

(19)日本国特許庁(JP)

**(12)特許公報(B2)**

(11)特許番号  
**特許第7336993号**  
**(P7336993)**

(45)発行日 令和5年9月1日(2023.9.1)

(24)登録日 令和5年8月24日(2023.8.24)

(51)国際特許分類

A 6 1 K	35/60 (2006.01)	F I	A 6 1 K	35/60
A 6 1 K	33/04 (2006.01)		A 6 1 K	33/04
A 6 1 K	36/06 (2006.01)		A 6 1 K	36/06
A 6 1 P	35/00 (2006.01)		A 6 1 P	35/00
A 6 1 K	41/00 (2020.01)		A 6 1 K	41/00

請求項の数 11 (全35頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2019-569249(P2019-569249)

(86)(22)出願日 平成30年6月13日(2018.6.13)

(65)公表番号 特表2020-523374(P2020-523374)

A)

(43)公表日 令和2年8月6日(2020.8.6)

(86)国際出願番号 PCT/US2018/037263

(87)国際公開番号 WO2018/231937

(87)国際公開日 平成30年12月20日(2018.12.20)

審査請求日 令和3年6月11日(2021.6.11)

(31)優先権主張番号 62/519,087

(32)優先日 平成29年6月13日(2017.6.13)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

前置審査

(73)特許権者 519118496

シャー, ホウン・サイモン

H S I A , H O U N S I M O N

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 2

7 8 0 タスティン マイフォード・ロー

ド 1 4 7 9 1

1 4 7 9 1 M Y F O R D R O A D ,

T U S T I N , C A L I F O R N I A

9 2 7 8 0 , U N I T E D S T A T E

S O F A M E R I C A

110001818

弁理士法人 R &amp; C

シャー, ホウン・サイモン

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 2

7 8 0 タスティン マイフォード・ロー

最終頁に続く

(74)代理人

(72)発明者

(54)【発明の名称】 癌放射線療法を増強する組成物および方法

**(57)【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

癌の個体における放射線療法の改善をもたらすための栄養サプリメントであって、  
 1 5 0 m g ~ 1 0 , 0 0 0 m g の魚油、3 0 μ g ~ 4 , 0 0 0 μ g のセレン酵母、1 0  
 , 0 0 0 m g ~ 5 0 , 0 0 0 m g のマルトデキストリン、5 , 0 0 0 m g ~ 6 0 , 0 0 0  
 m g の乳漿タンパク質単離物、1 , 0 0 0 m g ~ 5 0 , 0 0 0 m g の乳漿タンパク質濃縮  
 物、4 0 m g ~ 1 5 , 0 0 0 m g のフラクトオリゴ糖 / インスリン、1 , 0 0 0 m g ~ 9  
 , 0 0 0 m g の粒状ハチミツ、5 0 0 m g ~ 1 5 , 0 0 0 m g のオート麦纖維、5 0 0 m  
 g ~ 2 0 , 0 0 0 m g の天然フレンチバニラフレーバー、5 0 0 m g ~ 5 0 , 0 0 0 m g  
 のダイズタンパク質、5 0 0 m g ~ 1 0 , 0 0 0 m g の褐色粉糖、5 0 0 m g ~ 5 , 0 0  
 0 m g の天然バニラマスキングフレーバー、2 0 0 m g ~ 1 0 , 0 0 0 m g のレシチン、  
 5 0 m g ~ 5 , 0 0 0 m g の無脂肪乳、5 0 m g ~ 5 , 0 0 0 m g のコメタンパク質粉末  
 ~ 5 0 m g ~ 2 , 0 0 0 m g のカゼイン酸カルシウム、1 0 0 m g ~ 7 , 0 0 0 m g の亜  
 麻油、1 0 0 m g ~ 7 , 0 0 0 m g のキャノーラ油、1 0 0 m g ~ 7 , 0 0 0 m g のルリ  
 デサ油、1 0 0 m g ~ 7 , 0 0 0 m g のオリーブ油、1 0 0 m g ~ 1 , 0 0 0 m g の純粋  
 レモン油、5 0 m g ~ 1 , 0 0 0 m g の純粋オレンジ油、0 . 5 m g ~ 2 0 0 m g の混合ト  
 ユフェロール、2 0 0 m g ~ 1 , 5 0 0 m g のリン酸カリウム、1 0 0 m g ~ 5 , 0 0 0  
 m g の炭酸カルシウム、1 5 0 m g ~ 2 , 5 0 0 m g の酒石酸水素コリン、1 0 0 m g ~  
 2 , 0 0 0 m g の塩化ナトリウム、1 0 0 m g ~ 2 , 0 0 0 m g の三塩基性リン酸カルシ  
 ウム、5 0 m g ~ 3 , 0 0 0 m g のアスコルビン酸、5 0 m g ~ 2 , 0 0 0 m g の塩化カ  
 リウム

10

20

リウム、50 mg ~ 500 mg の酸化マグネシウム、30 µg ~ 3,000 µg のクロム酵母、30 µg ~ 2,000 µg のモリブデン酵母、10 mg ~ 5,000 mg のイノシトール、5 mg ~ 200 mg の硫酸亜鉛一水和物、5 IU ~ 2,000 IU の乾燥酢酸ビタミン E、5 mg ~ 500 mg のナイアシンアミド、3 mg ~ 100 mg のオルトリニン酸第二鉄、3 mg ~ 200 mg のパントテン酸カルシウム、3 mg ~ 100 mg の硫酸マンガン一水和物、1 mg ~ 100 mg の カロテン、1 mg ~ 15 mg のグルコン酸銅、25 IU ~ 5,000 IU のビタミン D3、2 µg ~ 1,000 µg のビタミン K2、0.5 mg ~ 200 mg のピリドキシン HC1、0.5 mg ~ 1,500 mg のヨウ化カリウム、0.5 mg ~ 1,000 mg のリボフラビン、0.5 mg ~ 2,500 mg のチアミン塩酸塩、1 µg ~ 500 µg の乾燥ビタミン K1、500 IU ~ 100,000 IU の酢酸ビタミン A、100 µg ~ 10,000 µg の葉酸、10 µg ~ 10,000 µg の d - ビオチン、1 µg ~ 3,000 µg のビタミン B12、300 mg ~ 30,000 mg の L - カルニチン、500 mg ~ 60,000 mg の L - グルタミン、500 mg ~ 30,000 mg の L - アルギニン塩基、50 mg ~ 2,000 mg のタウリン、50 mg ~ 2,000 mg の L - リジン、10 mg ~ 1,000 mg の リポ酸、15 mg ~ 1,500 mg のレスベラトロール、10 mg ~ 5,000 mg のコエンザイム Q10、5 mg ~ 1,000 mg のグリシン、5 mg ~ 1,000 mg のプロリン、2 mg ~ 500 mg の Lact. Acidophilus (合計約 100 億)、2 mg ~ 500 mg の Bifidobacterium Bifidum (合計約 100 億)、2 mg ~ 500 mg の Lact. Bulgaricus (合計約 100 億)、2 mg ~ 500 mg の Bifido Longum (合計約 100 億)、2 mg ~ 500 mg の Strep. Thermophilus (合計約 100 億)、5 mg ~ 100 mg のパパイン、5 mg ~ 100 mg のペプシン、5 mg ~ 100 mg のリパーゼ、5 mg ~ 100 mg のプロメライン、0.5 mg ~ 100 mg のパンクレアチン 4X、1 mg ~ 100 mg のラクターゼ、3 mg ~ 100 mg のベタイン HC1、2 mg ~ 500 mg のパイナップル果汁粉末、2 mg ~ 500 mg のパパイヤ果実粉末、30 mg ~ 3,000 mg のケルセチン、25 mg ~ 600 mg の EGCG、15 mg ~ 500 mg の OPC、15 mg ~ 5,000 mg のアントシアニン、10 mg ~ 300 mg のエラグ酸、2 mg ~ 90 mg のアスタキサンチン、20 mg ~ 1,500 mg のフコイダン、5 mg ~ 6,000 mg の冬虫夏草、15 mg ~ 10,000 mg のマンネンタケ、40 mg ~ 15,000 mg のシイタケ、30 mg ~ 15,000 mg のマイタケ、および、30 mg ~ 15,000 mg のカワラタケとを含み、前記栄養サプリメントは、放射線療法プロトコルと組み合わせて使用した場合に腫瘍の体積または重量を減少させる際に相乗効果をもたらす、栄養サプリメント。

#### 【請求項 2】

前記栄養サプリメントは、前記放射線療法の開始前に前記個体に提供するために処方されている、請求項 1 に記載の栄養サプリメント。

#### 【請求項 3】

前記改善は、前記腫瘍からの転移の低減であり、前記栄養サプリメントは前記腫瘍の転移活性を低減する量で提供されている、請求項 1 に記載の栄養サプリメント。

#### 【請求項 4】

前記改善は、前記腫瘍における血管新生の低減であり、前記栄養サプリメントは前記腫瘍の血管新生活性を低減する量で提供されている、請求項 1 に記載の栄養サプリメント。

#### 【請求項 5】

前記改善は、前記腫瘍の癌幹細胞含有量の減少であり、前記栄養サプリメントは前記腫瘍における癌幹細胞の発生を低減するのに有効な量で提供されている、請求項 1 に記載の栄養サプリメント。

#### 【請求項 6】

前記改善は、前記腫瘍の癌細胞における PDL-1 発現の低減であり、前記栄養サプリメントは前記癌細胞の PDL-1 を低減するのに有効な量で提供されている、請求項 1 に記載の栄養サプリメント。

10

20

30

40

50

## 【請求項 7】

放射線療法を受けている患者の腫瘍における遺伝子発現を調節するための栄養サプリメントであって、

150 mg ~ 10,000 mg の魚油、30 µg ~ 4,000 µg のセレン酵母、1000 mg ~ 50,000 mg のマルトデキストリン、5,000 mg ~ 60,000 mg の乳漿タンパク質単離物、1,000 mg ~ 50,000 mg の乳漿タンパク質濃縮物、40 mg ~ 15,000 mg のフラクトオリゴ糖 / インスリン、1,000 mg ~ 9,000 mg の粒状ハチミツ、500 mg ~ 15,000 mg のオート麦纖維、500 mg ~ 20,000 mg の天然フレンチバニラフレーバー、500 mg ~ 50,000 mg のダイズタンパク質、500 mg ~ 10,000 mg の褐色粉糖、500 mg ~ 5,000 mg の天然バニラマスキングフレーバー、200 mg ~ 10,000 mg のレシチン、50 mg ~ 5,000 mg の無脂肪乳、50 mg ~ 5,000 mg のコメタンパク質粉末、50 mg ~ 2,000 mg のカゼイン酸カルシウム、100 mg ~ 7,000 mg の亜麻油、100 mg ~ 7,000 mg のキャノーラ油、100 mg ~ 7,000 mg のルリヂサ油、100 mg ~ 7,000 mg のオリーブ油、100 mg ~ 1,000 mg の純粋レモン油、50 mg ~ 1,000 mg の純粋オレンジ油、0.5 mg ~ 200 mg の混合トコフェロール、200 mg ~ 1,500 mg のリン酸カリウム、100 mg ~ 5,000 mg の炭酸カルシウム、150 mg ~ 2,500 mg の酒石酸水素コリン、100 mg ~ 2,000 mg の塩化ナトリウム、100 mg ~ 2,000 mg の三塩基性リン酸カルシウム、50 mg ~ 3,000 mg のアスコルビン酸、50 mg ~ 2,000 mg の塩化カリウム、50 mg ~ 500 mg の酸化マグネシウム、30 µg ~ 3,000 µg のクロム酵母、30 µg ~ 2,000 µg のモリブデン酵母、10 mg ~ 5,000 mg のイノシトール、5 mg ~ 200 mg の硫酸亜鉛一水和物、5 IU ~ 2,000 IU の乾燥酢酸ビタミン E、5 mg ~ 500 mg のナイアシンアミド、3 mg ~ 100 mg のオルトリニ酸第二鉄、3 mg ~ 200 mg のパントテン酸カルシウム、3 mg ~ 100 mg の硫酸マンガニー水和物、1 mg ~ 100 mg のカロテン、1 mg ~ 15 mg のグルコン酸銅、2.5 IU ~ 5,000 IU のビタミン D3、2 µg ~ 1,000 µg のビタミン K2、0.5 mg ~ 200 mg のピリドキシン HC1、0.5 mg ~ 1,500 mg のヨウ化カリウム、0.5 mg ~ 1,000 mg のリボフラビン、0.5 mg ~ 2,500 mg のチアミン塩酸塩、1 µg ~ 500 µg の乾燥ビタミン K1、500 IU ~ 100,000 IU の酢酸ビタミン A、100 µg ~ 10,000 µg の葉酸、10 µg ~ 10,000 µg の d - ビオチン、1 µg ~ 3,000 µg のビタミン B12、300 mg ~ 30,000 mg の L - カルニチン、500 mg ~ 60,000 mg の L - グルタミン、500 mg ~ 30,000 mg の L - アルギニン塩基、50 mg ~ 2,000 mg のタウリン、50 mg ~ 2,000 mg の L - リジン、10 mg ~ 1,000 mg のリポ酸、15 mg ~ 1,500 mg のレスベラトロール、10 mg ~ 5,000 mg のコエンザイム Q10、5 mg ~ 1,000 mg のグリシン、5 mg ~ 1,000 mg のプロリン、2 mg ~ 500 mg の Lact. Acidophilus (合計約 100 億)、2 mg ~ 500 mg の Bifidobacterium Bifidum (合計約 100 億)、2 mg ~ 500 mg の Lact. Bulgaricus (合計約 100 億)、2 mg ~ 500 mg の Bifido Longum (合計約 100 億)、2 mg ~ 500 mg の Streptococcus Thermophilus (合計約 100 億)、5 mg ~ 100 mg のパパイン、5 mg ~ 100 mg のペプシン、5 mg ~ 100 mg のリバーゼ、5 mg ~ 100 mg のプロメライン、0.5 mg ~ 100 mg のパンクレアチン 4X、1 mg ~ 100 mg のラクターゼ、3 mg ~ 100 mg のベタイン HC1、2 mg ~ 500 mg のパイナップル果汁粉末、2 mg ~ 500 mg のパパイヤ果実粉末、30 mg ~ 3,000 mg のケルセチン、25 mg ~ 600 mg の EGCG、15 mg ~ 500 mg の OPC、15 mg ~ 5,000 mg のアントシアニン、10 mg ~ 300 mg のエラグ酸、2 mg ~ 90 mg のアスタキサンチン、20 mg ~ 1,500 mg のフコイダン、5 mg ~ 6,000 mg の冬虫夏草、15 mg ~ 10,000 mg のマンネンタケ、40 mg ~ 15,000 mg のシイタケ、30 mg ~ 15,000 mg のマイタケ。

