금속-결합 변이물질 또는 단편물질은 상기 및 하기에서 기재하는 방법 및 하기 실시예에서 기재한 방법으로 제조할 수 있다.

[0241] 락토페린의 관능성 변이물질, 단편물질 및 가수분해물질은 락토페린의 변이물질, 단편물질 및 가수분해물질을 선택하여 수득할 수 있으며, 하기 실시예에서 설정한 방법을 사용하여 본 발명의 방법에서의 이들의 효능을 평가할 수 있다.

[0242] 하나의 실시양태에서 락토페린은 이에 제한하지는 않지만 양, 염소, 돼지, 마우스, 물소, 낙타, 야크, 말, 당나귀, 라마, 소 또는 인간 락토페린을 포함하는 임의의 포유류 락토페린이다. 락토페린은 소의 락토페린이 바람직하다.

[0243] 또 다른 실시양태에서 락토페린은 이에 제한하지는 않지만 재조합 양, 염소, 돼지, 마우스, 물소, 낙타, 야크, 말, 당나귀, 라마, 소 또는 인간의 락토페린을 포함하는 임의의 재조합 포유류 락토페린이다. 락토페린은 재조합 소 락토페린인 것이 바람직하다. 재조합 락토페린은 무세포 발현 시스템 또는 이식 동물, 식물, 곰팡이 또는 박테리아, 또는 기타 유용한 종에서의 발현으로 제조할 수 있다.

[0244] 또 다른 실시양태에서 락토페린은 우유, 바람직하게는 양, 염소, 돼지, 마우스, 물소, 낙타, 야크, 말, 당나귀, 라마, 소 또는 인간 소로부터 분리한다. 바람직하게 락토페린은 양이온 교환 크로마토그래피 이후에 초여과 및

정용여과에 의해 우유로부터 분리한다.

[0245] **5. 우유로부터의 락토페린의 분리**

[0246] 하기는 소의 우유에서 락토페린을 분리하는 대표적인 절차이다. 신선한 탈지유(7 L, pH 6.5)를 4 °C 및 5 ml/분의 유속에서 밀리 Q 워터로 평형화시킨 S 세파로스 패스트 플로우 300 ml 컬럼을 통과시킨다. 비결합 단백질은 2.5 충전 부피의 물을 통과시켜 세척하고, 결합한 단백질은 각각 0.1 M, 0.35 M 및 1.0 M 소듐 클로라이드의 대략 2.5 충전 부피로 한 단계씩 용출시킨다. 1 M 소듐 클로라이드에서의 분별되는 핑크 밴드로서 용출되는 락토페린을 단일 분획물로서 수집하고, 밀리 Q 워터로 투석한 후 동결 건조시킨다. 동결 건조 분말은 pH 6.5의 25 mM 소듐 포스페이트 완충액에 용해시키고, 3 ml/분의 유속 및 상기 완충액에서의 1M로의 소듐 클로라이드 그라디언트로 S 세파로스 패스트 플로우 상에서 체크로마토그래피를 실행한다. 젤 전기영동 및 역상 HPLC에 의해 결정된 효과적인 순도의 락토페린을 함유하는 분획물을 결합시키고, 투석하고, 냉동 건조시킨다. 0.15 M 포타슘 클로라이드를 함유하는 pH 8.6의 80 mM 디포타슘 포스페이트에서 Sephacryl 300 상에서 젤 여과하여 락토페린을 최종으로 정제한다. 선택한 분획물을 결합하고, 밀리 Q 워터로 투석하고, 동결 건조시킨다. 상기 제조물의 순도는 락토페린의 철-포화 형태에 있어서 ~19 또는 그 이하의 분광 비율 값(280 nm/465 nm)에 의해 및 HPLC 분석에 의해서 결정하여 95 % 이상이다.

[0247] 락토페린을 포함하는 유용한 우유 분획물을 분리하는 다른 대표적인 방법은 US 특허 번호 5,932,259(Kato 등) 및 US 특허 번호 5,976,597(Takada 등)에 알려져 있다.

[0248] **6. 락토페린의 금속 이온 고갈 또는 금속 이온 포화**

[0249] 5 mM 제2철 니트릴로트리아세테이트[Foley 및 Bates(1987)] 대 10 mM 소듐 비카르보네이트를 함유하는 pH 7.8의 50 mM Tris에서의 정제된 락토페린 1 % 용액의 2:1 과잉 물을 첨가하면 철 포화가 획득된다. 과잉의 제2철 니트릴로트리아세테이트는 4 °C에서 총 20 시간 동안 100 부피의 밀리 Q 워터(2회로 새로 보충함)로 투석하여 제거한다. 이후에 철-로딩 (홀로-) 락토페린을 동결 건조시킬 수 있다. 철 포화 정도의 다양화는 하기 실시예에서 기재한 것과 같이 보다 적은 금속 이온 주제를 제공함으로써 수득할 수 있다. 금속 이온 락토페린의 또 다른 제조 방법은 공개된 국제 특허 출원 WO 2006/132553(참고문헌으로 여기에 혼입되어 있음)에 기록되어 있다. 금속 이온 락토페린 조성물의 보존 품질의 유지 또는 개선 방법은 참고문헌으로 여기에 혼입되어 있는 공개된 국제 특허 출원 WO 2006/096073에 기재되어 있다.

[0250] 철-고갈 (아포-) 락토페린은 4 °C에서 30 시간 동안 500 mg/L 디소듐 EDTA를 함유하는 pH 2.3의 0.1 M 시트르산 30 부피로 물에서 정제도가 높은 락토페린 샘플 1 % 용액을 투석하여 제조한다[Masson 및 Heremans (1966)]. 다음에 시트레이트 및 EDTA는 밀리 Q 워터 30 부피(1회로 새로 보충함)로 투석하여 제거하고, 수득된 무색의 용액은 동결 건조시킨다.

[0251] 락토페린 폴리펩티드는 철 이온(자연적으로 발생된 락토페린 폴리펩티드) 또는 비-철 금속 이온(예를 들어 구리 이온, 크롬 이온, 코발트 이온, 망간 이온 또는 아연 이온)을 함유할 수 있다. 예를 들어 소 우유에서 분리한 락토페린은 철을 고갈시킬 수 있으며, 다음에 또 다른 타입의 금속 철을 로딩할 수 있다. 예를 들어 구리 로딩은 상기에서 기재한 철 로딩 방법과 동일하게 획득할 수 있다. 다른 금속 이온으로의 락토페린의 로딩에 있어서는 Ainscough 등(1979) 방법을 사용할 수 있다.

[0252] 하나의 실시양태에서 금속 이온은 알루미늄, 비스무스, 구리, 크롬, 코발트, 금, 철, 망간, 오스뮴, 백금, 루테튬, 아연, 또는 락토페린 금속 이온 결합 포켓에 특이적으로 혼입될 수 있는 다른 이온으로 이루어진 군으로부터 선택된 이온이다. 금속 이온은 철 이온이 바람직하다.

[0253] 본 발명에 따라 이용하기 위한 조성물의 제조에서 락토페린 폴리펩티드 또는 금속 이온-결합 락토페린 단편물질은 단일 종의 것 또는 여러가지 종의 것일 수 있다. 예를 들어 폴리펩티드 또는 단편물질은 각각 여러 수의 금속 이온 또는 여러가지 종류의 금속 이온을 함유할 수 있으며; 또는 폴리펩티드 길이는 다양할 수 있으며, 예를 들어 몇몇은 완전한 길이의 폴리펩티드이고, 몇몇은 단편물질이며, 단편물질은 각각 완전한 길이의 폴리펩티드의 특정 위치를 나타낼 수 있다. 이러한 제조는 여러가지의 락토페린 폴리펩티드 종류를 혼합하거나 또는 천연 공급물로부터 수득할 수 있다. 예를 들어 여러가지 길이의 락토페린 폴리펩티드의 혼합물은 완전한 길이의 락토페린 폴리펩티드의 프로테아제 침지(완전하게 또는 부분적으로)에 의해서 제조할 수 있다. 침지 정도는 예를 들면 프로테아제의 양 또는 배양 시간을 조절하거나 하기에서 기재한 것과 같은 것으로서, 당업에 잘 공지되어 있는 방법에 따라 제어할 수 있다. 완전한 침지로 완전한 길이의 락토페린 폴리펩티드의 다양한 단편물질의 혼합물이 생성되며; 부분적 침지로는 완전한 길이의 락토페린 폴리펩티드 및 다양한 단편물질의 혼합물이 생성된

다.

[0254] **7. 락토페린 단편물질 또는 락토페린 가수분해물질의 제조**

[0255] 유용한 락토페린 단편물질은 공개된 국제 특허 출원 WO 2006/054908 및 WO 2007/043900(각각 이의 전문이 여기에 혼입되어 있음)에 기재되어 있다. 후보 관능성 단편물질을 함유하는 가수분해물질은 분열의 공지된 특이성을 갖는 적당한 효소, 예컨대 트립신 또는 키모트립신을 선택하고, pH, 온도, 배양 시간 및 효소 대 기질의 비율에 의해 단백질 가수분해를 제어하고/제한함으로써 제조할 수 있다. 이러한 분리된 펩티드의 정련은 특이적인 엔도펩티다아제를 사용하여 이를 수 있다. 예로서 소의 락토페린은 3 %(기질 w/w)에서 효소를 사용하여 4 시간 동안 37 °C pH 2.5(Tomita 등, 1994)에서 또는 37 °C에서 45 분 동안 pH 2.0(Facon & Skura, 1996)에서 펩신으로 소의 락토페린을 분해하여 제조할 수 있다. 다음에 상기 펩티드는 역 상 HPLC(Tomita 등, 1994) 또는 소수성 상호작용 크로마토그래피(Tomita 등, 2002)에 의해 분리할 수 있다.

[0256] 대안으로 락토페린 펩티드는 Viejo-Diaz 등(2003)에서의 인간 칼리오신-1(NH₂-FFSASCVPGADKGQFPNLCRLCAGTGENKCA-COOH) 및 락토페린 유도 펩티드(NH₂-TKCFQWQRNMRKVRGPPVSCIKR-COOH); Nguyen 등(2005)이 기재한 것과 같은 소의 락토페린 펩티드(NH₂-RRWQWRMKKLG-COOH); 및 van der Kraan 등(2004)에서 기재한 것과 같이 락토페라핀(NH₂-WKLLSKAQEKFGKNKSR-COOH) 및 짧은 단편물질에 있어서 기재한 것과 같이 잘 설정된 합성 Fmoc 캐미스트리에 의해서 제조할 수 있다.

[0257] 일반적으로 SDS-PAGE를 사용하여 분자 중량 표준과 가수분해물질을 비교하여 가수분해 정도를 평가할 수 있다. 크기 배제 크로마토그래피를 사용하여 가수분해물질 내의 다양한 종류를 분리하고, 분자 중량 분포 프로파일을 평가할 수 있다.

[0258] 바람직한 가수분해 방법에서 소의 락토페린은 50 mM Tris pH 8.0, 5 mM CaCl₂의 20 mg/mL에 용해한다. 트립신(Sigma T8642, TPCk treated, Type XII from bovine pancreas, 11700U/mg 단백질을)을 효소 기질 비율 1:50 w/w에 첨가하고, 혼합물을 25 °C에서 3 시간 동안 배양한다. 반응은 1 mM 최종 농도가 되도록 PMSF를 첨가하여 정지시키고, 침지 정도는 SDS-PAGE로 모니터링한다. 트립틴 다이제스트(4 mL)를 50 mM Tris, 0.15 M NaCl pH 8.0의 Sephacryl S300(Amersham GE)(90 cm x 2.6cm 컬럼) 상의 겔 여과에 적용시킨다. 다음에 소의 락토페린의 주요 단편물질을 함유하는 적당한 분획물(Legrand 등 1984)을 소듐 포스페이트 완충액 pH 6.5 및 1 M NaCl로 염 그래디언트를 사용하여 S 세파로스 패스트 플로우(Amersham GE) (15 cm x 1.6 cm 컬럼) 상의 양이온 교환 크로마토그래피에 적용시킨다. C 로브 및 N+C 로브의 최종 분리는 상기에서와 같지만 용출액으로서 10 % v/v 아세트산을 사용하여 Sephacryl S300 상의 추가 겔 여과에 의해서 획득한다(Mata 등 1994). (밀리-Q 워터에 대한) 투석 및 동결 건조된 단편물질의 동일성은 SDS-PAGE 및 Edman N-말단 서열에 의해 확인한다.

[0259] 또 다른 방법에서 트립틴 다이제스트는 회수된 C-로브 및 N-로브 단편물질에 상응하는 높은 질량 단편물질 및 Superti 등(2001)에서와 같은 Vydac C18 컬럼 상의 RP-HPLC에 의해서 분리한다. 동일성은 MALDI MS에 의해 확인한다.

[0260] 하나의 실시양태에서 여기서 유용한 가수분해물질은 1개 이상의 관능성 단편물질을 함유한다.

[0261] **8. 항-종양 식품 인자**

[0262] 항-종양 식품 성분은 Park 등 2002 및 Kris-Etherton 2002에서 재검토되었다.

