



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104936611 A

(43) 申请公布日 2015. 09. 23

(21) 申请号 201480005012. 1

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2014. 01. 17

A61K 38/47(2006. 01)

(30) 优先权数据

61/754, 056 2013. 01. 18 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2015. 07. 16

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2014/011995 2014. 01. 17

(87) PCT国际申请的公布数据

W02014/113641 EN 2014. 07. 24

(71) 申请人 艾里斯·克莱恩

地址 美国南卡罗来纳州

(72) 发明人 艾里斯·克莱恩

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

代理人 曹立莉

权利要求书4页 说明书18页

(54) 发明名称

用于癌症的免疫规划和治疗的选择性糖苷酶方案

(57) 摘要

本发明涉及用糖苷酶治疗和预防癌症。在各个方面中,本发明涉及治疗和管理癌症以预防转移或复发,或改善常规治疗方案的结果并提高其成功治疗的比率。大量研究和药物研制集中于癌症的治疗。癌症仍然是药物管线的最高目标之一。正在研制中的产品在激酶抑制剂至血管生成抑制剂、针对肿瘤靶标的单克隆抗体、凋亡诱导剂、抗肿瘤疫苗接种以及针对各种肿瘤靶标并且具有各种细胞毒性效应的常规化学治疗剂范围内。

1. 一种用于改善癌症治疗的结果或反应率的方法,其包括向进行癌症治疗的一个或多个患者施用免疫耐受糖苷酶方案,以从癌细胞和 / 或免疫细胞和 / 或血清蛋白移除有效量的糖基残基。

2. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述糖苷酶促进恶性细胞上的抗原的显露和 / 或促进免疫级联反应。

3. 如权利要求 2 所述的方法,其中所述糖苷酶包含以下中的一种或多种:神经氨酸酶、半乳糖苷酶、N-乙酰氨基半乳糖苷酶、岩藻糖苷酶、葡萄糖苷酶、N-乙酰氨基葡萄糖苷酶以及甘露糖苷酶。

4. 如权利要求 2 或 3 所述的方法,其中所述糖苷酶包含至少两种或三种糖苷酶。

5. 如权利要求 4 所述的方法,其中所述糖苷酶包含神经氨酸酶和 / 或 β -半乳糖苷酶。

6. 如权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法,其中所述一个或多个患者不进行肿瘤或癌细胞的分子分析。

7. 如权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法,其中所述一个或多个患者不进行肿瘤或癌细胞的化疗敏感性测试。

8. 如权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法,其中所述患者关于存活具有不良预后。

9. 如权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法,其中所述癌症各自包括实体瘤。

10. 如权利要求 8 或 9 所述的方法,其中所述癌症是严重唾液酸化的。

11. 如权利要求 10 所述的方法,其中所述癌症是以下中的一种或多种:包括 SCLC 和 NSCLC 在内的肺癌、间皮瘤、脑癌、成胶质细胞瘤、头颈癌、食管癌、乳腺癌、淋巴瘤、前列腺癌、胰腺癌、肝癌、胃癌、肾癌、结肠或结肠直肠癌、卵巢癌、子宫内膜癌、子宫颈癌、睾丸癌以及黑色素瘤。

12. 如权利要求 9 至 11 中任一项所述的方法,其中所述癌症是 I 期或是转移前的。

13. 如权利要求 9 至 11 中任一项所述的方法,其中所述癌症是 II 期或 III 期。

14. 如权利要求 9 至 11 中任一项所述的方法,其中所述癌症是 IV 期,或是转移性的。

15. 如权利要求 9 至 11 中任一项所述的方法,其中所述癌症是不可切除的。

16. 如权利要求 9 至 11 中任一项所述的方法,其中所述癌症具有多重耐药性。

17. 如权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法,其中所述癌症是白血病。

18. 如权利要求 17 所述的方法,其中所述白血病是慢性髓性白血病 (CML) 或急性成淋巴细胞性白血病 (ALL),并且其可能具有耐药性。

19. 如权利要求 1 至 18 中任一项所述的方法,其中所述患者在缓解中。

20. 如权利要求 1 至 18 中任一项所述的方法,其中所述癌症是复发。

21. 如权利要求 1 至 20 中任一项所述的方法,其中所述糖苷酶方案被施用以使所述患者为放射治疗作准备。

22. 如权利要求 1 至 21 中任一项所述的方法,其中所述糖苷酶方案是在放射治疗之后施用。

23. 如权利要求 1 至 22 中任一项所述的方法,其中所述糖苷酶是在所述放射治疗方案期间施用。

24. 如权利要求 1 至 16 以及 19 至 23 中任一项所述的方法,其中所述糖苷酶方案是在肿瘤切除之前任选与新辅助化疗一起施用。

25. 如权利要求 1 至 16 以及 19 至 23 中任一项所述的方法, 其中所述糖苷酶方案是在肿瘤切除之后任选与辅助化疗一起施用。

26. 如权利要求 1 至 25 中任一项所述的方法, 其中所述患者接受选自以下的化疗: 蒽环霉素、泰素或泰素类、长春花生物碱、烷化剂、插入剂、免疫调节剂或免疫缀合物、激酶抑制剂以及氮芥。

27. 如权利要求 1 至 26 中任一项所述的方法, 其中所述患者接受拓扑异构酶抑制剂 (I 或 II)、凋亡诱导剂、蛋白酶抑制剂、微管抑制剂、有丝分裂抑制剂、抗代谢物、信号转导抑制剂、雌激素受体抑制剂、EGFR 抑制剂、Her2 抑制剂或芳香酶抑制剂。

28. 如权利要求 1 至 27 中任一项所述的方法, 其中所述患者接受以下中的一种或多种: 柔红霉素、多柔比星、表柔比星、伊达比星、阿霉素、长春新碱、卡莫司汀、顺铂、5- 氟尿嘧啶、他莫昔芬、甲羟孕酮、善得定、丝裂霉素 C、膦甲酸、紫杉醇、多西他赛、吉西他滨、氟达拉滨、卡铂、甲酰四氢叶酸、他莫昔芬、戈舍瑞林、酮康唑、亮丙瑞林氟他米特、长春碱、长春地辛、长春瑞滨、喜树碱、拓扑替康、盐酸伊立替康、依托泊苷、米托蒽醌、替尼泊苷、安吡啶、美巴龙、盐酸吡罗蒽醌、甲氨蝶呤、6- 巯基嘌呤、6- 硫鸟嘌呤、阿糖胞苷 (Ara-C)、三甲曲沙、阿西维辛、阿拉诺新、吡唑呋喃菌素、喷司他丁、5- 阿扎胞苷、5- 阿扎胞苷、5- 氮杂 -5- 氮杂 -2'- 脱氧胞苷、腺苷阿拉伯糖苷 (Ara-A)、克拉屈滨、呋氟尿嘧啶、UFT (尿嘧啶与呋氟尿嘧啶的组合)、5- 氟 -2'- 脱氧尿苷、5- 氟尿苷、5'- 脱氧 -5- 氟尿苷、羟基脲、dihydrolenchiorambucil、噻唑呋林、奥沙利铂、美法仑、塞替派、白消安、苯丁酸氮芥、普卡霉素、达卡巴嗪、磷酸异环磷酰胺、环磷酰胺、哌泊溴烷、4- 甘薯苦醇、二氢哌隆、螺莫司汀、格尔德霉素、细胞松弛素、缩酚酸肽、4'- 氰基 -3-(4-(例如诺雷德) 和 4'- 氰基 -3-(4- 氟苯基磺酰基) -2- 羟基 -3- 甲基 -3'-(三氟甲 - 基) 丙酰替苯胺。

29. 如权利要求 1 至 28 中任一项所述的方法, 其中所述患者接受以下中的一种或多种: 抗 Her2/neu 抗体, 诸如赫塞汀; 抗 EGFR 抗体, 诸如爱必妥; 生长因子受体抗体, 诸如阿瓦斯汀; 小分子抑制剂, 诸如特罗凯、易瑞沙或舒尼替尼; 或抗 CD20, 诸如瑞图宣。

30. 如权利要求 29 所述的方法, 其中所述患者接受埃罗替尼、吉非替尼、拉帕替尼、西妥昔单抗、帕尼单抗或伊马替尼。

31. 如权利要求 26 所述的方法, 其中所述患者接受口毒性化疗。

32. 如权利要求 31 所述的方法, 其中所述口毒性化疗是以下中的一种或其组合: 5- 氟尿嘧啶、甲氨蝶呤、阿糖胞苷、顺铂、卡铂、紫杉醇、多西他赛、多柔比星以及依托泊苷。

33. 如权利要求 1 至 23 中任一项所述的方法, 其中所述糖苷酶方案是作为化疗的替代方案施用。

34. 如权利要求 33 所述的方法, 其中所述患者是化疗治疗的不良候选者。

35. 如权利要求 24 至 32 中任一项所述的方法, 其中所述糖苷酶方案是在化疗周期之前施用。

36. 如权利要求 21 至 29 中任一项所述的方法, 其中所述糖苷酶方案是在化疗周期之间施用。

37. 如权利要求 24 至 32 中任一项所述的方法, 其中所述糖苷酶方案是在化疗完成之后施用。

38. 如权利要求 1 所述的方法, 其中所述患者接受骨髓移植, 并且所述糖苷酶方案是在

移植之前和 / 或之后提供。

39. 如权利要求 1 至 38 中任一项所述的方法, 其中所述糖苷酶的施用剂量和 / 或频率不引起持久的关节不适或不舒服。

40. 如权利要求 39 所述的方法, 其中所述糖苷酶不在关节不适或不舒服时施用。

41. 一种用于治疗对化疗治疗具耐药性的肿瘤的方法, 其包括向所述患者施用免疫耐受糖苷酶方案。

42. 如权利要求 41 所述的方法, 其中所述糖苷酶方案是在不成功的化疗治疗之后施用。

43. 如权利要求 41 所述的方法, 其中所述癌症是在化疗治疗之后的复发。

44. 如权利要求 41 所述的方法, 其中所述癌症具有耐药性癌症的一种或多种生物标记。

45. 如权利要求 41 至 44 中任一项所述的方法, 其中所述糖苷酶的施用剂量和 / 或频率不引起持久的不适。

46. 如权利要求 45 所述的方法, 其中所述糖苷酶不在关节不适或不舒服时施用。

47. 一种预防倾向于发生癌症的患者的癌症的方法, 其包括向所述患者施用免疫耐受糖苷酶信号传导方案。

48. 如权利要求 47 所述的方法, 其中所述患者的特征在于遗传倾向性, 其任选是乳腺癌、结肠癌或皮肤癌。

49. 如权利要求 48 所述的方法, 其中所述患者先前已发生癌症至少两次。

50. 如权利要求 1 至 49 中任一项所述的方法, 其中所述糖苷酶是通过选自以下的途径施用: 舌下、经鼻、输液港、皮肤下、灌胃、眼内、静脉内、肌肉内、皮下、经皮以及经颊。

