



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108456670 A

(43)申请公布日 2018.08.28

(21)申请号 201710092306.8

(22)申请日 2017.02.21

(71)申请人 中国科学院生物物理研究所

地址 100101 北京市朝阳区大屯路15号

(72)发明人 莫炜川 胡平东 刘纓 赫荣乔

(74)专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司 11245

代理人 关畅 张立娜

(51)Int.Cl.

*C12N 13/00*(2006.01)

*C12N 5/09*(2010.01)

权利要求书1页 说明书5页 附图3页

(54)发明名称

磁场约束设备在制备用于辅助化疗的产品中的应用

(57)摘要

本发明公开了一种磁场约束设备的新用途。该新用途具体为磁场约束设备在如下的应用:在制备用于辅助化疗的产品中的应用,或者在制备用于增强肿瘤细胞对化疗药物敏感性的产品中的应用。实验证明,磁场约束条件下(0-5  $\mu$ T),黑色素瘤细胞,脉络膜黑色素瘤细胞,神经母细胞瘤细胞,乳腺癌细胞对化疗药物的敏感性都会被显著的提高。由于磁场约束条件,是一个很容易模拟的物理环境,能够非常方便地实现对肿瘤的处理,而且磁场可以穿透生物组织,能够做到无创处理。因此本发明方法不仅可以做到提高化疗效力,也能够提供一种简易无创的治疗环境。

1. 磁场约束设备在制备用于辅助化疗的产品中的应用。
2. 磁场约束设备在制备用于增强肿瘤细胞对化疗药物敏感性的产品中的应用。
3. 根据权利要求1或2所述的应用,其特征在于:所述应用中,所述磁场约束设备为能够提供0-5 $\mu$ T磁场强度的设备。
4. 根据权利要求2所述的应用,其特征在于:所述应用为所述磁场约束设备和可读性载体在制备用于增强肿瘤细胞对化疗药物敏感性的产品中的应用;所述可读性载体上记载有如下内容:用所述化疗药物作用于所述肿瘤细胞,并将被所述化疗药物作用的所述肿瘤细胞置于所述磁场约束设备提供的磁场强度范围在0-5 $\mu$ T的环境中培养。
5. 一种用于增强肿瘤细胞对化疗药物敏感性的系统,由磁场约束设备和装置A组成;所述装置A具有如下功能:用所述化疗药物作用于所述肿瘤细胞,并将被所述化疗药物作用的所述肿瘤细胞置于所述磁场约束设备提供的磁场强度范围在0-5 $\mu$ T的环境中培养。
6. 一种增强肿瘤细胞对化疗药物敏感性的方法,包括如下步骤:用所述化疗药物作用于所述肿瘤细胞,并将被所述化疗药物作用的所述肿瘤细胞置于磁场强度范围在0-5 $\mu$ T的环境中培养。
7. 根据权利要求4-6中任一所述的应用或系统或方法,其特征在于:所述培养的时间大于等于最短有效时间,所述最短有效时间为置于所述磁场强度范围在0-5 $\mu$ T的环境中培养的被所述化疗药物作用的所述肿瘤细胞的活力显著低于对照组肿瘤细胞的活力所需的最短时间;所述对照组肿瘤细胞为置于地磁场环境中培养的被等量的所述化疗药物作用的所述肿瘤细胞。
8. 根据权利要求3-7中任一所述的应用或系统或方法,所述磁场强度范围在0-5 $\mu$ T的环境为磁场强度为0.1-0.5 $\mu$ T的环境。
9. 根据权利要求2-8中任一所述的应用或系统或方法,其特征在于:所述肿瘤细胞为黑色素瘤细胞、脉络膜黑色素瘤细胞、神经母细胞瘤细胞或者乳腺癌细胞。
10. 根据权利要求2-9中任一所述的应用或系统或方法,其特征在于:所述化疗药物为顺铂、五氟尿嘧啶、阿糖胞苷或者紫杉醇。

