(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 116893262 A
(43)申请公布日 2023.10.17

(21)申请号 202310449867.4

(22)申请日 2016.09.02

(30)优先权数据
62/213,288 2015.09.02 US
62/219,612 2015.09.16 US

(62)分案原申请数据
201680050875.X 2016.09.02

(71)申请人 赛达克斯制药股份有限公司
地址 美国马萨诸塞

(72)发明人 P·奥登特利希

(74)专利代理机构 中国贸促会专利商标事务所有限公司 11038
专利代理师 于巧玲

(51)Int.Cl.
G01N 33/50(2006.01)
G01N 33/569(2006.01)
G01N 33/574(2006.01)
A61K 31/4406(2006.01)
A61K 45/06(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)

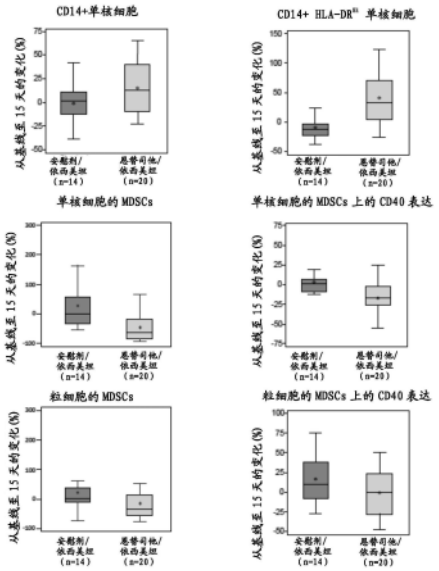
权利要求书2页 说明书32页 附图8页

(54)发明名称

用于组合疗法的患者的选择

(57)摘要

本文描述了用于选择用包括恩替司他和第二治疗剂的组合疗法治疗的癌症患者的方法。特别地,提供用于在恩替司他组合疗法的情形中检查作为的治疗指示物的非癌细胞型、髓源抑制细胞例如其为CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)的方法。



CN 116893262 A

1.一种选择用于包括恩替司他和第二治疗剂的组合疗法的患者的方法,包括:

获得来自所述患者的外周血样品,其中所述患者被诊断患有癌症;

测量外周血样品中髓源抑制细胞和外周血单核细胞的数量;和

如果髓源抑制细胞与外周血单核细胞的比例在1:200至1:4之间,则向所述患者施用所述组合疗法。

2.一种选择用于包括恩替司他和第二治疗剂的组合疗法的患者的方法,包括:

获得来自所述患者的外周血样品,其中所述患者被诊断患有癌症;

用第一结合剂接触一个或多个来自外周血样品的髓源抑制细胞,形成一个或多个第一结合剂-髓源抑制细胞复合物;

用第二结合剂接触一个或多个来自外周血样品的外周血单核细胞,形成一个或多个第二结合剂-外周血单核细胞复合物;

测量外周血样品中第一结合剂-髓源抑制细胞复合物和第二结合剂-外周血单核细胞复合物的比例;和

如果第一结合剂-髓源抑制细胞复合物与第二结合剂-外周血单核细胞复合物的比例在1:200至1:4之间,则向所述患者施用所述组合疗法。

3.一种提供患者中癌症的预后的方法,包括:

获得来自所述患者的外周血样品,其中所述患者被诊断患有癌症;

测量外周血样品中髓源抑制细胞和外周血单核细胞的数量,其中所述方法进一步包括

如果髓源抑制细胞与外周血单核细胞的比例在1:200至1:4之间,则向所述患者施用包括恩替司他和第二治疗剂的组合疗法。

4.一种选择用于包括恩替司他和第二治疗剂的组合疗法的患者的方法,包括:

获得来自所述患者的外周血样品,其中所述患者被诊断患有癌症;

测量外周血样品中CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞的数量;

测量外周血样品中CD-14阳性的细胞的数量;和

如果CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞与CD-14阳性细胞的比例在1:100至99:1之间,则施用所述组合疗法。

5.一种选择用于包括恩替司他和第二治疗剂的组合疗法的患者的方法,包括:

获得来自所述患者的外周血样品,其中所述患者被诊断患有癌症;

测量外周血样品中CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞的数量;

测量外周血样品中外周血单核细胞的数量;和

如果CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞与外周血单核细胞的比例在1:200至1:1之间,则施用所述组合疗法。

6.一种提供患者中癌症的预后的方法,包括:

获得来自所述患者的外周血样品,其中所述患者被诊断患有癌症;

测量外周血样品中CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞的数量;

测量外周血样品中CD-14阳性的细胞的数量,其中所述方法进一步包括,

如果CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞与CD-14阳性的细胞的比例在1:100至99:1之间,则向所述患者施用包括恩替司他和第二治疗剂的组合疗法。

7.一种提供患者中癌症的预后的方法,包括:

获得来自所述患者的外周血样品,其中所述患者被诊断患有癌症;

测量外周血样品中CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞的数量;

测量外周血样品中外周血单核细胞的数量,其中所述方法进一步包括

如果CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞与外周血单核细胞的比例在1:200至1:1之间,则向所述患者施用包括恩替司他和第二治疗剂的组合疗法。

用于组合疗法的患者的选择

[0001] 本申请是中国专利申请号201680050875.X,申请日2016年09月02日,发明名称为“用于组合疗法的患者的选择”的分案申请。

[0002] 相关申请

[0003] 本申请要求2015年9月2日提交的美国临时申请号62/213,288和2015年9月16日提交的62/219,612的权益和优先权,将其各自的全部内容通过援引并入本文。

背景技术

[0004] 癌症、肿瘤、肿瘤相关病症以及肿瘤性疾病状态是严重的并且通常威胁生命的病症。这些疾病和病症(其特征在于快速增殖的细胞生长)仍然是旨在鉴定在其治疗中有效的治疗剂的研究工作的对象。这样的药剂可延长患者的生存期、抑制与肿瘤相关的快速增殖的细胞生长或实现肿瘤的消退。

[0005] 组蛋白脱乙酰酶(HDAC)抑制剂(HDACi)为新出现的一类通过染色质重塑和基因表达调节促进血液和实体恶性肿瘤分化和凋亡的治疗剂。尽管已经研究了HDACi的抗肿瘤作用,但是HDACi对于癌症患者系统免疫的影响仍然不清楚。

[0006] 在多种适应症中需要癌症免疫疗法,例如提高抗肿瘤剂的有效性和减少和/或消除通常与常规治疗相关的副作用。

[0007] 发明简述

[0008] 在一个方面,本文提供一种选择用于包括恩替司他和第二治疗剂的组合疗法的患者的方法。所述方法包括获得来自所述患者的外周血样品,其中所述患者被诊断患有癌症,测量外周血样品中髓源抑制细胞和外周血单核细胞的数量;和如果髓源抑制细胞与外周血单核细胞的比例在1:200至1:4之间,则施用所述组合疗法。

[0009] 在另一个方面,本文提供一种选择用于包括恩替司他和第二治疗剂的组合疗法的患者的方法。所述方法包括获得来自所述患者的外周血样品,其中所述患者被诊断患有癌症,用第一结合剂接触一个或多个来自外周血样品的髓源抑制细胞,形成一个或多个第一结合剂-髓源抑制细胞复合物,用第二结合剂接触一个或多个来自外周血样品的外周血单核细胞,形成一个或多个第二结合剂-外周血单核细胞复合物,测量外周血样品中第一结合剂-髓源抑制细胞复合物和第二结合剂-外周血单核细胞复合物的比例,和如果第一结合剂-髓源抑制细胞复合物与第二次结合剂-外周血单核细胞复合物的比例在1:200至1:4之间,则施用所述组合疗法。

[0010] 在另一个方面,本文提供一种提供患者中癌症的预后的方法,包括获得来自所述患者的外周血样品,其中所述患者被诊断患有癌症,测量所述外周血样品中髓源抑制细胞和外周血单核细胞的数量,其中所述方法进一步包括如果髓源抑制细胞与外周血单核细胞的比例在1:200至1:4之间,则向所述患者施用包括恩替司他和第二治疗剂的组合疗法。

[0011] 在另一个方面,本文提供一种选择用于包括恩替司他和第二治疗剂的组合疗法的患者的方法,包括:获得来自所述患者的外周血样品,其中所述患者被诊断患有癌症;测量外周血样品中CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞的数量;测量外周血样品中CD-14阳

性的细胞的数量;和如果CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞与CD-14阳性的细胞的比例在1:100至99:1之间,则施用所述组合疗法。

[0012] 在另一个方面,提供一种选择用于包括恩替司他和第二治疗剂的组合疗法的患者的方法,包括:获得来自所述患者的外周血样品,其中所述患者被诊断患有癌症;测量外周血样品中CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞的数量;测量外周血样品中外周血单核细胞的数量;和如果CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞与外周血单核细胞的比例在1:200至1:1之间,则施用所述组合疗法。

[0013] 在仍然另一个方面,本文提供一种提供患者中癌症的预后的方法,包括:获得来自所述患者的外周血样品,其中所述患者被诊断患有癌症;测量外周血样品中CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞的数量;测量外周血样品中CD-14阳性的细胞的数量,其中所述方法进一步包括如果CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞与CD-14阳性的细胞的比例在1:100至99:1之间,则向所述患者施用包括恩替司他和第二治疗剂的组合疗法。

[0014] 还提供了一种提供患者中癌症的预后的方法,包括:获得来自所述患者的外周血样品,其中所述患者被诊断患有癌症;测量外周血样品中CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞的数量;测量外周血样品中外周血单核细胞的数量,其中所述方法进一步包括如果CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞与外周血单核细胞的比例在1:200至1:1之间,则向所述患者施用包括恩替司他和第二治疗剂的组合疗法。

[0015] 附图简述

[0016] 图1图解了在基线至用恩替司他和依西美坦(EE)的组合或依西美坦和安慰剂的组合治疗15天之间,在来自ENCORE 301试验所选择的患者得到的血液样品中,CD14+细胞数量、CD14+HLA-DR^{Hi}单核细胞数量、MDSC细胞数量、单核细胞MDSC上的CD40表达、粒细胞MDSC细胞数量和单核细胞MDSC上CD40表达的百分比变化。

[0017] 图2图解了在乳腺癌患者中恩替司他增加CD14+单核细胞上HLA-DR表达。(A)用于分析乳腺癌患者的PBMC中CD14+单核细胞(左图)、CD14+HLA-DR^{Hi}单核细胞(红色方框,右上图)和CD14+HLA-$DR^{low/neg}$单核细胞(蓝色方框,右下图)的门控策略。初始门控位于单个活的CD45+细胞上。(B)在依西美坦+安慰剂(EP)组(n=14)和依西美坦+恩替司他(EE)组(n=20)中,在单个活的$CD45^{+}$PBMC中$CD14^{+}$HLA-DR^{Hi}单核细胞从基线到C1D15的变化%。与EP组相比,EE组中CD14+HLA-DR^{Hi}单核细胞的水平显著增加(P=0.0004)。(C)在EP组(n=14)和EE组(n=20)中,CD14+单核细胞上HLA-DR表达(中值荧光强度,MFI)从基线到C1D15的变化%。EP组相比,EE组中CD14+单核细胞上HLA-DR的表达水平显著增加(P=0.015)。(D)体外CD14+单核细胞上HLA-DR表达。用DMSO或恩替司他(0.5μM)培养新鲜PBMC两天。左图显示用DMSO(蓝色条带图)或用恩替司他(红色条带图)培养的CD14+单核细胞上HLA-DR表达的代表性的条带图(histogram)。黑色条带图显示同型对照。右图显示用DMSO或恩替司他培养的CD14+单核细胞上HLA-DR表达水平的差异。每条线表示不同的健康供体(n=8,P=0.008)。中值荧光强度,MFI。

[0018] 图3图解了在乳腺癌患者中恩替司他降低单核细胞的MDSC和粒细胞的MDSC。(A)用于分析乳腺癌患者的PBMC中MDSC表型的门控策略。初始门控位于单个活的CD45+细胞上。谱系(CD3、CD19、CD56)$^{-}$HLA-$DR^{-}$$CD11b^{+}$$CD33^{+}$细胞定义为$Lin^{-}$MDSC。$Lin^{-}$MDSCs进一步被分为单核细胞的MDSCs($Lin^{-}$HLA-$DR^{-}$$CD11b^{+}$$CD33^{+}$$CD14^{+}$细胞)和未成熟的MDSCs($Lin^{-}$HLA-$DR^{-}$$CD11b^{+}$

$CD33^{+}CD14^{-}$细胞)。$CD14^{-}CD11b^{+}CD33^{+}$细胞定义为粒细胞的MDSCs。(B)在依西美坦+安慰剂(EP)组(n＝14)和依西美坦+恩替司他(EE)组(n＝20)中,在单个活的CD45+PBMC中单核细胞MDSC从基线到C1D15的变化％。与EP组相比,EE组中单核细胞MDSC的水平显著降低(P＝0.002)。(C)在EP(n＝14)和EE组(n＝20)中,在单个活的CD45+PBMC中粒细胞的MDSC从基线到C1D15的变化％。与EP组相比,EE组中粒细胞MDSC的水平显著降低(P＝0.029)。

[0019] 图4图解了在乳腺癌患者中恩替司他降低了MDSC上的CD40表达。(A)在依西美坦+安慰剂(EP)组(n＝14)和依西美坦+恩替司他(EE)组(n＝20)中,在单核细胞的MDSC上CD40表达(MFI)从基线到与C1D15的变化。与EP组相比,EE组中单核细胞的MDSC上的CD40的水平显著降低(P＝0.011)。(B)在EP组(n＝14)和EE组(n＝20)中,在粒细胞的MDSC上CD40表达(MFI)从基线到C1D15的变化。与EP组相比,EE组中粒细胞的MDSC上的CD40的水平没显示出统计学显著的降低(P＝0.22)。(C)MDSC的绝对活细胞计数(上图,单核细胞的MDSC;下图,粒细胞的MDSC)。用IL-6(10ng/ml)和GM-CSF(10ng/ml)培养新鲜的PBMCs(2×10^{6}PBMCs/孔)。在第5天,加入DMSO或恩替司他(0.5μM),并培养细胞3-4天。每条线代表不同的健康供体(n＝7;单核细胞的MDSC,P＝0.004;粒细胞的MDSC,P＝0.004)。(D)单核细胞的MDSC(红线)、粒细胞的MDSC(蓝线)和谱系细胞(黑线)中死细胞染色-阳性细胞的百分比。用IL-6和GM-CSF培养新鲜的PBMC(2×10^{6}PBMC/孔),然后加入DMSO或恩替司他(0.5μM)两天或三天,然后收集细胞,并用LIVE/DEAD Fixable Aqua Dead Cell Stain和抗体染色。计算每个群(单核细胞的MDSC、粒细胞的MDSC和谱系细胞)之间死细胞染色-阳性细胞的百分比。显示平均值±SD(n＝7)。尽管谱系死细胞的百分比没有提高,但是恩替司他提高了死的单核细胞MDSC和死的粒细胞MDSC的百分比。单核细胞的MDSC,P＝0.016;粒细

[0020] +++

[0021] 胞的MDSCs,P＝0.016;谱系细胞(CD3,CD19或CD56),P＝0.7。

[0022] 图5图解了用于分析乳腺癌患者的PBMC中T-细胞亚型的门控策略。(A)初始门控位于单个活细胞上。将$CD4^{+}$T-细胞进一步分成Tregs

[0023] -+hi+-+-+-

[0024] (CD8CD4CD25Foxp3细胞)和Foxp3CD4T-细胞(CD8CD4Foxp3细

[0025] -+

[0026] 胞)。(B)评价$CD8^{+}$T-细胞、Foxp3CD4T-细胞和Tregs的免疫检查点受体的表达。显示PD-1(左)、CTLA-4(中间)和TIM-3(右)的代表性的条带图。

[0027] 详细说明

[0028] 选择用于组合疗法的癌症患者的常规方法取决于按照组织学或分子分析评价癌症。本发明公开内容提供了选择用于恩替司他和第二治疗剂的组合疗法的患者的方法,其取决于得自癌症患者的生物样品中非肿瘤髓源抑制细胞的水平,例如CD14-阳性的和HLA-DR-(lo/阴性的)那些细胞。

[0029] 在一个方面,本公开内容涉及一种基于从患者收集的外周血样品中测量的髓源抑制细胞和外周血单核细胞的比例选择用于包括恩替司他和第二治疗剂的组合疗法的患者的方法,其中如果髓源抑制细胞与外周血单核细胞的比例在1:200至1:4之间,则施用所述组合疗法。在另一个方面,本文提供一种基于从患者收集的外周血样品中测量的髓源抑制细胞-第一结合剂复合物和外周血单核细胞-第二结合剂复合物的比例选择用于包括恩替

司他和第二治疗剂的组合疗法的患者的方法，其中所述复合物是通过分别用第一和第二结合剂接触髓源抑制细胞和外周血单核细胞形成的，并且其中如果髓源抑制细胞-第一结合剂复合物与外周血单核细胞-第二次结合剂复合物的比例在1:200至1:4之间则施用所述组合疗法。在另一个方面，进一步提供一种基于从患者收集的外周血样品中测量的髓源抑制细胞和外周血单核细胞的比例提供患者中癌症的诊断和/或预后的方法，其中所述方法进一步包括如果髓源抑制细胞与外周血单核细胞的比例在1:200至1:4之间，则施用包括恩替司他和第二治疗剂的组合疗法。

[0030] 在仍然另一个方面，本文提供一种选择用于包括恩替司他和第二治疗剂的组合疗法的患者的方法，包括：获得来自所述患者的外周血样品，其中所述患者被诊断患有癌症；测量外周血样品中CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞的数量；测量外周血样品中CD-14阳性的细胞的数量；和如果CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞与CD-14阳性的细胞的比例在1:100至99:1之间，则施用所述组合疗法。在另一个方面，提供一种选择用于包括恩替司他和第二治疗剂的组合疗法的患者的方法，包括：获得来自所述患者的外周血样品，其中所述患者被诊断患有癌症；测量外周血样品中CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞的数量；测量外周血样品中外周血单核细胞的数量；和如果CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞与外周血单核细胞的比例在1:200至1:1之间，则施用所述组合疗法。在仍然另一个方面，本文提供一种提供患者中癌症的预后的方法，包括：获得来自所述患者的外周血样品，其中所述患者被诊断患有癌症；测量外周血样品中CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞的数量；测量外周血样品中CD-14阳性的细胞的数量；其中所述方法进一步包括，如果CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞与CD-14阳性的细胞的比例在1:100至99:1之间，则向所述患者施用包括恩替司他和第二治疗剂的组合疗法。在另一个方面，本文提供一种提供患者中癌症的预后的方法，包括：获得来自所述患者的外周血样品，其中所述患者被诊断患有癌症；测量外周血样品中CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞的数量；测量外周血样品中外周血单核细胞的数量，其中所述方法进一步包括，如果CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞与外周血单核细胞的比例在1:200至1:1之间，则向所述患者施用包括恩替司他和第二治疗剂的组合疗法。