51. 如权利要求 50 所述的方法, 其中所述糖苷酶是舌下施用。

52. 如权利要求 50 所述的方法, 其中所述糖苷酶是生物来源的糖苷酶, 或是其保持免疫级联反应活性的衍生物或活性部分。

53. 如权利要求 50 所述的方法, 其中所述糖苷酶是来自生物来源或是重组的或合成的。

54. 如权利要求 1 至 53 中任一项所述的方法, 其中所述糖苷酶是每天施用平均 2 至 6 次持续至少一周、至少一个月。

55. 如权利要求 54 所述的方法, 其中所述糖苷酶是每天施用平均 2 至 6 次持续至少两个月、至少四个月或至少六个月。

56. 如权利要求 54 所述的方法, 其中所述患者随后以每天约一次剂量长期治疗持续至少六个月或至少一年、或至少两年、或至少五年或更久。

57. 如权利要求 50 至 56 中任一项所述的方法, 其中所述糖苷酶的给药剂量或频率是基于诸如关节不适等不适进行调整。

58. 一种药物组合物, 其包含以下中的至少两种: 神经氨酸酶、半乳糖苷酶、N-乙酰氨基半乳糖苷酶、岩藻糖苷酶、葡萄糖苷酶、N-乙酰氨基葡萄糖苷酶以及甘露糖苷酶, 以及药学上可接受的赋形剂。

59. 如权利要求 58 所述的组合物, 其中所述组合物包含神经氨酸酶和 β -半乳糖苷酶。

60. 如权利要求 58 或 59 所述的组合物, 其中所述糖苷酶合计以约 10^{-3} mg 至 10^{-8} mg 之

间存在。

61. 如权利要求 60 所述的组合物,其中所述组合物被配制成用于舌下递送。

62. 一种用于施用如权利要求 58 至 61 中任一项所述的糖苷酶组合物的药物施用器,所述施用器包含至少 100 次剂量的所述糖苷酶组合物。

63. 如权利要求 62 所述的药物施用器,其中所述施用器是用于舌下、经鼻、经皮、皮肤下延时释放、眼内、灌胃、输液港、皮下、经口或经颊递送。

64. 如权利要求 62 所述的药物施用器,其中所述施用器是用于舌下递送。

65. 如权利要求 62 至 65 中任一项所述的药物施用器,其中所述施用器以维持剩余剂量的无菌条件的方式分配剂量。

66. 如权利要求 65 所述的药物施用器,其中所述施用器递送 50 至 100 μ l 的剂量。

用于癌症的免疫规划和治疗的选择性糖苷酶方案

[0001] 优先权

[0002] 本申请要求于 2013 年 1 月 18 日提交的美国临时申请号 61/754,056 的优先权和权益,该临时申请特此以全文引用的方式并入。

发明领域

[0003] 本发明涉及用使用一种或多种糖苷酶的方案引发的免疫级联反应来治疗和预防癌症。在各个方面中,本发明涉及治疗和管理癌症以预防转移或复发,或改善常规癌症治疗的结果并且提高其成功治疗的比率。

[0004] 背景

[0005] 大量研究和药物研制集中于癌症的治疗。癌症仍然是药物管线的最高目标之一。正在研制中的产品在激酶抑制剂至血管生成抑制剂、针对肿瘤靶标的单克隆抗体、凋亡诱导剂、抗肿瘤疫苗接种以及针对各种肿瘤靶标并且具有各种细胞毒性效应的常规化学治疗剂范围内。这些药物中的许多以组合形式使用,并且仅对窄范围的患者或癌症类型有效,一些仅对特定癌症的约 10% 的受试者群体有效。参见 New England J. Med. 2006, 355:2733-43 ;New England J. Med. 2004, 351:337-345。由于这个原因,并且鉴于大多数癌症治疗方案的巨大成本,已产生一个大型产业,其集中于试图以更高准确性预期哪些患者可能对某些治疗作出反应的肿瘤分子或细胞分析。Bin Wu 等人, Predictive value of MTT assay as an in vitro chemosensitivity testing for gastric cancer:one institution's experience, World J Gastroenterol. 2008 年 5 月 21 日; 14(19) 3064-3068。这些分子和细胞诊断法本身仍然是昂贵的,并且他们在治疗癌症中的总体价值仍然是有争议的话题。另外,一些癌症被确定为具有高度耐药性或不可能对可获得的活性剂作出反应。

[0006] 广泛适用于癌症或适用于特定类型的癌症的治疗需要大体上改善常规治疗的结果,或增加将对常规治疗作出反应的患者的数目,以及降低对用于个人化治疗的实验或未充分理解的分子或细胞测试的依赖的需要。

[0007] 发明概述

[0008] 本发明提供用于治疗癌症并且改善癌症治疗的结果的组合物和方法,包括用于耐药性、复发性以及 / 或者转移性癌症,以及用于治疗早期癌症的方法。所述治疗包括向患者体内施用糖苷酶方案(例如一种或多种糖苷酶的方案)。在各个实施方案中,糖苷酶方案不是由患者的免疫系统靶向。在各个实施方案中,糖苷酶方案提供对移除哺乳动物细胞(例如癌细胞和 / 或免疫细胞)和 / 或血清蛋白(例如种群特异性组分)上的一个或多个末端糖基具有活性的一种或多种糖苷酶。糖苷酶治疗使癌细胞上的抗原决定簇显露,并且通过其作用于免疫细胞和 / 或血清蛋白引发免疫信号传导级联反应。靶向的末端糖基可包括例如唾液酸基、 β -半乳糖基、N-乙酰基半乳糖氨基、岩藻糖基、葡糖基、N-乙酰葡糖氨基以及甘露糖基残基等。因此,在各个实施方案中,糖苷酶方案可包括以下中的一种或多种:神经氨酸酶、半乳糖苷酶、N-乙酰基半乳糖苷酶、岩藻糖苷酶、葡糖苷酶、N-乙酰氨基葡糖苷酶

以及甘露糖苷酶等。在不希望受理论限制的情况下,所述方案通过从免疫细胞和 / 或血清蛋白的表面移除有效量的糖基结构(例如唾液酸)以及通过暴露癌细胞(其可具有与正常细胞相比占优势的异常型糖基结构)使得癌细胞可更易于免疫监督来增加免疫信号传导。以此方式,糖苷酶方案编排或规划有效的免疫反应,从而允许有害细胞的抗原靶向并且引发适当水平的细胞因子 / 趋化因子级联反应用于治疗。在这些或其它实施方案中,糖苷酶包含至少一种对癌细胞和 / 或免疫细胞的表面上的突起的末端糖基残基具特异性的酶(例如神经氨酸酶和 / 或半乳糖苷酶),以及至少一种对突起的倒数第二个糖基残基具特异性的酶(例如 β -半乳糖苷酶、岩藻糖苷酶或甘露糖苷酶)。在一些实施方案中,此类酶与神经氨酸酶在癌症治疗中协同地起作用。所述方案不会使患者的免疫系统失调(而实际上使其协调),这在与癌症斗争的过程中是至关重要的,并且甚至在某些水平的对免疫细胞具有有害效应的细胞毒性化疗和 / 或放射治疗存在下也有效。另外,所述方案可适用于减轻或消除早期癌症,同时将手术切除、放射或化疗一并减少或避免;或所述方案可用于长期治疗以预防复发,或如果发生复发或独立的癌症那么需要进行的重复治疗,因为在各个实施方案中所述药剂不由免疫系统靶向。在各个实施方案中,所述方案避免了唾液酸或其它糖基结构从正常细胞中过量移除,使得它们保留正常功能。

[0009] 所述治疗方案广泛可适用于各种癌症类型,或特定类型的癌症的整个患者群体,并且因此提供高成功率。因此,在所治疗的 10 个或更多个患者或 20 个或更多个患者或 50 个或更多个患者或 100 个或更多个患者具有相同癌症类型和期数的情况下,获得更可预测的并且改善的结果。所述治疗方案不需要取决于分子肿瘤分析或其它化疗敏感性工具。在各个实施方案中,治疗增加包括肿瘤切除、放射治疗以及化疗的其它治疗的成功率。举例来说,在一些实施方案中,所述糖苷酶方案提高了患者的表现状况,使得其更能够耐受常规癌症治疗,并且 / 或者增加免疫毒性化疗和放射治疗的治疗指数。在一些实施方案中,所述治疗方案降低癌细胞的侵略性的和 / 或减小肿瘤体积,从而使得方案在手术之前的新辅助治疗的情况下适用。本发明通过在癌症患者中给予更不异质的治疗并且减少对大体上个人化干涉的需要而对癌症治疗进行了革新。

[0010] 在其它方面中,本发明提供一种药物组合物,其包含以下中的至少两种:神经氨酸酶、半乳糖苷酶、N-乙酰氨基半乳糖苷酶、岩藻糖苷酶、葡糖苷酶、N-乙酰氨基葡糖苷酶以及甘露糖苷酶,以及药学上可接受的赋形剂。举例来说,组合物可包含神经氨酸酶和 β -半乳糖苷酶。在一些实施方案中,糖苷酶合计或单个地以约 10^{-3}mg 至 10^{-8}mg 之间存在。组合物可被配制用于多种施用途径,包括舌下和肠胃外递送。

[0011] 发明详述

[0012] 在一个方面中,本发明提供一种用于改善癌症治疗的结果或反应率的方法。在这个方面中,本发明包括向一个或多个进行癌症治疗的患者施用一种或多种糖苷酶的体内方案。所述体内方案通过从免疫细胞和 / 或血清蛋白的表面移除有效量的糖苷,在一些实施方案中特别是唾液酸来刺激免疫信号传导,使癌细胞暴露(也通过移除有效量的糖基结构),并且避免包括唾液酸在内的糖苷从正常细胞过量移除。所述方案通过所引发的免疫级联反应允许癌细胞的持续抗原靶向。在一些实施方案中,所述方案包括对于移除糖苷有活性的酶,所述糖苷在癌细胞上普遍存在,并且在各个实施方案中是末端或倒数第二个糖苷。在一些实施方案中,所述方案包括神经氨酸酶和对普遍存在的倒数第二个糖基残基的移除

具特异性的第二糖苷酶,其可通过避免、预防或减缓糖基链的再唾液酸化和 / 或再封端来提供协同治疗。包括作为辅助治疗并且包括涉及方便的患者给药监测的实施方案的施用方案如本文中所详细描述。根据这个方面,方法的有效性不决定性地依赖于癌症的分子特征或患者的独特生物学,这与许多常规治疗不同。因此,所述方法不要求患者在治疗之前进行肿瘤或癌细胞的分子分析,因为癌细胞广泛地易于通过糖苷酶治疗而对抗原暴露。