## 磁场约束设备在制备用于辅助化疗的产品中的应用

### 技术领域

[0001] 本发明属于生物物理领域,涉及磁场约束设备在制备用于辅助化疗的产品中的应用。

### 背景技术

[0002] 目前,化疗已广泛应用于肿瘤的治疗。化疗药物通过阻断肿瘤细胞的代谢和细胞分裂,抑制肿瘤细胞的增殖,甚至诱发肿瘤细胞的凋亡,从而降低肿瘤细胞数目,达到控制肿瘤发展的目的。但是,接受系统化疗的患者必须承受,如呕吐,运动迟缓等,严重的化疗副作用。这严重影响了患者的生活质量。化疗的副作用,是目前癌症治疗中最大的临床难题之一。此外,化疗药物的使用具有多种限制性。每个疗程的用药量,受到药物毒性剂量的约束。病人对药物的耐受能力具有个体差异性。因此化疗药物在使用必须非常小心,做到因人而异。特别是儿童对于药物的耐受力普遍低于成年人。而且,药物的毒性很可能影响儿童的生长发育,这对儿童癌症的治疗带来了极大的限制。此外,肿瘤细胞对化疗药物敏感性往往随着治疗过程而降低。因此,病人在治疗过程中通常会在几个疗程中,更换化疗药物。疗程的增加和药物的更换,会延长甚至加重药物副作用给病人带来的痛苦。而且,即便是广谱类的化疗药物,也不是对所有的肿瘤都具有明显的治疗效果。某些肿瘤,如脉络膜黑色素瘤,其实体瘤对化疗药物非常不敏感。因此,一种可以增加肿瘤细胞对化疗药物敏感性的,温和的、无创的、简便的物理条件,不仅可以提高化疗效率,降低化疗用量,给肿瘤的治疗带来方便,甚至还可以使得某些对化疗药物不敏感的癌症,重新具有化疗的可能性。降低化疗药物的用量和缩短化疗的疗程,也能缓解化疗副作用给病人带来的痛苦,有效提高患者的生活质量。

[0003] 物理辅助疗法指的是通过物理刺激,如热,电,光,超声波和电磁场等物理手段对肿瘤进行辅助治疗或预防的治疗策略。

[0004] 磁场约束环境,是利用设备把环境中的地磁场进行精确控制后,产生的一种稳定的强度一致的弱磁场环境,大小可控制在地磁场的1/10以下(0-5000nT)。目前还没有极弱磁场在肿瘤治疗中的应用研究。

### 发明内容

[0005] 本发明的一个目的是提供一种磁场约束设备的新用途。

[0006] 该新用途具体为磁场约束设备在制备用于辅助化疗的产品中的应用。进一步,所述应用具体可为磁场约束设备在制备用于增强肿瘤细胞对化疗药物敏感性的产品中的应用。

[0007] 在本发明中,所述磁场约束设备为能够将环境中的磁场削弱到0-5 $\mu$ T(如0.1-0.5 $\mu$ T)范围的设备。

[0008] 更加具体的,所述应用为所述磁场约束设备和可读性载体在制备用于增强肿瘤细胞对化疗药物敏感性的产品中的应用;所述可读性载体上记载有如下内容:用所述化疗药

物作用于所述肿瘤细胞,并将被所述化疗药物作用的所述肿瘤细胞置于所述磁场约束设备提供的磁场强度范围在0-5 $\mu$ T的环境中培养。

[0009] 本发明的另一个目的是提供一种用于增强肿瘤细胞对化疗药物敏感性的系统。

[0010] 本发明所提供的用于增强肿瘤细胞对化疗药物敏感性的系统,由磁场约束设备和装置A组成;所述装置A具有如下功能:用所述化疗药物作用于所述肿瘤细胞,并将被所述化疗药物作用的所述肿瘤细胞置于所述磁场约束设备提供的磁场强度范围在0-5 $\mu$ T的环境中培养。

[0011] 本发明还提供了一种增强肿瘤细胞对化疗药物敏感性的方法。

[0012] 本发明所提供的增强肿瘤细胞对化疗药物敏感性的方法,具体可包括如下步骤:用所述化疗药物作用于所述肿瘤细胞,并将被所述化疗药物作用的所述肿瘤细胞置于磁场强度范围在0-5 $\mu$ T的环境中培养。

[0013] 以上本发明所提供的增加肿瘤细胞对化疗药物敏感性的方法,既可为非疾病诊断治疗的方法,也可以为疾病诊断治疗的方法。

[0014] 在本发明中,所述培养的时间大于等于最短有效时间,所述最短有效时间为置于所述磁场强度范围在0-5 $\mu$ T的环境中培养的被所述化疗药物作用的所述肿瘤细胞的活力显著低于对照组肿瘤细胞的活力所需的最短时间;所述对照组肿瘤细胞为置于地磁场环境中培养的被等量的所述化疗药物作用的所述肿瘤细胞。