[0031] 在某些实施方案中，用抗凝血药处理外周血样品。在某些实施方案中，抗凝血药为EDTA或肝素。在某些实施方案中，测量外周血样品中CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞的数量是通过流式细胞术进行的。在某些实施方案中，通过细胞表面标记物鉴定外周血单核细胞群。在某些实施方案中，所述细胞表面标记物为CD3、CD14、CD19、CD56和HLA-DR的至少一种。在某些实施方案中，CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞与CD-14阳性的细胞的比例在1:50至99:1之间。在某些实施方案中，CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞与CD-14阳性的细胞的比例在1:20至99:1之间。在某些实施方案中，CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞与CD-14阳性的细胞的比例在1:10至99:1之间。在某些实施方案中，CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞与外周血单核细胞的比例在1:5至99:1之间。在某些实施方案中，CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞与外周血单核细胞的比例在1:50至1:4之间。在某些实施方案中，CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞与外周血单核细胞的比例在1:20至1:4之间。在某些实施方案中，CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞与外周血单核细胞的比例在1:10至1:4之间。在某些实施方案中，CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性

的)细胞与外周血单核细胞的比例在1:5至1:4之间。

[0032] 在某些实施方案中,口服施用恩替司他。在某些实施方案中,首先施用恩替司他。在某些实施方案中,每周施用恩替司他。在某些实施方案中,每两周施用恩替司他。在某些实施方案中,恩替司他的施用剂量为5mg。在某些实施方案中,恩替司他的每周施用剂量为5mg。在某些实施方案中,恩替司他的每两周施用剂量为5mg。

[0033] 在某些实施方案中,第二治疗剂为抗-PD-1抗体。在某些实施方案中,所述抗-PD-1抗体为派姆单抗(pembrolizumab)。在某些实施方案中,所述抗-PD-1抗体为纳武单抗(nivolumab)。在某些实施方案中,癌症为肺癌。在某些实施方案中,所述肺癌为非小细胞肺癌、鳞状细胞癌或大细胞癌。在某些实施方案中,所述癌症为黑素瘤。在某些实施方案中,所述黑素瘤为转移性黑素瘤。在某些实施方案中,第二治疗剂为抗-PD-L1抗体。在某些实施方案中,所述抗-PD-L1抗体为MPDL3280A。在某些实施方案中,第二治疗剂是依西美坦。在某些实施方案中,癌症为乳腺癌。在某些实施方案中,所述第二治疗剂为MPDL3280A,且所述乳腺癌为三阴性乳腺癌。在某些实施方案中,第二治疗剂为依西美坦且所述乳腺癌为激素受体阳性乳腺癌。在某些实施方案中,通过输注施用所述抗-PD-1抗体或抗-PD-L1抗体。在某些实施方案中,口服施用依西美坦。

[0034] 为了便于理解本文所述公开内容,一些术语定义如下。

[0035] 如本文使用的“异常的细胞生长”指不依赖于正常调节机制(例如,丧失接触抑制)的细胞生长,包括正常细胞的异常生长和异常细胞的生长。

[0036] 如本文所述的“瘤形成”是异常的、未调节的和紊乱的细胞增殖,其与正常细胞的区别在于自发生长和体细胞突变。随着肿瘤细胞生长和分裂,它们将它们的基因突变和增殖特性传递给后代细胞。肿瘤(neoplasm)或肿瘤(tumor)是肿瘤细胞的累积。在某些实施方案中,所述肿瘤可以是良性的或恶性的。

[0037] 如本文使用的“转移”指肿瘤细胞经由淋巴管或血管扩散。转移还指肿瘤细胞通过直接蔓延迁移穿过浆膜腔或蛛网膜下腔或其他空间。通过转移过程,肿瘤细胞向身体的其他区域的迁移在远离初始出现部位的区域形成肿瘤。

[0038] 如本文讨论的“血管发生”在肿瘤形成和转移中是显著的。已发现血管生成因子与若干实体瘤比如横纹肌肉瘤、视网膜母细胞瘤、尤因肉瘤、神经母细胞瘤和骨肉瘤相关。在无血液供应来提供养分并除去细胞废物的情况下,肿瘤无法扩张。其中血管发生很重要的肿瘤包括实体瘤,比如肾细胞癌、肝细胞癌,和良性肿瘤比如听神经瘤和神经纤维瘤。血管发生与血液肿瘤比如白血病相关。据信血管发生在引起白血病的骨髓异常中起作用。阻止血管发生可以使癌性肿瘤的生长和由于肿瘤的存在而导致的对受试者的损伤停止。

[0039] 术语“受试者”指动物,包括但不限于灵长类(例如,人)、牛、绵羊、山羊、马、狗、猫、兔、大鼠或小鼠。术语“受试者”和“患者”在本文提及例如哺乳动物受试者比如人类受试者时可互换地使用。

[0040] 术语“治疗”指包括减轻或消除障碍、疾病或病症;或与障碍、疾病或病症相关的一种或多种症状;或减轻或消除障碍、疾病或病症本身的病因。

[0041] 术语“治疗有效量”指当施用时,足以预防所治疗的障碍、疾病或病症的一种或多种症状的发展或减轻一定程度的化合物的量。术语“治疗有效量”还指足以引发研究者、兽医、医生或临床医师所寻找的细胞、组织、系统、动物或人的生物学或医学应答的化合物的

量。

[0042] 术语“可药用载体”、“可药用赋形剂”、“生理学可接受的载体”或“生理学可接受的赋形剂”指可药用物质、组合物或媒介物，比如液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂、溶剂或包封材料。每种组分从与药物制剂的其他成分相容的意义上来说必须是“可药用的”。它还必须适用于与人和动物的组织或器官接触而无过度的毒性、刺激、变应性应答、免疫原性或其他问题或并发症，并与合理的受益/风险比相称。参见Remington:The Science and Practice of Pharmacy,21st Edition;Lippincott Williams&Wilkins:Philadelphia,PA,2005;Handbook of Pharmaceutical Excipients,第5版;Rowe et al.,Eds.,The Pharmaceutical Press and the American Pharmaceutical Association:2005;和Handbook of Pharmaceutical Additives,第3版;Ash and Ash Eds.,Gower Publishing Company:2007;Pharmaceutical Preformulation and Formulation,Gibson Ed.,CRC Press LLC:Boca Raton,FL,2004)。

[0043] 术语“药物组合物”指本文公开的化合物与其他化学组分比如稀释剂或载体的混合物。所述药物组合物促进了向生物体施用所述化合物。本领域中存在的多种施用化合物的技术包括但不限于口服、注射、气雾剂、胃肠外和局部施用。药物组合物还可通过将化合物与无机酸或有机酸比如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸、甲磺酸、乙磺酸、对甲苯磺酸、水杨酸等反应而获得。

[0044] 术语“lo/阴性的”当用于描述细胞表面标记物在细胞上的表达时，表示相对于未染色的对照细胞细胞表面标记物在所述细胞上的表达水平低至不存在。表达水平低至不存在可以为相对于未染色的对照细胞增加约1倍、增加约2倍、增加约3倍、增加约4倍、增加约5倍、增加约6倍、增加约7倍、增加约8倍、增加约9倍、增加约10倍，可以为增加约11倍、增加约12倍、增加约13倍、增加约14倍、增加约15倍、增加约16倍、增加约17倍、增加约18倍、增加约19倍或增加约20倍。表达水平低至不存在可以为增加约1倍至增加约2倍、增加约2倍至增加约3倍、增加约3倍至增加约4倍、增加约4倍至增加约5倍、增加约5倍至增加约6倍、增加约6倍至增加约7倍、增加约7倍至增加约8倍、增加约8倍至增加约9倍、增加约9倍至增加约10倍、增加约10倍至增加约11倍、增加约11倍至增加约12倍、增加约12倍至增加约13倍、增加约13倍至增加约14倍、增加约14倍至增加约15倍、增加约15倍至增加约16倍、增加约16倍至增加约17倍、增加约17倍至增加约18倍、增加约18倍至增加约19倍或增加约19倍至增加约20倍。

[0045] 癌症、肿瘤、肿瘤相关的障碍和肿瘤疾病是严重的且通常是危及生命的病症。以快速增殖细胞生长为特征的这些疾病和障碍，继续成为针对鉴别在其治疗中有效的治疗剂的研究工作的对象。这样的试剂可延长患者的生存期，抑制与肿瘤相关的快速增殖的细胞生长，或影响肿瘤消退。

[0046] HDAC抑制剂是新出现的一类通过染色质重塑和基因表达调节促进血液和实体恶性肿瘤分化和凋亡的治疗剂。已经鉴定了几种HDAC抑制剂，包括苯甲酰胺类(恩替司他)、短链脂肪酸类(即苯基丁酸钠)；异羟肟酸类(即辛二酰苯胺异羟肟酸和曲古抑菌素A)；含有2-氨基-8-氧代-9,10-环氧-癸酰基部分(即诱导蛋白A,trapoxin A)的环状四肽类和不含2-氨基-8-氧代-9,10-癸酰基部分的环肽类(即FK228)。恩替司他是在多种类型的实体瘤和血液癌症中进行临床研究的苯甲酰胺类HDAC抑制剂。恩替司他被快速吸收并具有约100小时

的半衰期,并且重要的是,施用恩替司他后组蛋白乙酰化的变化持续了数周。

[0047] 不受任何理论的束缚,预期髓源抑制细胞阻断效应物抗-肿瘤T-细胞的活性和促进免疫逃避。乳腺癌患者中的髓源抑制细胞增加,患有转移性疾病的患者中存在的循环髓源抑制细胞的水平最高。在转移性乳腺癌的情形中,在具有姑息性系统疗法之后高于外周血液髓源抑制细胞的平均水平的患者具有较短的总生存期。在乳腺癌中辅助化疗的情形中,已经显示循环髓源抑制细胞的水平降低与临床功效的提高有关。在乳腺癌的小鼠模型中的功能研究发现髓源抑制细胞的耗尽或灭活经由抗-肿瘤免疫应答的发展减少了肿瘤生长和进展。

[0048] 不受任何理论的束缚,预期耗尽髓源抑制细胞可经由针对肿瘤产生免疫应答起治疗癌症的作用。

[0049] 髓源抑制细胞

[0050] 髓源抑制细胞为抑制天然免疫和适应性免疫的未成熟骨髓细胞的异质群体。髓源抑制细胞可经由包括耗尽精氨酸、产生活性氮和氧簇和分泌抑制性细胞因子的机制抑制天然免疫和适应性免疫。

[0051] 髓源抑制细胞通常表达细胞表面标记物CD33和CD11b,并且减少HLA-DR(HLA-DR lo/阴性的)的表达。髓源抑制细胞的非限制性实例包括单核髓源抑制细胞(M-MDSCs)和多形核髓源抑制细胞(PMN-MDSCs)。M-MDSCs表达细胞表面标记物CD14,是HLA-DR lo/阴性的,并且在人类中不会表达细胞表面标记物CD15。PMN-MDSCs不会表达细胞表面标记物CD14,并且在人类中表达细胞表面标记物CD15。

[0052] 髓源抑制细胞引起免疫活化细胞比如T淋巴细胞、自然杀伤(NK)细胞和树突细胞(DCs)的抑制。相反,髓源抑制细胞可被刺激为免疫抑制细胞比如T_h2 T淋巴细胞、T调节细胞(T_{reg})和肿瘤相关巨噬细胞(TAMs)。髓源抑制细胞也可以分泌细胞因子比如IL-6,其促进MDSC扩张。髓源抑制细胞的扩张可导致T淋巴细胞存活所需的必需氨基酸比如精氨酸和半胱氨酸的分离。髓源抑制细胞经由产生活性氧簇比如氮氧化物(其对于T淋巴细胞具有强毒性)抑制免疫性。

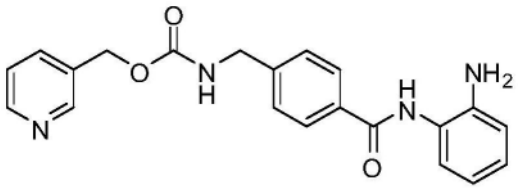
[0053] 组蛋白脱乙酰基酶

[0054] HDAC是包括至少十八种酶的家族,分为三类(I类、II类和III类)。I类HDAC包括但不限于HADC1、2、3和8。I类HDAC可在细胞核中被发现并被认为与转录控制阻遏物有关。II类HDAC包括但不限于HDAC 4、5、6、7和9,且可在细胞质以及细胞核中被发现。III类HDAC被认为是NAD依赖性蛋白质,并且包括但不限于Sirtuin蛋白家族成员。Sirtuin蛋白的非限制性实例包括SIRT1-7。如本文使用的,术语“选择性HDAC”指与所有三个HDAC类不相互作用的HDAC抑制剂。

[0055] HDAC抑制剂

[0056] HDAC抑制剂可以大致分为泛HDAC抑制剂和选择性HDAC抑制剂。尽管已知的HDAC抑制剂具有很大的结构多样性,但它们具有共同的特征:与酶活性位点相互作用的部分,以及位于通向活性位点的通道内的侧链。这可以用氧肟酸盐比如SAHA看出,其中氧肟酸基被认为与活性位点相互作用。至于缩肽类,据信二硫键的细胞内还原产生连接到4-碳烯基链的游离巯基(其与活性位点相互作用)。HDAC抑制剂之间的差异在于它们与HDAC通道边缘的相互作用,HDAC通道边缘位于相对于活性位点的通道的另一端。正是在HDAC抑制剂和通道边

缘之间的这种相互作用，至少部分上，被认为是解释了一些观察到的泛HDAC抑制剂(比如SAHA)和选择性HDAC抑制剂(比如缩肽)之间的HDAC选择性差异。特别优选的HDAC抑制剂是恩替司他。恩替司他的化学名称为N-(2-氨基苯基)-4-[N-(吡啶-3-基)甲氧基羰基氨基-甲基]-苯甲酰胺，其化学结构显示如下。

[0057] 

恩替司他的化学结构

[0058] 程序性细胞死亡-1(PD-1)

[0059] PD-1是T细胞调节剂CD28家族成员的细胞表面受体，在免疫球蛋白超家族受体内。人PD-1基因位于染色体2q37上，全长PD-1cDNA编码与鼠科动物PD-1具有60％的同源性的具有288个氨基酸残基的蛋白质。它在胸腺发育期间存在于CD4-CD8-(双阴性)胸腺细胞上，且在长期抗原暴露后，在成熟造血细胞比如T和B细胞、NKT细胞和单核细胞中活化后表达。

[0060] 不受任何理论的束缚，预期配体PD-L1结合PD-1下调效应物抗-肿瘤T-细胞的活性，且促进免疫逃避。这得到了在包括胃癌、卵巢癌、肺癌和肾癌的几个肿瘤类型中PD-1/PD-L1的表达和预后不良之间的相关性发现的支持。已经报道了在黑素瘤中PD-1主要地由肿瘤浸润性T淋巴细胞表达。

[0061] PD-1特异性抗体对PD-1阻断的体外研究显示，增强了细胞毒性T细胞对黑素瘤特异性抗原的应答，包括增加IFN-γ分泌抗原特异性细胞的频率。

[0062] 不受任何理论的约束，预期靶向PD-1可以作为癌症的有效治疗的策略。

[0063] 临床上靶向PD-1的主要方法是通过基因工程化抑制PD-1或PD-L1的功能单克隆抗体的发展。

[0064] 也显示出PD-L1结合B7-1(CD80)，一种还抑制T-细胞增殖和细胞因子产生的相互作用;然而，PD-L1:PD-1和PD L1:B7-1途径在癌症中的确切相对贡献仍然不清楚。目前研究中的PD-1-靶向试剂同时抑制两种途径。然而，由于PD-1和B7-1的结合位点是相邻的而不是重叠的，可以潜在地研究特异性靶向一种或另一种的试剂。

[0065] 癌细胞驱动PD-L1在其表面上高水平表达，允许抑制性PD-1受体在浸润肿瘤微环境、有效地关闭那些细胞(switching those cells off)的任何T细胞上活化。实际上，已经证实在许多不同的癌症类型(例如，黑素瘤[40％-100％]、NSCLC[35％-95％]和多发性骨髓瘤[93％])中PD-L1的表达水平上调，高水平的PD-L1表达与临床疗效差有关。而且，肿瘤-浸润性T细胞已经显示出比浸润正常组织的T细胞表达显著更高水平的PD-1。据认为肿瘤微环境可分泌促炎细胞因子(包括干扰素-γ(IFNγ))，以上调PD-1在肿瘤-浸润性T细胞上的表达，确保其可以响应PD-L1在所述肿瘤上高水平的表达。

[0066] 派姆单抗

[0067] 派姆单抗是一种人源化的单克隆IgG4抗PD-1抗体，其由移植到具有用于稳定化的工程化的Fc区域的人IgG4免疫球蛋白分子上的高亲和力的小鼠抗PD-1衍生的可变区组成。已经在多种肿瘤类型的动物模型中证实了临床前抗肿瘤活性。在患有晚期难治性恶性肿瘤

的患者中，最初和4周之后及然后每两周静脉内给予剂量水平1、3和10mg/kg进行人类首次、I期剂量递增研究。观察到的最大毒性为2级瘙痒，并且没有观察到任何药物相关的3级或更大的不良事件(AE)。因此，没有达到最大耐受剂量。半衰期为13.6-21.7天，且显然不是剂量相关的。四名患者具有一些肿瘤退化。然后，将该研究扩大，在非随机的群组中，患者每2周接受10mg/kg的派姆单抗或每3周接受2或10mg/kg的派姆单抗；总共，有135名患有黑素瘤的患者。入选的包括48名患者，其之前接受易普利姆玛(ipilimumab)，但是没有经历严重的免疫相关不良事件(irAE)。尽管79％的患者患有某些AE，但是仅有13％患有重度(3级或4级)药物相关的毒性，包括皮疹或瘙痒、疲劳、腹泻、腹痛和肝功能失常。最高比率的严重毒性(23％)出现在接受最高剂量(每2周10mg/kg)的那些中，与之相对，在较小剂量强度群中<10％。自身免疫性质的潜在的AE包括肺炎、肾损伤、肝炎、腹泻、甲状腺功能减退、甲状腺功能亢进和肾上腺功能不全的孤立实例。基于免疫相关应答标准的总体客观应答率(ORR)为38％(117中的44)，8名另外的患者感受到未证实的应答。总77％具有一定程度的肿瘤退化，包括8名患者的疾病稳定超过24周。大部分的应答是由在第12周首次放射学评价的时间确定的。中位无进展生存期超过7个月。应答肿瘤的活组织检查显示被CD8+T细胞稠密浸润。之前的易普利姆玛暴露对于功效或毒性结果似乎没有明显的影响。