[0263] 하나의 실시양태에서 항-종양 식품 인자는 비타민 D(비타민 D1[루미스테롤], 비타민 D2[칼시페롤 또는 에르고칼시페롤], 비타민 D3[콜레칼시페롤], 비타민 D4[22-디히드로에로고칼시페롤] 및 비타민 D5[시토칼시페롤] 및 비타민 D5[7-디히드로시토스테롤]를 포함함), 비타민 D 유사물질(이에 제한하지는 않지만 하기에 참조한 것을 포함함), 대두 단백질, 1개 이상의 대두 성분(이에 제한하지는 않지만 대두로부터의 오메가-3 지방산, 대두로부터의 이소플라본(예를 들면 제니스테인 및/또는 다이드제인) 및 루나신 펩티드(예컨대 참고문헌으로 여기에 혼입된 US 특허 6,107,287 및 US 6,544,956에 기재된 것, 및 등록 번호가 AAE49016, AAE49017, AAP62458 및 AAP62459인 것들)를 포함함), 폴리페놀(예를 들면 그린 또는 블랙 티), 라이코펜(또는 예를 들면 토마토 주스), 밀기울, 플라보노이드(또는 예를 들면 사과 주스), 이노시톨, 레스베라트롤(또는 예를 들면 포도 주스), 프로폴리스, 버섯 추출물, 안토시아닌(또는 예를 들면 베리 주스), 아몬드, 인삼, 카제인 가수분해물질, 및 이의 결합물로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0264] 여기서 유용한 비타민 D 화합물의 예로는 이에 제한하지는 않지만 칼시트리올(1-알파, 25-디히드록시[1,25(OH)₂D₃]; 1,25-디히드록시콜레칼시페롤), 1,25-디히드록시에르고칼시페롤, 칼시페디올(25-히드록시콜레칼

시페롤), 25-히드록시에르고칼시페롤, 에르고칼시페롤(및 이의 전구물질 에르고스테롤), 콜레칼시페롤(및 이의 전구물질 7-디히드로콜레스테롤), 독스에르칼시페롤, 디히드로타치스테롤, 파라칼시톨, 세오칼시톨[EB 1089; 1(S),3(R)-디히드록시-20(R)-(5'-에틸-5'-히드록시헵타-1'(E),3'(E)-디엔-1'-일)-9,10-세코프레그나-5(Z),7(E),10(19)-트리엔)], 뿐만 아니라 이의 유도물질, 유사물, 상동물질, 전구물질 및 대사산물을 포함한다.

[0265] 하나의 실시양태에서 항-종양 식품 인자는 항-종양 식품 및 항-종양 식품 성분을 포함하는 군으로부터 선택된다.

[0266] 하나의 실시양태에서 항-종양 식품은 과일, 제소, 콩류, 견과류, 씨, 곡물, 양념류, 허브, 진균류, 생균제, 사과, 살구, 콩(예를 들면 그린 콩, 블랙 콩), 칩피스, 베리(예를 들어 블루베리, 나무딸기), 십자화과 채소(예를 들어 브로콜리, 브뤼셀, 싹양배추, 양배추, 콜리플라워, 콜라드, 케일, 구경양배추, 청경채, 무, 겨자 및 순무), 당근, 치즈, 콩제품, 크랜베리, 가지, 아마씨, 파마뉴류 채소[예를 들어 마늘, 양파, 파(봄양파), 골파, 부추, 샬롯], 생강(생강 성분 진저롤, 파라돌 및 베타-엘레멘을 포함함), 인삼, 그레이프프루트, 포도, 포도 주스, 그린 또는 블랙 티, 양고추냉이, 키위주스, 고구마, 부추, 레몬, 라임, 노니 프루트, 양파, 오렌지, 땅콩, 후추, 호밀 제품, 연어, 대두유 제품, 콩 견과류, 대두, 호박, 탕헤르, 토마토, 밀기울 제품, 쌀, 파파야, 포포 나무, 복숭아, 감나무, 스트로베리, 타로잎, 그린 바나나, 망고, 물냉이, 참마, 아몬드 및 이의 결합물을 포함하는 항-암 특성을 가지는 관능성 식품 또는 이의 유도물질일 수 있다.

[0267] 하나의 실시양태에서 항-종양 식품 성분은 대두 단백질, 이에 제한하지는 않지만 대두로부터의 오메가-3 지방산, 대두로부터 이소플라본(예를 들어 제니스테인 및/또는 다이드제인) 및 루나신 펩티드(예컨대 참고문헌으로 여기에 혼입되어 있는 US 특허 US 6,107,287 및 US 6,544,956에 기재된 것들 및 등록 번호 AAE49016, AAE49017, AAP62458 및 AAP62459인 것들), 상어 연골, 마늘 추출물, 셀레늄 보충제, 티 추출물(예를 들면 그린 또는 블랙 티 폴리페놀/카테킨/에피갈로카테킨 갈레이트), 커큐미노이드, 카페인, 카르노스산, 캅사이신, 세스퀴테르펜 락톤(예를 들면 파르테놀리드, 코스투놀리드, 요모진), 코틸레닌 A, 후물론, 알지닌, 글루타민, 녹색 잎 채소의 레티노이드, 코코아 분말, 라이코펜, 십자화과 채소의 글루코시놀레이트, 유기황 화합물(알리신, 디알릴 설파이드, 디알릴 디설파이드 알릴 머캅탄), N-아세틸 시스테인, 알리움 화합물, 카로테노이드(이에 제한하지는 않지만 β-카로틴), 코우마린, 식이섬유, 디티올티온, 플라보노이드(예를 들어 미리세틴, 퀘르세틴, 루틴), 인돌레, 이노시톨, 이노시톨 헥사포스페이트, 이소플라본(제니스테인, 다이드제인), 이소티오시아네이트, 모노테르펜(예를 들어 리모넨, 퍼릴산, 메톨, 카르베올), 밀기울, 디테르펜 에스테르, 폴리페놀, 리보플라빈 5' 포스페이트, 신남알데하이드, 바닐린, 움벨리페론, 페놀(예를 들어 산남산), 폴리페놀, 식물 스테롤(예를 들어 시토스타놀, 스티그마스테롤, 캠페스테롤), 아실글리코실스테롤, 피토스테로이드, 프로테아제 억제제, 사포닌, 이소프레노이드, 테르프레노이드, 토코트레노이드, 레티노이드, 엘라그산, 폴리아민, 레스베라트롤, 히드록시신남산[예를 들어 (E)-페투릭산 및 (E)-p-쿠마르산], 클로로필린, 프로폴리스 및 이의 몇몇 성분들(예를 들면 카페산, 페닐 에스테르, 아르텔리핀 C), 적 포도주, 탄닌산, 버섯 추출물, 안토시아닌(예를 들어 시아니딘), 버섯 β-글루칸(예를 들어 렌티난), 시금치 잎 추출물, 시금치 잎의 천연 항산화제 혼합물, 노니 주스, 비타민 A, B6, C 및 E, 삼 카시아 추출물, 베타 불가리스 추출물, 레몬 그라스 추출물 및 밤부 그라스, 카르노스산, 캅사이신, 세스퀴테르펜 락톤(예를 들어 파르테놀리드, 코스투놀리드, 요모진), 코틸레닌 A, 후물론 및 오메가-3 지방산(에이코사헵타에논산(EPA) 및 도카사헥사논산(DHA)) 및 이의 결합물을 포함하는 1개 이상의 대두 성분을 포함하는 군으로부터 선택될 수 있다.

[0268] 하나의 실시양태에서 항-종양 식품 성분은 비타민 D, 비타민 B6, 타우린, 알지닌, 글루타민, α-락트알부민, 초유 유청, 완전 또는 부분적 카제인 가수분해물질, 면역자극제로서 공지된 카제인 펩티드(들)(예를 들면 면역카소키닌, 카제이노포스펩티드, 카소몰핀, 카소키닌), 초유 펩티드, 초유, 칼슘 및 칼슘 포스페이트, 폴레이트, 시스테인-풍부 우유 단백질, 락토퍼록시다아제, HAMLET(α-락트알부민-올레산 복합물), 플라즈미노겐 단편물질, 프로사포신, 사포신, 카탈라아제, 락토퍼록시다아제, 지방산 결합 단백질, 리보뉴클레아제, 베타-클루코니다아제 억제제, BRCA1, BRCA2, CD36, 인터페론, 종양 괴사 인자, 인터루킨 2(IL-2), 키니노젠 및 단편물질, 키니노스타틴, 시스타틴, 페투인, 뉴트로필 데펜신, 인터루킨 12(IL-12), 키티나아제-유사 단백질, 다이스트로글리칸, 프로스타신, SPARC-유사 단백질 및 트롬보스포딘 또는 이의 결합물로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0269] **대두 단백질**

[0270] 대두는 심장 건강 및 건강한 뼈에 도움을 주며, 암을 예방하고, 폐경기 증상을 경감시켜주는 제제로서 활성화되어 있다(Kerwin, 2004). 대두의 항-암 효과는 그 자체로 동물 단백질 보다 항 아미노산 함량이 낮은 대두 단백질에 있는 것으로 생각되며, 동물에서 칼시노젠-유도 종양의 발병을 억제하는 것으로 나타나 있다. 항-암 활성

을 가지는 또 다른 대두 성분은 프로테아제 억제제, 이소플라본, 예컨대 항-암 및 전-암 효과를 가질 수 있는 제니스테인, 및 사포닌을 포함한다.

[0271] **비타민 D 및 비타민 D 수용체 리간드**

[0272] 비타민 D는 항-암 특성을 가지는 것으로서 광범위하게 기록되어 있다(Harris 등, 2004). 또한 비타민 D는 타입 1 당뇨병, 다발성 경화증, 심혈관 질환 및 골다공증을 포함하는 암 이외의 여러가지 일반적인 심각한 질환의 발병 위험을 감소시키는 것으로 알려져 있다(Holick, 2004). 낙농 제품은 우유 및 다른 낙농 제품에 비타민 D를 강화하는 뉴질랜드와 같은 나라에서 주요한 비타민 D의 식이 공급물이다. 비타민 D3는 간에서 25-히드록실화되며, 신장 및 말초 조직에서 세포 성장 및 발달과 관련된 다중 공정에 영향을 주는 활성 호르몬 형태 1-알파, 25-디히드록시[1,25(OH)2D3](칼시트리올)로 전환된다. 상기는 세포 주기의 G0/G1 상에서 저지하여 종양 세포에 항증식 효과에 기여하여 성장 촉진 인자 예컨대 IGF-1을 하향 조절하고, 형질변환 성장 인자 베타와 같은 마이너스 성장 조절제를 상향 조절한다. 상기로 인해서 종양의 세포자멸사가 유도되며, 상기는 종양 생성 반응 및 전이의 억제제이다(Nakagawa 등, 2005). 종양 성장을 억제하기 위해 필요한 투여량으로 활성 1,25(OH)2D3 대사 산물을 투여하는 것은 고칼슘 혈증 독성과 관련이 있다. 고칼슘 혈증을 유도하지 않는 1,25(OH)2D3의 합성 구조 유사물질은 동물 모델에서 종양의 퇴화를 유도하고, 종양 성장을 억제하는 것으로 보고되었다(Colston 등, 2003; Nolan 등, 1998; van Weelden 등, 1998). 비타민 D 수용체(VDR) 리간드의 항-암 활성은 방광, 유방, 결장, 자궁내막, 신장, 폐, 췌장, 전립선, 연 조직과 뼈의 육종, 신경아 세포종, 신경교종, 흑색종, 편평상피세포암(SCC) 및 기타의 암 모델에서 설명되어 있다(Beer 등, 2004).

[0273] 제1상 임상실험으로 간헐적 매주 투여를 실제로 투여량을 점차 늘리고, 잠재적으로 치료 피크 칼시트리올 농도가 생성된다는 것을 입증하였다(Beer 등, 2001). 제2상 연구에서 다량의 1 α ,25-디히드록시 비타민 D와 도세탁셀 결합물에 있어서의 항-종양 활성의 유망한 양을 안드로젠-비의존적 전립선 암 환자에게 매주 스케줄로 투여한 것을 보고하였다(Beer 등, 2003).

[0274] (햇빛 없이) 사람에게서 하루 섭취량이 10,000 IU가 안전하다는 것이 여러 연구에서 보여주고 있다. 대부분의 경우의 비타민 D 독성은 수 년 동안 매일 50,000 IU 이상을 소화한 후에 발생한 것을 보고하고 있다. 몇몇은 비타민 D는 특별히 독성이 없다고 주장한다(Saul, 2003).

[0275] 여기서 유용하며, 비타민 D 수용체(VDR) 리간드로서 활성을 가지는 화합물은 일반적으로 3개의 부류로 나눈다: (1) 세코스테로이드 스카프폴드를 가지는 "텔타노이드", (2) C 또는 D 고리 중 하나가 깨지고 비타민 D의 A-고리를 가지는 "슈도-세코스테로이드", 및 (3) 구조적으로 세코스테로이드와는 별개인 "비-세코스테로이드". 유용한 비타민 D 유사물질의 재검토는 Guyton 등, 2003; Guyton 등, 2001; Peleg 등, 2003; 및 Yee 등, 2005을 참조한다.

[0276] 유용한 비타민 D 유사물질은 이의 전문이 여기에 혼입된 국제 출원 PCT/NZ2007/000389 (및 상기의 참조문헌)에 기재되어 있다.

[0277] 본 발명의 방법에서 이러한 유사물질의 평가는 하기 실시예에 기재된 방법을 따라서 실행할 수 있다.

[0278] **9. 면역 강화**

[0279] 본 발명자들은 선택적으로 1개 이상의 추가의 치료제와 함께 유지방이 면역계를 자극하고 강화할 수 있다는 것을 확인하였다. 특히 하기 실시예에서 나타난 것과 같이 선택적으로 1개 이상의 추가 인자와 함께 유지방은 항원-특이적 세포용해 활성(면역 세포, 특히 세포독성 T-림프구의 활성) 및/또는 NK 세포 활성의 발생을 자극하고, 항원에 대한 세포성 면역 반응(적어도 세포독성 T-림프구의 활성을 통해서)을 개선하고, (적어도 세포독성 T-림프구 및/또는 NK 세포의 활성을 복원하고, 사이토카인 생성을 강화시킴으로써) 면역 방어를 개선하고, (세포독성 T-림프구의 활성 및/또는 NK 세포 활성을 적어도 회복 또는 자극하고, 사이토카인 생성을 강화시켜) 면역 방어를 복원하고, 및 전-염증유발 및 면역조절 매개자(Th1 및 Th2 사이토카인)를 발생시킬 수 있다. 유지방 분획물 등을 포함하여 유지방의 임의의 관능성 변이물질은 1개 이상의 추가 치료제를 결합하거나 또는 결합하지 않고 유지방으로서 유사한 활성을 나타낼 것이라고 생각한다. 유사하게 락토페린을 투여하는 경우 락토페린의 임의의 관능성 변이물질 또는 관능성 단편물질은 락토페린과 유사한 활성을 나타낼 것이라고 생각한다.