[0015] 其中,所述“等量”具体为:作用于所述对照组肿瘤细胞的所述化疗药物的量与作用置于所述磁场强度范围在0-5 $\mu$ T的环境中培养的所述肿瘤细胞的所述化疗药物的量相等。所述对照组肿瘤细胞与置于所述磁场强度范围在0-5 $\mu$ T的环境中培养的所述肿瘤细胞两者所处的外部环境条件差别仅在于磁场强度不同,其余均相同。

[0016] 在本发明中,所述培养的时间具体为48h。

[0017] 在本发明中,所述磁场强度范围在0-5 $\mu$ T的环境具体可为磁场强度为0.1-0.5 $\mu$ T的环境。

[0018] 在本发明中,所述肿瘤细胞来自于哺乳动物。所述哺乳动物可选自人、大鼠、小鼠。进一步,所述肿瘤细胞可选自如下:黑色素瘤细胞,脉络膜黑色素瘤细胞,神经母细胞瘤细胞和乳腺癌细胞。具体如:4T1细胞、SH-SY5Y细胞、B16细胞、OCM-1细胞、MUM-2B细胞、N2a细胞等。

[0019] 在本发明中,所述化疗药物具体可选自如下:顺铂、五氟尿嘧啶、阿糖胞苷和紫杉醇。

[0020] 在本发明中,当所述化疗药物为顺铂时,所述肿瘤细胞具体为4T1细胞、SH-SY5Y细胞、B16细胞、OCM-1细胞、MUM-2B细胞或N2a细胞。当所述化疗药物为五氟尿嘧啶时,所述肿瘤细胞具体为OCM-1细胞、B16细胞或SH-SY5Y细胞。当所述化疗药物为阿糖胞苷时,所述肿瘤细胞具体为4T1细胞、SH-SY5Y细胞、B16细胞、OCM-1细胞、MUM-2B或N2a细胞。当所述化疗药物为紫杉醇时,所述肿瘤细胞具体为4T1细胞、SH-SY5Y细胞、OCM-1细胞、MUM-2B细胞或N2a细胞。

[0021] 实验证明,磁场约束条件下(磁场强度范围在0-5 $\mu$ T),黑色素瘤细胞,脉络膜黑色素瘤细胞,神经母细胞瘤细胞,乳腺癌细胞对特定化疗药物的敏感性都会被显著的促进。由于磁场约束条件,是一个很容易模拟的物理环境,能够非常方便地实现对肿瘤的处理,而且

磁场可以穿透生物组织,能够做到无创处理。因此本发明方法不仅可以做到提高化疗效率,也能够提供一种简易无创的治疗环境。

### 附图说明

- [0022] 图1为磁场约束和地磁场对照两组细胞的培养环境示意图。
- [0023] 图2为磁场约束和地磁场对照两组中顺铂对多种肿瘤细胞增殖抑制的效率。
- [0024] 图3为磁场约束和地磁场对照两组中五氟尿嘧啶对多种肿瘤细胞增殖抑制的效率。
- [0025] 图4为磁场约束和地磁场对照两组中阿糖胞苷对多种肿瘤细胞增殖抑制的效率。
- [0026] 图5为磁场约束和地磁场对照两组中紫杉醇对多种肿瘤细胞增殖抑制的效率。

