



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 108135934 B

(45) 授权公告日 2024.09.10

(21) 申请号 201680061031.5  
 (22) 申请日 2016.10.18  
 (65) 同一申请的已公布的文献号  
 申请公布号 CN 108135934 A  
 (43) 申请公布日 2018.06.08  
 (30) 优先权数据  
 62/243,512 2015.10.19 US  
 (85) PCT国际申请进入国家阶段日  
 2018.04.18  
 (86) PCT国际申请的申请数据  
 PCT/US2016/057526 2016.10.18  
 (87) PCT国际申请的公布数据  
 W02017/070110 EN 2017.04.27  
 (73) 专利权人 永恒生物科技股份有限公司  
 地址 美国加利福尼亚州  
 (72) 发明人 A·W·H·杨 A·库安  
 (74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494  
 专利代理师 封新琴  
 (51) Int. Cl.  
 A61K 39/00 (2006.01)  
 A61K 35/76 (2015.01)  
 A61K 35/761 (2015.01)

A61P 35/00 (2006.01)  
 C07K 16/28 (2006.01)  
 C12N 7/01 (2006.01)  
 (56) 对比文件  
 US 2015190505 A1,2015.07.09  
 CN 108778301 A,2018.11.09  
 Ohaegbulam KC等.Human cancer immunotherapy with antibodies to the PD-1 and PD-L1 pathway.《Trends Mol Med》.2014,第21卷(第1期),  
 Rajani K等.Combination Therapy With Reovirus and Anti-PD-1 Blockade Controls Tumor Growth Through Innate and Adaptive Immune Responses.《Mol Ther》.2015,第24卷(第1期),  
 Du T等.Tumor-specific oncolytic adenoviruses expressing granulocyte macrophage colony-stimulating factor or anti-CTLA4 antibody for the treatment of cancers.Cancer Gene Ther.2014,第21卷(第8期),摘要,第341页左栏第3段.

审查员 李怡澜

权利要求书1页 说明书115页  
序列表1页 附图4页

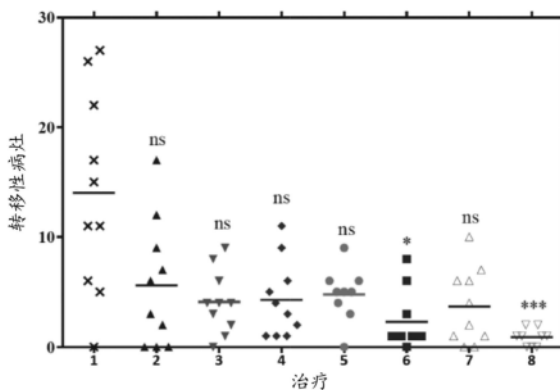
(54) 发明名称

通过组合疗法治疗实体或淋巴瘤的方法

(57) 摘要

本发明提供治疗患有实体或淋巴瘤的个体的方法,该方法包括向肿瘤部位局部施用感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。此类方法还可包括向该肿瘤部位局部施用不活化的肿瘤细胞。还提供用于此类癌症治疗方法的组合物和套装。

CN 108135934 B



1. 一种用于治疗个体的实体肿瘤的套装,其包括:a) 感染剂,其中所述感染剂是溶瘤腺病毒血清型5,其中天然腺病毒的内源性E1a启动子和E319kD编码区经人类E2F-1启动子和编码GM-CSF的核酸置换;b) 免疫调节剂,其中所述免疫调节剂包含抗PD-L1抗体;以及c) 用于将所述感染剂或所述免疫调节剂直接局部施用至所述肿瘤或具有所述肿瘤的组织的一种或多种装置。

2. 权利要求1的套装,其中所述抗PD-L1抗体选自由KY-1003、MCLA-145、RG7446、BMS935559、MPDL3280A、MEDI4736、阿维鲁单抗(Avelumab)或STI-A1010组成的组。

3. 权利要求1或2的套装,其中所述免疫调节剂还包含抗CTLA-4抗体。

4. 权利要求3的套装,其中所述抗CTLA-4抗体选自伊匹单抗、曲美木单抗、KAHR-102和9H10。

5. 权利要求1或2的套装,其中所述感染剂为CG0070。

6. 权利要求1或2的套装,其中,所述实体肿瘤为膀胱癌。

7. 权利要求6的套装,其中,所述一种或多种装置用于膀胱内施用所述感染剂和所述免疫调节剂至所述膀胱。

8. 权利要求1或2的套装,其中所述实体肿瘤是肺癌。

9. 一种药物组合物,其包含:a) 感染剂,其中所述感染剂是溶瘤腺病毒血清型5,其中天然腺病毒的内源性E1a启动子和E3 19kD编码区经人类E2F-1启动子和编码GM-CSF的核酸置换;b) 免疫调节剂,其中所述免疫调节剂包含抗PD-L1抗体;以及c) 适于将所述组合物直接局部施用至实体肿瘤或具有实体肿瘤的组织药理学上可接受的赋形剂。

10. 权利要求9的药物组合物,其中所述抗PD-L1抗体选自由KY-1003、MCLA-145、RG7446、BMS935559、MPDL3280A、MEDI4736、阿维鲁单抗(Avelumab)或STI-A1010组成的组。

11. 权利要求9或10的药物组合物,其中所述免疫调节剂还包含抗CTLA-4抗体。

12. 权利要求11的药物组合物,其中所述抗CTLA-4抗体选自伊匹单抗、曲美木单抗、KAHR-102和9H10。

13. 权利要求9或10的药物组合物,其中所述感染剂为CG0070。

14. 权利要求9或10的药物组合物,其中,所述实体肿瘤为膀胱癌。

15. 权利要求14的药物组合物,其中,膀胱内施用所述感染剂和所述免疫调节剂至所述膀胱。

16. 权利要求9或10的药物组合物,其中所述实体肿瘤是肺癌。

## 通过组合疗法治疗实体或淋巴肿瘤的方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及用于癌症免疫疗法的感染剂与一种或多种免疫调节剂的组合的局部施用。

### 背景技术

[0002] 先天及适应性免疫性的人类免疫系统是尚未成功用于抵抗癌症的极为复杂的系统。一种解释是,由于癌症通常在生命的后段部分发展,因此对抗癌症的免疫反应的发展对于进化过程中适者生存理论并不重要。在所有可能性中,人类免疫系统的不同方面并非出于意欲杀死被认为是“自身”的细胞的目的而特别设计。即使在广泛去除原发性肿瘤后,防止由于在手术时已经存在的微小转移生长而形成转移或在手术后未完全去除或重新附接的肿瘤细胞或肿瘤干细胞形成新的转移仍成问题。基本上,对于癌症的后期阶段,手术和/或放射疗法仅能顾及宏观病灶,而大多数患者的癌症会复发并且不适于进一步疗法。

[0003] 最近,FDA已批准两种针对前列腺癌和黑色素瘤的免疫治疗剂。第一药剂普洛文(Provenge)利用具有前列腺抗原的GM-CSF融合分子以在活体外活化晚期阶段癌症患者的单核或抗原呈递细胞,并且能延长此类患者的整体存活。第二药剂为抗CTLA-4单株抗体,已显示其可在T效应细胞生成中产生显著增强的效应。溶瘤病毒CG0070还已显示在一系列六次每周膀胱内处理后在膀胱癌症患者中触发长期完全反应(参见Burke JM等人,Journal of Urology Dec,188(6)2391-7,2012)。

[0004] 当前癌症免疫治疗方法面临各种基本挑战。例如,癌症患者中的肿瘤特异性免疫T淋巴球即使在其存在时,还通常仅以低频率全身发生。可能的原因在于常见癌症的肿瘤抗原的抗原性和特异性免疫原性通常较弱,以及经由细胞介素和调节细胞(例如Treg、肿瘤相关巨噬细胞等)存在极大量的阻抑剂活性。另外,发现使用非特异性组分以加强针对特定组分的免疫反应的旧观念极少成功,此乃因人体针对其自身细胞产生极具特异性的免疫反应的能力天然受限。毕竟,大多数癌细胞的免疫原性不足以与正常细胞不同。源自非特异性免疫组分的此类免疫反应即使产生也将是短命的。

[0005] 至少出于上文论述的原因,已尝试使用可用肿瘤抗原和佐剂的活体外和预调配的治疗性癌症疫苗达数十年,但没有大量成功。明确需要具有改良性能的癌症免疫治疗方法。

[0006] 本文中引用的所有出版物、专利、专利申请和已公开专利申请的公开内容的全文皆以引用方式并入本文中。

### 发明内容

[0007] 本专利申请提供用于治疗个体的实体或淋巴肿瘤的方法、组合物(包括药物组合物)和套装,其包括向该肿瘤部位局部施用感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。此类方法、组合物和套装还可包括不活化的肿瘤细胞或其用途。向肿瘤部位局部施用治疗性组分(例如,感染剂、免疫调节剂和不活化的肿瘤细胞)是本发明的关键需求。

[0008] 不受限于任何理论或假设,本发明部分地基于用于递送治疗性组分和引发免疫反

应的“于”肿瘤部位概念,其可用于克服治疗实体或抗性淋巴瘤中可能不可克服的障碍。根据“于”肿瘤部位概念,治疗性组分是“于”肿瘤部位、以正确的有效量、在正确的时间以及以正确的顺序递送。治疗性组分的有效量、时间和顺序各自独立地可基于肿瘤的特定状况调节。例如,使用“于”肿瘤部位概念的感染剂、免疫调节剂和视情况不活化的肿瘤细胞的组合的施用可产生适当量的选自感染剂、个体自身的身体反应、和/或视情况所施用活的肿瘤细胞的免疫相关分子(例如GM-CSF),从而导致耐受性破坏抗原(TBA)的释放,此类耐受性破坏抗原促使还“于”肿瘤部位的免疫信号确认(例如CD4和CD8T细胞的1、2、3个信号)以及效应细胞的生成。由此,据信具有强烈且耐久效应的“完整”特异性癌症免疫疗法反应恰好发生“于”肿瘤部位。

[0009] 不受限于任何理论或假设,据信通过实时感染过程于肿瘤部位释放先前未知的肿瘤特异性或选择性耐受性破坏抗原(TBA)可在此过程中起关键作用,此乃因此类抗原仅能在细胞死亡的确切时间和部位释放。TBA可由衍生自肿瘤或甚至衍生自对肿瘤至关重要的结构(例如基质细胞)的抗原组成,并且TBA可能不会由AIRE(胸腺中的自体免疫调节剂基因)先前转录。另外,据信TBA的释放是必须在肿瘤部位捕获的瞬时现象。

[0010] 在“于”肿瘤部位概念框架下,另外据信免疫调节剂(例如免疫检查点抑制剂)和免疫刺激剂的使用可极大地帮助提供与恰好“于”肿瘤部位使用感染剂和不活化的肿瘤细胞的协同效应。依剂量、施用途径以及其他药动学和药效学因子而定,免疫调节剂可对身体且特定而言对免疫系统发挥不同效应。本发明中的“于”肿瘤部位概念需要以可调节的剂量和时间表施用免疫调节剂,而非(例如)以来自转基因的固定剂量表达。举例而言,抗CTLA-4拮抗剂抗体的IV施用的增加剂量与免疫抑制细胞(例如Treg)的全身性增加相关。在抗CTLA-4抗体的足够高的全身含量下,患者仅能在局部肿瘤部位和引流淋巴结中获得益处,例如CD8/CD4比率增加以及IL12和IFN  $\gamma$  上调等,此与显著免疫相关不良事件和自体免疫病况的恶化(包括不可逆且致命的事件)相关。相反,在本发明中,“于”肿瘤部位施用免疫调节剂(例如抗CTLA-4抗体),以使“完整”特异性癌症免疫疗法反应恰好发生“于”肿瘤部位,包括特异性癌细胞死亡“活”混合物和TBA的释放(较少正常细胞死亡以混淆系统)、抗原呈递细胞和免疫细胞的“实时”成熟和迁移、经由免疫调节剂(例如,免疫细胞活化、功能、存活、扩增和记忆中的共刺激因子、抑制性检查点分子的拮抗剂和激动剂)的免疫信号的确认。上述所有免疫事件皆恰好在肿瘤部位发生,此与仅仅依赖于经由二级淋巴器官的中枢或全身性免疫反应以根除肿瘤细胞的领域的传统观点相反。

[0011] “于”肿瘤部位概念进一步得到先前的CG0070临床试验的未公开结果支持,其显示在治疗过程期间IL6而非任何其他细胞介素的恒定释放。不受限于任何理论或假设,据信与TGF $\beta$ 组合的IL6使Treg以及其他CD4细胞转向定向至Th17免疫途径。如果此转变在癌细胞死亡以及抗原呈递和免疫细胞活化时恰好立刻发生,则Th1途径将在自体免疫基础上得以证实,此为效应物T细胞破坏所谓的“自身免疫”癌细胞所必需的。否则,当仅暂时赋予Th1途径而未释放IL6并定向至Th17途径时,癌细胞容易被效应物T细胞“耐受”。由于仅在肿瘤部位观察到IL6的表达以及向Th17途径的转变,此类结果进一步证实“于”肿瘤部位疗法的重要性。

[0012] 因此,本专利申请的一个方面提供治疗个体(例如,人类个体)的实体或淋巴瘤的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的感染剂;以及b)向该肿瘤部位局部

施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,提供抑制个体(例如,人类个体)的实体或淋巴肿瘤转移的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的感染剂;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。

[0013] 在根据上文所提供方法中的任一者的一些实施方案中,感染剂为病毒,包括非溶瘤病毒或溶瘤病毒,例如选自由下列组成的组的病毒:腺病毒、单纯疱疹病毒、牛痘病毒、腮腺炎病毒、新城鸡瘟病毒、脊髓灰质炎病毒、麻疹病毒、塞尼卡谷病毒(Seneca valley virus)、柯萨奇病毒(coxsackie virus)、里奥病毒、水疱性口炎病毒、马拉巴(maraba)和棒状病毒、以及小病毒。在一些实施方案中,感染剂为细菌,例如卡介苗(Bacillus Calmette-Guerin, BCG)、分枝杆菌细胞壁-DNA复合物("MCNA")或单核球增多性李氏菌(Listeria monocytogene)。

[0014] 在根据上文所提供方法中的任一者的一些实施方案中,感染剂为溶瘤病毒。在一些实施方案中,溶瘤病毒为溶瘤腺病毒。在一些实施方案中,溶瘤病毒优先在癌细胞中复制。在一些实施方案中,溶瘤病毒包括病毒载体,该病毒载体包括可操作连接至病毒复制所必需的病毒基因的肿瘤细胞特异性启动子。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为E2F-1启动子。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为人类E2F-1启动子。在一些实施方案中,E2F-1启动子包括SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列。在一些实施方案中,病毒复制所必需的病毒基因选自由下列组成的组:E1A、E1B和E4。

[0015] 在根据上文所提供方法中的任一者的一些实施方案中,将感染剂和/或免疫调节剂直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,将感染剂直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,将免疫调节剂直接施用至肿瘤中。

[0016] 在根据上文所提供方法中的任一者的一些实施方案中,将感染剂和/或免疫调节剂施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,将感染剂施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,将免疫调节剂施用至具有肿瘤的组织。

[0017] 在根据上文所提供方法中的任一者的一些实施方案中,依序施用感染剂和免疫调节剂。在一些实施方案中,在施用免疫调节剂之前施用感染剂。在一些实施方案中,在施用免疫调节剂之后施用感染剂。

[0018] 在根据上文所提供方法中的任一者的一些实施方案中,同时施用感染剂和免疫调节剂。在一些实施方案中,在同一组合物中施用感染剂和免疫调节剂。

[0019] 在根据上文所提供方法中的任一者的一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点分子的调节剂,该免疫检查点分子选自由下列组成的组:CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、TIM3、B7-H3、B7-H4、LAG-3、KIR、以及它们的配体。在一些实施方案中,免疫调节剂为CTLA-4的抑制剂,例如抗CTLA-4抗体(例如,伊匹单抗(Ipilimumab))。在一些实施方案中,抗CTLA-4抗体选自由下列组成的组:伊匹单抗、曲美木单抗(Tremilimumab)和单链抗CTLA-4抗体。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为特异性识别CTLA-4的经改造的脂质运载蛋白,例如特异性结合至CTLA-4的抗运载蛋白分子。

[0020] 在根据上文所提供方法中的任一者的一些实施方案中,免疫调节剂为免疫刺激剂(例如免疫刺激分子的激动剂)。在一些实施方案中,免疫刺激剂为OX40、4-1BB或CD40的活化剂。在一些实施方案中,免疫刺激剂为CD40的刺激剂,例如CD40的激动剂抗体。

[0021] 在根据上文所提供方法中的任一者的一些实施方案中,该方法还包含向该肿瘤部位局部施用免疫相关分子(例如细胞介素、趋化介素或PRRago(即,病原体识别受体激动剂))。在一些实施方案中,免疫相关分子选自由下列组成的组:GM-CSF、IL-2、IL-12、干扰素(例如1型、2型或3型干扰素,例如干扰素 $\gamma$ )、CCL4、CCL19、CCL21、CXCL13、TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、RIG-I、MDA5、LGP2和LT $\alpha\beta$ 。在一些实施方案中,免疫相关分子与感染剂分开施用。在一些实施方案中,免疫相关分子由感染剂表达,其中感染剂包括编码免疫相关分子的核酸。在一些实施方案中,免疫相关分子选自由下列组成的组:STING(即,干扰素基因的刺激物)活化剂(例如CDN)、PRRago(例如CpG、咪喹莫特(Imiquimod)或聚I:C)、TLR刺激物(例如GS-9620、AED-1419、CYT-003-QbG10、AVE-0675或PF-7909)和RLR(即,Rig-I样受体)刺激物(例如RIG-I、Mda5或LGP2刺激物)。

[0022] 在根据上文所提供方法中的任一者的一些实施方案中,感染剂为包括病毒载体的病毒,并且其中病毒载体包括编码免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素)的核酸。在一些实施方案中,编码免疫相关分子的核酸可操作连接至病毒启动子。在一些实施方案中,病毒为腺病毒,并且病毒启动子为E3启动子。在一些实施方案中,感染剂为腺病毒血清型5,其中天然腺病毒的内源性E1a启动子和E3 19kD编码区经人类E2F-1启动子和编码人类GM-CSF的核酸置换。在一些实施方案中,感染剂为CG0070。

[0023] 在根据上文所提供方法中的任一者的一些实施方案中,该方法还包括在施用感染剂之前向该肿瘤部位局部施用预处理组合物。在一些实施方案中,预处理组合物包含转导增强剂,例如N-十二烷基- $\beta$ -D-麦芽糖苷(DDM)。

[0024] 在根据上文所提供方法中的任一者的一些实施方案中,在施用感染剂和免疫调节剂之前,个体(例如,完全或仅在肿瘤部位)经历先前疗法。在一些实施方案中,先前疗法为辐射疗法(例如,具有或无化学疗法)。在一些实施方案中,先前疗法包括施用治疗剂。在一些实施方案中,治疗剂为增加参与免疫原性途径的细胞介素的含量的药剂。在一些实施方案中,治疗剂为引起肿瘤的结构组分功能障碍或对其损害的药剂。在一些实施方案中,治疗剂选自由下列组成的组:抗VEGF抗体、玻尿酸酶、CCL21和N-十二烷基- $\beta$ -麦芽糖苷。在一些实施方案中,所提供先前疗法的剂量不足以根除肿瘤细胞。

[0025] 在根据上文所提供方法中的任一者的一些实施方案中,该方法还包括向该肿瘤部位局部施用有效量的不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞为自体的。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞为同种异体的。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞来自肿瘤细胞系。在一些实施方案中,通过辐照使不活化的肿瘤细胞不活化。

[0026] 在根据上文所提供方法中的任一者的一些实施方案中,同时施用感染剂和不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,感染剂和不活化的肿瘤细胞是以单一组合物形式施用。在一些实施方案中,在即将施用之前混合感染剂和不活化的肿瘤细胞。

[0027] 在根据上文所提供方法中的任一者的一些实施方案中,实体或淋巴肿瘤为膀胱癌(例如肌肉侵袭性膀胱癌或非肌肉侵袭性膀胱癌)。在一些实施方案中,感染剂是膀胱内施用。在一些实施方案中,免疫调节剂是膀胱内施用。

[0028] 在根据上文所提供方法中的任一者的一些实施方案中,每周施用感染剂和/或免疫调节剂。

[0029] 在根据上文所提供方法中的任一者的一些实施方案中,个体在肿瘤(例如肿瘤细

胞或源自肿瘤的免疫细胞)中具有一个或多个选自以下的生物标记的高表达:PD-1、PD-L1和PD-L2。在一些实施方案中,个体在肿瘤源成熟树突细胞中具有一个或多个选自以下的生物标记的高表达:CD80、CD83、CD86和HLA-II类抗原。在一些实施方案中,个体具有一个或多个选自由下列组成的组的生物标记的高表达: CXCL9、CXCL10、CXCL11、CCR7、CCL5、CCL8、SOD2、MT2A、OASL、GBP1、HES4、MTIB、MTIE、MTIG、MTIH、GADD45A、LAMP3和miR-155。

[0030] 本专利申请的另一方提供用于治疗个体的实体或淋巴瘤的套装,其包括:a) 感染剂,b) 免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合),以及c) 用于向肿瘤部位局部施用感染剂或免疫调节剂的装置。在一些实施方案中,感染剂为病毒,例如非溶瘤病毒或溶瘤病毒。在一些实施方案中,感染剂为优先在癌细胞中复制的溶瘤腺病毒。

[0031] 在根据上文提供的套装中的任一者的一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点分子的调节剂,该免疫检查点分子选自由下列组成的组:CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、TIM3、B7-H3、B7-H4、LAG-3、KIR、以及它们的配体。在一些实施方案中,免疫调节剂为CTLA-4的抑制剂,例如抗CTLA-4抗体(例如,伊匹单抗)。在一些实施方案中,抗CTLA-4抗体选自由下列组成的组:伊匹单抗、曲美木单抗和单链抗CTLA-4抗体。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为特异性识别CTLA-4的经改造的脂质运载蛋白,例如特异性结合至CTLA-4的抗运载蛋白分子。

[0032] 在根据上文提供的套装中的任一者的一些实施方案中,免疫调节剂为免疫刺激剂(例如免疫刺激分子的激动剂)。在一些实施方案中,免疫刺激剂为OX40、4-1BB或CD40的活化剂。在一些实施方案中,免疫刺激剂为CD40的刺激剂,例如CD40的激动剂抗体。

[0033] 在根据上文提供的套装中的任一者的一些实施方案中,感染剂包括编码免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素)的核酸。在一些实施方案中,免疫相关分子选自由下列组成的组:GM-CSF、IL-2、IL12、干扰素(例如1型、2型或3型干扰素,例如干扰素 $\gamma$ )、CCL4、CCL19、CCL21、CXCL13、TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、RIG-I、MDA5、LGP2和LT $\alpha\beta$ 。在一些实施方案中,感染剂为包括病毒载体的病毒,并且其中病毒载体包括编码免疫相关分子的核酸。在一些实施方案中,编码免疫相关分子的核酸可操作连接至病毒启动子。在一些实施方案中,病毒为腺病毒,并且病毒启动子为E3启动子。在一些实施方案中,感染剂为腺病毒血清型5,其中天然腺病毒的内源性E1a启动子和E3 19kD编码区经人类E2F-1启动子和编码人类GM-CSF的核酸置换。在一些实施方案中,感染剂为CG0070。

[0034] 在根据上文提供的套装中的任一者的一些实施方案中,套装还包含选自由下列组成的组的免疫相关分子:STING活化剂(例如CDN)、PRRago(例如CpG、咪喹莫特或聚I:C)、TLR刺激物(例如GS-9620、AED-1419、CYT-003-QbG10、AVE-0675或PF-7909)和RLR刺激物(例如RIG-I、Mda5或LGP2刺激物)。

[0035] 在根据上文提供的套装中的任一者的一些实施方案中,套装还包括包括转导增强剂的预处理组合物。在一些实施方案中,转导增强剂为N-十二烷基- $\beta$ -D-麦芽糖苷(DDM)。

[0036] 在根据上文提供的套装中的任一者的一些实施方案中,套装还包含多个不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,套装还包括在施用之前混合感染剂与不活化的肿瘤细胞的说明书。在一些实施方案中,用于局部施用的装置用于同时施用多个不活化的肿瘤细胞和感染剂。

[0037] 在根据上文提供的套装中的任一者的一些实施方案中,用于局部施用的装置用于

将感染剂和/或免疫调节剂直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,用于局部施用的装置用于将感染剂和/或免疫调节剂施用具有肿瘤的组织。

[0038] 在本专利申请的一个方面中另外提供包括以下的药物组合物:a) 感染剂,b) 免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合),以及c) 适于将组合物局部施用至肿瘤部位的药学上可接受的赋形剂。在一些实施方案中,药学上可接受的赋形剂为聚合物,例如水凝胶。

[0039] 在根据上文提供的药物组合物中的任一者的一些实施方案中,感染剂为病毒,例如非溶瘤病毒或溶瘤病毒。在一些实施方案中,感染剂为优先在癌细胞中复制的溶瘤腺病毒。

[0040] 在根据上文提供的药物组合物中的任一者的一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点分子的调节剂,该免疫检查点分子选自由下列组成的组:CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、TIM3、B7-H3、B7-H4、LAG-3、KIR、以及它们的配体。在一些实施方案中,免疫调节剂为CTLA-4的抑制剂,例如抗CTLA-4抗体(例如,伊匹单抗)。在一些实施方案中,抗CTLA-4抗体选自由下列组成的组:伊匹单抗、曲美木单抗和单链抗CTLA-4抗体。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为特异性识别CTLA-4的经改造的脂质运载蛋白,例如特异性结合至CTLA-4的抗运载蛋白分子。

[0041] 在根据上文提供的药物组合物中的任一者的一些实施方案中,免疫调节剂为免疫刺激剂(例如免疫刺激分子的激动剂)。在一些实施方案中,免疫刺激剂为OX40、4-1BB或CD40的活化剂。在一些实施方案中,免疫刺激剂为CD40的刺激剂,例如CD40的激动剂抗体。

[0042] 在根据上文提供的药物组合物中的任一者的一些实施方案中,感染剂包括编码免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素)的核酸。在一些实施方案中,免疫相关分子选自由下列组成的组:GM-CSF、IL-2、IL12、干扰素(例如1型、2型或3型干扰素,例如干扰素 $\gamma$ )、CCL4、CCL19、CCL21、CXCL13、TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、RIG-I、MDA5、LGP2和LT $\alpha\beta$ 。在一些实施方案中,感染剂为包括病毒载体的病毒,并且其中病毒载体包括编码免疫相关分子的核酸。在一些实施方案中,编码免疫相关分子的核酸可操作连接至病毒启动子。在一些实施方案中,病毒为腺病毒,并且病毒启动子为E3启动子。在一些实施方案中,感染剂为腺病毒血清型5,其中天然腺病毒的内源性E1a启动子和E3 19kD编码区经人类E2F-1启动子和编码人类GM-CSF的核酸置换。在一些实施方案中,感染剂为CG0070。

[0043] 在根据上文提供的药物组合物的一些实施方案中,药物组合物还包括选自由下列组成的组的免疫相关分子:STING活化剂(例如CDN)、PRRago(例如CpG、咪喹莫特或聚I:C)、TLR刺激物(例如GS-9620、AED-1419、CYT-003-QbG10、AVE-0675或PF-7909)和RLR刺激物(例如RIG-I、Mda5或LGP2刺激物)。

[0044] 在根据上文提供的药物组合物中的任一者的一些实施方案中,药物组合物还包括包括转导增强剂的预处理组合物。在一些实施方案中,转导增强剂为N-十二烷基- $\beta$ -D-麦芽糖苷(DDM)。

[0045] 在根据上文提供的药物组合物中的任一者的一些实施方案中,药物组合物还包括多个不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,多个不活化的肿瘤细胞为自体的。在一些实施方案中,多个不活化的肿瘤细胞为同种异体的。在一些实施方案中,多个不活化的肿瘤细胞来自肿瘤细胞系。在一些实施方案中,通过辐照使多个不活化的肿瘤细胞不活化。

[0046] 还提供本文所述感染剂中的任一者和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)中的任一者用于治疗实体或淋巴瘤(例如用于抑制肿瘤转移)的用途、以及本文所述感染剂中的任一者和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)中的任一者用于制造用于治疗实体或淋巴瘤(例如用于抑制肿瘤转移)的药剂的用途。

[0047] 自随后具体实施方式和随附权利要求书将明了本发明的此类和其他方面与优点。应理解,本文所述各实施方案的性质中的一者、一些或全部可组合以形成本发明的其他实施方案。