[0280] 하기 실시예에서 나타내는 것과 같이 유지방은 항원-특이적 세포용해 활성 및/또는 NK 세포 활성의 발생을 개선하고, 항원에 대한 세포성 면역 반응을 개선하고, 면역 방어를 개선하고, 면역 보호를 복원하는데 효과적이다.

- [0281] 따라서 본 발명은 선택적으로 1개 이상의 추가 치료제, 예컨대 1개 이상의 항-종양 치료제와 함께 피험자에게 유지방 또는 유지방 유사물질을 투여하는 단계를 포함하는 피험자의 면역계를 자극하는 방법에 관한 것이다. 본 발명은 또한 피험자의 종양 내의 Th1 및 Th2 사이토카인의 생성을 증가시키고, 피험자의 장 내의 Th1 및 Th2 사이토카인의 생성을 증가시키고, 피험자의 체순환에서 Th1 및 Th2 사이토카인의 양을 증가시키고, 및 피험자에서 항-종양 면역 반응을 증가시키는 방법에 관한 것이다.
- [0282] 본 발명의 상기 방법의 하나의 실시양태에서 피험자는 상기에서 기재한 것과 같은 암 치료를 실행할 예정이거나 또는 실행하고 있다.
- [0283] 하나의 실시양태에서 피험자는 치료를 받았지만, 병이 재발하거나 또는 재발할 가능성이 있다. 하나의 실시양태에서 피험자는 화학요법, 항-혈관형성 또는 면역요법제와 함께하는 치료에 대해서 종양이 저항한다. 하나의 실시양태에서 피험자는 이전에 화학요법, 항-혈관형성 또는 면역요법제로 이전에 성공적이지 않은 치료를 했다.
- [0284] 하나의 실시양태에서 Th1 사이토카인은 IL-18, TNF- α 및 IFN- γ 로부터 선택된다. 하나의 실시양태에서 Th2 사이토카인은 IL-4, IL-5, IL-6 및 IL-10에서 선택한다. 하나의 실시양태에서 Th1 또는 Th2 사이토카인 또는 사이토카인들의 양은 약 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750 또는 800 % 이상까지 증가한다.
- [0285] 적당하다면 상기 방법은 임의의 1개 이상의 항-종양 치료제(화학요법제 또는 면역요법제를 포함함) 또는 하기에 기재한 항-종양 요법을 적용하여 치료하는 것과 결합할 수 있다.
- [0286] **10. 암 예방**
- [0287] 본 발명자들은 단독으로 또는 1개 이상의 추가 치료제와 함께 유지방이또한 종양 형성을 억제하고, 종양 성장을 억제하며, 종양 전이를 억제할 수 있다는 것을 확인하였다. 단독으로 또는 락토페린 및 특히 금속 이온 락토페린과 함께 유지방은 항-종양 인자, 예컨대 T-세포 및/또는 NK(Natural Killer) 세포의 방출을 시작 또는 자극하며, 전신 순환에서 세포자멸사-유도 인자는 항-종양 면역 활성을 자극하고, 면역 강화 활성을 나타내며, 항-혈관형성 활성을 나타내고, 직접 종양 세포독성을 나타내며, 하기 실시예에서 나타난 것과 같이 종양 세포의 세포자멸사를 유도할 수 있다. 유지방의 임의의 관능성 변이물질 또는 유지방 분획물 또는 유지방 유사물질은 유지방과 유사한 활성을 나타낼 것이다.
- [0288] 본 발명은 암을 예방하고, 특히 제2차 종양의 성장 및 증식으로부터 흔히 수득되는 수술 후의 재발(종양 성장)을 예방하고, 진단 후 종양이 퍼지는 것을 예방하고, 항-종양 치료제 또는 항-종양 요법을 투여하기 위해 피험자를 준비하기에 유용하다.
- [0289] 고형 종양은 특정 크기로 성장하기 전에 새로운 혈관을 형성해야 한다. 따라서 신생혈관형성, 특히 종양의 신생혈관형성(종양을 만들기 위한 혈관 형성)을 억제하는 것이 암을 치료하는데 효과적인 방법이다(Dass, 2004). 하기 실시예에서 나타난 것과 같이 단독으로 또는 락토페린 및 특히 금속 이온 락토페린과 함께 경구 투여된 유지방은 종양에서의 혈관의 수를 현저하게 감소시키고, 혈액 흐름을 현저하게 감소시킬 수 있다.
- [0290] 신생혈관형성을 억제하는 것은 또한 이에 제한하지는 않지만 심혈관 질환(예를 들면 죽상동맥경화증 및 재협착), 만성염증(예를 들면 루마티스 관절염, 퇴행성관절염 및 크론씨병), 당뇨병(당뇨병성 망막병변), 건선, 자궁내막증, 황반변성 및 지방축적을 포함하는 기타 질환에 응용한다. 따라서 바람직하게는 1개 이상의 추가 치료제, 보다 바람직하게는 락토페린 또는 이의 관능성 변이물질 또는 관능성 단편물질 및 특히 금속 이온 락토페린과 결합한 유지방 또는 유지방 유사물질은 암 치료 및 예방 외에도 이용한다.
- [0291] 유사하게 경구 투여된 유지방 또는 유지방 유사물질은 단독으로 또는 1개 이상의 추가 치료제, 예컨대 락토페린 및 특히 금속 이온 락토페린과 함께 하기 실시예에서 나타난 것과 같은 종양 세포의 세포자멸사를 유도할 수 있다. 실시예에서는 또한 세포자멸사 인자가 금속 이온 락토페린을 공급한 마우스의 혈액 세럼에 존재한다는 것을 보여준다.
- [0292] 따라서 본 발명은 피험자에게 락토페린 또는 이의 금속 이온 관능성 변이물질 또는 관능성 단편물질을 투여하는 단계를 포함하며, 또한 피험자에서 종양 형성을 억제하고, 피험자에서 세포자멸사를 유도하고, 피험자에서 종양 세포의 세포자멸사를 유도하고, 피험자에게서 신생혈관형성을 억제하고, 피험자에게서 종양 신생혈관형성을 억제하는 방법에 관한 것이다.
- [0293] 본 발명은 또한 전신 순환에서 항-종양 인자를 유지 또는 증가시키는 방법에 관한 것이다.

- [0294] 하나의 실시양태에서 피험자는 암이 걸릴 수 있다. 하나의 실시양태에서 피험자는 화학요법, 항-신생혈관형성 또는 면역요법제로의 치료에 종양이 저항할 수 있다. 하나의 실시양태에서 피험자는 이전에 화학요법, 항-신생혈관형성 또는 면역요법제로 성공하지 못한 치료를 받았다.
- [0295] 적당하다면 상기 방법들은 하기에 기재된 1개 이상의 항-종양 치료제(화학요법제 또는 면역요법제를 포함함) 또는 항-종양 요법을 사용하는 치료와 결합할 수 있다.
- [0296] **11. 결합 치료요법으로의 암 치료 및 예방**
- [0297] 본 발명자들은 유지방이 종양 성장 및 종양 전이를 억제할 수 있다는 것을 확인하였다. 유지방은 면역요법(B7-1의 종양내 유전자 이식에 의해 중재되는 것을 포함함), 화학요법(파클리탁셀, 독소루비신, 에피루비신 또는 플루오로우라실을 포함함) 또는 수지상 세포 요법과 함께 실제로 종양을 근절시키는데 상승효과를 가진다. 유지방은 화학요법(파클리탁셀, 독소루비신, 에피루비신, 플루오로우라실, 시클로포스파미드 또는 메토트렉사이드를 포함함)과 함께 종양 성장 및 종양 전이를 억제하는데 상승효과를 가질 수 있다. 유지방 분획물 등, 또는 유지방 유사물질을 포함하는 유지방의 임의의 관능성 변이물질은 1개 이상의 추가 치료제와 결합하여 또는 결합하지 않고서 유지방과 유사한 활성을 나타낼 것이다. 유사하게 락토페린을 투여하는 경우에 락토페린의 임의의 관능성 변이물질 또는 관능성 단편물질은 락토페린과 유사한 활성을 나타낼 것이다. 유지방은 단독으로 또는 다른 요법과 결합하여 폐 및 간에 퍼져있는 4T1 유방암 종양의 생성물을 억제하여 종양 전이를 억제할 수 있다.
- [0298] 상기에서 기재한 것과 같이 유지방은 항-종양 인자, 예컨대 T-세포 및/또는 NK(Natural Killer) 세포 및 세포자멸사-유도 인자를 전신 순환으로 또는 전신 순환에서 방출 또는 자극하고, 면역 강화 활성을 나타내며, 항-신생혈관형성 활성을 나타내고, 직접 종양 세포독성을 나타내고, 하기의 실시예에서 나타난 것과 같이 종양 세포의 세포자멸사를 유도할 수 있는 능력을 가진다는 것을 확인하였다.
- [0299] 하나의 실시양태에서 화학요법제는 파클리탁셀, 독소루비신, 에피루비신, 플루오로우라실, 사이클로포스파미드 또는 메토트렉사이드이다.
- [0300] 상기에서 기재한 방법에 더하여 본 발명은 피험자에서 종양 성장을 억제하거나 또는 종양 전이를 억제하는 방법, 및 피험자에서 암을 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것이며, 하기 단계를 포함한다:
- [0301] (a) 선택적으로 1개 이상의 추가 치료제와 함께 유지방을 투여하는 단계; 및
- [0302] (b) 1개 이상의 항-종양 치료제 또는 항-종양 치료요법을 분리해서, 동시에 또는 순차적으로 투여하는 단계.
- [0303] 하나의 실시양태에서 피험자는 암으로 고통을 받고 있거나 또는 암이 걸릴 수 있다. 하나의 실시양태에서 피험자는 화학요법, 항-신생혈관형성 또는 면역요법제로의 치료에 종양 저항성을 가진다. 하나의 실시양태에서 피험자는 이전에 화학요법, 항-신생혈관형성 또는 면역요법제 치료가 성공하지 않는 경험이 있다.
- [0304] 하나의 실시양태에서 1개 이상의 항-종양 치료제는 바람직한 경로가 선택된 항-종양 치료제에 따라 다르게 경구로 또는 비경구로 투여한다. 바람직하게 1개 이상의 항-종양 치료제는 정맥내, 복막내 또는 종양내 주입에 의해서 또는 경구로 투여한다. 바람직하게 파클리탁셀, 독소루비신, 에피루비신, 플루오로우라실, 사이클로포스파미드 및 메토트렉사이드는 정맥내 또는 복막내 주입으로 투여한다. 바람직하게 B7-1을 암호화하는 발현 플라즈미드는 종양내 주입으로 투여한다. 대안으로 종양 세포는 B7-1 발현 플라즈미드로 생체외에서 형질전환된 환자로부터 수집한 다음에 환자에게 형질전환된 세포를 주입할 수 있다. 대안으로 용해성 B7-1g 퓨전 단백질은 비경구로 운반할 수 있다. 바람직하게 수지상 세포 요법은 정맥내, 복강내 또는 종양내 주입으로 투여한다.
- [0305] 하나의 실시양태에서 유지방 또는 유지방 유사물질은 경구 또는 비경구로 투여한다.
- [0306] 하나의 실시양태에서 유지방 또는 유지방 유사물질은 선택적으로 1개 이상의 추가 치료제와 함께 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10 주 이상 동안 항-종양 치료제 또는 항-종양 치료요법을 하기 전에 매일 투여한다.
- [0307] 하나의 실시양태에서 유지방 또는 유지방 유사물질은 선택적으로 1개 이상의 추가 치료제와 함께 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 21 일 이상 또는 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8 주 이상 또는 약 1, 2, 3, 4, 5 또는 6 개월 이상 동안 항-종양 치료제 투여 또는 항-종양 치료요법 전에 투여한다.
- [0308] 하나의 실시양태에서 유지방 또는 유지방 유사물질은 선택적으로 1개 이상의 추가 치료제와 함께 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 21 일 이상 동안 또는 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8 주 이상 동안 또는 약 1, 2, 3, 4, 5 또는 6 개월 이상 동안 항-종양 치료제 투여 전 또는 항-

종양 요법을 시작하기 전에 투여한다.