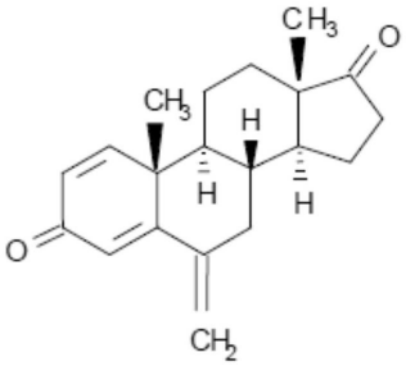
[0068] MPDL3280A

[0069] MPDL3280A是一种含有工程化可结晶片段(Fc)结构域的人抗-PD-L1 mAb，其被设计成通过最小化抗体-依赖性细胞的细胞毒性(ADCC)优化功效和安全性。不受任何特定理论的束缚，应当理解该结构允许抑制PD-1/PD-L1相互作用，同时使有效的抗肿瘤免疫应答所需的活化T细胞的ADCC-介导的耗尽最少。

[0070] 已经在患有局部晚期或转移性实体瘤的患者的1期试验中评价了MPDL3280A。迄今为止，已经募集了总共175名患者。以≤1、3、10、15和20mg/kg的递增剂量施用作为单一试剂的抗体达127天的中值持续时间。还包括了两个扩展群组(Expansion cohorts)的结果：一个群组85名患者(53名患者用于评价功效)患有鳞状或非鳞状NSCLC，一个群组45名转移性黑素瘤患者(35名患者用于评价功效)。在两个群组中，每3周施用≤1、10、15和25mg/kg MPDL3280A的剂量至多1年。MPDL3280A表现出持久的应答且是良好耐受的；将功效数据概括在表1中。在NSCLC群组的85名患者中，55％用至少三种之前的治疗剂强化预治疗(Heavily pretreated)，并且81％为吸烟者或既往吸烟者，19％是从未吸烟者。在鳞状细胞NSCLC中，24周PFS速率为44％，在非鳞状细胞NSCLC中，其为46％。

[0071] 依西美坦

[0072] 依西美坦是一种用于治疗乳腺癌的药物。其是一种被称为芳香酶抑制剂的药物类型的成员。一些乳腺癌需要激素生长。那些癌症，被称为激素受体阳性乳腺癌，表达雌激素受体(ER)或孕激素受体(PR)，因此被称为ER-阳性或PR-阳性乳腺癌。绝经前女性雌激素的主要来源是卵巢，而在绝经后女性中，大部分身体雌激素是由外周组织(比如脂肪乳腺组织和脑中)中的芳香酶经由将雄激素转化成雌激素产生的。依西美坦是一种除了外科手术或放射之外用于绝经后女性中ER-阳性乳腺癌的芳香酶抑制剂。依西美坦是一种不可逆口服甾体芳香酶灭活剂，结构上与天然底物雄烯二酮有关。其起芳香酶的假底物作用，并且被加工成不可逆地结合芳香酶活性位点以阻断芳香酶自杀抑制的中间体。

[0073] 

依西美坦的化学结构

[0074] 依西美坦指示用于接受两年至三年他莫昔芬的患有ER-阳性早期乳腺癌的绝经后女性的辅助治疗。受试者转换为完成总共连续5年的辅助激素疗法。依西美坦也指示用于治疗其在他莫昔芬治疗后疾病进展的绝经后女性的晚期乳腺癌。在治疗患有早期ER-阳性或未知受体状况乳腺癌的绝经后女性中，每日口服25mg的依西美坦两至三年的辅助治疗通常比五年连续他莫昔芬辅助治疗更有效。在绝经后女性的早期乳腺癌的主要辅助情形中，每日25mg的依西美坦也是有效的。

[0075] 肺癌

[0076] 在美国和全世界，肺癌是女性和男性癌症死亡的主要原因。肺癌已经超过了乳腺癌，成为女性癌症死亡的主要原因。2014年，在美国，估计有158,040人死于肺癌，这比因结肠癌和直肠癌、乳腺癌和前列腺癌加在一起死亡人数还要多。虽然早期诊断出肺癌的存活率较高，约49％的人活了五年或更长时间，但是在确诊5年之后，那些经诊断肺癌已经扩散到身体其他部位的那些患者中只有约2％还活着。

[0077] 当正常细胞经历一个转变，导致它们生长和繁殖不受控制，癌症就发生了。细胞形成与其出现的周围组织不同的肿块或肿瘤。肿瘤是危险的，因为它们从健康细胞中摄取氧气、营养物质和空间，并且因为它们侵入和破坏或降低正常组织功能的能力。

[0078] 大多数肺肿瘤是恶性的。这意味着它们会侵入和破坏其周围的健康组织，并且可以传遍整个身体。肿瘤可以扩散到附近的淋巴结或通过血液扩散到其他器官。这个过程称为转移。当肺癌转移时，肺中的肿瘤被称为原发性肿瘤，并且身体其他部位的肿瘤被称为继发性肿瘤或转移性肿瘤。

[0079] 肺中的一些肿瘤是从身体其它地方的癌症转移的。肺是转移的常见部位。如果是这种情况，癌症不被认为是肺癌。例如，如果前列腺癌经由血液传播到肺部，则它是肺中的转移性前列腺癌(继发性癌症)，并不称为肺癌。

[0080] 肺癌包括一组不同类型的肿瘤。肺癌通常分为两个主要组，约占所有病例的95％。分组是基于构成癌症的细胞类型。两种主要类型的肺癌的特征在于当在显微镜下观察时肿瘤的细胞大小。它们被称为小细胞肺癌(SCLC)和非小细胞肺癌(NSCLC)。NSCLC包括几种肿瘤亚型。SCLCs较不常见，但是其生长更快，并且比NSCLCs更可能转移。通常，当诊断出癌症时，SCLC已经扩散到身体的其他部位。约5％的肺癌是罕见的细胞类型，包括类癌瘤、淋巴瘤等。如本文使用的术语“肺癌”包括但不限于SCLC、NSCLC、类癌瘤、淋巴瘤及其各种亚型。

[0081] 髓源抑制细胞在肺癌中具有若干重要的功能。在临床前，小鼠模型证实髓源抑制

细胞和肺肿瘤在疾病开始和进展期间共同进化。在临床NSCLC中，大量循环髓源抑制细胞已经显示出与总存活率(overall survival)反相关。M-MDSC已经显示出产生活性氧簇、抑制T-细胞增殖和分泌干扰素-γ(IFN-γ)。在NSCLC中，循环髓源抑制细胞的水平及其活性提高与治疗反应反相关，并且与复发正相关。

[0082] 非小细胞肺癌

[0083] NSCLC是一种肺癌，不是小细胞癌(燕麦细胞癌)类型。术语“非小细胞肺癌”适用于各种类型的支气管癌(由支气管内壁产生)。特定类型的NSCLC的实例包括，但不限于腺癌、鳞状细胞癌和大细胞癌(即大细胞未分化癌)。

[0084] 腺癌是一种在器官的内壁或内表面形成的癌症。腺癌是最常见的肺癌类型，占肺癌所有病例的30%-40%。一种腺癌的亚型被称为支气管肺泡细胞癌，其在胸部X射线上产生肺炎样外观。

[0085] 鳞状细胞癌是一种开始于鳞状细胞的癌症。鳞状细胞是薄而扁平的细胞，其在显微镜下看起来像鱼鳞。鳞状细胞在形成皮肤表面、身体中空器官的内壁、以及呼吸道和消化道的通道的组织中被发现。鳞状细胞癌可能出现在这些组织的任何一个中。鳞状细胞癌是肺癌的第二大常见类型，占所有病例的30%。

[0086] 大细胞癌没有显示鳞状或腺体成熟的迹象。因此，当所有其他可能性被排除时，这些肿瘤通常被默认诊断。在活组织检查之前，这些肿瘤缺乏任何诊断特征来表明其诊断。它们倾向于快速增长，早期转移，并且与吸烟有很大关系。大细胞肿瘤通常体积大、笨重、界限分明、有广泛性出血和坏死的粉红灰色肿块。虽然它们通常有中央坏死，但它们很少有空洞。它们倾向于出现在中部到外周肺部区域。它们可能会在局部范围内扩展，以牵涉节段或亚段支气管。大细胞癌的一个突变体是巨细胞癌。这种亚型特别具有侵害性，预后非常差。这些肿瘤通常表现为大的外周肿块，并有局部坏死的部分。它们不牵涉大气道，除非直接延伸。大细胞癌占所有肺癌病例的10%-20%。

[0087] 黑素瘤

[0088] 黑素瘤是黑素细胞的恶性肿瘤，其是制造色素黑色素且来源于神经嵴的细胞。虽然大多数黑素瘤出现在皮肤中，但它们也可能来自粘膜表面或神经嵴细胞迁移到的其他部位，包括色素层(uveal tract)。眼色素层黑素瘤与皮肤黑素瘤的发生率、预后因素、分子特征和疗法显著不同。

[0089] 2014年，在美国，估计有9,710人死于黑素瘤，新病例的数量估计为76,100人。皮肤癌是美国诊断的最常见的恶性肿瘤，每年在200万人中诊断出350万例癌症。黑色瘤占皮肤癌的5%以下，但导致大多数死亡。过去四十年来，发病率一直在上升。老年男子风险最高；然而，黑素瘤是25至29岁的青年人中最常见的癌症，是15至29岁年龄段中第二大常见癌症。眼部黑素瘤是眼睛中最常见的癌症，每年诊断约2000例。

[0090] 黑素瘤主要发生在成年人中，超过50%的病例出现在表面上正常的皮肤区域。虽然黑素瘤可以发生在任何地方，包括在粘膜表面和眼色素层上，但是女性黑素瘤更常见于四肢，而在男性中，黑素瘤最常见于躯干或头颈部。

[0091] 预测受原发性肿瘤和转移性肿瘤的特征的影响。最重要的预测因素包括但不限于下述因素：黑素瘤侵袭的厚度或水平、有丝分裂指数(定义为每毫米有丝分裂)、主要部位的溃疡或出血、牵涉区域的淋巴结数、具有大转移和微转移的区别、全身转移、局部—非内脏

对肺与所有其他内脏部位、升高的血清乳酸脱氢酶水平。不受任何理论的约束，预期肿瘤浸润性淋巴细胞的存在可能是潜在的预测因素。

[0092] 已经显示髓源抑制细胞在黑素瘤中具有若干重要的临床相关性。在临床中，在恶性黑色素瘤中，循环M-MDSC和PMN-MDSC的水平与疾病负荷正相关。患有后期黑素瘤(3-4期)的患者具有更高水平的循环M-MDSC。在晚期黑素瘤中，M-MDSC的循环水平与总生存期反相关。在患有晚期黑素瘤的患者中，M-MDSC的循环水平与活化的抗原-特异性T淋巴细胞的水平降低进一步反相关。在用伊匹木单抗(ipilumimab)治疗的黑素瘤患者中，M-MDSC和PMN-MDSC的活化减少与治疗响应增强正相关。伊匹木单抗治疗也显示降低了循环PMN-MDSC的水平。

[0093] 乳腺癌

[0094] 乳腺癌是从乳腺组织发展的癌症。乳腺癌的症状可以包括乳腺块、乳腺形状的变化、皮肤凹痕、来自乳头的分泌液或皮肤的红色鳞状斑。在该疾病远端扩散的那些中，可能存在骨骼疼痛、淋巴结肿胀、呼吸困难或黄疸。乳腺癌的后果根据癌症类型、疾病范围和受试者年龄而变化。在世界范围，乳腺癌是女性的主要癌症类型，占所有病例的25％。在2012年，其导致168万病例且522,000例死亡。在发达国家，其更为常见，在女性中比在男性中更常见高达100倍。乳腺癌由若干分级体系进行分类。这些体系的每一种都可影响预后且可影响治疗。乳腺癌一般主要通过其组织学外观进行分类。大多数乳腺癌来源于上皮细胞内壁导管或小叶，这些癌症被分类为导管或小叶癌。原位癌是在特定组织隔室比如乳导管内的低级癌或癌前细胞的生长而没有侵入周围组织。相反，浸润癌不会将其自身限制在初始组织隔室中。

[0095] 使用TNM系统的乳腺癌分期是基于肿瘤的尺寸(T)，无论肿瘤是否扩散到相邻的淋巴结(N)，以及无论肿瘤是否转移(M)到更远的身体部分。较大尺寸、节扩散和转移具有较大级数和较差预后。主要阶段为0阶段、1-3阶段和4阶段。0阶段是癌前或标记病症，原位导管癌(DCIS)或原位小叶癌(LCIS)。1-3阶段处于乳腺或区域淋巴结之内。4期为具有较不利预后的转移性癌症。

[0096] 乳腺癌在其表面及其细胞质和细胞核中具有受体。化学信使比如激素结合受体，这导致细胞变化。乳腺癌细胞可具有或不可具有三个重要的受体：雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)和HER2。这导致乳腺癌分裂成激素受体-阳性乳腺癌或ER-/PR-阳性乳腺癌、HER2-阳性乳腺癌和三阴性乳腺癌，其对于ER、PR和HER2是阴性的。

[0097] 在乳腺癌中，髓源抑制细胞已经显示出具有若干重要的临床相关性。在乳腺癌的预诊断模型中，髓源抑制细胞与肿瘤尺寸正相关，且与T细胞反相关。在临床中，在转移性乳腺癌中，循环髓源抑制细胞的基线水平与疾病负载、转移性扩散和生存期减少相关。在HER2-阴性乳腺癌中，已经显示循环髓源抑制细胞的基线水平与对于辅助化疗的应答相关，水平增加指示化疗的应答较差。

[0098] 激素受体-阳性乳腺癌

[0099] 激素，比如雌激素和黄体酮，促进激素受体-阳性的癌症生长。约2/3的乳腺癌是激素受体-阳性的，因为它们含有激素雌激素(ER-阳性乳腺癌)或黄体酮(PR-阳性乳腺癌)的受体。由于这些乳腺癌依赖于激素生长，治疗剂被设计用于降低雌激素水平或中止乳腺癌细胞的雌激素活性。

[0100] 中止雌激素活性的治疗剂的非限制性实例包括他莫昔芬、托瑞米芬和氟维司群。他莫昔芬阻断雌激素结合乳腺癌细胞中的雌激素受体。虽然他莫昔芬在乳腺细胞中起抗-雌激素作用,但是其在其它组织如子宫和骨骼中起雌激素作用。因为其在某些组织中起雌激素作用,但是在其它组织中起抗雌激素作用,所以其被称为选择性雌激素受体调节剂(SERM)。托瑞米芬是另一种被批准治疗转移性乳腺癌的SERM。氟维司群是一种首先阻断雌激素受体且触发其降解的药物。氟维司群不是SERM,因为其在整个体内起抗-雌激素作用。氟维司群用于治疗其它激素治疗剂例如他莫昔芬已经停止作用之后的转移性乳腺癌。

[0101] 芳香酶抑制剂(AI)在绝经后女性中起阻断雌激素产生的作用。芳香酶抑制剂通过阻断芳香酶起作用,芳香酶转化脂肪组织和脑产生的雄激素。芳香酶抑制剂的非限制性实例包括来曲唑、阿那曲唑和依西美坦。

[0102] 三阴性乳腺癌

[0103] 三阴性乳腺癌,特征为不表达雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)或HER-2基因的肿瘤,代表一种重要的临床挑战,因为这些癌症不会响应内分泌疗法或其它可获得的靶标试剂。三阴性乳腺癌的转移潜能与其它乳腺癌亚型的类似,但是这些肿瘤与复发和死亡的中值时间较短相关。因此,一个重要的目标是预测因素和标记物的鉴别,以可靠地选择患有三阴性疾病的高和低风险患者亚群,用于对于特定试剂具有差别应答的不同亚型治疗方法。然而,可靠的预测标记物难以找到,并且标记物不一定总是有用。例如,已经研究了表皮生长因子受体(EGFR),但是关于就预后而言EGFR表达水平的标准测定或临界值仍然没有达成一致。类似地,因为三阴性状况有时用作基底样乳腺癌的替代品,已经研究了特定的基底标记物。实际上,设计成使用ER/PR和HER-2阴性获得(accrue)患有基底样乳腺癌的患者的试验仅可以提供接近三阴性群体,并且有时使用更特定的指示物如CK 5/6、EGFR状态等再分析,再次被不一致性破坏(marred by discordances)。

[0104] 化疗仍然是治疗三阴性乳腺癌的主要支柱,但是如果要做出任何临床显著的进步,今后几年仍然需要克服重要的限制。目前用于三阴性疾病的治疗策略包括蒽环类、紫杉烷类、伊匹沙隆(ixabepilone)、铂剂和生物试剂。最近,已经提出EGFR抑制是三阴性乳腺癌的一种治疗机制,也产生了联合效果。在这些患者或其亚群中,也提出了靶向聚(ADP-核糖)聚合酶和雄激素受体的试剂,并且进行中的试验给出了关于这些试剂在三阴性疾病中的价值的明确指导。从ER和HER-2两者表达的角度来看,三阴性乳腺癌显然是一种不同的临床亚型,但是需要进一步细分。目前,没有靶向三阴性乳腺癌的指定易损性(defining vulnerability)的明确的、已证实的有效单一试剂。

[0105] 三阴性乳腺癌的各种亚型包括基底样TNBC(基底样1和2(BL-1、BL-2)、免疫调节型(IM))和间充质干细胞样三阴性乳腺癌(MSL)和管腔雄激素受体(luminal androgen receptor,LAR)亚型。

[0106] PD-L1表达在包括肾细胞癌、胰腺癌、卵巢癌、胃癌、食管癌和肝细胞癌的许多癌症上。研究已经鉴定了PD-L1的表达为50％(乳腺癌研究中评价的44个肿瘤中的22个)。在15个(34％)中,其限于肿瘤上皮细胞,而在18个(41％)中,其在肿瘤浸润淋巴细胞中被鉴定出。而且,据发现PD-L1的瘤内表达与高组织学等级和阴性激素受体状况有关。与上述研究一致,也在一个单独的研究中约20％的TNBC肿瘤表达PD-L1。这些TNBC肿瘤中的大多数(95％)为3级。