### 具体实施方式

- [0027] 下述实施例中所使用的实验方法如无特殊说明,均为常规方法。
- [0028] 下述实施例中所用的材料、试剂等,如无特殊说明,均可从商业途径得到。
- [0029] 实施例1、磁场约束增加肿瘤细胞对顺铂的敏感性
- [0030] 供试细胞:
- [0031] 4T1细胞,为小鼠乳腺癌细胞株。
- [0032] SH-SY5Y细胞,为人神经母细胞瘤细胞株。
- [0033] B16细胞,为小鼠黑色素瘤细胞株。
- [0034] OCM-1细胞,为人低侵袭性脉络膜黑色素瘤细胞株。
- [0035] MUM-2B细胞,为人侵袭性脉络膜黑色素瘤细胞株。
- [0036] N2a细胞,为小鼠神经母细胞瘤细胞株。
- [0037] 以上细胞在协和细胞库和美国ATCC细胞库,均可购买获得。
- [0038] 顺铂,cis-Diammineplatinum(II) dichloride,为Sigma-Aldrich(USA)产品。
- [0039] 顺铂是一类广谱性的抗肿瘤药物。它能够与DNA的核苷酸发生化学加成,干扰DNA的复制,阻断肿瘤细胞的分裂,最终导致细胞凋亡。
- [0040] 1、实验分组及方法
- [0041] 分为磁场约束组和地磁场对照组。
- [0042] 1.1磁场条件:
- [0043] 磁场约束组:利用磁场约束设备将环境中的磁场强度控制为0.1-0.5 $\mu$ T。
- [0044] 地磁场对照组:磁场环境为40 $\mu$ T,与北京市的地磁场相同。
- [0045] 磁场约束组的细胞在磁场约束设备内培养。地磁场对照组在磁场约束设备外培养。两组细胞在同一个细胞培养箱内(图1)。
- [0046] 1.2.细胞培养:
- [0047] 细胞培养基:高糖DMEM培养基(Gibco,USA),含10%(v/v)胎牛血清FBS(PAA Laboratories,Austria),MEM非必须氨基酸(NEAA)(1:100稀释)(Gibco,USA)。
- [0048] 培养环境:37 $^{\circ}$ C,5%CO<sub>2</sub>,>95%相对湿度,由细胞培养箱提供(型号,HERA240i;赛默飞,美国)。
- [0049] 细胞接种:将每组细胞按照密度2000/孔的密度,接种在96孔细胞培养板中。培养

基中含有顺铂(针对每种细胞,培养基中顺铂的浓度设置如图2的横坐标所示),细胞接种后,立刻将其放入地磁场和磁场约束环境中,培养48小时。

[0050] 1.3. 肿瘤增殖抑制效率测量:

[0051] 细胞在48小时培养后,用CCK-8方法测量细胞活力。CCK-8试剂盒来自(东仁,日本)。测量每个实验孔在450nm处的吸光值之后,将每个实验组的数据归一化到各自的药物浓度为“0”的空白对照,计算药物在每个浓度的增殖抑制效率。通过比较药物在地磁对照和磁场约束环境中的增殖抑制效率,判断磁场约束环境对肿瘤细胞化疗敏感性的影响。实验至少进行三次独立实验,每次至少5个平行孔。

[0052] 2、实验结果

[0053] 磁场约束和地磁场对照两组中,顺铂对4T1细胞、SH-SY5Y细胞、B16细胞、OCM-1细胞、MUM-2B细胞、N2a细胞的增殖抑制结果具体如图2所示。由图可见,在地磁场中,这六个肿瘤细胞系对顺铂的敏感度不同。其中,N2a和B16细胞的半数增殖抑制浓度大于5微克/毫升,4T1,MUM-2B和SH-SY5Y的半数抑制浓度在2-5微克/毫升之间,OCM-1细胞的半数抑制浓度在1-2微克/毫升之间。而在磁场约束环境中,几乎所有细胞对顺铂的敏感度都显著上升。具体表现为,N2a和B16的半数抑制浓度下降为2-5微克/毫升之间;4T1的半数抑制浓度下降为2微克/毫升左右;SH-SY5Y细胞的半数抑制浓度小于1微克/毫升;MUM-2B的半数抑制浓度虽然还在2-5微克/毫升之间,但是已经小于对照组;OCM-1细胞的半数抑制浓度在0.5微克/毫升之间。(\*\*,  $p < 0.01$ , \*\*\*,  $p < 0.001$ , One-way ANOVA检验)。

[0054] 该结果表明磁场范围在0.1-0.5 $\mu$ T的环境,可以有效增加肿瘤细胞对顺铂的敏感度。

[0055] 实施例2、磁场约束增加肿瘤细胞对五氟尿嘧啶的敏感性

[0056] 1. 供试细胞,实验分组和方法,和肿瘤增殖抑制效率测量,参照实施案例1进行,针对每种细胞,培养基中顺铂的浓度设置如图3的横坐标所示。

[0057] 五氟尿嘧啶,5-fluorouracil,为Sigma-Aldrich (USA) 产品。

[0058] 五氟尿嘧啶能够干扰DNA和RNA的合成,是一类细胞周期阻断类抗肿瘤药物。

[0059] 2. 实验结果

[0060] 磁场约束和地磁场对照两组中,五氟尿嘧啶对4T1细胞、SH-SY5Y细胞、B16细胞、OCM-1细胞、MUM-2B细胞、N2a细胞的增殖抑制结果具体如图3所示。结果显示,磁场约束条件,对于4T1,MUM-2B和N2a细胞对五氟尿嘧啶的敏感性没有或仅有很弱的影响。但是,磁场约束条件,能够促进SH-SY5Y细胞对于高浓度五氟尿嘧啶(大于0.5微摩尔/升)的敏感性;能够非常显著地促进OCM-1和B16细胞对五氟尿嘧啶的敏感性。但是五氟尿嘧啶对B16的增殖促进效果本身比较弱,磁场约束条件,能够提高五氟尿嘧啶对B16增殖的抑制效率,但是总体的抑制水平仍然比其他的细胞系要弱>(\* ,  $p < 0.05$ , \*\* ,  $p < 0.01$ , \*\*\*,  $p < 0.001$ , One-way ANOVA检验)。