[0013] 因为许多癌症治疗是针对负责或参与细胞生长或增殖的细胞因子,并且 / 或者因为癌症往往在这些细胞决定簇产生耐药性,所以经常对通过活检移除的癌细胞进行肿瘤标记的分子分析。在一些情况下,产生肿瘤细胞的分子型态以了解对可用治疗的潜在敏感性或耐药性。示例性分子分析包括以下中的一种或多种的存在或过表达:VEGF、PDGFR β 、CD31、HER2、PTEN、ERCC1、BRCA1、TOP2 α 、Ki-67、P53、TS、ER、PR,或 EGFR、ALK、KRAS、BRAF 以及 PI3K 中的一者或多者的突变。在各个实施方案中,本文所描述的方案的功效不取决于特定生物标记的突变的表达。因此,在一些实施方案中,所述方法排除了用于预测对癌症治疗的敏感性或耐药性的肿瘤的分子分析(例如关于以下中的一种或多种:生长因子或生长因子受体表达或过表达、肿瘤抑制剂蛋白表达、凋亡标记表达、DNA 修复蛋白表达或激酶突变)。

[0014] 在这些或其它实施方案中,不对患者的肿瘤细胞进行活体外化疗敏感性分析。化疗敏感性分析是一种实验室测试,其测量通过活体外化疗杀死的肿瘤细胞的数目。示例性化疗敏感性(或“化疗反应(chemoresponse)”分析)描述于 US 2011/0238322 中,该说明书特此以全文引用的方式并入。由于糖苷酶方案针对肿瘤细胞具有广泛有效性,并且事实上可增加如本文所描述的其它化学治疗剂的有效性,所以使得化疗敏感性测试更不适用。

[0015] 在其它实施方案中,患者被确定关于使用常规治疗的存活具有不良预后。举例来说,预后可以是预期(例如大于 50%可能性)存活少于五年、少于三年、少于两年或少于一年。预后可以是基于癌症类型,包括癌症类型对放疗和 / 或化疗的群体反应率,并且 / 或者可基于肿瘤细胞的分子表征,包括以下各项的表达水平:VEGF、PDGFR β 、CD31、HER2、PTEN、ERCC1、BRCA1、TOP2 α 、Ki-67、P53、TS、ER、PR,或 EGFR、ALK、KRAS、BRAF 以及 PI3K 中的一者或多者的突变。或者,预后可以是基于癌症的基因表达签名,其指示化疗耐药性、癌症复发的可能性或关于存活的高危人群。基因表达签名变得越来越可用于预测肿瘤对治疗的反应和 / 或关于预后的肿瘤的其它分类。示例性基因表达签名描述于以下专利中:PCT/US2012/022594(结肠癌)、US 8,211,643(NSCLC)、US 2010-0331210(乳腺癌)、美国专利 7,056,674、美国专利 7,081,340、美国专利 7,569,345 以及美国专利 7,526,387,这些专利各自特此以全文引用的方式并入。在一些实施方案中,预后是部分基于患者的病状和总体健康或表现状况(下文将予以进一步详细描述)。因此,在一些实施方案中,向在单独常规治疗情况下具有不良预后的患者施用糖苷酶方案。

[0016] 在一些实施方案中,向早期癌症患者施用糖苷方案以大体上减少或消除对手术、放射或化疗的需要。举例来说,所述方案可施用 1 至 4 个月(例如 1-2 个月),并且然后再评估患者对包括切除或化疗的常规治疗的需要。再评估通常包括肿瘤体积、血液全套测试(blood panel)(如本文所描述)、恶性肿瘤标记以及患者总体健康或病状的改善。

[0017] 在各个实施方案中,糖苷酶方案是向具有更高表现状况(例如使用卡诺夫斯基评分系统(Karnofsky scoring system)至少 80%或至少 70%)的患者施用,以预防病情的

进展,并且提高患者接受化疗和 / 或放射治疗的能力 (或潜在地避免对此类治疗的需要)。举例来说,在此实施方案中,患者在开始糖苷酶治疗时,能走动并且能够自理。在其它实施方案中,糖苷酶方案是向具有低表现状况 (例如使用卡诺夫斯基评分系统小于 50%、小于 30% 或小于 20%) 的患者施用,以使得常规放疗和 / 或化疗能耐受。在这些实施方案中,患者在开始糖苷酶治疗时大多被限制在床上或椅子上并且甚至不能自理。本文所描述的糖苷酶方案可具有提高患者的表现状况 (例如在治疗 1 至约 6 个月或治疗 1 至约 4 个月之后) 的能力,以允许常规化疗治疗或放射治疗,或提高患者耐受治疗的能力。在一些实施方案中,糖苷酶治疗是向归因于晚期或表现状况而被认为不适合放射或化疗的患者施用。在此类实施方案中,糖苷酶方案提高了他们对这些治疗的适应度。

[0018] 在一些实施方案中,患者是年长的,诸如至少 65 岁,或至少 70 岁,或至少 75 岁,并且因此可能更不适合放射和 / 或化疗或手术。

[0019] 表现状况可使用任何系统来定量。用于对患者的表现状况进行评分的方法是本领域中已知的。所述量度往往用于确定患者是否可接受化疗、调整剂量调整以及用于确定姑息护理的强度。存在各种评分系统,包括卡诺夫斯基得分和朱布罗德得分 (Zubrod score)。类似评分系统包括整体功能评定 (Global Assessment of Functioning, GAF) 得分,其已合并为精神病学诊断和统计手册 (Diagnostic and Statistical Manual, DSM) 的第五轴线。卡诺夫斯基得分从 100 一直到 0,其中 100 是“完全”健康而 0 是死亡。所述得分可以 10 为间隔使用,其中:100% 是正常,没有不适,没有疾病迹象;90% 是能够正常活动,几乎没有疾病的症状或迹象;80% 是正常活动有一些困难,有一些症状或迹象;70% 是自我护理,不能正常活动或工作;60% 需要一些帮助,可应付最个人的需求;50% 往往需要帮助,需要频繁的医疗护理;40% 是残疾,需要专门的护理和帮助;30% 是严重残疾,被指示入院但无死亡危险;20% 是病得很重,迫切需要入院,需要支持性措施和治疗;并且 10% 是垂死,快速进行性致命疾病过程。关于表现状况的朱布罗德评分系统包括:0,完全活动,能够不受限制地继续所有疾病前表现;1,耗费体力的活动受限制但能走动并且能够进行轻的或静坐性质的工作,例如轻的家务、办公室工作;2,能走动并且能够全部自理但不能进行任何工作活动,醒着的时间已起床走动进行 50%;3,仅能够有限自理,醒着的时间被限制在床上或椅子上进行 50%;4,完全残疾,不能继续任何自理,完全限制在床上或椅子上;5,死亡。

[0020] 本文所描述的方法适用于多种癌症,包括实体瘤和白血病。在一些实施方案中,癌症是严重唾液酸化的癌症。在各个实施方案中,癌症是软组织肉瘤、鳞状细胞癌、纤维肉瘤、肌肉瘤、骨肉瘤、血管肉瘤、内皮肉瘤或上皮癌。在一些实施方案中,肿瘤组织学是浆液性腺癌、内膜样腺癌、粘液性腺癌、未分化腺癌、移行细胞腺癌或腺癌。示例性癌症包括肺癌 (包括 SCLC 和 NSCLC)、间皮瘤、脑癌、成胶质细胞瘤、头颈癌、食管癌、乳腺癌、淋巴瘤、前列腺癌、胰腺癌、肝癌、胃癌、肾癌、结肠或结肠直肠癌、卵巢癌、子宫内膜癌、子宫颈癌、睾丸癌以及黑素瘤。在其它实施方案中,癌症是白血病,诸如慢性髓性白血病 (CML) 或急性成淋巴细胞性白血病 (ALL)。在一些实施方案中,癌症是转移性结肠直肠癌。在一些实施方案中,癌症是不可切除的肝癌或脑癌。在一些实施方案中,在癌症是不可切除的实体瘤的情况下,糖苷酶方案随时间推移减轻和 / 或消除肿瘤 (例如如以下所描述治疗至少 6 个月或至少一年)。

[0021] 本发明提供可视癌症的类型和期数而不同的优点。举例来说,在一些实施方案中,

肿瘤尚未侵入下层组织,并且糖苷酶方案有效预防了恶性肿瘤的进展并且预防了进一步的侵袭性。在其它实施方案中,癌症已侵入下层组织,但没有牵连局部淋巴结或发生转移。在此类实施方案中,糖苷酶方案预防或减缓对组织的继续入侵。在其它实施方案中,牵连了局部淋巴结,但未转移到远处的部位。在此类实施方案中,用糖苷酶方案避免或延迟了完全转移。在其它实施方案中,治疗方案帮助刺激多个迁移性病灶处的免疫攻击。在不希望受理论限制的情况下,本发明的方案平衡了癌细胞的直接体内去糖基化与因免疫细胞和 / 或血清蛋白的去糖基化而产生的免疫信号传导的互补性提高的益处。因为去唾液酸化因去糖基化给药的剂量和 / 或频率而保持在有益阈值以内,所以可妨碍正常细胞功能的大体上去糖基化的重大有害效应得以避免。参见 Varki 和 Gagneux, Multifarious roles of sialic acids in immunity, Ann. N. Y. Acad. Sci. 1253:16-36 (2012)。在一些实施方案中,适当的体内去糖基化 (例如去唾液酸化) 是通过本文详细描述的患者调整型给药来实现。

[0022] 癌症的期数可决定糖苷酶方案在患者护理情形中的适当用途。为了说明,使用总体期数分组, I 期癌症是局部化至身体的一个部分中; II 期癌症是局部晚期, III 期癌症同样如此。癌症是指定为 II 期或 III 期可取决于癌症的具体类型;例如在霍奇金氏病 (Hodgkin's Disease) 中, II 期指示仅在隔膜的一侧影响淋巴结,而 III 指示在隔膜上方和下方均影响淋巴结。因此, II 期和 III 期的具体准则根据诊断而不同。IV 期癌症往往已转移,或者扩散至其它器官或整个身体。因此,在一些实施方案中,癌症是 I 期并且不是局部晚期。根据这些实施方案,糖苷酶方案预防疾病进展,并且在一些实施方案中,癌症可得以消除,在一些实施方案中,未进行可能与好处相比产生更多害处的细胞毒性化疗或手术。在一些实施方案中,癌症是 II 期或 III 期,即癌症可以是局部晚期。在此类实施方案中,本发明帮助预防转移并且减缓或停止癌症进展或减小肿瘤体积并且提高患者适应度,这使得化疗、放疗以及 / 或者切除更有效。在其它实施方案中,癌症是 IV 期或是转移性的。在此类实施方案中,所述方案帮助控制、减轻或消除转移,并且减轻肿瘤负担。在每种情况下,如本文所描述糖苷酶方案可结合其它癌症治疗提供。在一些实施方案中,糖苷酶方案帮助提高患者的总体情况 (例如表现状况),使得在推荐剂量下化疗和 / 或放疗可耐受。

[0023] 在一些实施方案中,癌症是不可切除的,并且提供糖苷酶方案以预防或延迟疾病的进展。不可切除的癌症是不能手术移除的恶性肿瘤,这是归因于迁移性病灶的数目,或因为它处于手术危险区。在一些实施方案中,糖苷酶方案使患者在化疗治疗和 / 或放射治疗之前作准备,和 / 或减小肿瘤体积,并且可降低所需要的化疗或放射的剂量。