[0107] 不受任何特定理论的束缚，假设肿瘤可以通过其驱动PD-L1表达的一个可能机制是通过致癌信号转导通路。这首先在成胶质细胞瘤中得到证实，其中可以观察到PTEN损失与PD-L1的表达增加有关，表明涉及PI3K通路。因为通常在TNBC中观察到PTEN损失，所以一项研究研究了PTEN和PD-L1表达之间的关系。在其中存在>5％的PD-L1表达的乳腺癌组织微点阵中包括的约50％ TNBC肿瘤中，观察到PTEN染色损失。类似地，在TNBC细胞系的组中，据发现具有PTEN损失的两个示例性的细胞系MDA-MB-468和BT-549都具有高细胞表面PD-L1表达。总之，这些数据表明在TNBC中可能存在多种PD-L1调节机制。

[0108] 选择用于组合疗法的患者的方法

[0109] 在一些实施方案中，本发明公开内容的方法包括测量髓源抑制细胞和外周血单核细胞，以确定向诊断患有癌症的患者施用包括恩替司他和第二治疗剂的组合疗法。在某些实施方案中，所述方法进一步包括如果髓源抑制性细胞与外周血单核细胞的比例在1:200至1:4之间，则选择患者用于组合疗法。

[0110] 在一些实施方案中，本发明公开内容的方法包括测量CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞，测量CD14-阳性细胞或测量外周血单核细胞，以确定向诊断患有癌症的患者施用包括恩替司他和第二治疗剂的组合疗法。在某些实施方案中，所述方法进一步包括如果CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞与外周血单核细胞的比例在1:200至1:1之间，则选择所述患者用于组合疗法。在某些实施方案中，所述方法进一步包括如果CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞与CD14-阳性的细胞的比例在1:100至99:1之间，则选择所述患者用于组合疗法。

[0111] 第二治疗剂的非限制性实例包括抗-PD-1抗体，例如纳武单抗(nivolumab)和派姆单抗(pembrolizumab)；抗-PD-L1抗体，比如MPDL3280A；和依西美坦。癌症的非限制性实例包括乳腺癌，例如激素受体-阳性乳腺癌和三阴性乳腺癌；肺癌，例如，非小细胞肺癌、鳞状细胞癌和大细胞癌瘤；和黑素瘤，例如转移性黑素瘤。在某些实施方案中，第二治疗剂为MPDL3280A，且癌症为乳腺癌。在某些实施方案中，第二治疗剂为MPDL3280A，且乳腺癌为三阴性乳腺癌。在某些实施方案中，第二治疗剂为依西美坦，且癌症为乳腺癌。在某些实施方案中，第二治疗剂为依西美坦，且乳腺癌为激素受体-阳性乳腺癌。

[0112] 在某些实施方案中，口服施用恩替司他和依西美坦。在某些实施方案中，口服施用恩替司他，并且通过输注施用抗-PD-1抗体或抗-PD-L1抗体。输注的非限制性实例包括皮下输注、静脉内输注、腹膜内输注和通过渗透泵输注。

[0113] 在某些实施方案中，在组合疗法中首先施用恩替司他。在某些实施方案中，每周施用恩替司他。在某些实施方案中，每两周施用恩替司他。

[0114] 可以约每天、约每两天、约每三天、约每四天、约每五天、约每六天、约每周、约每两周、约每三周、约每四周、约每月、约每五周、约每六周、约每七周、约每八周或约每两个月施用恩替司他、依西美坦、抗-PD-1抗体或抗-PD-L1抗体。可以约每天至约每两天、约每两天至约每三天、约每三天至约每四天、约每四天至约每五天、约每五天至约每六天、约每六天至约每周、约每周至约每两周、约每两周至约每三周、约每三周至约每四周、约每四周至约每个月、约每个月至约每五周、约每五周至约每六周、约每六周至约每七周、约每七周至约每八周或约每八周至约每两个月施用恩替司他、依西美坦、抗-PD-1抗体或抗-PD-L1抗体。

[0115] 在某些实施方案中，通过获得外周血样品，循环并分别测量外周血液中的髓源抑

制细胞和外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过获得外周血样品，循环并分别测量外周血液中CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞、CD14-阳性的细胞和外周血单核细胞。在某些实施方案中，用抗凝血药处理外周血样品。在某些实施方案中，将外周血样品收集并转移到含有抗凝血药的容器中。抗凝血药的非限制性实例包括肝素、肝素钠、草酸钾、EDTA和柠檬酸钠。在某些实施方案中，用红细胞溶解剂处理外周血样品。在某些实施方案中，测量组织活检中髓源抑制细胞和外周血单核细胞。

[0116] 在某些实施方案中，测量外周血样品中髓源抑制细胞和外周血单核细胞的数量，并确定髓源抑制细胞相对于外周血单核细胞的百分比。在某些实施方案中，用第一结合剂接触一个或多个来自外周血样品的髓源抑制性细胞，形成一个或多个第一结合剂-髓源抑制性细胞复合物。在某些实施方案中，用第二结合剂接触一个或多个来自外周血样品的外周血单核细胞，形成一个或多个第二结合剂-外周血单核细胞复合物。在某些实施方案中，测量外周血样品中第一结合剂-髓源抑制性细胞复合物相对于第二结合剂-外周血单核细胞复合物的百分比。

[0117] 在某些实施方案中，使用外周血样或组织活检中髓源抑制细胞相对于外周血单核细胞的百分比、或第一结合剂-髓源抑制细胞复合物和第二结合剂-外周血单核细胞复合物的百分比，选择用于施用包括恩替司他和第二治疗剂的组合疗法的患者。

[0118] 在某些实施方案中，所述外周血样或组织活检中髓源抑制剂或外周血单核细胞的百分比，或第一结合剂-髓源抑制细胞复合物和第二结合剂-外周血单核细胞复合物的百分比，为至少约0.1%、至少约0.2%、至少约0.3%、至少约0.4%、至少约0.5%、至少约0.6%、至少约0.7%、至少约0.8%、至少约0.9%、至少约1%、至少约1.1%、至少约1.2%、至少约1.3%、至少约1.4%、至少约1.5%、至少约1.6%、至少约1.7%、至少约1.8%、至少约1.9%、至少约2%、至少约3%、至少约4%、至少约5%、至少约6%、至少约7%、至少约8%、至少约9%、至少约10%、至少约11%、至少约12%、至少约13%、至少约14%、至少约15%、至少约16%、至少约17%、至少约18%、至少约19%、至少约20%、至少约21%、至少约22%、至少约23%、至少约24%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%，或至少约50%。

[0119] 在某些实施方案中，外周血样或组织活检髓源抑制细胞中髓源抑制细胞相对于外周血单核细胞的百分比、或第一结合剂-髓源抑制细胞复合物和第二结合剂-外周血单核细胞复合物的百分比，为约0.1%至约0.2%、约0.2%至约0.3%、约0.3%至约0.4%、约0.4%至约0.5%、约0.5%至约0.6%、约0.6%至约0.7%、约0.7%至约0.8%、约0.8%至约0.9%、约0.9%至约1%、约1%至约1.1%、约1.1%至约1.2%、约1.2%至约1.3%、约1.4%至约1.5%、约1.5%至约1.6%、约1.6%至约1.7%、约1.7%至约1.8%、约1.8%至约1.9%、约1.9%至约2%、约2%至约3%、约3%至约4%、约4%至约5%、约5%至约6%、约6%至约7%、约7%至约8%、约8%至约9%、约9%至约10%、约10%至约11%、约11%至约12%、约12%至约13%、约13%至约14%、约14%至约15%、约15%至约16%、约16%至约17%、约17%至约18%、约18%至约19%、约19%至约20%、约20%至约21%、约21%至约22%、约22%至约23%、约23%至约24%、约24%至约25%、约25%至约30%、约30%至约35%、约35%至约40%、约40%至约45%或约45%至约50%。

[0120] 在某些实施方案中，测量外周血样品中髓源抑制细胞和外周血单核细胞的数量，

并确定髓源抑制细胞相对于外周血单核细胞的比例。在某些实施方案中，用第一结合剂接触一个或多个来自外周血样品的髓源抑制性细胞，形成一个或多个第一结合剂-髓源抑制性细胞复合物。在某些实施方案中，用第二结合剂接触一个或多个来自外周血样品的外周血单核细胞，形成一个或多个第二结合剂-外周血单核细胞复合物。在某些实施方案中，测量外周血样品中第一结合剂-髓源抑制性细胞复合物和第二结合剂-外周血单核细胞复合物的比例。在某些实施方案中，使用髓源抑制细胞与外周血单核细胞的比例、或第一结合剂-髓源抑制细胞复合物和第二结合剂-外周血单核细胞复合物的比例，选择用于施用包括恩替司他和第二治疗剂的组合疗法的患者。

[0121] 在某些实施方案中，使用第一结合剂-髓源抑制细胞复合物和第二结合剂-外周血单核细胞复合物的比例，选择用于施用包括恩替司他和第二治疗剂的组合疗法的患者。

[0122] 在某些实施方案中，外周血样品或组织活检中髓源抑制细胞相对于外周血单核细胞的比例，或第一结合剂-髓源抑制细胞复合物和第二结合剂-外周血单核细胞复合物的比例，为1:10000、1:5000、1:4000、1:3000、1:2000、1:1000、1:500、1:400、1:300、1:250、1:200、1:150、1:100、1:90、1:80、1:70、1:60、1:50、1:49、1:48、1:47、1:46、1:45、1:44、1:43、1:42、1:41、1:40、1:39、1:38、1:37、1:36、1:35、1:34、1:33、1:32、1:31、1:30、1:29、1:28、1:27、1:26、1:25、1:24、1:23、1:22、1:21、1:20、1:19、1:18、1:17、1:16、1:15、1:14、1:13、1:12、1:11、1:10、1:9、1:8、1:7、1:6、1:5、1:4、1:3、1:2或1:1。

[0123] 在某些实施方案中，外周血样或组织活检中髓源抑制细胞相对于外周血单核细胞的比例、或第一结合剂-髓源抑制细胞复合物和第二结合剂-外周血单核细胞复合物的比例为1:10000至1:5000、1:5000至1:4000、1:4000至1:3000、1:3000至1:2000、1:2000至1:1000、1:1000至1:500、1:500至1:400、1:400至1:300、1:300至1:200、1:200至1:100、1:100至1:90、1:90至1:80、1:80至1:70、1:70至1:60、1:60至1:50、1:50至1:49、1:49至1:48、1:48至1:47、1:47至1:46、1:46至1:45、1:45至1:44、1:44至1:43、1:43至1:42、1:42至1:41、1:41至1:40、1:40至1:39、1:39至1:38、1:38至1:37、1:37至1:36、1:36至1:35、1:35至1:34、1:34至1:33、1:33至1:32、1:32至1:31、1:31至1:30、1:30至1:29、1:29至1:28、1:28至1:27、1:27至1:26、1:26至1:25、1:25至1:24、1:24至1:23、1:23至1:22、1:22至1:21、1:21至1:20、1:20至1:19、1:19至1:18、1:18至1:17、1:17至1:16、1:16至1:15、1:15至1:14、1:14至1:13、1:13至1:12、1:12至1:11、1:11至1:10、1:10至1:9、1:9至1:8、1:8至1:7、1:7至1:6、1:6至1:5、1:5至1:4、1:4至1:3、1:3至1:2或1:2至1:1。

[0124] 在某些实施方案中，测定每单位体积生物样品的髓源抑制细胞的数量。单位体积的非限制性实例包括微微升(pL)、纳升(nL)、微升(μL)、毫升(mL)、分升(dL)和升(L)。在某些实施方案中，用结合剂接触大量来自外周血样品的髓源抑制性细胞，得到每单位体积大量的结合剂-髓源抑制性细胞复合物。在某些实施方案中，使用每单位体积生物样品的髓源抑制细胞或结合剂-髓源抑制细胞复合物的数量选择用于施用包括恩替司他和第二治疗剂的组合疗法的患者。在某些实施方案中，生物样品为外周血样品。

[0125] 在某些实施方案中，每单位体积的生物样品的髓源抑制细胞或结合剂-髓源抑制细胞复合物为每单位体积约1、约2、约3、约4、约5、约6、约7、约8、约9、约10、约15、约20、约25、约30、约35、约40、约45、约50、约60、约70、约80、约90、约100、约150、约200、约250、约300、约350、约400、约450、约500、约600、约700、约800、约900、约1000、约1500、约2000、约

2500、约3000、约3500、约4000、约4500、约5000、约6000、约7000、约8000、约9000、约10000、约15000、约20000、约25000、约30000、约35000、约40000、约45000、约50000、约60000、约70000、约80000、约90000或约100000。

[0126] 在某些实施方案中，每单位体积的生物样品的髓源抑制细胞或结合剂-髓源抑制细胞复合物为每单位体积约1至约2、约2至约3、约3至约4、约4至约5、约5至约6、约6至约7、约7至约8、约8至约9、约9至约10、约10至约15、约15至约20、约20至约25、约25至约30、约30至约35、约35至约40、约40至约45、约45至约50、约50至约60、约60至约70、约70至约80、约80至约90、约90至约100、约100至约150、约150至约200、约200至约250、约250至约300、约300至约350、约350至约400、约400至约450、约450至约500、约500至约600、约600至约700、约700至约800、约800至约900、约900至约1000、约1000至约1500、约1500至约2000、约2000至约2500、约2500至约3000、约3000至约3500、约3500至约4000、约4000至约4500、约4500至约5000、约5000至约6000、约6000至约7000、约7000至约8000、约8000至约9000、约9000至约10000、约10000至约15000、约15000至约20000、约20000至约25000、约25000至约30000、约30000至约35000、约35000至约40000、约40000至约45000、约45000至约50000、约50000至约60000、约60000至约70000、约70000至约80000、约80000至约90000或约90000至约100000。

[0127] 在某些实施方案中，测量外周血样品中CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞、CD14-阳性的细胞和外周血单核细胞的数量，并且确定CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞、CD14-阳性的细胞和外周血单核细胞的百分比。

[0128] 在某些实施方案中，使用CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞相对于CD14-阳性的细胞或外周血单核细胞的百分比选择用于施用包括恩替司他和第二治疗剂的组合疗法的患者。

[0129] 在某些实施方案中，外周血样或组织活检中CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞相对于CD14-阳性的细胞或外周血单核细胞的百分比为至少约0.1％、至少约0.2％、至少约0.3％、至少约0.4％、至少约0.5％、至少约0.6％、至少约0.7％、至少约0.8％、至少约0.9％、至少约1％、至少约1.1％、至少约1.2％、至少约1.3％、至少约1.4％、至少约1.5％、至少约1.6％、至少约1.7％、至少约1.8％、至少约1.9％、至少约2％、至少约3％、至少约4％、至少约5％、至少约6％、至少约7％、至少约8％、至少约9％、至少约10％、至少约11％、至少约12％、至少约13％、至少约14％、至少约15％、至少约16％、至少约17％、至少约18％、至少约19％、至少约20％、至少约21％、至少约22％、至少约23％、至少约24％、至少约25％、至少约30％、至少约35％、至少约40％、至少约45％、至少约50％、至少约60％、至少约70％、至少约80％、至少约90％、至少约95％、至少约96％、至少约97％、至少约98％或至少约99％。

[0130] 在某些实施方案中，外周血样品或组织活检中CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞相对于CD14-阳性的细胞或外周血单核细胞的百分比为约0.1％至约0.2％、约0.2％至约0.3％、约0.3％至约0.4％、约0.4％至约0.5％、约0.5％至约0.6％、约0.6％至约0.7％、约0.7％至约0.8％、约0.8％至约0.9％、约0.9％至约1％、约1％至约1.1％、约1.1％至约1.2％、约1.2％至约1.3％、约1.4％至约1.5％、约1.5％至约1.6％、约1.6％至约1.7％、约1.7％至约1.8％、约1.8％至约1.9％、约1.9％至约2％、约2％至约3％、约3％至约4％、约4％至约5％、约5％至约6％、约6％至约7％、约7％至约8％、约8％至约9％、约9％至

约10％、约10％至约11％、约11％至约12％、约12％至约13％、约13％至约14％、约14％至约15％、约15％至约16％、约16％至约17％、约17％至约18％、约18％至约19％、约19％至约20％、约20％至约21％、约21％至约22％、约22％至约23％、约23％至约24％、约24％至约25％、约25％至约30％、约30％至约35％、约35％至约40％、约40％至约45％、约45％至约50％、约50％至约60％、约60％至约70％、约70％至约80％、约80％至约90％、约90％至约95％、约95％至约96％、约96％至约97％、约97％至约98％或约98％至约99％。

[0131] 在某些实施方案中，测量外周血样品中CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞、CD14-阳性的细胞和外周血液单核细胞的数量，并确定CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞相对于CD14-阳性的细胞或外周血单核细胞的比例。在某些实施方案中，使用CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞相对于CD14-阳性的细胞或外周血单核细胞的比例选择用于施用包括恩替司他和第二治疗剂的组合疗法的患者。

[0132] 在某些实施方案中，外周血样品或组织活检中CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞相对于CD14-阳性的细胞或外周血单核细胞的比例为1:10000、1:5000、1:4000、1:3000、1:2000、1:1000、1:500、1:400、1:300、1:250、1:200、1:150、1:100、1:90、1:80、1:70、1:60、1:50、1:49、1:48、1:47、1:46、1:45、1:44、1:43、1:42、1:41、1:40、1:39、1:38、1:37、1:36、1:35、1:34、1:33、1:32、1:31、1:30、1:29、1:28、1:27、1:26、1:25、1:24、1:23、1:22、1:21、1:20、1:19、1:18、1:17、1:16、1:15、1:14、1:13、1:12、1:11、1:10、1:9、1:8、1:7、1:6、1:5、1:4、1:3、1:2、1:1、2:1、3:1、4:1、9:1、19:1、24:1、97:1、49:1或99:1。