- [0309] 바람직하게 유지방 또는 유지방 유사물질은 선택적으로 1개 이상의 추가 치료제와 함께 투여 경로(예를 들면 경구 및 비경구)를 결합하거나 또는 비경구 점적에 의해서 경구로 하루 동안 연속적으로 투여하는 것을 포함하여 적어도 하루에 한번 투여한다.
- [0310] 본 발명의 방법의 하나의 실시양태에서 종양은 상기에서 기재한 것과 같이 큰 종양이다.
- [0311] 본 발명의 방법의 하나의 실시양태에서 1개 이상의 피험자의 백혈구수, 적혈구수 또는 골수 세포 수를 유지 또는 개선한다.
- [0312] 하나의 실시양태에서 유지방 또는 유지방 유사물질은 1개 이상의 추가 치료제와 함께 투여하는 경우에 소화가능한 지방, 보다 바람직하게는 소화가능한 지방 및 소화가능한 단백질, 바람직하게는 락토페린, 카제인 또는 기타 단백질, 예컨대 기타 식용가능한 단백질을 포함하는 투여 형태로 투여한다.
- [0313] 하나의 실시양태에서 유지방 또는 유지방 유사물질 및 1개 이상의 추가 치료제는 단독으로 하는 것 보다는 더 나은 효과를 가지며, 바람직하게는 단독으로의 추가적인 효과 이상의 상승 치료 효과를 제공한다. 예를 들면 종양 형성 또는 성장 억제, 종양 퇴화, 세포용해 효과, 면역 강화, Th1 및 Th2 사이토카인 발생, 백혈구수, 적혈구수 또는 골수세포수의 유지 또는 개선, 빈혈증, 악액질, 점막염의 치료 또는 예방, 또는 치료 방법에 피험자 또는 종양의 반응성에서 더 나은 효과를 보여준다.
- [0314] 이러한 방법은 1개 이상의 항-종양 치료제(화학요법제, 면역요법제, 항악액질제, 항점막염제 또는 조혈제를 포함함) 또는 하기에서 기재한 항-종양 요법을 이용한 치료와 결합할 수 있다.
- [0315] 하나의 실시양태에서 항-종양 요법은 이에 제한하지는 않지만 수술, 화학요법, 방사선요법, 호르몬요법, 생물학적 요법/면역요법, 항-신생혈관형성 요법, 세포독성 요법, 백신, 핵산-기본 백신(예를 들면 암 항원을 발현시키는 핵산, 예컨대 p185 백신을 포함하는 DNA 백신), 바이러스-기본 요법(예를 들면 아데노-관련 바이러스, 렌티바이러스), 유전자 요법, 작은 분자 억제제 요법, 뉴클레오티드-기본 요법(예를 들면 RNAi, 안티센스, 리보솜 등), 항체-기본 요법, 산소 및 오존 치료, 색전술 및/또는 화학색전술 요법을 포함하는 군으로부터 선택된다.
- [0316] 하나의 실시양태에서 항-종양 요법 또는 항-종양 치료제는 이에 제한하지는 않지만 참고문헌으로 여기에 이의 전문이 혼입되어 있는 공개된 국제 특허 출원 WO 2006/054908에 나열된 것들을 포함하는 화학요법제로부터 선택된다.
- [0317] 하나의 바람직한 실시양태에서 화학요법제는 파클리탁셀, 독소루비신, 에피루비신, 플루오로우라실, 사이클로포스파미드 및 메토트레사이트로부터 선택된다.
- [0318] 하나의 실시양태에서 항-종양 치료제는 면역요법제이다. 바람직하게 면역요법제는 T 세포 공동 자극제 B7-1, T 세포 공동 자극제 또는 관능적으로 관련된 분자, 예를 들면 B7-Ig 키메라를 암호화하는 발현 플라스미드이다.
- [0319] 하나의 실시양태에서 항-종양 치료제 또는 요법은 수지상세포 요법을 포함한다.
- [0320] 하나의 실시양태에서 방사선 요법은 방사성 동위 원소를 사용하는 외부 방사선 조사 요법(감마-레이 및 x-레이 요법을 포함함) 및 내부 방사선 요법을 포함한다.

[0321] 12. 치료에 대한 종양 반응성의 증가 방법

- [0322] 본 발명자들은 경구 투여 유지방이 단독으로 또는 1개 이상의 추가적 치료제, 예컨대 락토페린 및 특히 금속 이온 락토페린과 결합하는 경우 피험자의 반응성을 증가시키고, 항-종양 치료제에 대한 종양 민감도를 증가시킬 수 있다는 것을 하기 실시예에 나타내었다. 락토페린을 유지방과 결합하여 투여하는 경우에 락토페린의 임의의 관능성 변이물질, 관능성 단편물질, 금속 이온 관능성 변이물질 또는 금속 이온 관능성 단편물질은 유지방과 결합한 금속 이온 락토페린과 같은 유사한 활성을 나타낼 것이다.
- [0323] 따라서 본 발명은 또한 선택적으로 1개 이상의 추가 치료제, 바람직하게는 락토페린과 함께 유지방 또는 유지방 유사물질을 이를 필요로 하는 피험자에게 치료 요법과 분리해서, 동시에 또는 순차적으로 투여하는 단계를 포함하는, 피험자의 치료, 예컨대 수술, 화학요법, 방사선 요법, 호르몬 요법(예를 들면 타모식펜, 아로마타아제 억제제), 생물학적 요법/면역요법, 항-신생혈관형성 요법, 세포독성 요법, 백신, 핵산-기본 백신(예를 들면 p185 백신을 포함하는 DNA 백신과 같은 암 항원을 발현시키는 핵산), 바이러스-기본 요법(예를 들면 아데노-관련 바이러스, 렌티바이러스), 유전자 요법, 작은 분자 억제제 요법, 뉴클레오티드-기본 요법(예를 들면 RNAi, 안티센

스, 리보솜 등), 항체-기본 요법, 산소 및 오존 치료, 색전술 및/또는 화학색전술 요법 및 이의 결합 요법에 대한 반응성의 증가 방법에 관한 것이다.

[0324] 본 발명은 또한 치료 요법 투여를 이를 필요로 하는 피험자에게 선택적으로 1개 이상의 추가 치료제, 바람직하게는 락토페린과 유지방 또는 유지방 유사물질을 분리해서, 동시에 또는 순차적으로 경구 또는 비경구 투여 단계를 포함하는 피험자에서 암 요법에 대한 중앙 민감도를 증가시키는 방법에 관한 것이다. 바람직하게 유지방 또는 유지방 유사물질은 상기에 기재한 것과 같다. 바람직하게 1개 이상의 추가 치료제는 상기에 기재한 것과 같다. 바람직하게 락토페린은 상기에 기재한 것과 같다. 바람직하게 치료요법은 상기에 기재한 것 중의 하나이다.

[0325] 동시에 본 발명은 또한 치료 요법 투여를 이를 필요로 하는 피험자에게 선택적으로 1개 이상의 추가 치료제, 바람직하게는 락토페린과 유지방 또는 유지방 유사물질을 분리해서, 동시에 또는 순차적으로 투여하는 단계를 포함하는 암 요법을 실행한 피험자의 회복 속도를 증가시키는 방법에 관한 것이다. 본 발명의 상기 실시양태에서 피험자는 본 발명에 따라 치료하지 않는 피험자보다 더 신속하게 암 또는 암 요법의 영향으로부터 회복되었다. 바람직하게 상기 피험자는 암 치료 요법의 수용량 또는 소요 시간을 감소시킬 수 있다.

[0326] 상기 방법은 임의의 1개 이상의 항-중앙 치료제(화학요법제 또는 면역요법제를 포함함) 또는 상기에서 기재한 항-중앙 치료제를 사용하는 치료와 결합시킬 수 있다.

[0327] 하나의 실시양태에서 선택적으로 1개 이상의 추가 치료제와 함께 유지방 또는 유지방 유사물질은 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10 주 이상 동안 항-중앙 치료제 또는 항-중앙 치료요법 투여 전에 매일 투여한다. 하나의 실시양태에서 선택적으로 1개 이상의 추가 치료제와 함께 유지방 또는 유지방 유사물질은 항-중앙 치료제 또는 항-중앙 치료요법 투여 전 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 21 일 이상 동안 또는 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8 주 이상 동안 또는 약 1, 2, 3, 4, 5 또는 6 개월 이상 동안 투여한다. 하나의 실시양태에서 선택적으로 1개 이상의 추가 치료제와 함께 유지방 또는 유지방 유사물질은 항-중앙 치료제 또는 항-중앙 치료요법을 시작한 후 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 21 일 이상 동안 또는 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8 주 이상 동안 또는 약 1, 2, 3, 4, 5 또는 6 개월 이상 동안 투여한다.

[0328] 13. 중앙 타입

[0329] 하나의 실시양태에서 중앙, 중앙 세포 또는 암은 백혈병, 결장 암, 유방 암, 흑색종, 피부 또는 폐 암이다. 본 발명과 관련한 암 타입은 참고 문헌으로 여기에 혼입되어 있는 공개된 국제 특허 출원 WO 2006/054908에 나열되어 있다.

[0330] 하나의 실시양태에서 중앙, 중앙 세포 또는 암은 백혈병, 예컨대 이에 제한하지는 않지만 급성 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 급성 과립구성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 예컨대 골수아구성, 전골수구성, 골수단핵구성, 단구성, 적백혈병 백혈병 및 골수이형성 증후군, 만성 백혈병, 예컨대 이에 제한하지는 않지만 만성 골수성 백혈병, 만성 과립구성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병 및 모발상 세포 백혈병이다.

[0331] 하나의 실시양태에서 중앙, 중앙 세포 또는 암은 림프종, 예컨대 이에 제한하지는 않지만 호지킨 질환 및 비호지킨 질환이다. 하나의 실시양태에서 중앙, 중앙 세포 또는 암은 골수성 계열의 조혈기 중앙, 예컨대 이에 제한하지는 않지만 급성 및 만성 골수성 백혈병, 무증상 다발성 골수종, 비분비골수종 및 만성 골경화성 골수종을 포함한다. 하나의 실시양태에서 중앙, 중앙 세포는 백혈병, 급성 및 만성 림프구성 백혈병, 급성 및 만성 림프아구성 백혈병, B-세포 림프종, T-세포 림프종, 버키트 림프종을 포함하는 골수성 계열의 조혈기 중앙으로부터 선택하거나 또는 암은 하기를 포함한다. 하나의 실시양태에서 중앙, 중앙 세포는 B 골수성 계열의 조혈기 중앙이거나 또는 암은 B 골수성 계열의 조혈기 중앙을 포함한다. 하나의 실시양태에서 중앙, 중앙 세포는 T 골수성 계열의 조혈기 중앙으로부터 선택되며, 암은 T 골수성 계열의 조혈기 중앙을 포함한다.

[0332] 본 발명의 방법 및 조성물에 의해 치료하거나 또는 예방하는 추가 암 및 관련 질환은 이에 제한하지는 않지만 하기를 포함한다: 백혈병; 림프종; 다발성 골수종; 왈덴스트롬 마크로글로불린혈증; 의미불명단클론감마병증; 양성 단클론성 감마병증; 중쇄 질환; 뼈 및 연결 조직 육종; 뇌 중앙; 유방암; 부신암; 갑상선암; 혈액암; 뇌하수체암; 안암; 질암; 외음부암; 경부암; 자궁암; 난소암; 식도암; 위암; 결장암; 직장암; 간암; 담낭암; 담관암; 폐암; 고환암; 전립선암; 신장암; 구강암; 기저암; 침샘; 인두암; 피부암; 신장암; 빌름스 중앙; 및 방광암. 상기 질환을 재검토하기 위해서 Fishman 등, 1985, Medicine, 2d Ed., J.B. Lippincott Co., Philadelphia 및 Murphy 등, 1997, Informed Decisions: The Complete Book of Cancer Diagnosis, Treatment,

and Recovery, Viking Penguin, Penguin Books U.S.A., Inc, United States of America를 참조할 수 있다.

[0333] 추가 암 또는 기타 비정상 증식 질환을 본 발명에 따라 치료 또는 예방할 수 있으며, 이에 제한하지는 않지만 하기를 포함한다: 간, 비장, 심장, 폐, 소장, 대장, 직장, 신장, 뇌, 담낭, 유방, 결장, 신장, 간, 폐, 난소, 췌장, 위, 경부, 갑상선 및 피부의 종양을 포함하는 종양; 편평상피세포 종양을 포함함; 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 급성 림프아구성 백혈병, B-세포 림프종, T-세포 림프종, 버키트 림프종을 포함하는 골수성 계열의 조혈기 종양; 급성 및 만성 골수성 백혈병 및 전골수구성 백혈병을 포함하는 골수성 계열의 조혈기 종양; 섬유육종 및 횡문근육종을 포함하는 간엽조직 유래의 종양; 흑색종, 고환종, 기형암종, 신경아세포종 및 신경아교종을 포함하는 기타 종양; 성선세포종, 신경모세포종, 신경아교종 및 신경집종을 포함하는 중추 및 말초 신경계 종양; 섬유육종, 횡문근육종 및 뼈육종을 포함하는 간엽조직 유래 종양; 및 흑색종, 색소성 건피증, 각화극 세포종, 고환종, 여포선암종 및 기형암종을 포함하는 기타 종양.

[0334] 특이적 실시양태에서 악성도 또는 악성 증식 변화(예컨대 이형성 및 이형성증), 또는 과증식 질환은 난소, 담낭, 유방, 결장, 간, 폐, 피부, 췌장 또는 자궁에서 치료 또는 예방한다. 기타 특이적 실시양태에서 육종, 흑색종 또는 백혈병을 치료 또는 예방한다.

[0335] 14. 피부 암 치료 또는 예방

[0336] 본 발명의 추가 실시양태는 피부 및/또는 종양 근처내 또는 그 위에서 선택적으로 1개 이상의 추가 치료제, 바람직하게는 락토펜과 함께 유지방 또는 유지방 유사물질을 도포하는 단계를 포함하는 피부암의 치료 또는 예방 방법이다.

[0337] 바람직한 실시양태에서 피부는 태양 노출로 인한 피부 암 발생이 쉽다.

[0338] 바람직한 실시양태에서 암은 기저 세포 종양, 상피 세포 종양 또는 흑색종이다.

[0339] 바람직하게 유지방 또는 유지방 유사물질은 통상적으로 단독으로 또는 표준 항-암 처방계획과 함께 투여된다. 종양 근처에 투여하는 것은 종양 가장자리 또는 종양 가장자리 영역에 근접하거나 또는 인접하게 투여하는 것을 포함한다. 유지방이 발암 현상을 억제하고, 국소 조직에서의 항-종양 면역을 자극하고, 종양 신생혈관형성을 억제하고, 및/또는 종양을 직접 사멸시키도록(종양 성장을 억제할 수 있음) 계획한다. 간단하게 선택적으로 0.1 %, 1 %, 5 % 또는 10 %의 강도에서 적당한 담체에 1개 이상의 추가 치료제와 함께 유지방을 위험 피부 또는 종양 피부 부위에 하루에 두번 도포한다. 종양 크기의 진행을 이용가능하다면 종양 마커 또는 CT 스캔을 통해 모니터링한다.