[0024] 在一些实施方案中,癌症是多重耐药性的。举例来说,患者可已进行了一个或多个化疗周期,而没有大体上反应。或者或此外,肿瘤具有一种或多种多重耐药性标记。此类标记可包括化疗反应分析或分子分析 (包括如已经描述者)。因此,如本文所用,术语“多重耐药性”意指癌症已展现对至少一个组合化疗周期不反应,或者,已评分 (诊断) 为对以下中的至少两种 (包括与其类似的药剂) 具耐性:多西他赛 (docetaxel)、紫杉醇 (paclitaxel)、多柔比星 (doxorubicin)、表柔比星 (epirubicin)、卡铂 (carboplatin)、顺铂 (cisplatin)、长春碱 (vinblastine)、奥沙利铂 (oxaliplatin)、卡莫司汀 (carmustine)、氟尿嘧啶 (fluorouracil)、吉西他滨 (gemcitabine)、环磷酰胺 (cyclophosphamide)、异环磷酰胺 (ifosfamide)、拓扑替康 (topotecan)、埃罗替尼 (erlotinib)、依托泊苷 (etoposide) 以及丝裂霉素 (mitomycin)。在此类实施方案中,糖苷

酶方案可增加治疗窗,从而使得化疗更有效。

[0025] 在一些实施方案中,患者在缓解中。对于实现缓解的患者,无论是通过常规癌症治疗(在存在或不存在糖苷酶治疗的情况下),糖苷酶方案均保留缓解期。在此类实施方案中,可对这些患者进行长期糖苷酶治疗以避免或延迟复发。如本文所描述,长期治疗可进行长于一年、两年、五年或更久,而不会妨碍正常免疫功能。

[0026] 在其它实施方案中,癌症是在初始癌症的常规化疗之后的复发。通常,复发性癌症已产生耐药性,并且因此特别难以治疗并且往往伴随着关于存活的不利预后。在此类实施方案中,本文所描述的糖苷酶方案在存在或不存在其它治疗的情况下均可延长存活并且对更佳生活质量来说避免来自无效化疗的不必要的毒性。

[0027] 在一些实施方案中,糖苷酶方案被施用以使患者为放射治疗作准备,或者在其它实施方案中,糖苷酶方案是在放射治疗之后施用以帮助患者从放射治疗中恢复。再或者,糖苷酶方案可在放射治疗方案期间施用以提高结果和/或减小副作用。在一些实施方案中,本文所描述的方案预防或延迟化疗和/或放射治疗的副作用,其选自念珠菌病、淋巴结病变、疱疹性感染、深部真菌感染、细菌感染、营养不良、脱水、口腔干燥以及口腔粘膜炎(OM)。在一些实施方案中,所述方案减少对打断和/或中断化疗和/或放射治疗的需要以及对放射治疗和/或化疗治疗方案的拒绝。在某些实施方案中,本发明预防或延迟选自以下的病状的发作:红斑、水肿、溃疡、过度角化症以及患者口腔中的假膜性粘膜。

[0028] 在一些实施方案中,糖苷酶方案提供对口腔粘膜炎的发作的预防或延迟。口腔粘膜炎(OM)或口腔炎是癌症化疗和放射治疗的一种常见并且使人虚弱的并发症。OM是口腔中的口腔粘膜和口内软组织结构的发炎反应,其响应于放射治疗剂和化学治疗剂以及其它细胞毒性治疗的施用而发生。它典型地影响面颊和唇部的内表面、口腔的底部、舌部的侧面以及舌部和软腭的底部表面。损害还可能发生于硬腭和舌部的上表面。具体地说,OM由口毒性化疗剂的全身性效应以及针对口腔粘膜或口腔的放射的局部效应引起。粘膜炎可限制患者耐受完全化疗或放疗方案的能力,从而影响治疗的有效性。另外,口腔粘膜损坏并且因化疗和放疗而免疫性降低的患者还倾向于口腔机会性感染。因此,关键在于OM得以尽可能的预防或减轻。因此,根据本发明的这些方面,通过维持足够的营养状态,并且通过避免与OM相关的显著的疼痛和不适,患者更能够完成计划的治疗过程。

[0029] 在一些实施方案中,患者因头颈癌而接受放射治疗。举例来说,所述癌症可以是口腔、口咽、下咽部或喉部的鳞状细胞癌。在其它实施方案中,头颈癌是唾液腺肿瘤、淋巴瘤或肉瘤。患者可能在一个或多个口腔位点需要放射手术。靶向此类肿瘤的放射治疗具有(常规地)诱导OM的作用。

[0030] 除此类放射治疗之外或作为此类放射治疗的替代方案,在一些实施方案中,患者可接受化疗方案,诸如常规地诱导粘膜炎(口毒素(stomatotoxin))的化疗。化疗可以是例如但不限于紫杉醇、多柔比星、光辉霉素(mithramycin)、多西他赛、基于铂的化学治疗剂(包括但不限于顺铂和卡铂)、丝裂霉素、甲氨蝶呤、氟尿嘧啶、5-氟尿嘧啶(5-FU)、长春瑞滨(vinorelbine)、拓扑替康(topotecan)、伊立替康(irinotecan)、博来霉素(bleomycin)、博来霉素羟基脲、丝裂霉素、放线菌素(actinomycin)、拓扑异构酶I和II抑制剂、蒽环霉素(anthracycline)、表柔比星、伊达比星(idarubicin)、米托蒽醌(mitoxantrone)、戊柔比星(valrubicin)、依托泊苷(etoposide)、替尼泊苷

(teniposide)、鲁比替康 (rubitecan) 以及其衍生物。化疗可包括紫杉烷和 / 或抗代谢物和 / 或其衍生物。

[0031] 对头部和颈部进行常规放射治疗的患者典型地在开始治疗约两周内经历红斑和口疮并且往往在两周之后对口腔上皮产生更严重损害。当施用化疗与放疗两者时,口腔粘膜炎的发生率和严重性可加剧。

[0032] 糖苷酶方案可为准备放射治疗而施用,与放射治疗一起施用或在放射治疗之后恢复。放射治疗可包括外射束治疗 (EBT) 或强度调节型放射治疗 (IMRT)。EBT 向肿瘤的位置递送一束高能 x 射线。所述射束在患者外部 (通常由线性加速器) 产生并且靶向肿瘤部位。这些 x 射线可破坏癌细胞并且谨慎的治疗计划允许周围的正常组织不被伤害。没有放射源是放置在患者身体内部。IMRT 是高精度放疗的高级模式,其使用电算机控制的 x 射线加速器来递送精确放射剂量至恶性肿瘤或肿瘤内的具体区域。放射剂量被设计成通过调节或控制放射束的强度遵循肿瘤的三维 (3-D) 形状以将更高放射剂量集中于肿瘤同时将对健康细胞的放射暴露减到最少。还可以使用短程治疗,其使用植入治疗区域中的密封放射源,其可为暂时的或永久的。

[0033] 典型地,放射治疗是一天一次或两次、一周约五天持续五至七周给予。在本发明的某些实施方案中,放射治疗过程的持续时间是 3 至 10 周。放射治疗过程的持续时间可以是约五至约七个周。放射治疗过程可涉及每周约 5 至约 15 次的放射治疗。放射治疗过程可涉及每周约 7 至约 10 次的放射治疗。患者可接受每天一次或两次、每周至少 5 天持续五至约七周的放射治疗。

[0034] 在涉及头颈癌的情况下,放射治疗过程可涉及向至少一个口腔位点累积投用至少约 30Gy。在一些实施方案中,放射治疗过程是向至少一个口腔位点累积投用至少约 40Gy、约 50Gy、约 60Gy 或约 70Gy。因此,放射治疗过程可涉及向至少一个口腔位点累积投用约 50 至约 75Gy。在此类实施方案中,单个日部分是至少一个口腔位点约 1.5Gy 至约 2.5Gy。当然,日部分和累积投用可以是针对两个或更多个口腔位点,包括 3 或 4 个口腔位点。

[0035] 在一些实施方案中,患者接受化疗与放射治疗。化疗可涉及口毒性化合物,包括但不限于紫杉烷、抗代谢物以及 / 或者抗生素。在各个实施方案中,化疗包括施用顺铂、氟尿嘧啶、卡铂以及 / 或者紫杉醇。在化疗包括顺铂的情况下,患者可每月两次至约四次接受约 80 至约 100mg/m² 的顺铂。举例来说,患者可约每三周 (每三周一次) 接受约 80 至约 100mg/m² 的顺铂。在以约周剂量施用顺铂的情况下,剂量可在约 30 至 40mg/m² 范围内。

[0036] 在其它实施方案中,化疗可在放射治疗过程中给予,因为这样可比如果在放射治疗过程之前给予更有效。特别地,在癌症是晚期 (晚期 III 期或 IV 期) 的情况下,放射治疗时间表有时包括化疗。最通常结合放射治疗给予的药物是顺铂 (顺氯氨铂 (Platinol)) 和西妥昔单抗 (Cetuximab) (爱必妥 (Erbix)). 有时,其它药物可包括氟尿嘧啶 (5-FU, 阿米色尔 (Aducril))、卡铂 (伯尔定 (Paraplatin)) 以及紫杉醇 (泰素 (Taxol)). 化疗可以多种方式给予,包括低日剂量、适度低周剂量或每三至四周相对更高剂量。

[0037] 糖苷酶的方案可涉及在放射治疗的每一天或 (大致) 在每次放射治疗之前以及 / 或者在化疗施药过程期间的剂量。在某些实施方案中,在未施用放射和 / 或化疗的日子也施用一定剂量的糖苷酶,以维持相对恒定水平的糖苷酶信号传导。在一些实施方案中,当患者的免疫系统大体上正常时,糖苷酶方案是在起始放射和 / 或化疗治疗之前开始 (例如持

续约两周或约一个月，一直到起始放射和 / 或化疗治疗)。在这些实施方案中，在糖苷酶治疗持续整个治疗的情况下，患者的免疫系统更能够承受放射和 / 或化疗冲击。

[0038] 因为糖苷酶方案使与化疗和 / 或放射治疗相关的一些副作用和毒性降低，并且具有改善患者的总体状况的作用，在一些实施方案中，在放射治疗的过程中患者不需要胃造口喂食管。在一些实施方案中，在放射治疗的至少头 3 周期间或在放射治疗的至少头 5 周期间患者不施用阿片类，或者在放射治疗的过程中不施用阿片类。阿片类包括诸如以下药物：丁丙诺啡 (buprenorphine)、可待因 (codeine)、芬太尼 (fentanyl) 以及吗啡 (morphine)。在各个实施方案中，计划的放射治疗和 / 或化疗过程不因毒性或患者不适而中断。在其它实施方案中，所述方案使归因于不适或治疗并发症的医院和 / 或诊所访问的次数和 / 或频率降低。在其它实施方案中，所述方法使对化疗和 / 或放射治疗打断和 / 或中断的需要降低。在其它实施方案中，本发明的方法使对放射治疗和 / 或化疗治疗方案的拒绝减少。