[0133] 在某些实施方案中，外周血样品或组织活检中CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞相对于CD14-阳性的细胞或外周血单核细胞的比例为1:10000至1:5000、1:5000至1:4000、1:4000至1:3000、1:3000至1:2000、1:2000至1:1000、1:1000至1:500、1:500至1:400、1:400至1:300、1:300至1:200、1:200至1:100、1:100至1:90、1:90至1:80、1:80至1:70、1:70至1:60、1:60至1:50、1:50至1:49、1:49至1:48、1:48至1:47、1:47至1:46、1:46至1:45、1:45至1:44、1:44至1:43、1:43至1:42、1:42至1:41、1:41至1:40、1:40至1:39、1:39至1:38、1:38至1:37、1:37至1:36、1:36至1:35、1:35至1:34、1:34至1:33、1:33至1:32、1:32至1:31、1:31至1:30、1:30至1:29、1:29至1:28、1:28至1:27、1:27至1:26、1:26至1:25、1:25至1:24、1:24至1:23、1:23至1:22、1:22至1:21、1:21至1:20、1:20至1:19、1:19至1:18、1:18至1:17、1:17至1:16、1:16至1:15、1:15至1:14、1:14至1:13、1:13至1:12、1:12至1:11、1:11至1:10、1:10至1:9、1:9至1:8、1:8至1:7、1:7至1:6、1:6至1:5、1:5至1:4、1:4至1:3、1:3至1:2、1:2至1:1、1:1至2:1、2:1至3:1、3:1至4:1、4:1至9:1、9:1至19:1、19:1至24:1、24:1至97:1、97:1至49:1或49:1至99:1。

[0134] 在某些实施方案中，测定每单位体积生物样品的CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞的数量。单位体积的非限制性实例包括微微升(pL)、纳升(nL)、微升(μL)、毫升(mL)、分升(dL)和升(L)。在某些实施方案中，使用每单位体积生物样品的CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞的数量选择用于施用包括恩替司他和第二治疗剂的组合疗法的患者。在某些实施方案中，生物样品为外周血样品。

[0135] 在某些实施方案中，每单位体积生物样品的CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞的数量为每单位体积约1、约2、约3、约4、约5、约6、约7、约8、约9、约10、约15、约20、约25、约30、约35、约40、约45、约50、约60、约70、约80、约90、约100、约150、约200、约250、约

300、约350、约400、约450、约500、约600、约700、约800、约900、约1000、约1500、约2000、约2500、约3000、约3500、约4000、约4500、约5000、约6000、约7000、约8000、约9000、约10000、约15000、约20000、约25000、约30000、约35000、约40000、约45000、约50000、约60000、约70000、约80000、约90000或约100000。

[0136] 在某些实施方案中，每单位体积生物样品的CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞的数量为每单位体积约1至约2、约2至约3、约3至约4、约4至约5、约5至约6、约6至约7、约7至约8、约8至约9、约9至约10、约10至约15、约15至约20、约20至约25、约25至约30、约30至约35、约35至约40、约40至约45、约45至约50、约50至约60、约60至约70、约70至约80、约80至约90、约90至约100、约100至约150、约150至约200、约200至约250、约250至约300、约300至约350、约350至约400、约400至约450、约450至约500、约500至约600、约600至约700、约700至约800、约800至约900、约900至约1000、约1000至约1500、约1500至约2000、约2000至约2500、约2500至约3000、约3000至约3500、约3500至约4000、约4000至约4500、约4500至约5000、约5000至约6000、约6000至约7000、约7000至约8000、约8000至约9000、约9000至约10000、约10000至约15000、约15000至约20000、约20000至约25000、约25000至约30000、约30000至约35000、约35000至约40000、约40000至约45000、约45000至约50000、约50000至约60000、约60000至约70000、约70000至约80000、约80000至约90000或约90000至约100000。

[0137] 在某些实施方案中，使用流式细胞术、质谱流式细胞计量术(mass cytometry)、细胞离心涂片法(cytospin)或免疫组织化学测量髓源抑制细胞、CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞、CD14-阳性的细胞和/或外周血单核细胞。

[0138] 流式细胞术是用于细胞计数、细胞分选和生物标记检测的基于激光的技术，其通过将细胞悬浮在流体流中并使其通过电子检测装置。其允许每秒同时多参数分析高达数千颗粒的物理和化学特征。

[0139] 质谱流式细胞计量术是基于电感耦合等离子体质谱的质谱技术，用于测定细胞身份和功能。在该技术中，结合剂用同位素纯的稀土元素标记。然后，这些结合剂应用于标记的细胞及其组分。使细胞雾化并通过氩等离子体激光发送，电离多原子稀土元素标记物。然后，通过飞行时间质谱仪分析电离的标记的细胞。质谱细胞计量术的优点是克服流式细胞术中光谱重叠导致的限制的能力。

[0140] 细胞离心涂片法是一种其中将悬浮细胞离心在载玻片上作为细胞染色和细胞计数的涂片的技术。以低粘度介质存在的浓细胞悬液是涂片制品的良好候选物。存在稀释介质中的稀释细胞悬液最适合用于通过细胞离心(cytocentrifugation)制备细胞分离物。存在于高粘度介质中的细胞悬液最适合用于作为拭抹制品(swab preparations)进行测试。这些制品中不变的(constant)是全细胞存在于光滑表面上。免疫组织化学是一种组织染色，利用抗体特异性结合生物组织中抗原的原理检测组织切片细胞中的抗原。可以以多种方式实现抗体-抗原相互作用的显现。抗体可以结合能够催化显色反应的酶，比如过氧化物酶。可选地，抗体可以标记荧光团，比如荧光素或罗丹明。

[0141] 在某些实施方案中，流式细胞术、质谱细胞计量术、细胞分离或免疫组织化学用于检测细胞，比如髓源抑制细胞或外周血单核细胞。在某些实施方案中，流式细胞术、质谱细胞计量术、细胞分离或免疫组织化学包括使用结合剂产生结合剂-髓源抑制细胞和结合剂-外周血单核细胞复合物。在某些实施方案中，使用结合剂通过细胞表面标记物鉴定髓源抑

制细胞和外周血单核细胞。在某些实施方案中，所述结合剂为抗体。

[0142] 在某些实施方案中，结合髓源抑制细胞或外周血单核细胞的结合剂的数量为至少约1、至少约2、至少约3、至少约4、至少约5、至少约6、至少约7、至少约8、至少约9、至少约10、至少约11、至少约12、至少约13、至少约14、至少约15、至少约16、至少约20、至少约30、至少约40、至少约50、至少约60、至少约70、至少约80、至少约90、至少约100、至少约125、至少约150、至少约175或至少约200。在某些实施方案中，结合髓源抑制细胞或外周血单核细胞的结合剂的数量为约1至约2、约2至约3、约3至约4、约4至约5、约5至约6、约6至约7、约7至约8、约8至约9、约9至约10、约10至约11、约11至约12、约12至约13、约14至约15、约15至约16、约16至约20、约20至约30、约30至约40、约40至约50、约50至约60、约60至约70、约70至约80、约80至约90、约90至约100、约100至约125、约125至约150、约150至约175或约175至约200。

[0143] 在某些实施方案中，通过细胞表面标记物鉴定髓源抑制细胞和外周血单核细胞、M-MDSC或PMN-MDSC。鉴定髓源抑制细胞的细胞表面标记物的非限制性实例包括CD11b、CD33和CD40。鉴定外周血单核细胞的细胞表面标记物的非限制性实例包括CD3、CD14、CD19、CD56和HLA-DR。可以通过与CD14组合的髓源抑制细胞标记物的任意组合鉴定M-MDSC。可以通过与CD15结合的髓源抑制细胞标记物的任意组合鉴定PMN-MDSC。在某些实施方案中，用结合剂接触髓源抑制细胞、外周血单核细胞、M-MDSC或PMN-MDSC，形成细胞-结合剂复合物。所述结合剂可以结合任一种前述细胞表面标记物或其任意组合。

[0144] 在某些实施方案中，通过CD11b鉴定髓源抑制细胞，并且通过CD3鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b鉴定髓源抑制细胞，并且通过CD14鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b鉴定髓源抑制细胞，并且通过CD19鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b鉴定髓源抑制细胞，并且通过CD56鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b鉴定髓源抑制细胞，并且通过HLA-DR鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD33鉴定髓源抑制细胞，并且通过CD3鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD33鉴定髓源抑制细胞，并且通过CD14鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD33鉴定髓源抑制细胞，并且通过CD19鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD33鉴定髓源抑制细胞，并且通过CD56鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD33鉴定髓源抑制细胞，并且通过HLA-DR鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD40鉴定髓源抑制细胞，并且通过CD3鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD40鉴定髓源抑制细胞，并且通过CD14鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD40鉴定髓源抑制细胞，并且通过CD19鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD40鉴定髓源抑制细胞，并且通过CD56鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD40鉴定髓源抑制细胞，并且通过HLA-DR鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b和CD33鉴定髓源抑制细胞，并且通过CD3鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b和CD33鉴定髓源抑制细胞，并且通过CD14鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b和CD33鉴定髓源抑制细胞，并且通过CD19鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b和CD33鉴定髓源抑制细胞，并且通过CD56鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b和CD33鉴定髓源抑制细胞，并且通过HLA-DR鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b和CD33鉴定髓源抑制细胞，并且通过CD3、CD14、CD19、CD56和HLA-DR鉴定外周血单核细胞。

[0145] 在某些实施方案中，通过CD11b和CD14鉴定M-MDSC，并且通过CD3鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b和CD14鉴定M-MDSC，并且通过CD14鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b和CD14鉴定M-MDSC，并且通过CD19鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b和CD14鉴定M-MDSC，并且通过CD56鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b和CD14鉴定M-MDSC，并且通过HLA-DR鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD33和CD14鉴定M-MDSC，并且通过CD3鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD33和CD14鉴定M-MDSC，并且通过CD14鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD33和CD14鉴定M-MDSC，并且通过CD19鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD33和CD14鉴定M-MDSC，并且通过CD56鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD33和CD14鉴定M-MDSC，并且通过HLA-DR鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD40和CD14鉴定M-MDSC，并且通过CD3鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD40和CD14鉴定M-MDSC，并且通过CD14鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD40和CD14鉴定M-MDSC，并且通过CD19鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD40和CD14鉴定M-MDSC，并且通过CD56鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD40和CD14鉴定M-MDSC，并且通过HLA-DR鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b和CD33和CD14鉴定M-MDSC，并且通过CD3鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b和CD33和CD14鉴定M-MDSC，并且通过CD14鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b和CD33和CD14鉴定M-MDSC，并且通过CD19鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b和CD33和CD14鉴定M-MDSC，并且通过CD56鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b和CD33和CD14鉴定M-MDSC，并且通过HLA-DR鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b和CD33和CD14鉴定M-MDSC，并且通过CD3、CD14、CD19、CD56和HLA-DR鉴定外周血单核细胞。

[0146] 在某些实施方案中，通过CD11b和CD15鉴定PMN-MDSC，并且通过CD3鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b和CD15鉴定PMN-MDSC，并且通过CD14鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b和CD15鉴定PMN-MDSC，并且通过CD19鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b和CD15鉴定PMN-MDSC，并且通过CD56鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b和CD15鉴定PMN-MDSC，并且通过HLA-DR鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD33和CD15鉴定PMN-MDSC，并且通过CD3鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD33和CD15鉴定PMN-MDSC，并且通过CD14鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD33和CD15鉴定PMN-MDSC，并且通过CD19鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD33和CD15鉴定PMN-MDSC，并且通过CD56鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD33和CD15鉴定PMN-MDSC，并且通过HLA-DR鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD40和CD15鉴定PMN-MDSC，并且通过CD3鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD40和CD15鉴定PMN-MDSC，并且通过CD14鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD40和CD15鉴定PMN-MDSC，并且通过CD19鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD40和CD15鉴定PMN-MDSC，并且通过CD56鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD40和CD15鉴定PMN-MDSC，并且通过HLA-DR鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b和CD33和CD15鉴定PMN-MDSC，并且通过CD3鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b和CD33和CD15鉴定PMN-MDSC，并且通过CD14鉴定外周血单核细

胞。在某些实施方案中，通过CD11b和CD33和CD15鉴定PMN-MDSC，并且通过CD19鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b和CD33和CD15鉴定PMN-MDSC，并且通过CD56鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b和CD33和CD15鉴定PMN-MDSC，并且通过HLA-DR鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b和CD33和CD15鉴定PMN-MDSC，并且通过CD3、CD14、CD19、CD56和HLA-DR鉴定外周血单核细胞。

[0147] 在某些实施方案中，通过CD11b、细胞表面上不存在CD14鉴定PMN-MDSC细胞，并且通过CD3鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b、细胞表面上不存在CD14鉴定PMN-MDSC细胞，并且通过CD14鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11、细胞表面上不存在CD14鉴定PMN-MDSC细胞，并且通过CD19鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b14、细胞表面上不存在CD14鉴定PMN-MDSC细胞，并且通过CD56鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b、细胞表面上不存在CD14鉴定PMN-MDSC细胞，并且通过HLA-DR鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD33、细胞表面上不存在CD14鉴定PMN-MDSC细胞，并且通过CD3鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD33和细胞表面上不存在CD14鉴定PMN-MDSC，并且通过CD14鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD33和细胞表面上不存在CD14鉴定PMN-MDSC，并且通过CD19鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD33和细胞表面上不存在CD14鉴定PMN-MDSC细胞，并且通过CD56鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD33和细胞表面上不存在CD14鉴定PMN-MDSC，并且通过HLA-DR鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD40和细胞表面上不存在CD14鉴定PMN-MDSC细胞，并且通过CD3鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD40和细胞表面上不存在CD14鉴定PMN-MDSC细胞，并且通过CD14鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD40和细胞表面上不存在CD14鉴定PMN-MDSC，并且通过CD19鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD40和细胞表面上不存在CD14鉴定PMN-MDSC，并且通过CD56鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD40和细胞表面上不存在CD14鉴定PMN-MDSC，并且通过HLA-DR鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b和CD33及细胞表面上不存在CD14鉴定PMN-MDSC细胞，并且通过CD3鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b和CD33及细胞表面上不存在CD14鉴定PMN-MDSC细胞，并且通过CD14鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b和CD33及细胞表面上不存在CD14鉴定PMN-MDSC，并且通过CD19鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b和CD33及细胞表面上不存在CD14鉴定PMN-MDSC，并且通过CD56鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b和CD33及细胞表面上不存在CD14鉴定PMN-MDSC，并且通过HLA-DR鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD11b和CD33及细胞表面上不存在CD14鉴定PMN-MDSC，并且通过CD3、CD14、CD19、CD56和HLA-DR鉴定外周血单核细胞。

[0148] 在某些实施方案中，通过细胞表面标记物鉴定CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞、CD14-阳性的细胞和外周血单核细胞。鉴定外周血单核细胞的细胞表面标记物的非限制性实例包括CD3、CD14、CD19、CD56和HLA-DR。

[0149] 在某些实施方案中，通过CD14和低水平的或不存在HLA-DR鉴定CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞，并且通过CD3鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD14和低水平的或不存在HLA-DR鉴定CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞，并且通过CD14鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中，通过CD14和低水平的或不存在HLA-DR鉴定

CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞,并且通过CD19鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中,通过CD14和低水平的或不存在HLA-DR鉴定CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞,并且通过CD56鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中,通过CD14和低水平的或不存在HLA-DR鉴定CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞,并且通过HLA-DR鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中,通过CD14和低水平的或不存在HLA-DR鉴定CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞,并且通过CD3、CD14、CD19、CD56和HLA-DR鉴定外周血单核细胞。在某些实施方案中,通过CD14和低水平的或不存在HLA-DR鉴定CD14-阳性的且HLA-DR-(lo/阴性的)细胞,并且通过CD14鉴CD14-阳性的细胞。

[0150] 另外的疗法

[0151] 可有利地与本文公开的疗法组合使用的用于三阴性乳腺癌的可用另外的治疗包括,但不限于作为辅助治疗的放疗、化疗、抗体治疗和酪氨酸激酶抑制剂。

[0152] 放射治疗是使用高能x-射线或其他类型的辐射来杀死癌细胞或使其不生长的癌症治疗。化疗是一种使用药物来阻止癌细胞生长的癌症治疗,要么杀死细胞,要么阻止细胞分裂。当化疗由口服或注入静脉或肌肉时,药物进入血流并可以到达全身的癌细胞(系统化疗)。当将化疗直接置入脊柱、器官或体腔比如腹部时,药物主要影响这些区域的癌细胞(区域化疗)。给予化疗的方式取决于治疗的癌症的类型和阶段。

[0153] 用于治疗肺癌的不同化疗剂是本领域已知的。用于治疗肺癌的细胞毒剂包括卡铂(例如,Paraplatin®、Paraplat®)、顺铂(例如,Platinol®、Platinol-Aq®)、克唑替尼(例如Xalkori®)、依托泊苷(例如Toposar®、VePesid®)、磷酸依托泊苷(例如Etopophos®)、盐酸吉西他滨(例如Gemzar®)、吉西他滨-顺铂、甲氨蝶呤(例如Abitrexate®、Folex®,Folex Pfs®、Methotrexate Lpf®、Mexate®、Mexate-Aq®)、紫杉醇(例如Taxol®)、培美曲塞二钠(例如Alimta®)和盐酸拓扑替康(例如Hycamtin®)

[0154] 用于治疗黑素瘤的不同的试剂是本领域已知的,包括阿地白介素(例如Proleukin®)、达拉非尼(例如Tafinlar®)、达卡巴嗪(例如DTIC-Dome®)、重组干扰素α-2b(例如Intron® A)、易普利姆玛(例如Yervoy®)、派姆单抗(例如Keytruda®)、曲美替尼(例如Mekinist®)、纳武单抗(例如Opdivo®)、聚乙二醇干扰素α-2b(例如Pegintron®,Sylatron®)、维罗非尼(例如Zelboraf®)。

[0155] 单克隆抗体治疗是使用在实验室中从单一类型免疫系统细胞制备的抗体的癌症治疗。这些抗体可识别癌细胞上的物质或可有利于癌细胞生长的正常物质。抗体附着于所述物质上并杀死癌细胞,阻止其生长,或阻止其扩散。单克隆抗体通过输注供给。它们可以单独使用或直接携带药物、毒素或放射性物质进入癌细胞。单克隆抗体也与作为辅助治疗的化疗组合使用。

[0156] 可以有利地与本文公开的组合物和疗法组合的另外的示例性治疗可以包括但不限于施用下述试剂,包括但不限于拉帕替尼单独或与卡培他滨、多西紫杉醇、表柔比星、埃博霉素A、B或D、醋酸戈舍瑞林、紫杉醇、帕米膦酸、贝伐单抗或曲妥单抗组合。

[0157] 在某些实施方案中，所述另外的疗法包括化疗，其包括向受试者施用一种或多种多柔比星、环磷酰胺、紫杉醇、拉帕替尼、卡培他滨、曲妥单抗、贝伐单抗、吉西他滨、艾日布林或白蛋白结合型紫杉醇。