## 附图说明

[0048] 图1为CG0070和野生型(wt)腺病毒类型5的示意图。CG0070为基于腺病毒血清型5,但内源性E1a启动子和E3 19kD编码区已分别经人类E2F-1启动子和人类GM-CSF的cDNA编码区置换。

[0049] 图2显示实施例9的活体内研究中的动物组和给药方案。

[0050] 图3为显示实施例9的活体内研究中第23天的每一动物组的所列举转移病灶的分布的散布图。水平线对应于平均值。双尾统计分析为于 $P=0.05$ 下执行。于 $P>0.05$ 下认为测试结果不显著(ns)、于 $0.01<P<0.05$ 下显著(由符号\*表示)、于 $0.001<P<0.01$ 下极显著(\*\*)、并且于 $P<0.001$ 下极为显著(\*\*\*)。

[0051] 图4为显示实施例9的活体内研究中第19天的每一动物组的肿瘤体积的盒须图。盒代表观察的第25和第75百分位数,线代表观察的中值,并且须代表极端观察。

[0052] 图5为显示实施例10中的活体内研究的给药时间表的图。

## 具体实施方式

[0053] 相关申请交叉参考

[0054] 本专利申请主张于2015年10月19日提出申请的美国临时专利申请62/243,512的权益,该专利申请的内容以全文引用的方式并入本文中。

[0055] 以ASCII文本文档提交序列列表

[0056] 以ASCII文本文档的下列提交内容的全部内容以引用方式并入本文中:计算机可读形式(CRF)的序列列表(文件名称:744442000140SEQLIST.txt,记录日期:2016年10月14日,大小:3KB)。

[0057] 本发明提供用于治疗个体的实体或淋巴瘤(包括抑制肿瘤转移)的方法和组合物,其为通过向肿瘤部位局部施用有效量的感染剂(例如溶瘤病毒,视情况表达诸如GM-CSF等细胞介素或与其组合)和有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合,例如免疫刺激剂和/或免疫检查点抑制剂)来完成。此类方法和组合物还可包括局部施用不活化的肿瘤细胞。可将感染剂和/或免疫调节剂和/或不活化的肿瘤细胞直接施用至肿瘤中。或者,将感染剂和/或免疫调节剂和/或不活化的肿瘤细胞施用至具有肿瘤细胞的组织。例如,一种适于本文所述方法的示例性肿瘤为膀胱癌,并且可膀胱内施用感染剂和/或免疫调节剂。

[0058] 本发明提供通过局部(例如肿瘤内)递送治疗性组分(包括感染剂、一种或多种免疫调节剂和活的癌细胞)在人体内生成的活的实时“活体内”癌症疫苗系统。不受限于任何理论或假设,据信该活体内部位上和实时感染系统导致先前未知的耐受性破坏抗原

（“TBA”）释放，其可基本上为瞬时现象。因此，在本文所述的所有三种组分（肿瘤部位处存在或施用至肿瘤部位的感染剂、免疫调节剂和活的癌细胞）存在时，可达成针对实体和淋巴肿瘤的有效适应性免疫疗法。

[0059] 本文所述方法的一个需求为将感染剂、免疫调节剂（包括免疫调节剂的组合）和视情况不活化的肿瘤细胞局部施用至肿瘤部位。局部施用的直接效应是重要的，此乃因如果组分未直接提供至肿瘤细胞（例如，在全身施用时），则该等组分将借由人体或在人体上产生药动学和药效学变化。此类变化将提示在成功所需的复杂以及精细的免疫反应的错误方向上肿瘤抑制与活化之间的精细平衡。

[0060] 因此，据信本文所述组合将允许在个体中完全利用溶瘤和免疫原性反应，并增加癌症免疫疗法的治疗潜力。熟习此项技术者应理解，本文所述的组合治疗方法需要一种药剂或组合物与另一种药剂结合施用。可独立地优化本文提供的组合疗法（例如感染剂、每一免疫调节剂和不活化的肿瘤细胞）中的每一药剂的剂量、给药时间表、施用途径和施用顺序，以提供最佳的治疗结果。此类方法也可进一步与预处理组合，例如局部辐射、或细胞介素、趋化介素或其他有益治疗剂的局部施用，以增加疗法成功的机会。

[0061] 在一方面中，提供治疗个体的实体或淋巴肿瘤的方法，该方法包括：a) 向该肿瘤部位局部施用有效量的感染剂；以及b) 向该肿瘤部位局部施用有效量的免疫调节剂（包括免疫调节剂的组合）。在一些实施方案中，提供治疗个体的实体或淋巴肿瘤的方法，该方法包括：a) 向该肿瘤部位局部施用有效量的感染剂；b) 向该肿瘤部位局部施用有效量的免疫调节剂（包括免疫调节剂的组合）；以及c) 向该肿瘤部位局部施用有效量的不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中，提供治疗个体的膀胱癌的方法，该方法包括：a) 膀胱内施用有效量的感染剂；以及b) 膀胱内施用有效量的免疫调节剂（包括免疫调节剂的组合）。

[0062] 还提供可用于本文所述方法的组合物（例如药物组合物）、套装和制品。在一方面中，提供用于治疗个体的实体或淋巴肿瘤的套装，其包括：a) 感染剂，b) 免疫调节剂（包括免疫调节剂的组合），以及c) 用于向肿瘤部位局部施用感染剂或免疫调节剂的装置。在一方面中，提供用于治疗个体的实体或淋巴肿瘤的套装，其包括：a) 感染剂，b) 免疫调节剂（包括免疫调节剂的组合），c) 多个不活化的肿瘤细胞；以及d) 用于向肿瘤部位局部施用感染剂、免疫调节剂或多个不活化的肿瘤细胞的装置。在另一方面中，提供包括以下的药物组合物：a) 感染剂，b) 免疫调节剂（包括免疫调节剂的组合），以及c) 适于将组合物局部施用至肿瘤部位的药学上可接受的赋形剂。在另一方面中，提供包括以下的药物组合物：a) 感染剂，b) 免疫调节剂（包括免疫调节剂的组合），c) 多个不活化的肿瘤细胞；以及d) 适于将组合物局部施用至肿瘤部位的药学上可接受的赋形剂。

[0063] 定义

[0064] 如本文所用的“治疗”（“treatment”或“treating”）为用于获得有益或期望结果（包括临床结果）的方法。出于本发明的目的，有益或期望临床结果包括但不限于以下中的一者或多者：缓和由疾病导致的一种或多种症状、减轻疾病的程度、稳定疾病（（例如预防或延迟疾病恶化）、预防或延迟疾病扩散（例如转移）、预防或延迟疾病复发、降低疾病的复发率、延迟或推迟疾病进展、改善疾病状态、提供疾病的缓解（部分或全部）、减少治疗疾病所需的一种或多种其他药剂的剂量、延迟疾病进展、提高生活质量和/或延长生存。“治疗”还涵盖癌症的病理结果的减少。本发明方法涵盖治疗的此类方面中的任一者或多者。

[0065] “辅助设定”是指其中个体具有癌症病史且通常(但不必)对疗法有反应的临床设定,该疗法包括但不限于手术(例如手术切除术)、放射疗法和化学疗法。“辅助设定”中的治疗或施用是指随后的治疗模式。

[0066] “前导性设定”是指其中在初次/确定疗法之前实施该方法的临床设定。本文中的前导性设定还指与如本发明中所述的治疗性组分(例如,感染剂和免疫调节剂;或感染剂、免疫调节剂和不活化的肿瘤细胞)结合以依序方式使用的任何“肿瘤部位制备”治疗模式。

[0067] 如本文所用的“感染剂”是指病毒,包括非溶瘤病毒或溶瘤病毒,包括但不限于腺病毒、单纯疱疹病毒、牛痘病毒、腮腺炎病毒、新城鸡瘟病毒、脊髓灰质炎病毒、麻疹病毒、塞尼卡谷病毒、柯萨奇病毒、里奥病毒、水疱性口炎病毒、马拉巴和棒状病毒、以及小病毒。另外,感染剂也可作为细菌,例如卡介苗(BCG)、分枝杆菌细胞壁-DNA复合物(“MCNA”)或单核球增多性李氏菌。

[0068] 本文所用术语“有效量”是指足以治疗指定病症、病况或疾病(例如改善、缓解、减轻和/或延迟其症状中的一者或多者)的化合物或组合物的量。在提及癌症时,有效量包括足以引起肿瘤收缩和/或减小肿瘤的生长速率(例如抑制肿瘤生长)或预防或延迟癌症中的其他不期望细胞增殖的量。在一些实施方案中,有效量为足以延迟癌症发展的量。在一些实施方案中,有效量为足以预防或延迟复发的量。在一些实施方案中,有效量为足以降低个体的复发率的量。在一些实施方案中,有效量为足以抑制个体的肿瘤转移的量。有效剂量可以一次或多次施用来施用。有效量的药品或组合物可:(i)减少癌细胞的数目;(ii)减小肿瘤大小;(iii)抑制、推迟、在一定程度上减缓并优选停止癌细胞浸润至外周器官中;(iv)抑制(即,在一定程度上减缓并优选停止)肿瘤转移;(v)抑制肿瘤生长;(vi)预防肿瘤发生和/或复发;(vii)延迟肿瘤发生和/或复发;(viii)降低肿瘤的复发率,和/或(ix)在一定程度上减轻与癌症相关的一种或多种症状。如业内所理解,“有效量”可为一个或多个剂量,即,可能需要单一剂量或多个剂量来实现期望治疗终点。

[0069] “与…结合”或“与…组合”是指除另一治疗方式外还施用一种治疗方式,例如在相同治疗计划下向同一个体除施用另一药剂(例如免疫调节剂和/或不活化的肿瘤细胞)外还施用本文所述感染剂。因此,“与…结合”或“与…组合”是指在向个体递送另一治疗方式之前、期间或之后施用一种治疗方式。

[0070] 如本文所用术语“同时施用”意指组合疗法中的第一疗法和第二疗法为同时施用。在第一和第二疗法为同时施用时,第一和第二疗法可包括于同一组合物中(例如,组合物包括第一和第二疗法二者)或单独组合物中(例如,第一疗法包括于一种组合物中且第二疗法包括于另一组合物中)。

[0071] 如本文所用术语“依序施用”或“按顺序”意指组合疗法中的第一疗法和第二疗法是以(例如)超过约1分钟、例如超过以下中的约任一者的时间间隔施用:5、10、15、20、30、40、50、60或更多分钟。在一些情形下,术语“依序施用”意指组合疗法中的第一疗法和第二疗法是以超过约1天、例如超过以下中的约任一者的时间间隔施用:1天至1周、2周、3周、4周、8周、12周或更多周。可首先施用第一疗法或第二疗法。第一和第二疗法包括于单独组合物中,其可包括于相同或不同包装或套装中。

[0072] 术语“在即将…之前施用”意指第一疗法是在施用第二疗法之前不超过约15分钟、例如不超过10、5或1分钟中的约任一者施用。术语“在…之后立刻施用”意指第一疗法是在

施用第二疗法之后不超过约15分钟、例如不超过15、10或1分钟中的约任一者施用。

[0073] 如本文所用,当阐述化合物作为抑制剂时使用的“特异性”(“specific”或“specificity”)或“选择性”(“selective”或“selectivity”)意指化合物优选与特定靶标(例如,蛋白质和酶)而非非靶标相互作用(例如,结合、调节和抑制)。

[0074] 如本文所用术语“转导”(“transduction”和“transfection”)包括业内已知使用感染剂(例如病毒)或以其他方式以将DNA引入细胞中用于表达所关注蛋白质或分子的所有方法。除病毒或病毒样试剂外,还存在基于化学的转染方法,例如使用磷酸钙、树枝状聚合物、脂质体或阳离子聚合物(例如DEAE-聚葡萄糖或聚乙烯亚胺);非化学方法,例如电穿孔、细胞挤压、声波穿孔、光学转染、刺穿感染、原生质体融合、质体或转位子递送;基于颗粒的方法,例如使用基因枪、磁转染或磁铁辅助转染、颗粒轰击;以及杂交方法,例如核转染。

[0075] 如本文所用术语“肿瘤部位制备”阐述单一治疗方式或欲与治疗性组分(例如,感染剂和免疫调节剂;或感染剂、免疫调节剂和不活化的肿瘤细胞)以依序方式结合使用的一种以上治疗模态的组合,并且其中治疗方式或模态为直接或间接地(例如经由IV疗法)施用于肿瘤部位(例如癌细胞或含有癌细胞的组织)。用于肿瘤部位制备的示例性治疗模态包括但不限于施用免疫相关分子、辐照和施用治疗剂。本文所述所有肿瘤部位制备皆可包括施用单一分子或药剂、或一种以上分子和/或药剂的组合。

[0076] 应理解,本文所述本发明的实施方案包括“由实施方案组成”和/或“基本上由实施方案组成”。

[0077] 本文中在提及“约”值或参数时包括(且阐述)针对该值或参数本身的变化。例如,提及“约X”的说明包括“X”的说明。

[0078] 如本文所用,在提及“并非”值或参数时通常意指且阐述“不同于”值或参数。例如,方法不用于治疗X型癌症意指方法用于治疗不同于X类型的癌症。

[0079] 本文所用术语“约X-Y”具有与“约X至约Y”相同的含义。

[0080] 除非上下文另外明确指示,否则如本文和随附权利要求书中所用的单数形式“一(a、an)”和“该”包括多个指示物。

[0081] 治疗实体或淋巴肿瘤的方法

[0082] 本发明提供治疗个体(例如人类)的实体或淋巴肿瘤(例如膀胱癌)的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的感染剂;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,提供抑制个体的实体或淋巴肿瘤转移的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的感染剂;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,感染剂为病毒,例如选自由下列组成的组的病毒:腺病毒、单纯疱疹病毒、牛痘病毒、腮腺炎病毒、新城鸡瘟病毒、脊髓灰质炎病毒、麻疹病毒、塞尼卡谷病毒、柯萨奇病毒、里奥病毒、水疱性口炎病毒、马拉巴和棒状病毒、以及小病毒。在一些实施方案中,感染剂为细菌,例如分枝杆菌及其衍生物(例如,卡介苗(“BCG”)、或分枝杆菌细胞壁-DNA复合物(“MCNA”或“MCC”,例如UROCIDIN™)或单核球增多性李氏菌。在一些实施方案中,感染剂为野生型感染剂。在一些实施方案中,感染剂经遗传修饰。在一些实施方案中,感染剂经减毒(例如经由多次传代、不活化或遗传修饰)。在一些实施方案中,感染剂仅为可引起感染、发炎或感染样效应的野生型感染剂的一个或多个部分。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点抑制剂。在一些

实施方案中,免疫调节剂为免疫刺激剂。在一些实施方案中,方法包括局部施用免疫调节剂的组合,其包括一种或多种免疫检查点抑制剂和/或一种或多种免疫刺激剂(例如至少两种免疫检查点抑制剂、至少两种免疫刺激剂或至少一种免疫检查点抑制剂和至少一种免疫刺激剂的组合)。在一些实施方案中,将感染剂和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,将感染剂和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,将感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)二者直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,将感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)二者施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,每周施用感染剂。在一些实施方案中,每周施用免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,该方法还包括通过局部施用除外的施用途施用感染剂和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。

[0083] 在本发明中适于用作感染剂的示例性病毒包括但不限于腺病毒,例如H101 ( **ONCOCRINE<sup>®</sup>** )、CG-TG-102 (Ad5/3-D24-GM-CSF) 和CG0070;单纯疱疹病毒,例如 Talimogene laherparapvec (T-VEC) 和HSV-1716 ( **SEPREHVIR<sup>®</sup>** ) ;里奥病毒,例如 **REOLYSIN<sup>®</sup>** ;牛痘病毒,例如JX-594;塞尼卡谷病毒,例如NTX-010和SVV-001;新城鸡瘟病毒,例如NDV-NS1和GL-ONC1;脊髓灰质炎病毒,例如PVS-RIPO;麻疹病毒,例如MV-NIS;柯萨奇病毒,例如Cavatak<sup>™</sup>;水疱性口炎病毒;马拉巴和棒状病毒;小病毒和腮腺炎病毒。在一些实施方案中,病毒为非溶瘤病毒。在一些实施方案中,病毒为溶瘤病毒。在一些实施方案中,病毒胜任复制。在一些实施方案中,病毒优先在肿瘤细胞中复制。

[0084] 在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴肿瘤的方法,其包含:a) 向该肿瘤部位局部施用有效量的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒);以及b) 向该肿瘤部位局部施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,提供抑制个体的实体或淋巴肿瘤转移的方法,该方法包括:a) 向该肿瘤部位局部施用有效量的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒);以及b) 向该肿瘤部位局部施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,溶瘤病毒为野生型溶瘤病毒。在一些实施方案中,溶瘤病毒经遗传修饰。在一些实施方案中,溶瘤病毒经减毒(例如经由多次传代、不活化或遗传修饰)。在一些实施方案中,溶瘤病毒胜任复制。在一些实施方案中,溶瘤病毒优先在癌细胞中复制。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点抑制剂。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫刺激剂。在一些实施方案中,方法包括局部施用免疫调节剂的组合,其包括一种或多种免疫检查点抑制剂和/或一种或多种免疫刺激剂(例如至少两种免疫检查点抑制剂、至少两种免疫刺激剂或至少一种免疫检查点抑制剂和至少一种免疫刺激剂的组合)。在一些实施方案中,将溶瘤病毒和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,将溶瘤病毒和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,将溶瘤病毒和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)二者直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,将溶瘤病毒和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)二者施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,每周施用溶瘤病毒。在一些实施方案中,每周施用免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,该方法还包括通过局部施用除外的施用途施用溶瘤病毒和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。

[0085] 在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴肿瘤的方法,其包含:a) 向该肿瘤

部位局部施用有效量的包括病毒载体的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒),该病毒载体包括可操作连接至病毒复制所必需的病毒基因的肿瘤细胞特异性启动子;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,提供抑制个体的实体或淋巴肿瘤转移的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的包括病毒载体的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒),该病毒载体包括可操作连接至病毒复制所必需的病毒基因的肿瘤细胞特异性启动子;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点抑制剂。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫刺激剂。在一些实施方案中,方法包括局部施用免疫调节剂的组合,其包括一种或多种免疫检查点抑制剂和/或一种或多种免疫刺激剂(例如至少两种免疫检查点抑制剂、至少两种免疫刺激剂或至少一种免疫检查点抑制剂和至少一种免疫刺激剂的组合)。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为E2F-1启动子,例如人类E2F-1启动子或包括SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。在一些实施方案中,病毒复制所必需的病毒基因选自由下列组成的组:E1A、E1B和E4。在一些实施方案中,将溶瘤病毒和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,将溶瘤病毒和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,将溶瘤病毒和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)二者直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,将溶瘤病毒和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)二者施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,每周施用溶瘤病毒。在一些实施方案中,每周施用免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,该方法还包括通过局部施用除外的施用途径施用溶瘤病毒和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。

[0086] 在一些实施方案中,本文所述方法还包括向该肿瘤部位局部施用免疫相关分子(例如细胞介素、趋化介素或PRRago(即,病原体识别受体激动剂))。在一些实施方案中,免疫相关分子选自由下列组成的组:GM-CSF、IL-2、IL-12、干扰素(例如1型、2型或3型干扰素,例如干扰素 $\gamma$ )、CCL4、CCL19、CCL21、CXCL13、TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、RIG-I、MDA5、LGP2和 $IL1\alpha\beta$ 。在一些实施方案中,免疫相关分子选自由下列组成的组:STING(即,干扰素基因的刺激物)活化剂(例如CDN,即,环状二核苷酸)、PRRago(例如CpG、咪喹莫特或聚I:C)、TLR刺激物(例如GS-9620、AED-1419、CYT-003-QbG10、AVE-0675或PF-7909)和RLR刺激物(例如RIG-I、Mda5或LGP2刺激物)。在一些实施方案中,免疫相关分子诱导树突细胞、T细胞、B细胞和/或T滤泡性辅助细胞。在一些实施方案中,免疫相关分子与感染剂分开施用(例如,在单独组合物中或作为同一组合物中的单独实物)。在一些实施方案中,经由转导将免疫相关分子施用至肿瘤部位。业内已知的示例性转导方法包括但不限于使用磷酸钙、树枝状聚合物、脂质体、阳离子聚合物、电穿孔、细胞挤压、声波穿孔、光学转染、原生质体融合、刺穿感染、流体动力递送、基因枪、磁转染、病毒转染和核转染。在一些实施方案中,免疫相关分子由感染剂表达。举例而言,感染剂可包括编码免疫相关分子的核酸,并且核酸可在病毒载体中或在单独载体上。在一些实施方案中,感染剂为包括病毒载体的病毒,并且其中病毒载体包括编码免疫相关分子的核酸。在一些实施方案中,编码免疫相关分子的核酸可操作连接至病毒启动子,例如E1启动子或E3启动子。

[0087] 本发明部分为基于我们在2005年与2008年之间实施的临床实验的未公开结果。不受限于任何理论或假设,据信经特殊设计仅在癌细胞中复制的病毒感染剂CG0070在癌细胞

死亡期间在肿瘤部位且“实时”提供“适当量”的GM-CSF。据信,此在癌细胞死亡期间由感染剂“于”肿瘤部位递送GM-CSF对于抗原呈递细胞成熟和自此细胞死亡混合物向活化T细胞交叉呈递目前确立的抗原、新生抗原和耐受性破坏抗原(TBA)是至关重要的。在此治疗情境下,肿瘤部位处需要适当量的GM-CSF,此乃因GM-CSF的高剂量将使得免疫系统无焦点,并且触发局部和系统抑制剂的瞬时增加;而GM-CSF的低剂量将不足以活化发炎过程和相关免疫细胞。据信包括适当量的GM-CSF和部位上“活”癌细胞死亡混合物的肿瘤部位的精细平衡引发对癌细胞具有特异性的适应性免疫反应。因此,据信“于”肿瘤部位递送的癌症特异性且溶瘤的感染剂以及与适当量的GM-CSF或由感染剂表达的或在细胞死亡、感染或发炎期间因任何感染剂由身体防御分泌的其他适当免疫相关分子的组合是有效癌症免疫疗法的理想选择。

[0088] 在一些实施方案中,免疫相关分子增强个体的免疫反应。免疫相关分子可包括但不限于细胞介素、趋化介素、干细胞生长因子、淋巴毒素、造血因子、群落刺激因子(CSF)、促红细胞生成素、促血小板生成素、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF)、TNF- $\beta$ 、颗粒球-群落刺激因子(G-CSF)、颗粒球巨噬细胞-群落刺激因子(GM-CSF)、干扰素- $\alpha$ 、干扰素- $\beta$ 、干扰素- $\gamma$ 、干扰素- $\lambda$ 、命名为“S1因子”的干细胞生长因子、人类生长激素、N-甲二磺酰基人类生长激素、牛生长激素、副甲状腺激素、甲状腺素、胰岛素、胰岛素原、松弛素、松弛素原、激滤泡素(FSH)、甲状腺刺激激素(TSH)、黄体促素(LH)、肝生长因子、前列腺素、纤维母细胞生长因子、泌乳素、胎盘生乳素、OB蛋白、穆勒氏(mullerian)-抑制物质、小鼠促性腺激素相关肽、抑制素、活化素、血管内皮生长因子、整联蛋白、NGF- $\beta$ 、血小板-生长因子、TGF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 、胰岛素样生长因子-I、胰岛素样生长因子-II、巨噬细胞-CSF(M-CSF)、IL-1、IL-1a、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、IL-13、IL-14、IL-15、IL-16、IL-17、IL-18、IL-21、IL-25、LIF、FLT-3、血管抑素、凝血酶敏感蛋白、内皮抑素、淋巴毒素、沙利窦迈(thalidomide)、雷利窦迈(lenalidomide)或泊马窦迈(pomalidomide)。

[0089] 免疫相关分子可为业内已知的分子模态中的任一者,包括但不限于适配体、mRNA、siRNA、微小RNA、shRNA、肽、抗体、抗运载蛋白、球形核酸、TALEN、锌指核酸酶、CRISPR/Cas9和小分子。

[0090] 免疫相关分子可单独或组合使用。例如,可同时或依序施用任一数目(例如1、2、3、4、5、6或更多种中的任一者)的免疫相关分子。

[0091] 因此,例如,在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴肿瘤的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的包括病毒载体的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒),该病毒载体包括可操作连接至病毒复制所必需的病毒基因的肿瘤细胞特异性启动子和编码可操作连接至病毒启动子的免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素)的核酸;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,提供抑制个体的实体或淋巴肿瘤转移的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的包括病毒载体的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒),该病毒载体包括可操作连接至病毒复制所必需的病毒基因的肿瘤细胞特异性启动子和编码可操作连接至病毒启动子的免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素)的核酸;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点抑制剂。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫刺激剂。在一些实施方案中,方法包括局部施用免疫调节剂的

组合,其包括一种或多种免疫检查点抑制剂和/或一种或多种免疫刺激剂(例如至少两种免疫检查点抑制剂、至少两种免疫刺激剂或至少一种免疫检查点抑制剂和至少一种免疫刺激剂的组合)。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为E2F-1启动子,例如人类E2F-1启动子或包括SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。在一些实施方案中,病毒复制所必需的病毒基因选自由下列组成的组:E1A、E1B和E4。在一些实施方案中,可操作连接至编码免疫相关分子的核酸的病毒启动子为E3启动子。在一些实施方案中,免疫相关分子为GM-CSF。在一些实施方案中,将溶瘤病毒和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,将溶瘤病毒和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,将溶瘤病毒和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)二者直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,将溶瘤病毒和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)二者施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,每周施用溶瘤病毒。在一些实施方案中,每周施用免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,该方法还包括通过局部施用除外的施用途径施用溶瘤病毒和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。

[0092] 在一些实施方案中,感染剂为腺病毒血清型5。在一些实施方案中,天然腺病毒的内源性E1a启动子和E3 19kD编码区经人类E2F-1启动子和编码人类GM-CSF的核酸置换。在一些实施方案中,在E2F-1启动子的5'插入多聚腺苷酸化信号(PA)。在一些实施方案中,编码人类GM-CSF的核酸可操作连接至E3启动子。在一些实施方案中,腺病毒血清型5的载体主链还包含与野生型腺病毒血清型5基因体相同的E2、E4、晚期蛋白区或反转末端重复(ITR)。在一些实施方案中,感染剂具有如图1中所示的基因体结构。在一些实施方案中,感染剂进行条件复制。在一些实施方案中,感染剂优先在癌细胞中复制。在一些实施方案中,癌细胞为Rb途径缺陷性癌细胞。在一些实施方案中,感染剂为CG0070。

[0093] 因此,例如,在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴肿瘤的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的腺病毒血清型5,其中天然腺病毒的内源性E1a启动子和E3 19kD编码区经人类E2F-1启动子和编码免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素,例如GM-CSF)的核酸置换;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,提供抑制个体的实体或淋巴肿瘤转移的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的腺病毒血清型5,其中天然腺病毒的内源性E1a启动子和E3 19kD编码区经人类E2F-1启动子和编码免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素,例如GM-CSF)的核酸置换;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点抑制剂。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫刺激剂。在一些实施方案中,方法包括局部施用免疫调节剂的组合,其包括一种或多种免疫检查点抑制剂和/或一种或多种免疫刺激剂(例如至少两种免疫检查点抑制剂、至少两种免疫刺激剂或至少一种免疫检查点抑制剂和至少一种免疫刺激剂的组合)。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为人类E2F-1启动子或包括SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。在一些实施方案中,将腺病毒和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,将腺病毒和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,将腺病毒和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)二者直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,将腺病毒和免疫调节剂

(包括免疫调节剂的组合)二者施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,每周施用腺病毒。在一些实施方案中,每周施用免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,该方法还包括通过局部施用除外的施用途径施用腺病毒和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。

[0094] 在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴瘤的方法,其包含:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的CG0070;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,提供抑制个体的实体或淋巴瘤转移的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的CG0070;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点抑制剂。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫刺激剂。在一些实施方案中,方法包括局部施用免疫调节剂的组合,其包括一种或多种免疫检查点抑制剂和/或一种或多种免疫刺激剂(例如至少两种免疫检查点抑制剂、至少两种免疫刺激剂或至少一种免疫检查点抑制剂和至少一种免疫刺激剂的组合)。在一些实施方案中,将CG0070和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,将CG0070和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,将CG0070和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)二者直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,将CG0070和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)二者施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,每周施用CG0070。在一些实施方案中,每周施用免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,该方法还包括通过局部施用除外的施用途径施用CG0070和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。