[0061] 该结果表明磁场范围在0.1-0.5 $\mu$ T的环境可以有效增加某些肿瘤细胞对五氟尿嘧啶的敏感度,如OCM-1和B16。

[0062] 实施例3、磁场约束增加肿瘤细胞对阿糖胞苷的敏感性

[0063] 1. 供试细胞,实验分组和方法,和肿瘤增殖抑制效率测量,参照实施案例1进行,针对每种细胞,培养基中顺铂的浓度设置如图4的横坐标所示。

[0064] 阿糖胞苷,Arabinoside cytosine,为Sigma-Aldrich (USA) 产品。

[0065] 阿糖胞苷能够干扰DNA合成,阻断S期细胞周期进程,抑制肿瘤增殖。

[0066] 2. 实验结果

[0067] 磁场约束和地磁场对照两组中,阿糖胞苷对4T1细胞、SH-SY5Y细胞、B16细胞、OCM-1细胞、MUM-2B细胞、N2a细胞的增殖抑制结果具体如图4所示。结果显示,4T1,OCM-1和N2a细胞对阿糖胞苷比较敏感,较低的用药浓度就能够起到抑制细胞增殖的效果。而且,磁场约束条件,对于这三种细胞的药物敏感性,都有较显著的提升。SH-SY5Y和B16细胞对阿糖胞苷的敏感性处于中等水平。磁场约束条件,也能够提高这两个细胞对阿糖胞苷的敏感性,但是效果较前面三个细胞要弱一些。MUM-2B对阿糖胞苷非常耐受,只有当药物浓度很高时(>5微克/毫升),磁场约束条件对于MUM-2B的药物敏感性才有所提升。(\*,  $p < 0.05$ , \*\*,  $p < 0.01$ , \*\*\*,  $p < 0.001$ , One-way ANOVA检验)。

[0068] 该结果表明磁场范围在0.1-0.5 $\mu$ T的环境可以有效增加肿瘤细胞对阿糖胞苷的敏感度,但是不同细胞的效应存在差异。

[0069] 实施例4、磁场约束增加肿瘤细胞对紫杉醇的敏感性

[0070] 1. 供试细胞,实验分组和方法,和肿瘤增殖抑制效率测量,参照实施案例1进行,针对每种细胞,培养基中顺铂的浓度设置如图5的横坐标所示。

[0071] 紫杉醇,paclitaxel,为Sigma-Aldrich (USA) 产品。

[0072] 紫杉醇是一种微管稳定剂,通过阻断细胞有丝分裂,阻断肿瘤细胞的增殖,并能够诱导细胞发生凋亡。

[0073] 2. 实验结果

[0074] 磁场约束和地磁场对照两组中,紫杉醇对4T1细胞、SH-SY5Y细胞、B16细胞、OCM-1细胞、MUM-2B细胞、N2a细胞的增殖抑制结果具体如图5所示。结果显示,4T1,OCM-1和MUM-2B细胞对紫杉醇比较敏感,较低的用药浓度就能够起到抑制细胞增殖的效果。而且,磁场约束环境具有非常显著的增加抑制效率的效果。B16,SH-SY5Y和N2a细胞对紫杉醇的敏感性相对较低。其中,磁场约束环境能够进SH-SY5Y和N2a细胞对紫杉醇的敏感性,但是对B16细胞没有促进药物敏感性的效应。(\*,  $p < 0.05$ , \*\*,  $p < 0.01$ , \*\*\*,  $p < 0.001$ , One-way ANOVA检验)。