10

20

30

40

50

ケ、および、 $30\text{ mg} \sim 15,000\text{ mg}$  のカワラタケ、とを含み、前記栄養サプリメントは前記腫瘍の遺伝子発現の調節をもたらす、栄養サプリメント。

【請求項 8】

前記栄養サプリメントを、前記患者に対して前記放射線療法の開始前に提供されるよう処方されている、請求項 7 に記載の栄養サプリメント。

【請求項 9】

前記遺伝子は、血管新生因子をコードする請求項 7 に記載の栄養サプリメント。

【請求項 10】

前記遺伝子は、アポトーシス因子をコードする請求項 7 に記載の栄養サプリメント。

【請求項 11】

前記遺伝子は、EGFR をコードする請求項 7 に記載の栄養サプリメント。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本願は、2017年6月13日出願の米国特許仮出願第 62/519,087 号の恩恵を主張する。これらや他の全ての引用する外部の資料は、その全体が参照により本明細書中に組み込まれる。参照により組み込まれる引例の用語の定義または使用が本明細書中で提供する用語の定義とが一致しないかまたは反対である場合、本明細書中で提示する用語の定義が優先するものとする。

【0002】

(技術分野)

本発明の分野は癌の放射線療法である。

【背景技術】

【0003】

背景の説明は、本発明を理解する上で有用であり得る情報を含む。本明細書中で提供する情報のいずれもが、先行技術もしくはここで請求する発明と関連すること、または具体的もしくは暗黙的に言及する任意の刊行物が先行技術であることを認めるものではない。

【0004】

癌の処置において利用される放射線療法プロトコルおよび化学療法プロトコルは、明らかに患者に恩恵を与え得るが、一部の癌では効果がないかまたは低い可能性がある。さらに、放射線療法および化学療法はどちらも、吐き気、体重の減少、脱毛、胃腸管への損傷、および皮膚炎をはじめとする重大な副作用と関連する。

【0005】

放射線療法の有効性を増強する試みがなされてきた。例えば、放射線療法を増強するために、腫瘍細胞を標的とするように修飾された金ナノ粒子が使用されてきた (Yang et al., ACS Nano, 2014, 8(9) : 8992 - 9002 (非特許文献 1))。本明細書中の全ての刊行物は、それぞれの刊行物または特許出願が参照により組み込まれるように具体的かつ個別に表示されているのと同じ程度に参照により組み込まれる。組み込まれる引例中の用語の定義または使用が本明細書中で提供される用語の定義と一致しないかまたは反対である場合、本明細書中で提供される用語の定義が適用され、引例中の当該用語の定義は適用されない。同様に、放射線の効果に対して腫瘍細胞を選択的に感応性とするために COX-2 阻害剤が使用されてきた (Choy and Millas, J. Natl Cancer Inst (2003) 95(19) : 1140 - 1452 (非特許文献 2))。しかしながら、そのようなアプローチは選択性に問題があり得、全ての腫瘍タイプに対して有効であるわけではない可能性がある。今日まで、放射線療法の副作用を低減する試みは、主に、総放射線量を複数のより少ない放射線量（回復を可能にするために間に時間をあけて）に分割し、遮蔽、腫瘍の境界の特定および放射線療法の当該部位への局在化を使用して腫瘍を標的化することを被験体としている。残念なことに、そのようなアプローチでは腫瘍細胞のすべてを適切に処置することはできない。

【0006】

10

20

30

40

50

化学療法の効果を増強する試みもなされてきた。魚油の摂取で化学療法の成果を改善することができるなどを示唆している研究もあれば、魚油が阻害し得ることを示唆する研究もある (Daenen et al., JAMA Oncol (2015) 1(3) : 350 - 358 (非特許文献3))。ナノ粒子としての化学療法剤の処方も試みられてきた (Xu et al., Coll. Surf. B: Biointerfaces (2006) 48 (1) : 50 - 57 (非特許文献4))。しかしながら、全ての化学療法薬がそのような再配合に好適か否かは明らかではない。多剤耐性を妨げるように設計された siRNA との化学療法薬の同時送達 (co-delivery) も研究されてきた。しかしながら、そのような siRNA は配列特異的であり、一部の腫瘍には適さない可能性がある。

## 【0007】

10

化学療法の副作用の軽減は、概して、症状軽減をもたらすこと被験体とする。例えば、制吐薬は、食生活の改善およびある特定の食品を避けて少量の食事を頻繁に食べることとあわせて、吐き気を軽減するために使用することができる。残念ながら、そのようなアプローチは必ずしも有効とは限らない。一部の例では、化学療法剤は、副作用を軽減するために毒性が低減されるように選択されるが、そのような薬剤は腫瘍細胞に対する有効性も低減している可能性がある。

## 【先行技術文献】

## 【非特許文献】

## 【0008】

【文献】Yang et al., ACS Nano, 2014, 8 (9) : 8992 - 9002  
 Choy and Milas, J. Natl Cancer Inst (2003) 95 (19) : 1140 - 1452  
 Daenen et al., JAMA Oncol (2015) 1(3) : 350 - 358  
 Xu et al., Coll. Surf. B: Biointerfaces (2006) 48 (1) : 50 - 57

20

## 【発明の概要】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0009】

30

したがって、有効性を増強する、ならびに / または癌の放射線療法および / もしくは化学療法の副作用を低減する、安全かつ有効な組成物および方法が依然として必要とされている。

## 【課題を解決するための手段】

## 【0010】

## (発明の概要)

発明の主題は、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントの使用により、相乗的に、腫瘍の放射線療法を増強し改善する組成物および方法を提供する。

## 【0011】

40

発明概念の一つの実施形態は、処置を必要とする患者に対して放射線療法プロトコルを適用する一方で、魚油とセレンとを含む栄養サプリメント（例えば、表1に示す通り）を患者に、腫瘍容積または重量の低減において相乗効果を提供する量で提供することによって腫瘍を処置する方法である。いくつかの実施形態において、栄養サプリメントは、患者に対して、放射線療法の開始前に提供される。そのような栄養サプリメントは、サプリメントの二つ以上の成分が表1に記載された量で提供されるように処方することができる。

## 【0012】

発明の概念の別の実施形態は、魚油とセレン（例えば、表1のとおり）とを、放射線療法プロトコルの副作用を低減する量で含むように処方された栄養サプリメントを患者に提供しつつ、副作用を低減する方法である。いくつかの実施形態では、栄養サプリメントは、放射線療法の開始前に患者に提供される。そのような栄養サプリメントは、サプリメントの二つ以上の成分が表1に記載された量で提供されるように処方することができる。

50

**【 0 0 1 3 】**

発明の概念の別の実施形態は、腫瘍または腫瘍を有する動物に対して栄養サプリメントを提供することによって、腫瘍における遺伝子（例えば、血管新生関連遺伝子、アポトーシス関連遺伝子など）発現を調節する方法であって、栄養サプリメントは魚油とセレン（例えば、表1のとおり）とを含み、前記栄養サプリメントは、前記腫瘍の遺伝子発現を調節する量で提供される。いくつかの実施形態では、前記栄養サプリメントは、放射線療法の開始前、および放射線療法中に患者に提供され、他の実施形態では、そのようなサプリメントは放射線療法の適用中または適用の開始前に提供される。好ましい実施形態において、前記栄養サプリメントは、サプリメントの二つ以上の成分が表1に記載された量で提供されるように処方される。

10

**【 0 0 1 4 】**

発明の概念の別の実施形態は、転移性腫瘍を有する患者に魚油とセレンとを含む栄養サプリメント（例えば、表1）を提供することによって、腫瘍からの転移を低減する方法であって、前記栄養サプリメントが前記腫瘍の転移活性を低減する量で提供される方法である。いくつかの実施形態において、そのような栄養サプリメントは、放射線療法の開始前または開始時のいずれかに提供され、放射線療法の過程を通じて提供することができる。好ましい実施形態において、前記栄養サプリメントは、サプリメントの二つ以上の成分が表1に記載された量で提供されるように処方される。

20

**【 0 0 1 5 】**

発明の概念の別の実施形態は、前記腫瘍を有する患者に放射線療法と組み合わせて魚油とセレンとを含む栄養サプリメント（例えば、表1のとおり）を提供することを含む、腫瘍における血管新生を低減する方法であって、前記栄養サプリメントが、前記腫瘍の血管新生活性を低減する量で提供される方法である。いくつかの実施形態において、そのような栄養サプリメントは放射線療法の開始と同時に提供され、放射線療法の適用中に患者に対して提供することができる。好ましい実施形態において、前記栄養サプリメントは、サプリメントの二つ以上の成分が表1に記載された量で提供されるように処方される。

20

**【 0 0 1 6 】**

発明の概念の別の実施形態は、腫瘍を有する患者に魚油とセレンとを含む栄養サプリメント（表1においてなど）を提供することによって、腫瘍における癌幹細胞の発生率を減少させる方法であって、前記栄養サプリメントが前記腫瘍における幹細胞の発生率を減少させる量で提供される方法である。好ましい実施形態において、前記栄養サプリメントは放射線療法の適用と同時に提供される。サプリメントの二つ以上の成分が表1に記載された量で提供されるように前記栄養サプリメントを処方することができる。

30

**【 0 0 1 7 】**

発明の主題の様々な目的、特徴、態様および利益は、添付の図面とあわせて、好ましい実施形態の以下の詳細な説明からより明らかになり、図中、同じ数字は同じ成分を表す。

**【図面の簡単な説明】****【 0 0 1 8 】**

**【図1】**図1は、放射線療法の実施の7日前または腫瘍細胞移植と同時のいずれかで開始して栄養サプリメント補給が提供される処置プロトコルを示す。マウスを腫瘍細胞移植後21日で処分した。

40

**【図2A】**図2Aは様々な処置群について体重の経時変化を示す。ただし、体重は原発腫瘍塊の除去後に報告される。

**【図2B】**図2Bは研究の過程にわたる様々な処置群における体重の変化を示す。ただし、体重は原発腫瘍塊の除去後に報告される。

**【図3A】**図3A～3Dは、放射線療法および魚油とセレンとを含むサプリメントを用いる併用療法の、腫瘍容積および重量に対する典型的な相乗効果を示す。図3Aは様々な処置群について腫瘍容積の経時変化を示す。

**【図3B】**図3A～3Dは、放射線療法および魚油とセレンとを含むサプリメントを用いる併用療法の、腫瘍容積および重量に対する典型的な相乗効果を示す。図3Bは、図3A

50

に示されるような処置の最初の 11 日の詳細図を提供する。

【図 3 C】図 3 A ~ 3 D は、放射線療法および魚油とセレンとを含むサプリメントを用いる併用療法の、腫瘍容積および重量に対する典型的な相乗効果を示す。図 3 C は、様々な処置群についての腫瘍重量の柱状グラフを提供する。

【図 3 D】図 3 A ~ 3 D は、放射線療法および魚油とセレンとを含むサプリメントを用いる併用療法の、腫瘍容積および重量に対する典型的な相乗効果を示す。図 3 D は、様々な処置群からの例示的腫瘍の写真を提供する。

【図 4 A】図 4 A : 放射線療法、魚油とセレンとを含むサプリメント、および併用療法を使用する処置の、腫瘍細胞注入後 21 日の腓腹筋の筋肉量に対する効果。

【図 4 B】図 4 B : 放射線療法、NutraWell サプリメント、および併用療法を使用する処置の、腫瘍細胞注入後 21 日のヒラメ筋の筋肉量に対する効果。 10

【図 4 C】図 4 C : 放射線療法、NutraWell サプリメント、および併用療法を使用する処置の、腫瘍細胞注入後 21 日の肺（転移性腫瘍を含む）重量に対する効果。

【図 4 D】図 4 D : 放射線療法、NutraWell サプリメント、および併用療法を使用する処置の、腫瘍細胞注入後 21 日の肝臓（転移性腫瘍を含む）重量に対する効果。

【図 4 E】図 4 E : 放射線療法、NutraWell サプリメント、および併用療法を使用する処置の、腫瘍細胞注入後 21 日の脾臓（転移性腫瘍を含む）重量に対する効果。

【図 4 F】図 4 F は、魚油とセレンとを含むサプリメントおよび / または放射線療法で処置した動物被験体における肺転移の定量的研究結果を提供する。

【図 4 G】図 4 G は、魚油とセレンとを含むサプリメントおよび / または放射線療法で処置した動物被験体における原発腫瘍部位および転移部位での Ki - 67 発現の研究結果を示す。 20

【図 5 A】図 5 A : 放射線療法、NutraWell サプリメント、および併用療法を使用する処置の、腫瘍細胞注入後 21 日の血小板数に対する効果。

【図 5 B】図 5 B : 放射線療法、NutraWell サプリメント、および併用療法を使用する処置の、腫瘍細胞注入後 21 日の白血球数に対する効果。

【図 5 C】図 5 C : 放射線療法、NutraWell サプリメント、および併用療法を使用する処置の、腫瘍細胞注入後 21 日のリンパ球数に対する効果。

【図 5 D】図 5 D : 放射線療法、NutraWell サプリメント、および併用療法を使用する処置の、腫瘍細胞注入後 21 日の顆粒球数に対する効果。 30

【図 5 E】図 5 E : 放射線療法、NutraWell サプリメント、および併用療法を使用する処置の、腫瘍細胞注入後 21 日の好中球 / リンパ球百分率に対する効果。

【図 6 A】図 6 A : 放射線療法、NutraWell サプリメント、および併用療法を使用する処置の、腫瘍細胞注入後 21 日の血清アルブミンに対する効果。

【図 6 B】図 6 B : 放射線療法、NutraWell サプリメント、および併用療法を使用する処置の、腫瘍細胞注入後 21 日の血清クレアチニンに対する効果。

【図 7 A】図 7 A : 放射線療法、NutraWell サプリメント、および併用療法を使用する処置の、腫瘍細胞注入後 21 日の血清 IL - 6 に対する効果。

【図 7 B】図 7 B : 放射線療法、NutraWell サプリメント、および併用療法を使用する処置の、腫瘍細胞注入後 21 日の血清 IL - 6 に対する効果。

【図 8 A】図 8 A : 放射線療法、NutraWell サプリメント、および併用療法を使用する処置の、腫瘍細胞注入後 21 日の移植された腫瘍における VEGF 遺伝子発現に対する効果。 40

【図 8 B】図 8 B : 放射線療法、NutraWell サプリメント、および併用療法を使用する処置の、腫瘍細胞注入後 21 日の移植された腫瘍における BAX 遺伝子発現に対する効果。