[0095] 在一些实施方案中,依序施用上文论述的感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合),即,在施用免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)之前或之后施用感染剂。在一些实施方案中,在施用免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)之前施用感染剂。在一些实施方案中,在施用免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)之前不超过以下中的约任一者施用感染剂:15分钟、30分钟、1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、12小时或24小时。在一些实施方案中,在施用免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)之前大约天或周(例如1天、2天、3天、4天、5天、6天、1周、2周、3周、4周或更长时间中的约任一者)施用感染剂。在一些实施方案中,在施用免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)之后施用感染剂。在一些实施方案中,在施用免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)之后不超过中的约任一者施用感染剂:15分钟、30分钟、1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、12小时或24小时。在一些实施方案中,在施用免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)之后大约天或周(例如1天、2天、3天、4天、5天、6天、1周、2周、3周、4周或更长时间中的约任一者)施用感染剂。在一些实施方案中,感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)是在一者之后立刻施用另一者(例如,两次施用之间在5分钟或更少时间内)。例如,在一些实施方案中,在即将施用免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)之前施用感染剂。在一些实施方案中,在施用免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)之后立刻施用感染剂。

[0096] 在一些实施方案中,同时施用感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,经由单独组合物同时施用感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,以单一组合物形式施用感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的

组合)。在一些实施方案中,在施用组合物之前(例如在即将施用组合物之前,例如在施用组合物之前小于约10、5或1分钟内)混合感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,预制备包括感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)的组合物且在施用之前将其储存至少约1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、12小时、24小时、2天、3天、4天、5天、6天、7天、2周、3周或更长时间。

[0097] 本文论述的免疫调节剂包括免疫刺激剂和免疫检查点抑制剂二者。免疫调节剂可为业内已知的分子模态中的任一者,包括但不限于适配体、mRNA、siRNA、微小RNA、shRNA、肽、抗体、抗运载蛋白、球形核酸、TALEN、锌指核酸酶、CRISPR/Cas9和小分子。

[0098] 在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫刺激剂。在一些实施方案中,免疫刺激剂为免疫刺激分子的天然或经改造的配体,包括(例如)OX40的配体(例如,OX40L)、CD-28的配体(例如,CD80、CD86)、ICOS的配体(例如,B7RP1)、4-1BB的配体(例如,4-1BBL、Ultra4-1BBL)、CD27的配体(例如,CD70)、CD40的配体(例如,CD40L)和TCR的配体(例如,MHC I类或II类分子、IMCgp100)。在一些实施方案中,免疫刺激剂为选自由下列组成的组的抗体:抗CD28(例如,TGN-1412)、抗OX40(例如,MEDI6469、MEDI-0562)、抗ICOS(例如,MEDI-570)、抗GITR(例如,TRX518、INBRX-110、NOV-120301)、抗41-BB(例如,BMS-663513、PF-05082566)、抗CD27(例如,BION-1402、瓦利路单抗(Varlilumab)和hCD27.15)、抗CD40(例如,CP870,893、BI-655064、BMS-986090、APX005、APX005M)、抗CD3(例如,布利莫单抗、莫罗单抗(muromonab))和抗HVEM。在一些实施方案中,抗体为激动性抗体。在一些实施方案中,抗体为单株抗体。在一些实施方案中,抗体为选自由下列组成的组的抗原结合片段:全长抗体的Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、scFv以及其他抗原结合子序列。在一些实施方案中,抗体为人类、人类化或嵌合抗体。在一些实施方案中,抗体为双特异性抗体、多特异性抗体、单一结构域抗体、包括抗体部分的融合蛋白、或其任何其他功能变体或衍生物。

[0099] 在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点抑制剂。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂为抑制性免疫检查点分子的天然或经改造的配体,包括(例如)CTLA-4的配体(例如,B7.1、B7.2)、TIM3的配体(例如,半乳凝素-9)、A2a受体的配体(例如,腺苷、Regadenoson)、LAG3的配体(例如,MHC I类或MHC II类分子)、BTLA的配体(例如,HVEM、B7-H4)、KIR的配体(例如,MHC I类或MHC II类分子)、PD-1的配体(例如,PD-L1、PD-L2)、IDO的配体(例如,NKTR-218、吡啶西莫(Indoximod)、NLG919)和CD47的配体(例如,SIRP- $\alpha$ 受体)。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂为靶向抑制性免疫检查点蛋白的抗体。在一些实施方案中,免疫调节剂为选自由下列组成的组的抗体:抗CTLA-4(例如,伊匹单抗、曲美目单抗、KAHR-102)、抗TIM3(例如,F38-2E2、ENUM005)、抗LAG3(例如,BMS-986016、IMP701、IMP321、C9B7W)、抗KIR(例如,利利单抗(Lirilumab)和IPH2101)、抗PD-1(例如,尼沃鲁单抗(Nivolumab)、匹利珠单抗(Pidilizumab)、派姆单抗(Pembrolizumab)、BMS-936559、阿替珠单抗(atezolizumab)、兰布鲁珠单抗(Lambrolizumab)、MK-3475、AMP-224、AMP-514、STI-A1110、TSR-042)、抗PD-L1(例如,KY-1003(EP20120194977)、MCLA-145、RG7446、BMS-936559、MEDI-4736、MSB0010718C、AUR-012、STI-A1010、PCT/US2001/020964、MPDL3280A、AMP-224、达匹珠单抗(Dapirolizumab pegol)(CDP-7657)、MEDI-4920)、抗CD73(例如,AR-42(OSU-HDAC42、HDAC-42、AR42、AR 42、OSU-HDAC 42、OSU-HDAC-42、NSC D736012、HDAC-42、HDAC 42、HDAC42、NSCD736012、NSC-D736012)、MEDI-9447)、抗B7-H3(例如,MGA271、DS-

5573a、8H9)、抗CD47(例如,CC-90002、TTI-621、VLST-007)、抗BTLA、抗VISTA、抗A2aR、抗B7-1、抗B7-H4、抗CD52(例如阿伦单抗(alemtuzumab))、抗IL-10、抗IL-35和抗TGF- $\beta$ (例如夫苏木单抗(Fresolimumab))。在一些实施方案中,抗体为拮抗性抗体。在一些实施方案中,抗体为单株抗体。在一些实施方案中,抗体为单株抗体。在一些实施方案中,抗体为选自由下列组成的组的抗原结合片段:全长抗体的Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、scFv以及其他抗原结合子序列。在一些实施方案中,抗体为人类、人类化或嵌合抗体。在一些实施方案中,抗体为双特异性抗体、多特异性抗体、单一结构域抗体、包括抗体部分的融合蛋白、或其任何其他功能变体或衍生物。

[0100] 在一些实施方案中,该方法包括局部施用单一免疫调节剂。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点抑制剂。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫刺激剂。

[0101] 在一些实施方案中,该方法包括局部施用至少两种(例如2、3、4、5、6或更多中的任一者)免疫调节剂。在一些实施方案中,全部或部分至少两种免疫调节剂是在(例如)单一组合物中同时施用。在一些实施方案中,全部或部分至少两种免疫调节剂是依序施用。在一些实施方案中,该方法包括局部施用包括免疫检查点抑制剂和免疫刺激剂的免疫调节剂的组合。在一些实施方案中,该方法包括局部施用包括两种或更多种(例如2、3、4、5、6或更多中的任一者)检查点抑制剂的免疫调节剂的组合。在一些实施方案中,该方法包括局部施用包括两种或更多种(例如2、3、4、5、6或更多中的任一者)免疫刺激剂的免疫调节剂的组合。在一些实施方案中,该方法包括局部施用包括任一数目(例如1、2、3、4、5、6或更多中的任一者)的免疫检查点抑制剂和任一数目(例如2、3、4、5、6或更多中的任一者)的免疫刺激剂的免疫调节剂的组合。例如,在一些实施方案中,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的感染剂(例如病毒,例如溶瘤病毒);以及b)向个体局部施用有效量的第一免疫调节剂(例如免疫检查点抑制剂);以及c)向该肿瘤部位局部施用有效量的第二免疫调节剂(例如免疫刺激剂)。在一些实施方案中,该方法包括施用CTLA-4抑制剂(例如抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)、或经改造的脂质运载蛋白(例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白))和CD40激动剂(例如激动性抗CD40抗体,例如APX005M)。在一些实施方案中,该方法包括施用CTLA-4抑制剂(例如抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)、或经改造的脂质运载蛋白(例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白))和4-1BB激动剂(例如激动性抗4-1BB抗体,例如PF-05082566)。在一些实施方案中,该方法包括施用CTLA-4抑制剂(例如抗CTLA-4抗体)和PD-L1抑制剂(例如抗PD-L1抗体)。

[0102] 在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂为CTLA-4的抑制剂。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为抗CTLA-4抗体。业内已知的抗CTLA-4抗体中的任一者皆可用于本发明中,包括但不限于伊匹单抗、曲美目单抗和KAHR-102。在一些实施方案中,抗CTLA-4抗体为YERVOY<sup>®</sup>(伊匹单抗)。在一些实施方案中,抗CTLA-4抗体为单株抗体或多株抗体。在一些实施方案中,抗CTLA-4抗体为选自由下列组成的组的抗原结合片段:全长抗CTLA-4抗体的Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、scFv以及其他抗原结合子序列。在一些实施方案中,抗CTLA-4抗体为人类、人类化或嵌合抗体。在一些实施方案中,抗CTLA-4抗体为双特异性抗体、多特异性抗体、单一结构域抗体、包括抗体部分的融合蛋白、或其任何其他功能变体或衍生物。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为特异性识别CTLA-4的经改造的脂质运载蛋白(例如特异性结合至CTLA-4的抗运载蛋白分子)。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为CTLA-4的天

然或经改造的配体,例如B7.1或B7.2。

[0103] 因此,例如,在一些实施方案中,提供治疗个体(例如人类)的实体或淋巴瘤的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的感染剂;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的CTLA-4的抑制剂(例如抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)、或经改造的脂质运载蛋白(例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白))。在一些实施方案中,提供抑制个体的实体或淋巴瘤转移的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的感染剂;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的CTLA-4的抑制剂(例如抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)、或经改造的脂质运载蛋白(例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白))。在一些实施方案中,感染剂为非溶瘤病毒。在一些实施方案中,感染剂为溶瘤病毒。在一些实施方案中,感染剂为野生型感染剂。在一些实施方案中,感染剂经遗传修饰。在一些实施方案中,感染剂经减毒(例如经由多次传代、不活化或遗传修饰)。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为经改造的脂质运载蛋白,例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白。在一些实施方案中,该方法还包括局部施用第二免疫调节剂,例如免疫刺激剂(例如,CD40活化剂或4-1BB活化剂)。在一些实施方案中,将感染剂和/或CTLA-4的抑制剂直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,将感染剂和/或CTLA-4的抑制剂施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,将感染剂和CTLA-4的抑制剂二者直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,将感染剂和CTLA-4的抑制剂二者施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,每周施用感染剂。在一些实施方案中,每周施用CTLA-4的抑制剂。在一些实施方案中,依序施用感染剂和CTLA-4的抑制剂。在一些实施方案中,在施用CTLA-4的抑制剂之前(例如在即将施用之前)施用感染剂。在一些实施方案中,在施用CTLA-4的抑制剂之后(例如在施用后立刻)施用感染剂。在一些实施方案中,同时施用感染剂和CTLA-4的抑制剂(例如在单一组合中)。在一些实施方案中,该方法还包括通过局部施用除外的施用途径施用感染剂和/或CTLA-4的抑制剂。

[0104] 例如,在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴瘤的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒);以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的CTLA-4的抑制剂。在一些实施方案中,提供抑制个体的实体或淋巴瘤转移的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒);以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的CTLA-4的抑制剂。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)或经改造的脂质运载蛋白(例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白)。

[0105] 在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴瘤的方法,其包含:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的包括病毒载体的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒),该病毒载体包括可操作连接至病毒复制所必需的病毒基因的肿瘤细胞特异性启动子;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的CTLA-4的抑制剂。在一些实施方案中,提供抑制个体的实体或淋巴瘤转移的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的包括病毒载体的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒),该病毒载体包括可操作连接至病毒复制所必需的病毒基因的肿瘤细胞特异性启动子;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的CTLA-4的抑制剂。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)或经改造的脂质运载蛋白(例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白)。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为E2F-1启动子,例如人类

E2F-1启动子或包括SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。在一些实施方案中,病毒复制所必需的病毒基因选自由下列组成的组:E1A、E1B和E4。

[0106] 在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴瘤的方法,其包含:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的包括病毒载体的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒),该病毒载体包括可操作连接至病毒复制所必需的病毒基因的肿瘤细胞特异性启动子和编码可操作连接至病毒启动子的免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素)的核酸;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的CTLA-4的抑制剂。在一些实施方案中,提供抑制个体的实体或淋巴瘤转移的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的包括病毒载体的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒),该病毒载体包括可操作连接至病毒复制所必需的病毒基因的肿瘤细胞特异性启动子和编码可操作连接至病毒启动子的免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素)的核酸;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的CTLA-4的抑制剂。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)或经改造的脂质运载蛋白(例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白)。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为E2F-1启动子,例如人类E2F-1启动子或包括SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。在一些实施方案中,病毒复制所必需的病毒基因选自由下列组成的组:E1A、E1B和E4。在一些实施方案中,可操作连接至编码免疫相关分子的核酸的病毒启动子为E3启动子。在一些实施方案中,免疫相关分子为GM-CSF。

[0107] 在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴瘤的方法,其包含:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的腺病毒血清型5,其中天然腺病毒的内源性E1a启动子和E3 19kD编码区经人类E2F-1启动子和编码免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素,例如GM-CSF)的核酸置换;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的CTLA-4的抑制剂。在一些实施方案中,提供抑制个体的实体或淋巴瘤转移的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的腺病毒血清型5,其中天然腺病毒的内源性E1a启动子和E3 19kD编码区经人类E2F-1启动子和编码免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素,例如GM-CSF)的核酸置换;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的CTLA-4的抑制剂。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)或经改造的脂质运载蛋白(例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白)。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为人类E2F-1启动子或包含SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。

[0108] 在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴瘤的方法,其包含:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的CG0070;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的CTLA-4的抑制剂。在一些实施方案中,提供抑制个体的实体或淋巴瘤转移的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的CG0070;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的CTLA-4的抑制剂。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)或经改造的脂质运载蛋白(例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白)。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为经改造的脂质运载蛋白,例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白。在一些实施方案中,将CG0070和/或CTLA-4的抑制剂直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,将溶瘤病毒和/或CTLA-4的抑制剂施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,将CG0070和CTLA-4的抑制剂二者直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,将CG0070和CTLA-4的抑制剂施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,每

周施用CG007。在一些实施方案中,每周施用CTLA-4的抑制剂。在一些实施方案中,依序施用CG0070和CTLA-4的抑制剂。在一些实施方案中,在施用CTLA-4的抑制剂之前(例如在即将施用之前)施用CG0070。在一些实施方案中,在施用CTLA-4的抑制剂之后(例如在施用后立刻)施用CG0070。在一些实施方案中,同时施用CG0070和CTLA-4的抑制剂(例如在单一组合物中)。在一些实施方案中,该方法还包括通过局部施用除外的施用途径施用CG0070和/或CTLA-4的抑制剂。

[0109] 在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴瘤(例如抑制肿瘤转移)的方法,该方法包括:a)肿瘤内施用有效量的CG0070;以及b)肿瘤内施用有效量的CTLA-4的抑制剂(例如抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)或经改造的脂质运载蛋白(例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白)),其中CG0070的有效量为每周约 $1 \times 10^8$ 至约 $1 \times 10^{14}$ 个病毒颗粒(vp)(例如每周约 $1 \times 10^8$ 至约 $1 \times 10^{10}$ 、约 $1 \times 10^{10}$ 至约 $1 \times 10^{12}$ 或约 $1 \times 10^{12}$ 至约 $1 \times 10^{14}$ 个vp中的任一者),其中CTLA-4的抑制剂的有效量为每周约0.1mg/Kg至约10mg/Kg(例如每周约0.1mg/Kg至约1mg/Kg、约1mg/Kg至约5mg/Kg或约5mg/Kg至约10mg/Kg中的任一者),并且其中在施用CG0070后立刻(例如,在施用后不超过5分钟)施用CTLA-4的抑制剂。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)(例如, YERVOY<sup>®</sup>)。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为经改造的脂质运载蛋白,例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白。在一些实施方案中,与CG0070施用组合进一步向个体肿瘤内施用有效量的DDM作为转导增强剂。在一些实施方案中,通过注射至具有肿瘤的组织中施用CG0070和CTLA-4的抑制剂。在一些实施方案中,通过直接注射至肿瘤中施用CG0070和CTLA-4的抑制剂。在一些实施方案中,施用CG0070达约1至约6周作为一个治疗过程。在一些实施方案中,每约2个月至约3个月重复治疗过程。在一些实施方案中,实体或淋巴瘤选自由下列组成的组:头颈癌、乳癌、结肠直肠癌、肝癌、胰脏腺癌、胆囊和胆管癌、卵巢癌、子宫颈癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肾细胞癌、膀胱癌、前列腺癌、骨癌、间皮瘤、脑癌、软组织肉瘤、子宫癌、甲状腺癌、鼻咽癌和黑色素瘤。在一些实施方案中,实体或淋巴瘤对于先前疗法难治。在一些实施方案中,该方法还包括局部施用第二免疫调节剂,例如免疫刺激剂。在一些实施方案中,第二免疫调节剂为CD40活化剂,例如激动剂抗CD40抗体(例如,APX005M)。在一些实施方案中,第二免疫调节剂为4-1BB活化剂,例如激动剂抗4-1BB抗体(例如,PF-05082566)。在一些实施方案中,第二免疫调节剂为PD-L1抑制剂。在一些实施方案中,该方法还包括预处理,例如辐射或施用治疗剂(例如细胞介素,例如CCL21)。

[0110] 在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴瘤(例如抑制肿瘤转移)的方法,该方法包括:a)肿瘤内施用有效量的CG0070;以及b)肿瘤内施用有效量的CTLA-4的抑制剂(例如抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)或经改造的脂质运载蛋白(例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白));以及c)肿瘤内施用有效量的CD40活化剂(例如激动性抗CD40抗体),其中CG0070的有效量为每周约 $1 \times 10^8$ 至约 $1 \times 10^{14}$ 个病毒颗粒(vp)(例如每周 $5 \times 10^{10}$ vp、 $1 \times 10^{11}$ vp、 $5 \times 10^{11}$ vp或 $1 \times 10^{12}$ vp中的约任一者),其中CTLA-4的抑制剂的有效量为约0.1mg至约100mg(例如不超过每周1mg、3mg、6mg、12mg或24mg中的约任一者),并且其中CD40活化剂的有效量为约0.1mg至约100mg(例如不超过每周1mg、3mg、6mg、12mg或24mg中的约任一者)。在一些实施方案中,在施用CG0070后立刻(例如,在施用后不超过5分钟)施用CTLA-4的抑制剂和CD40活化剂。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)(例

如, YERVOY®)。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为经改造的脂质运载蛋白,例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白。在一些实施方案中,CD40活化剂为激动性抗CD40抗体,例如APX005M。在一些实施方案中,与CG0070施用组合进一步向个体肿瘤内施用有效量的DDM作为转导增强剂。在一些实施方案中,通过注射至具有肿瘤的组织中施用CG0070、CTLA-4的抑制剂和CD40活化剂。在一些实施方案中,通过直接注射至肿瘤中施用CG0070、CTLA-4的抑制剂和CD40活化剂。在一些实施方案中,施用CG0070达约1至约6周作为一个治疗过程。在一些实施方案中,每约2个月至约3个月重复治疗过程。在一些实施方案中,实体或淋巴肿瘤选自由下列组成的组:头颈癌、乳癌、结肠直肠癌、肝癌、胰腺腺癌、胆囊和胆管癌、卵巢癌、子宫颈癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肾细胞癌、膀胱癌、前列腺癌、骨癌、间皮瘤、脑癌、软组织肉瘤、子宫癌、甲状腺癌、鼻咽癌和黑色素瘤。在一些实施方案中,实体或淋巴肿瘤对于先前疗法难治。在一些实施方案中,该方法还包括预处理,例如辐射或施用治疗剂(例如细胞介素,例如CCL21)。

[0111] 在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴肿瘤(例如抑制肿瘤转移)的方法,该方法包括:a)肿瘤内施用有效量的CG0070;以及b)肿瘤内施用有效量的CTLA-4的抑制剂(例如抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)或经改造的脂质运载蛋白(例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白));以及c)肿瘤内施用有效量的4-1BB活化剂(例如激动性抗4-1BB抗体),其中CG0070的有效量为每周约 $1 \times 10^8$ 至约 $1 \times 10^{14}$ 个病毒颗粒(vp)(例如每周 $5 \times 10^{10}$ vp、 $1 \times 10^{11}$ vp、 $5 \times 10^{11}$ vp或 $1 \times 10^{12}$ vp中的约任一者),其中CTLA-4的抑制剂的有效量为约0.1mg至约100mg(例如不超过每周1mg、3mg、6mg、12mg或24mg中的约任一者),并且其中4-1BB活化剂的有效量为约0.1mg至约100mg(例如不超过每周1mg、3mg、6mg、12mg或24mg中的约任一者)。在一些实施方案中,在施用CG0070后立刻(例如,在施用后不超过5分钟)施用CTLA-4的抑制剂和4-1BB活化剂。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)(例如, YERVOY®)。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为经改造的脂质运载蛋白,例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白。在一些实施方案中,4-1BB活化剂为激动性抗4-1BB抗体,例如PF-05082566。在一些实施方案中,与CG0070施用组合进一步向个体肿瘤内施用有效量的DDM作为转导增强剂。在一些实施方案中,通过注射至具有肿瘤的组织中施用CG0070、CTLA-4的抑制剂和4-1BB活化剂。在一些实施方案中,通过直接注射至肿瘤中施用CG0070、CTLA-4的抑制剂和4-1BB活化剂。在一些实施方案中,施用CG0070达约1至约6周作为一个治疗过程。在一些实施方案中,每约2个月至约3个月重复治疗过程。在一些实施方案中,实体或淋巴肿瘤选自由下列组成的组:头颈癌、乳癌、结肠直肠癌、肝癌、胰腺腺癌、胆囊和胆管癌、卵巢癌、子宫颈癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肾细胞癌、膀胱癌、前列腺癌、骨癌、间皮瘤、脑癌、软组织肉瘤、子宫癌、甲状腺癌、鼻咽癌和黑色素瘤。在一些实施方案中,实体或淋巴肿瘤对于先前疗法难治。在一些实施方案中,该方法还包括预处理,例如局部辐射或施用治疗剂(例如细胞介素,例如CCL21)。

[0112] 在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴肿瘤的方法,其包含:a)肿瘤内施用有效量的CG0070;以及b)肿瘤内施用有效量的CTLA-4的抑制剂;以及c)肿瘤内施用有效量的PD-L1抑制剂。在一些实施方案中,提供抑制个体的实体或淋巴肿瘤转移的方法,该方法包括:a)肿瘤内施用有效量的CG0070;以及b)肿瘤内施用有效量的CTLA-4的抑制剂;以及

c) 肿瘤内施用有效量的PD-L1抑制剂。在一些实施方案中,CG0070的有效量为每周约 $1 \times 10^8$ 至约 $1 \times 10^{14}$ 个病毒颗粒(vp)(例如每周 $5 \times 10^{10}$ vp、 $1 \times 10^{11}$ vp、 $5 \times 10^{11}$ vp或 $1 \times 10^{12}$ vp中的约任一者)。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂的有效量为约0.1mg至约100mg(例如不超过每周1mg、3mg、6mg、12mg或24mg中的约任一者)。在一些实施方案中,PD-L1抑制剂的有效量为约0.1mg至约100mg(例如不超过每周1mg、3mg、6mg、12mg或24mg中的约任一者)。在一些实施方案中,在施用CG0070后立刻(例如,在施用后不超过5分钟)施用CTLA-4的抑制剂和PD-L1抑制剂。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)(例如, YERVOY<sup>®</sup>)。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为经改造的脂质运载蛋白,例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白。在一些实施方案中,PD-L1抑制剂为抗PD-L1抗体,例如KY-1003、MCLA-145、RG7446、BMS935559、MPDL3280A、MEDI4736、阿维鲁单抗(Avelumab)或STI-A1010。在一些实施方案中,通过注射至具有肿瘤的组织中施用CG0070、CTLA-4的抑制剂和PD-L1抑制剂。在一些实施方案中,通过直接注射至肿瘤中施用CG0070、CTLA-4的抑制剂和PD-L1抑制剂。在一些实施方案中,施用CG0070达约1至约6周作为一个治疗过程。在一些实施方案中,每约2个月至约3个月重复治疗过程。在一些实施方案中,实体或淋巴瘤肿瘤选自由下列组成的组:头颈癌、乳癌、结肠直肠癌、肝癌、胰脏腺癌、胆囊和胆管癌、卵巢癌、子宫颈癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肾细胞癌、膀胱癌、前列腺癌、骨癌、间皮瘤、脑癌、软组织肉瘤、子宫癌、甲状腺癌、鼻咽癌和黑色素瘤。在一些实施方案中,实体或淋巴瘤肿瘤对于先前疗法难治。在一些实施方案中,该方法还包括预处理,例如辐射或施用治疗剂(例如细胞介素,例如CCL21)。

[0113] 在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴瘤肿瘤的方法,其包含:a)使实体或淋巴瘤肿瘤经历局部辐射;随后b)肿瘤内施用有效量的CG0070;以及c)肿瘤内施用有效量的CTLA-4的抑制剂。在一些实施方案中,提供抑制个体的实体或淋巴瘤肿瘤转移的方法,该方法包括:a)使实体或淋巴瘤肿瘤经历局部辐射;随后b)肿瘤内施用有效量的CG0070;以及c)肿瘤内施用有效量的CTLA-4的抑制剂。在一些实施方案中,CG0070的有效量为每周约 $1 \times 10^8$ 至约 $1 \times 10^{14}$ 个病毒颗粒(vp)(例如每周 $5 \times 10^{10}$ vp、 $1 \times 10^{11}$ vp、 $5 \times 10^{11}$ vp或 $1 \times 10^{12}$ vp中的约任一者)。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂的有效量为约0.1mg至约100mg(例如不超过每周1mg、3mg、6mg、12mg或24mg中的约任一者)。在一些实施方案中,同时施用CTLA-4的抑制剂和CG0070。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)(例如, YERVOY<sup>®</sup>)。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为经改造的脂质运载蛋白,例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白。在一些实施方案中,借由注射至具有肿瘤的组织中施用CG0070和CTLA-4的抑制剂。在一些实施方案中,通过直接注射至肿瘤中施用CG0070和CTLA-4的抑制剂。在一些实施方案中,施用CG0070达约1至约6周作为一个治疗过程。在一些实施方案中,每约2个月至约3个月重复治疗过程。在一些实施方案中,实体或淋巴瘤肿瘤选自由下列组成的组:头颈癌、乳癌、结肠直肠癌、肝癌、胰脏腺癌、胆囊和胆管癌、卵巢癌、子宫颈癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肾细胞癌、膀胱癌、前列腺癌、骨癌、间皮瘤、脑癌、软组织肉瘤、子宫癌、甲状腺癌、鼻咽癌和黑色素瘤。在一些实施方案中,实体或淋巴瘤肿瘤对于先前疗法难治。

[0114] 在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂为PD-1抑制剂。在一些实施方案中,PD-1抑

制剂为抗PD-1抗体。业内已知的抗PD-1抗体中的任一者皆可用于本发明中,包括但不限于尼沃鲁单抗、派姆单抗、匹利珠单抗、BMS-936559、和阿替珠单抗、兰布鲁单抗、MK-3475、AMP-224、AMP-514、STI-A1110和TSR-042。在一些实施方案中,抗PD-1抗体为单株抗体或多株抗体。在一些实施方案中,抗PD-1抗体为选自由下列组成的组的抗原结合片段:全长抗PD-1抗体的Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、scFv以及其他抗原结合子序列。在一些实施方案中,抗PD-1抗体为人类、人类化或嵌合抗体。在一些实施方案中,抗PD-1抗体为双特异性抗体、多特异性抗体、单一结构域抗体、包括抗体部分的融合蛋白、或其任何其他变体或衍生物。在一些实施方案中,PD-1抑制剂为PD-1的天然或经改造的配体,例如PD-L1或PD-L2。在一些实施方案中,PD-1抑制剂为PD-1与其配体之间的相互作用的抑制剂,例如PD-1/PD-L1相互作用的抑制剂或PD-1/PD-L2相互作用的抑制剂。在一些实施方案中,PD-1抑制剂为PD-1配体的抑制剂,例如PD-L1的抑制剂(例如,抗PD-L1抗体)或PD-L2的抑制剂(例如,抗PD-L2抗体)。PD-1与其配体之间的相互作用的抑制剂中的任一者皆可用于本发明中,参见(例如)美国专利US7709214、US7432059、US7722868、US8217149、US8383796和US9102725。在一些实施方案中,PD-1抑制剂为包括PD-1配体的Fc融合蛋白,例如PD-L2的Fc-融合物(例如,AMP-224)。