[0075] 该结果表明磁场范围在0.1-0.5 $\mu$ T的环境可以有效增加除了B16之外的几种肿瘤细胞对紫衫醇的敏感度。

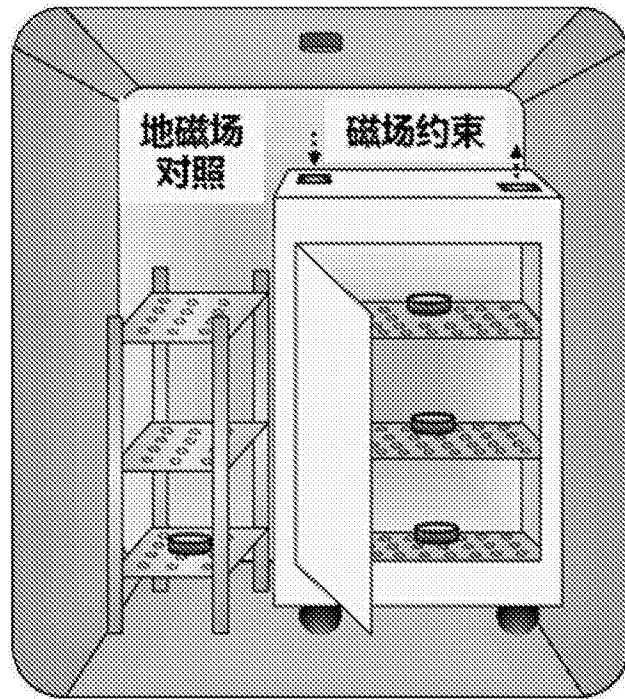