[0340] 투여량 및 치료 계획은 적당한 피부암 동물 모델에서 전임상 실험을 실행함으로써 정보를 얻을 수 있다. 마우스 피부 부위를 면도하고, 이후에 UV-B 조사를 할 수 있는 종양에 국소적으로 응용하여 치료한다(예를 들면 7,12-디메틸벤즈(아)-안트라센(DMBA))(Bestak 등, 1996). 락토펜은 바람직하게 피부 투과성을 높일 수 있는 진피 투과 증진제(예컨대 70 % 라우레트 설페이트 및 30 % 페닐피페라진)의 존재하에 종양 치료 후 2일에 도포하거나 또는 종양 부위에 한번에 형성시킨다. 락토펜은 피부 또는 종양 부위에 하루에 두번 또는 다른 요구 사항에 따라 도포하여 종양 성장을 주에서 달 간격으로 모니터링한다.

[0341] 적당하다면 상기 방법들은 항-종양 치료제(화학요법제 또는 면역요법제를 포함함) 또는 상기에서 기재한 항-종양 치료요법 중 1개 이상을 이용하는 치료와 결합시킬 수 있다.

[0342] 15. 빈혈증

[0343] 하기 실시예에서 나타난 것과 같이 유지방의 경구 투여는 피험자에서의 혈액 작용 억제를 감소시키고, 피험자에서의 빈혈증의 치료 또는 예방에 효과적이다.

[0344] 빈혈증(anemia 또는 anaemia)은 적혈구 세포(RBCs) 및/또는 헤모글로빈의 부족과 관련된 것이다. 상기로 인해서 조직에 산소를 전달하는 혈액의 활성이 감소하거나 저산소증이 야기된다. 따라서 빈혈증 정도의 다양화는 광범위한 범위의 임상적 결과를 가질 수 있다.

[0345] 형태학적인 접근법을 사용하면 빈혈증은 적혈구 세포 크기에 의해서 분류할 수 있다. 크기는 통상적으로 펨토리터(fl)로 측정된 평균 적혈구 용적(MCV)으로 나타낸다. 세포가 정상 보다 작으면(80 fl 미만), 빈혈증은 소적혈구성이며; 정상 크기(80-100 fl)라면 정상 적혈구성이며; 정상 보다 크다면(100 fl 초과) 빈혈증은 대적혈구성으로 분류할 수 있다.

[0346] 소적혈구성 빈혈증은 첫째로 헤모글로빈 합성이 불충분하거나 실패한 결과이며, 헴 합성의 결함, 철 결핍, 만성

질환 빈혈증, 글로빈 합성의 결함, 알파- 및 베타-탈라세미아, HbE 증후군, HbC 증후군, 및 기타 불안정한 헤모글로빈 질환, 유전적 철적모구성 빈혈증을 포함하는 철적모구성 빈혈증, 납 독성을 포함하는 후천성 철적모구성 빈혈증 및 가역성 철적모구성 빈혈증을 포함하는 심각한 원인에 의해서 야기될 수 있다. 철 결핍 빈혈증은 전체 빈혈증 중 가장 일반적인 타입이며, 여러 원인이 있다. RBCs는 흔히 현미경으로 관찰하면 혈색소 감소(보통 보다 연함) 및 소적혈구(보통 보다 작음)가 나타난다. 철 결핍 빈혈증은 통상적으로 불충분한 음식물 섭취 또는 불충분한 철의 흡수에 의해 야기된다. 철 결핍 빈혈증은 위장 경로의 출혈 손상에 의해서도 발생할 수 있다. 이상혈색소증, 예컨대 겸상 적혈구 빈혈증 및 지중해성 빈혈은 흔히 소적혈구성 빈혈증으로 분류한다.

[0347] 정상 적혈구성 빈혈증은 전체 Hb 양이 감소하는 경우이지만 적혈구 크기(MCV)는 정상으로 유지된다. 원인은 급성 혈액 손실, 만성 질환의 빈혈증, 재생불량성 빈혈(골수부전) 및 용혈성 빈혈을 포함한다. 용혈성 빈혈은 다수의 가능성 있는 원인의 분리된 단순한 증상의 집합(또한 황달 및 증가된 LDH 양이 특징임)을 야기한다. 자가면역성, 면역성, 유전적 또는 기계적(예를 들면 심장 수술)일 수 있다. 흔히 정상 적혈구성인 동안에 소적혈구성 빈혈증에서 세포 분획화에 의해서 나타날 수 있거나 또는 대적혈구성 빈혈증에서 골수로부터의 비성숙 적혈구 세포의 조속한 방출 때문에 나타날 수 있다.

[0348] 대적혈구성 빈혈증은 또한 "거대적아구성 빈혈증" 또는 "비-거대적아구성 대적혈구성 빈혈증"으로 나눌 수 있다. 거대적아구성 빈혈증의 원인은 첫째로 보존된 RNA 합성의 DNA 합성 실패로 전구세포의 제한된 세포 분열이 일어나기 때문이다. 거대적아구성 빈혈증은 흔히 과다분엽 핵중성구와 함께 존재한다(6-10 로브). 거대적아구성 빈혈증은 대적혈구성 빈혈증의 가장 일반적인 원인이다. 거대적아구성 빈혈증은 통상적으로 비타민 B12 또는 엽산(또는 둘 다)의 결핍 때문이며, 또한 일반적으로는 부적합한 섭취 또는 불충분한 흡수 때문이다. 엽산 결핍은 통상적으로 신경 증상을 나타내지 않지만 B12 결핍은 나타난다. 악성 빈혈증은 위의 벽세포에 직접적으로 대항하는 자가 면역 상태이다. 벽세포는 혈액으로부터 비타민 B12를 흡수해야 하는 내인자를 생성한다. 따라서 벽세포의 파괴는 내인자를 부족하게 해서 비타민 B12의 흡수를 불량하게 유도한다. 거대적아구성 빈혈증은 또한 메토포레세이트, 지도부딘 및 DNA 복제를 억제하는 기타 약물에 노출함으로써 야기될 수 있다. 비-거대적아구성 대적혈구성 빈혈증은 예를 들면 알콜중독에서 발생하는 여러가지 원인(즉 손상되지 않은 DNA 합성이 있음)이 있다.

[0349] 2 내지 6 주의 조산아에서 발생하고, 감소된 적혈구 조혈 반응에 의해 적혈구 용적율이 감소하는 미숙아 빈혈증; 판코니 빈혈증, 재생불량성 빈혈증이 특징인 유전성 질환 또는 결함 및 다양한 기타 이상; 유전성 원형적혈구성, 적혈구(RBC) 막의 결함이 야기되는 유전성 결함(적혈구가 비장에 의해 격리 및 파괴됨)을 포함하는 다양한 특이적 빈혈증이 존재한다. 상기로 인해서 RBCs 순환 수가 감소되므로 빈혈증; 겸상 적혈구 빈혈증, 유전성 질환이 돌연변이 헤모글로빈 S 유전자; 온 자가면역성 용혈성 빈혈증, 적혈구에 대항하는 자가 면역 공격, 첫째로 IgG에 의해서 발생하는 빈혈증; 및 첫째로 IgM에 의해 중재되는 한냉 응집소 용혈성 빈혈증의 존재로 야기된다.

[0350] 따라서 본 발명은 선택적으로 1개 이상의 추가 치료제와 함께 유지방 또는 유지방 유사물질의 투여 단계를 포함하는 피험자에서의 빈혈증 치료 또는 예방 방법에 관한 것이다. 본 발명은 또한 피험자에게서 혈액성 억압을 감소 또는 억제시키는 방법에 관한 것이다.

[0351] 혈액성 억압의 감소 또는 억제 방법은 암 치료를 실행하거나 또는 실행했던 피험자를 치료하는데 사용할 뿐만 아니라 이에 제한하지는 않지만 상기에서 기재한 빈혈증을 포함하는 기타 질환을 치료하는데도 사용한다. 따라서 바람직하게는 1개 이상의 추가 치료제와 함께, 보다 바람직하게는 락토페린, 이의 관능성 변이물질 또는 관능성 단편물질 및 특히 금속 이온 락토페린과 결합하여 유지방 또는 유지방 유사물질을 암 치료 및 예방 외로 응용한다.

[0352] 16. 약액질

[0353] 하기 실시예에서 나타난 것과 같이 유지방의 경구 투여는 피험자에서의 약액질의 치료 또는 예방, 및 피험자의 약액성 상태를 개선시키는데 효과적이다.

[0354] 약액질은 적극적으로 체중 감소를 시도하지 않는 사람에게서 체중의 감소, 근육 퇴화, 피로, 심약 및 식욕감퇴(현저하게 식용이 감소함) 중 1개 이상의 증상이다. 일반적으로 근원적인 질병, 예컨대 암, 특정 전염성 질환(예를 들면 결핵, AIDS) 및 몇몇 자가면역 질환과 관련이 있다. 약액질은 신체적으로 식욕감퇴, 무력증 및 빈혈증으로부터 환자를 부동 상태로 약화시키고, 표준 치료에 대한 반응이 통상적으로 불량하다.

[0355] 신체적인 활성의 감소, 수반되는 감염 또는 화학요법 및 방사선요법에 의한 영양 경로의 독성을 가지는 약액질

의 암 환자는 삶의 질 및 영양 상태의 유지를 관리하는 것이 일반적이다. 이러한 관리에는 구내염 용의 양치 물약의 사용, 흔히 소량의 음식물 섭취, 구토방지제, 항생제, 혈액 성분의 주입, 및 경구 및 비경구의 영양 보조제를 사용하는 것을 포함한다. 식품 보조제는 추가 칼로리; 단백질, 지방, 비타민 및 미네랄을 제공하는데 효과적일 수 있다. 특별한 경우, 예컨대 체장 종양의 부가적인 흡수 불량 증상에는 외인성 체장 추출물을 사용하여 지방 및 단백질 흡수를 개선시킨다(Perez MM 등, Assessment of weight loss, food intake, fat metabolism, malabsorption, and treatment of pancreatic insufficiency in pancreatic cancer. Cancer 1983;52:346-52).

[0356] 암 환자의 악액질의 진행의 전환, 저지 또는 억제를 시도하기 위해서 여러가지 약물학적 치료제를 투여한다. 상기에는 코르티코스테로이드, 예컨대 프레드니솔론, 메틸프레드니솔론 및 텍사메타손, 프로게스테론제, 예컨대 메게스트롤 아세테이트, 메드록시프로게스테론 아세테이트, 칸나비노이드, 예컨대 드로나비놀, 세로토닌 길항제, 예컨대 시프로헵타딘, 프로카아네티제, 예컨대 메토클로프라미드 및 시사프라이드, 단백동화 스테로이드, 예컨대 난드로론 데카노에이트 및 플루옥시메스테론, 포스포에놀피루베이트 카르복시키나아제 억제제, 예컨대 히드라진 설페이트, 메틸잔틴 유사물질, 예컨대 펜톡시필린 및 리소필린, 타리도미드, 사이토카인 및 안티사이토카인, 예컨대 항-IL-6 항체, IL-12, 분지쇄-사슬 아미노산, 에이코사펜타노산, 프로스타글라딘 합성 억제제, 예컨대 인도메타신 및 아이부프로펜, 호르몬, 예컨대 멜라토닌 및 β 2-아드레노셉터 작용제, 예컨대 클렌부테롤을 포함한다.

[0357] 따라서 본 발명은 선택적으로 피험자에게 1개 이상의 추가 치료제와 함께 유지방 또는 유지방 유사물질의 투여 단계를 포함하는 피험자에서의 악액질의 치료 또는 예방 방법에 관한 것이다. 본 발명은 또한 피험자의 악액질 상태를 개선시키는 방법에 관한 것이다.

[0358] 악액질의 치료 또는 예방 방법은 암 치료를 실행하고 있거나 또는 실행했던 피험자를 치료하는데 사용될 뿐만 아니라 이에 제한하지는 않지만 상기에서 기재한 질환을 포함하는 체중 감소 또는 피로와 관련된 기타 질환에도 사용한다. 따라서 바람직하게는 1개 이상의 추가 치료제, 보다 바람직하게는 락토펜 또는 이의 관능성 변이 물질 또는 관능성 단편물질 및 특히 금속 이온 락토펜과 결합한 유지방 또는 유지방 유사물질을 암 치료 및 예방 이외로 사용한다.

[0359] 17. 점막염

[0360] 하기 실시예에서 보여주는 것과 같이 유지방의 경구 투여는 소화관의 손상, 예컨대 궤양을 개선시키고, 점막염을 치료 또는 예방하는데 효과적이다.

[0361] 점막염은 구강-인두 강 및 위장(GI) 경로의 상피에 손상이 있어 상기 점막에 염증 및 궤양이 생기는 것이 특징이다. 구강 공동 및 식도에서 점막염은 고통스러운 궤양이 특징이다. 또한 소화관 아래의 점막염은 흔히 심각하고 허약해지는 실사를 야기한다. 점막염은 일반적으로 방사선 및/또는 화학요법 때문에 발생하며, 암 화학요법을 받고 있는 환자 중 대략 40 %에서 어느 정도 발생한다. 상피 세포는 다른 기간의 세포와 비교해서 턴오버 비율이 비교적 높으므로 방사선 및 화학요법의 세포독성 영향에 보다 민감하게 반응한다. 대부분의 경우에 점막의 상피 세포는 치료하고 있는 암 보다 보다 신속한 턴오버를 가지며, 세포독성제 및 방사선에 의한 손상에 공격받기 쉽다. 점막염의 진단 및 모니터링은 환자와의 상담(예컨대 고통 질문서), 구강 시험 및 내시경 검사를 통해서 이루어진다. 또한 슈크로스 호흡 검사, 사이트룰렌 및 트랜스글루타미나아제 분석을 포함하는 몇몇 분석이 진단을 결정하기 위해 제안되고 있다.