【図 8 C】図 8 C : 放射線療法、NutraWell サプリメント、および併用療法を使用する処置の、腫瘍細胞注入後 21 日の移植された腫瘍における Bcl - 2 遺伝子発現に対する効果。

【図 8 D】図 8 D : 放射線療法、NutraWell サプリメント、および併用療法を使 50

用する処置の、腫瘍細胞注入後 21日の移植された腫瘍におけるカスパーゼ3遺伝子発現に対する効果。

【図8 E】図8 E：放射線療法、NutraWellサプリメント、および併用療法を使用する処置の、腫瘍細胞注入後21日の肺におけるBAX遺伝子発現に対する効果。

【図8 F】図8 F：放射線療法、NutraWellサプリメント、および併用療法を使用する処置の、腫瘍細胞注入後21日の肺におけるBcl-2遺伝子発現に対する効果。

【図8 G】図8 G：放射線療法、NutraWellサプリメント、および併用療法を使用する処置の、腫瘍細胞注入後21日の肺におけるカスパーゼ3遺伝子発現に対する効果。

【図9 A】図9 Aは、マウスが、放射線療法の開始とともに栄養サプリメント補給を開始して、8、10、および12日で放射線療法を受ける試験プロトコルを示す。マウスは、腫瘍細胞の移植後14日または24日に処分する。

【図9 B】図9 B：図9 Aにおいて示すプロトコルから誘導した処置群。

【図10 A】図10 A：図9 Aで示すように処置したマウスにおいて腫瘍細胞移植後14日および24日の血清アルブミン濃度。

【図10 B】図10 B：図9 Aで示すように処置したマウスにおける腫瘍細胞移植後14日および24日のリンパ球数を示す。

【図10 C】図10 Cは、図9 Aで示すように処置したマウスにおける腫瘍細胞移植後14日および24日のN/L比。

【図11 A】図11 A：図9 Aに示すように処置したマウスにおける腫瘍細胞移植後24日の腫瘍塊内のVEGF発現。FITCは、VEGF特異的染色を表す。

【図11 B】図11 B：図9 Aに示すように処置したマウスにおける腫瘍細胞移植後24日の肺（転移）内のVEGF発現を示す。FITCは、VEGF特異的染色を表す。

【図11 C】図11 C：図9 Aに示すように処置したマウスにおける腫瘍細胞移植後24日の肺（転移）内のEGFR発現。FITCはEGFR特異的染色を表す。

【図11 D】図11 D：図9 Aに示すように処置したマウスにおける腫瘍細胞移植後24日の腫瘍塊内のEGFR発現。FITCはEGFR特異的染色を表す。

【図12】図9 Aに示すように処置したマウスにおける腫瘍細胞移植後24日の腫瘍塊内および肺組織（転移）中でのCD31（癌幹細胞マーカー）発現。FITCはCD31特異的染色を表す。

【図13 A】図13 Aは、図9 Aに示すように処置したマウスにおける腫瘍細胞移植後24日の腫瘍塊内および肺組織（転移）中のH1F1-（低酸素マーカー）タンパク質の存在を示す。FITCはH1F1-特異的染色を表す。

【図13 B】図13 Bは、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントおよび/または放射線療法で処置した被験体からの腫瘍サンプルの遺伝子発現研究の結果を示す。

【図14】図9 Aに示すように処置したマウスにおける腫瘍細胞移植後24日のアポトーシスマーカーの発現。

【図15 A】図15 Aは、魚油とセレンとを含むサプリメントおよび/または放射線療法で処置したヒトの疾患の動物モデルにおける原発性および転移性腫瘍部位でのPDL-1遺伝子発現を特徴づける研究の結果を示す。

【図15 B】図15 Bは、魚油とセレンとを含むサプリメントおよび/または放射線療法で処置したヒトの疾患の動物モデルにおける原発性および転移性腫瘍部位でのPD-1遺伝子発現を特徴づける研究の結果を示す。

【図16 A】図16 Aは、マウスが、腫瘍細胞移植前、腫瘍細胞移植の時点、または放射線療法の開始時に提供される栄養サプリメント補給とともに、8、10、および12日に放射線療法を受ける、試験プロトコルを示す。マウスを腫瘍細胞の移植後21日に処分する。

【図16 B】図16 B：図16 Aにおいて示すプロトコルから誘導した処置群。

【図17】図16 Aで記載するプロトコルによって処置したマウスの腸の横断面の顕微鏡写真。

【図18 A】図18 A：放射線療法、NutraWellサプリメント、および併用療法

10

20

30

40

50

を使用する処置の、腫瘍細胞注入後 21 日の VEGF 遺伝子発現に対する効果。

【図 18 B】図 18 B：放射線療法、NutraWell サプリメント、および併用療法を使用する処置の、腫瘍細胞注入後 21 日の BAX 遺伝子発現に対する効果。

【図 18 C】図 18 C：放射線療法、NutraWell サプリメント、および併用療法を使用する処置の、腫瘍細胞注入後 21 日の Bcl-2 遺伝子発現に対する効果。

【図 18 D】図 18 D：放射線療法、NutraWell サプリメント、および併用療法を使用する処置の、腫瘍細胞注入後 21 日のカスパーゼ 3 遺伝子発現に対する効果。

【図 18 E】図 18 E：放射線療法、NutraWell サプリメント、および併用療法を使用する処置の、腫瘍細胞注入後 21 日の肺（すなわち、転移）での Bcl-2 遺伝子発現に対する効果。

【図 18 F】図 18 F：放射線療法、NutraWell サプリメント、および併用療法を使用する処置の、腫瘍細胞注入後 21 日の肺（すなわち、転移）におけるカスパーゼ 3 遺伝子発現に対する効果。

【図 19 A】図 19 A、腫瘍細胞移植前に 7 日間栄養サプリメント補給を提供して、8 日、10 日、および 12 日にマウスに放射線療法を受けさせる試験プロトコルを示す。マウスは腫瘍細胞の移植後 24 日で処分する。

【図 19 B】図 19 B：図 19 A に示すプロトコル由来の処置群。

【図 20 A】図 20 A：図 19 A に示すプロトコルを用いた、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントの、腫瘍細胞移植後に反復放射線療法を受けたマウスの体重に対する効果。

【図 20 B】図 20 B：図 19 A に示すプロトコルを用いた、放射線療法、魚油とセレンとを含む栄養サプリメント、および併用療法を用いた処置の、腫瘍細胞注入後 21 日の腓腹筋の筋肉量に対する効果。

【図 21 A】図 21 A は、腫瘍移植前の 7 日間、腫瘍細胞移植当日、または腫瘍細胞移植の 8 日後に栄養サプリメント補給を提供して、8 日、10 日、および 12 日に放射線療法を受ける試験プロトコルマウスを示す。マウスを腫瘍細胞の移植後 21 日に処分する。

【図 21 B】図 21 B：図 21 A に示すプロトコルから誘導される処置群。

【図 22】：図 21 A に示すプロトコルを用いて腫瘍細胞移植後に反復放射線療法を受けるマウスの体重に対する NutraWell サプリメント補給の効果

【図 23】図 21 A に示すようにプロトコルにおけるように処置したマウスにおける、NutraWell サプリメントと組み合わせた反復放射線療法に際しての腫瘍容積の経時変化。

【図 24 A】図 24 A：NutraWell サプリメントと組み合わせた反復放射線療法、および併用療法を使用する処置の、図 21 A に示すプロトコルを用いて処置したマウスにおいて腫瘍細胞注入後 21 日の血清 TNF- $\alpha$  に対する効果。

【図 24 B】図 24 B：NutraWell サプリメントと組み合わせた反復放射線療法、および併用療法を使用する処置の、図 21 A に示すプロトコルを用いて処置したマウスにおける腫瘍細胞注入後 21 日の血清 IL-6 に対する効果。

#### 【発明を実施するための形態】

##### 【0019】

###### (詳細な説明)

以下の説明は、本発明を理解する上で有用であり得る情報を含む。本明細書中で提示する情報のいずれもが先行技術であるか若しくは本発明に関連すること、または具体的もししくは暗黙的に引用するいずれの刊行物もが先行技術であることを認めるものではない。

##### 【0020】

発明の主題は、魚油とセレンとを含む栄養サプリメント（例えば、魚油、セレン酵母由来のセレン、ならびにある特定のビタミン類、ミネラル、アミノ酸、および糖類を含むサプリメント、例えば「NutraWell」）を放射線療法と組み合わせて使用する、組成物および方法を提供する。放射線およびそのようなサプリメントを使用する併用療法は、驚くほどに、腫瘍サイズの減少において有意な相乗効果を提供する。加えて、放射線療法の副作用（例えば、好中球減少、体重の減少、筋肉量の減少、胃腸管アシル細胞（ac

10

20

30

40

50

y 1 c e 1 1 ) に対する損傷など) は、そのようなサプリメントを使用しない放射線療法の適用と比べて低減および / または軽減される。意外にも、血管新生およびアポトーシスに関連する遺伝子発現はまた、魚油とセレンとを含むサプリメントの使用に際して放射線療法の適用を伴う場合と伴わない場合の両方で腫瘍細胞において調節されることが判明した。加えて、転移が防止され、癌幹細胞の成長および拡散が低減されることが判明した。

#### 【 0 0 2 1 】

開示された技術は、癌の処置で使用される現行の放射線処置プロトコルの有効性を増強する一方で、これらのアプローチに関連する副作用を低減することをはじめとする多くの有益な技術的效果を提供することを理解されたい。

#### 【 0 0 2 2 】

以下の考察は、発明の主題の多くの実施形態例を提供する。各実施形態は発明の要素の単一の組み合わせを表すが、発明の主題は開示された要素のあらゆる可能な組み合わせを含むと考えられる。したがって、一実施形態が要素 A、B、および C を含み、第二の実施形態が要素 B および D を含む場合、発明の主題はまた、明確に開示されていなくても A、B、C、または D の他の残りの組み合わせも含むと考えられる。

#### 【 0 0 2 3 】

いくつかの実施形態において、発明のある特定の実施形態を記載し請求するために使用される、構成要素の量、濃度などの特性、反応条件を表す数は、いくつかの例では、「約」という語によって修飾されると理解されるべきである。したがって、いくつかの実施形態において、明細書および添付の特許請求の範囲に記載される数値パラメータは、特定の実施形態によって得ることが求められる所望の特性に応じて変わり得る近似値である。いくつかの実施形態において、数値パラメータは、報告された有効数字の数値に照らして、そして通常の丸め技術を適用することによって構築すべきである。発明のいくつかの実施形態の広い範囲を記載する数値範囲及びパラメータは近似値であるが、具体例に記載される数値は実施可能のように正確に報告されている。発明のいくつかの実施形態において提示する数値は、それらの各試験測定で見られる標準偏差から必然的に生じるある誤差を含み得る。

#### 【 0 0 2 4 】

発明の概念の一実施形態において、表 1 に示す栄養サプリメント組成物(「Nutra we 1 1」)は放射線療法の結果を改善するために提供される。

#### 【 0 0 2 5 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 1】

成分	最小	最大	単位
マルトデキストリン	10000	50000	mg
乳漿タンパク質単離物	5000	60000	mg
乳漿タンパク質濃縮物	1000	50000	mg
フラクトオリゴ糖／イヌリン	40	15000	mg
粒状ハチミツ	1000	9000	mg
オート麦纖維	500	15000	mg
天然フレンチバニラフレーバー	500	20000	mg
ダイズタンパク質	500	50000	mg
褐色粉糖 (Brownulated Powdered Brown Sugar)	500	10000	mg
天然バニラマスキングフレーバー	500	5000	mg
レシチン	200	10000	mg
乳、無脂肪	50	5000	mg
コメタンパク質粉末	50	5000	mg
カゼイン酸カルシウム	50	2000	mg
油			
亜麻油	100	7000	mg
キャノーラ油	100	7000	mg
ルリヂサ油	100	7000	mg
オリーブ油	100	7000	mg
魚油	150	10,000	mg
純粋レモン油	100	1000	mg
純粋オレンジ油	50	1000	mg
混合トコフェロール	0.5	200	mg
ビタミン/ミネラル			
リン酸カリウム	200	1500	mg
炭酸カルシウム	100	5000	mg
酒石酸水素コリン	150	2500	mg
塩化ナトリウム	100	2000	mg
三塩基性リン酸カルシウム	100	2000	mg
アスコルビン酸	50	3000	mg
塩化カリウム	50	2000	mg
酸化マグネシウム	50	500	mg
セレン酵母	30	4000	mcg
クロム酵母	30	3000	mcg
モリブデン酵母	30	2000	mcg
イノシトール	10	5000	mg
硫酸亜鉛一水和物	5	200	mg

【0026】

10

20

30

40

50

【表1 - 2】

乾燥酢酸ビタミンE	5	2000	IU
ナイアシンアミド	5	500	mg
オルトリン酸第二鉄	3	100	mg
パントテン酸カルシウム	3	200	mg
硫酸マンガン一水和物	3	100	mg
βカロテン	1	100	mg
グルコン酸銅	1	15	mg
ビタミンD3	25	5000	IU
ビタミンK2	2	1000	mcg
ピリドキシンHCl	0.5	200	mg
ヨウ化カリウム	0.5	1500	mg
リボフラビン	0.5	1000	mg
チアミン塩酸塩	0.5	2500	mg
乾燥ビタミンK1	1	500	mcg
酢酸ビタミンA	500	100000	IU
葉酸	100	10000	mcg
d-ビオチン	10	10000	mcg
ビタミンB12	1	3000	mcg
アミノ酸			
L-カルニチン	300	30000	mg
L-グルタミン	500	60000	mg
L-アルギニン塩基	500	30000	mg
タウリン	50	2000	mg
L-リジン	50	2000	mg
αリポ酸	10	1000	mg
レスベラトール	15	1500	mg
コエンザイムQ10	10	5000	mg
グリシン	5	1000	mg
プロリン	5	1000	mg
細菌培養物			
Lact. Acidophilus (合計約100億)	2	500	mg
Bifido Bifidum (合計約100億)	2	500	mg
Lac. Bulgaricus (合計約100億)	2	500	mg
Bifido Longum (合計約100億)	2	500	mg
Strep. Thermophilus (合計約100億)	2	500	mg
酵素			
パパイン	5	100	mg
ペプシン	5	100	mg
リパーゼ	5	100	mg
ブロメライン	5	100	mg