[0115] 因此,例如,在一些实施方案中,提供治疗个体(例如人类)的实体或淋巴瘤(例如抑制肿瘤转移)的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的感染剂;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体(例如尼沃鲁单抗、派姆单抗或匹利珠单抗)或PD-1配体的Fc融合蛋白(例如AMP-224))。在一些实施方案中,感染剂为非溶瘤病毒。在一些实施方案中,感染剂为溶瘤病毒。在一些实施方案中,感染剂为野生型感染剂。在一些实施方案中,感染剂经遗传修饰。在一些实施方案中,感染剂经减毒(例如经由多次传代、不活化或遗传修饰)。在一些实施方案中,PD-1抑制剂为抗PD-1抗体,例如尼沃鲁单抗、派姆单抗或匹利珠单抗。在一些实施方案中,PD-1抑制剂为PD-1与其配体之间的相互作用的抑制剂,例如PD-1/PD-L1相互作用的抑制剂或PD-1/PD-L2相互作用的抑制剂。在一些实施方案中,PD-1抑制剂为包括PD-1配体的Fc融合蛋白,例如PD-L2的Fc-融合物(例如,AMP-224)。在一些实施方案中,该方法还包括局部施用第二免疫调节剂,例如免疫刺激剂(例如CD40活化剂或4-1BB活化剂)。在一些实施方案中,将感染剂和/或PD-1抑制剂直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,将感染剂和/或PD-1抑制剂施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,将感染剂和PD-1抑制剂二者直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,将感染剂和PD-1抑制剂二者施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,每周施用感染剂。在一些实施方案中,每周施用PD-1抑制剂。在一些实施方案中,依序施用感染剂和PD-1抑制剂。在一些实施方案中,在施用PD-1抑制剂之前(例如在即将施用之前)施用感染剂。在一些实施方案中,在施用PD-1抑制剂之后(例如在施用后立刻)施用感染剂。在一些实施方案中,同时施用感染剂和PD-1抑制剂(例如在单一组合中)。在一些实施方案中,该方法还包括通过局部施用除外的施用途径施用感染剂和/或PD-1抑制剂。

[0116] 例如,在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴瘤(例如抑制肿瘤转移)的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒);以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体(例如尼沃鲁单抗、派姆单抗或匹利珠单抗)或PD-1配体的Fc融合蛋白(例如AMP-224))。

[0117] 在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴瘤(例如抑制肿瘤转移)的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的包括病毒载体的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒),该病毒载体包括可操作连接至病毒复制所必需的病毒基因的肿瘤细胞特异性启动子;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体(例如尼沃鲁单抗、派姆单抗或匹利珠单抗)或PD-1配体的Fc融合蛋白(例如AMP-224))。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为E2F-1启动子,例如人类E2F-1启动子或包含SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。在一些实施方案中,病毒复制所必需的病毒基因选自由下列组成的组:E1A、E1B和E4。

[0118] 在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴瘤(例如抑制肿瘤转移)的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的包括病毒载体的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒),该病毒载体包括可操作连接至病毒复制所必需的病毒基因的肿瘤细胞特异性启动子和编码可操作连接至病毒启动子的免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素)的核酸;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体(例如尼沃鲁单抗、派姆单抗或匹利珠单抗)或PD-1配体的Fc融合蛋白(例如AMP-224))。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为E2F-1启动子,例如人类E2F-1启动子或包含SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。在一些实施方案中,病毒复制所必需的病毒基因选自由下列组成的组:E1A、E1B和E4。在一些实施方案中,可操作连接至编码免疫相关分子的核酸的病毒启动子为E3启动子。在一些实施方案中,免疫相关分子为GM-CSF。

[0119] 在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴瘤(例如抑制肿瘤转移)的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的腺病毒血清型5,其中天然腺病毒的内源性E1a启动子和E3 19kD编码区经人类E2F-1启动子和编码免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素,例如GM-CSF)的核酸置换;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体(例如尼沃鲁单抗、派姆单抗或匹利珠单抗)或PD-1配体的Fc融合蛋白(例如AMP-224))。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为人类E2F-1启动子或包括SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。

[0120] 在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴瘤(例如抑制肿瘤转移)的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的CG0070;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体(例如尼沃鲁单抗、派姆单抗或匹利珠单抗)或PD-1配体的Fc融合蛋白(例如AMP-224))。在一些实施方案中,PD-1抑制剂为抗PD-1抗体,例如尼沃鲁单抗、派姆单抗或匹利珠单抗。在一些实施方案中,PD-1抑制剂为PD-1与其配体之间的相互作用的抑制剂,例如PD-1/PD-L1相互作用的抑制剂或PD-1/PD-L2相互作用的抑制剂。在一些实施方案中,PD-1抑制剂为包括PD-1配体的Fc融合蛋白,例如PD-L2的Fc-融合物(例如,AMP-224)。在一些实施方案中,将CG0070和PD-1抑制剂二者直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,将溶瘤病毒和/或PD-1抑制剂施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,将CG0070和PD-1抑制剂二者直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,将CG0070和PD-1抑制剂二者施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,每周施用CG0070。在一些实施方案中,每周施用PD-1抑制剂。在一些实施方案中,依序施用CG0070和PD-1抑制剂。在一些实施方案中,在施用PD-1抑制剂之前(例如在即将施用之前)施用CG0070。在一些实施方案中,在施用PD-1抑制剂之后(例如在施用后立刻)施用CG0070。在一些实施方案中,同时施用CG0070和PD-1

抑制剂(例如在单一组合物中)。在一些实施方案中,该方法还包括通过局部施用除外的施用途径施用CG0070和/或PD-1抑制剂。

[0121] 在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂为PD-1配体(例如,PD-L1和/或PD-L2)的抑制剂。在一些实施方案中,PD-1配体的抑制剂为抗PD-L1抗体。在一些实施方案中,PD-1配体的抑制剂为抗PD-L2抗体。示例性抗PD-L1抗体包括但不限于KY-1003、MCLA-145、RG7446(还称为阿替珠单抗)、BMS935559(还称为MDX-1105)、MPDL3280A、MEDI4736、阿维鲁单抗(还称为MSB0010718C)和STI-A1010。在一些实施方案中,抗PD-L1或抗PD-L2为单株抗体或多株抗体。在一些实施方案中,抗PD-1或抗PD-L2抗体为选自由下列组成的组的抗原结合片段:全长抗PD-1或抗PD-L2抗体的Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、scFv以及其他抗原结合子序列。在一些实施方案中,抗PD-L1或抗PD-L2抗体为人类、人类化或嵌合抗体。在一些实施方案中,抗PD-L1或抗PD-L2抗体为双特异性抗体、多特异性抗体、单一结构域抗体、包括抗体部分的融合蛋白、或其任何其他变体或衍生物。在一些实施方案中,PD-1配体的抑制剂为PD-L1和PD-L2二者的抑制剂(例如,肽、蛋白质或小分子)。PD-L1和PD-L2二者的示例性抑制剂包括但不限于AUR-012和AMP-224。在一些实施方案中,PD-L1的抑制剂和PD-L2的抑制剂可互换用于本文所述治疗方法中的任一者中。

[0122] 因此,例如,在一些实施方案中,提供治疗个体(例如人类)的实体或淋巴瘤(例如抑制肿瘤转移)的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的感染剂;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的PD-1配体的抑制剂(例如抗PD-L1或抗PD-L2抗体、或PD-L1和PD-L2二者的抑制剂)。在一些实施方案中,感染剂为非溶瘤病毒。在一些实施方案中,感染剂为溶瘤病毒。在一些实施方案中,感染剂为野生型感染剂。在一些实施方案中,感染剂经遗传修饰。在一些实施方案中,感染剂经减毒(例如经由多次传代、不活化或遗传修饰)。在一些实施方案中,PD-1配体的抑制剂为抗PD-L1抗体,例如KY-1003、MCLA-145、RG7446、BMS935559、MPDL3280A、MEDI4736、阿维鲁单抗或STI-A1010。在一些实施方案中,PD-1配体的抑制剂为抗PD-L2抗体。在一些实施方案中,PD-1配体的抑制剂为PD-L1和PD-L2二者的抑制剂(例如,肽、蛋白质或小分子),例如AUR-012和AMP-224。在一些实施方案中,该方法还包括局部施用第二免疫调节剂,例如免疫刺激剂(例如,CD40活化剂或4-1BB活化剂)。在一些实施方案中,将感染剂和/或PD-1配体的抑制剂直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,将感染剂和/或PD-1配体的抑制剂施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,将感染剂和PD-1配体的抑制剂二者直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,将感染剂和PD-1配体的抑制剂二者施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,每周施用感染剂。在一些实施方案中,每周施用PD-1配体的抑制剂。在一些实施方案中,依序施用感染剂和PD-1配体的抑制剂。在一些实施方案中,在施用PD-1配体的抑制剂之前(例如在即将施用之前)施用感染剂。在一些实施方案中,在施用PD-1配体的抑制剂之后(例如在施用后立刻)施用感染剂。在一些实施方案中,同时施用感染剂和PD-1配体的抑制剂(例如在单一组合物中)。在一些实施方案中,该方法还包括通过局部施用除外的施用途径施用感染剂和/或PD-1配体的抑制剂。

[0123] 例如,在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴瘤(例如抑制肿瘤转移)的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒);以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的PD-1配体的抑制剂(例如抗PD-L1或抗PD-L2抗体、或PD-L1和PD-L2二者的抑制剂)。

[0124] 在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴瘤(例如抑制肿瘤转移)的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的包括病毒载体的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒),该病毒载体包括可操作连接至病毒复制所必需的病毒基因的肿瘤细胞特异性启动子;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的PD-1配体的抑制剂(例如抗PD-L1或抗PD-L2抗体、或PD-L1和PD-L2二者的抑制剂)。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为E2F-1启动子,例如人类E2F-1启动子或包括SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。在一些实施方案中,病毒复制所必需的病毒基因选自由下列组成的组:E1A、E1B和E4。

[0125] 在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴瘤(例如抑制肿瘤转移)的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的包括病毒载体的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒),该病毒载体包括可操作连接至病毒复制所必需的病毒基因的肿瘤细胞特异性启动子和编码可操作连接至病毒启动子的免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素)的核酸;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的PD-1配体的抑制剂(例如抗PD-L1或抗PD-L2抗体、或PD-L1和PD-L2二者的抑制剂)。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为E2F-1启动子,例如人类E2F-1启动子或包括SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。在一些实施方案中,病毒复制所必需的病毒基因选自由下列组成的组:E1A、E1B和E4。在一些实施方案中,可操作连接至编码免疫相关分子的核酸的病毒启动子为E3启动子。在一些实施方案中,免疫相关分子为GM-CSF。

[0126] 在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴瘤(例如抑制肿瘤转移)的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的腺病毒血清型5,其中天然腺病毒的内源性E1a启动子和E3 19kD编码区经人类E2F-1启动子和编码免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素,例如GM-CSF)的核酸置换;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的PD-1配体的抑制剂(例如抗PD-L1或抗PD-L2抗体、或PD-L1和PD-L2二者的抑制剂)。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为人类E2F-1启动子或包括SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。

[0127] 在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴瘤(例如抑制肿瘤转移)的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的CG0070;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的PD-1配体的抑制剂(例如抗PD-L1或抗PD-L2抗体、或PD-L1和PD-L2二者的抑制剂)。在一些实施方案中,PD-1配体的抑制剂为抗PD-L1抗体,例如KY-1003、MCLA-145、RG7446、BMS935559、MPDL3280A、MEDI4736、阿维鲁单抗或STI-A1010。在一些实施方案中,PD-1配体的抑制剂为抗PD-L2抗体。在一些实施方案中,PD-1配体的抑制剂为PD-L1和PD-L2二者的抑制剂(例如,肽、蛋白质或小分子),例如AUR-012和AMP-224。在一些实施方案中,将CG0070和/或PD-1配体的抑制剂直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,将溶瘤病毒和/或PD-1配体的抑制剂施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,将CG0070和PD-1配体的抑制剂二者直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,将CG0070和PD-1配体的抑制剂二者施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,每周施用CG0070。在一些实施方案中,每周施用PD-1配体的抑制剂。在一些实施方案中,依序施用CG0070和PD-1配体的抑制剂。在一些实施方案中,在施用PD-1配体的抑制剂之前(例如在即将施用之前)施用CG0070。在一些实施方案中,在施用PD-1配体的抑制剂之后(例如在施用后立刻)施用CG0070。在一些实施方案中,同时施用CG0070和PD-1配体的抑制剂(例如在单一组合中)。在一些实施方案中,该方法还包

括通过局部施用除外的施用途径施用CG0070和/或PD-1配体的抑制剂。

[0128] 在一些实施方案中,免疫刺激剂为CD40的活化剂。在一些实施方案中,CD40的活化剂为激动性抗CD40抗体。已知抗CD40抗体中的任一者皆可用于本发明中,包括但不限于CP-870,893、达西珠单抗(还称为SGN-40)、ChiLob 7/4、APX005、和APX005M、BI-655064和BMS-986090。在一些实施方案中,激动性抗CD40抗体为单株抗体或多株抗体。在一些实施方案中,激动性抗CD40抗体为选自由下列组成的组的抗原结合片段:全长抗CD40抗体的Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、scFv以及其他抗原结合子序列。在一些实施方案中,激动性抗CD40抗体为人类、人类化或嵌合抗体。在一些实施方案中,激动性抗CD40抗体为双特异性抗体、多特异性抗体、单一结构域抗体、包括抗体部分的融合蛋白、或其任何其他变体或衍生物。在一些实施方案中,CD40的活化剂为天然或经改造的CD40配体,例如CD40L。在一些实施方案中,CD40的活化剂为CD40与CD40L之间的相互作用的抑制剂。在一些实施方案中,CD40的活化剂增加CD40的信号传导。

[0129] 因此,例如,在一些实施方案中,提供治疗个体(例如人类)的实体或淋巴瘤(例如抑制肿瘤转移)的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的感染剂;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的CD40的活化剂(例如激动性抗CD40抗体,例如CP-870,893、达西珠单抗、ChiLob 7/4或APX005M)。在一些实施方案中,感染剂为非溶瘤病毒。在一些实施方案中,感染剂为溶瘤病毒。在一些实施方案中,感染剂为野生型感染剂。在一些实施方案中,感染剂经遗传修饰。在一些实施方案中,感染剂经减毒(例如经由多次传代、不活化或遗传修饰)。在一些实施方案中,CD40的活化剂为激动性抗CD40抗体,例如CP-870,893、达西珠单抗、ChiLob 7/4或APX005M。在一些实施方案中,该方法还包括局部施用第二免疫调节剂,例如免疫检查点抑制剂。在一些实施方案中,第二免疫调节剂为CTLA-4的抑制剂,例如抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)或经改造的脂质运载蛋白(例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白)。在一些实施方案中,将感染剂和/或CD40的活化剂直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,将感染剂和/或CD40的活化剂施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,将感染剂和CD40的活化剂二者直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,将感染剂和CD40的活化剂二者施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,每周施用感染剂。在一些实施方案中,每周施用CD40的活化剂。在一些实施方案中,依序施用感染剂和CD40的活化剂。在一些实施方案中,在施用CD40的活化剂之前(例如在即将施用之前)施用感染剂。在一些实施方案中,在施用CD40的活化剂之后(例如在施用后立刻)施用感染剂。在一些实施方案中,同时施用感染剂和CD40的活化剂(例如在单一组合物中)。在一些实施方案中,该方法还包含借由局部施用除外的施用途径施用感染剂和/或CD40的活化剂。

[0130] 例如,在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴瘤的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒);以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的CD40的活化剂(例如激动性抗CD40抗体,例如CP-870,893、达西珠单抗、ChiLob 7/4或APX005M)。

[0131] 在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴瘤(例如抑制肿瘤转移)的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的包括病毒载体的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒),该病毒载体包括可操作连接至病毒复制所必需的病毒基因的肿瘤细胞特异性启动子;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的CD40的活化剂(例如激动性抗CD40抗体,例如

CP-870,893、达西珠单抗、ChiLob 7/4或APX005M)。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为E2F-1启动子,例如人类E2F-1启动子或包括SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。在一些实施方案中,病毒复制所必需的病毒基因选自由下列组成的组:E1A、E1B和E4。

[0132] 在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴瘤(例如抑制肿瘤转移)的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的包括病毒载体的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒),该病毒载体包括可操作连接至病毒复制所必需的病毒基因的肿瘤细胞特异性启动子和编码可操作连接至病毒启动子的免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素)的核酸;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的CD40的活化剂(例如激动性抗CD40抗体,例如CP-870,893、达西珠单抗、ChiLob 7/4或APX005M)。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为E2F-1启动子,例如人类E2F-1启动子或包含SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。在一些实施方案中,病毒复制所必需的病毒基因选自由下列组成的组:E1A、E1B和E4。在一些实施方案中,可操作连接至编码免疫相关分子的核酸的病毒启动子为E3启动子。在一些实施方案中,免疫相关分子为GM-CSF。

[0133] 在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴瘤(例如抑制肿瘤转移)的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的腺病毒血清型5,其中天然腺病毒的内源性E1a启动子和E3 19kD编码区经人类E2F-1启动子和编码免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素,例如GM-CSF)的核酸置换;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的CD40的活化剂(例如激动性抗CD40抗体,例如CP-870,893、达西珠单抗、ChiLob 7/4或APX005M)。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为人类E2F-1启动子或包括SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。

[0134] 在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴瘤(例如抑制肿瘤转移)的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的CG0070;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的CD40的活化剂(例如激动性抗CD40抗体,例如CP-870,893、达西珠单抗、ChiLob 7/4或APX005M)。在一些实施方案中,CD40的活化剂为激动性抗CD40抗体,例如CP-870,893、达西珠单抗、ChiLob 7/4或APX005M。在一些实施方案中,将CG0070和/或CD40的活化剂直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,将溶瘤病毒和/或CD40的活化剂施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,将CG0070和CD40的活化剂二者直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,将CG0070和CD40的活化剂二者施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,每周施用CG0070。在一些实施方案中,每周施用CD40的活化剂。在一些实施方案中,依序施用CG0070和CD40的活化剂。在一些实施方案中,在施用CD40的活化剂之前(例如在即将施用之前)施用CG0070。在一些实施方案中,在施用CD40的活化剂之后(例如在施用后立刻)施用CG0070。在一些实施方案中,同时施用CG0070和CD40的活化剂(例如在单一组合物中)。在一些实施方案中,该方法还包括通过局部施用除外的施用途径施用CG0070和/或CD40的活化剂。

[0135] 在一些实施方案中,该方法包括施用两种或更多种(例如2、3、4、5、6或更多中的任一者)感染剂。例如,在一些实施方案中,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的第一感染剂(例如病毒,例如溶瘤病毒);以及b)向个体局部施用有效量的第二感染剂(例如细菌,例如BCG、MCNA或单核球增多性李氏菌);以及c)向该肿瘤部位局部施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。

[0136] 本文所述方法还可包括在施用感染剂之前向该肿瘤部位局部施用预处理组合物

的步骤。在一些实施方案中,预处理组合物包括转导增强剂,例如N-十二烷基-β-D-麦芽糖苷(DDM)。DDM为包括经单一12碳链衍生的麦芽糖的非离子型表面活性剂,并且用作温和清洁剂和增溶剂。其已用作食物添加剂且已知其增强啮齿类动物中的黏膜表面渗透,此可能是由于其对与GAG和紧密连接处相关联的膜的效应。

[0137] 可将预处理组合物直接施用至肿瘤中或施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,预处理组合物包括转导增强剂(例如DDM)的溶液。预处理组合物(例如DDM溶液)的适宜浓度包括但不限于0.01%、0.05%、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、1%、2%、3%、4%或5%中的约任一者的转导增强剂(例如DDM)。在一些实施方案中,预处理组合物包含约0.01%至约0.05%、约0.05%至约0.1%、约0.1%至约0.5%、约0.5%至约1%、约1%至约2%、约2%至约3%、约3%至约4%、约4%至约5%、约0.01%至约1%、约0.05%至约2%、约1%至约5%或约0.1%至约5%中的任一者的转导增强剂(例如DDM)。

[0138] 在一些实施方案中,在即将施用感染剂之前(例如不超过5分钟)施用预处理(例如DDM)。在一些实施方案中,在施用感染剂之前不超过5分钟、10分钟、15分钟、20分钟、30分钟、45分钟、1小时、90分钟、2小时、3小时或4小时中的约任一者施用预处理(例如DDM)。在一些实施方案中,在施用感染剂之前不超过约2小时施用预处理(例如DDM)。

[0139] 预处理组合物(例如DDM)的适宜剂量包括但不限于以下中的约任一者:0.1mg/kg、0.5mg/kg、1mg/kg、1.5mg/kg、2mg/kg、2.5mg/kg、5mg/kg、10mg/kg、25mg/kg、50mg/kg、100mg/kg、150mg/kg、200mg/kg、250mg/kg、300mg/kg、400mg/kg、500mg/kg、0.1mg/kg至0.5mg/kg、0.5mg/kg至1mg/kg、1mg/kg至2mg/kg、2mg/kg至5mg/kg、5mg/kg至10mg/kg、10mg/kg至25mg/kg、25mg/kg至50mg/kg、50mg/kg至100mg/kg、100mg/kg至150mg/kg、150mg/kg至200mg/kg、200mg/kg至250mg/kg、250mg/kg至500mg/kg或0.5mg/kg至约5mg/kg。在一些实施方案中,预处理组合物的适宜剂量为0.1g、0.2g、0.5g、0.75g、1g、1.5g、2g、2.5g、5g或10g转导增强剂(例如DDM)中的约任一者。

[0140] 在施用感染剂和免疫调节剂之前(包括免疫调节剂的组合),个体(例如,完全或仅在肿瘤部位)经历先前疗法。在一些实施方案中,先前疗法是使用一种或多种(例如1、2、3、4、5或更多种)治疗模态(包括但不限于辐射疗法、施用一种或多种免疫相关分子、施用其他治疗剂、以及它们的组合)的肿瘤部位制备。据信添加其他预处理制备可增加上述方法成功的机会。不受限于任何理论或假设,例如,具有或无淋巴清除效应的局部辐射或化学疗法可增加感染过程的机会,并且可耗尽肿瘤部位的更敏感Treg,由此恢复耗尽或耐受的T记忆细胞。类似地,“于”肿瘤部位施用本发明组合之前或同时的肿瘤部位制备可涉及细胞介素、趋化介素、小分子以及其他熟知的有益免疫调节剂,例如IL2、IL12、OX40、CD40和4-1BB激动剂。依需要而定,此类肿瘤部位制备模态可结合或按顺序给予。

[0141] 在一些实施方案中,先前疗法为辐射疗法(例如,具有或无化学疗法)。在一些实施方案中,辐射疗法与化学疗法组合。在一些实施方案中,先前疗法为针对全身的辐射疗法。在一些实施方案中,先前疗法为仅针对肿瘤部位的辐射疗法。在一些实施方案中,先前疗法为针对具有肿瘤的组织辐射疗法。在一些实施方案中,先前疗法为仅针对选择用于局部施用感染剂和免疫调节剂的肿瘤部位的辐射疗法。在一些实施方案中,先前疗法为仅针对选择用于局部施用感染剂和免疫调节剂的具有肿瘤的组织辐射疗法。在一些实施方案中,辐射疗法的剂量不足以根除肿瘤细胞。例如,辐射疗法的适宜剂量为以下中的约任一

者:1Gy、5Gy、10Gy、15Gy、20Gy、25Gy、30Gy、35Gy、40Gy、45Gy、50Gy、55Gy、60Gy、65Gy、70Gy、75Gy、80Gy、90Gy或100Gy。在一些实施方案中,辐射疗法的剂量为不超过以下中的约任一者:1Gy、5Gy、10Gy、15Gy、20Gy、25Gy、30Gy、35Gy、40Gy、45Gy、50Gy、55Gy、60Gy、65Gy、70Gy、75Gy、80Gy、90Gy或100Gy。在一些实施方案中,辐射疗法的剂量为以下中的任一者:约1Gy至约5Gy、约5Gy至约10Gy、约10Gy至约15Gy、约15Gy至约20Gy、约20Gy至约25Gy、约25Gy至约30Gy、约30Gy至约35Gy、约5Gy至约15Gy、约10Gy至约20Gy、约20Gy至约30Gy、约30Gy至约40Gy、约40Gy至约50Gy、约50Gy至约60Gy、约60Gy至约70Gy、约70Gy至约80Gy、约80Gy至约100Gy、约10Gy至约30Gy、约20Gy至约40Gy、约1Gy至约25Gy、约25Gy至约50Gy、约30Gy至约60Gy、约60Gy至约80Gy或约10Gy至约60Gy。辐射疗法的适宜剂量也可依肿瘤的类型、阶段和位置而定。

[0142] 在一些实施方案中,以一种以上方式(例如2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、15、16、18、20或更多种方式中的约任一者)施用辐射疗法。在一些实施方案中,在1天、2天、3天、4天、5天、6天、1周、2周、3周、4周、5周、6周、7周或更长时间中的约任一者的过程中施用辐射疗法部分。在一些实施方案中,在以下中的任一者的过程中施用辐射疗法部分:约1天至约5天、约1周至约2周、约2周至约3周、约3周至约4周、约4周至约5周、约5周至约6周、约6周至约7周、约2周至约4周、约4周至约6周或约1周至约6周。在一些实施方案中,每天以约两个部分施用辐射疗法。在一些实施方案中,辐射疗法的每一部分为对于成人每天约1.8Gy至约2Gy(一周五天)、或对于儿童每天约1.5Gy至约1.8Gy(一周五天)。在一些实施方案中,辐射疗法的每一部分为以下中的约任一者:1Gy、1.5Gy、2Gy、2.5Gy、5Gy、10Gy、15Gy、20Gy、30Gy、40Gy、50Gy或更多。在一些实施方案中,辐射疗法的每一部分为以下中的任一者:约1Gy至约1.5Gy、约1.5Gy至约2Gy、约1Gy至约2.5Gy、约2.5Gy至约5Gy、约5Gy至约10Gy、约10Gy至约15Gy、约15Gy至约20Gy、约20Gy至约30Gy、约25Gy至约50Gy、约1Gy至约10Gy或约2Gy至约20Gy。在一些实施方案中,以单一部分施用辐射疗法。

[0143] 在一些实施方案中,辐射疗法旨在淋巴清除,以每天单一剂量部分或在数天至数周内以多个部分。在一些实施方案中,淋巴清除辐射疗法为作为全身辐照给予。在一些实施方案中,淋巴清除仅为给予至局部肿瘤部位或具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,每天以两个部分施用淋巴清除辐射疗法。在一些实施方案中,淋巴清除辐射疗法的每一部分为对于成人每天约1Gy至约2Gy(一周五天)、或对于儿童每天约0.5Gy至约1.8Gy(一周五天)。在一些实施方案中,辐射疗法的每一部分为以下中的约任一者:1Gy、1.5Gy、2Gy、2.5Gy、5Gy、10Gy、15Gy、20Gy、30Gy、40Gy、50Gy或更多。在一些实施方案中,辐射疗法的每一部分为以下中的任一者:约1Gy至约1.5Gy、约1.5Gy至约2Gy、约1Gy至约2.5Gy、约2.5Gy至约5Gy、约5Gy至约10Gy、约10Gy至约15Gy、约15Gy至约20Gy、约20Gy至约30Gy、约25Gy至约50Gy、约1Gy至约10Gy或约2Gy至约20Gy。在一些实施方案中,淋巴清除辐射疗法是使用或不使用化学治疗剂(例如但不限于环磷酰胺(cyclophosphamide)和氟达拉滨(fludarabine))来施用。

[0144] 辐射疗法的已知方法中的任一者皆可用于本发明中,包括但不限于外线束放射疗法(EBRT或XRT)、远程疗法、近程疗法、密封源辐射疗法、全身放射性同位素疗法(RIT)、非密封源辐射疗法、术中辐射疗法(IORT)、靶向的术中辐射疗法(TARGIT)、量值调节辐射疗法(IMRT)、体积调节弧疗法(VMAT)、颗粒疗法和钻孔机疗法。

[0145] 在一些实施方案中,提供治疗患有实体或淋巴肿瘤的个体的方法,该方法包括:

(a) 局部施用辐射疗法; b) 向该肿瘤部位局部施用有效量的感染剂(例如溶瘤病毒, 例如CG0070); 以及c) 向个体局部施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂(例如免疫检查点抑制剂和/或免疫刺激剂)的组合)。在一些实施方案中, 提供抑制个体的实体或淋巴肿瘤转移的方法, 该方法包括: (a) 局部施用辐射疗法; b) 向该肿瘤部位局部施用有效量的感染剂(例如溶瘤病毒, 例如CG0070); 以及c) 向个体局部施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂(例如免疫检查点抑制剂和/或免疫刺激剂)的组合)。在一些实施方案中, 在施用感染剂和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)之前施用辐射疗法。在一些实施方案中, 在施用感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)之前约1天至约1周(例如, 约2天)施用辐射疗法。在一些实施方案中, 直接向实体或淋巴肿瘤施用辐射疗法、和/或感染剂和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中, 向具有实体或淋巴肿瘤的组织施用辐射疗法、和/或感染剂和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中, 免疫调节剂为CTLA-4抑制剂(例如抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)或经改造的脂质运载蛋白(例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白))。在一些实施方案中, 免疫调节剂为CD40激动剂(例如激动性抗CD40抗体, 例如CP-870, 893、达西珠单抗、ChiLob 7/4或APX005M)。在一些实施方案中, 该方法包括局部施用免疫调节剂的组合, 其包括CTLA-4抑制剂(例如抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)或经改造的脂质运载蛋白(例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白))和CD40激动剂(例如激动性抗CD40抗体, 例如CP-870, 893、达西珠单抗、ChiLob 7/4或APX005M)。在一些实施方案中, 辐射疗法是以每个肿瘤部位约1Gy至约10Gy(例如约4Gy)的剂量施用。在一些实施方案中, 辐射疗法是以约2个分次剂量每周施用(例如, 每日, 持续约2天)。在一些实施方案中, 施用辐射疗法不超过约4周。在一些实施方案中, 每周施用感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)达约2周至约8周(例如约6周)。在一些实施方案中, 另外每两周施用感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)达约1个月至约4个月(例如约2个月)。在一些实施方案中, 另外每月施用感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)作为维持治疗。

[0146] 在一些实施方案中, 先前疗法包括施用治疗剂。在一些实施方案中, 治疗剂的剂量足以根除肿瘤细胞。在一些实施方案中, 治疗剂的剂量不足以根除肿瘤细胞。在一些实施方案中, 治疗剂为业内已知的化学治疗剂(例如环磷酰胺)的任一者或组合。在一些实施方案中, 治疗剂为业内已知的靶向或阻断细胞信号传导途径的试剂的任一者或组合, 例如BRAF抑制剂。在一些实施方案中, 治疗剂为业内已知的细胞疗法的任一者或组合, 例如TIL细胞、CAR/T细胞和/或TCR/T细胞。在一些实施方案中, 治疗剂为增加参与免疫原性途径的细胞介素的含量的药剂。本文所述免疫相关分子中的任一者皆可用作治疗剂, 包括但不限于细胞介素(例如IL6、IL8和IL18(此类细胞介素可具有促发炎和/或抗发炎作用, 或一些可促进新血管形成和肿瘤生长))、趋化介素(例如CCL21, 其可通过增加淋巴结构而促进肿瘤扩散)、生长因子(例如FLT3L)、热休克蛋白、小分子激酶抑制剂(例如JAK2抑制剂)、IAP抑制剂、STING活化剂(例如CDN)、PRRago(例如CpG ODN(寡脱氧核苷酸)、咪喹莫特或聚I:C)、TLR刺激物(例如GS-9620、AED-1419、CYT-003-QbG10、AVE-0675或PF-7909)和RLR刺激物(例如RIG-I、Mda5或LGP2刺激物)。在一些实施方案中, 治疗剂为引起肿瘤的结构组分功能障碍或对其损害的药剂。示例性药剂包括但不限于抗VEGF抗体、玻尿酸酶和n-十二烷基- $\beta$ -麦芽糖苷。在一些实施方案中, 治疗剂诱导免疫细胞, 例如树突细胞、B细胞和T细胞(例如滤泡性T

辅助细胞)。

[0147] 本文所述一种或多种治疗剂(例如化学治疗剂、靶向或阻断细胞信号传导途径的药剂、细胞介素、趋化介素、细胞疗法等)中的任一者可单独或组合直接或间接施用(例如经由静脉内施用)至肿瘤部位。

[0148] 在一些实施方案中,治疗具有实体或淋巴瘤的个体(例如抑制肿瘤转移)的方法包括:(a)局部施用治疗剂(例如CCL21);b)向该肿瘤部位局部施用有效量的感染剂(例如溶瘤病毒,例如CG0070);以及c)向个体局部施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂(例如免疫检查点抑制剂和/或免疫刺激剂)的组合)。在一些实施方案中,治疗剂包括趋化介素。在一些实施方案中,趋化介素为CCL21。在一些实施方案中,CCL21为纳米胶囊。在一些实施方案中,在施用感染剂和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)之前施用治疗剂。在一些实施方案中,在施用感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)之前约1天至约1周(例如,约2天)治疗剂(例如CCL21)。在一些实施方案中,直接向实体或淋巴瘤施用治疗剂、和/或感染剂和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,向具有实体或淋巴瘤的组织施用治疗剂、和/或感染剂和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,免疫调节剂为CTLA-4抑制剂(例如抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)或经改造的脂质运载蛋白(例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白))。在一些实施方案中,免疫调节剂为CD40激动剂(例如激动性抗CD40抗体,例如CP-870,893、达西珠单抗、ChiLob 7/4或APX005M)。在一些实施方案中,该方法包括局部施用免疫调节剂的组合,其包括CTLA-4抑制剂(例如抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)或经改造的脂质运载蛋白(例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白))和CD40激动剂(例如激动性抗CD40抗体,例如CP-870,893、达西珠单抗、ChiLob 7/4或APX005M)。在一些实施方案中,治疗剂(例如CCL21)是以每个肿瘤部位约10 $\mu$ g至约100mg的剂量施用。在一些实施方案中,每个肿瘤部位的治疗剂(例如CCL21)的剂量取决于肿瘤的大小,例如对于最长尺寸为约5cm或更大的肿瘤为约100 $\mu$ g至约10mg(例如约400 $\mu$ g)、对于最长尺寸为约2cm至约5cm的肿瘤为约50 $\mu$ g至约5mg(例如约200 $\mu$ g)、或对于最长尺寸为约0.5cm至约2cm的肿瘤为约25 $\mu$ g至约2.5mg(例如约100 $\mu$ g)。在一些实施方案中,在约2周至约8周(例如约6周)中每周施用治疗剂(例如CCL21)、感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,在约1个月至约4个月(例如约2个月)中另外每两周施用治疗剂(例如CCL21)、感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,另外每月施用治疗剂(例如CCL21)、感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)作为维持治疗。

[0149] 在一些实施方案中,治疗具有实体或淋巴瘤的个体(例如抑制肿瘤转移)的方法包括:(a)局部施用治疗剂(例如CpG ODN);b)向该肿瘤部位局部施用有效量的感染剂(例如溶瘤病毒,例如CG0070);以及c)向个体局部施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂(例如免疫检查点抑制剂和/或免疫刺激剂)的组合)。在一些实施方案中,治疗剂包括PRRago。在一些实施方案中,趋化介素为CpG ODN,例如CpG 7909。在一些实施方案中,在施用感染剂和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)之前施用治疗剂。在一些实施方案中,在施用感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)之前约1天至约1周(例如,约2天)治疗剂(例如CpG ODN)。在一些实施方案中,直接向实体或淋巴瘤施用治疗剂、和/或感染剂和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,向具有实体或淋巴瘤的组织施用

治疗剂、和/或感染剂和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,免疫调节剂为CTLA-4抑制剂(例如抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)或经改造的脂质运载蛋白(例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白))。在一些实施方案中,免疫调节剂为OX40激动剂(例如激动性抗OX40抗体,例如MEDI-6469)。在一些实施方案中,该方法包括局部施用免疫调节剂的组合,其包括CTLA-4抑制剂(例如抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)或经改造的脂质运载蛋白(例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白))和OX40激动剂(例如激动性抗OX40抗体,例如MEDI-6469)。在一些实施方案中,治疗剂(例如CpG ODN)是以每个肿瘤部位约10 $\mu$ g至约100mg的剂量施用。在一些实施方案中,每个肿瘤部位的治疗剂(例如CpG ODN)的剂量取决于肿瘤的大小,例如对于最长尺寸为约5cm或更大的肿瘤为约200 $\mu$ g至约20mg(例如约2mg)、对于最长尺寸为约2cm至约5cm的肿瘤为约100 $\mu$ g至约10mg(例如约1mg)、或对于最长尺寸为约0.5cm至约2cm的肿瘤为约50 $\mu$ g至约5mg(例如约500 $\mu$ g)。在一些实施方案中,在约2周至约8周(例如约6周)中每周施用治疗剂(例如CpG ODN)、感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,在约1个月至约4个月(例如约2个月)中另外每两周施用治疗剂(例如CpG ODN)、感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,另外每月施用治疗剂(例如CpG ODN)、感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)作为维持治疗。

[0150] 感染剂的适宜剂量取决于诸如以下等因素:感染剂的性质、所治疗实体或淋巴瘤的类型和施用途径。如本文所用的“颗粒”在与感染剂相关时意指感染剂(例如病毒或细菌)的物理单数单元的集合数目。此数目转化成或等效于意指感染效价单位(例如噬菌斑形成单位(pfu)或国际单位)的另一数目,通过如业内已知的感染性分析所测定。在一些实施方案中,感染剂是以如下中的约任一者的剂量施用:1 $\times$ 10<sup>5</sup>个颗粒、1 $\times$ 10<sup>6</sup>个颗粒、1 $\times$ 10<sup>7</sup>个颗粒、1 $\times$ 10<sup>8</sup>个颗粒、1 $\times$ 10<sup>9</sup>个颗粒、1 $\times$ 10<sup>10</sup>个颗粒、2 $\times$ 10<sup>10</sup>个颗粒、5 $\times$ 10<sup>10</sup>个颗粒、1 $\times$ 10<sup>11</sup>个颗粒、2 $\times$ 10<sup>11</sup>个颗粒、5 $\times$ 10<sup>11</sup>个颗粒、1 $\times$ 10<sup>12</sup>个颗粒、2 $\times$ 10<sup>12</sup>个颗粒、5 $\times$ 10<sup>12</sup>个颗粒、1 $\times$ 10<sup>13</sup>个颗粒、2 $\times$ 10<sup>13</sup>个颗粒、5 $\times$ 10<sup>13</sup>个颗粒、1 $\times$ 10<sup>14</sup>个颗粒或1 $\times$ 10<sup>15</sup>个颗粒。在一些实施方案中,感染剂是以如下中的任一者的剂量施用:约1 $\times$ 10<sup>5</sup>个颗粒至约1 $\times$ 10<sup>6</sup>个颗粒、约1 $\times$ 10<sup>6</sup>个颗粒至约1 $\times$ 10<sup>7</sup>个颗粒、约1 $\times$ 10<sup>7</sup>个颗粒至约1 $\times$ 10<sup>8</sup>个颗粒、约1 $\times$ 10<sup>8</sup>个颗粒至约1 $\times$ 10<sup>9</sup>个颗粒、约1 $\times$ 10<sup>9</sup>个颗粒至约1 $\times$ 10<sup>10</sup>个颗粒、约1 $\times$ 10<sup>10</sup>个颗粒至约1 $\times$ 10<sup>11</sup>个颗粒、约1 $\times$ 10<sup>11</sup>个颗粒至约5 $\times$ 10<sup>11</sup>个颗粒、约5 $\times$ 10<sup>11</sup>个颗粒至约1 $\times$ 10<sup>12</sup>个颗粒、约1 $\times$ 10<sup>12</sup>个颗粒至约2 $\times$ 10<sup>12</sup>个颗粒、约2 $\times$ 10<sup>12</sup>个颗粒至约5 $\times$ 10<sup>12</sup>个颗粒、约5 $\times$ 10<sup>12</sup>个颗粒至约1 $\times$ 10<sup>13</sup>个颗粒、约1 $\times$ 10<sup>13</sup>个颗粒至约1 $\times$ 10<sup>14</sup>个颗粒或约1 $\times$ 10<sup>14</sup>个颗粒至约1 $\times$ 10<sup>15</sup>个颗粒。

[0151] 在一些实施方案中,每日施用感染剂。在一些实施方案中,感染剂是一周施用至少1次、2次、3次、4次、5次、6次或7次(即,每日)中的约任一者。在一些实施方案中,每周施用感染剂。在一些实施方案中,感染剂是每周无间断施用;三周中的两周每周施用;四周中的三周每周施用;每2周一次;每3周一次;每4周一次;每6周一次;每8周一次、每月或每2至12个月施用。在一些实施方案中,每次施用之间之间隔小于以下中的约任一者:6个月、3个月、1个月、20天、15天、12天、10天、9天、8天、7天、6天、5天、4天、3天、2天或1天。在一些实施方案中,每次施用之间之间隔超过以下中的约任一者:1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、8个月或12个月。在一些实施方案中,给药时间表中无间断。在一些实施方案中,每次施用之间之间隔不超过约一周。

[0152] 感染剂的施用可在延长时间段(例如约1个月高达至约7年)内。在一些实施方案中,在至少以下中的约任一者的时段内施用感染剂:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、18、24、30、36、48、60、72或84个月。在一些实施方案中,在至少4周或6周的时段内施用感染剂。在一些实施方案中,每3个月在4周中每周施用感染剂。在一些实施方案中,每3个月在6周中每周施用感染剂。

[0153] 免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)的适宜剂量取决于诸如以下等因素:免疫调节剂或免疫调节剂的组合的性质、所治疗实体或淋巴瘤的类型和施用途径。免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)的示例性剂量包括但不限于以下中的约任一者:1mg/m<sup>2</sup>、5mg/m<sup>2</sup>、10mg/m<sup>2</sup>、20mg/m<sup>2</sup>、50mg/m<sup>2</sup>、100mg/m<sup>2</sup>、200mg/m<sup>2</sup>、300mg/m<sup>2</sup>、400mg/m<sup>2</sup>、500mg/m<sup>2</sup>、750mg/m<sup>2</sup>、1000mg/m<sup>2</sup>或更多。在一些实施方案中,免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)的剂量包括于以下范围内的任一者中:约1至约5mg/m<sup>2</sup>、约5至约10mg/m<sup>2</sup>、约10至约20mg/m<sup>2</sup>、约20至约50mg/m<sup>2</sup>、约50至约100mg/m<sup>2</sup>、约100mg/m<sup>2</sup>至约200mg/m<sup>2</sup>、约200至约300mg/m<sup>2</sup>、约300至约400mg/m<sup>2</sup>、约400至约500mg/m<sup>2</sup>、约500至约750mg/m<sup>2</sup>或约750至约1000mg/m<sup>2</sup>。在一些实施方案中,免疫调节剂的剂量为以下中的约任一者:1μg/kg、2μg/kg、5μg/kg、10μg/kg、20μg/kg、50μg/kg、0.1mg/kg、0.2mg/kg、0.3mg/kg、0.4mg/kg、0.5mg/kg、1mg/kg、2mg/kg、5mg/kg、10mg/kg、20mg/kg、50mg/kg、100mg/kg或更多。在一些实施方案中,免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)的剂量为以下中的任一者:约1μg/kg至约5μg/kg、约5μg/kg至约10μg/kg、约10μg/kg至约50μg/kg、约50μg/kg至约0.1mg/kg、约0.1mg/kg至约0.2mg/kg、约0.2mg/kg至约0.3mg/kg、约0.3mg/kg至约0.4mg/kg、约0.4mg/kg至约0.5mg/kg、约0.5mg/kg至约1mg/kg、约1mg/kg至约5mg/kg、约5mg/kg至约10mg/kg、约10mg/kg至约20mg/kg、约20mg/kg至约50mg/kg、约50mg/kg至约100mg/kg或约1mg/kg至约100mg/kg。在一些实施方案中,免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)的剂量为以下中的约任一者:1μg、10μg、50μg、100μg、500μg、1mg、2mg、4mg、6mg、12mg、18mg、24mg、50mg、100mg、500mg或1000mg。在一些实施方案中,免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)的剂量为以下中的任一者:约1μg至约10μg、约10μg至约50μg、约50μg至约100μg、约100μg至约500μg、约500μg至约1mg、约1mg至约5mg、约5mg至约10mg、约10mg至约25mg、约25mg至约50mg、约50mg至约100mg、约100mg至约500mg、约500mg至约1000mg、约1μg至约1mg、约1mg至约1000mg或约1μg至约1000mg。在一些实施方案中,每个肿瘤部位施用的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)的剂量为不超过以下中的约任一者:10μg、50μg、100μg、500μg、1mg、2mg、4mg、6mg、12mg、18mg、24mg、50mg或100mg。在一些实施方案中,每个肿瘤部位施用的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)的剂量为以下中的任一者:约10μg至约50μg、约50μg至约100μg、约100μg至约500μg、约100μg至约1mg、约1mg至约2mg、约2mg至约5mg、约5mg至约10mg、约10mg至约15mg、约10mg至约25mg、约25mg至约50mg、约50mg至约100mg、约1mg至约50mg或约100μg至约10mg。在一些实施方案中,每个肿瘤部位施用的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)的剂量是基于肿瘤的大小。

[0154] 在一些实施方案中,每日施用免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,一周至少1次、2次、3次、4次、5次、6次或7次(即,每日)中的约任一者施用免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,每周施用免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)是每周无间断施用;三周中的两周每周施用;四周中的三周每周施用;每2周一次;每3周一次;每4周一次;每6周一

次;每8周一次、每月或每2至12个月施用。在一些实施方案中,每次施用之间之间间隔小于以下中的约任一者:6个月、3个月、1个月、20天、15天、12天、10天、9天、8天、7天、6天、5天、4天、3天、2天或1天。在一些实施方案中,每次施用之间之间间隔超过以下中的约任一者:1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、8个月或12个月。在一些实施方案中,给药时间表中无间断。在一些实施方案中,每次施用之间之间间隔不超过约一周。在一些实施方案中,免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)是以与感染剂相同的给药时间表施用。在一些实施方案中,免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)是以与感染剂不同的给药时间表施用。在一些实施方案中,在4周中每周施用感染剂,并且在四周中的三周中每周施用免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。

[0155] 免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)的施用可在延长时间段(例如约1个月高达至约7年)内。在一些实施方案中,在至少以下中的约任一者的时段内施用免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合):1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、18、24、30、36、48、60、72或84个月。在一些实施方案中,在至少3周或6周的时段内施用免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,每3个月在四周中的三周中每周施用免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,每3个月在6周中每周施用免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。

[0156] 感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)、细胞介素和/或预处理组合物的示例性施用途包括但不限于肿瘤内、膀胱内、肌内、腹膜内、静脉内、动脉内、颅内、胸膜内、皮下和表皮途径,或递送至已知含有此类活的癌细胞的淋巴腺、身体空间、器官或组织中(例如肝内或胰脏内注射)。在一些实施方案中,施用是借由将药剂直接注射至肿瘤中来实施。在一些实施方案中,施用是通过将药剂直接注射至靠近肿瘤细胞的部位来实施。具体施用途取决于实体或淋巴肿瘤的性质且下文在不同类型的实体或淋巴肿瘤之上下文中进一步论述。

[0157] 在其中感染剂和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)是肿瘤内施用(例如,肿瘤内注射)的一些实施方案中,施用的总体积不超过以下中的约任一者:0.5mL、1mL、1.5mL、2mL、2.5mL、5mL或10mL。在一些实施方案中,每个肿瘤部位的肿瘤内施用(例如肿瘤内注射)的感染剂和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)的体积取决于肿瘤部位的大小。肿瘤大小可测量为肿瘤体积或肿瘤的最长尺寸。例如,对于最长尺寸大于约5cm的肿瘤而言,肿瘤内施用体积为不超过约2mL;对于最长尺寸为约2cm至约5cm的肿瘤而言,肿瘤内施用体积为约1mL;对于最长尺寸为约0.75cm至约2cm的肿瘤而言,肿瘤内施用体积为约0.5mL;并且对于最长尺寸小于约0.75cm的肿瘤而言,肿瘤内施用体积为约0.1mL。在一些实施方案中,向所有肿瘤部位施用感染剂和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,向1、2、3、4、5、6或更多个肿瘤部位中的约任一者施用感染剂和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,向具有最大大小的肿瘤部位施用感染剂和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。

[0158] 在一些实施方案中,与免疫调节剂组合的感染剂的量有效抑制个体的肿瘤转移。在一些实施方案中,将转移抑制至少约10%(包括(例如)至少20%、30%、40%、60%、70%、80%、90%或100%中的约任一者)。在一些实施方案中,提供抑制转移至淋巴结的方法。在一些实施方案中,提供抑制转移至肺的方法。转移可通过业内已知的任何方法、例如通过血液测试、骨扫描、x射线扫描、CT扫描、PET扫描和生检来评价。

[0159] 在一些实施方案中,与免疫调节剂组合的感染剂的量有效延长个体的存活(例如无疾病存活)。在一些实施方案中,存活延长至少约2、3、4、5、6、12或24个月。在一些实施方案中,提供延长具有实体或淋巴肿瘤的个体的存活的方法,该方法包括:(a)向该肿瘤部位局部施用有效量的感染剂(例如CG0070);以及(b)向该肿瘤部位局部施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。

[0160] 在一些实施方案中,与免疫调节剂组合的感染剂的量有效引起个体的疾病缓解(部分或完全)。在一些实施方案中,提供引起具有实体或淋巴肿瘤的个体的疾病缓解(部分或完全)的方法,该方法包括:(a)向该肿瘤部位局部施用有效量的感染剂(例如CG0070);以及(b)向该肿瘤部位局部施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。

[0161] 在一些实施方案中,与免疫调节剂组合的感染剂的量有效改善个体的生活质量。在一些实施方案中,提供改善具有实体或淋巴肿瘤的个体的生活质量的方法,该方法包括:(a)向该肿瘤部位局部施用有效量的感染剂(例如CG0070);以及(b)向该肿瘤部位局部施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。

[0162] 在一些实施方案中,与免疫调节剂组合的感染剂的量有效抑制实体或淋巴肿瘤的生长或减小其大小。在一些实施方案中,实体或淋巴肿瘤的大小减小至少约10%(包括(例如)至少20%、30%、40%、60%、70%、80%、90%或100%中的约任一者)。在一些实施方案中,提供抑制个体的实体或淋巴肿瘤生长或减小其大小的方法,该方法包括:(a)向该肿瘤部位局部施用有效量的感染剂(例如CG0070);以及(b)向该肿瘤部位局部施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。

[0163] 本文论述的实体或淋巴肿瘤包括但不限于霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin lymphoma)、非霍奇金氏淋巴瘤、肉瘤和癌,例如纤维肉瘤、黏液肉瘤、脂肪肉瘤、软骨肉瘤、骨源性肉瘤、脊索瘤、血管肉瘤、内皮肉瘤、淋巴管肉瘤、淋巴管内皮肉瘤、卡波西式肉瘤(Kaposi's sarcoma)、软组织肉瘤、子宫滑膜肉瘤、间皮瘤、尤文氏肉瘤(Ewing's tumor)、平滑肌肉瘤、横纹肌肉瘤、结肠癌、胰脏癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、鳞状细胞癌、基底细胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳头状癌、乳头状腺癌、囊腺癌、髓样癌、支气管癌、肾细胞癌、肝细胞癌、胆管癌、绒毛膜癌、精原细胞瘤、胚胎性癌、威尔姆氏肿瘤(Wilm's tumor)、子宫颈癌、睾丸肿瘤、肺癌、小细胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神经胶质瘤、星细胞瘤、髓母细胞瘤、颅咽管瘤、室管膜瘤、松果体瘤、血管母细胞瘤、听神经瘤、寡树突神经胶细胞瘤、脑膜瘤、黑色素瘤、神经胚细胞瘤和视网膜母细胞瘤。

[0164] 在一些实施方案中,实体或淋巴肿瘤选自由下列组成的组:头颈鳞状细胞癌、乳腺癌、结肠直肠癌、胰脏腺癌、卵巢癌、非小细胞肺癌、前列腺癌和黑色素瘤。该方法适于所有阶段(根据美国癌症联合委员会(American Joint Committee on Cancer,AJCC)分阶段组,包括I、II、III和IV阶段)的实体或淋巴肿瘤。在一些实施方案中,实体或淋巴肿瘤为:早期阶段癌症、非转移癌、原发性癌症、晚期癌症、局部晚期癌症、转移癌、缓解的癌症、辅助设定中的癌症或前导性设定中的癌症。在一些实施方案中,实体或淋巴肿瘤为局部可切除、局部不可切除或不可切除。在一些实施方案中,实体或淋巴肿瘤为局部可切除或边缘可切除。在一些实施方案中,癌症对于先前疗法难治。

[0165] 在一些实施方案中,实体或淋巴肿瘤为头颈癌。在一些实施方案中,头颈癌为头颈中的鳞状细胞癌。在一些实施方案中,头颈癌为下咽癌、喉癌、唇和口腔癌、具有隐匿性原发

性的转移性鳞状颈癌、鼻咽癌、口咽癌、鼻旁窦和鼻腔癌或唾液腺癌。在一些实施方案中，头颈鳞状细胞癌为早期阶段头颈癌、非转移性头颈癌、晚期头颈癌、局部晚期头颈癌、转移性头颈癌、缓解的头颈癌、辅助设定中的头颈癌或先导性设定中的头颈癌。在一些实施方案中，头颈癌是在先导性设定中。在一些实施方案中，感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过注射至具有头颈肿瘤的头颈组织中来实施。在一些实施方案中，感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接注射至头颈肿瘤中来实施。在一些实施方案中，感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接注射至头颈肿瘤的转移性部位中来实施。在一些实施方案中，感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过注射至靠近头颈肿瘤的头颈组织中来实施。

[0166] 在一些实施方案中，实体或淋巴瘤为乳腺癌。在一些实施方案中，乳腺癌为早期阶段乳腺癌、非转移性乳腺癌、晚期乳腺癌、IV阶段乳腺癌、局部晚期乳腺癌、转移性乳腺癌、缓解的乳腺癌、辅助设定中的乳腺癌或先导性设定中的乳腺癌。在一些实施方案中，乳腺癌是在先导性设定中。在一些实施方案中，乳腺癌处于晚期阶段。在一些实施方案中，乳腺癌(其可为HER2阳性或HER2阴性)包括(例如)晚期乳腺癌、IV阶段乳腺癌、局部晚期乳腺癌和转移性乳腺癌。在一些实施方案中，乳腺癌为三阴性乳腺癌。在一些实施方案中，感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过乳房内注射至具有乳房肿瘤的乳房组织中来实施。在一些实施方案中，感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接乳房内注射至乳房肿瘤中来实施。在一些实施方案中，感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接注射至乳房肿瘤的转移部位中来实施。在一些实施方案中，感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过乳房内注射至靠近乳房肿瘤的乳房组织中来实施。

[0167] 在一些实施方案中，癌症为肾细胞癌。在一些实施方案中，肾细胞癌为腺癌。在一些实施方案中，肾细胞癌为透明细胞肾细胞癌、乳头状肾细胞癌(还称作易染肾细胞癌)、难染性肾细胞癌、集合管肾细胞癌、颗粒性肾细胞癌、混合颗粒性肾细胞癌、肾血管肌脂瘤或梭形肾细胞癌。在一些实施方案中，根据美国癌症联合委员会(AJCC)分阶段组，肾细胞癌处于I、II、III或IV阶段中的任一者。在一些实施方案中，感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过肾内注射至具有肾肿瘤的肾组织中实施。在一些实施方案中，感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接肾内注射至肾肿瘤中实施。在一些实施方案中，感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接注射至肾肿瘤的转移部位中实施。在一些实施方案中，感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过肾内注射至靠近肾肿瘤的肾组织中实施。

[0168] 在一些实施方案中，实体或淋巴瘤为前列腺癌。在一些实施方案中，前列腺癌为腺癌。在一些实施方案中，前列腺癌为肉瘤、神经内分泌肿瘤、小细胞癌、导管癌或淋巴瘤。在一些实施方案中，根据Jewett分阶段系统，前列腺癌处于四个阶段A、B、C或D中的任一者。在一些实施方案中，感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过前列腺内注射至具有前列腺肿瘤的前列腺组织中实施。在一些实施方案中，感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接前列腺内