[0039] 在一些实施方案中，糖苷酶方案是在肿瘤切除之前任选与新辅助化疗一起施用。因此，在某些实施方案中，患者尚未进行移除癌组织的手术，但将在任何手术之前接受化疗以使肿瘤缩小和 / 或降级。术语“新辅助化疗”意指在手术之前向癌症患者施用的化疗。通常考虑新辅助化疗的癌症的类型包括例如乳腺癌、结肠直肠癌、卵巢癌、子宫颈癌、膀胱癌以及肺癌。在某些实施方案中，患者是将接受新辅助化疗的乳腺癌患者。在此类实施方案中，糖苷酶治疗方案（与新辅助治疗一起或在新辅助治疗之前给予）提高新辅助治疗的有效性，同时帮助患者维持免疫功能和准备好进行手术治疗（必要时）。在这些实施方案中，可在新辅助化疗之前提供 1 至 4 周糖苷酶方案。当然，在本文所描述的各个实施方案中，糖苷酶方案是用于在手术之前减小肿瘤体积的唯一新辅助治疗。在这些实施方案中，所述方案帮助实现最佳肿瘤减积。

[0040] 在其它实施方案中，糖苷酶方案是在肿瘤切除之后任选与辅助化疗一起施用。在此类实施方案中，糖苷酶方案使成功治疗的可能性增加，或使到复发的时间增加。在一些实施方案中，糖苷酶方案是向具有最佳减积状况的患者施用。在其它实施方案中，糖苷酶方案是向具有次最佳减积状况的患者施用。减积状况意指归因于手术或放射治疗的肿瘤尺寸减小。减积状况可明确评分为例如最佳或次最佳。最佳得分包括放射和 / 或手术之后的残留疾病小于约 1cm 的患者。次最佳得分包括放射和 / 或手术之后残留疾病大于约 1cm 的患者。在减积之后，并且特别是在减积状况不是最佳的情况下，糖苷酶方案帮助预防大体上肿瘤再生长或疾病的进展，包括在手术之后提供化疗或放射治疗的情况下。

[0041] 除糖苷酶方案之外，患者可接受选自以下的化疗：蒽环霉素、泰素或泰素类 (taxoid)、长春花生物碱、烷化剂、插入剂、激酶抑制剂或氮芥。示例性药剂包括以下中的一种或多种：拓扑异构酶抑制剂 (I 或 II)、凋亡诱导剂、蛋白酶抑制剂、微管抑制剂、有丝分裂抑制剂、抗代谢物、信号转导抑制剂、雌激素受体抑制剂、EGFR 抑制剂、Her2 抑制剂或芳香酶抑制剂。

[0042] 示例性化学治疗剂包括以下中的一种或多种：柔红霉素、多柔比星、表柔比星、伊达比星、多柔比星、长春新碱、卡莫司汀、顺铂、5- 氟尿嘧啶、他莫昔芬 (tamoxifen)、甲羟孕酮 (medroxyprogesterone)、善得定 (sandostatin)、丝裂霉素 C、膦甲酸 (fosphoramide)、紫杉醇、多西他赛、吉西他滨、氟达拉滨 (fludarabine)、卡铂、甲酰四氢叶酸 (leucovorin)、他莫昔芬、戈舍瑞林 (goserelin)、酮康唑 (ketoconazole)、亮丙瑞林氟他米特 (leuprolide)

flutamide)、长春碱、长春地辛 (vindesine)、长春瑞滨、喜树碱 (camptothecin)、拓扑替康、盐酸伊立替康、依托泊苷、米托蒽醌、替尼泊苷、安吡啶、美巴龙 (merbarone)、盐酸吡罗蒽醌 (piroxantrone hydrochloride)、甲氨蝶呤、6- 巯基嘌呤、6- 巯鸟嘌呤、阿糖胞苷 (cytarabine) (Ara-C)、三甲曲沙 (trimetrexate)、阿西维辛 (acicivcin)、阿拉诺新 (alanosine)、吡唑呋喃菌素 (pyrazofurin)、喷司他丁 (pentostatin)、5- 阿扎胞苷 (azacitidine)、5- 阿扎胞苷、5- 氮杂 -5- 氮杂 -2'- 脱氧胞苷、腺苷阿拉伯糖苷 (Ara-A)、克拉屈滨 (cladribine)、呋氟尿嘧啶 (ftorafur)、UFT (尿嘧啶与呋氟尿嘧啶的组合)、5- 氟 -2'- 脱氧尿苷、5- 氟尿苷、5'- 脱氧 -5- 氟尿苷、羟基脲、dihydrolenchiorambucil、噻唑呋林 (tiazofurin)、奥沙利铂、美法仑 (melphalan)、塞替派 (thiotepa)、白消安 (busulfan)、苯丁酸氮芥 (chlorambucil)、普卡霉素 (plicamycin)、达卡巴嗪 (dacarbazine)、磷酸异环磷酰胺 (ifosfamide phosphate)、环磷酰胺、哌泊溴烷 (pipobroman)、4- 甘薯苦醇 (ipomeanol)、二氢仑哌隆 (dihydrolenperone)、螺莫司汀 (spiromustine)、格尔德霉素 (geldenamycin)、细胞松弛素 (cytochalasins)、缩酚酸肽 (depsipeptide)、4'- 氰基 -3-(4-(例如诺雷德 (Zoladex)) 和 4'- 氰基 -3-(4- 氟苯基磺酰基) -2- 羟基 -3- 甲基 -3'-(三氟甲 - 基) 丙酰替苯胺。

[0043] 在一些实施方案中,患者接受以下中的一种或多种:抗 Her2/neu 抗体,诸如赫塞汀 (Herceptin);抗 EGFR 抗体,诸如爱必妥;生长因子受体抗体,诸如阿瓦斯汀 (Avastin);小分子抑制剂,诸如特罗凯 (Tarceva)、易瑞沙 (Iressa) 或舒尼替尼 (sunitinib);或抗 CD20,诸如瑞图宣 (Rituxan)。在其它实施方案中,患者接受埃罗替尼 (erlotinib)、吉非替尼 (gefitinib)、拉帕替尼 (lapatinib)、西妥昔单抗、帕尼单抗 (panitumumab) 或伊马替尼 (imatinib)。

[0044] 在一些实施方案中,化疗是口毒性化疗,诸如以下中的一种或其组合:5- 氟尿嘧啶、甲氨蝶呤、阿糖胞苷、顺铂、卡铂、紫杉醇、多西他赛、多柔比星以及依托泊苷。

[0045] 在其它实施方案中,糖苷酶方案是作为化疗的替代方案施用。在此类实施方案中,患者归因于耐药性的分子标记的存在或诸如患者的病状等其它危险因素可以是化疗治疗的不良候选者。

[0046] 在施用化疗的情况下,糖苷酶方案可在化疗周期之前、化疗周期之间或化疗完成之后施用。在一些实施方案中,糖苷酶方案是在起始化疗之前开始,并且所述方案持续整个化疗周期。

[0047] 在一些实施方案中,患者接受骨髓移植,并且糖苷酶方案是在移植之前和 / 或之后提供,以帮助患者为所述程序作准备或帮助免疫系统恢复。

[0048] 在其它实施方案中,患者不接受任何其它免疫刺激剂 (例如除了糖苷酶治疗),以避免诱导糖苷酶本身的免疫攻击。举例来说,在一些实施方案中,在糖苷酶施用的约 1 或 2 周内避免癌症疫苗或免疫佐剂或免疫刺激剂 (包括草本刺激剂和维生素 C 补充剂)。

[0049] 在其它实施方案中,糖苷酶治疗是结合癌症疫苗施用,所述癌症疫苗可以是树突状细胞疫苗。抗原呈递细胞 (APC) 是抗原特异性 T 细胞启动的关键,并且树突状细胞 (DC) 是最有效的刺激 APC。DC 构成细胞的异源群体,并且它们能够将骨髓 (BM) 与周边血液前体两者区别开来。DC 展现关于 T 细胞介导的抗肿瘤免疫的产生的至少五个重要特征。许多肿瘤缔合抗原已被确定为基于 DC 的疫苗接种策略中的潜在免疫原。此类肿瘤排斥抗原衍

生自例如致癌基因 (ras)、过表达基因 (HER-2/neu)、胚胎基因 (MAGE、BAGE、GAGE)、正常分化基因 (MART-1/Melan-A、gp100、酪氨酸酶)、病毒基因 (HPV)、肿瘤抑制基因 (p53)、B 细胞个体基因型以及其它肿瘤相关蛋白 (PSMA、MUC1)。本文所描述的糖苷酶方案可提高抗肿瘤疫苗接种的成功率,尤其在需要肿瘤抗原呈递的疫苗接种的情况下。然而,在其它实施方案中,糖苷酶治疗是在免疫治疗之前(例如在癌症免疫治疗的不超过一周内)或免疫治疗之后(例如在不超过一周内)施用,但不与免疫治疗同时施用,从而避免针对糖苷酶的免疫反应。

[0050] 因此,在一些实施方案中,糖苷酶治疗是与包括免疫刺激剂或免疫检查点抑制剂的癌症免疫治疗一起提供。举例来说,糖苷酶治疗可在用 CTLA-4-Ig(阿巴西普(abatacept))处理之前、期间或之后施用。

[0051] 在一些方面中,本发明提供一种预防倾向于发生癌症的患者的癌症的方法,其包括向所述患者施用免疫耐受糖苷酶方案。在一些实施方案中,患者的特征在于关于癌症的遗传倾向性,所述癌症任选是乳腺癌、结肠癌或皮肤癌。举例来说,患者可具有至少两个患有癌症的直系家庭成员,或患者先前已发生癌症至少两次,但在糖苷酶治疗开始时不具有癌症。

[0052] 糖苷酶方案提供对移除哺乳动物细胞(例如癌细胞和/或免疫细胞)上的一个或多个末端和/或倒数第二个糖基具有活性的一种或多种糖苷酶。此类末端和倒数第二个糖基包括例如唾液酸基、半乳糖基、N-乙酰基半乳糖氨基、岩藻糖基、葡萄糖基、N-乙酰葡萄糖氨基以及甘露糖基残基。因此,在各个实施方案中,糖苷酶方案可包括以下中的一种或多种:神经氨酸酶、半乳糖苷酶(例如 β -半乳糖苷酶)、N-乙酰氨基半乳糖苷酶、岩藻糖苷酶、葡萄糖苷酶、N-乙酰氨基葡萄糖苷酶以及甘露糖苷酶。