10

20

30

40

【0027】

【表 1 - 3】

パンクレアチン 4 X	0.5	100	mg
ラクターゼ	1	100	mg
ベタインHCl	3	100	mg
<b>植物産物</b>			
パイナップル果汁粉末	2	500	mg
パパイヤ果実粉末	2	500	mg
ケセルチン	30	3000	mg
EGCG	25	600	mg
OPC	15	500	mg
アントシアニン	15	5000	mg
エラグ酸	10	300	mg
アスタキサンチン	2	90	mg
フコイダン	20	1500	mg
<b>キノコ調製物</b>			
冬虫夏草 (Cordyceps)	5	6000	mg
マンネンタケ	15	10000	mg
シイタケ	40	15000	mg
マイタケ	30	15000	mg
カワラタケ	30	15000	mg

## 【0028】

表1に示す組成物は、抗炎症活性、血糖値の低下、コレステロールの低下、および抗腫瘍活性をはじめとする、様々な生理学的および生化学的效果を有する成分を含む。他の成分は、高レベルで必要なビタミン、ミネラル、およびアミノ酸のサプリメント補給を提供する。他の成分（たとえば、酵素、レシチン）は、摂取された場合、前記組成物の成分の消化および吸収を助ける働きをする。これらの補体活性の前記組み合わせは、個々の成分の前記単純な相加効果を越える相乗効果を提供する。表1に示す組成物はまた、食味および受容性を改善する働きをするある特定の香味剤 (flavorant)（例えば、ブラウンシュガー、ハチミツ、バニラフレーバーおよびマスキング剤）も含むことが理解されるべきである。ある特定の成分（例えば、ハチミツ、ブラウンシュガー、乳、コメタンパク質、カゼイン）は、フレーバーおよびカロリーエネルギーの両方を提供できる。発明者は、前記香味剤の前記組み合わせが、有効量での前記栄養サプリメントの摂取の順守の提供において有効であることを見出した。いくつかの実施形態において、そのような香味剤は、前記栄養サプリメントの前記有効性にマイナスの影響を及ぼすことなく除外することができる。

## 【0029】

表1に示す成分は、単一製剤として（例えば、丸薬、錠剤、カプセル、粉末、液体、懸濁液などとして）提供することができるか、または異なる処方（例えば、丸薬、錠剤、カプセル、粉末、液体、懸濁液またはその組み合わせとして）に分割することができる。表1に示す量は例示的であり、正常身長およびそれ以外普通の健康状態である成人に提供される典型的な一日投与量である。これらの量は、体重、性別、医学的状態等の相違を構成するように調節することができる。例えば、体重40キロ以下の比較的小柄な患者は、提供される前記範囲の前記下限以下で提供される投与量により恩恵を受ける可能性がある一方で、体重100キログラム以上の比較的大柄な患者は、表示された前記範囲の前記上限（またはそれ以上）で提供される投与量を必要とし得る。いくつかの実施形態において、そのような一日量は前記一日を通して複数の用量として分配することができる。そのような実施形態の一部では、そのような分配された用量の各々の前記組成は、同一であり得る

10

20

30

40

50

。他の実施形態では、そのような分配された用量の前記組成は異なり得るが、ただし、そのような用量の前記合計が前記必要とされるサプリメント補給を提供するものとする。

### 【0030】

例示的実施形態では、ヒト腫瘍細胞（ヌードマウスに移植後）を1グラム／日の前記栄養サプリメント、放射線療法、または1グラム／日の前記栄養サプリメントおよび化学療法で処置する。前記マウスを処置の間、計量して、吐き気および食欲不振などの副作用を特徴づける。数週間後、前記マウスを処分し、前記腫瘍を特徴づける。腫瘍容積を測定し、臓器および筋肉容積に対する療法の影響を判定する。好中球減少の程度も特徴づける。典型的なプロトコルを表2に示す。

### 【0031】

#### 【表2】

			処分（第21日）
1	C	対照	N=6
2	T	腫瘍	N=6
3	P T N	腫瘍+N a t r a w e l l (開始-7日)	N=6
4	T N	腫瘍+N a t r a w e l l (開始0日)	N=6
5	T R	腫瘍+放射線療法 (3Gy×3)	N=6
6	P T R N	腫瘍+放射線療法 (3Gy×3) +N u t r a w e l l (開始-7日)	N=6
7	T R N	腫瘍+放射線療法 (3Gy×3) +N a t r a w e l l (開始8日)	N=6

10

20

30

### 【0032】

#### 体重 / 消耗

典型的な処置計画を図1で概略的に示す。ある被験体は腫瘍細胞移植前に魚油とセレンとを含むサプリメントでの処置を受け（P T N、P T R N）、これらの一部（P T R N）は放射線療法を受ける。他の被験体は、腫瘍細胞移植時にそのようなサプリメントでの処置を開始し（T N、T R N）、これらの一部（T R N）は放射線療法を受ける。対照被験体（C）および腫瘍細胞を移植しそれ以外は未処置の被験体（T）と比較する体重研究の結果を図2Aおよび2Bに示す。図示するように、放射線療法と、魚油とセレンとを含むサプリメントとの両方を受けているマウスは、放射線療法のみを受けているマウスよりも有意に高い割合で体重が増加し、この処置様式に関連する通常の副作用の低減を意味する。魚油とセレンとを含む栄養サプリメントを用いた処置は、特に顕著な効果を有していた。

### 【0033】

#### 腫瘍サイズ

図3A～3Dは、ヒト癌のネズミモデルにおける同様の処置群について、放射線療法と、魚油とセレンとを含むサプリメントを使用する併用療法の、腫瘍容積および重量に対する典型的な相乗効果を示す。図3Aは、3週間の過程にわたる、腫瘍容積に対する様々な処置プロトコルの効果を示し、図3Bは、最初の11日にわたる効果の拡大図を提示する。図示するように、魚油とセレンとを含むサプリメント単独を用いる処置は、腫瘍容積の約60%の減少を提供する。放射線単独を用いる処置は、腫瘍容積の同様の減少を提供する。したがって、相乗効果がなければ、未処置腫瘍の腫瘍容積の約25%までの腫瘍容積の減少が予想される。意外にも、観察されるものは、前記未処置腫瘍の約7%に対して、腫瘍容積における90%を超える減少であり、有意な相乗効果を示す。図3Cは、腫瘍重量を特徴づけると同様の効果が見いだされることを示す。図3Dは、処置後に試験動物から切除した腫瘍の典型例の写真を示し、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントと放射線療法を用いる併用療法の効果は、目視検査で容易に明らかである。したがって、魚油とセレンとを含むサプリメントと放射線療法とを用いる併用療法が腫瘍容積および/または質

40

50

量を減少させるのに相乗効果をもたらし得ることは明らかである。

#### 【 0 0 3 4 】

##### 筋肉消耗

放射線療法の副作用は、食欲不振および体重の減少を超えて、内部臓器への損傷、筋肉量の減少、貧血、好中球減少、腎臓機能の低下などが含まれ得る。筋肉量および臓器に対するそのような副作用に関して魚油とセレンとを含むサプリメントを用いた併用療法の保護効果を判定するために、処置したマウスの体重も処置後に特徴づけした。結果を図 4 A ~ 4 E に示す。図 4 A および 4 B は、前述された試験群に関する、魚油とセレンとを含むサプリメント、放射線療法、およびそのようなサプリメントを使用する放射線療法との併用療法（サプリメント前処置を伴うかまたは伴わない）を使用する処置の、腓腹筋およびヒラメ筋（それぞれ）の重量に対する効果を示す。図示するように、そのようなサプリメントおよび放射線療法を使用する併用療法は、筋肉重量のほぼ完全な保持を提供する。

10

#### 【 0 0 3 5 】

##### 転移

図 4 C、4 D、および 4 E は、任意の転移性腫瘍を含む肺（図 4 C）、任意の転移性腫瘍を含む肝臓（図 4 D）、および任意の転移性腫瘍を含む脾臓（図 4 E）の重量に対する前述されたような処置の効果を示す。図示するように、少なくとも一つには転移性腫瘍の存在に起因して、処置をしないと重量の増加に至る。この増加は、放射線療法単独（TR）によって完全に軽減されないが、魚油とセレンとを含むサプリメントでの処置を受けている被験体は、放射線療法との併用療法の有無の両方で対照の臓器重量と類似した臓器重量を有していた。

20

#### 【 0 0 3 6 】

同様に、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントおよび／または放射線療法で処置されたヒトの疾患の動物モデルの肺内の転移部位の定量化。典型的な転移部位を図 4 F の左のパネルの写真に示し、右のパネルの柱状グラフに記載する。図示するように、そのようなサプリメント（TN）または放射線療法（TR）のいずれかを用いた処置は、転移部位の数をある程度まで減少させたが、サプリメントおよび放射線療法（TRN）の両方を用いた処置の結果、ほとんどの被験体において明確な転移部分は完全になくなった。

30

#### 【 0 0 3 7 】

理論によって拘束されることを望まないが、発明者らは、転移に対するこの効果（および、前述のように、腫瘍サイズおよび質量に対しても）は、放射線療法と組み合わせた魚油とセレンとを含む栄養サプリメントの使用によってもたらされる、腫瘍細胞増殖に対する相乗効果のためであり得ると考える。図 4 G に示すように、増殖マーカー Ki - 67 の発現は、魚油とセレンとを含むサプリメントのいずれかでの処置（TN）、放射線療法での処置（TR）、または両様式を用いた処置（TRN）に際して原発腫瘍部位において抑制される。転移部位（右のパネル）は栄養サプリメントまたは放射線療法単独での処置と関連した傾向を示し、この増殖マーカーの発現の中程度の減少をもたらしたが、驚くべきことに、転移部位において Ki - 67 の発現を減少させるのに相乗効果を示した。これは、魚油とセレンとを含むサプリメントの使用が、放射線療法によって防止されない転移を含む腫瘍転移を低減することができ、相乘的にできることを意味する。

40

#### 【 0 0 3 8 】

##### 好中球減少／貧血

貧血および好中球減少は、少なくとも一つには骨髄活性の抑制のために、癌において、また放射線療法の副作用としてしばしばみられる。魚油とセレンとを含むサプリメントでの併用療法の、様々な血液細胞集団に対する効果を図 5 A ~ 5 E に示す。図 5 B は、魚油とセレンとを含む栄養サプリメント、放射線療法、およびそのようなサプリメントと放射線療法との併用療法の、図 5 B に示すような白血球に対する効果、および図 5 C に示すようなリンパ球に対する効果を示す。これは、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントが、腫瘍の存在およびそのような腫瘍の処置に利用される放射線療法に起因する赤血球、顆粒球、白血球、および／またはリンパ球抑制を改善するために有用であり得ることを意味す

50

る。

#### 【 0 0 3 9 】

図 5 A に示すように、血小板は腫瘍を有する未処置動物 ( T ) において上昇することが判明した。血小板濃度は、魚油とセレンとを含むサプリメントまたは放射線療法のいずれかを用いた処置によって減少したが、そのようなサプリメントおよび放射線療法を用いた併用療法を受けている動物において最も顕著であった。この効果は、魚油とセレンとを含むサプリメントを用いた前処置を受けている被験体において特に顕著であり、対照動物について見られた値まで血小板濃度を減少させた。顆粒球濃度は、未処置腫瘍を有する動物において同様に上昇し（図 5 D に示すとおり）、放射線療法のみを受けているそのような動物においてさらに上昇した。魚油とセレンとを含む栄養サプリメントおよび放射線療法を使用する併用療法は、この効果を低減することが判明した。図 5 E に示すように、腫瘍を有する動物は対照動物と比べて上昇した好中球 / リンパ球比 ( NLR ) を示し、これは、放射線療法のみを受けている同様の被験体においてなお一層上昇する。魚油とセレンとを含むサプリメントを使用する処置は、単独療法として、および放射線療法を使用する併用療法の一部としての両方で、この比をより正常な値にシフトさせるのに有効であることが判明した。このことは、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントが、腫瘍の存在のために、そしてそのような腫瘍を処置するために使用される放射線療法のために上昇する血小板濃度、顆粒球濃度、および / または好中球 / リンパ球比を減少させるのに有用であり得ることを意味する。

10

#### 【 0 0 4 0 】

##### 血清タンパク質

腎臓機能、肝臓機能、および / または栄養状態に関する情報を提供する様々な血清生化学マーカーに対する魚油とセレンとを含むサプリメントを用いた併用療法の効果を図 6 A および 6 B に示す。図 6 A は、魚油とセレンとを含む栄養サプリメント、放射線療法、およびそのようなサプリメントと放射線療法とを用いる併用療法の、動物腫瘍モデルに対する効果を示す。図示するように、血清アルブミン濃度（栄養状態のインジケータ）は未処置の腫瘍を有する動物において低下し、放射線療法単独ではごくわずかだけ改善される。魚油とセレンとを含む栄養サプリメントでの処置は、単独療法としてまたは放射線療法との併用療法としてのいずれかで、特にそのようなサプリメントが前処置として提供される場合に血清アルブミン濃度を改善する。これは、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントとの併用療法によって改善される。このことは、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントを使用する処置が、単独療法としてまたは放射線療法との併用療法としてのいずれかで、腫瘍を有する被験体の栄養状態を改善できることを意味する。

20

#### 【 0 0 4 1 】

図 6 B は、血清クレアチニン（腎臓機能の尺度）が特徴づけられる同様の研究の結果を示す。図示するように、未処置の腫瘍を有する被験体は、腎臓障害を表す上昇したクレアチニン濃度を示す。これは、放射線療法単独によってわずかに改善される。しかしながら、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントおよび放射線療法を使用する併用療法は、血清クレアチニン濃度を低下させる際に、特にそのような栄養サプリメントが前処置として提供される場合に相乗効果を示す。

30

#### 【 0 0 4 2 】

##### サイトカイン

腫瘍の成長および拡散は、放射線療法の適用と同様に、炎症と関連する。意外にも、発明者らは、魚油とセレンとを含むサプリメントとの併用療法が、炎症誘発性サイトカインの濃度を低下させる際に有効であることを見出し、これはそのような併用処置が、腫瘍と、および腫瘍の放射線療法と関連する炎症を低減する際に有効であることを示唆する。NutraWell サプリメントの、炎症誘発性サイトカインの血清濃度に対する効果を図 7 A および 7 B に示す。図 7 A は、対照動物、未処置の腫瘍を有する動物、ならびに魚油とセレンとを含む栄養サプリメント、放射線療法、または、そのようなサプリメントおよび放射線療法の組み合わせで処置された腫瘍を有する動物における、IL-6 の濃度を示