[0362] 점막염 치료는 주로 보조적인 것이다. 구강 위생은 현재까지 주된 치료법이며, 통상적으로 입을 자주 세척함으로써 이루어진다. 입을 매끄럽게 하기 위해서 수용성 젤리를 사용할 수 있다. 다양한 국소 완화제가 점막염과 관련된 고통 및 민감도를 관리하기 위해 존재한다. 염 양치 물약은 고통을 경감시킬 수 있으며, 식품 입자가 전혀 없도록 유지하여 감염을 피할 수 있다. 약제는 클로르헥시딘 글루코나이트, 리도카인(크실로카인), 다이클로닌 HCl(다이클론) 및 오라베이스의 벤조카인을 포함한다. 추가로 국소 마취 활성을 가지는 디펜히드라민 HCl(베나드틸)을 마그네시아의 우유 또는 카오펜테이트와 동일하게 현탁액으로서 혼합할 수 있다. 벤질다민 히드로클로라이드(HCl)는 항염증성, 진통성 및 마취성 특성을 가지는 비스테로이드성 린스이다. 방사선- 및 화학요법-유도 점막염의 치료에 린스로서 위궤양을 치료하는데 광범위하게 투여하는 슈크랄페이트를 사용하는 것이 다수의 연구자들에 의해서 보고되었다.

[0363] 살균제, 예컨대 클로르헥시딘 글루코네이트, 폴리마이신 E, 토브라마이신 및 엠포테리신이 몇몇의 임상적 가치가 있는 것으로 보고되었다. 항염증제, 예컨대 베타메타손 및 인도메타신이 방사선-유도 점막염의 심각성을 경

감시키거나 또는 예방하는데 잠재적인 가치가 있는 것으로 보고되었다. 인간 케라티노사이트 성장 인자(KGF)인 팔리페르민(KEPIVANCE)이 상피 세포 증식, 분화 및 이동을 강화시키는 것으로 보고되었다. 기타 보고된 요법은 사이토카인 및 기타 염증 변형제(예컨대 IL-1, IL-11, TGF-베타3), 아미노산 보충제(예를 들면 글루타민과 함께), 비타민, 집락-자극 인자, 예컨대 과립구-거대세포 집락-자극 인자(GM-CSF), 냉동요법 및 레이저 요법의 사용에 의존한다.

[0364] 따라서 본 발명은 피험자에게 선택적으로 1개 이상의 추가 치료제와 함께 유지방 또는 유지방 유사물질을 투여하는 단계를 포함하는 피험자에게의 점막염의 치료 또는 예방 방법에 관한 것이다. 본 발명은 또한 피험자의 점막염 상태를 개선시키는 방법에 관한 것이다.

[0365] 소화관에 손상을 감소 또는 개선시키고, 점막염을 치료 또는 예방하는 방법은 암 치료를 실행하고 있거나 또는 실행했던 피험자를 치료할 뿐만 아니라 이에 제한하지는 않지만 상기에서 기재한 질환을 포함하는 소화관 상피 손상과 관련된 기타 질환에도 사용한다. 따라서 바람직하게는 1개 이상의 추가 치료제, 보다 바람직하게는 락토페린 또는 이의 관능성 변이물질 또는 관능성 단편물질 및 특히 금속 이온 락토페린과 함께 결합하여 유지방 또는 유지방 유사물질을 암 치료 및 예방 이외로 사용한다.

[0366] 18. 백혈구 감소증(Leukocytopenia)

[0367] 하기 실시예에서 나타난 것과 같이 유지방의 경구 투여는 피험자에게서 혈액성 억압을 경감시키고, 피험자의 백혈구 감소증을 치료 및 예방하는데 효과적이다.

[0368] 백혈구 감소증[또한 leukopenia라고도 하며, 때때로 림프구 감소(lymphopenia 또는 lymphocytopenia)와 관련된 상태를 포함함]은 개개인에게서 백혈구(WBCs) 감소를 나타낸다. 상기로 인해서 감염에 저항하는 몸의 활성이 감소하여 몸이 병에 걸리기 쉬운 상태가 된다. 따라서 백혈구 감소증의 정도를 다양화시키면 광범위한 범위의 임상적 결과를 균등하게 할 수 있다.

[0369] 평균 성인의 WBC 수는 4500-10000 세포/입방 밀리미터(성별 내지 개개에 따라 다양함)이다. 백혈구 감소증은 일반적으로 WBC 수가 4000 세포/입방 밀리미터 이하를 나타낸다(성별 내지 개개에 따라 다양함). 백혈구 감소증의 두가지 주요한 형태는 호중구 감소증 및 과립구 감소증이 있다.

[0370] 호중구 감소증은 백혈구 감소증의 주요 타입이며, 호중구가 감소하는 것이 특징이다. 암 이외의 여러가지 증상은 대부분이 실제로 유전학적인 호중구 감소증과 관련이 있다. 코스트만 호중구 감소증, 슈바치만 중후군, 무감마글로불린혈증, 이상감마글로불린혈증, 마일로카텍시스, 연골-모발 형성 저해 증상 및 선천성 각화이상인 호중구 감소증과 관련된 질환의 예이다. 호중구 감소증은 또한 영양 결핍, 예컨대 비타민 B12, 엽산 또는 구리 결핍의 부족과 관련이 있다.

[0371] 과립구 감소증은 때때로 호중구 감소증과 상호적으로 사용하지만 보다 정확하게는 호중성 백혈구 뿐만 아니라 호산성 백혈구 및 호염기성 백혈구의 기능 저하이다.

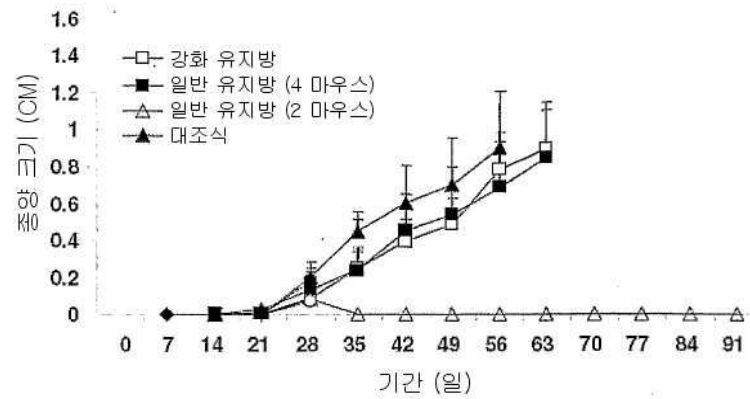
[0372] 백혈구 감소증은 또한 화학요법 또는 방사선요법을 실행하는 경우에 야기될 수도 있다. 매우 일반적인 부작용이며, 환자는 치료요법을 지속시키기 전에 보다 많은 WBCs를 생성하고 회복하는데 시간을 줘야 한다. 일반적으로 백혈구 감소증은 스테로이드 또는 비타민으로 치료하여 골수가 보다 많은 WBCs를 생성하도록 자극한다.

[0373] 따라서 본 발명은 피험자에게 선택적으로 1개 이상의 추가 치료제와 함께 유지방 또는 유지방 유사물질을 투여하는 단계를 포함하는 피험자에서의 백혈구 감소증을 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것이다. 본 발명은 또한 피험자에게서 혈액성 억압을 감소 또는 억제시키는 방법에 관한 것이다.

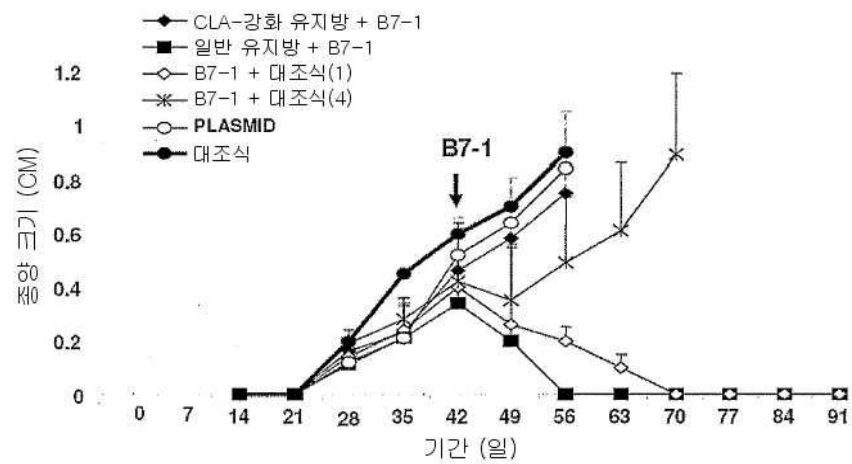
[0374] 혈액성 억압을 감소 또는 억제하는 방법은 암 치료를 실행했거나 또는 실행하고 있는 피험자를 치료할 뿐만 아니라 이에 제한하지는 않지만 상기에서 언급한 백혈구 감소증을 포함하는 기타 질환을 치료하기 위해서도 사용한다. 따라서 바람직하게는 1개 이상의 추가 치료제, 보다 바람직하게는 락토페린 또는 이의 관능성 변이물질 또는 관능성 단편물질 및 특히 금속 이온 락토페린과 결합하여 유지방 또는 유지방 유사물질을 암 치료 및 예방 이외로 사용한다.