[0053] 在一些实施方案中,糖苷酶方案包括神经氨酸酶治疗。神经氨酸酶治疗可使用神经氨酸酶或具有神经氨酸酶(唾液酸酶)活性的纯化部分,或其活性部分或活性衍生物。在一些实施方案中,神经氨酸酶是微生物的(例如源于细菌、病毒、寄生虫或真菌)。在其它实施方案中,神经氨酸酶是哺乳动物或植物的。神经氨酸酶可纯化自食物材料,其包括可在食物中获得应用的微生物,包括面包酵母(baker's yeast)和乳球菌属某种(*Lactococcus* sp.)以及乳杆菌属某种(*Lactobacillus* sp.)。在某些实施方案中,神经氨酸酶是细菌神经氨酸酶。神经氨酸酶可以是纯化或分离自其天然来源,或可以是重组或合成(例如化学合成)的。在一些实施方案中,神经氨酸酶是 γ -B 组神经氨酸酶,亦称为外切 α -唾液酸酶、 α -B 组或乙酰基 B 组,其使末端唾液酸残基从宿主细胞病毒表面上的碳水化合物部分上解离。在一些实施方案中,神经氨酸酶催化寡糖、糖脂以及多聚乙酸神经氨酸中的末端唾液酸残基的 α -2,3、 α -2,6 以及/或者 α -2,8 糖苷键的水解。

[0054] 举例来说,在各个实施方案中,神经氨酸酶是内切或外切唾液酸酶,例如,催化末端唾液酸残基的 α -(2 $\rightarrow$ 3)、 α -(2 $\rightarrow$ 6)以及/或者 α -(2 $\rightarrow$ 8)糖苷键的外切水解,或者催化寡或聚(唾液)酸中的(2 $\rightarrow$ 8)- α -唾液酸基键的内切水解。示例性神经氨酸酶试剂包括远远超过 100 种已知神经氨酸酶中的任一种,或其活性部分或衍生物。在一些实施方案中,神经氨酸酶是来自以下中的一种或多种的酶:产气荚膜梭状芽孢杆菌(*Clostridium perfringens*)、产脲节杆菌(*Arthrobacter ureafaciens*)、霍乱弧菌(*Vibrio cholerae*)、鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*)或肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*)

或已充分表征活性的其它菌类。此类神经氨酸酶可纯化或分离自其微生物来源,或经重组或合成而产生。参见 Cassidy JT, The Sialic Acids-VI. Purification and properties of sialidase from Clostridium perfringes, J Biol. Chem. 240:9:3501-3506 (1965); Crennell S. 等人, Crystal structure of Vibrio cholerae neuraminidase reveals dual lectin-like domains in addition to the catalytic domain, Structure 2:535-544 (1994); Uchida 等人, Enzymatic properties of neuraminidases from Arthrobacter ureafaciens, J Biochem. 106:1086-1089 (1979), 并且这些参考文献特此以引用的方式并入。当呈纯化形式时,神经氨酸酶是组合物的蛋白组分的至少 10%、组合物的蛋白组分的至少 25%、组合物的蛋白组分的 50% 或总蛋白组分的至少 75% 或总蛋白组分的至少 90% 或总蛋白组分的至少 95% 或总蛋白组分的至少 99%。

[0055] 神经氨酸酶蛋白的示例性氨基酸序列包括由以下 GenBank 登录号确定的氨基酸序列:EIA17609.1、EIA17977.1、NP_561469.1、CAA50436.1(产气荚膜梭状芽孢杆菌)、AAX22758.1、BAD66680.2(产脲节杆菌)、AAW31751.2、AAA27546.1、AEA78761.1(霍乱弧菌)、2VWO_A(肺炎链球菌)以及 AAL19864(鼠伤寒沙门氏菌),其各自特此以引用的方式并入。神经氨酸酶可包含与由以下确定的氨基酸序列中的一种或多种具有至少 70%、80%、90%、95% 或更高氨基酸序列同一性的氨基酸序列:EIA17609.1、EIA17977.1、NP_561469.1、CAA50436.1、AAX22758.1、BAD66680.2、AAW31751.2、AAA27546.1、AEA78761.1、2VWO_A 以及 AAL19864。其它神经氨酸酶描述于美国专利 8,012,733、美国专利 6,916,916、美国专利 5,985,859、美国专利 5,830,748 以及美国专利 4,071,408 中,所述说明书特此以全文引用的方式并入。

[0056] 适合神经氨酸酶可获自商业来源。示例性神经氨酸酶包括 Sigma Aldrich 产品编号 N2876、N3001、N5631、N2133(产气荚膜梭状芽孢杆菌)、N7885、N6514(霍乱弧菌)、N3786 以及 N8271(产脲节杆菌)。

[0057] 这些或其它神经氨酸酶的衍生物或突变体的制备可由已知结构或研究中的任一者来指导,包括由以下文献所描述的那些结构或研究:Kim S 等人, Features and applications of bacterial sialidases, Appl Microbiol Biotechnol. 2011, 91(1):1-15; Crennell SJ 等人, Crystal structure of a bacterial sialidase (from Salmonella typhimurium LT2) shows the same fold as an influenza virus neuraminidase, Proc Natl Acad Sci USA 1993 90(21):9852-6; Chavas LM, Crystal structure of the human cytosolic sialidase Neu2: Evidence for the dynamic nature of substrate recognition, J Biol Chem. 2005 280(1):469-75; Xu G 等人, Crystal structure of the NanB sialidase from Streptococcus pneumoniae, J Mol Biol. 2008 384(2):436-49; Newstead SL 等人, The structure of Clostridium perfringens NanI sialidase and its catalytic intermediates, J Biol Chem. 2008 283(14):9080-8; Chan J 等人, Bacterial and viral sialidases: contribution of the conserved active site glutamate to catalysis, Biochemistry 2012 51(1):433-41; Chien CH 等人, Site-directed mutations of the catalytic and conserved amino acids of the neuraminidase gene, nanH, of Clostridium perfringens ATCC 10543, Enzyme Microb. Technol. 19(4):267-276 (1996); Christensen

和 Egebjerg, Cloning, expression and characterization of a sialidase gene from Arthrobacter ureafaciens, *Biotechnol. Appl. Biochem.* 41:225-231 (2005)。这些参考文献各自特此以全文引用的方式并入。

[0058] 神经氨酸酶活性通常可通过确定在规定条件（例如 pH 5.0 和 37℃）下由适合的底物释放的唾液酸的量用单位 (U) 来描述。示例性底物是 NAN- 乳糖或牛颌下粘蛋白。参见 Warren L, *J Biol. Chem.* 234:1971 (1959)。

[0059] 在这些和其它独立的实施方案中,糖苷酶方案包括半乳糖苷酶施用,所述半乳糖苷酶在一些实施方案中是 β -半乳糖苷酶。在涉及两种或更多种糖苷酶的实施方案中,半乳糖苷酶可与神经氨酸酶或其它酶共配制。 α -或 β -半乳糖基残基（包括 1 $\rightarrow$ 3 键联和 1 $\rightarrow$ 4 键联的）充当包括癌细胞和免疫细胞的哺乳动物细胞上的末端糖苷,并且 / 或者可以是倒数第二个糖基残基,并且在一些情况下可键联至末端唾液酸。Hakomori, Aberant Glycosylation in Cancer Cell Membranes as Focused on Glycolipids:Overview and Perspectives, *Cancer Research* 45, 2405-2414 (1985); Dwek 和 Brooks, Harnesing Changes in Cellular Glycosylation in New Cancer Treatment Strategies, *Current Cancer Drug Targets* 4:425-442 (2004)。因此,半乳糖苷酶（例如 β -半乳糖苷酶）可根据本文所描述的方法独立使用,或者可与神经氨酸酶或其它糖苷酶结合使用,在一些实施方案中,这预防或减缓糖基结构的再唾液酸化或再封端,由此使得方案更有效,并且支持更不频繁的施用和 / 或更低的剂量。

[0060] 示例性半乳糖苷酶是熟知的并且可商购获得。举例来说, β -半乳糖苷酶可获自大肠杆菌 (*Escherichia coli*)、米曲霉 (*Aspergillus oryzae*)、乳酸克鲁维酵母 (*Kluyveromyces lactis*) 以及肺炎链球菌,以及其它微生物（例如细菌或真菌）和生物来源,包括哺乳动物来源。举例来说,适合的 β -半乳糖苷酶可获自 Sigma-Aldrich 目录编号 G5635。

[0061] 在这些和其它独立的实施方案中,糖苷酶方案包括 N-乙酰氨基半乳糖苷酶施用。在涉及两种或更多种糖苷酶的实施方案中,N-乙酰氨基半乳糖苷酶可与神经氨酸酶或其它酶共配制。Hakomori, Aberant Glycosylation in Cancer Cell Membranes as Focused on Glycolipids:Overview and Perspectives, *Cancer Research* 45, 2405-2414 (1985); Dwek 和 Brooks, Harnesing Changes in Cellular Glycosylation in New Cancer Treatment Strategies, *Current Cancer Drug Targets* 4:425-442 (2004)。N-乙酰氨基半乳糖苷酶可根据本文所描述的方法独立使用,或可与神经氨酸酶或其它糖苷酶结合使用,在一些实施方案中,这预防或减缓糖基链的再唾液酸化或再封端。

[0062] 示例性 N-乙酰氨基半乳糖苷酶是熟知的并且可商购获得。举例来说, β -N-乙酰氨基半乳糖苷酶可获自杆菌属某种 (*Bacillus* sp.) 以及其它微生物（例如细菌或真菌）和生物来源,包括哺乳动物来源。举例来说,适合的 β -N-乙酰氨基半乳糖苷酶可获自 Sigma-Aldrich 目录编号 A2464。

[0063] 在这些和其它独立的实施方案中,糖苷酶方案包括岩藻糖苷酶施用,所述岩藻糖苷酶在一些实施方案中是 α -岩藻糖苷酶。在涉及两种或更多种糖苷酶的实施方案中,岩藻糖苷酶可与神经氨酸酶或其它酶共配制（例如与半乳糖苷酶或 N-乙酰氨基半乳糖苷酶共配制）。岩藻糖基残基（包括 α 1 $\rightarrow$ 2 键联、 α 1 $\rightarrow$ 3 键联以及 α 1 $\rightarrow$ 4 键联的）充当包

括癌细胞和免疫细胞的哺乳动物细胞上的末端糖苷,并且/或者可以是倒数第二个糖基残基,并且在一些情况下可键联至末端唾液酸。Hakomori, *Aberant Glycosylation in Cancer Cell Membranes as Focused on Glycolipids: Overview and Perspectives*, Cancer Research 45, 2405-2414 (1985); Dwek 和 Brooks, *Harnesing Changes in Cellular Glycosylation in New Cancer Treatment Strategies*, Current Cancer Drug Targets 4:425-442 (2004)。因此,岩藻糖苷酶(例如 α -岩藻糖苷酶)可根据本文所描述的方法独立使用,或者可与神经氨酸酶结合使用,在一些实施方案中,这预防或减缓糖基链的再唾液酸化、再封端,由此使得方案更有效,并且支持更不频繁的施用和/或更低的剂量。

[0064] 示例性岩藻糖苷酶是熟知的并且可商购获得。举例来说, α -岩藻糖苷酶可获自黄单孢菌属某种(*Xanthomonas* sp.) (例如木薯萎蔫病(*manihotis*) 黄单孢菌),以及其它微生物(例如细菌或真菌)和生物来源,包括哺乳动物来源。举例来说,适合的 α -岩藻糖苷酶可获自Sigma-Aldrich 目录编号F3023和F1924。