注射至前列腺肿瘤中实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接注射至前列腺肿瘤的转移部位中实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过前列腺内注射至靠近前列腺肿瘤的前列腺组织中实施。

[0169] 在一些实施方案中,实体或淋巴肿瘤为肺癌。在一些实施方案中,肺癌为非小细胞肺癌(NSCLC)。NSCLC的示例包括但不限于大细胞癌、腺癌、神经内分泌肺肿瘤和鳞状细胞癌。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过肺内注射至具有肺肿瘤的肺组织中来实施。在一些实施方案中,肺癌为小细胞肺癌(SCLC)。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接肺内注射至肺肿瘤中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接注射至肺肿瘤的转移部位中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过肺内注射至靠近肺肿瘤的肺组织中来实施。

[0170] 在一些实施方案中,实体或淋巴肿瘤为黑色素瘤。在一些实施方案中,黑色素瘤为浅表扩散性黑色素瘤、恶性小痣性黑色素瘤、结节性黑色素瘤、黏膜黑色素瘤、息肉样黑色素瘤、促结缔组织增生性黑色素瘤、无黑色素的黑色素瘤、软组织黑色素瘤或肢端小痣性黑色素瘤。在一些实施方案中,根据美国癌症联合委员会(AJCC)分阶段组,黑色素瘤处于I、II、III或IV阶段中的任一者。在一些实施方案中,黑色素瘤为复发的。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过注射至具有黑色素瘤肿瘤的皮肤组织中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接注射至黑色素瘤肿瘤中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接注射至黑色素瘤肿瘤的转移部位中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过注射至靠近黑色素瘤肿瘤的肺组织中来实施。

[0171] 在一些实施方案中,实体或淋巴肿瘤为卵巢癌。在一些实施方案中,卵巢癌为上皮卵巢癌。在一些实施方案中,卵巢癌为I阶段(例如,IA、IB或IC阶段)、II阶段(例如,HA、HB或IIC阶段)、III阶段(例如,IIIA、HIB、或HIC阶段)或IV阶段。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过卵巢内注射至具有卵巢肿瘤的卵巢组织中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接卵巢内注射至卵巢肿瘤中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接注射至卵巢肿瘤的转移部位中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过卵巢内注射至靠近卵巢肿瘤的卵巢组织中来实施。

[0172] 在一些实施方案中,根据上述方法中的任一者,实体或淋巴肿瘤为胰脏癌。在一些实施方案中,胰脏癌为浆液性囊性赘瘤、黏蛋白囊性赘瘤、胰管内乳头状黏液性肿瘤、胰脏腺癌、腺鳞状癌、鳞状细胞癌、戒环细胞癌、未分化癌、具有巨细胞的未分化癌、固体假乳头状赘瘤、壶腹癌或胰脏神经内分泌肿瘤。在一些实施方案中,胰脏癌为胰脏腺癌。在一些实

施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过胰脏内注射至具有胰脏肿瘤的胰脏组织中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接胰脏内注射至胰脏肿瘤中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接注射至胰脏肿瘤的转移部位中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过胰脏内注射至靠近胰脏肿瘤的胰脏组织中来实施。

[0173] 在一些实施方案中,实体或淋巴瘤为子宫内膜癌。在一些实施方案中,子宫内膜癌为腺癌、癌肉瘤、鳞状细胞癌、未分化癌、小细胞癌或移行细胞癌。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过子宫内膜内注射至具有子宫内膜肿瘤的子宫内膜组织中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接子宫内膜内注射至子宫内膜肿瘤中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接注射至子宫内膜肿瘤的转移部位中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过子宫内膜内注射至靠近子宫内膜肿瘤的子宫内膜组织中来实施。

[0174] 在一些实施方案中,根据上述方法中的任一者,实体或淋巴瘤为结肠直肠癌。在一些实施方案中,结肠直肠癌为腺癌、胃肠类癌肿瘤、胃肠基质瘤、平滑肌肉瘤、黑色素瘤或鳞状细胞癌。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过注射至具有结肠直肠肿瘤的结肠直肠组织中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接注射至结肠直肠肿瘤中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接注射至结肠直肠肿瘤的转移部位中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过注射至靠近结肠直肠肿瘤的结肠直肠组织中来实施。

[0175] 在一些实施方案中,根据上述方法中的任一者,实体或淋巴瘤为肝细胞癌(HCC)。在一些实施方案中,HCC为早期阶段HCC、非转移性HCC、原发性HCC、晚期HCC、局部晚期HCC、转移性HCC、缓解的HCC或复发的HCC。在一些实施方案中,HCC为局部可切除的(即,限制于允许完全手术去除的肝的一部分的肿瘤)、局部不可切除的(即,局部肿瘤可能为不可切除的,此乃因涉及关键血管结构或此乃因肝受损)、或不可切除的(即,肿瘤涉及肝的所有叶和/或已经扩散以涉及其他器官(例如肺、淋巴结、骨)。在一些实施方案中,根据TNM分类,HCC为I阶段肿瘤(无血管浸润的单一肿瘤)、II阶段肿瘤(具有血管浸润的单一肿瘤或皆不大于5cm的多个肿瘤)、III阶段肿瘤(任一者大于5cm的多个肿瘤、或涉及门静脉或肝静脉的主要分支的肿瘤)、IV阶段肿瘤(直接侵入除胆囊外的毗邻器官或内脏腹膜穿孔的肿瘤)、N1肿瘤(局部淋巴结转移)或M1肿瘤(远程转移)。在一些实施方案中,根据AJCC(美国癌症联合委员会)分阶段准则,HCC为T1、T2、T3或T4阶段HCC。在一些实施方案中,HCC为肝细胞癌、HCC的纤维板层变体和混合肝细胞胆道癌中的任一者。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过肝内注射至具有HCC的肝组织中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理

组合物的施用是通过直接肝内注射至HCC中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接注射至HCC的转移部位中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过肝内注射至靠近HCC的组织中来实施。

[0176] 在一些实施方案中,根据上述方法中的任一者,实体或淋巴肿瘤为淋巴瘤。在一些实施方案中,淋巴瘤为B细胞赘瘤、T细胞赘瘤和/或假定NK-细胞赘瘤。B细胞赘瘤的示例包括但不限于前体B细胞赘瘤(例如,前体B-淋巴母细胞性白血病/淋巴瘤)和外周B细胞赘瘤(例如,B细胞慢性淋巴球性白血病/前淋巴球性白血病/小淋巴球性淋巴瘤(小淋巴球性(SL)NHL)、淋巴浆细胞样淋巴瘤/免疫细胞瘤、套细胞淋巴瘤、滤泡中心淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤(例如,细胞学等级:I(小细胞)、II(混合小细胞和大细胞)、III(大细胞)和/或亚型:弥漫性和主要小细胞类型)、低级/滤泡性非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、中度级/滤泡性NHL、边缘区B细胞淋巴瘤(例如,结节外(例如,MALT-型+/-单核球样B细胞)和/或结节(例如,+/-单核球样B细胞))、脾边缘区淋巴瘤(例如,+/-绒毛状淋巴球)、毛细胞白血病、浆细胞瘤/浆细胞骨髓瘤(例如,骨髓瘤和多发性骨髓瘤)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(例如,原发性纵膈(胸腺)B细胞淋巴瘤)、中度级弥漫性NHL、柏基特氏淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)、高级B细胞淋巴瘤、柏基特样、高等级免疫母细胞性NHL、高等级淋巴母细胞性NHL、高等级小无裂细胞NHL、巨大疾病NHL、AIDS相关的淋巴瘤和华氏巨球蛋白血症(Waldenstrom's macroglobulinemia))。T细胞和/或假定NK-细胞赘瘤的示例包括但不限于前体T细胞赘瘤(前体T-淋巴母细胞淋巴瘤/白血病)和外周T细胞和NK-细胞赘瘤(例如,T细胞慢性淋巴球性白血病/前淋巴球性白血病和大颗粒淋巴球白血病(LGL)(例如,T细胞型和/或NK-细胞型)、皮肤T细胞淋巴瘤(例如,蕈样真菌病/塞扎里症候群(Sezary syndrome))、未指定的原发性T细胞淋巴瘤(例如,细胞学类别(例如,中型细胞、混合中等细胞和大细胞)、大细胞、淋巴上皮细胞、亚型肝脾 $\gamma$  $\delta$ T细胞淋巴瘤和皮下脂膜炎性T细胞淋巴瘤)、血管免疫母细胞T细胞淋巴瘤(AILD)、血管中心淋巴瘤、肠T细胞淋巴瘤(例如,+/-肠病相关)、成人T细胞淋巴瘤/白血病(ATL)、退行性大细胞淋巴瘤(ALCL)(例如CD30+、T-和裸细胞类型)、退行性大细胞淋巴瘤和霍奇金氏淋巴瘤)。在一些实施方案中,淋巴瘤为霍奇金氏病或非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)。例如,霍奇金氏病可为淋巴球占优势、结节性硬化型、混合细胞性、淋巴球缺失和/或富含淋巴球。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过淋巴内注射至具有淋巴肿瘤的淋巴结中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接淋巴内注射至淋巴肿瘤中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接注射至淋巴肿瘤的转移部位中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过淋巴内注射至靠近淋巴肿瘤的组织中来实施。

[0177] 在一些实施方案中,根据上述方法中的任一者,实体或淋巴肿瘤为间皮瘤。在一些实施方案中,间皮瘤为胸膜间皮瘤、腹膜间皮瘤、心包间皮瘤或影响覆盖其他器官之间皮组织之间皮瘤。在一些实施方案中,间皮瘤为良性间皮瘤或恶性间皮瘤。在一些实施方案中,间皮瘤为上皮间皮瘤、肉瘤样间皮瘤、二相性间皮瘤或乳头状间皮瘤。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过注射至具

有间皮瘤之间皮组织中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接注射至间皮瘤中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接注射至间皮瘤的转移部位中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过注射至靠近间皮瘤之间皮组织中来实施。

[0178] 在一些实施方案中,根据上述方法中的任一者,实体或淋巴瘤为脑瘤。在一些实施方案中,脑瘤为原发性脑瘤或继发性(或转移性)脑瘤。在一些实施方案中,脑瘤为神经胶质瘤(例如星细胞瘤、寡树突神经胶细胞瘤、或室管膜瘤)、脑脊髓膜瘤、神经鞘瘤、颅咽管瘤、生殖细胞瘤或松果体区肿瘤。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过注射至具有脑瘤的脑组织中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接注射至脑瘤中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接注射至脑瘤的转移部位中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过注射至靠近脑瘤的脑组织中来实施。

[0179] 在一些实施方案中,根据上述方法中的任一者,实体或淋巴瘤为胆囊和胆管肿瘤。在一些实施方案中,胆囊和胆管肿瘤为癌、腺癌、胆道癌、乳头状肿瘤、小细胞(神经内分泌)癌、腺鳞状癌或横纹肌肉瘤。在一些实施方案中,胆囊和胆管肿瘤为胆囊癌、肝外胆管癌或肝内胆管癌。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过注射至具有胆囊和胆管肿瘤的胆囊或胆管组织中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接注射至胆囊和胆管肿瘤中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接注射至胆囊和胆管肿瘤的转移部位中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过注射至靠近胆囊和胆管肿瘤的胆囊或胆管组织中来实施。

[0180] 在一些实施方案中,根据上述方法中的任一者,实体或淋巴瘤为软组织肉瘤。在一些实施方案中,软组织肉瘤为成人纤维肉瘤、肺泡软部肉肉瘤、血管肉瘤、明亮细胞肉瘤、促结缔组织增生性小圆细胞瘤、上皮样肉瘤、纤维黏液样肉瘤、脂肪肉瘤、恶性间叶瘤、恶性周围神经鞘瘤(例如,神经纤维肉瘤、恶性神经鞘瘤或神经性肉瘤)、黏液性纤维肉瘤、滑膜肉瘤、未分化多形性肉瘤、皮肤纤维肉瘤凸起、纤维瘤病、血管内皮瘤、婴儿型纤维肉瘤、单发性纤维瘤、弹力纤维瘤、纤维瘤、纤维组织细胞瘤、血管球肿瘤、粒细胞肿瘤、血管瘤、蛰伏脂肪瘤、脂肪瘤、平滑肌瘤、平滑肌瘤、脂胚细胞瘤、淋巴管瘤、黏液瘤、神经纤维瘤、神经瘤、PEComa、横纹肌瘤、神经鞘瘤、腱鞘滑膜巨细胞瘤、梭形细胞肿瘤或软组织的肿瘤样病况。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过注射至具有软组织肉瘤的组织中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接注射至软组织肉瘤中来实施。

[0181] 在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接注射至软组织肉瘤的转移部位中来实施。在一些实施方案中,感染

剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过注射至靠近软组织肉瘤的组织中来实施。在一些实施方案中,根据上述方法中的任一者,实体或淋巴肿瘤为子宫肿瘤。在一些实施方案中,子宫肿瘤为子宫癌、子宫肉瘤(例如子宫内膜基质肉瘤、未分化肉瘤或子宫平滑肌肉瘤)或子宫癌肉瘤(例如恶性混合型中胚层肿瘤或恶性混合型穆勒氏肿瘤)。在一些实施方案中,子宫肿瘤为类纤维瘤肿瘤,例如平滑肌瘤、腺纤维瘤或腺肌瘤。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过子宫内注射至具有子宫肿瘤的子宫组织中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接子宫内注射至子宫肿瘤中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接注射至子宫肿瘤的转移部位中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过子宫内注射至靠近子宫肿瘤的子宫组织中来实施。

[0182] 在一些实施方案中,根据上述方法中的任一者,实体或淋巴肿瘤为子宫颈肿瘤。在一些实施方案中,子宫颈肿瘤为鳞状细胞癌、腺癌或腺鳞状癌。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过子宫颈内注射至具有子宫颈肿瘤的子宫颈组织中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接子宫颈内注射至子宫颈肿瘤中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接注射至子宫颈肿瘤的转移部位中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过子宫颈内注射至靠近子宫颈肿瘤的子宫颈组织中来实施。

[0183] 在一些实施方案中,根据上述方法中的任一者,实体或淋巴肿瘤为甲状腺肿瘤。在一些实施方案中,甲状腺肿瘤为未分化甲状腺肿瘤(例如乳头状癌、滤泡癌或许特莱氏细胞癌(Hurthle cell carcinoma))、髓质甲状腺癌、退行性癌、甲状腺淋巴瘤、甲状腺肉瘤或副甲状腺肿瘤。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过注射至具有甲状腺肿瘤的甲状腺组织中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接注射至甲状腺肿瘤中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接注射至甲状腺肿瘤的转移部位中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过注射至靠近甲状腺肿瘤的甲状腺组织中来实施。

[0184] 在一些实施方案中,根据上述方法中的任一者,实体或淋巴肿瘤为鼻咽癌。在一些实施方案中,鼻咽癌为角化鳞状细胞癌、非角化分化癌或未分化癌(例如,淋巴上皮瘤)、口腔和口咽肿瘤、鼻腔和鼻旁窦肿瘤或唾液腺肿瘤。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过注射至具有鼻咽癌的鼻咽组织中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接注射至鼻咽癌中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理组合物的施用是通过直接注射至鼻咽癌的转移部位中来实施。在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或预处理

组合物的施用是通过注射至靠近鼻咽癌的鼻咽组织中来实施。

[0185] 在一些实施方案中,个体为人类个体。在一些实施方案中,针对实体或淋巴瘤进行治疗的个体被鉴别为患有的一种或多种本文所述病况。由熟练医师的如本文所述病况的鉴别在业内常见(例如经由血液检查、X射线、音声、CT扫描、PET扫描、PET/CT扫描、MRI扫描、PET/MRI扫描、核医学放射性同位素扫描、内视镜检法、生检、血管造影、CT-血管造影等),并且也可因(例如)肿瘤生长、出血、溃疡、疼痛、扩大的淋巴结、咳嗽、黄疸、肿胀、体重减轻、恶病质、出汗、贫血、副肿瘤现象、血栓形成等由个体或其他人怀疑。在一些实施方案中,基于熟习此项技术者所了解的多种风险因素和/或诊断方法中的任一者或多者(包括但不限于基因解析、家族史、病历(例如,相关病况的外观和病毒感染史)、生活方式或习惯)选择个体用于本文所述治疗方法中的任一者。

[0186] 在一些实施方案中,基于一个或多个生物标记(包括但不限于免疫检查点分子、共刺激分子、细胞介素、趋化介素、其他免疫相关分子和HLA-II类抗原)的表达程度选自个体用于本文所述治疗方法中的任一者。在一些实施方案中,基于一种或多种抑制性免疫检查点分子(包括但不限于CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、TIM3、B7-H3、B7-H4、LAG-3、KIR、2B4、以及它们的配体)的表达程度(例如,高表达程度)选择个体用于治疗。在一些实施方案中,基于一种或多种刺激性免疫检查点分子或共刺激分子(包括但不限于OX40、4-1BB、CD40、以及它们的配体)的表达程度(例如,低表达程度)选择个体用于治疗方法。在一些实施方案中,基于肿瘤(例如肿瘤内的肿瘤细胞和/或免疫细胞)中的一个或多个选自由下列组成的组的生物标记的表达程度(例如,高表达程度)选择个体用于治疗:PD-1、PD-L1和PD-L2。在一些实施方案中,基于一个或多个选自由下列组成的组的生物标记的表达程度(例如,高表达程度)选择个体用于治疗:肿瘤源成熟树突细胞中的CD80、CD83、CD86和HLA-II类抗原。在一些实施方案中,基于一个或多个选自由下列组成的组的生物标记的表达程度(例如,高表达程度)选择个体用于治疗: CXCL9、CXCL10、CXCL11、CCR7、CCL5、CCL8、SOD2、MT2A、OASL、GBP1、HES4、MTIB、MTIE、MTIG、MTIH、GADD45A、LAMP3和miR-155。

[0187] 在一些实施方案中,个体具有一种或多种抑制性免疫检查点分子的高表达。在一些实施方案中,个体具有一种或多种刺激性免疫检查点分子和/或共刺激分子的低表达。在一些实施方案中,个体在肿瘤(例如肿瘤内的肿瘤细胞和/或免疫细胞)中具有一个或多个选自由下列组成的组的生物标记的高表达:PD-1、PD-L1和PD-L2。在一些实施方案中,PD-L1和PD-L2可互换作用于选择患者的生物标记或用作用于抑制PD-1的配体。在一些实施方案中,个体具有一个或多个选自由下列组成的组的生物标记的高表达:肿瘤源成熟树突细胞中的CD80、CD83、CD86和HLA-II类抗原。示例性HLA-II类抗原包括但不限于在实体或淋巴瘤肿瘤中表达的肿瘤特异性抗原和肿瘤相关性抗原,例如对于前列腺肿瘤为PSA、对于HCC为 $\alpha$ 胎儿蛋白、对于腺癌为CEA。在一些实施方案中,个体具有一个或多个选自由下列组成的组的生物标记的高表达: CXCL9、CXCL10、CXCL11、CCR7、CCL5、CCL8、SOD2、MT2A、OASL、GBP1、HES4、MTIB、MTIE、MTIG、MTIH、GADD45A、LAMP3和miR-155。在一些实施方案中,该方法还包括评价个体中的一种或多种生物标记的表达程度。在一些实施方案中,基于一个或多个生物标记的表达程度调节该方法。

[0188] 可于核酸水平(例如,基因拷贝数、DNA甲基化或染色质重建模水准、mRNA水平)、或蛋白质水平(包括蛋白质的转译后修饰水平,例如对应于生物标记的蛋白质的磷酸化水平)

下测量生物标记的表达程度。可使用业内已知的方法中的任一者测定表达程度。例如,测定生物标记的mRNA表达程度的适宜方法包括但不限于反转录聚合酶链式反应(RT-PCR)、定量PCR、微数组和RNA测序。例如,测定生物标记的蛋白质表达程度的适宜方法包括但不限于免疫组织化学、西方墨点法和质谱方法。

[0189] 可使用个体的新鲜或存档的试样(包括但不限于实体或淋巴瘤组织、毗邻实体或淋巴瘤组织的正常组织、实体或淋巴瘤组织远程的正常组织或未梢血淋巴球)测定生物标记的表达程度。在一些实施方案中,试样为实体或淋巴瘤组织。在一些实施方案中,试样为含有肿瘤细胞的生检,例如肿瘤细胞的细针抽吸。在一些实施方案中,在分析之前,将生检的细胞离心成团块,固定并包埋于石蜡中。在一些实施方案中,在分析之前,急冻生检的细胞。在一些实施方案中,试样为体液,例如血样或血浆试样。在一些实施方案中,试样包括循环转移癌细胞。在一些实施方案中,通过自血液分选循环肿瘤细胞(CTC)获得试样。

[0190] 在一些实施方案中,使用个体的试样测定个体的特异性细胞群体中的一个或多个生物标记的表达程度。在一些实施方案中,试样包括分离自或源自实体或淋巴瘤的免疫细胞。生物标记表达测定有关的示例性免疫细胞包括但不限于树突细胞(例如不成熟或成熟树突细胞)、B细胞、T细胞(例如Th1细胞、Th2细胞、Th17细胞、NK T细胞、Treg细胞等)、天然杀伤(NK)细胞、单核球、巨噬细胞、嗜中性球、以及它们的组合。在一些实施方案中,试样包括肿瘤浸润淋巴球。在一些实施方案中,试样包括肿瘤源成熟树突细胞。特异性细胞群体可基于细胞群体中的特异性细胞表面分子的表达使用业内已知的方法(例如流式细胞术方法)自试样(例如肿瘤样品(例如,肿瘤生检或切除术)或体液(例如,血样))分离。

[0191] 与业内已知的生物标记的标准表达程度(例如,标准化测试中临床上接受的正常程度)相比或与对照试样中的生物标记的表达程度相比,生物标记的高或低表达程度测定。在一些实施方案中,将个体中生物标记的表达程度与多个对照试样中生物标记的表达程度进行比较。在一些实施方案中,使用多个对照试样以生成统计,其用于将具有实体或淋巴瘤的个体中生物标记的含量进行分类。对照试样可自与非对照试样相同来源(例如,个体和组织)以及方法获得。在一些实施方案中,对照试样为自不同个体(例如无实体或淋巴瘤的个体;具有良性或未及晚期形式的实体或淋巴瘤的个体;和/或共有类似族群、年龄和性别的个体)获得。在一些实施方案中,对照试样为经测定为适当对照的经培养的组织或细胞。在其中试样为实体或淋巴瘤组织试样的一些实施方案中,对照试样可为来自同一个体的非癌性试样。在一些实施方案中,使用多个对照试样(例如来自不同个体)以测定特定组织、器官或细胞群体中的生物标记的含量范围。在一些实施方案中,根据评分系统(例如基于免疫组织化学的评分系统),将个体的试样中的生物标记的表达程度分类为高、中等或低。在一些实施方案中,与对照试样相比,生物标记的高表达为个体的试样中的生物标记的表达程度的至少以下中的约任一者:1.5倍、2倍、3倍、5倍、10倍、20倍、50倍、100倍、200倍、500倍、1000倍或更多。在一些实施方案中,与对照试样相比,生物标记的低表达为个体的试样中的生物标记的表达程度的不超过以下中的约任一者:90%、80%、70%、60%、50%、40%、30%、20%、10%、5%、1%、0.1%、0.01%、0.001%或更少。在一些实施方案中,(例如)使用统计模型组合两个或更多个生物标记的表达程度以测定表达评分,用于选择或推荐个体用于治疗。

**[0192] 通过膀胱内施用治疗膀胱癌的方法**

[0193] 本专利申请的一个方面涉及膀胱癌的治疗。在此背景下,感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)的局部施用可涵盖一种或两种组分的膀胱内施用。本文所述方法中的任一者皆可用于抑制膀胱肿瘤生长、抑制膀胱肿瘤转移、延长具有膀胱癌的个体的存活(例如无疾病存活)、引起具有膀胱癌的个体的疾病缓解、和/或改善具有膀胱癌的个体的生活质量。

[0194] 在一些实施方案中,提供治疗个体的膀胱癌的方法,该方法包括:a)膀胱内施用有效量的感染剂;以及b)膀胱内施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,感染剂为病毒,例如选自由下列组成的组的病毒:腺病毒、单纯疱疹病毒、牛痘病毒、腮腺炎病毒、新城鸡瘟病毒、脊髓灰质炎病毒、麻疹病毒、塞尼卡谷病毒、柯萨奇病毒、里奥病毒、水疱性口炎病毒、马拉巴和棒状病毒、以及小病毒。在一些实施方案中,感染剂为细菌,例如分枝杆菌及其衍生物(例如,卡介苗(“BCG”)、或分枝杆菌细胞壁-DNA复合物(“MCNA”或“MCC”,例如UROCIDIN™)或单核球增多性李氏菌。在一些实施方案中,感染剂为野生型感染剂。在一些实施方案中,感染剂经遗传修饰。在一些实施方案中,感染剂经减毒(例如经由多次传代、不活化或遗传修饰)。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点抑制剂。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫刺激剂。在一些实施方案中,方法包括局部施用免疫调节剂的组合,其包括一种或多种免疫检查点抑制剂和/或一种或多种免疫刺激剂(例如至少两种免疫检查点抑制剂、至少两种免疫刺激剂或至少一种免疫检查点抑制剂和至少一种免疫刺激剂的组合)。在一些实施方案中,每周施用感染剂。在一些实施方案中,每周施用免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,该方法还包括通过膀胱内施用除外的施用途径施用感染剂和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。

[0195] 在一些实施方案中,提供治疗个体的膀胱癌的方法,该方法包括:a)膀胱内施用有效量的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒);以及b)膀胱内施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,溶瘤病毒为野生型溶瘤病毒。在一些实施方案中,溶瘤病毒经遗传修饰。在一些实施方案中,溶瘤病毒经减毒(例如经由多次传代、不活化或遗传修饰)。在一些实施方案中,溶瘤病毒胜任复制。在一些实施方案中,溶瘤病毒优先在癌细胞中复制。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点抑制剂。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫刺激剂。在一些实施方案中,方法包括局部施用免疫调节剂的组合,其包括一种或多种免疫检查点抑制剂和/或一种或多种免疫刺激剂(例如至少两种免疫检查点抑制剂、至少两种免疫刺激剂或至少一种免疫检查点抑制剂和至少一种免疫刺激剂的组合)。在一些实施方案中,每周施用溶瘤病毒。在一些实施方案中,每周施用免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,该方法还包括通过膀胱内施用除外的施用途径施用溶瘤病毒和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。

[0196] 在一些实施方案中,提供治疗个体的膀胱癌的方法,该方法包括:a)膀胱内施用有效量的包括病毒载体的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒),该病毒载体包括可操作连接至病毒复制所必需的病毒基因的肿瘤细胞特异性启动子;以及b)膀胱内施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点抑制剂。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫刺激剂。在一些实施方案中,方法包括局部施用免疫调节剂的组合,其包括一种或多种免疫检查点抑制剂和/或一种或多种免疫刺激剂(例如至少两种免

疫检查点抑制剂、至少两种免疫刺激剂或至少一种免疫检查点抑制剂和至少一种免疫刺激剂的组合)。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为E2F-1启动子,例如人类E2F-1启动子或包括SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。在一些实施方案中,病毒复制所必需的病毒基因选自由下列组成的组:E1A、E1B和E4。在一些实施方案中,每周施用溶瘤病毒。在一些实施方案中,每周施用免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,该方法还包括通过膀胱内施用除外的施用途径施用溶瘤病毒和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。

[0197] 在一些实施方案中,提供治疗个体的膀胱癌的方法,该方法包括:a)膀胱内施用有效量的包括病毒载体的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒),该病毒载体包括可操作连接至病毒复制所必需的病毒基因的肿瘤细胞特异性启动子和编码可操作连接至病毒启动子的细胞介素的核酸;以及b)膀胱内施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点抑制剂。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫刺激剂。在一些实施方案中,方法包括局部施用免疫调节剂的组合,其包括一种或多种免疫检查点抑制剂和/或一种或多种免疫刺激剂(例如至少两种免疫检查点抑制剂、至少两种免疫刺激剂或至少一种免疫检查点抑制剂和至少一种免疫刺激剂的组合)。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为E2F-1启动子,例如人类E2F-1启动子或包括SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。在一些实施方案中,病毒复制所必需的病毒基因选自由下列组成的组:E1A、E1B和E4。在一些实施方案中,可操作连接至编码细胞介素的核酸的病毒启动子为E3启动子。在一些实施方案中,细胞介素为GM-CSF。在一些实施方案中,每周施用溶瘤病毒。在一些实施方案中,每周施用免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,该方法还包括通过膀胱内施用除外的施用途径施用溶瘤病毒和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。