도면

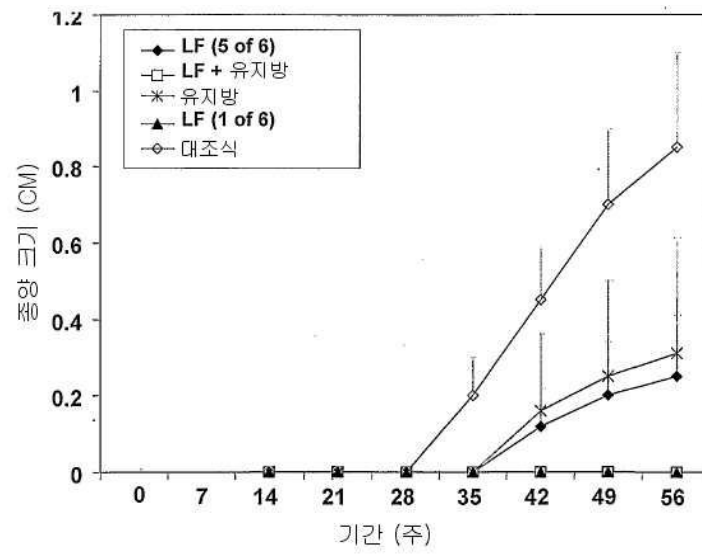
도면1



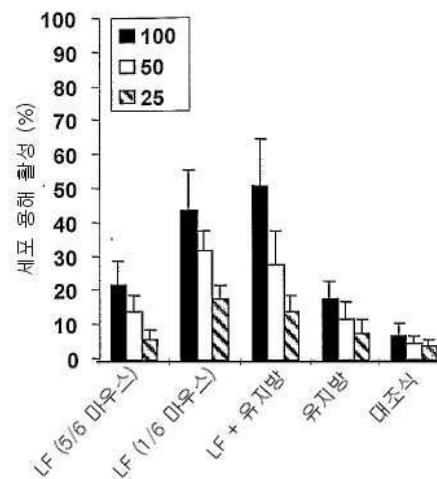
도면2



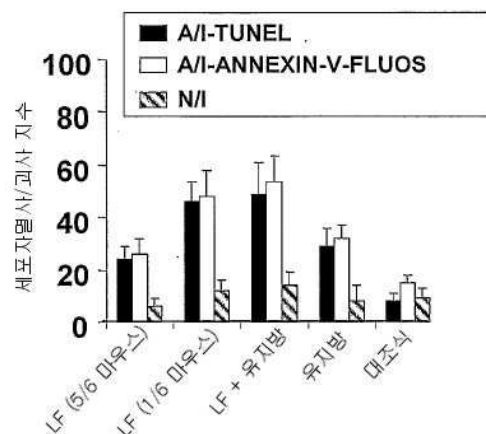
도면3A



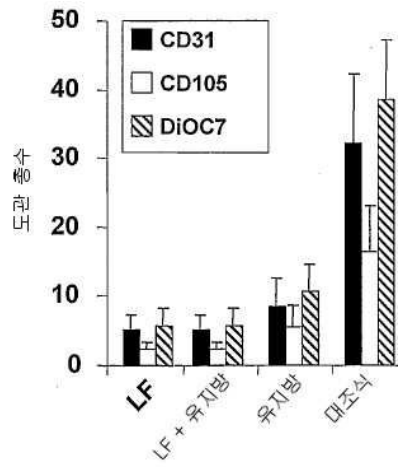
도면3B



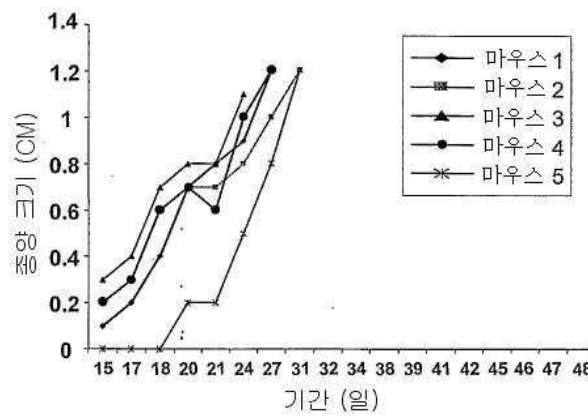
도면3C



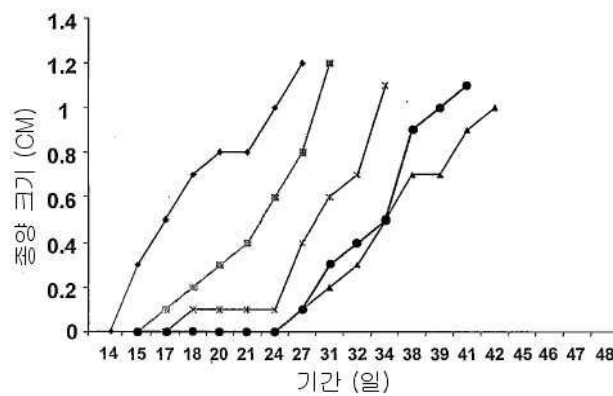
도면3D



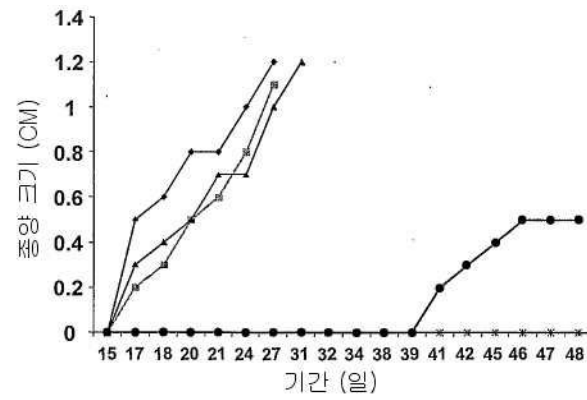
도면4A



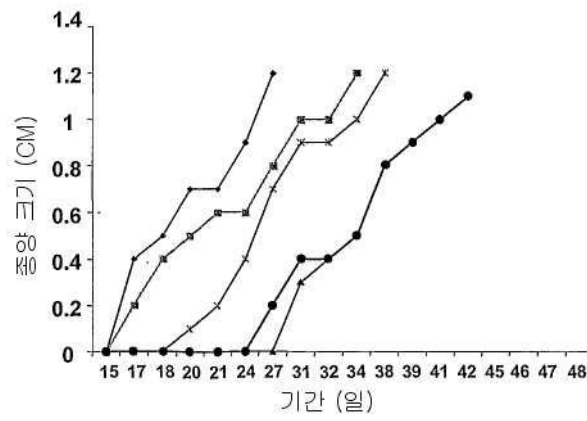
도면4B



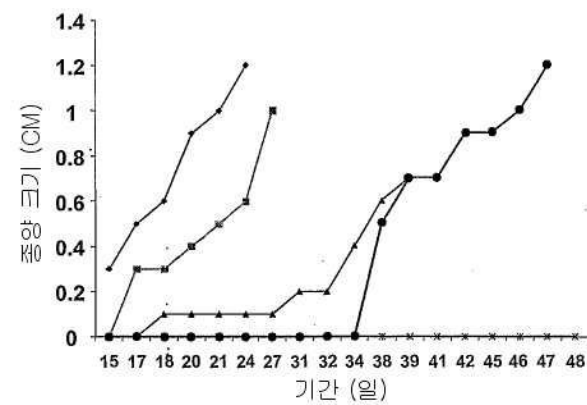
도면4C



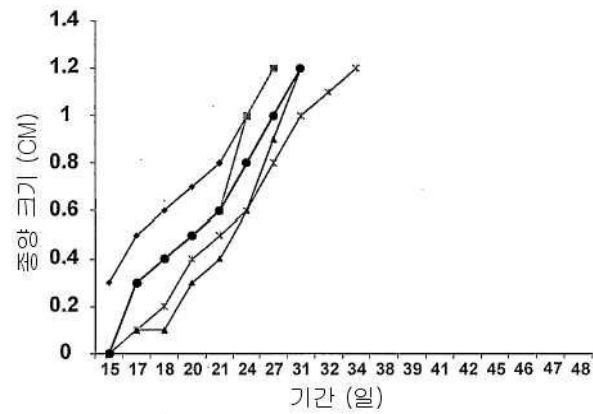
도면4D



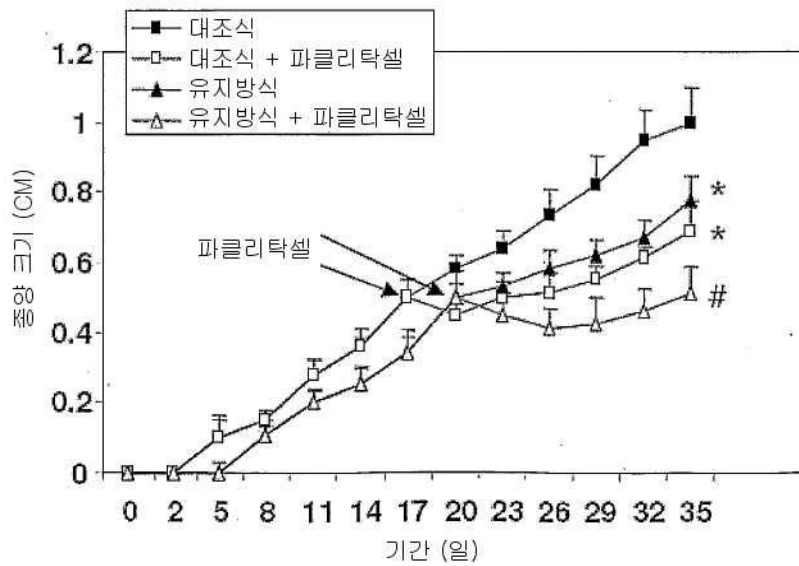
도면4E



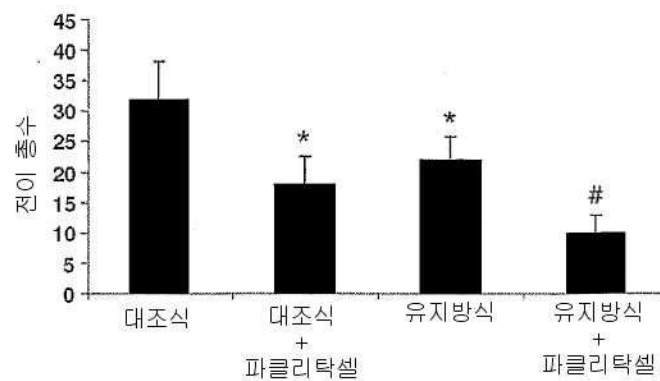
도면4F



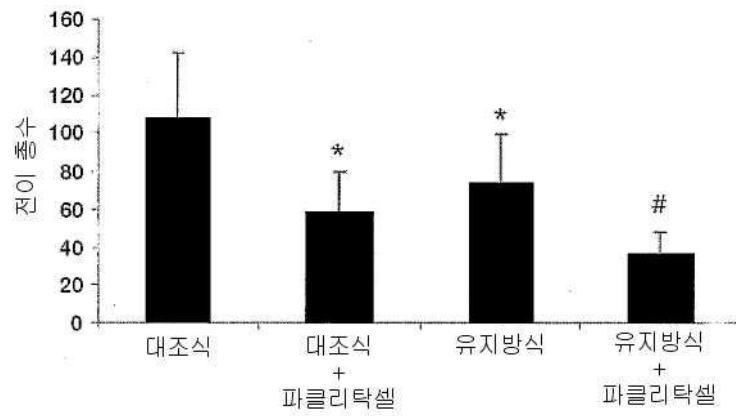
도면5



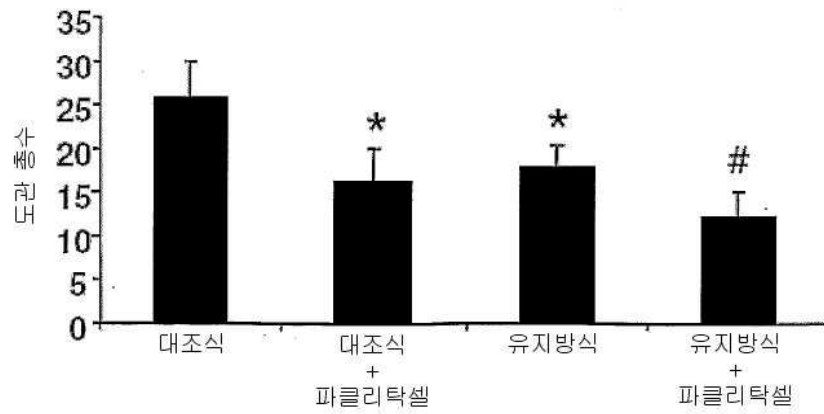
도면6



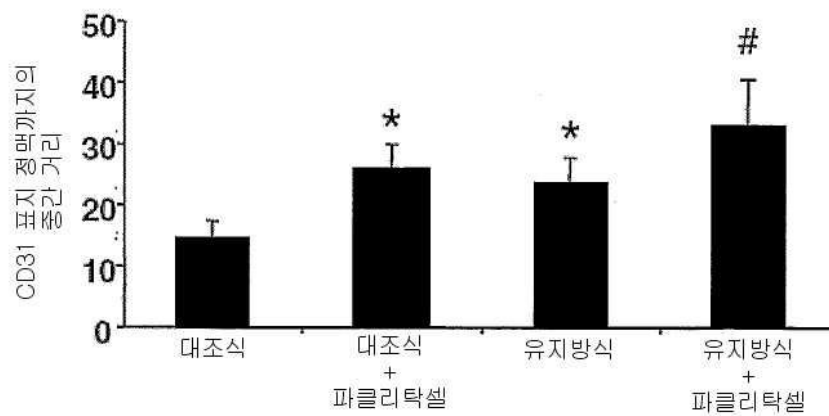
도면7



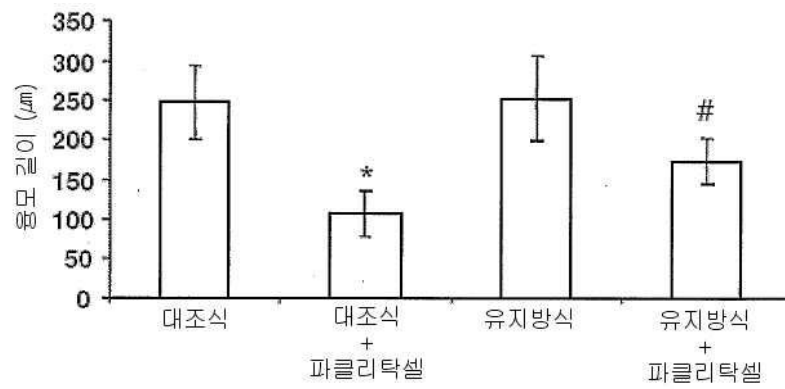
도면8A



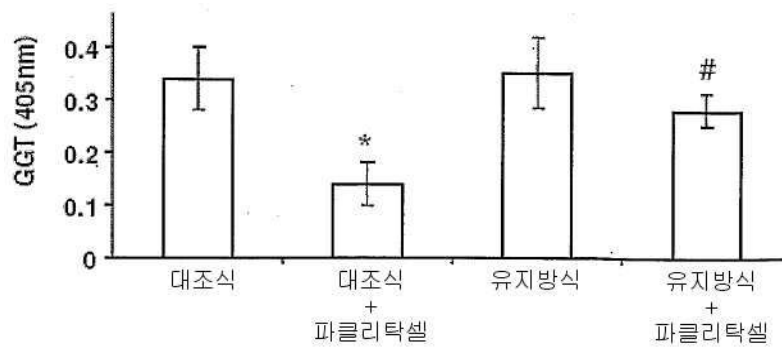