40

50

す。図示するように、未処置の腫瘍を有する動物は血清 I L - 6 濃度の大幅な増加を示す。これは、放射線療法によって少しだけ減少する。魚油とセレンとを含む栄養サプリメント、単独療法としてまたは放射線療法との併用療法としてのいずれかの使用は、腫瘍を有する動物において血清 I L - 6 濃度を低下させることが判明した。図 7 B は、I L - の同様の研究の結果を示す。I L - の結果は、I L - 6 について見いだされるものと類似している。このことは、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントが、単独療法としてまたは放射線療法との併用療法としてのいずれかで、腫瘍を有する被験体において炎症関連サイトカインの血清濃度を低下させるのに有効であり得ることを意味する。発明者は、そのような低下が、そのような動物における炎症の低減を伴うと考える。

#### 【 0 0 4 3 】

##### 腫瘍遺伝子発現

意外にも、発明者らは、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントでの処置がインビボで腫瘍細胞における遺伝子発現を修飾でき、放射線療法に起因する遺伝子発現におけるそのような変化に対して相乗効果を提供できることも見出した。いくつかの実施形態において、前記遺伝子は、サイトカインに関連する、および / またはアポトーシスに関連する。放射線療法、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントを使用する処置、および放射線療法との併用療法の、インビボでの移植された腫瘍細胞における遺伝子発現に対する前記効果の例を図 8 A ~ 8 G に示す。図 8 A は、そのような処置の、腫瘍細胞における V E G F の前記発現に対する結果を示す。図示するように、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントおよび放射線療法を用いる単独療法は、V E G F 発現を低減した。魚油とセレンとを含む栄養サプリメントおよび放射線療法を用いる併用療法は、V E G F の発現を劇的に低減した。

#### 【 0 0 4 4 】

図 8 B および 8 D は、それぞれ、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントを使用する処置、放射線療法、ならびにそのようなサプリメントおよび放射線療法を使用する併用療法の、腫瘍 B A X 発現および転移性（肺）腫瘍 B A X 発現に対する前記効果を示す。B A X はアポトーシスのマーカーとみなされる。図示するように、未処置腫瘍における B A X 発現は低く、放射線療法による影響を受けない。魚油とセレンとを含む栄養サプリメントを使用する単独療法は B A X 発現の劇的な増加をもたらし、また、放射線療法を用いた併用療法として使用した（特に前記サプリメントを前処置として提供）場合は、B A X 発現を上昇させた。図 8 C および 8 E で示すように、B c 1 - 2 発現は、腫瘍細胞および転移性（肺）腫瘍細胞において（それぞれ）上昇し、単独療法としての魚油とセレンとを含む栄養サプリメントでの処置または放射線療法のいずれかによって低下することが判明した。そのようなサプリメントおよび放射線療法を併用療法として使用した場合に、B c 1 - 2 発現におけるさら大幅な低下が見られた。カスパーゼ 3（アポトーシスに関連する）の発現は、放射線療法または魚油とセレンとを含む栄養サプリメント単独で処置された腫瘍（図 8 D）において上昇し、そのようなサプリメントを放射線療法として用いる併用療法（特に、前記サプリメントを前処置として提供する場合）によっても上昇する。図 8 F に示すように、カスパーゼ 3 の発現は、対照の肺組織と比べて、転移性（肺）腫瘍において低減された。図示するように、そのような腫瘍におけるカスパーゼ 3 発現は、放射線療法または魚油とセレンとを含む栄養サプリメントを使用する処置、ならびに併用療法によって増加する。

#### 【 0 0 4 5 】

##### 反復放射線療法

変更された処置プロトコルを使用して同様の研究を実施した。ヒト放射線療法で典型的なように、複数回の放射線療を利用する一つの修飾された処置プロトコルを図 9 A および 9 B に示す。

#### 【 0 0 4 6 】

N u t r a W e l l を用いる処置、放射線療法、ならびに図 9 A に示すプロトコルを用いる、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントおよび放射線療法を使用する併用療法の後の血清アルブミンおよび血球特徴づけから得られる結果を図 10 A ~ 10 C に示す。図 1

10

20

30

40

50

0 A に示すように、血清アルブミン濃度は、腫瘍を有する動物において、特に後の時点で低下する。これは、単独療法としての魚油とセレンとを含む栄養サプリメントを使用する処置または放射線療法によって、および併用療法によって改善される。図 10 B に示すように、腫瘍を有する動物は対照と比べて、特に後の時点で抑制されたリンパ球数を示した。これは、放射線療法単独ではごくわずかしか改善されなかつたが、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントを使用する処置（単独療法として、または放射線療法との組み合わせのいずれか）は、リンパ球濃度を増加させるのに、特に後の時点で有効であった。図 10 C は、前記好中球 / リンパ球比 (NLR) を特徴づける同様の研究の結果を示す。図示するように、腫瘍を有する動物は、後の時点でこの値において劇的な上昇を示す。これは、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントを使用する処置、放射線療法、ならびにそのようなサプリメントおよび放射線療法を使用する併用療法によって低下する。

#### 【 0 0 4 7 】

意外にも、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントを使用する処置、放射線療法、ならびに図 9 A に示すプロトコルを使用する、そのようなサプリメントおよび放射線療法を用いる併用療法も、腫瘍細胞マーカーの発現および腫瘍細胞転移の両方に対して影響を及ぼす。以下の研究において、移植のために選択された前記腫瘍細胞は、肺腫瘍由来であり、前記移植部位から前記肺へ転移する強力な傾向を有する。図 11 A ~ 11 D は、図 9 A に示すプロトコルで処置されたマウスからの様々な組織の免疫細胞化学研究の結果を示す。NutraWell サプリメント補給単独で転移が低減または消失することは注目に値する。

#### 【 0 0 4 8 】

図 11 A に示すように、未処置マウスの前記腫瘍内の VEGF 発現（左のパネル、FITC 染色）は明らかである。魚油とセレンとを含む栄養サプリメントを使用する処置または放射線療法単独のいずれかは、併用療法と同様に、VEGF 発現を劇的に低減させた。数値結果を図 11 A の前記右のパネルに提示する。同様の結果が、図 11 B に示すように、前記肺に転移した腫瘍で見られる。図示するように、VEGF 発現は未処置の転移性腫瘍で明らかであり（左のパネル、FITC 染色）、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントでの処置、放射線療法、または両方を受けた動物で明確に低下した。これらの研究の数値結果を図 11 B の前記右のパネルに提示する。

#### 【 0 0 4 9 】

同様の結果が EGFR の前記発現に関してみられ、その過剰発現は腫瘍と関連する。図 11 C に示すように、EGFR の発現の上昇（左のパネル、FITC 染色）は未処置の腫瘍で明らかであり、魚油とセレンとを含む栄養サプリメント、放射線療法、またはそのようなサプリメントおよび放射線療法を用いる併用療法で処置した被験体で減少する。数値結果を図 11 C の前記右のパネルに示す。同様の結果が図 11 D に示すように、前記肺に転移した腫瘍の EGFR 発現についてみられる。図示するように、EGFR 発現の上昇（左のパネル、FITC 染色）は未処置の転移部位で明らかであり、単独療法としての魚油とセレンとを含む栄養サプリメントまたは放射線療法、そのようなサプリメントと放射線療法とを用いた併用療法で処置された被験体において低下する。このことは、魚油とセレンとを含む栄養サプリメント、放射線療法、および / またはそのようなサプリメントを用いた処置と放射線療法との組み合わせの使用が、癌の処置を受けている個体において EGFR 指向性処置プロトコルを増強するのに有効であることを示唆する。

#### 【 0 0 5 0 】

意外にも、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントでの処置、放射線療法、およびそのようなサプリメントと図 9 A に示すプロトコルを用いた放射線療法での併用療法も、腫瘍幹細胞に対して影響を及ぼす。そのような幹細胞は、転移および様々な癌療法に対する耐性の前記発生に関連する。以下の研究では、移植のために選択された前記腫瘍細胞は、肺腫瘍由来であり、前記移植部位から前記肺へ転移する強力な傾向を有する。図 12 は、図 9 A に示すプロトコルで処置されたマウスからの様々な組織の免疫細胞化学研究の結果を示す。図 12 の前記左のパネルは腫瘍細胞における CD31 (FITC 染色)、幹細胞マ

10

20

30

40

50

ーカーの染色の結果を示す。前記右のパネルは前記肺における転移性細胞についての同様の結果を示す。未処置の被験体は、C D 3 1 の発現が上昇した多くの細胞を示す。意外にも、放射線療法の前記非存在下での魚油とセレンとを含む栄養サプリメントを使用する処置は、前記腫瘍移植部位および前記肺転移部位の両方での前記癌幹細胞の発生を低減または除去する。

#### 【 0 0 5 1 】

魚油とセレンとを含む栄養サプリメントを使用する処置、放射線療法、ならびに図 9 A に示すプロトコルを使用した、組み合わせた N u t r a W e l l サプリメント補給および放射線療法も、腫瘍細胞中または腫瘍細胞間でしばしばみられる低酸素に対して影響を及ぼす。H I F 1 - は、低酸素症に関連するマーカーである。以下の研究において、移植のために選択された前記腫瘍細胞は、肺腫瘍由来であり、前記移植部位から前記肺へ転移する強力な傾向を有している。図 1 3 A は、図 9 A に示すプロトコルで処置したマウスからの様々な組織の免疫細胞化学研究の結果を示す。前記左のパネルは、腫瘍細胞における H I F 1 - の免疫細胞化学染色 (F I T C 染色) の結果を示し、一方、前記右のパネルは、肺転移部位での同様の染色の結果を示す。未処置被験体は H I F 1 - のレベルが上昇した多くの細胞を示す。意外にも、放射線療法の前記非存在下での魚油とセレンとを含む栄養サプリメントでの処置は、前記腫瘍移植部位および前記肺転移部位の両方でそのような低酸素症マーカーの前記発生を低減または除去する。図 1 3 B は、腫瘍サンプル中の遺伝子発現を特徴づけした同様の研究からの典型的な数値結果を示す。図示するように、魚油とセレンとを含むサプリメント (T N ) を使用する処置と、魚油とセレンとを含む栄養サプリメント (P T N ) で 1 週間の前処置との両方で、放射線療法 (T R ) と同様に H I F 1 - の腫瘍発現が減少する。放射線療法およびそのような栄養サプリメントを組み合わせて使用する場合 (P T R N 、 T R N ) 、腫瘍 H I F 1 - 発現の劇的な減少は、特に前処置した被験体 (P T R N ) (相乗効果を示す) において顕著である。魚油とセレンとを含む栄養サプリメントの放射線療法と組み合わせての使用は、腫瘍部位における H I F 1 - タンパク質含有量および遺伝子発現の両方を低減することができ、それらをさらに低酸素状態になりやすくすることは明らかである。

#### 【 0 0 5 2 】

魚油とセレンとを含む栄養サプリメントでの処置、放射線療法、ならびに図 9 A に示すプロトコルを用いた、組み合わせたサプリメント補給および放射線療法も、腫瘍細胞におけるアポトーシス活性に対して影響を及ぼす。マウスにおける腫瘍細胞移植から 2 4 日での様々なアポトシスマーカー (B a x 、 B c l - 2 、およびカスパーゼ 3 ) の発現についての q P C R 研究の結果を図 1 4 に示す。図示するように、前記 B a x / B c l - 2 発現比は腫瘍細胞では低く、放射線療法によってわずかだけ改善する。意外にも、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントを使用する処置単独でこの比の有意な増加がもたらされた。加えて、顕著な相乗効果がそのようなサプリメントおよび放射線療法を用いた併用療法で見られた。カスパーゼ 3 発現は放射線療法単独によって実際には幾分抑制されたが、単独療法として、および放射線療法との併用療法としての両方で、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントを使用する処置によって劇的に増加した。

#### 【 0 0 5 3 】

放射線療法と組み合わせた魚油とセレンとを含む栄養サプリメントを使用する処置はまた、ヒトの疾患の動物モデルにおいて原発腫瘍部位および転移性（肺）腫瘍部位で P D L - 1 および P D - 1 の発現を調節することが判明した。図 1 5 A に示すように、原発性（左のパネル）および転移性（右のパネル）腫瘍細胞はどちらも高レベルの P D L - 1 発現 (T) を示す。意外にも、これらは、前処置 (P T N ) および移植時 (T N ) に処置した場合の両方で、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントでの処置によって著しく低下する。したがって、発明者は、そのようなサプリメントを使用して、癌処置に対する免疫処置アプローチを増強することができると考える。放射線療法 (T R ) での処置も、原発部位および転移部位の両方で P D - L 1 遺伝子発現の減少を示し、放射線療法単独を使用して癌処置に対する免疫処置アプローチを増強できることを示唆する。そのような栄養サプリ

10

20

30

40

50

メントおよび放射線療法を用いた併用療法は、前記サプリメントが移植前（P T R N）に提供されるか、または移植時（T R N）に提供されるかにかかわらず、原発腫瘍部位および転移部位の両方でP D L - 1 発現の低減に有効である。意外にも、前記効果は、転移部位においてよりも前記原発腫瘍部位においてより顕著である。このことは、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントを放射線療法と組み合わせて用いる併用療法が、原発部位および転移部位の両方における腫瘍細胞を、前記患者の免疫系に対してより感受性にすることができる、および／または癌処置に対する免疫処置アプローチの前記効果を増強することができることを示唆する。

#### 【 0 0 5 4 】

同様の研究をP D - 1 発現に関して実施した。図15Bに示すように、P D - 1 発現は放射線療法（T R ）で処置された原発部位腫瘍細胞で低減され、移植前（P T N ）または移植直後（T N ）のいずれかで、魚油とセレンとを含むサプリメントで処置された動物において原発部位腫瘍細胞（左のパネル）で増強された。前記栄養サプリメントおよび放射線療法での併用療法は、前記サプリメントが移植前（P T R N ）に提供されるか、または移植時（T R N ）に提供されるかに応じて異なる結果（d i f f e r e n t i a l r e s u l t ）を提供する。図15Bの前記右のパネルに示すように、転移部位での腫瘍細胞は、対照動物から採取したサンプルと比べて低減されたP D - 1 発現を示した。意外にも、放射線療法は、移植前または前記移植時のいずれかに魚油とセレンとを含むサプリメントで処置を行った場合、転移部位においてP D - 1 発現の増加をもたらした（右のパネル）。放射線療法およびそのようなサプリメントを用いた併用療法は、単独療法で観察されるものよりも高いレベルのP D - 1 発現をもたらした。魚油とセレンとを含む栄養サプリメントでの処置は、特に放射線療法との組み合わせで、腫瘍を有する被験体において、特に転移部位で見られる低下した発現レベルからP D - 1 発現をシフトさせ得ることは明らかである。