[0158] 口服剂型

[0159] 包含本文所述活性药物成分的口服剂型可以包括任何常规使用的口服形式，包括：片剂、胶囊、丸剂、锭剂、糖锭、软锭剂、扁囊剂、微丸、药用口香糖、颗粒剂、散装粉末、泡腾或非泡腾粉末或颗粒、溶液、乳剂、混悬剂、溶液、糯米纸囊剂(wafers)、散剂(sprinkles)、酏剂、糖浆剂、口腔形式和口服液体。胶囊可以包含活性化合物与惰性填充剂和/或稀释剂的混合物，比如可药用淀粉(例如玉米、马铃薯或木薯淀粉)、糖、人造甜味剂、粉末状纤维素比如结晶和微晶纤维素、面粉、明胶、树胶等。有用的片剂可以通过常规压制、湿法制粒或干法制粒方法制备，并使用可药用稀释剂、粘合剂、润滑剂、崩解剂、表面改性剂(包括表面活性剂)、悬浮剂或稳定剂，包括但不限于硬脂酸镁、硬脂酸、滑石、月桂基硫酸钠、微晶纤维素、羧甲基纤维素钙、聚乙烯吡咯烷酮、明胶、藻酸、阿拉伯树胶、黄原胶、柠檬酸钠、复合硅酸盐、碳酸钙、甘氨酸、糊精、蔗糖、山梨醇、磷酸二钙、硫酸钙、乳糖、高岭土、甘露醇、氯化钠、滑石、无水淀粉和糖粉。在某些实施方案中，有表面改性剂，包括非离子和阴离子表面改性剂。例如，表面改性剂包括但不限于泊洛沙姆188、苯扎氯铵、硬脂酸钙、鲸蜡硬脂醇、西土马哥(cetomacrogol)乳化蜡、脱水山梨醇酯、胶体二氧化硅、磷酸盐、十二烷基硫酸钠、硅酸镁铝和三乙醇胺。本文口服制剂可以使用标准延迟或时间释放剂型来改变活性化合物的吸收。口服剂型还可以包括施用在水或果汁中的活性成分，其根据需要含有合适的增溶剂或乳化剂。

[0160] 口服施用

[0161] 如本文所述的，本文所述的组合疗法可以同时给予或可以以交错方案给予，在化疗过程中，采用与EGFR抑制剂不同的时间给予恩替司他。两种化合物施用之间的时间差范围可以为几分钟、几小时、几天、几周或更长时间。因此，术语“组合”不一定意味着同时或作为单一剂量施用，而是在期望的治疗期间施用各组分。试剂也可以通过不同的途径施用。作为典型的化疗方案，化疗过程可以在数周后重复，并且两种化合物可以按照相同的时间段施用或者可以基于患者反应进行调整。

[0162] 在其它实施方案中，本文提供的药物组合物可以以固体、半固体或液体剂型提供用于口服施用。如本文使用的，口服施用还包括颊、舌和舌下施用。合适的口服剂型包括但不限于片剂、胶囊、丸剂、锭剂、糖锭、软锭剂、扁囊剂、微丸、药用口香糖，颗粒剂、散装粉末、泡腾或非泡腾粉末或颗粒、溶液、乳剂、悬浮液、溶液、糯米纸囊剂(wafers)、散剂(sprinkles)、酏剂和糖浆剂。除了活性成分之外，药物组合物可以含有一种或多种可药用载体或赋形剂，包括但不限于粘合剂、填充剂、稀释剂、崩解剂、润湿剂、润滑剂、助流剂、着色剂、染料迁移抑制剂、甜味剂和矫味剂。

[0163] 粘合剂或制粒剂赋予片剂粘性，以确保片剂在压制后完好无损。适合的粘合剂或制粒剂包括，但不限于淀粉，比如玉米淀粉、马铃薯淀粉和预胶化淀粉(例如，STARCH 1500)；明胶；糖类，比如蔗糖、葡萄糖、右旋糖、糖蜜和乳糖；天然和合成树胶，比如阿拉伯胶、海藻酸、藻酸盐、爱尔兰苔藓提取物、潘瓦尔树胶、印度树胶、车前子壳(isabgol husks)的胶液、羧甲基纤维素、甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、硅酸镁铝、落叶松阿拉伯半乳

聚糖、粉状西黄蓍胶和瓜尔胶;纤维素类,比如乙基纤维素、醋酸纤维素、羧甲基纤维素钙、羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟乙基纤维素(HEC)、羟丙基纤维素(HPC)、羟丙基甲基纤维素(HPMC);微晶纤维素,比如AVICEL-PH-101,AVICEL-PH-103,AVICEL RC-581,AVICEL-PH-105(FMC Corp.,Marcus Hook,PA);及其混合物。合适的填充剂包括但不限于滑石、碳酸钙、微晶纤维素、粉末状纤维素、葡萄糖结合剂、高岭土、甘露醇、硅酸、山梨醇、淀粉、预胶化淀粉及其混合物。在本文提供的药物组合物中,粘合剂或填充剂可以以约50至约99重量%存在。

[0164] 合适的稀释剂包括但不限于磷酸二钙、硫酸钙、乳糖、山梨醇、蔗糖、肌醇、纤维素、高岭土、甘露醇、氯化钠、无水淀粉和粉状糖。某些稀释剂,比如甘露醇、乳糖、山梨醇、蔗糖和肌醇,当以足够量存在时,可以赋予一些压制片允许通过咀嚼在口中崩解的性质。这种压制片可以用作咀嚼片。

[0165] 合适的崩解剂包括但不限于琼脂;膨润土;纤维素,比如甲基纤维素和羧甲基纤维素;木制品;天然海绵;阳离子交换树脂;海藻酸;树胶,比如瓜尔豆胶和硅酸铝镁HV;柑橘浆;交联纤维素,比如交联羧甲纤维素;交联聚合物,比如交聚维酮;交联淀粉;碳酸钙;微晶纤维素,比如淀粉乙酸钠;波拉克林钾;淀粉,比如玉米淀粉、马铃薯淀粉、木薯淀粉和预糊化淀粉;粘土;木质素(aligns);及其混合物。本文提供的药物组合物中的崩解剂的量根据制剂的类型而变化,并且对于本领域普通技术人员来说是容易辨别的。本文提供的药物组合物可以含有约0.5至约15重量%或约1至约5重量%的崩解剂。

[0166] 合适的润滑剂包括但不限于硬脂酸钙;硬脂酸镁;矿物油;轻质矿物油;甘油;山梨醇;甘露醇;二醇,比如山嵛酸甘油酯和聚乙二醇(PEG);硬脂酸;月桂基硫酸钠;滑石;氢化植物油,包括花生油、棉籽油、向日葵油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油;硬脂酸锌;油酸乙酯;月桂酸乙酯;琼脂;淀粉;石松;二氧化硅或硅胶比如AEROSIL®200(W.R.Grace Co.,Baltimore,MD)和CAB-O-SIL®(CabotCo.of Boston,MA);及其混合物。本文提供的药物组合物可以含有约0.1至约5重量%的润滑剂。

[0167] 合适的助流剂包括胶体二氧化硅CAB-O-SIL®(Cabot Co.of Boston,MA)和无石棉滑石。着色剂包括任何经批准、认证的水溶性FD&C染料,悬浮在氧化铝水合物上的水不溶性FD&C染料,和色淀及其混合物。色淀是通过将水溶性染料吸附到重金属的水合氧化物上的组合,形成了一种不溶性形式的染料。矫味剂包括从植物(比如水果)中提取的天然香料,以及产生令人愉快味觉的化合物(比如薄荷和水杨酸甲酯)的合成混合物。甜味剂包括蔗糖、乳糖、甘露醇、糖浆、甘油和人造甜味剂比如糖精和阿斯巴甜。合适的乳化剂包括明胶、阿拉伯胶、西黄蓍胶、膨润土和表面活性剂,比如聚氧乙烯脱水山梨糖醇单油酸酯(TWEEN®20)、聚氧乙烯脱水山梨糖醇单油酸酯80(TWEEN®80)和油酸三乙醇胺。助悬剂和分散剂包括羧甲基纤维素钠、果胶、西黄蓍胶、硅酸铝镁、阿拉伯胶、羧甲基纤维素钠、羟丙基甲基纤维素和聚乙烯吡咯烷酮。防腐剂包括甘油、对羟基苯甲酸甲酯和对羟基苯甲酸丙酯、苯甲酸、苯甲酸钠和醇。润湿剂包括单硬脂酸丙二醇酯、山梨糖醇酐单油酸酯、单月桂酸二甘醇酯和聚氧乙烯月桂基醚。溶剂包括甘油、山梨醇、乙醇和糖浆。乳液中使用的非水性液体的实例包括矿物油和棉籽油。有机酸包括柠檬酸和酒石酸。二氧化碳的来源包括碳酸氢钠和碳酸钠。

[0168] 应当理解,即使在同一制剂中,许多载体和赋形剂可以发挥多种功能。

[0169] 在进一步的实施方案中,本文提供的药物组合物可以作为压制片剂、研制片剂、咀嚼含片、快速溶解片剂、多层压制片剂或肠溶衣片剂、糖衣或薄膜包衣片剂提供。肠包衣片是用抗胃酸作用但在肠中溶解或崩解的物质包衣的压制片剂,从而保护活性成分免受胃酸环境的影响。肠溶衣包括但不限于脂肪酸、脂肪、水杨酸苯酯、蜡、虫胶、氨化虫胶和乙酸邻苯二甲酸纤维素。糖衣片剂是由糖衣包裹的压制片剂,其可能有益于掩盖令人不愉快的味道或气味并保护片剂免于氧化。薄膜包衣片是用薄层或水溶性材料膜覆盖的压制片剂。膜包衣包括但不限于羟乙基纤维素、羧甲基纤维素钠、聚乙二醇4000和邻苯二甲酸乙酸纤维素。膜包衣具有与糖包衣相同的一般特征。多层压制片剂是通过多于一个压制循环制成的压制片剂,包括分层片剂和压制包衣或干包衣片剂。

[0170] 片剂剂型可以由粉末状、结晶状或颗粒状的活性成分,单独或与本文中所述的一种或多种载体或赋形剂,包括粘合剂、崩解剂、控释聚合物、润滑剂、稀释剂或着色剂组合制成。矫味和甜味剂特别适用于形成咀嚼片和糖锭。

[0171] 本文提供的药物组合物可以作为软胶囊或硬胶囊提供,其可以由明胶、甲基纤维素、淀粉或藻酸钙制成。硬胶囊也称为干填充胶囊(DFC),由两部分组成,一部分滑过另一部分,从而完全包封活性成分。软弹性胶囊(SEC)是柔软的球形壳,比如明胶壳,其通过加入甘油、山梨糖醇或类似的多元醇塑化。软明胶壳可含有防腐剂以防止微生物的生长。合适的防腐剂是如本文所述的那些,包括对羟基苯甲酸甲酯和对羟基苯甲酸丙酯,以及山梨酸。本文提供的液体、半固体和固体剂型可以包封在胶囊中。合适的液体和半固体剂型包括在碳酸丙烯酯、植物油或甘油三酸酯中的溶液和悬浮液。含有这样的溶液的胶囊可以如美国专利No.4,328,245;4,409,239;和4,410,545的描述制备。为了改变或延缓活性成分的溶出,胶囊也可以按本领域技术人员已知的方式进行包衣。

[0172] 在其它实施方案中,本文提供的药物组合物可以以液体和半固体剂型提供,包括乳剂、溶液、混悬剂、酏剂和糖浆剂。乳剂是两相体系,其中一种液体以小球的形式分散在另一种液体中,其可以是水包油或油包水。乳剂可以包括可药用非水性液体或溶剂、乳化剂和防腐剂。混悬剂可以包括可药用助悬剂和防腐剂。水性醇溶液剂可包括可药用缩醛,例如低级烷基醛的二(低级烷基)缩醛(术语“低级”表示具有1至6个碳原子的烷基),例如乙醛缩二乙醇缩醛(acetaldehyde diethyl acetal);和具有一个或多个羟基的水混溶性溶剂,比如丙二醇和乙醇。酏剂是透明的、有甜味和水醇溶液。糖浆剂是糖例如蔗糖的浓缩水溶液,并且也可以含有防腐剂。对于液体剂型,例如聚乙二醇的溶液,可以用足量的可药用液体载体例如水稀释,以方便测量用于施用。

[0173] 其它有用的液体和半固体剂型包括但不限于含有本文提供的活性成分的那些,以及二烷基化的单或聚亚烷基二醇,包括1,2-二甲氧基甲烷、二甘醇二甲醚、三甘醇二甲醚、四甘醇二甲醚、聚乙二醇-350-二甲醚、聚乙二醇550-二甲醚、聚乙二醇-750-二甲醚,其中350、550和750指聚乙二醇的近似平均分子量。这些制剂可以进一步包括一种或多种抗氧剂,比如丁基羟基甲苯(BHT)、丁基羟基苯甲醚(BHA)、没食子酸丙酯、维生素E、氢醌、羟基香豆素、乙醇胺、卵磷脂、脑磷脂、抗坏血酸、苹果酸、山梨醇、磷酸、亚硫酸氢盐、焦亚硫酸氢钠、硫代二丙酸及其酯和二硫代氨基甲酸盐。

[0174] 本文提供用于口服施用的药物组合物还可以以脂质体、胶束、微球或纳米系统的

形式提供。胶束剂型可以如美国专利No.6,350,458的描述制备。

[0175] 在其它实施方案中，本文提供的药物组合物可以以非泡腾的或泡腾的颗粒剂和粉末形式提供，以重新构成液体剂型。在非泡腾颗粒或粉末中使用的可药用载体和赋形剂可以包括稀释剂、甜味剂和润湿剂。在泡腾颗粒或粉末中使用的可药用载体和赋形剂可以包括有机酸和二氧化碳源。

[0176] 在所有上述剂型中可以使用着色剂和矫味剂。

[0177] 本文提供的药物组合物可以配制成立即释放或改性释放剂型，包括延迟释放、持续释放、脉冲释放、控制释放、靶向释放和程序释放的形式。

[0178] 在进一步的实施方案中，本文提供的药物组合物可以与不损害期望治疗作用的其它活性成分或与补充期望作用的物质共同配制。

[0179] 将本文引用的所有出版物和专利文献通过援引并入本文，如同各个出版物或文献特别地或分别指出通过援引并入本文一样。出版物和专利文献的引用并不意味着承认任何这类文献是相关的现有技术，也不对任何这类文献的内容或日期构成任何承认。本发明现在通过撰写的说明书进行描述，本领域技术人员应当认识到本发明可以以多种实施方案实施，并且前述说明和下述实施例是用于说明性的目的，而不限制随后的权利要求书。

实施例

[0180] 实施例1.恩替司他调节髓源抑制细胞

[0181] 血样得自一组参与ENCORE 301临床试验的49名患者，其都患有晚期激素受体-阳性乳腺癌且都在非甾体芳香酶抑制剂上进展(progressed)。27名患者接受依西美坦和恩替司他(“EE”)，22名患者接受依西美坦和安慰剂(“EP”)。在第1周期第1天(C1D1;预治疗)、C1D2、C1D8和C1D15得到血样，用于生物标记分析。在这些患者样品中，分析34名(20名EE和14名EP)的循环免疫亚型。细胞群是基于下述表面标记物，其中“X-”指对于标记物X是阴性的，“X+”指对于标记物X是阳性的，“Xlow/-”指标记物X的水平低至不存在，和“Xhi”指标记物X的表达水平高：

[0182] 髓源抑制细胞:CD3-、CD19-、CD56-、HLA-DR-、CD11b+、CD33+。

[0183] PMN-MDSC:CD14-、CD11b+、CD33+。

[0184] M-MDSC:CD3-、CD19-、CD56-、HLA-DR-、CD11b+、CD33+、CD14+。

[0185] 未成熟的MDSC:CD3-、CD19-、CD56-、HLA-DR-、CD11b+、CD33+、CD14-。

[0186] CD8+T-cell:CD4-、CD8+、Foxp3-。

[0187] CD4+T-cell:CD8-、CD4+、Foxp3-。

[0188] T_{regs}:CD4+、CD8-、CD25hi、Foxp3+。

[0189] 分析三个群体的单核细胞：(1)CD14+;(2)CD14+,HLA-DR^{Hi};和(3)CD14+,HLA-DRlow/-。测定CD8+T-细胞、CD4+T-细胞和T_{regs}上的PD-1、CTLA-4和TIM-3，并测定髓源抑制细胞上的CD40。

[0190] 在C1D1和C1D15时间点之间，进行EE和EP治疗组的全部比较。对于PMN-MDSC，EE治疗导致-14.67％的变化，而EP治疗导致+20.56％的变化。对于M-MDSC，EE治疗导致-62.3％的变化，而EP治疗导致+1.97％的变化。对于未成熟的MDSC，EE治疗导致-20.9％的变化，而EP治疗导致-15.0％的变化。在髓源抑制细胞、M-MDSC、PMN-MDSC和未成熟的髓源抑制细胞

中，与EP治疗组相比，EE治疗组的CD40水平降低了。对于HLA-DR+单核细胞，EE治疗导致+34.1％的变化，而EP治疗导致-11.38％的变化。在单核细胞上，EE治疗组中HLA-DR的水平为+16.3％，而在EP治疗组中其为-4.7％。

[0191] 实施例2.恩替司他组合疗法调节$CD14^{+}$-HLA-DR(lo/阴性的)髓源抑制细胞

[0192] 恩替司他，一类HDAC抑制剂(HDACi)，在ENCORE301中显示出有希望活性，ENCORE301是一种在非甾体芳香酶抑制剂上进展的晚期激素受体阳性乳腺癌中恩替司他+依西美坦(“EE”)对比依西美坦+安慰剂(“EP”)的随机的、安慰剂-对照的II期试验。ENCORE301满足初级无进展生存期终点，并且对于EE组显示总生存期(OS)终点中位8.3个月改善。基于那些结果，恩替司他被批准指定突破疗法(breakthrough therapy designation)，并且目前参与了比较EE与EP的3期试验E2112。新出现的临床前研究表明恩替司他对于包括调节T细胞(Treg)和髓源抑制细胞(MDSC)的免疫抑制细胞具有免疫调节作用，并且可以与免疫检查点阻断剂组合适当地根除免疫原性小鼠的肿瘤。该活性显示是经由MSDC的减少介导的(Kim等,PNAS 2014,111:11774-9)。这些结果可以通过恩替司他选择性靶向那些1类HDAC酶来解释，所述酶显示出在Tregs(Shen等PLoS One 2012,7:e30815;Wang等JCI2015,125:1111-1123)和MDSC(Youn等Nat.Immunol 2013,14:211-220)的分化和活化中起作用。