图1

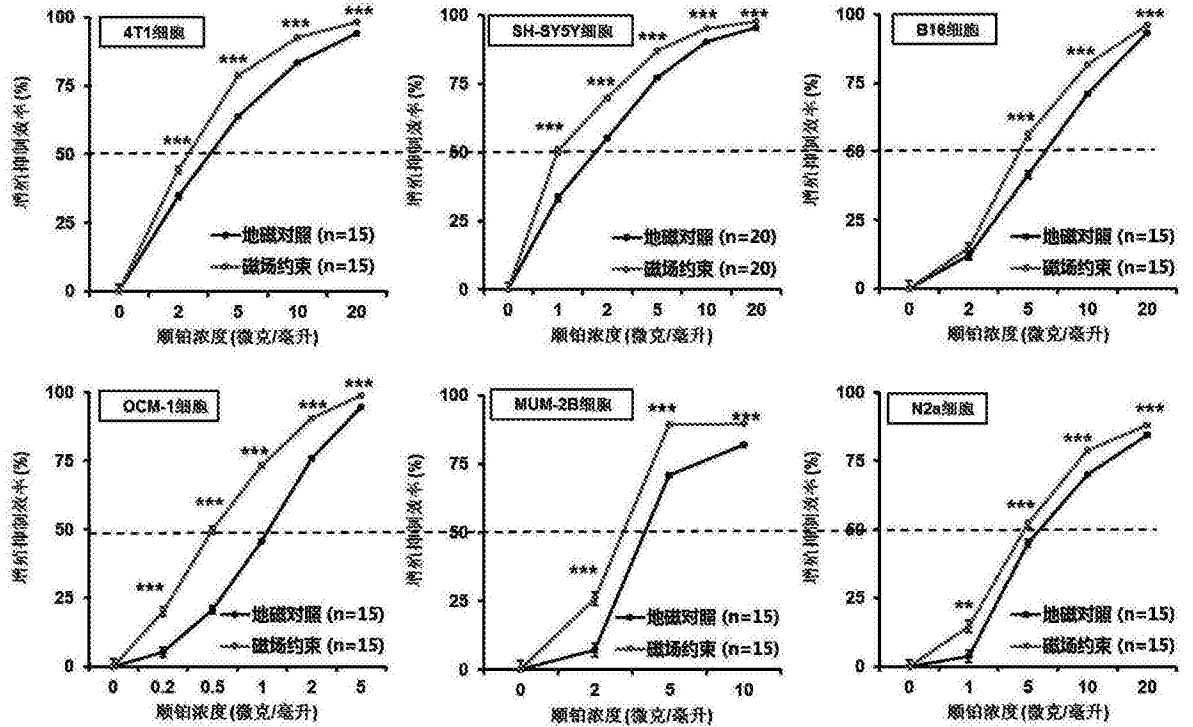


图2



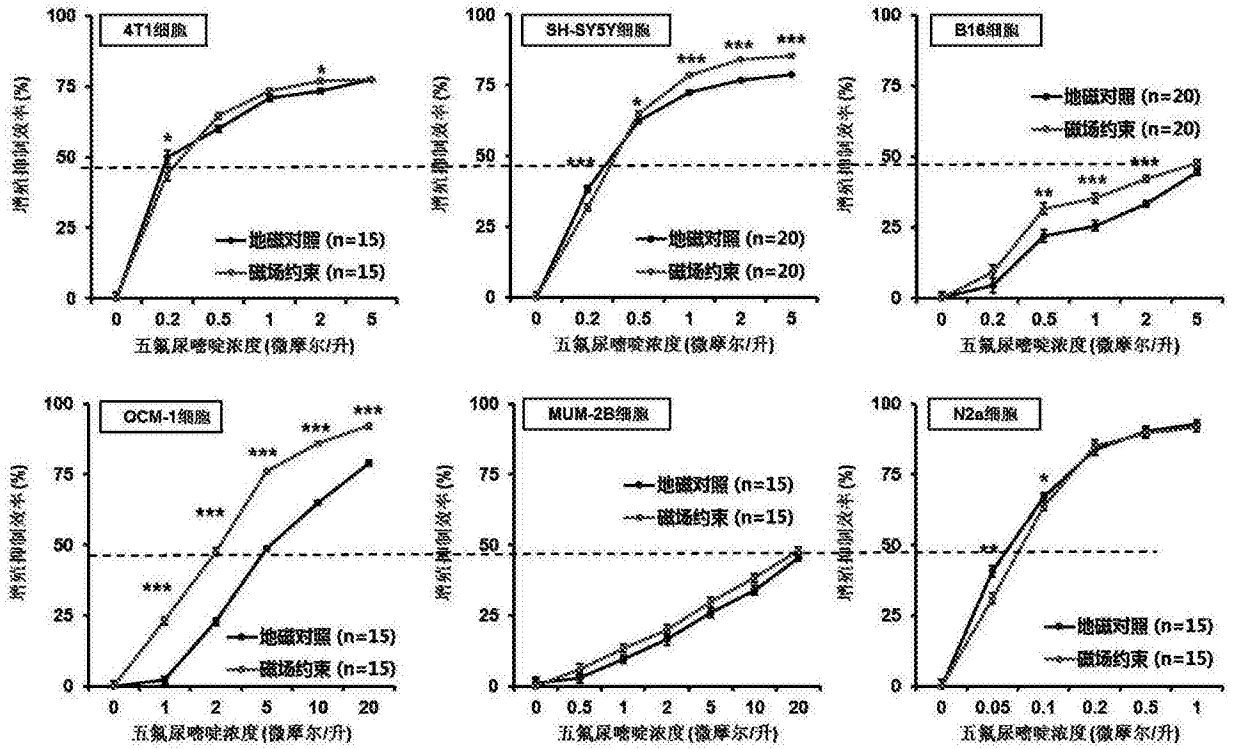