10

#### 【 0 0 5 5 】

移植前、放射線療法前、および反復放射線療法を伴う放射線療法サプリメント補給の開始魚油とセレンとを含む栄養サプリメントでの前処置および臨床適用に典型的な複数回の放射線療法の両方を組み合わせた別の処置プロトコルを図16Aおよび16Bに示す。このプロトコルにおいて、前記サプリメントを用いた処置は、腫瘍細胞移植の前、前記腫瘍細胞移植時、および放射線療法の前記開始時で開始した。

20

#### 【 0 0 5 6 】

腸管吸収の喪失および結果としての栄養不良は、放射線療法、特に反復放射線療法の周知の副作用である。図17は、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントを使用する処置の、放射線療法中の前記腸の前記細胞構造に対する前記効果を示す顕微鏡写真を示す。前記腸の細胞構造を、未処置の対照（上の左のパネル）、複数回の放射線療法で処置された、腫瘍を移植された被験体（右のパネル）、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントで前処置し、その後放射線療法を施された、腫瘍を移植された被験体（下の左のパネル）、および放射線療法の前記開始時に魚油とセレンとを含む栄養サプリメントで処置された、腫瘍を移植された被験体（下の右のパネル）について示す。図示するように、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントでの処置は、放射線療法中に前記消化管刷子縁を維持することができ、前記消化管刷子縁を明らかに増強する。これは、そのようなサプリメントでの処置、特に前処置が、放射線療法の副作用に効果的に対処できることを示す。

30

#### 【 0 0 5 7 】

そのような処置プロトコルは、インビオで腫瘍細胞におけるある特定の遺伝子発現を修飾することが判明している。図16Aに示すプロトコルによって処置されたマウスからの腫瘍細胞における遺伝子発現（例えば、血管新生因子関連、アポトーシス関連など）のq P C R 研究結果を図18A～18Fに示す。図18Aに示すように、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントでの処置は、反復放射線療法と同様に、腫瘍細胞におけるV E G F 発現を低減する。そのようなサプリメントと放射線療法とを用いる併用療法によって、特に、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントが放射線療法の開始前に提供される場合にV E

40

50

G F 発現の低減が増強される。

**【 0 0 5 8 】**

図 1 8 B は、腫瘍細胞における B A X 発現が魚油とセレンとを含む栄養サプリメントでの処置によって増加し、反復放射線療法単独では比較的影響を受けないことを示す。そのようなサプリメントを反復放射線療法と組み合わせて用いる前処置も、B A X 発現を増大させた。図 1 8 D に示すように、別のアポトーシス関連遺伝子（カスパーゼ 3）の発現についても同様の結果が見られる。転移性（肺）腫瘍におけるカスパーゼ 3 発現研究の結果を図 1 8 F に示す。図示するように、そのような転移性腫瘍におけるカスパーゼ 3 の発現は、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントでの処置によって、および反復放射線療法によって上昇し、前記サプリメントを放射線療法の開始前に併用療法として提供する場合の対照細胞と類似している。

10

**【 0 0 5 9 】**

腫瘍細胞における別のアポトーシス関連遺伝子である B c 1 - 2 の発現は、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントでの処置および反復放射線療法単独によって減少する（図 1 8 C を参照）。この B c 1 - 2 発現における減少は、そのようなサプリメントおよび反復放射線療法と用いる併用療法に対して、特に前記サプリメントが放射線療法の開始前に提供される場合にさらに顕著である。図 1 8 E は、転移性（肺）腫瘍に関して実施される類似の研究の結果を示す。図示するように、B c 1 - 2 発現における前記減少は、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントおよび反復放射線療法を用いる併用療法に関して、特に前記サプリメントが放射線療法の開始前に提供される場合に、相乗的に減少する。

20

**【 0 0 6 0 】**

移植前サプリメント補給および反復放射線療法

図 1 9 A および 1 9 B は、処置プロトコルと、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントが腫瘍細胞の移植 7 日前に提供される関連する試験群（それぞれの）とを示し、放射線療法は移植後 8、10、および 12 日に行った。マウスを移植後 24 日に処分した。

**【 0 0 6 1 】**

癌および反復放射線療法の両方のよく知られている副作用は体重の減少である。これは、疾患および放射線療法の副作用に関連する衰弱のためであり得る。魚油とセレンとを含む栄養サプリメントでの処置の、反復放射線療法後の体重および筋肉量の減少に対する前記効果を図 2 0 A および 2 0 B に示す。体重は前記腫瘍塊の除去後に特徴づけしたと理解されたい。図 2 0 A に示すように、腫瘍塊を除去すると、対照と比べて残りの体重の有意な減少は明らかである。これは、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントでの処置および単独療法としての放射線療法によって改善される。意外にも、体重の増加は、そのようなサプリメントおよび反復放射線療法を組み合わせて使用する場合に被験体のものを上回る。図 2 0 B は、前記様々な試験群における腓腹筋の前記重量を示す。筋肉量の減少は未処置の腫瘍を有する動物では明らかである。これは、反復放射線療法単独によってわずかに改善される。意外にも、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントでの処置は、筋肉量の顕著な保持を提供する。魚油とセレンとを含む栄養サプリメントおよび反復放射線療法での併用療法は、未処置の腫瘍を有する被験体と比べて筋肉量の相乗的改善をもたらす。魚油とセレンとを含む栄養サプリメントを用いた前処置は、前記腫瘍の前記存在および反復放射線療法の両方に起因して前記体重減少（対照と比べて）および筋肉量を効果的に逆転することは明らかである。

30

**【 0 0 6 2 】**

移植前サプリメント補給および反復放射線療法

処置群に関する別の処置プロトコルを図 2 1 A および 2 1 B に示し、これは図 1 6 A および 1 6 B に示すプロトコルと類似している。このプロトコルでは、放射線療法は腫瘍細胞の移植後 8、10、および 12 日に提供される。魚油とセレンとを含む栄養サプリメントでの処置は、移植前 7 日、前記移植当日、または放射線療法の前記開始時のいずれかで提供される。マウスを腫瘍細胞移植後 21 日に処分した。

40

**【 0 0 6 3 】**

50

癌および放射線療法の両方のよく知られた副作用は体重の減少である。反復前記放射線療法の開始前に提供された場合および反復放射線療法の前記開始と同時に提供された場合の体重および筋肉量の減少に対する魚油とセレンとを含む栄養サプリメントでの処置の前記効果を図22に示す。体重は前記腫瘍塊の除去後に特徴づけされたと理解されたい。図示するように、未処置の腫瘍を有する被験体（前記腫瘍の切除後）の経時的体重増加は、対照と比較して劇的に減少する。同様の減少は、単独で使用した場合の反復放射線療法に関して顕著である。意外にも、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントでの処置は、単独療法として、および反復放射線療法と組み合わせて使用した場合の両方で、著しく改善された経時的体重増加を提供する。これは、そのようなサプリメントが前処置として使用される場合に特に明白である。

10

#### 【0064】

発明者らは、図23で示すように、魚油とセレンとを含む栄養サプリメントを用いた前処置が反復放射線療法に対してみられる腫瘍容積の前記減少を増強することも見出した。図示するように、反復放射線療法および魚油とセレンとを含む栄養サプリメントでの処置はどちらも、未処置の腫瘍を有する動物の腫瘍と比べて腫瘍容積を減少させるのに中程度の効果がある。意外にも、腫瘍容積は、反復放射線療法および魚油とセレンとを含む栄養サプリメントを併用療法として使用した場合、ほとんど経時的变化を示さず、相乗効果を意味する。

#### 【0065】

腫瘍の前記存在および反復放射線療法も炎症の前記発生をもたらす可能性があり、これは、血清中の炎症誘発性サイトカインの前記存在によって特徴づけできる。図24Aおよび24Bは、図21Aに示すように前記プロトコルにおけるように処置したマウスにおける炎症誘発性サイトカインの濃度に対する魚油とセレンとを含む栄養サプリメントの投与と反復放射線療法の前記効果を示す。図24Aは血清TNF- $\alpha$ の値を示す。未処置腫瘍を有する動物が非常に高濃度のTNF- $\alpha$ を示すことは明らかであり、これは反復放射線療法によってある程度まで減少する。魚油とセレンとを含む栄養サプリメントでの処置によっても、特に、そのようなサプリメントを反復放射線療法との併用療法で使用した場合に、血清TNF- $\alpha$ の減少がもたらされた。図24Bは、IL-6の前記血清濃度を特徴づける同様の研究の結果を示し、これは同様の結果を示す。

20

#### 【0066】

すでに記載したもののはかに、本明細書中の発明の概念から逸脱することなくさらに多くの修飾が可能であることは当業者には明らかである。発明の主題は、したがって、前記添付の特許請求の範囲の前記趣旨を除いて限定されるものではない。さらに、前記明細書および前記特許請求の範囲の両方の解釈において、すべての用語は、前記文脈と一致する可能な限り最も広義の方法で解釈されるべきである。特に、前記用語「含む（comprisesおよびcomprising）」は、包括的な方法で要素、成分、またはステップを指すと解釈されるべきであり、前記参照される要素、成分、もしくはステップが、明確に参照されていない他の用途、成分、もしくはステップとともに存在し得る、または利用し得る、または組み合わせられ得ることを意味する。前記明細書特許請求範囲がA、B、C...およびNからなる前記群から選択されるもののうちの少なくとも一つを指す場合、前記文脈は、A+N、またはB+Nなどでない前記群からの一つの要素だけを必要とすると解釈すべきである。

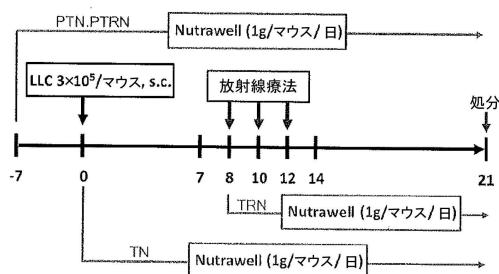
30

40

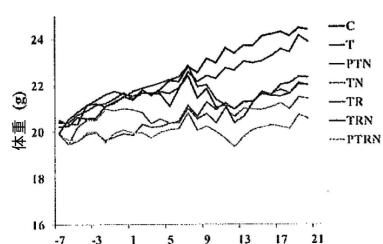
50

【図面】

【図 1】

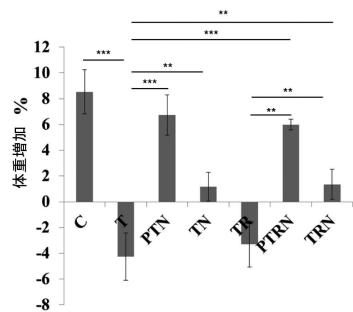


【図 2 A】

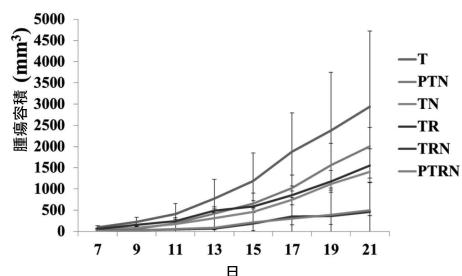


10

【図 2 B】

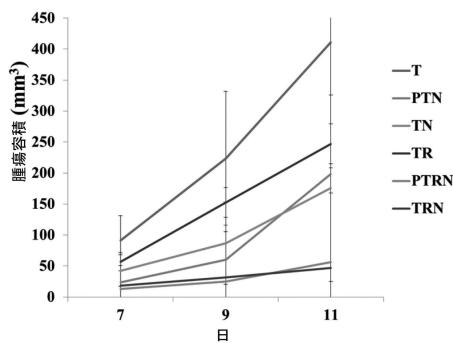


【図 3 A】

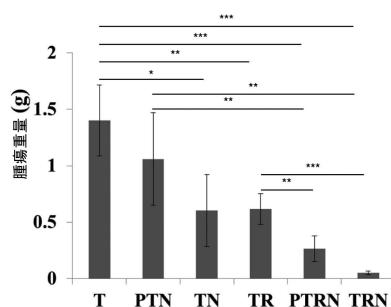


20

【図 3 B】



【図 3 C】



30

40

50

【図 3 D】

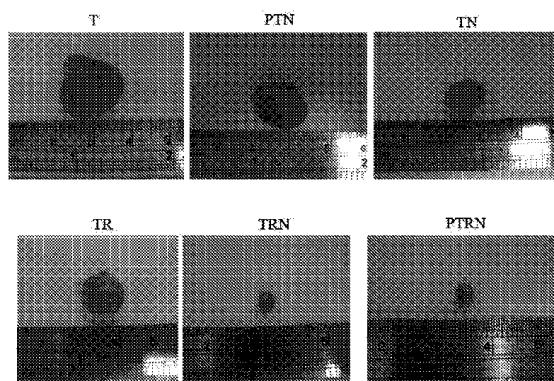
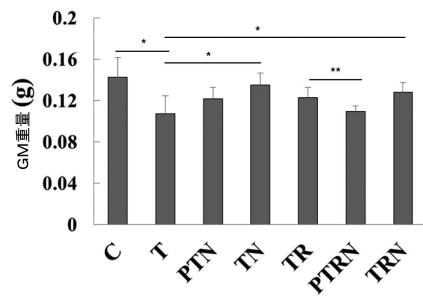