[0193] 基于这些数据，进行来自ENCORE301乳腺癌患者的血样中免疫亚型的分析。

[0194] 在第1循环第1天(C1D1;预治疗)、C1D2、C1D8和C1D15，从代表参与ENCORE301的130名患者的49名患者(27EE和22EP)的亚组采集血液。在这些49名患者中，从34名患者(20EE和14EP)获得C1D1和C1D15样品，用于进一步分析循环免疫亚型。发现在34名患者中，EE(恩替司他+依西美坦)患者的无进展生存期(PFS)的结果为4.9个月，(依西美坦+安慰剂)的结果为1.8个月，危险比率(HR)为0.62个月，发现EE的总生存期(OS)为28.1个月，EP的OS为20.3个月，HR为0.62个月，基线人口统计学与意向治疗群体一致。

[0195] 根据下述表面标志物评价亚组中C1D15对比基线的百分比变化：Lin-MDSC(lin;CD3,CD19,CD56)-HLA-DR-CD11b+CD33+)，粒细胞的MDSC(CD14-CD11b+CD33+)、单核细胞的MDSC(Lin-HLA-DR-CD11b+CD33+CD14+)，未成熟的MDSC(Lin-HLA-DR-CD11b+CD33+CD14-)、CD8+T-细胞(CD4-CD8+)、Foxp3-CD4+T-细胞(CD8-CD4+Foxp3-)和Tregs(CD4+CD8-CD25hiFoxp3+)。分析三个群体的单核细胞：CD14+,CD14+HLA-DR^{Hi}和CD14+HLA-DR-低/阴性的。另外，测定T-细胞亚型上的PD-1、CTLA-4和TIM-3，并且测定MDSC上的CD40。

[0196] 与临床前数据一致，观察到EE中粒细胞的MDSC(-14.67％对比+20.56％，P＝0.03)和单核细胞的MDSC(-62.3％对比+1.97％，P＝0.002)的减少。有趣地是，CD40，一种MDSC-介导的免疫抑制所需的共刺激受体，也在所有的MDSC亚型中下调了。恩替司他不会显著地影响CD8+T-细胞与CD4+T-细胞的比例，或者改变CTLA-4、PD-1或TIM-3在T-细胞亚型上的表达。HLA-DR在单核细胞上的表达减少与癌症的预后不良有关。与恩替司他-介导的免疫调节作用一致，观察到HLA-DR+单核细胞的数量增加(34.1％对比-11.38％，P＝0.0004)和单核细胞上HLA-DR的表达水平增加(16.3％对比-4.7％;P＝0.015)。鉴定了在该亚组的患者中C1D15免疫细胞变化和临床结果之间没有相关性。

[0197] 将结果显示在下表1中。

[0198] 表1：EE对比EP治疗对于表面标记物的影响

[0199]

	EP (n=14; 从基线到C1D15的变化 (%))		EE (n=20; 从基线到C1D15的变化 (%))		
实验室测试名称	平均值(SD)	中值(最小, 最大)	平均值(SD)	中值(最小, 最大)	p-值(EE对比EP)
CD14+	-0.58 (22.73)	1.90 (-38.67, 42.09)	15.71 (28.49)	13.12 (-22.76, 65.47)	0.16
CD14+HLA-DR^{HI}	-8.63 (17.77)	-11.38 (-37.35, 25.37)	41.76 (44.28)	34.08 (-25.35, 123.84)	0.0004
CD14+HLA-DR$^{LO/NEG}$	13.45 (43.11)	1.55 (-41.10, 93.38)	3.56 (42.07)	-3.46 (-47.33, 66.14)	0.45
CD14+上的HLA-DR表达	-6.23 (18.77)	-4.74 (-32.46, 29.94)	23.20 (36.69)	16.26 (-36.75, 89.30)	0.02
g-MDSCs	20.56 (68.45)	3.82 (-72.47, 224.31)	-14.67 (65.78)	-34.53 (-77.75, 220.55)	0.03
g-MDSC上的CD40	16.52 (32.07)	10.52 (-27.59, 75.76)	-0.35 (30.88)	-0.72 (-47.74, 50.00)	0.22
m-MDSCs	28.24 (86.60)	1.97 (-55.05, 241.46)	-44.94	-62.33	0.002

[0200]

	EP (n=14; 从基线到C1D15的变化 (%))		EE (n=20; 从基线到C1D15的变化 (%))		
实验室测试名称	平均值(SD)	中值(最小, 最大)	平均值(SD)	中值(最小, 最大)	p-值(EE对比EP)
			(50.22)	(-92.81, 85.71)	
m-MDSC上的CD40	3.37 (25.69)	1.57 (-45.55, 73.91)	-16.75 (21.37)	-17.18 (-61.05, 25.29)	0.011
Lin-MDSCs	1.28 (83.31)	-22.11 (-58.15, 274.45)	-13.26 (58.66)	-29.03 (-83.61, 120.51)	0.611
Lin-MDSC上的CD40	14.85 (34.92)	3.37 (-26.61, 97.78)	-16.67 (26.47)	-15.38 (-71.05, 21.82)	0.02
未成熟的 MDSC	4.92 (94.50)	-20.94 (-68.27, 306.60)	18.75 (130.14)	-14.95 (-89.23, 467.57)	0.93
未成熟的MDSC上的CD40	18.64 (35.15)	9.00 (-32.58, 86.36)	-11.61 (21.90)	-8.51 (-49.30, 31.25)	0.007

[0201] 进一步,如图1所示,对于HLA-DR^{+}单核细胞,EE治疗导致+34.1%的变化,而EP治疗导致-11.38%的变化。在单核细胞上,EE治疗组中HLA-DR的水平为+16.3%,而在EP治疗组中其为-4.7%。更多数据显示在图2-5中。方法和结果也描述在Tomita et al.,"The interplay of epigenetic therapy and immunity in locally recurrent or metastatic estrogen receptor-positive breast cancer:Correlative analysis of ENCORE 301,a randomized,placebo-controlled phase II trial of exemestane with or without entinostat",ONCOIMMUNOLOGY,Taylor and Francis Online,2016中,将其全部内容整体通过援引并入本文。

[0202] 总之,来自从ENCORE 301中用恩替司他组合依西美坦治疗的ER+乳腺癌患者得到的血样品的数据提供了患者中HDACi-介导的减少免疫抑制的MDSC和增加免疫活性的CD14+HLA-DR^{Hi}单核细胞的第一个证据。这些发现可以部分地解释在ENCORE 301中用EE所看到的OS改善,并且提供了设计的恩替司他与免疫检查点阻断的组合研究的强有力原理。

[0203] 在恩替司他治疗的患者中MDSC的减少与最近公开的临床前研究(Kim et al PNAS 2014)一致,证实了恩替司他通过减少MDSC增强免疫检查点抑制剂的抗-肿瘤活性的能力。

已经开始了恩替司他与派姆单抗的组合在NSCLC和黑素瘤中的1b/2期试验,以测定该组合的安全性和临床益处。

[0204] 设计了恩替司他与阿珠特单抗(atezolizumab)的组合在TNBC中的1b/2期试验。

[0205] 正在进行另外的临床前和临床研究,以进一步研究恩替司他的免疫调节活性。

[0206] 实施例3.用于恩替司他与依西美坦组合疗法的患者选择

[0207] 为了选择用恩替司他与依西美坦的组合治疗的患者,从患者采集外周血样品。患者为被诊断患有转移性的激素-受体阳性乳腺癌的绝经后女性,其在用非甾体芳香酶抑制剂治疗期间已经进展。将5毫升(mL)的外周血样品放入EDTA收集管中,将其在冰上快速冷却。将血样品转移到圆锥管中,用15mL的红细胞裂解缓冲液稀释,并在室温下培养10分钟。通过用30mL的磷酸缓冲盐水(PBS)稀释淬灭红细胞裂解。在4℃下,将细胞悬液以400×g离心5分钟,并弃去上清液。将沉淀物在5mL的PBS中,并转移到新的圆锥管中。将再悬浮的样品置于5mL Ficoll®下。将细胞用以400x g离心20分钟,在离心时关闭闸。将有核细胞采集在PBS的界面,并将Ficoll®层收集到新的圆锥管中。

[0208] 将抽取的等体积的原始血液加入到新的圆锥管中的沉淀物中,以洗涤所述细胞。在4℃下,以400×g离心所述细胞悬液5分钟,并弃去上清液。将等体积的细胞再悬浮到在含有1%牛血清白蛋白和0.5%EDTA的PBS(染色缓冲液)中的所抽取的原始血液中。然后,使用血细胞计数器对活细胞计数。在4℃下,将细胞悬液以400×g离心5分钟,弃去上清液,并将细胞再悬浮在染色缓冲液中至细胞浓度为约10^7个细胞/mL,将1mL等分试样转移到新的管中。

[0209] 在第一个研究中,将下述抗体加入到再悬浮的细胞中:FITC-结合的抗-CD11b;PE-结合的抗-CD33;PerCP-Cy™5.5-结合的抗-CD14;和APC-结合的抗-CD3、抗-CD19、抗-CD56和抗-HLA-DR。在第二个研究中,将下述抗体加入到再悬浮的细胞中:FITC-结合的抗-CD14;PE-结合的抗-HLA-DR;和APC-结合的抗-CD3、抗-CD19和抗-CD56。在第三个研究中,将下述抗体加入到再悬浮的细胞中:FITC-结合的抗-CD14和PE-结合的抗-HLA-DR。对照样品包括未染色的细胞和染色的细胞,其中各组荧光染料抗体中的一个被排除。覆盖细胞使光暴露最小,且置于室温下20分钟。将染色的细胞在染色缓冲液中通过在4℃下以400×g离心5分钟洗涤两次,弃去上清液,并重悬浮在等体积的染色缓冲液中。然后,将染色的细胞转移到聚丙烯管中,用于流式细胞仪上。

[0210] 流式细胞术是在Cytomics FC 500流式细胞仪上进行的,其自动化操化基于管采集的流式细胞术数据。在执行自动运行之后,对样品校正背景荧光(使用未染色的样品)和荧光染料补偿(使用分别减少的荧光染料样品)。在第一个研究中,然后计算抗体-细胞复合物,对于髓源抑制细胞,通过CD11b和CD33鉴定为阳性的且通过CD3、CD19、CD56、HLA-DR鉴定为阴性,以及对于外周血单核细胞,通过CD3、CD14、CD19、CD56和HLA-DR鉴定为阳性的且通过CD11b和CD33鉴定为阴性。使用所述抗体-细胞复合物的这些值计算髓源抑制细胞与外周血单核细胞的比例。在这种情况下,如果患者具有在1:100至1:1之间的比例,则表明存在数量升高的髓源抑制细胞,选择该患者用于用恩替司他和依西美坦的组合疗法。在第二研究中,通过CD14阳性、HLA-DR低表达或阴性、以及CD3、CD19和CD56阴性鉴定CD14-阳性的且HLA-DR-lo/阴性的细胞。通过CD3、CD19、CD56和HLA-DR阳性鉴定外周血单核细胞。这些值用于计算CD14-阳性的且HLA-DR-lo/阴性的细胞与外周血单核细胞的比例。在这种情况下,如

果患者具有在1:200至1:1之间的比例,表明存在数量升高的CD14-阳性的且HLA-DR-lo/阴性的细胞,则患者被选择用于恩替司他和依西美坦的组合疗法。在第三个研究中,通过CD14阳性且HLA-DR低表达或阴性鉴定CD14-阳性的且HLA-DR-lo/阴性的细胞。通过与HLA-DR表达无关的CD14阳性鉴定CD14-阳性的细胞。这些值用于计算CD14-阳性的且HLA-DR-lo/阴性的细胞与CD14-阳性的细胞的比例。在这种情况下,如果患者具有在1:100至99:1之间的比例,表明存在数量升高的CD14-阳性的且HLA-DR-lo/阴性的细胞,则患者被选择用于恩替司他和依西美坦的组合疗法。

[0211] 虽然本发明已经结合其详细说明进行了描述,但是前述说明书旨在举例说明而非限制由附加权利要求书范围所定义的本发明的范围。其它方面、优点和修饰都在下述权利要求的范围之内。

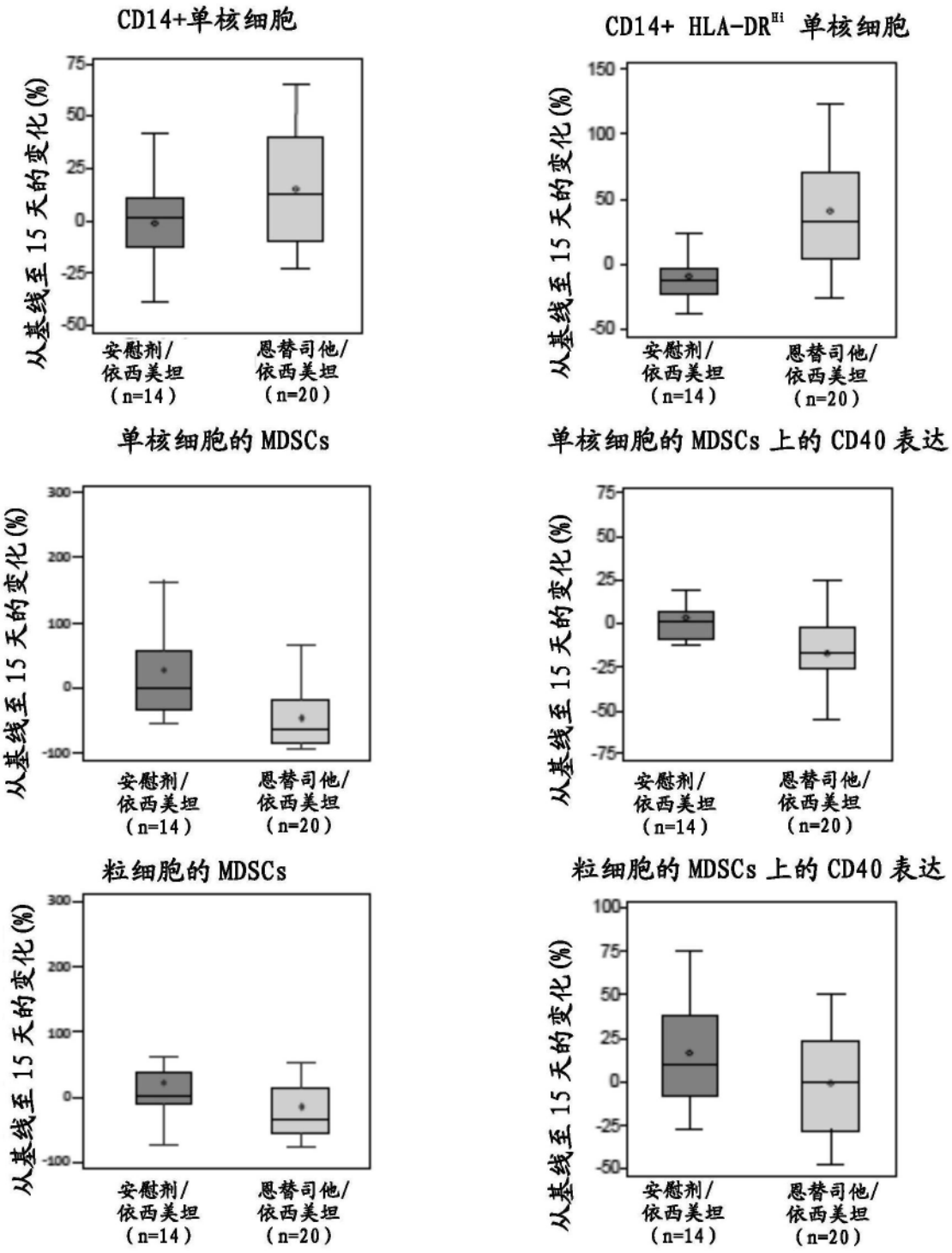

CD14+单核细胞
从基线至 15 天的变化(%)
75
50
25
0
-25
-50
安慰剂/
依西美坦
(n=14)
恩替司他/
依西美坦
(n=20)
CD14+ HLA-DR^Hi 单核细胞
从基线至 15 天的变化(%)
150
100
50
0
-50
安慰剂/
依西美坦
(n=14)
恩替司他/
依西美坦
(n=20)
单核细胞的 MDSCs
从基线至 15 天的变化(%)
300
200
100
0
-100
安慰剂/
依西美坦
(n=14)
恩替司他/
依西美坦
(n=20)
单核细胞的 MDSCs 上的 CD40 表达
从基线至 15 天的变化(%)
75
50
25
0
-25
-50
-75
安慰剂/
依西美坦
(n=14)
恩替司他/
依西美坦
(n=20)
粒细胞的 MDSCs
从基线至 15 天的变化(%)
300
200
100
0
-100
安慰剂/
依西美坦
(n=14)
恩替司他/
依西美坦
(n=20)
粒细胞的 MDSCs 上的 CD40 表达
从基线至 15 天的变化(%)
100
75
50
25
0
-25
-50
安慰剂/
依西美坦
(n=14)
恩替司他/
依西美坦
(n=20)

图1

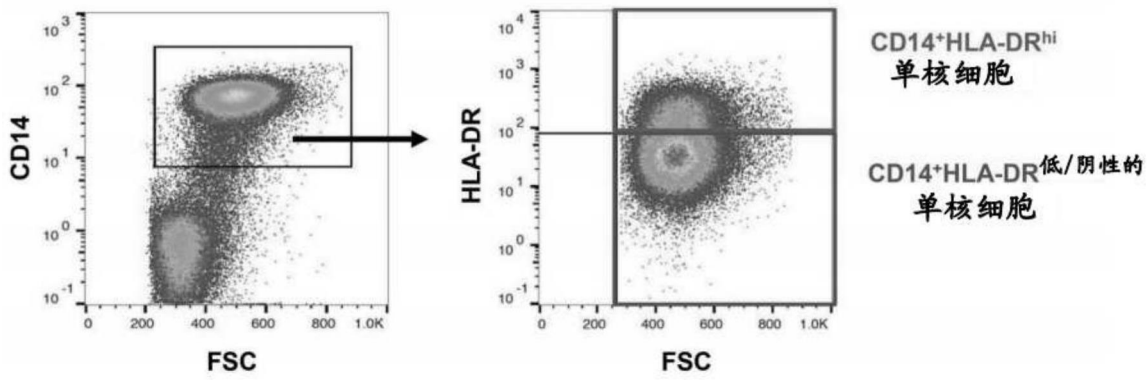

CD14
FSC
HLA-DR
FSC
CD14+HLA-DRhi
单核细胞
CD14+HLA-DR低/阴性的
单核细胞

图2A

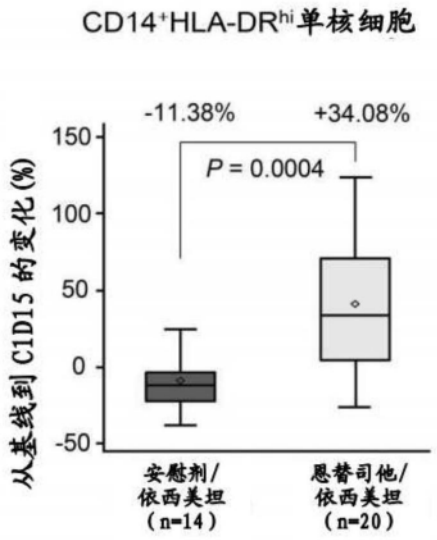

CD14+HLA-DRhi单核细胞
-11.38%
+34.08%
P = 0.0004
从基线到 C1D15 的变化 (%)
安慰剂/
依西美坦
(n=14)
恩替司他/
依西美坦
(n=20)