[0065] 在这些和其它独立的实施方案中,糖苷酶方案包括葡萄糖苷酶施用,所述葡萄糖苷酶在一些实施方案中是 α -葡萄糖苷酶。在涉及两种或更多种糖苷酶的实施方案中,葡萄糖苷酶可与神经氨酸酶或其它酶共配制(例如与神经氨酸酶、甘露糖苷酶或N-乙酰氨基葡萄糖苷酶共配制)。糖基残基(包括 $\alpha 1 \rightarrow 2$ 键联、 $\alpha 1 \rightarrow 3$ 键联以及 $\alpha 1 \rightarrow 4$ 键联的)充当包括癌细胞和免疫细胞的哺乳动物细胞上的末端糖苷,并且/或者在一些情况下可以是内部糖基残基。Hakomori, *Aberant Glycosylation in Cancer Cell Membranes as Focused on Glycolipids: Overview and Perspectives*, Cancer Research 45, 2405-2414 (1985); Dwek 和 Brooks, *Harnesing Changes in Cellular Glycosylation in New Cancer Treatment Strategies*, Current Cancer Drug Targets 4:425-442 (2004)。因此,葡萄糖苷酶(例如 α -葡萄糖苷酶)可根据本文所描述的方法独立使用,或者可与神经氨酸酶、甘露糖苷酶或其它糖苷酶结合使用,在一些实施方案中,这预防或减缓糖基链的再唾液酸化、再封端,由此使得方案更有效,并且支持更不频繁的施用和/或更低的剂量。

[0066] 示例性葡萄糖苷酶是熟知的并且可商购获得。举例来说, α -葡萄糖苷酶可获自酿酒酵母(*Sacchomyces cerevisiae*)、黑曲霉(*Aspergillus niger*)或嗜热脂肪芽孢杆菌(*Bacillus stearothermophilus*),以及其它微生物(例如细菌或真菌)和生物来源(包括食物来源,诸如稻),并且包括哺乳动物来源。举例来说,适合的 α -葡萄糖苷酶可获自Sigma-Aldrich 目录编号G5003、G0660、70797、49291、G9259以及G3651。

[0067] 在这些和其它独立的实施方案中,糖苷酶方案包括N-乙酰氨基葡萄糖苷酶施用,所述N-乙酰氨基葡萄糖苷酶在一些实施方案中是 β -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶。在涉及两种或更多种糖苷酶的实施方案中,N-乙酰氨基葡萄糖苷酶可与神经氨酸酶或其它酶共配制(例如与神经氨酸酶、甘露糖苷酶以及/或者葡萄糖苷酶共配制)。N-乙酰葡萄糖胺残基(包括 $\beta 1 \rightarrow 4$ 键联、 $\beta 1 \rightarrow 6$ 键联的等)充当包括癌细胞和免疫细胞的哺乳动物细胞上的末端糖苷,并且/或者在一些情况下可以是倒数第二个或内部糖基残基。Hakomori, *Aberant Glycosylation in Cancer Cell Membranes as Focused on Glycolipids: Overview and Perspectives*, Cancer Research 45, 2405-2414 (1985); Dwek 和 Brooks, *Harnesing Changes in Cellular Glycosylation in New Cancer Treatment Strategies*, Current Cancer Drug Targets 4:425-442 (2004)。因此,N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(例如 β -N-乙酰

氨基葡萄糖苷酶)可根据本文所描述的方法独立使用,或者可与神经氨酸酶、甘露糖苷酶或葡萄糖苷酶结合使用,在一些实施方案中,这预防或减缓糖基链的再唾液酸化、再封端,由此使得方案更有效,并且支持更不频繁的施用和/或更低的剂量。

[0068] 示例性 N-乙酰氨基葡萄糖苷酶是熟知的并且可商购获得。举例来说,β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶可获自肺炎链球菌和矮生刀豆 (*Canavalia ensiformis*),以及其它微生物(例如细菌或真菌)和生物来源(包括食物来源),并且包括哺乳动物来源。举例来说,适合的 β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶可获自 Sigma-Aldrich 目录编号 A2264 和 A6803。

[0069] 在这些和其它独立的实施方案中,糖苷酶方案包括甘露糖苷酶施用,所述甘露糖苷酶在一些实施方案中是 α-甘露糖苷酶。在涉及两种或更多种糖苷酶的实施方案中,甘露糖苷酶可与神经氨酸酶或其它酶共配制(例如与神经氨酸酶、葡萄糖苷酶以及/或者 N-乙酰氨基葡萄糖苷酶共配制)。甘露糖基残基(包括 α1→2 键联、α1→3 键联、α1→6 键联、β1→4 键联的等)充当包括癌细胞和免疫细胞的哺乳动物细胞上的末端糖苷,并且/或者在一些情况下可以是倒数第二个或内部糖基残基。Hakomori, Aberant Glycosylation in Cancer Cell Membranes as Focused on Glycolipids: Overview and Perspectives, Cancer Research 45, 2405-2414(1985); Dwek 和 Brooks, Harnesing Changes in Cellular Glycosylation in New Cancer Treatment Strategies, Current Cancer Drug Targets 4:425-442(2004)。因此,甘露糖苷酶(例如 α-甘露糖苷酶)可根据本文所描述的方法独立使用,或者可与神经氨酸酶、葡萄糖苷酶以及/或者 N-乙酰氨基葡萄糖苷酶结合使用,在一些实施方案中,这预防或减缓糖基链的再唾液酸化、再封端,由此使得方案更有效,并且支持更不频繁的施用和/或更低的剂量。

[0070] 示例性甘露糖苷酶是熟知的并且可商购获得。举例来说,甘露糖苷酶可获自矮生刀豆(α)或罗马蜗牛 (*Helix pomatia*)(β),以及其它微生物(例如细菌或真菌)和生物来源(包括食物来源),并且包括哺乳动物来源。举例来说,适合的甘露糖苷酶可获自 Sigma-Aldrich 目录编号 M7257 或 M9400。

[0071] 在各个实施方案中,在不希望受理论限制的情况下,可包括神经氨酸酶、β-半乳糖苷酶、α-甘露糖苷酶、岩藻糖苷酶(以及其它糖苷酶,包括本文所描述的那些)中的一种或多糖苷酶方案将维生素 D 结合蛋白(也称为种群特异性组分或 Gc)在体内转化成有效巨噬细胞活化因子,从而引起巨噬细胞的活化。参见例如美国专利 5,326,749,其特此以引用的方式并入;Yamamoto 等人, J Immunology 第 151 卷:2794-2802(1993)。维生素 D 结合蛋白(也称为 DBP)是一种进化上保守的糖蛋白,并且具基因多态性。DBP 具有约 52,000 的相对分子量,并且一般由约 0.5% 的血浆蛋白构成。如本文所描述的适当的糖苷酶剂量和方案使 DBP 在体内去糖基化,从而在体内引起有效、持久并且长期的巨噬细胞活化和抗肿瘤活性。

[0072] 向人类或动物施用有效量的所配制的糖苷酶通过调节免疫功能和/或直接作用于癌细胞或参与病理的其它组织或细胞以及血清蛋白的去糖基化来帮助预防或消除癌症症状。在各个实施方案中,糖苷酶是以一定剂量和频率施用,以展现癌症症状或病状减轻,而不影响正常细胞功能。在一些实施方案中,施用的剂量和/或频率是不引起持久的关节不适或不舒服(例如全身感觉不适或一个或多个关节中有关节炎感觉)的剂量和/或频率。在患者经历关节或全身不适的情况下,患者可调整施用的剂量或频率直至不适平息或

正常化。举例来说,在患者经历不适的情况下,患者可略去一天、两天或三天的给药,并且/或者从所述方案中减去一次或两次日剂量,并且/或者增加剂量之间的时间直至不适平息或正常化。由此,患者找到不诱导持久的关节不适或最小程度的不适的最高施用剂量和/或频率。在剂量的量例如使用计量剂量施用器可控制的一些实施方案中,可降低剂量但维持时间表。因此,鉴于患者的独特生物学状态、疾病或免疫系统状况,每个患者可通过找到不诱导持久的关节不适或不舒服的最高剂量/频率按需要定制剂量。实际上,糖苷酶制剂可按每剂量单位小于约 10^{-2} 或小于约 10^{-3} mg向人类或动物施用。在某些实施方案中,糖苷酶是按约 10^{-3} mg至 10^{-8} mg之间施用。在其它实施方案中,糖苷酶的剂量在约 10^{-3} mg与 10^{-7} mg、 10^{-3} mg与 10^{-6} mg、 10^{-3} mg与 10^{-5} mg之间,或是约 10^{-4} mg。在一些实施方案中,总日剂量不超过每个受试者约 10^{-3} mg,或者在一些实施方案中,不超过约 5×10^{-3} 至 10^{-4} mg。

[0073] 虽然包括神经氨酸酶的某些糖苷酶可具有形成同二聚体(例如三聚体、四聚体)的倾向,但在各个实施方案中,糖苷酶是配制(例如稀释)到以单体和/或二聚体形式呈现,并且如通过尺寸排阻色谱法(SEC)可确定大体上没有更高聚集物。

[0074] 糖苷酶可被配制成包括用于舌下、经鼻或经颊递送的水性制剂。在一些实施方案中,水性制剂包含盐水。在一些实施方案中,所述制剂具有约0.5%至约2%盐水的离子强度,诸如约0.9%盐水的离子强度。在一些实施方案中,糖苷酶是在生理盐水(例如约0.9%盐水)中配制。还可以使用用于舌下、经鼻或经颊递送的其它常规载体。糖苷酶可进一步与防腐剂一起配制,所述防腐剂可以是芳香族或酚类防腐剂。举例来说,在一些实施方案中,防腐剂是苯酚。举例来说,在一些实施方案中,神经氨酸酶任选与其它糖苷酶一起在例如0.05%至0.5%苯酚或可比量的类似作用防腐剂中配制。在一些实施方案中,神经氨酸酶和潜在地其它糖苷酶的活性因苯酚(诸如至少0.2%、0.3%或0.4%苯酚)的存在而增加。在一些实施方案中,神经氨酸酶(例如Sigma Aldrich目录编号N2876、N3001、N5631、N2133、N7885、N6514、N3786、N8271)是在含有约0.2%至约1%苯酚(例如0.2%至0.6%苯酚或约0.4%苯酚)的溶液中孵育,并且然后稀释成或使其成为可含有0.05%至约0.2%苯酚的最终制剂。在一些实施方案中,神经氨酸酶的此类“活化”允许活性剂以更低剂量施用从而避免免疫靶向,同时维持适当水平的活性。

[0075] 为了说明,可将神经氨酸酶和任选其它糖苷酶与0.9%盐水混合,并且过滤灭菌,并且使其在室温下静置10分钟至五小时(例如约30分钟至约三小时)。在室温下孵育之后,添加苯酚盐水以得到最终苯酚浓度为约0.1%的0.9%盐水溶液。将溶液储存在4℃下。