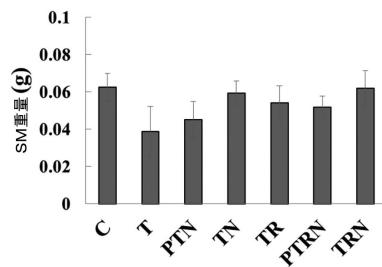
FIG. 3D

【図 4 A】

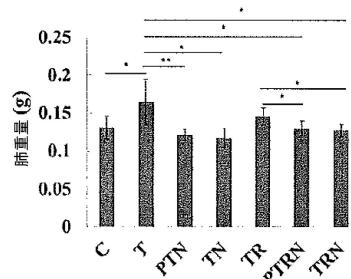


10

【図 4 B】

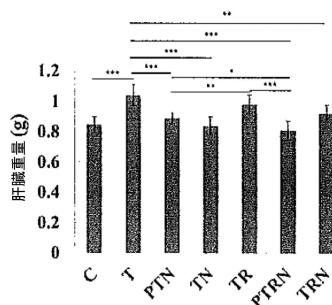


【図 4 C】

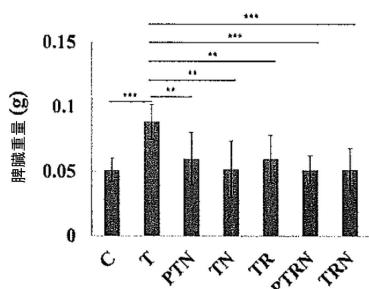


20

【図 4 D】



【図 4 E】

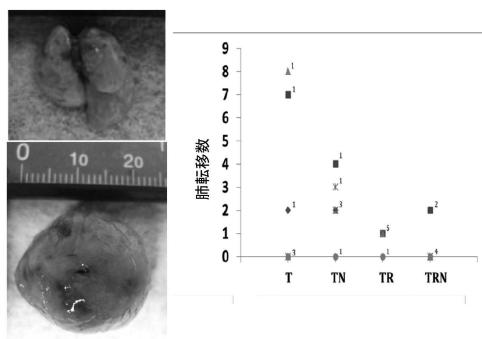


30

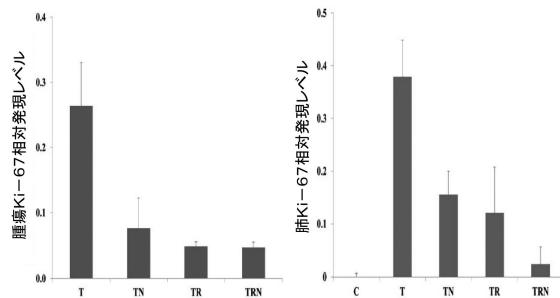
40

50

【図 4 F】



【図 4 G】



10

【図 5 A】

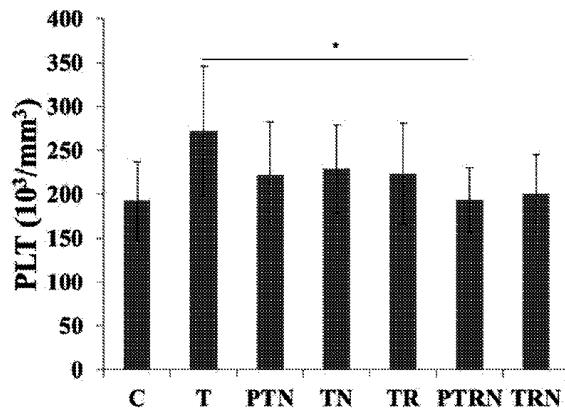


FIG. 5A

【図 5 B】

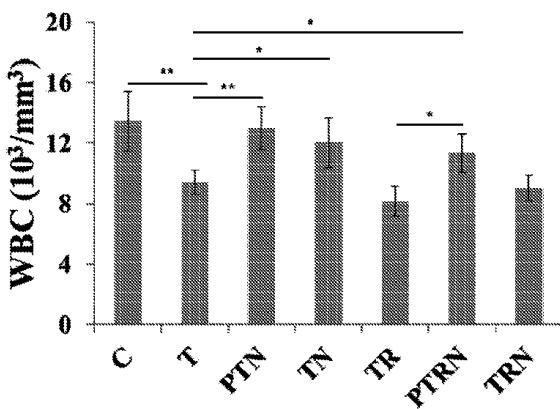


FIG. 5B

20

【図 5 C】

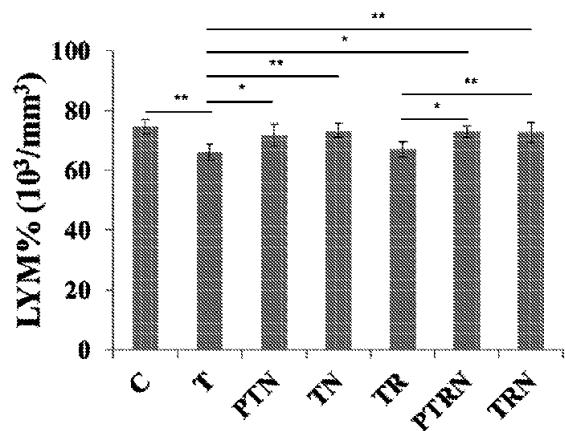


FIG. 5C

【図 5 D】

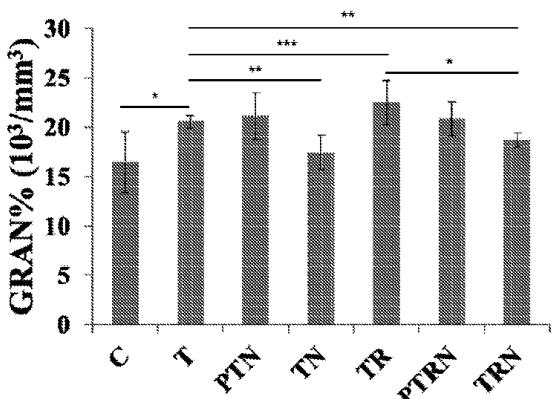


FIG. 5D

30

40

50

【図 5 E】

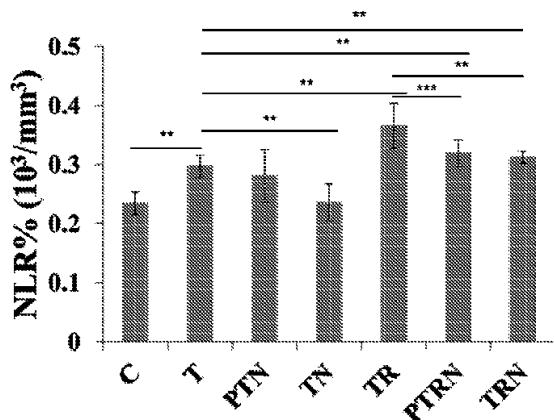
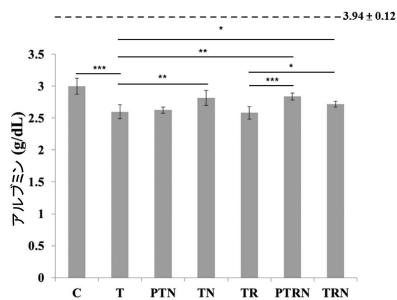


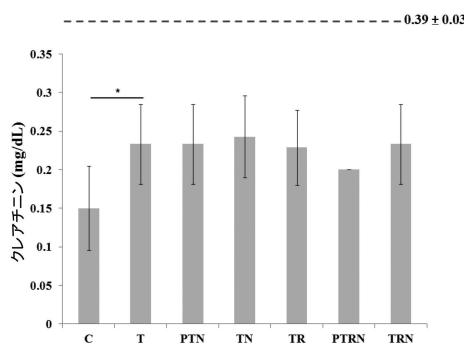
FIG. 5E

【図 6 A】

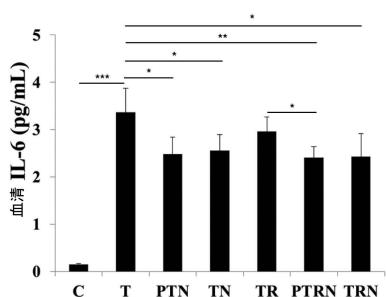


10

【図 6 B】



【図 7 A】



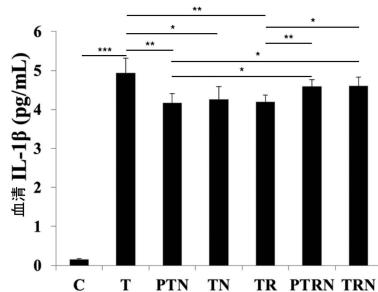
20

30

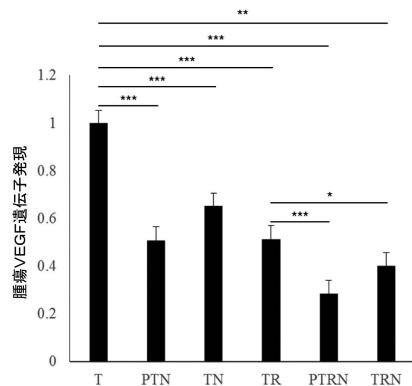
40

50

【図 7 B】

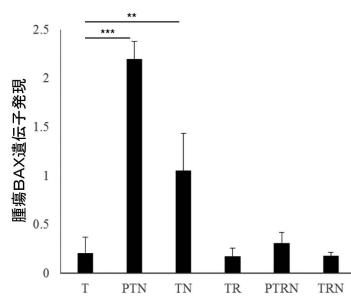


【図 8 A】

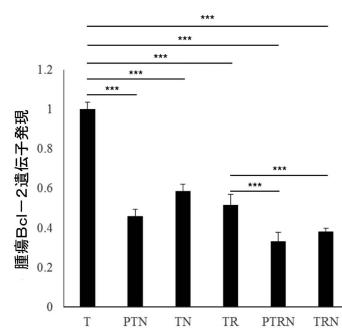


10

【図 8 B】

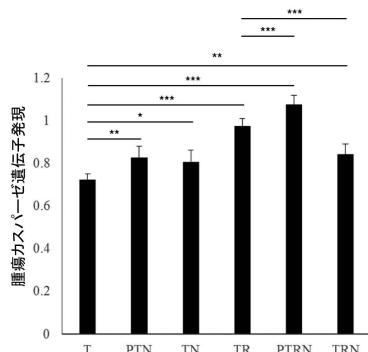


【図 8 C】

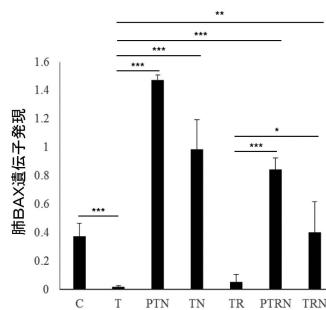


20

【図 8 D】



【図 8 E】

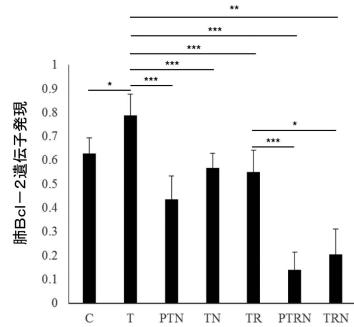


30

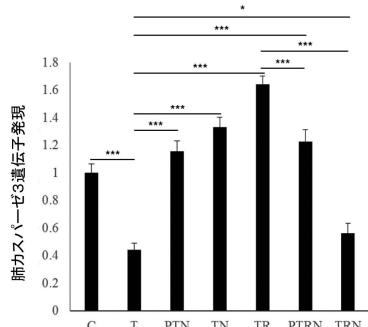
40

50

【図 8 F】

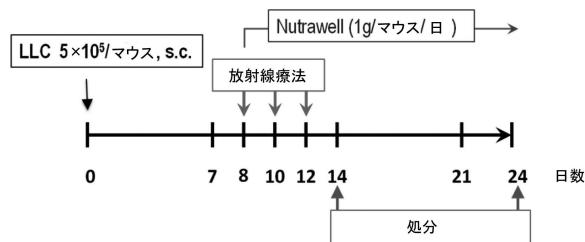


【図 8 G】



10

【図 9 A】

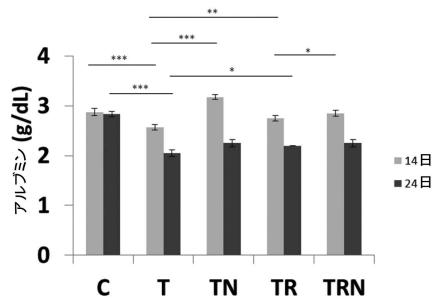


【図 9 B】

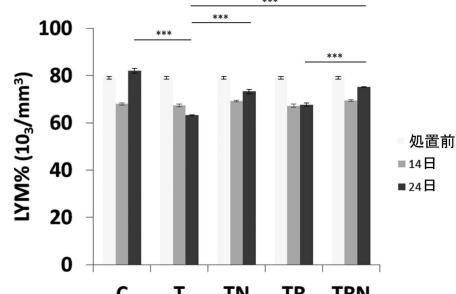
		処分(14日目)	処分(24日目)
1	C	対照	N=6
2	T	腫瘍	N=6
3	TN	腫瘍 + Nutrawell	N=6
4	T3R	腫瘍 + 放射線療法 x3	N=6
5	T3RN	腫瘍 + 放射線療法 x3+ Nutrawell	N=6

20

【図 10 A】



【図 10 B】

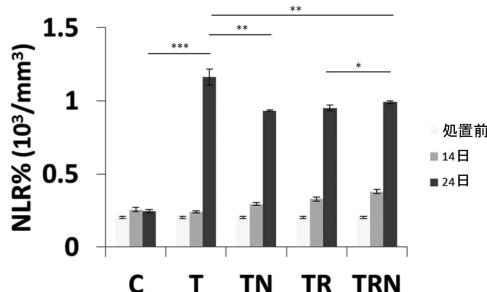


30

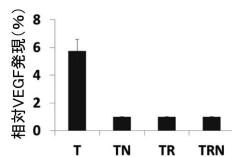
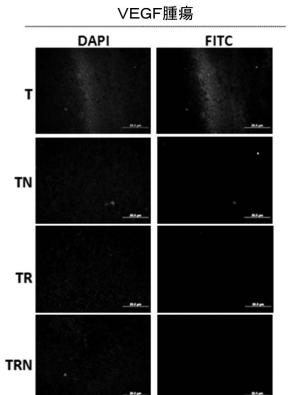
40

50

【図 1 0 C】

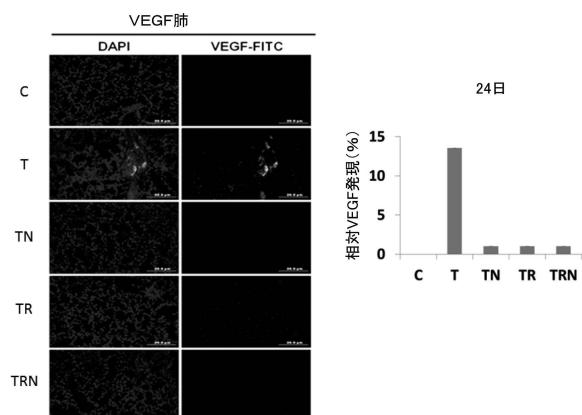


【図 1 1 A】

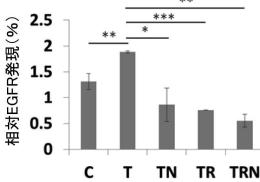
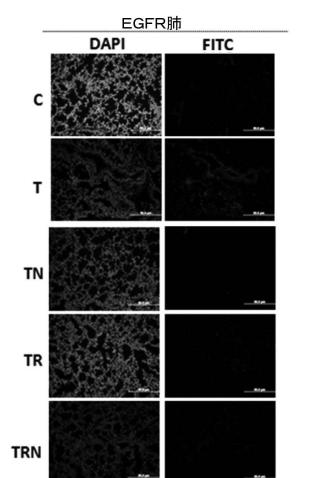