도면8B



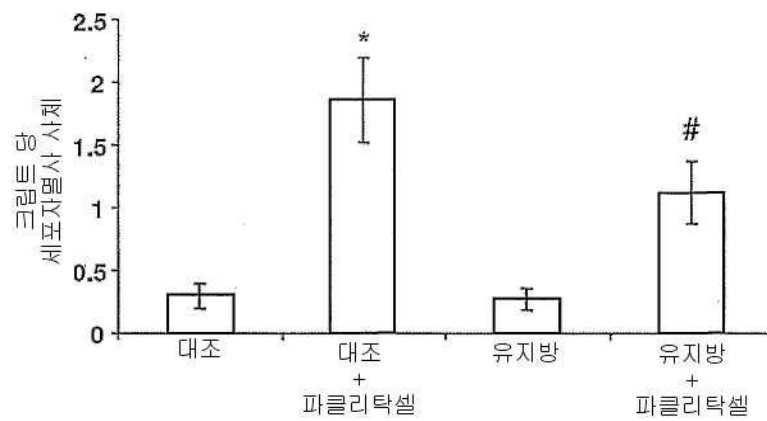
도면9A



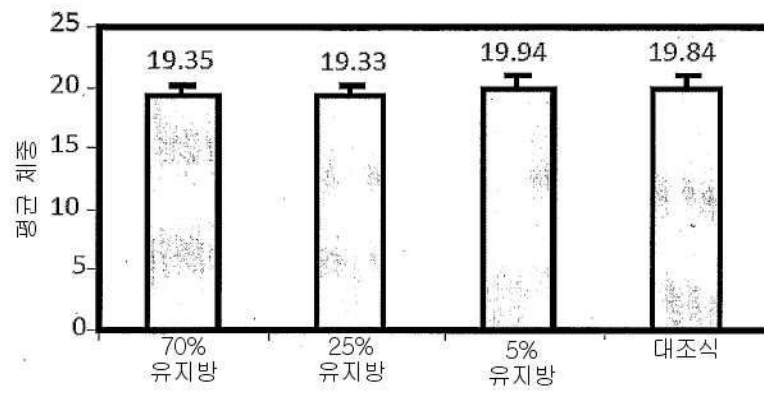
도면9B



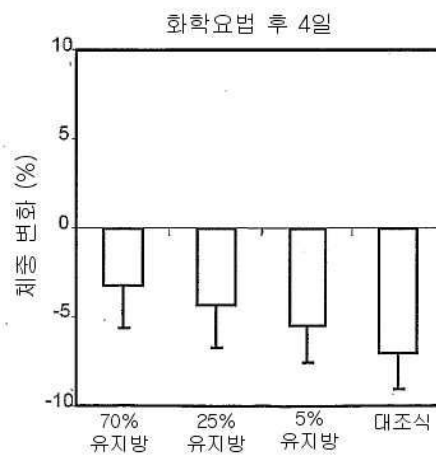
도면10



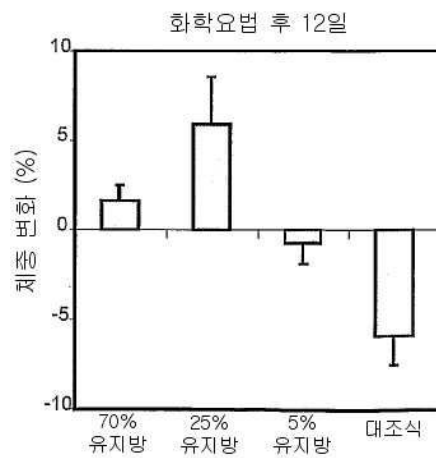
도면11A



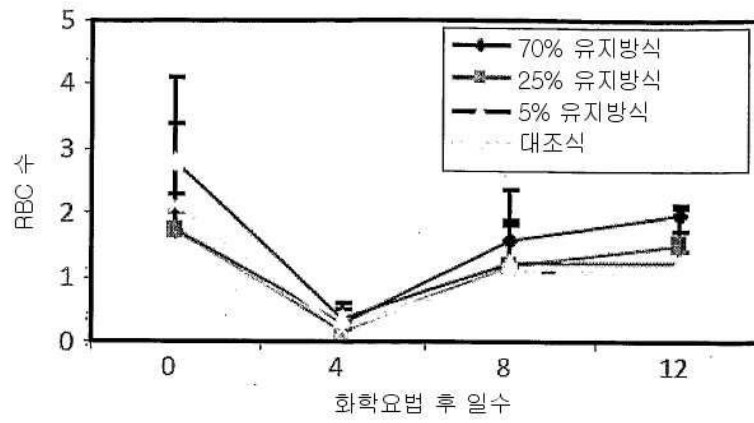
도면11B



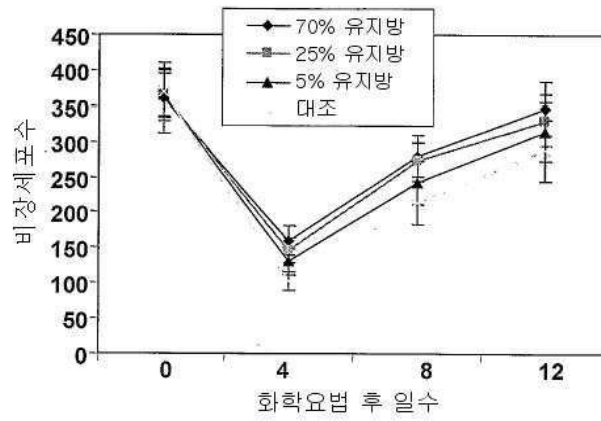
도면11C



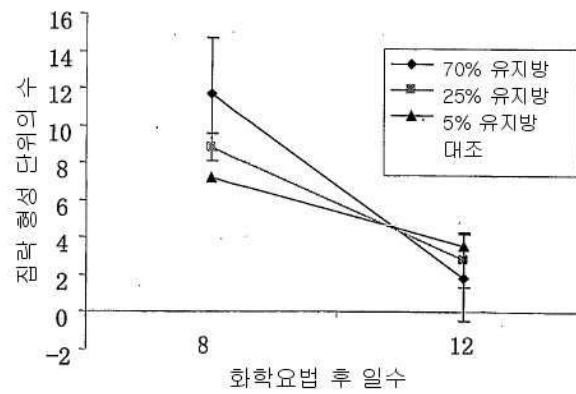
도면12



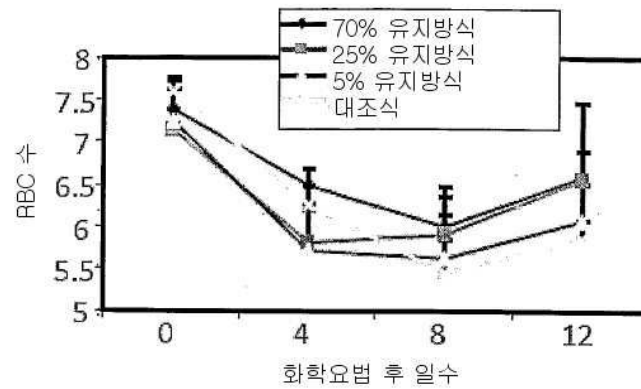
도면13A



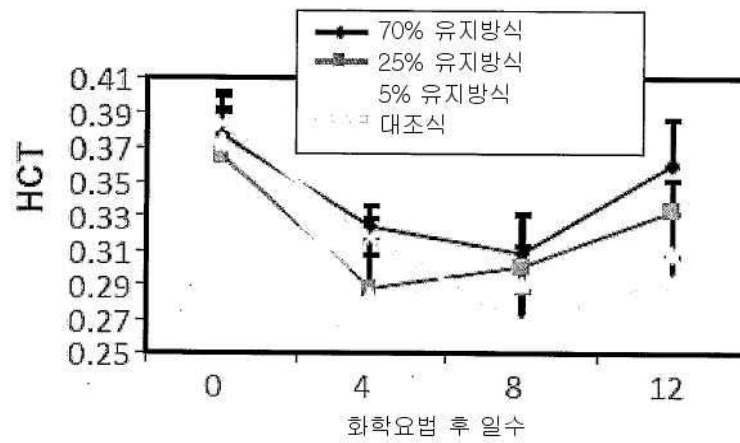
도면13B



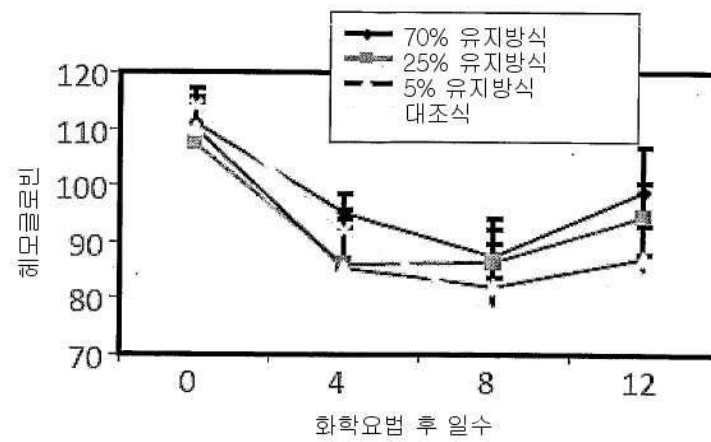
도면14A



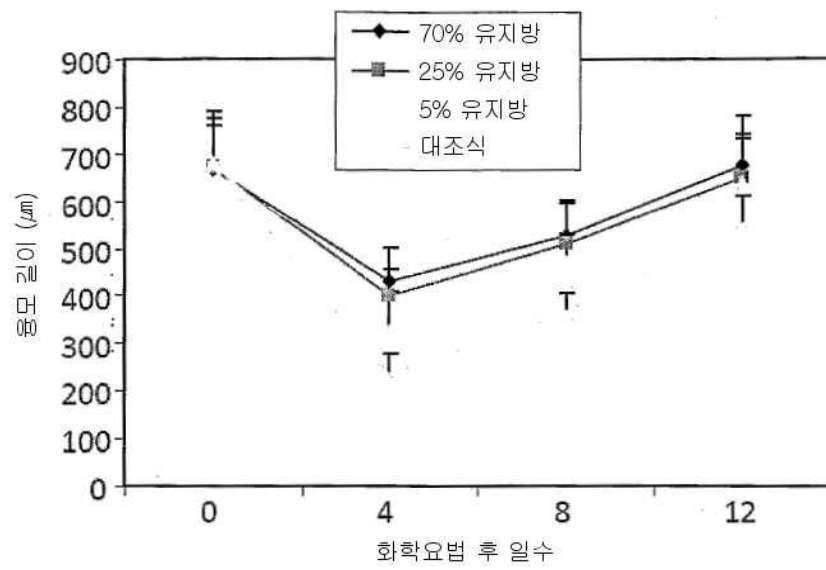
도면14B



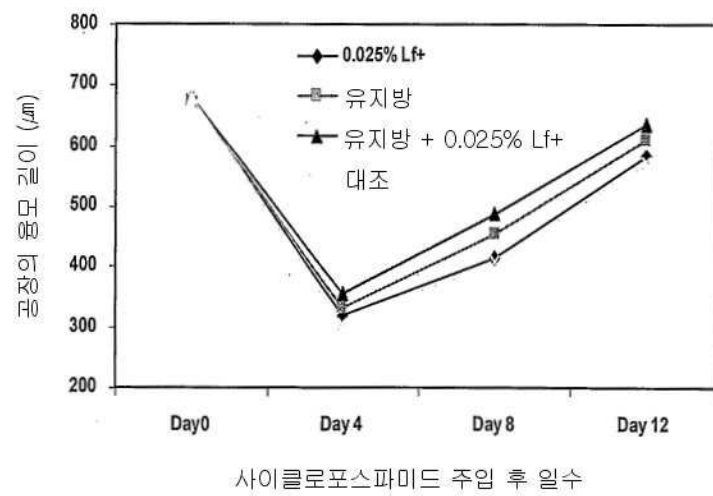
도면14C



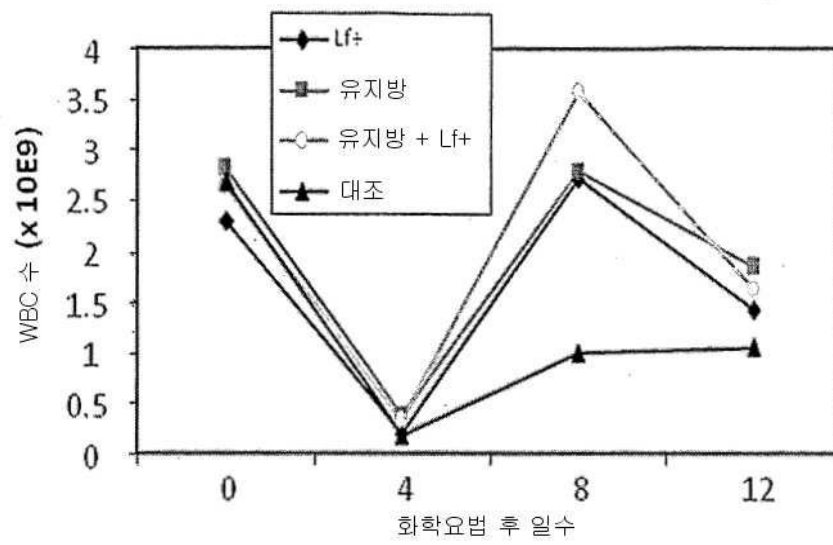
도면15



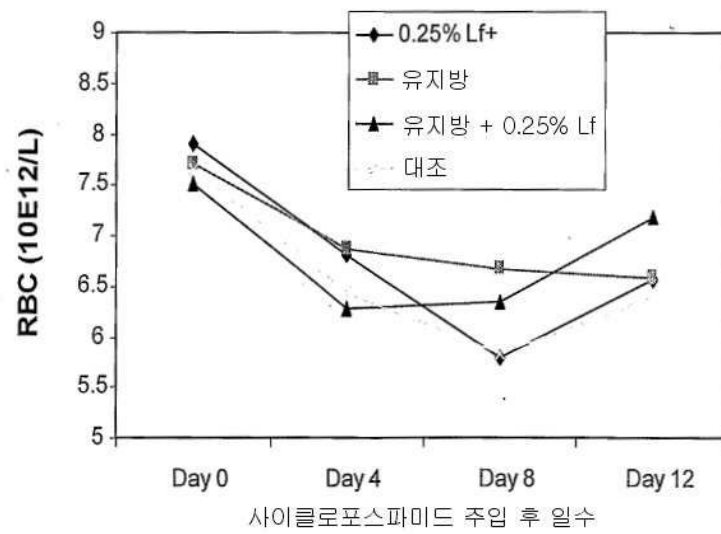
도면16



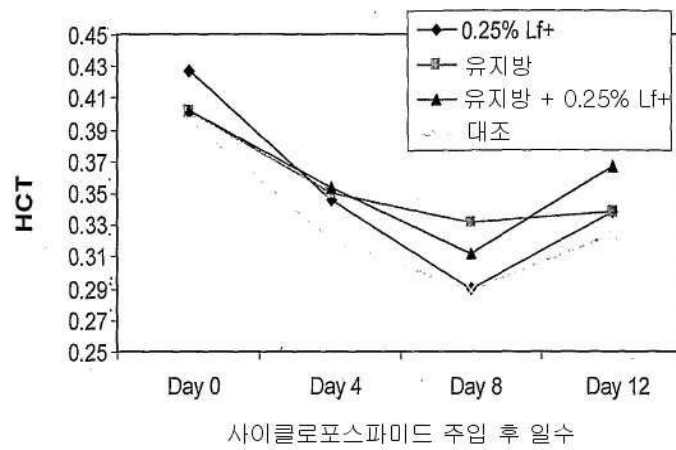
도면17



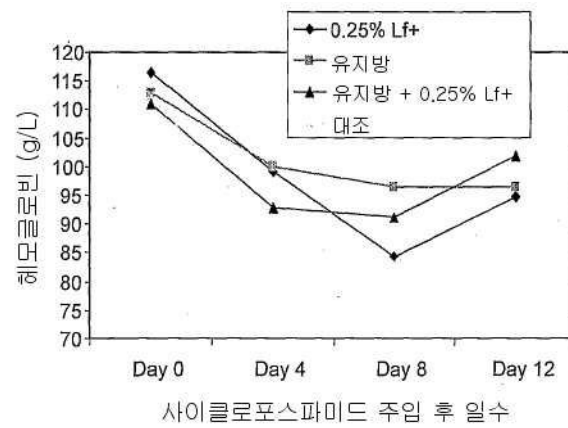
도면18



도면19



도면20



도면21