图2B

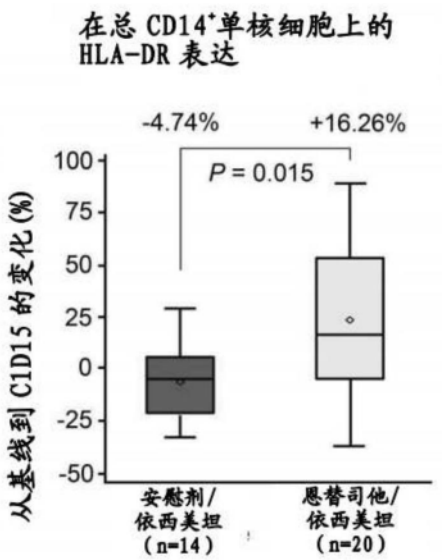

在总 CD14+单核细胞上的
HLA-DR 表达
-4.74%
+16.26%
P = 0.015
从基线到 C1D15 的变化 (%)
100
75
50
25
0
-25
-50
安慰剂/
依西美坦
(n=14)
恩替司他/
依西美坦
(n=20)

图2C

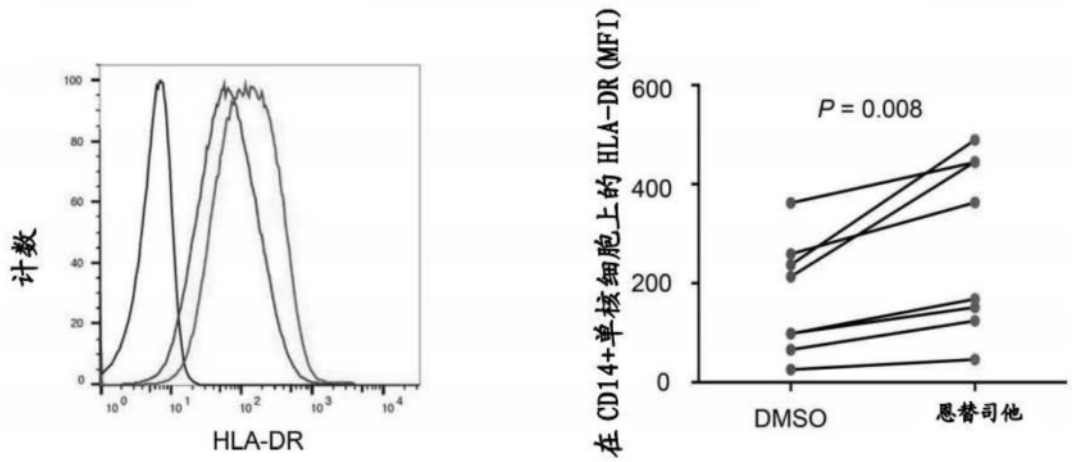

计数
HLA-DR
在 CD14+单核细胞上的 HLA-DR (MFI)
P = 0.008
600
400
200
0
DMSO
恩替司他

图2D

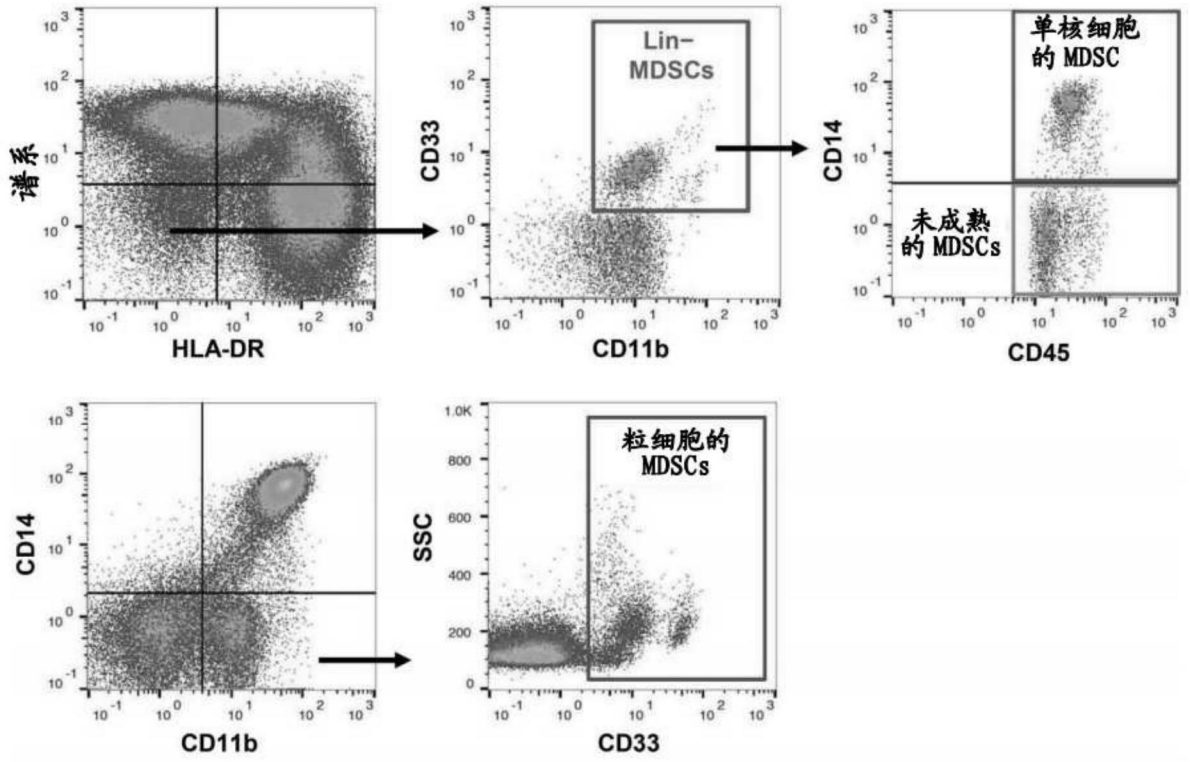

谱系
HLA-DR
CD33
CD11b
Lin-
MDSCs
CD14
CD45
单核细胞
的 MDSC
未成熟
的 MDSCs
CD14
CD11b
SSC
CD33
粒细胞的
MDSCs

图3A

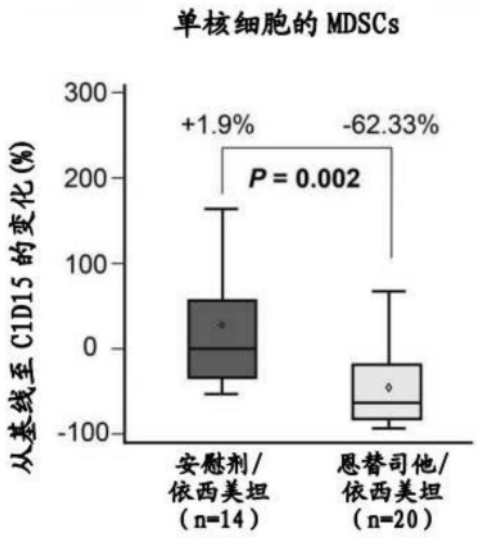

单核细胞的 MDSCs
从基线至 C1D15 的变化 (%)
300
200
100
0
-100
+1.9%
-62.33%
P = 0.002
安慰剂/
依西美坦
(n=14)
恩替司他/
依西美坦
(n=20)

图3B

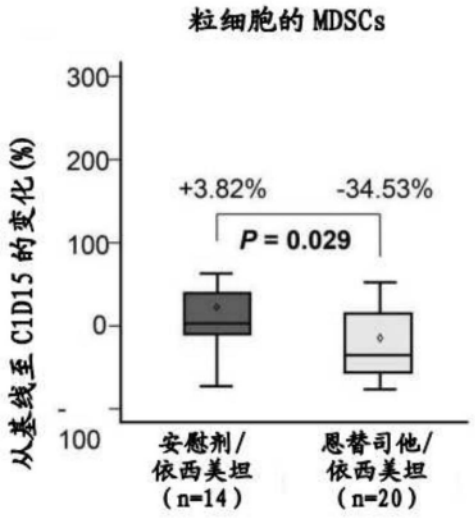

粒细胞的 MDSCs
从基线至 C1D15 的变化 (%)
300
200
100
0
-100
+3.82%
-34.53%
P = 0.029
安慰剂/
依西美坦
(n=14)
恩替司他/
依西美坦
(n=20)

图3C

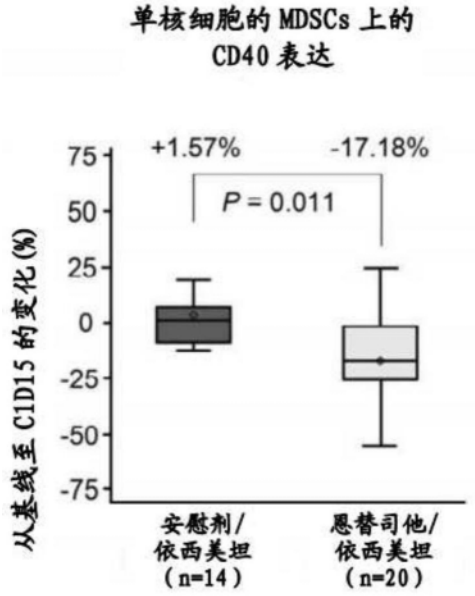

单核细胞的 MDSCs 上的
CD40 表达
从基线至 C1D15 的变化 (%)
75
50
25
0
-25
-50
-75
+1.57%
-17.18%
P = 0.011
安慰剂/
依西美坦
(n=14)
恩替司他/
依西美坦
(n=20)

图4A

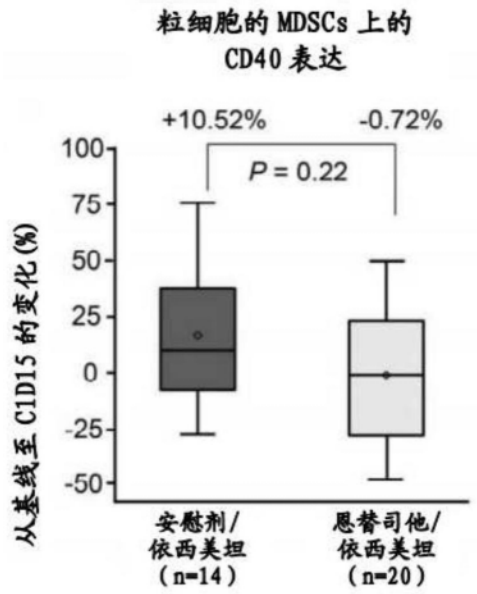

粒细胞的 MDSCs 上的
CD40 表达
+10.52%
-0.72%
P = 0.22
从基线至 C1D15 的变化 (%)
100
75
50
25
0
-25
-50
安慰剂/
依西美坦
(n=14)
恩替司他/
依西美坦
(n=20)

图4B

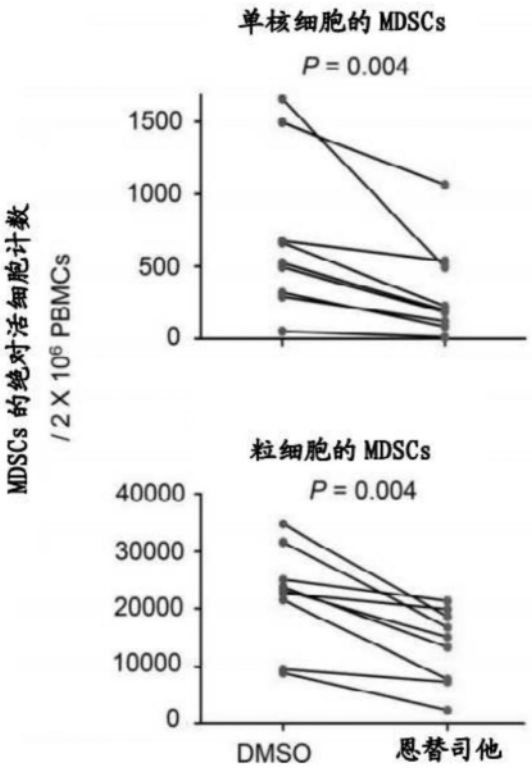

单核细胞的 MDSCs
P = 0.004
MDSCs 的绝对活细胞计数
/ 2 X 10⁶ PBMCs
1500
1000
500
0
粒细胞的 MDSCs
P = 0.004
40000
30000
20000
10000
0
DMSO
恩替司他

图4C

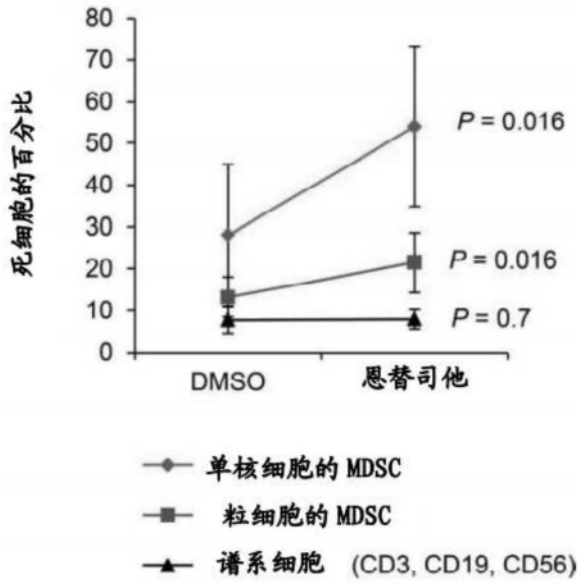

80
70
60
50
40
30
20
10
0
死细胞的百分比
P = 0.016
P = 0.016
P = 0.7
DMSO
恩替司他
单核细胞的 MDSC
粒细胞的 MDSC
谱系细胞 (CD3, CD19, CD56)

图4D

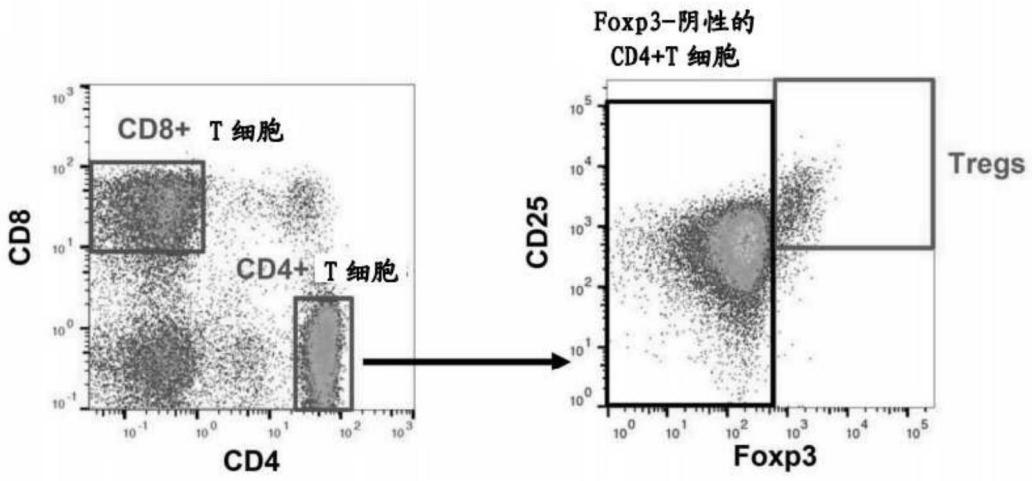

CD8+ T 细胞
CD4+ T 细胞
CD8
CD4
Foxp3-阴性的
CD4+T 细胞
CD25
Foxp3
Tregs

图5A

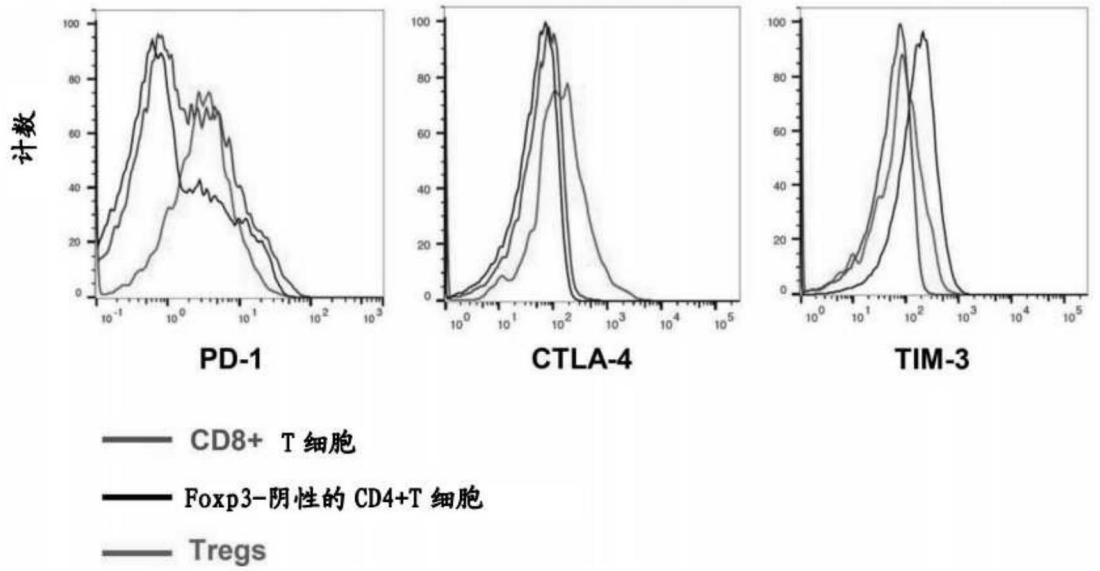


图5B