[0076] 或者,将神经氨酸酶和任选其它糖苷酶与约0.4%苯酚盐水混合。将此溶液过滤灭菌,并且使其在室温下静置5分钟至约5小时(例如约30分钟、约一小时或约三小时)。在室温下孵育之后,使最终浓度达到约0.1%苯酚,0.9%盐水。将溶液储存在4℃下。

[0077] 糖苷酶制剂可通过多种途径施用,包括舌下、经鼻、输液港(port)、皮肤下、灌胃、眼内、静脉内、肌肉内、皮下、经皮以及经颊。在各个实施方案中,糖苷酶是舌下施用。在糖苷酶是舌下施用的一些实施方案中,神经氨酸酶保持在舌下约一至约五分钟,并且优选持续约3分钟、约4分钟或约5分钟。在这个时间期间患者应克制不要说话。在施用15分钟内,患者不应进食或饮水。

[0078] 根据本发明的方面,糖苷酶的方案是每天施用平均2至6次持续至少两周或至少一个月,尤其对于免疫抑制或晚期情况。日施用应大体上均匀地间隔开,而在各个实施方案

中是间隔开约 15 分钟至 5 小时。举例来说,剂量可间隔开约 15 分钟、约 30 分钟、约 1 小时、约 2 小时或约 3 小时。举例来说,糖苷酶制剂可每天施用平均 2 至 8 次持续至少约两个月、至少约四个月或至少约五个月或至少约六个月。在一些实施方案中,糖苷酶制剂是每天施用约 2 次、约 3 次或约 4 次历时至少一个月、两个月、三个月、四个月、五个月或六个月。一般来说,糖苷酶制剂是以一定剂量和频率施用,使得有效降低癌症病状或刺激免疫系统,而不展现大体上关节不适(例如关节炎感觉)或不舒服。在患者经历关节或全身不适的情况下,患者调整剂量和/或频率(例如略去一天、两天或三天的神经氨酸酶给药,或者使每日剂量减少一次或两次施用),直至不适感消失或正常化。因此,在一些实施方案中,施用方案在关节不适的时间期间中止。

[0079] 举例来说,治疗的第一天可以约八次剂量开始,头三至五次剂量在头一个或两个小时摄入,而其余部分全天大致均匀地间隔开。然后,可每天用约四次剂量治疗患者,同时定期监测恶性肿瘤。甚至在恶性肿瘤不可检测的情况下,患者也可在不时地基于关节不适或不舒服的出现进行调整的同时保持每天 2 至 7 次剂量的方案。

[0080] 治疗可如上文所描述开始,为化疗、放射治疗或手术治疗作准备,或者在治疗期间开始以增加有效性,以及/或者出于恢复的目的在治疗之后开始。然而,在一些实施方案中,糖苷酶方案是这些常规治疗的替代方案。在一些实施方案中,患者随后长期用每天约一次剂量治疗,持续至少约六个月或至少约一年或至少约两年或至少约五年或更久,或者被选择或开处方进行此类长期治疗。在一些实施方案中,这种后续长期治疗是在不存在化疗治疗或其它治疗的情况下进行以降低复发或疾病进展的可能性。举例来说,用于预防癌症或预防癌症复发或进展至局部晚期疾病的长期糖苷酶治疗可每天施用 1 或 2 次。

[0081] 在一些实施方案中,患者被指示监测关节僵硬或不舒服。此类情况表明应对糖苷酶治疗进行调整。调整可包括略去一天或两天或长达一周的给药,或者使剂量每天减少一次或两次施用,直至症状清除。其它分子分析可用于相同效果,不过关节僵硬或不适提供患者顺应的容易性。因此,在所述方案过程中,糖苷酶剂量可根据患者容易地调整,并且因此长期维持最佳护理。

[0082] 在提供糖苷酶方案用于在其它干预之前治疗早期癌症或者在其它情况下用于增加更晚期患者对其它治疗的适合程度的各个实施方案中,糖苷酶方案的时长可通过可在例如血液或尿液中测定的生物标记组的改善或正常化或一种或多种肿瘤标记的减少来确定。此类标记可约每周或约每两周或约每月评估一次,并且只要观测到标记的改善或正常化就继续糖苷酶方案。手术、化疗以及/或者放射治疗被推迟,并且仅在单独的糖苷酶治疗不足以消除癌症的情况下开始。

[0083] 在一些实施方案中,只要可通过一种或多种肿瘤标记或免疫参数观测到益处就继续糖苷酶治疗。

[0084] 举例来说,在一些实施方案中,癌症是肝癌或生殖细胞癌,并且对糖苷酶治疗的反应是通过血液中的甲胎蛋白(AFP)水平来监测。

[0085] 在一些实施方案中,癌症是多发性骨髓瘤、慢性淋巴细胞性白血病或淋巴瘤,并且对糖苷酶治疗的反应是通过血液或尿液中的 β -2- 球蛋白水平(B2M)或免疫球蛋白水平来监测或者通过 BCR-ABL 检测来监测。

[0086] 在一些实施方案中,癌症是绒毛膜癌或睾丸癌,并且对糖苷酶治疗的反应是通过

β -人绒毛膜促性腺激素 (β -hCG) 水平来监测。

[0087] 在一些实施方案中,癌症是乳腺癌,并且对糖苷酶治疗的反应是通过血液中的 CA15-3/CA27.29 水平来监测。

[0088] 在一些实施方案中,癌症是胰腺癌、胆囊癌、胆管癌或胃癌,并且对糖苷酶治疗的反应是通过血液中的 CA19-9 水平来监测。

[0089] 在一些实施方案中,癌症是卵巢癌,并且对糖苷酶治疗的反应是通过血液中的 CA-125 水平来监测。

[0090] 在一些实施方案中,癌症是甲状腺髓样癌,并且对糖苷酶治疗的反应是通过血液中的降血钙素水平来监测。

[0091] 在一些实施方案中,癌症是乳腺癌或结肠直肠癌,并且对糖苷酶治疗的反应是通过血液中的癌胚抗原 (CEA) 水平或肿瘤中尿激酶纤溶酶原活化剂 (uPA) 以及纤溶酶原活化剂抑制剂 (PAI-1) 的存在或水平来监测。

[0092] 在一些实施方案中,癌症是神经内分泌肿瘤,并且对糖苷酶治疗的反应是通过血液中的嗜铬粒蛋白 A (CgA) 水平来监测。

[0093] 在一些实施方案中,癌症是膀胱癌,并且对糖苷酶治疗的反应是通过尿液中纤维蛋白 / 纤维蛋白原水平或核基质蛋白 22 水平来监测。

[0094] 在一些实施方案中,癌症是卵巢癌,并且对糖苷酶治疗的反应是通过血液中的 HE4 水平来监测。

[0095] 在一些实施方案中,癌症是生殖细胞癌,并且对糖苷酶治疗的反应是通过血液中的乳酸脱氢酶水平来监测。

[0096] 在一些实施方案中,癌症是前列腺癌,并且对糖苷酶治疗的反应是通过血液中的前列腺特异性抗原 (PSA) 水平来监测。

[0097] 在一些实施方案中,癌症是甲状腺癌,并且对糖苷酶治疗的反应是通过肿瘤中的甲状腺球蛋白水平来监测。

[0098] 关于改善或正常化可监测到的基本免疫或血液参数包括以下中的一种或多种:白血细胞、红血细胞或红细胞压积或红血细胞指数、血红蛋白或平均红细胞血红蛋白 (MCH 或 MCHC)、嗜中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、血小板或平均血小板体积 (MPV)。

[0099] 在本发明的其它方面中,提供一种药物组合物,其包含用于根据需要施用单一糖苷酶剂量的递送媒介物,并且其中所述媒介物含有至少 50 次剂量或至少 100 次剂量、至少 150 次剂量或至少 200 次剂量的完全糖苷酶方案。每次所施用的糖苷酶的剂量是如已经描述的多达约 10^{-2} mg 的量的糖苷酶和药学惰性成分。药物组合物可包含以下中的至少两种:神经氨酸酶、半乳糖苷酶、N-乙酰氨基半乳糖苷酶、岩藻糖苷酶、葡萄糖苷酶、N-乙酰氨基葡萄糖苷酶以及甘露糖苷酶,以及药学上可接受的赋形剂。举例来说,组合物可包含神经氨酸酶和 β -半乳糖苷酶。糖苷酶合计可以约 10^{-3} mg 至 10^{-8} mg 之间或根据以上所公开的剂量存在。组合物可被配制用于如本文所公开的多种施用途径,包括舌下递送。

[0100] 在各个实施方案中,治疗方案涉及分割式施用不超过约 10^{-3} mg 的量的糖苷酶,不过,在某些情况下,任一天中所施用的糖苷酶的总量可超过该限值。

[0101] 糖苷酶制剂可以多种途径和形式施用。举例来说,糖苷酶可以固体形式施用,其中

所述酶包埋或混合于生物可降解或生物可溶蚀基质中。基质可以是延时释放基质。这些基质是一般熟习此项技术者熟知的。糖苷酶可通过注射或通过舌下途径施用。在一个实施方案中,媒介物是含于惰性容器内的水溶液。在另一种变化形式中,组合物呈栓剂形式。组合物的液体形式可皮下、肌肉内或静脉内注射。此外,组合物可通过诸如鼻粘膜等粘膜施用。

[0102] 在某些实施方案中,糖苷酶组合物是通过药物施用器施用,所述施用器包括至少 100 次剂量或至少 150 次剂量或至少 200 次剂量的组合物。在各个实施方案中,施用器是用于舌下、经鼻、经皮、皮肤下延时释放、眼内、灌胃、输液港、皮下、经口或经颊递送。举例来说,施用器是用于舌下递送。

[0103] 在一些实施方案中,施用器递送计量剂量,其可由患者按需要进行调整。

[0104] 施用器优选以维持剩余剂量的无菌条件的方式分配剂量。举一些非限制性实例,施用器可以是描述于以下中的施用器中的任一个:美国专利 4,830,284;4,565,302;5,011,046;5,147,087;5,893,484;6,877,672;6,886,556 以及 7,201,296,所述专利各自特此以全文引用的方式并入。举例来说,施用器可以是雾化或计量泵,其可确保存在于泵筒与排料口之间的区域中的介质不干燥或不以其它方式被周围的影响改变。参见美国专利 4,830,284,其特此以引用的方式并入。在一些实施方案中,施用器采用 0.2 μm 过滤器以维持无菌内容物。另外,施用器可以单冲程排出的方式分配剂量。此类施用器描述于美国专利 5,893,484 中,所述专利特此以引用的方式并入。施用器可被配置成用于经鼻递送、皮肤递送、咽喉递送或舌下递送。在一些实施方案中,施用器允许可致动给药机构,其允许监测精确剂量并且因此大大消除关于剂量数和/或持续给药的不恰当给药。参见美国专利 4,565,302,其特此以引用的方式并入。在一些实施方案中,施用器递送 50 至 100 μl 的剂量,诸如描述于例如美国专利 6,886,556 中的施用器,所述专利特此以引用的方式并入。