10

【図 1 1 B】



【図 1 1 C】



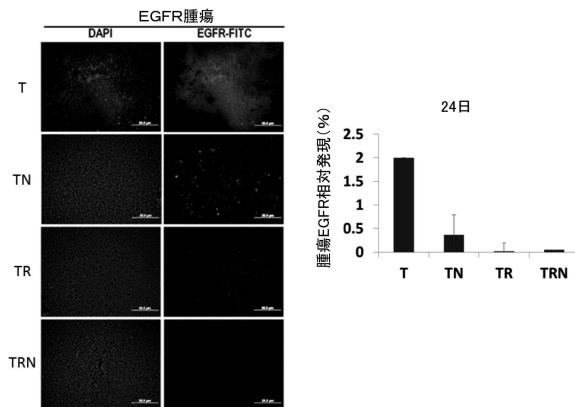
20

30

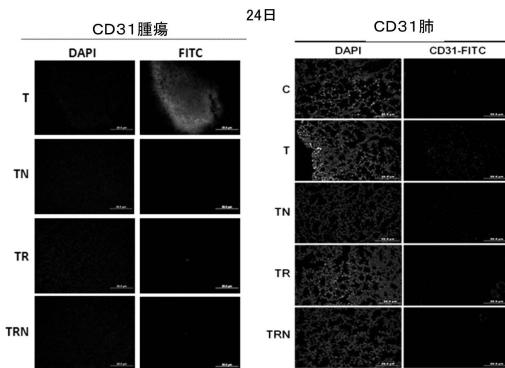
40

50

【図 1 1 D】

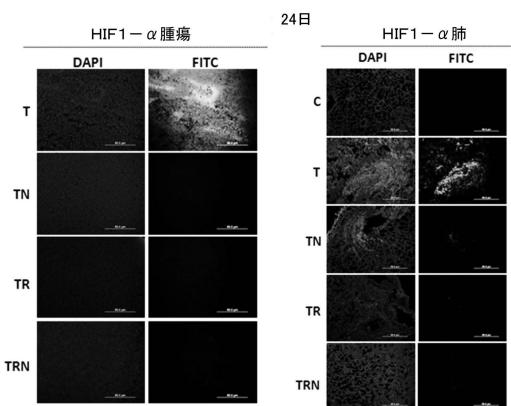


【図 1 2】

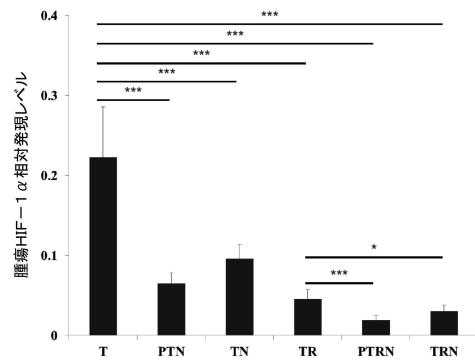


10

【図 1 3 A】



【図 1 3 B】

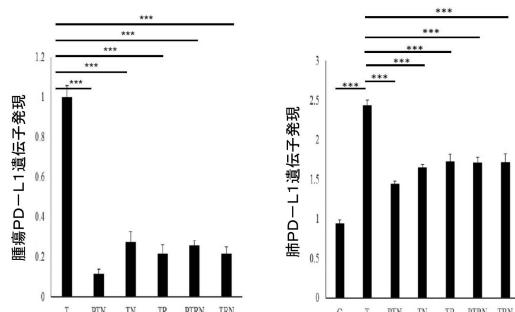


20

【図 1 4】

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

【図 1 5 A】

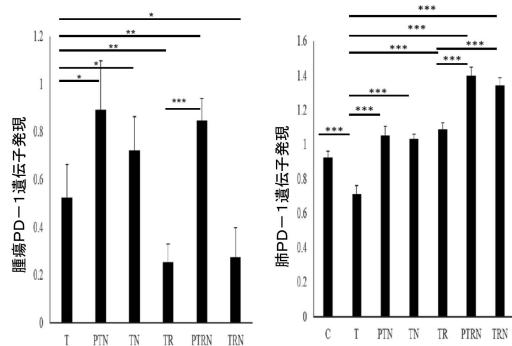


30

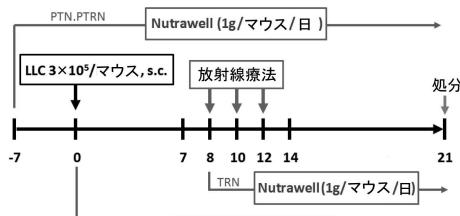
40

50

【図 15 B】



【図 16 A】

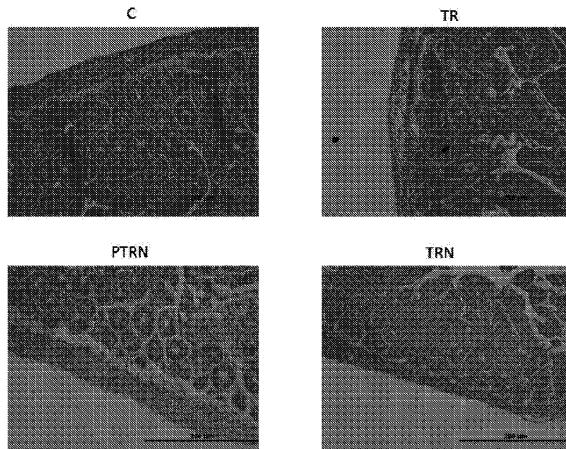


10

【図 16 B】

		処分 (21日目)
1	C	対照 N=6
2	T	腫瘍 N=6
3	PTN	腫瘍 + Nutrawell (-7日開始) N=6
4	TN	腫瘍 + Nutrawell (0日開始) N=6
5	TR	腫瘍 + 放射線療法 (3 Gy × 3) N=6
6	PTRN	腫瘍 + 放射線療法 (3 Gy × 3) + Nutrawell (-7日開始) N=6
7	TRN	腫瘍 + 放射線療法 (3 Gy × 3) + Nutrawell (8日開始) N=6

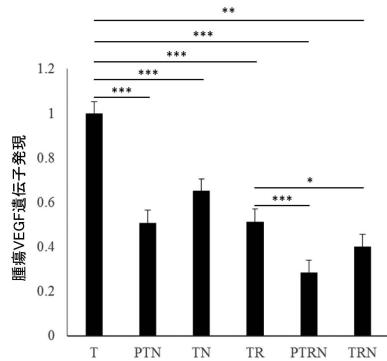
【図 17】



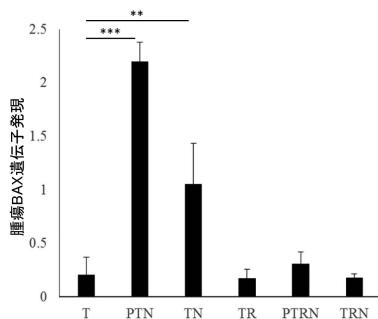
20

FIG. 17

【図 18 A】



【図 18 B】

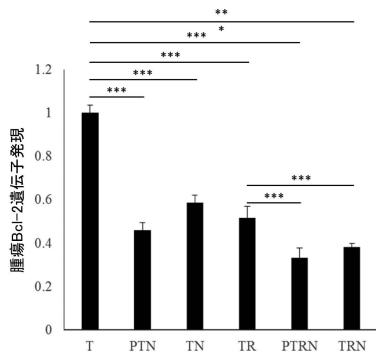


30

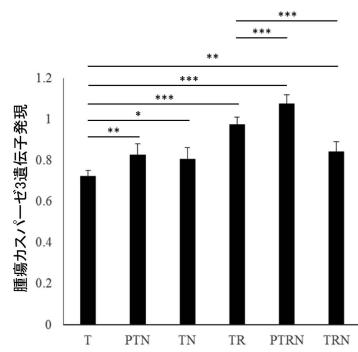
40

50

【図 18 C】

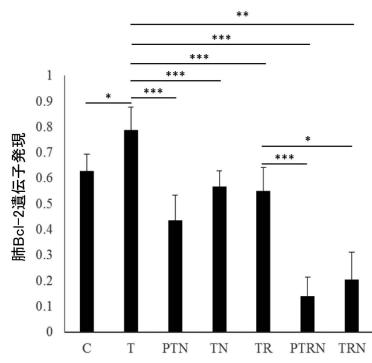


【図 18 D】

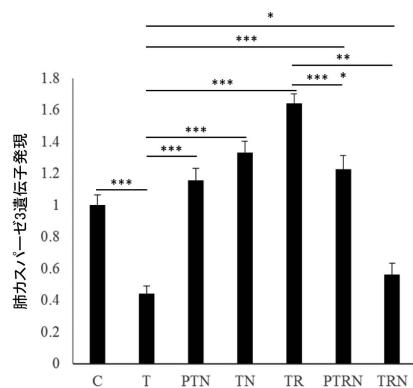


10

【図 18 E】

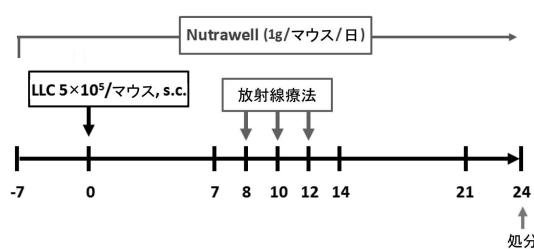


【図 18 F】



20

【図 19 A】



【図 19 B】

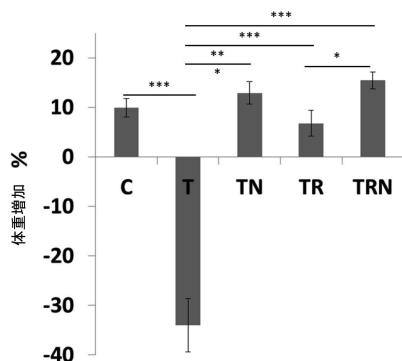
			処分 (24 日目)
1	C	対照	N=6
2	T	腫瘍	N=6
3	TN	腫瘍 + Nutrawell	N=6
4	TR	腫瘍 + 放射線療法 x3	N=6
5	TRN	腫瘍 + 放射線療法 x3 + Nutrawell	N=6

30

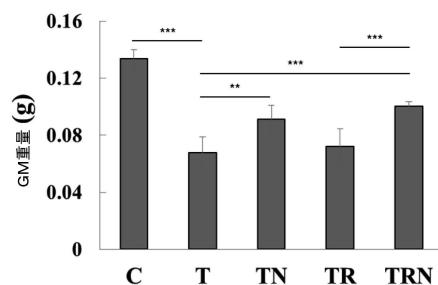
40

50

【図 20 A】

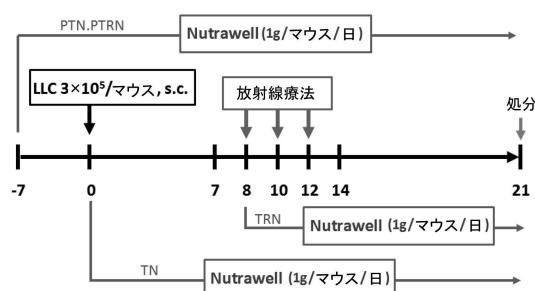


【図 20 B】



10

【図 21 A】

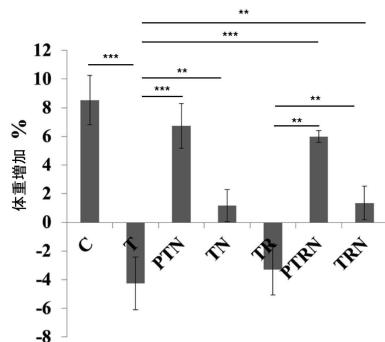


【図 21 B】

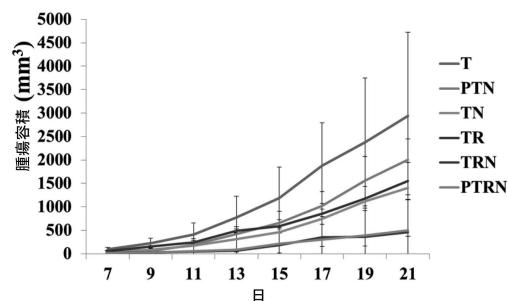
			処分 (21 日目)
1	C	対照	N=6
2	T	腫瘍	N=6
3	PTN	腫瘍 + Nutrawell (-7日開始)	N=6
4	TN	腫瘍 + Nutrawell (0日開始)	N=6
5	TR	腫瘍 + 放射線療法 (3 Gy × 3)	N=6
6	PTRN	腫瘍 + 放射線療法 (3 Gy × 3) + Nutrawell (-7日開始)	N=6
7	TRN	腫瘍 + 放射線療法 (3 Gy × 3) + Nutrawell (8日開始)	N=6

20

【図 22】



【図 23】

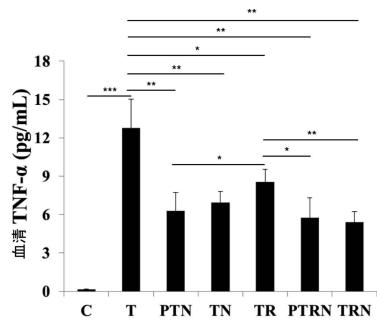


30

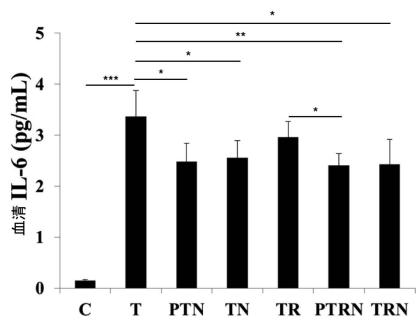
40

50

【図 2 4 A】



【図 2 4 B】



10

20

30

40

50

---

フロントページの続き

## (51)国際特許分類

	F I
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00
A 6 1 K 38/18 (2006.01)	A 6 1 K 38/18
A 6 1 K 38/19 (2006.01)	A 6 1 K 38/19
A 6 1 P 35/04 (2006.01)	A 6 1 P 35/04
A 2 3 L 33/115(2016.01)	A 2 3 L 33/115
A 2 3 L 33/16 (2016.01)	A 2 3 L 33/16

ド 1 4 7 9 1

審査官 横田 優子

## (56)参考文献

中国特許出願公開第105617358(CN, A)

特表2019-529578(JP, A)

米国特許出願公開第2014/0294795(US, A1)

特開2012-001479(JP, A)

特開平06-340544(JP, A)

Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research, 2016, Vol.50 No.4, p.649-656

## (58)調査した分野

(Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 35 / 0 0

A 6 1 P 35 / 0 0

A 6 1 K 4 1 / 0 0

A 6 1 K 3 3 / 0 4

A 6 1 K 3 6 / 0 6

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 ( J D r e a m I I I )

C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S ( S T N )