[0198] 在一些实施方案中,提供治疗个体的膀胱癌的方法,该方法包括:a)膀胱内施用有效量的腺病毒血清型5,其中天然腺病毒的内源性E1a启动子和E3 19kD编码区经人类E2F-1启动子和编码免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素)的核酸置换;以及b)膀胱内施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点抑制剂。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫刺激剂。在一些实施方案中,方法包括局部施用免疫调节剂的组合,其包括一种或多种免疫检查点抑制剂和/或一种或多种免疫刺激剂(例如至少两种免疫检查点抑制剂、至少两种免疫刺激剂或至少一种免疫检查点抑制剂和至少一种免疫刺激剂的组合)。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为人类E2F-1启动子或包括SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。在一些实施方案中,每周施用腺病毒。在一些实施方案中,每周施用免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,该方法还包括通过膀胱内施用除外的施用途径施用腺病毒和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。

[0199] 在一些实施方案中,提供治疗个体的膀胱癌的方法,该方法包括:a)膀胱内施用有效量的CG0070;以及b)膀胱内施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点抑制剂。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫刺激剂。在一些实施方案中,方法包括局部施用免疫调节剂的组合,其包括一种或多种免疫检查点抑制剂和/或一种或多种免疫刺激剂(例如至少两种免疫检查点抑制剂、至少两种免疫刺

激剂或至少一种免疫检查点抑制剂和至少一种免疫刺激剂的组合)。在一些实施方案中,每周施用CG0070。在一些实施方案中,每周施用免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,该方法还包括通过膀胱内施用除外的施用途径施用CG0070和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。

[0200] 本文所述方法可用于治疗多种膀胱癌病况。在一些实施方案中,膀胱癌为低级膀胱癌。在一些实施方案中,膀胱癌为高级膀胱癌。在一些实施方案中,膀胱癌为肌肉侵袭性(例如,T2、T3或T4)。在一些实施方案中,膀胱癌为非侵袭性(例如,Ta、T1Cis、Cis与Ta和/或T1)。

[0201] 在一些实施方案中,膀胱癌为移行细胞癌或尿路上皮癌(例如转移性尿路上皮癌),包括但不限于乳头状肿瘤和扁平癌。在一些实施方案中,膀胱癌为转移性尿路上皮癌。在一些实施方案中,膀胱癌为膀胱的尿路上皮癌。在一些实施方案中,膀胱癌为输尿管的尿路上皮癌。在一些实施方案中,膀胱癌为尿道的尿路上皮癌。在一些实施方案中,膀胱癌为肾盂的尿路上皮癌。

[0202] 在一些实施方案中,膀胱癌为鳞状细胞癌。在一些实施方案中,膀胱癌为非鳞状细胞癌。在一些实施方案中,膀胱癌为腺癌。在一些实施方案中,膀胱癌为小细胞癌。

[0203] 在一些实施方案中,膀胱癌为早期阶段膀胱癌、非转移性膀胱癌、非侵袭性膀胱癌、非肌肉侵袭性膀胱癌、原发性膀胱癌、晚期膀胱癌、局部晚期膀胱癌(例如不可切除的局部晚期膀胱癌)、转移性膀胱癌或缓解的膀胱癌。在一些实施方案中,膀胱癌为局部可切除、局部不可切除或不可切除的。在一些实施方案中,膀胱癌为对于标准膀胱内输注(膀胱内)疗法难治的高级非肌肉侵袭性癌症。

[0204] 本文提供的方法可用于治疗经诊断患有或怀疑患有膀胱癌的个体(例如,人类)。在一些实施方案中,个体经历肿瘤切除术。在一些实施方案中,个体拒绝手术。在一些实施方案中,个体为医学上不可操作的。在一些实施方案中,个体处于Ta、Tis、T1、T2、T3a、T3b或T4膀胱癌的临床阶段。在一些实施方案中,个体处于Tis、CIS、Ta或T1的临床阶段。

[0205] 在一些实施方案中,个体先前针对膀胱癌进行治疗(还称为“先前疗法”)。在一些实施方案中,个体先前经膀胱癌的标准疗法治疗。在一些实施方案中,先前标准疗法为利用BCG治疗。在一些实施方案中,先前标准疗法为利用丝裂霉素C治疗。在一些实施方案中,先前标准疗法为利用干扰素(例如干扰素- $\alpha$ )治疗。在一些实施方案中,个体具有缓解的膀胱癌、进行性膀胱癌或复发的膀胱癌。在一些实施方案中,个体对利用其他试剂(例如基于铂的试剂、BCG、丝裂霉素C和/或干扰素)的膀胱癌治疗具有抗性。在一些实施方案中,个体最初对利用其他试剂(例如基于铂的试剂或BCG)的膀胱癌治疗有反应,但在治疗后进展。

[0206] 在一些实施方案中,在先前疗法(例如先前标准疗法,例如利用BCG的治疗)之后,个体具有复发的膀胱癌(例如处于Ta、Tis、T1、T2、T3a、T3b或T4的临床阶段的膀胱癌)。例如,个体可最初对利用先前疗法的治疗有反应,但在停止先前疗法后约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、24、36、48或60个月中的约任一者后发生膀胱癌。

[0207] 本文所述免疫调节剂(包括免疫刺激剂和免疫检查点抑制剂)中的任一者皆可用于组合疗法中用于膀胱内施用。免疫调节剂可为业内已知的分子模态中的任一者,包括但不限于适配体、mRNA、siRNA、微小RNA、shRNA、肽、抗体、抗运载蛋白、球形核酸、TALEN、锌指核酸酶、CRISPR/Cas9和小分子。

[0208] 在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫刺激剂。在一些实施方案中,免疫刺激剂为免疫刺激分子的天然或经改造的配体,包括(例如)OX40的配体(例如,OX40L)、CD-28的配体(例如,CD80、CD86)、ICOS的配体(例如,B7RP1)、4-1BB的配体(例如,4-1BBL、Ultra4-1BBL)、CD27的配体(例如,CD70)、CD40的配体(例如,CD40L)和TCR的配体(例如,MHC I类或II类分子、IMCgp100)。在一些实施方案中,免疫刺激剂为选自由下列组成的组的抗体:抗CD28(例如,TGN-1412)、抗OX40(例如,MEDI6469、MEDI-0562)、抗ICOS(例如,MEDI-570)、抗GITR(例如,TRX518、INBRX-110、NOV-120301)、抗41-BB(例如,BMS-663513、PF-05082566)、抗CD27(例如,BION-1402、瓦利路单抗和hCD27.15)、抗CD40(例如,CP870,893、BI-655064、BMS-986090、APX005、APX005M)、抗CD3(例如,布利莫单抗、莫罗单抗)和抗HVEM。在一些实施方案中,抗体为激动性抗体。在一些实施方案中,抗体为单株抗体。在一些实施方案中,抗体为选自由下列组成的组的抗原结合片段:全长抗体的Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、scFv以及其他抗原结合子序列。在一些实施方案中,抗体为人类、人类化或嵌合抗体。在一些实施方案中,抗体为双特异性抗体、多特异性抗体、单一结构域抗体、包括抗体部分的融合蛋白、或其任何其他功能变体或衍生物。

[0209] 在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点抑制剂。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂为抑制性免疫检查点分子的天然或经改造的配体,包括(例如)CTLA-4的配体(例如,B7.1、B7.2)、TIM3的配体(例如,半乳凝素-9)、A2a受体的配体(例如,腺苷、Regadenoson)、LAG3的配体(例如,MHC I类或MHC II类分子)、BTLA的配体(例如,HVEM、B7-H4)、KIR的配体(例如,MHC I类或MHC II类分子)、PD-1的配体(例如,PD-L1、PD-L2)、IDO的配体(例如,NKTR-218、吡啶西莫、NLG919)和CD47的配体(例如,SIRP- $\alpha$ 受体)。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂为靶向抑制性免疫检查点蛋白的抗体。在一些实施方案中,免疫调节剂为选自由下列组成的组的抗体:抗CTLA-4(例如,伊匹单抗、曲美目单抗、KAHR-102)、抗TIM3(例如,F38-2E2、ENUM005)、抗LAG3(例如,BMS-986016、IMP701、IMP321、C9B7W)、抗KIR(例如,利利单抗和IPH2101)、抗PD-1(例如,尼沃鲁单抗、匹利珠单抗、派姆单抗、BMS-936559、阿替珠单抗、兰布鲁珠单抗、MK-3475、AMP-224、AMP-514、STI-A1110、TSR-042)、抗PD-L1(例如,KY-1003(EP20120194977)、MCLA-145、RG7446、BMS-936559、MEDI-4736、MSB0010718C、AUR-012、STI-A1010、PCT/US2001/020964、MPDL3280A、AMP-224、达匹珠单抗(CDP-7657)、MEDI-4920)、抗CD73(例如,AR-42(OSU-HDAC42、HDAC-42、AR42、AR 42、OSU-HDAC 42、OSU-HDAC-42、NSC D736012、HDAC-42、HDAC 42、HDAC42、NSCD736012、NSC-D736012)、MEDI-9447)、抗B7-H3(例如,MGA271、DS-5573a、8H9)、抗CD47(例如,CC-90002、TTI-621、VLST-007)、抗BTLA、抗VISTA、抗A2aR、抗B7-1、抗B7-H4、抗CD52(例如阿伦单抗)、抗IL-10、抗IL-35和抗TGF- $\beta$ (例如夫苏木单抗)。在一些实施方案中,抗体为拮抗性抗体。在一些实施方案中,抗体为单株抗体。在一些实施方案中,抗体为单株抗体。在一些实施方案中,抗体为选自由下列组成的组的抗原结合片段:全长抗体的Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、scFv以及其他抗原结合子序列。在一些实施方案中,抗体为人类、人类化或嵌合抗体。在一些实施方案中,抗体为双特异性抗体、多特异性抗体、单一结构域抗体、包括抗体部分的融合蛋白、或其任何其他功能变体或衍生物。

[0210] 在一些实施方案中,该方法包括膀胱内施用单一免疫调节剂。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点抑制剂。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫刺激剂。

[0211] 在一些实施方案中,该方法包括膀胱内施用至少两种(例如2、3、4、5、6或更多中的任一者)免疫调节剂。在一些实施方案中,全部或部分至少两种免疫调节剂是在(例如)单一组合物中同时施用。在一些实施方案中,全部或部分至少两种免疫调节剂是依序施用。在一些实施方案中,该方法包括膀胱内施用包括免疫检查点抑制剂和免疫刺激剂的免疫调节剂的组合。在一些实施方案中,该方法包括膀胱内施用包括两种或更多种(例如2、3、4、5、6或更多中的任一者)检查点抑制剂的免疫调节剂的组合。在一些实施方案中,该方法包括膀胱内施用包括两种或更多种(例如2、3、4、5、6或更多中的任一者)免疫刺激剂的免疫调节剂的组合。在一些实施方案中,该方法包括膀胱内施用包括任一数目(例如1、2、3、4、5、6或更多中的任一者)的免疫检查点抑制剂和任一数目(例如2、3、4、5、6或更多中的任一者)的免疫刺激剂的免疫调节剂的组合。例如,在一些实施方案中,该方法包括:a)向该肿瘤部位膀胱内施用有效量的感染剂(例如病毒,例如溶瘤病毒);以及b)向个体膀胱内施用有效量的第一免疫调节剂(例如免疫检查点抑制剂);以及c)向该肿瘤部位膀胱内施用有效量的第二免疫调节剂(例如免疫刺激剂)。在一些实施方案中,该方法包括膀胱内施用CTLA-4抑制剂(例如抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)、或经改造的脂质运载蛋白(例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白))和CD40激动剂(例如激动性抗CD40抗体,例如APX005M)。在一些实施方案中,该方法包括膀胱内施用CTLA-4抑制剂(例如抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)、或经改造的脂质运载蛋白(例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白))和4-1BB激动剂(例如激动性抗4-1BB抗体,例如PF-05082566)。

[0212] 因此,例如,在一些实施方案中,提供治疗个体的膀胱癌的方法,该方法包括:a)膀胱内施用有效量的感染剂;以及b)膀胱内施用有效量的CTLA-4的抑制剂(例如抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)或经改造的脂质运载蛋白(例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白))。在一些实施方案中,感染剂为非溶瘤病毒。在一些实施方案中,感染剂为溶瘤病毒。在一些实施方案中,感染剂为野生型感染剂。在一些实施方案中,感染剂经遗传修饰。在一些实施方案中,感染剂经减毒(例如经由多次传代、不活化或遗传修饰)。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为经改造的脂质运载蛋白,例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白。在一些实施方案中,该方法还包括膀胱内施用第二免疫调节剂,例如免疫刺激剂(例如,CD40活化剂或4-1BB活化剂)。在一些实施方案中,每周施用感染剂。在一些实施方案中,每周施用CTLA-4的抑制剂。在一些实施方案中,依序施用感染剂和CTLA-4的抑制剂。在一些实施方案中,在施用CTLA-4的抑制剂之前(例如在即将施用之前)施用感染剂。在一些实施方案中,在施用CTLA-4的抑制剂之后(例如在施用后立刻)施用感染剂。在一些实施方案中,同时施用感染剂和CTLA-4的抑制剂(例如在单一组合物中)。在一些实施方案中,该方法还包括通过膀胱内施用除外的施用途径施用感染剂和/或CTLA-4的抑制剂。

[0213] 例如,在一些实施方案中,提供治疗个体的膀胱癌的方法,其包含:a)膀胱内施用有效量的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒);以及b)膀胱内施用有效量的CTLA-4的抑制剂(例如抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)或经改造的脂质运载蛋白(例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白))。

[0214] 在一些实施方案中,提供治疗个体的膀胱癌的方法,该方法包括:a)膀胱内施用有效量的包括病毒载体的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒),该病毒载体包括可操作连接至病毒复

制所必需的病毒基因的肿瘤细胞特异性启动子;以及b)膀胱内施用有效量的CTLA-4的抑制剂(例如抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)或经改造的脂质运载蛋白(例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白))。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为E2F-1启动子,例如人类E2F-1启动子或包括SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。在一些实施方案中,病毒复制所必需的病毒基因选自由下列组成的组:E1A、E1B和E4。

[0215] 在一些实施方案中,提供治疗个体的膀胱癌的方法,该方法包括:a)膀胱内施用有效量的包括病毒载体的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒),该病毒载体包括可操作连接至病毒复制所必需的病毒基因的肿瘤细胞特异性启动子和编码可操作连接至病毒启动子的免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素)的核酸;以及b)膀胱内施用有效量的CTLA-4的抑制剂(例如抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)或经改造的脂质运载蛋白(例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白))。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为E2F-1启动子,例如人类E2F-1启动子或包含SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。在一些实施方案中,病毒复制所必需的病毒基因选自由下列组成的组:E1A、E1B和E4。在一些实施方案中,可操作连接至编码免疫相关分子的核酸的病毒启动子为E3启动子。在一些实施方案中,免疫相关分子为GM-CSF。

[0216] 在一些实施方案中,提供治疗个体的膀胱癌的方法,该方法包括:a)膀胱内施用有效量的腺病毒血清型5,其中天然腺病毒的内源性E1a启动子和E3 19kD编码区经人类E2F-1启动子和编码免疫相关分子(例如细胞介素、趋化介素,例如GM-CSF)的核酸置换;以及b)膀胱内施用有效量的CTLA-4的抑制剂(例如抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)或经改造的脂质运载蛋白(例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白))。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为人类E2F-1启动子或包括SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。

[0217] 在一些实施方案中,提供治疗个体的膀胱癌的方法,该方法包括:a)膀胱内施用有效量的CG0070;以及b)膀胱内施用有效量的CTLA-4的抑制剂(例如抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)或经改造的脂质运载蛋白(例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白))。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为经改造的脂质运载蛋白,例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白。在一些实施方案中,每周施用CG0070。在一些实施方案中,每周施用CTLA-4的抑制剂。在一些实施方案中,依序施用CG0070和CTLA-4的抑制剂。在一些实施方案中,在施用CTLA-4的抑制剂之前(例如在即将施用之前)施用CG0070。在一些实施方案中,在施用CTLA-4的抑制剂之后(例如在施用后立刻)施用CG0070。在一些实施方案中,同时施用CG0070和CTLA-4的抑制剂(例如在单一组合物中)。在一些实施方案中,该方法还包括通过膀胱内施用除外的施用途径施用CG0070和/或CTLA-4的抑制剂。

[0218] 在一些实施方案中,提供治疗个体的膀胱癌(例如肌肉侵袭性膀胱癌)的方法,该方法包括:a)膀胱内施用有效量的CG0070;以及b)膀胱内施用有效量的CTLA-4的抑制剂(例如抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)或经改造的脂质运载蛋白(例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白)),其中CG0070的有效量为每周约 $1 \times 10^{12}$ 个病毒颗粒(vp),其中CTLA-4的抑制剂的有效量为约0.1mg/Kg,但每周每个剂量总共不超过20mg。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)(例如, YERVOY<sup>®</sup>)。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为经改造的脂质运载蛋白,例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白。在一些实施方案中,

该方法还包括预处理,该预处理包括在施用CG0070之前(例如在即将施用之前或在施用之前不早于2小时)膀胱内施用有效量的转导增强剂。在一些实施方案中,转导增强剂为DDM。在一些实施方案中,在约四周内施用CG0070。在一些实施方案中,在约三周内、例如在CG0070施用的四周过程的2、3和4周中施用CTLA-4的抑制剂。在一些实施方案中,在施用CG0070后立刻(例如,在施用后不超过5分钟)施用CTLA-4的抑制剂。在一些实施方案中,个体进一步接受膀胱切除术或盆腔淋巴结切除术。在一些实施方案中,肌肉侵袭性膀胱癌为移行细胞(即尿路)膀胱癌。在一些实施方案中,根据美国癌症联合委员会(AJCC)标准,MIBC为T2-4a、Nx-1、M0阶段。

[0219] 在一些实施方案中,提供治疗个体的膀胱癌(例如肌肉侵袭性膀胱癌)的方法,该方法包括:a)膀胱内施用有效量的CG0070;以及b)膀胱内施用有效量的CTLA-4的抑制剂(例如抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)或经改造的脂质运载蛋白(例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白)),其中CG0070的有效量为每周约 $1 \times 10^{12}$ 个病毒颗粒(vp),其中CTLA-4的抑制剂的有效量为约0.2mg/Kg,但每周每个剂量总共不超过20mg。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为经改造的脂质运载蛋白,例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白。在一些实施方案中,该方法还包括预处理,该预处理包括在施用CG0070之前(例如在即将施用之前或在施用之前不早于2小时)膀胱内施用有效量的转导增强剂。在一些实施方案中,转导增强剂为DDM。在一些实施方案中,该方法还包括膀胱内施用第二免疫调节剂,例如免疫刺激剂(例如CD40活化剂或4-1BB活化剂)。在一些实施方案中,在约四周内施用CG0070。在一些实施方案中,在约三周内、例如在CG0070施用的四周过程的2、3和4周中施用CTLA-4的抑制剂。在一些实施方案中,在施用CG0070后立刻(例如,在施用后不超过5分钟)施用CTLA-4的抑制剂。在一些实施方案中,个体进一步接受膀胱切除术或盆腔淋巴结切除术。在一些实施方案中,肌肉侵袭性膀胱癌为移行细胞(即尿路)膀胱癌。在一些实施方案中,根据美国癌症联合委员会(AJCC)标准,MIBC为T2-4a、Nx-1、M0阶段。

[0220] 在一些实施方案中,提供治疗个体的膀胱癌(例如肌肉侵袭性膀胱癌)的方法,该方法包括:a)膀胱内施用有效量的CG0070;以及b)膀胱内施用有效量的CTLA-4的抑制剂(例如抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)或经改造的脂质运载蛋白(例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白)),其中CG0070的有效量为每周约 $1 \times 10^{12}$ 个病毒颗粒(vp),其中CTLA-4的抑制剂的有效量为约0.3mg/Kg,但每周每个剂量总共不超过20mg。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为经改造的脂质运载蛋白,例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白。在一些实施方案中,该方法还包括预处理,该预处理包括在施用CG0070之前(例如在即将施用之前或在施用之前不早于2小时)膀胱内施用有效量的转导增强剂。在一些实施方案中,转导增强剂为DDM。在一些实施方案中,该方法还包括膀胱内施用第二免疫调节剂,例如免疫刺激剂(例如CD40活化剂或4-1BB活化剂)。在一些实施方案中,在约四周内施用CG0070。在一些实施方案中,在约三周内、例如在CG0070施用的四周过程的2、3和4周中施用CTLA-4的抑制剂。在一些实施方案中,在施用CG0070后立刻(例如,在施用后不超过5分钟)施用CTLA-4的抑制剂。在一些实施方案中,个体进一步接受膀胱切除术或盆腔淋巴结切除术。在一些实施方案中,肌肉侵袭性膀胱癌为移行细胞(即尿路)膀胱癌。在一些实施方案中,根据美国癌症联合委员会(AJCC)标准,MIBC为T2-4a、Nx-1、M0阶段。

[0221] 在一些实施方案中,提供治疗个体的膀胱癌的方法,该方法包括:a)膀胱内施用有

效量的感染剂;以及b)膀胱内施用有效量的PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体(例如尼沃鲁单抗、派姆单抗或匹利珠单抗)或PD-1配体的Fc融合蛋白(例如AMP-224))。在一些实施方案中,感染剂为野生型感染剂。在一些实施方案中,感染剂经遗传修饰。在一些实施方案中,感染剂经减毒(例如经由多次传代、不活化或遗传修饰)。在一些实施方案中,PD-1抑制剂为抗PD-1抗体,例如尼沃鲁单抗、派姆单抗或匹利珠单抗。在一些实施方案中,PD-1抑制剂为PD-1与其配体之间的相互作用的抑制剂,例如PD-1/PD-L1相互作用的抑制剂或PD-1/PD-L2相互作用的抑制剂。在一些实施方案中,PD-1抑制剂为包括PD-1配体的Fc融合蛋白,例如PD-L2的Fc-融合物(例如,AMP-224)。在一些实施方案中,该方法还包括膀胱内施用第二免疫调节剂,例如免疫刺激剂(例如CD40活化剂或4-1BB活化剂)。在一些实施方案中,每周施用感染剂。在一些实施方案中,每周施用PD-1抑制剂。在一些实施方案中,依序施用感染剂和PD-1抑制剂。在一些实施方案中,在施用PD-1抑制剂之前(例如在即将施用之前)施用感染剂。在一些实施方案中,在施用PD-1抑制剂之后(例如在施用后立刻)施用感染剂。在一些实施方案中,同时施用感染剂和PD-1抑制剂(例如在单一组合中)。在一些实施方案中,该方法还包括通过膀胱内施用除外的施用途径施用感染剂和/或PD-1抑制剂。

[0222] 例如,在一些实施方案中,提供治疗个体的膀胱癌的方法,其包含:a)膀胱内施用有效量的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒);以及b)膀胱内施用有效量的PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体(例如尼沃鲁单抗、派姆单抗或匹利珠单抗)或PD-1配体的Fc融合蛋白(例如AMP-224))。

[0223] 在一些实施方案中,提供治疗个体的膀胱癌的方法,该方法包括:a)膀胱内施用有效量的包括病毒载体的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒),该病毒载体包括可操作连接至病毒复制所必需的病毒基因的肿瘤细胞特异性启动子;以及b)膀胱内施用有效量的PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体(例如尼沃鲁单抗、派姆单抗或匹利珠单抗)或PD-1配体的Fc融合蛋白(例如AMP-224))。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为E2F-1启动子,例如人类E2F-1启动子或包括SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。在一些实施方案中,病毒复制所必需的病毒基因选自自由下列组成的组:E1A、E1B和E4。

[0224] 在一些实施方案中,提供治疗个体的膀胱癌的方法,该方法包括:a)膀胱内施用有效量的包括病毒载体的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒),该病毒载体包括可操作连接至病毒复制所必需的病毒基因的肿瘤细胞特异性启动子和编码可操作连接至病毒启动子的免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素)的核酸;以及b)膀胱内施用有效量的PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体(例如尼沃鲁单抗、派姆单抗或匹利珠单抗)或PD-1配体的Fc融合蛋白(例如AMP-224))。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为E2F-1启动子,例如人类E2F-1启动子或包括SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。在一些实施方案中,病毒复制所必需的病毒基因选自自由下列组成的组:E1A、E1B和E4。在一些实施方案中,可操作连接至编码免疫相关分子的核酸的病毒启动子为E3启动子。在一些实施方案中,免疫相关分子为GM-CSF。

[0225] 在一些实施方案中,提供治疗个体的膀胱癌的方法,该方法包括:a)膀胱内施用有效量的腺病毒血清型5,其中天然腺病毒的内源性E1a启动子和E3 19kD编码区经人类E2F-1启动子和编码免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素,例如GM-CSF)的核酸置换;以及b)膀胱内施用有效量的PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体(例如尼沃鲁单抗、派姆单抗或匹利珠单

抗),或PD-1配体的Fc融合蛋白(例如AMP-224)。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为人类E2F-1启动子或包括SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。

[0226] 在一些实施方案中,提供治疗个体的膀胱癌的方法,该方法包括:a)膀胱内施用有效量的CG0070;以及b)膀胱内施用有效量的PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体(例如尼沃鲁单抗、派姆单抗或匹利珠单抗)或PD-1配体的Fc融合蛋白(例如AMP-224))。在一些实施方案中,PD-1抑制剂为抗PD-1抗体,例如尼沃鲁单抗、派姆单抗或匹利珠单抗。在一些实施方案中,PD-1抑制剂为PD-1与其配体之间的相互作用的抑制剂,例如PD-1/PD-L1相互作用的抑制剂或PD-1/PD-L2相互作用的抑制剂。在一些实施方案中,PD-1抑制剂为包括PD-1配体的Fc融合蛋白,例如PD-L2的Fc-融合物(例如,AMP-224)。在一些实施方案中,每周施用CG0070。在一些实施方案中,每周施用PD-1抑制剂。在一些实施方案中,依序施用CG0070和PD-1抑制剂。在一些实施方案中,在施用PD-1抑制剂之前(例如在即将施用之前)施用CG0070。在一些实施方案中,在施用PD-1抑制剂之后(例如在施用后立即)施用CG0070。在一些实施方案中,同时施用CG0070和PD-1抑制剂(例如在单一组合中)。在一些实施方案中,该方法还包括通过膀胱内施用除外的施用途径施用CG0070和/或PD-1抑制剂。

[0227] 在一些实施方案中,提供治疗个体(例如人类)的膀胱癌的方法,其包含:a)膀胱内施用有效量的感染剂;以及b)膀胱内施用有效量的PD-1配体的抑制剂(例如抗PD-L1或抗PD-L2抗体、或PD-L1和PD-L2二者的抑制剂)。在一些实施方案中,感染剂为野生型感染剂。在一些实施方案中,感染剂经遗传修饰。在一些实施方案中,感染剂经减毒(例如经由多次传代、不活化或遗传修饰)。在一些实施方案中,PD-1配体的抑制剂为抗PD-L1抗体,例如KY-1003、MCLA-145、RG7446、BMS935559、MPDL3280A、MEDI4736、阿维鲁单抗或STI-A1010。在一些实施方案中,PD-1配体的抑制剂为抗PD-L2抗体。在一些实施方案中,PD-1配体的抑制剂为PD-L1和PD-L2二者的抑制剂(例如,肽、蛋白质或小分子),例如AUR-012和AMP-224。在一些实施方案中,该方法还包括膀胱内施用第二免疫调节剂,例如免疫刺激剂(例如,CD40活化剂或4-1BB活化剂)。在一些实施方案中,每周施用感染剂。在一些实施方案中,每周施用PD-1配体的抑制剂。在一些实施方案中,依序施用感染剂和PD-1配体的抑制剂。在一些实施方案中,在施用PD-1配体的抑制剂之前(例如在即将施用之前)施用感染剂。在一些实施方案中,在施用PD-1配体的抑制剂之后(例如在施用后立即)施用感染剂。在一些实施方案中,同时施用感染剂和PD-1配体的抑制剂(例如在单一组合中)。在一些实施方案中,该方法还包括借由膀胱内施用除外的施用途径施用感染剂和/或PD-1配体的抑制剂。在一些实施方案中,PD-L1的抑制剂和PD-L2的抑制剂可互换用于本文所述治疗方法中的任一者中。

[0228] 例如,在一些实施方案中,提供治疗个体的膀胱癌的方法,其包含:a)膀胱内施用有效量的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒);以及b)膀胱内施用有效量的PD-1配体的抑制剂(例如抗PD-L1或抗PD-L2抗体、或PD-L1和PD-L2二者的抑制剂)。