图3

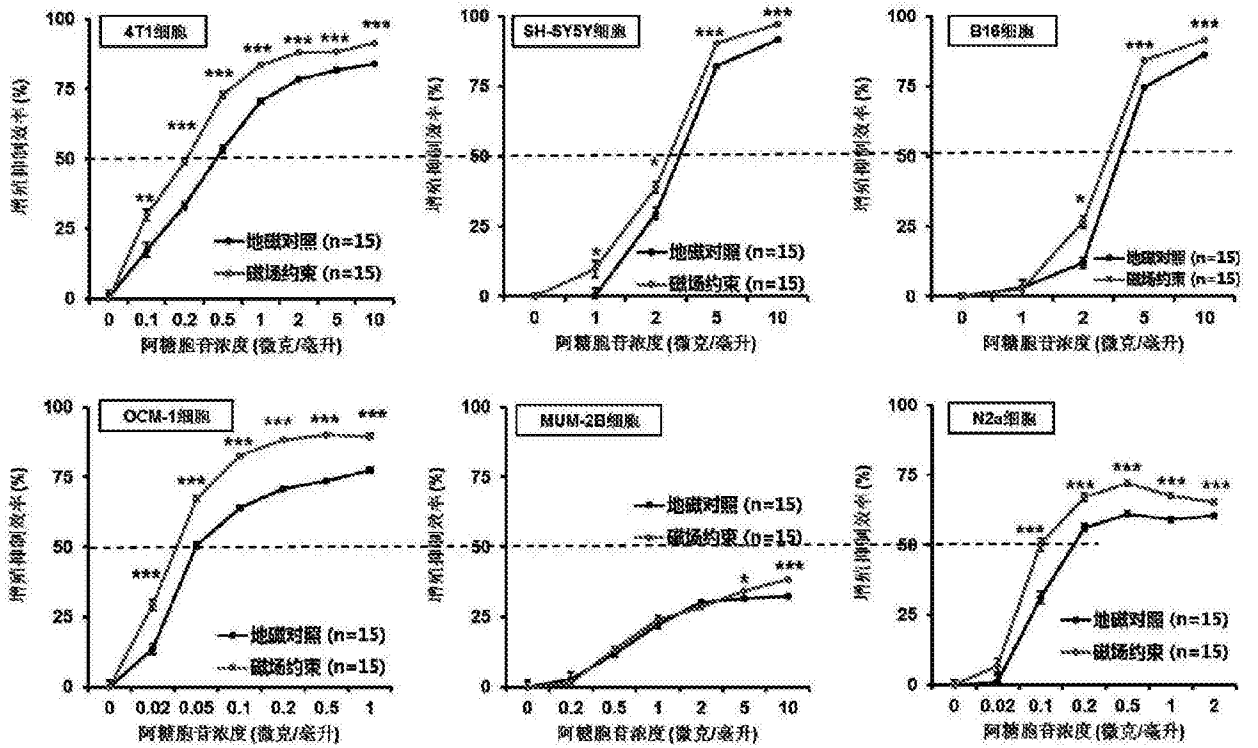


图4

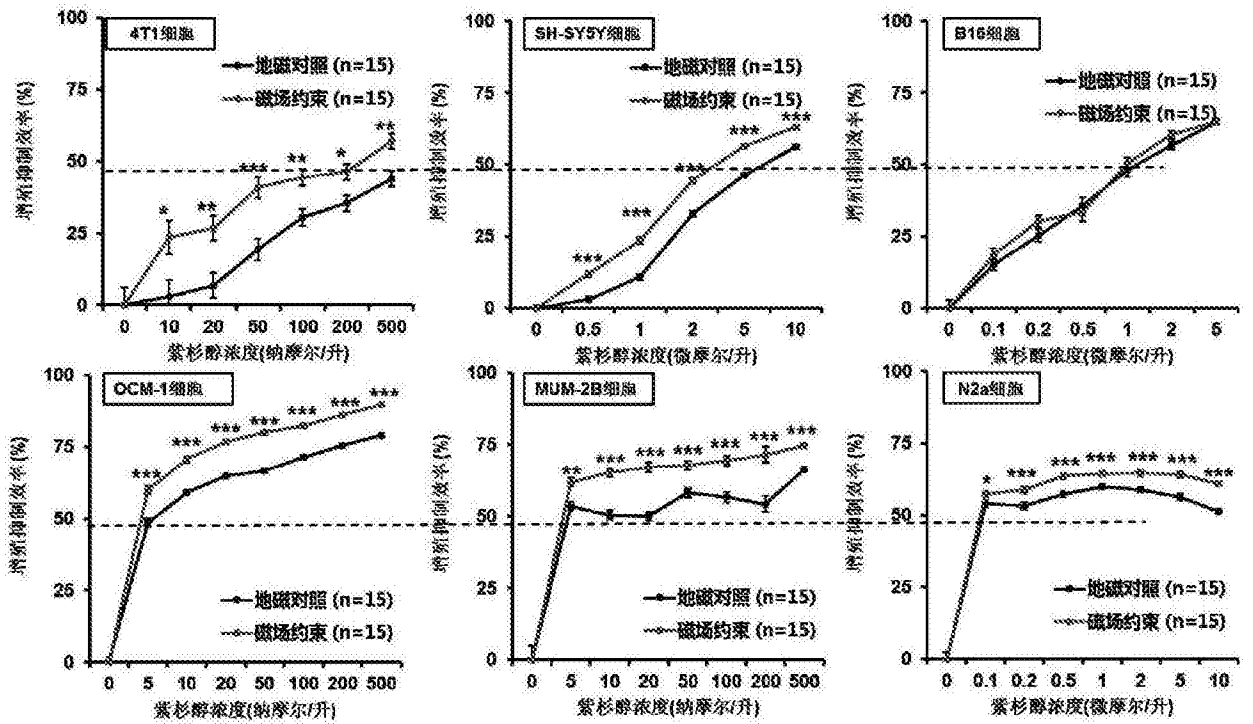


图5