[0229] 在一些实施方案中,提供治疗个体的膀胱癌的方法,该方法包括:a)膀胱内施用有效量的包括病毒载体的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒),该病毒载体包括可操作连接至病毒复制所必需的病毒基因的肿瘤细胞特异性启动子;以及b)膀胱内施用有效量的PD-1配体的抑制剂(例如抗PD-L1或抗PD-L2抗体、或PD-L1和PD-L2二者的抑制剂)。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为E2F-1启动子,例如人类E2F-1启动子或包括SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。在一些实施方案中,病毒复制所必需的病毒基因选自自由下列组成的

组:E1A、E1B和E4。

[0230] 在一些实施方案中,提供治疗个体的膀胱癌的方法,该方法包括:a)膀胱内施用有效量的包括病毒载体的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒),该病毒载体包括可操作连接至病毒复制所必需的病毒基因的肿瘤细胞特异性启动子和编码可操作连接至病毒启动子的免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素)的核酸;以及b)膀胱内施用有效量的PD-1配体的抑制剂(例如抗PD-L1或抗PD-L2抗体、或PD-L1和PD-L2二者的抑制剂)。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为E2F-1启动子,例如人类E2F-1启动子或包括SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。在一些实施方案中,病毒复制所必需的病毒基因选自由下列组成的组:E1A、E1B和E4。在一些实施方案中,可操作连接至编码免疫相关分子的核酸的病毒启动子为E3启动子。在一些实施方案中,免疫相关分子为GM-CSF。

[0231] 在一些实施方案中,提供治疗个体的膀胱癌的方法,该方法包括:a)膀胱内施用有效量的腺病毒血清型5,其中天然腺病毒的内源性E1a启动子和E3 19kD编码区经人类E2F-1启动子和编码免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素,例如GM-CSF)的核酸置换;以及b)膀胱内施用有效量的PD-1配体的抑制剂(例如抗PD-L1或抗PD-L2抗体、或PD-L1和PD-L2二者的抑制剂)。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为人类E2F-1启动子或包括SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。

[0232] 在一些实施方案中,提供治疗个体的膀胱癌的方法,该方法包括:a)膀胱内施用有效量的CG0070;以及b)膀胱内施用有效量的PD-1配体的抑制剂(例如抗PD-L1或抗PD-L2抗体、或PD-L1和PD-L2二者的抑制剂)。在一些实施方案中,PD-1配体的抑制剂为抗PD-L1抗体,例如KY-1003、MCLA-145、RG7446、BMS935559、MPDL3280A、MEDI4736、阿维鲁单抗或STI-A1010。在一些实施方案中,PD-1配体的抑制剂为抗PD-L2抗体。在一些实施方案中,PD-1配体的抑制剂为PD-L1和PD-L2二者的抑制剂(例如,肽、蛋白质或小分子),例如AUR-012和AMP-224。在一些实施方案中,每周施用CG0070。在一些实施方案中,每周施用PD-1配体的抑制剂。在一些实施方案中,依序施用CG0070和PD-1配体的抑制剂。在一些实施方案中,在施用PD-1配体的抑制剂之前(例如在即将施用之前)施用CG0070。在一些实施方案中,在施用PD-1配体的抑制剂之后(例如在施用后立刻)施用CG0070。在一些实施方案中,同时施用CG0070和PD-1配体的抑制剂(例如在单一组合物中)。在一些实施方案中,该方法还包括通过膀胱内施用除外的施用途径施用CG0070和/或PD-1配体的抑制剂。

[0233] 在一些实施方案中,提供治疗个体的膀胱癌的方法,该方法包括:a)膀胱内施用有效量的感染剂;以及b)膀胱内施用有效量的CD40的活化剂(例如激动性抗CD40抗体,例如CP-870,893、达西珠单抗、ChiLob 7/4或APX005M)。在一些实施方案中,感染剂为野生型感染剂。在一些实施方案中,感染剂经遗传修饰。在一些实施方案中,感染剂经减毒(例如经由多次传代、不活化或遗传修饰)。在一些实施方案中,CD40的活化剂为激动性抗CD40抗体,例如CP-870,893、达西珠单抗、ChiLob 7/4或APX005M。在一些实施方案中,该方法还包括膀胱内施用第二免疫调节剂,例如免疫检查点抑制剂(例如CTLA-4的抑制剂,例如抗CTLA-4抗体或特异性结合至CTLA-4的抗运载蛋白)。在一些实施方案中,每周施用感染剂。在一些实施方案中,每周施用CD40的活化剂。在一些实施方案中,依序施用感染剂和CD40的活化剂。在一些实施方案中,在施用CD40的活化剂之前(例如在即将施用之前)施用感染剂。在一些实施方案中,在施用CD40的活化剂之后(例如在施用后立刻)施用感染剂。在一些实施方案中,

同时施用感染剂和CD40的活化剂(例如在单一组合中)。在一些实施方案中,该方法还包括通过膀胱内施用除外的施用途径施用感染剂和/或CD40的活化剂。

[0234] 例如,在一些实施方案中,提供治疗个体的膀胱癌的方法,其包含:a)膀胱内施用有效量的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒);以及b)膀胱内施用有效量的CD40的活化剂(例如激动性抗CD40抗体,例如CP-870,893、达西珠单抗、ChiLob 7/4或APX005M)。

[0235] 在一些实施方案中,提供治疗个体的膀胱癌的方法,该方法包括:a)膀胱内施用有效量的包括病毒载体的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒),该病毒载体包括可操作连接至病毒复制所必需的病毒基因的肿瘤细胞特异性启动子;以及b)膀胱内施用有效量的CD40的活化剂(例如激动性抗CD40抗体,例如CP-870,893、达西珠单抗、ChiLob 7/4或APX005M)。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为E2F-1启动子,例如人类E2F-1启动子或包括SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。在一些实施方案中,病毒复制所必需的病毒基因选自自由下列组成的组:E1A、E1B和E4。

[0236] 在一些实施方案中,提供治疗个体的膀胱癌的方法,该方法包括:a)膀胱内施用有效量的包括病毒载体的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒),该病毒载体包括可操作连接至病毒复制所必需的病毒基因的肿瘤细胞特异性启动子和编码可操作连接至病毒启动子的免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素)的核酸;以及b)膀胱内施用有效量的CD40的活化剂(例如激动性抗CD40抗体,例如CP-870,893、达西珠单抗、ChiLob 7/4或APX005M)。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为E2F-1启动子,例如人类E2F-1启动子或包含SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。在一些实施方案中,病毒复制所必需的病毒基因选自自由下列组成的组:E1A、E1B和E4。在一些实施方案中,可操作连接至编码免疫相关分子的核酸的病毒启动子为E3启动子。在一些实施方案中,免疫相关分子为GM-CSF。

[0237] 在一些实施方案中,提供治疗个体的膀胱癌的方法,该方法包括:a)膀胱内施用有效量的腺病毒血清型5,其中天然腺病毒的内源性E1a启动子和E3 19kD编码区经人类E2F-1启动子和编码免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素,例如GM-CSF)的核酸置换;以及b)膀胱内施用有效量的CD40的活化剂(例如激动性抗CD40抗体,例如CP-870,893、达西珠单抗、ChiLob 7/4或APX005M)。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为人类E2F-1启动子或包括SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。

[0238] 在一些实施方案中,提供治疗个体的膀胱癌的方法,该方法包括:a)膀胱内施用有效量的CG0070;以及b)膀胱内施用有效量的CD40的活化剂(例如激动性抗CD40抗体,例如CP-870,893、达西珠单抗、ChiLob 7/4或APX005M)。在一些实施方案中,CD40的活化剂为激动性抗CD40抗体,例如CP-870,893、达西珠单抗、ChiLob 7/4或APX005M。在一些实施方案中,每周施用CG0070。在一些实施方案中,每周施用CD40的活化剂。在一些实施方案中,依序施用CG0070和CD40的活化剂。在一些实施方案中,在施用CD40的活化剂之前(例如在即将施用之前)施用CG0070。在一些实施方案中,在施用CD40的活化剂之后(例如在施用后立刻)施用CG0070。在一些实施方案中,同时施用CG0070和CD40的活化剂(例如在单一组合中)。在一些实施方案中,该方法还包括通过膀胱内施用除外的施用途径施用CG0070和/或CD40的活化剂。

[0239] 感染剂和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)的膀胱内施用提供相对便利但有效膀胱内肿瘤暴露于感染剂和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)的独特机会、以

及对其他组织的潜在降低毒性。感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)的适宜剂量和给药频率为在与如针对前述部分中分别感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)的局部施用所述相同的范围内。

[0240] 在一些实施方案中,通过滴注以溶液形式经由导管施用感染剂和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,用于膀胱内滴注的溶液的总体积为以下中的约任一者:1mL、10mL、50mL、75mL、100mL、125mL、150mL、200mL、250mL、300mL、400mL或500mL。在一些实施方案中,用于膀胱内滴注的溶液的总体积为以下中的任一者:约1mL至约10mL、约10mL至约50mL、约50mL至约75mL、约75mL至约100mL、约100mL至约125mL、约75mL至约125mL、约100mL至约150mL、约150mL至约200mL、约200mL至约300mL、约300mL至约400mL、约400mL至约500mL、约50mL至约500mL、约50mL至约250mL或约100mL至约250mL。

[0241] 在一些实施方案中,感染剂是以约 $1 \times 10^8$ 至约 $1 \times 10^{15}$ 个颗粒(例如约 $1 \times 10^{11}$ 至约 $1 \times 10^{14}$ 个颗粒,例如约 $1 \times 10^{12}$ 个颗粒)的剂量施用。在一些实施方案中,感染剂是以约50至约500mL(例如约100mL)的体积通过滴注施用。

[0242] 在一些实施方案中,免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)是以约0.1mg/Kg至约100mg/Kg(例如约0.1mg/Kg至约0.3mg/Kg、约0.1mg/Kg至约0.5mg/Kg、约0.5mg/Kg至约1mg/Kg、约1mg/Kg至约10mg/Kg、约10mg/Kg至约50mg/Kg、约50mg/Kg至约100mg/Kg或约1mg/Kg至约100mg/Kg)的剂量施用。在一些实施方案中,免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)是以每次施用不超过以下中的约任一者的剂量施用:500mg、400mg、300mg、200mg、100mg、80mg、60mg、40mg、20mg或10mg。在一些实施方案中,免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)是以约1mL至约500mL(例如约100mL)的体积通过滴注施用。

[0243] 感染剂和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)的溶液在排尿之前可在膀胱中保留特定量的时间,以在膀胱肿瘤细胞中达成均匀分布或足够暴露于感染剂和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。在一些实施方案中,溶液在个体的膀胱中保留至少以下中的约任一者:5分钟、10分钟、15分钟、20分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时或更长时间。在一些实施方案中,溶液在个体的膀胱中保留以下中的任一者:约5分钟至约10分钟、约10分钟至约15分钟、约10分钟至约20分钟、约20分钟至约30分钟、约30分钟至约45分钟、约45分钟至约50分钟、约50分钟至约1小时、约5分钟至约15分钟、约10分钟至约30分钟、约30分钟至约1小时或约1小时至约2小时。在一些实施方案中,感染剂(例如溶瘤病毒,例如CG0070)在个体的膀胱中保留约45分钟至约50分钟。在一些实施方案中,免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)在膀胱中保留约45分钟至1小时。在一些实施方案中,通过包括膀胱内施用有效量的转导增强剂(例如DDM)的预处理进一步增强感染剂的膀胱内施用的效率。

[0244] 在一些实施方案中,通过使个体的膀胱的管腔表面与预处理组合物接触、之后施用感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)来实施预处理步骤。例如,预处理组合物可包括约0.01%至约0.5%(例如0.05至约0.2%,例如约0.1%)的转导增强剂(例如DDM)。在一些实施方案中,预处理组合物(例如DDM)的总体积为约10mL至约1000mL(例如约10mL至约100mL、约100mL至约500mL或约500mL至约1000mL)。在一些实施方案中,预处理组合物的适宜剂量为0.1g、0.2g、0.5g、0.75g、1g、1.5g、2g、2.5g、5g或10g中的约任一者的转导增强剂(例如DDM)。在一些实施方案中,预处理组合物的有效量为约1g DDM(例如,100mL 0.1% DDM溶液)。

[0245] 在一些实施方案中,在即将施用感染剂之前(例如不超过5分钟)施用预处理组合物(例如DDM)。在一些实施方案中,在施用感染剂之前不超过以下中的约任一者施用预处理组合物(例如DDM):5分钟、10分钟、15分钟、20分钟、30分钟、45分钟、1小时、90分钟、2小时、3小时或4小时。在一些实施方案中,在施用感染剂之前不超过约2小时施用预处理组合物(例如DDM)。在一些实施方案中,预处理组合物(例如DDM溶液)在膀胱中保留至少5分钟、10分钟、15分钟或20分钟中的约任一者。在一些实施方案中,预处理组合物(例如DDM溶液)在膀胱中保留约5分钟至约10分钟、约10分钟至约15分钟、约12分钟至约15分钟、约15分钟至约20分钟或约10分钟至约20分钟中的任一者。在一些实施方案中,预处理组合物(例如DDM溶液)在膀胱中保留约12分钟至约15分钟。

[0246] 在一些实施方案中,通过使个体的膀胱的管腔表面与预处理组合物接触、之后施用感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)来实施预处理步骤。

[0247] 在一些实施方案中,该方法还包括洗涤接触预处理组合物的膀胱的管腔表面。在一些实施方案中,该方法还包括在膀胱与预处理组合物接触后在施用感染剂之前洗涤膀胱的管腔表面。

[0248] 在一些实施方案中,预处理步骤包含如“治疗实体或淋巴瘤的方法”部分中所述的一个或多个肿瘤部位制备步骤。

[0249] 在一些实施方案中,预处理包括膀胱内施用有效量的免疫相关分子(例如细胞介素、趋化介素或PRRago)。在一些实施方案中,免疫相关分子选自由下列组成的组:GM-CSF、IL-2、IL12、干扰素(例如1型、2型或3型干扰素,例如干扰素 $\gamma$ )、CCL4、CCL19、CCL21、CXCL13、TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、RIG-I、MDA5、LGP2、LT $\alpha$ 、STING活化剂(例如CDN)、PRRago(例如CpG、咪喹莫特或聚I:C)、TLR刺激物(例如GS-9620、AED-1419、CYT-003-QbG10、AVE-0675或PF-7909)和RLR刺激物(例如RIG-I、Mda5或LGP2刺激物)。在一些实施方案中,免疫相关分子是以其天然形式直接施用。在一些实施方案中,免疫相关分子系以可包括赋形剂或业内已知可延迟其在肿瘤部位内的代谢、释放和/或衰变的任何化合物的形式施用。在一些实施方案中,可将免疫相关分子与一种或多种附加免疫相关分子组合。在一些实施方案中,组合的两种或更多种免疫相关分子是以可包括赋形剂或业内已知可影响其在肿瘤部位内的代谢、释放和/或衰变的任何化合物的形式施用。在一些实施方案中,免疫相关分子诱导树突细胞、T细胞、B细胞和/或T滤泡性辅助细胞。在一些实施方案中,免疫相关分子与感染剂分开施用(例如,在单独组合物中或作为同一组合物中的单独实物)。在一些实施方案中,经由转导将免疫相关分子施用至肿瘤部位。业内已知的示例性转导方法包括但不限于使用磷酸钙、树枝状聚合物、脂质体、阳离子聚合物、电穿孔、细胞挤压、声波穿孔、光学转染、原生质体融合、刺穿感染、流体动力递送、基因枪、磁转染、病毒转染和核转染。在一些实施方案中,免疫相关分子由感染剂表达。例如,感染剂可包括编码免疫相关分子的核酸,并且核酸可在病毒载体中或在单独载体上。在一些实施方案中,感染剂为包括病毒载体的病毒,并且其中病毒载体包括编码免疫相关分子的核酸。在一些实施方案中,编码免疫相关分子的核酸可操作连接至病毒启动子,例如E1启动子或E3启动子。

[0250] 在一些实施方案中,预处理步骤包括在施用感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)之前向个体的膀胱施用有效量的辐射疗法。在一些实施方案中,辐射疗法与化学疗法组合。在一些实施方案中,施用辐射疗法而不施用化学疗法。在一些实施方案中,辐射

疗法包括辐照全身。在一些实施方案中,辐射疗法为仅辐照肿瘤部位。在一些实施方案中,辐射疗法为辐照具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,辐射疗法为仅辐照选择用于局部施用感染剂和免疫调节剂的肿瘤部位。在一些实施方案中,辐射疗法为仅辐照选择用于局部施用感染剂和免疫调节剂的具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,辐射疗法的剂量不足以根除肿瘤细胞。例如,辐射疗法的适宜剂量为以下中的约任一者:1Gy、5Gy、10Gy、15Gy、20Gy、25Gy、30Gy、35Gy、40Gy、45Gy、50Gy、55Gy、60Gy、65Gy、70Gy、75Gy、80Gy、90Gy或100Gy。在一些实施方案中,辐射疗法的剂量为不超过以下中的约任一者:1Gy、5Gy、10Gy、15Gy、20Gy、25Gy、30Gy、35Gy、40Gy、45Gy、50Gy、55Gy、60Gy、65Gy、70Gy、75Gy、80Gy、90Gy或100Gy。在一些实施方案中,辐射疗法的剂量为以下中的任一者:约1Gy至约5Gy、约5Gy至约10Gy、约10Gy至约15Gy、约15Gy至约20Gy、约20Gy至约25Gy、约25Gy至约30Gy、约30Gy至约35Gy、约5Gy至约15Gy、约10Gy至约20Gy、约20Gy至约30Gy、约30Gy至约40Gy、约40Gy至约50Gy、约50Gy至约60Gy、约60Gy至约70Gy、约70Gy至约80Gy、约80Gy至约100Gy、约10Gy至约30Gy、约20Gy至约40Gy、约1Gy至约25Gy、约25Gy至约50Gy、约30Gy至约60Gy、约60Gy至约80Gy或约10Gy至约60Gy。在一些实施方案中,以一种以上方式(例如2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、15、16、18、20或更多种方式中的约任一者)施用辐射疗法。在一些实施方案中,在1天、2天、3天、4天、5天、6天、1周、2周、3周、4周、5周、6周、7周或更长时间中的约任一者的过程中施用辐射疗法部分。在一些实施方案中,在以下中的任一者的过程中施用辐射疗法部分:约1天至约5天、约1周至约2周、约2周至约3周、约3周至约4周、约4周至约5周、约5周至约6周、约6周至约7周、约2周至约4周、约4周至约6周或约1周至约6周。在一些实施方案中,每天以约两个部分施用辐射疗法。在一些实施方案中,辐射疗法的每一部分为对于成人每天约1.8Gy至约2Gy(一周五天)、或对于儿童每天约1.5Gy至约1.8Gy(一周五天)。在一些实施方案中,辐射疗法的每一部分为以下中的约任一者:1Gy、1.5Gy、2Gy、2.5Gy、5Gy、10Gy、15Gy、20Gy、30Gy、40Gy、50Gy或更多。在一些实施方案中,辐射疗法的每一部分为以下中的任一者:约1Gy至约1.5Gy、约1.5Gy至约2Gy、约1Gy至约2.5Gy、约2.5Gy至约5Gy、约5Gy至约10Gy、约10Gy至约15Gy、约15Gy至约20Gy、约20Gy至约30Gy、约25Gy至约50Gy、约1Gy至约10Gy或约2Gy至约20Gy。

[0251] 在一些实施方案中,以单一部分施用辐射疗法。在一些实施方案中,辐射疗法旨在淋巴清除,以每天单一剂量部分或在数天至数周内以多个部分。在一些实施方案中,淋巴清除辐射疗法是作为全身辐照给予。在一些实施方案中,淋巴清除仅为给予至局部肿瘤部位或具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,每天以两个部分施用淋巴清除辐射疗法。在一些实施方案中,淋巴清除辐射疗法的每一部分为对于成人每天约1Gy至约2Gy(一周五天)、或对于儿童每天约0.5Gy至约1.8Gy(一周五天)。在一些实施方案中,辐射疗法的每一部分为以下中的约任一者:1Gy、1.5Gy、2Gy、2.5Gy、5Gy、10Gy、15Gy、20Gy、30Gy、40Gy、50Gy或更多。在一些实施方案中,辐射疗法的每一部分为以下中的任一者:约1Gy至约1.5Gy、约1.5Gy至约2Gy、约1Gy至约2.5Gy、约2.5Gy至约5Gy、约5Gy至约10Gy、约10Gy至约15Gy、约15Gy至约20Gy、约20Gy至约30Gy、约25Gy至约50Gy、约1Gy至约10Gy或约2Gy至约20Gy。在一些实施方案中,淋巴清除辐射疗法是使用或不使用化学治疗剂(例如但不限于环磷酰胺和氟达拉滨)来施用。

[0252] 辐射疗法的已知方法中的任一者皆可用于本发明中,包括但不限于外线束放射疗

法 (EBRT或XRT)、远程疗法、近程疗法、密封源辐射疗法、全身放射性同位素疗法 (RIT)、非密封源辐射疗法、术中辐射疗法 (IORT)、靶向的术中辐射疗法 (TARGIT)、量值调节辐射疗法 (IMRT)、体积调节弧疗法 (VMAT)、颗粒疗法和钻孔机疗法。

[0253] 在一些实施方案中,预处理步骤包括在施用感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)之前向个体的膀胱的管腔表面直接或间接(例如经由静脉内途径)施用有效量的治疗剂。在一些实施方案中,治疗剂为业内已知的化学治疗剂(例如环磷酰胺)的任一者或组合。在一些实施方案中,治疗剂为业内已知的靶向或阻断细胞信号传导途径的试剂的任一者或组合,例如BRAF抑制剂。在一些实施方案中,治疗剂为业内已知的细胞疗法的任一者或组合,例如TIL细胞、CAR/T细胞和/或TCR/T细胞。在一些实施方案中,治疗剂为增加参与免疫原性途径的细胞介素的含量的药剂。本文所述免疫相关分子中的任一者皆可用作治疗剂,包括但不限于细胞介素(例如IL6、IL8和IL18(此类细胞介素可具有促发炎和/或抗炎作用,或一些可促进新血管形成和肿瘤生长))、趋化介素(例如CCL21,其可通过增加淋巴结构而促进肿瘤扩散)、生长因子(例如FLT3L)、热休克蛋白、小分子激酶抑制剂(例如JAK2抑制剂)和IAP抑制剂。在一些实施方案中,治疗剂为引起肿瘤的结构组分功能障碍或对其损害的药剂。示例性药剂包括但不限于抗VEGF抗体、玻尿酸酶和n-十二烷基- $\beta$ -麦芽糖苷。在一些实施方案中,治疗剂诱导免疫细胞,例如树突细胞、B细胞和T细胞(例如滤泡性T辅助细胞)。

#### [0254] 与肿瘤细胞的组合疗法

[0255] 本专利申请的一个方面涉和治疗个体(例如人类)的实体或淋巴肿瘤的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的感染剂;b)向该肿瘤部位局部施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合);以及c)向该肿瘤部位局部施用有效量的不活化的肿瘤细胞。此至少三种组分组合治疗方法可包括上文针对包括感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)的组合疗法所述的方法的任一实施方案。包括不活化的肿瘤细胞的本发明的组合治疗方法相对于涉及类似组分的其他癌症免疫治疗方法是有利的,此乃因三种组分(即,感染剂(例如溶瘤病毒,例如溶瘤腺病毒)、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和不活化的肿瘤细胞)中的每一者的施用参数(例如剂量、给药频率和/或施用途径)可独立地经调节以优化对个体的疗法的性能并最小化毒性。本文所述方法中的任一者皆可用于抑制实体或淋巴肿瘤生长、抑制实体或淋巴肿瘤转移、延长具有实体或淋巴肿瘤的个体的存活(例如无疾病存活)、引起具有实体或淋巴肿瘤的个体的疾病缓解、和/或改善具有实体或淋巴肿瘤的个体的生命质量。

[0256] 不受限于任何理论或假设,据信在此三种组分组合疗法中,不活化但活的肿瘤细胞(本文中还可称作“活癌细胞”或“活肿瘤细胞”)的外部来源(无论其来源为自体的或同种异体的)在肿瘤部位施用时可提供附加、但重要的新抗原来源。在此上下文中,外部来源意指此类肿瘤细胞先前已自相同个体或自另一个体移除。细胞可进一步经历活体外培养用于扩增、冷冻保藏、解冻和表征。据信,不活化的肿瘤细胞的此外部来源有时可不仅刺激T细胞反应,并且也可应答B细胞,并且有时触发与如先前所述感染剂(例如病毒)和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)协同的大量抗体反应。

[0257] 因此,在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴肿瘤的方法,该方法包括:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的感染剂;b)向该肿瘤部位局部施用有效量的免疫调节剂

(包括免疫调节剂的组合);以及c)向该肿瘤部位局部施用有效量的不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,感染剂为病毒,例如选自由下列组成的组的病毒:腺病毒、单纯疱疹病毒、牛痘病毒、腮腺炎病毒、新城鸡瘟病毒、脊髓灰质炎病毒、麻疹病毒、塞尼卡谷病毒、柯萨奇病毒、里奥病毒、水疱性口炎病毒、马拉巴和棒状病毒、以及小病毒。在一些实施方案中,感染剂为非溶瘤病毒。在一些实施方案中,感染剂为溶瘤病毒。在一些实施方案中,感染剂为细菌,例如卡介苗(“BCG”)、单核球增多性李氏菌或分枝杆菌细胞壁-DNA复合物(“MCNA”或“MCC”,例如UROCIDIN<sup>TM</sup>)。在一些实施方案中,感染剂为野生型感染剂。在一些实施方案中,感染剂经遗传修饰。在一些实施方案中,感染剂经减毒(例如经由多次传代、不活化或遗传修饰)。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点抑制剂。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点分子的调节剂,该免疫检查点分子选自由下列组成的组:CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、TIM3、B7-H3、B7-H4、LAG-3、KIR、以及它们的配体。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫刺激剂。在一些实施方案中,免疫刺激剂为OX40、4-1BB或CD40的活化剂。在一些实施方案中,方法包括局部施用免疫调节剂的组合,其包括一种或多种免疫检查点抑制剂和/或一种或多种免疫刺激剂(例如至少两种免疫检查点抑制剂、至少两种免疫刺激剂或至少一种免疫检查点抑制剂和至少一种免疫刺激剂的组合)。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞为自体的。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞为同种异体的。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞来自肿瘤细胞系。在一些实施方案中,通过辐照使不活化的肿瘤细胞不活化。在一些实施方案中,同时施用感染剂和不活化的肿瘤细胞(例如在单一组合中)。在一些实施方案中,在即将施用之前混合感染剂和不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,依序施用感染剂和不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,在施用后立刻在施用部位混合感染剂和不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,将感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,将感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,该方法还包括通过局部施用除外的施用途径施用感染剂和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞。

[0258] 在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴肿瘤的方法,其包含:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒);b)向该肿瘤部位局部施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合);以及c)向该肿瘤部位局部施用有效量的不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,溶瘤病毒为野生型溶瘤病毒。在一些实施方案中,溶瘤病毒经遗传修饰。在一些实施方案中,溶瘤病毒经减毒(例如经由多次传代、不活化或遗传修饰)。在一些实施方案中,溶瘤病毒胜任复制。在一些实施方案中,溶瘤病毒优先在癌细胞中复制。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点抑制剂。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点分子的调节剂,该免疫检查点分子选自由下列组成的组:CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、TIM3、B7-H3、B7-H4、LAG-3、KIR、以及它们的配体。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫刺激剂。在一些实施方案中,免疫刺激剂为OX40、4-1BB或CD40的活化剂。在一些实施方案中,方法包括局部施用免疫调节剂的组合,其包括一种或多种免疫检查点抑制剂和/或一种或多种免疫刺激剂(例如至少两种免疫检查点抑制剂、至少两种免疫刺激剂或至少一种免疫检查点抑制剂和至少一种免疫刺激剂的组合)。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞为自体的。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞为同种异体的。在一些实施方案中,不活化

的肿瘤细胞来自肿瘤细胞系。在一些实施方案中,通过辐照使不活化的肿瘤细胞不活化。在一些实施方案中,同时施用溶瘤病毒和不活化的肿瘤细胞(例如在单一组合物中)。在一些实施方案中,在即将施用之前混合溶瘤病毒和不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,依序施用溶瘤病毒和不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,在施用后立刻在施用部位混合溶瘤病毒和不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,将溶瘤病毒、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,将溶瘤病毒、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,该方法还包括通过局部施用除外的施用途径施用溶瘤病毒和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞。

[0259] 在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴肿瘤的方法,其包含:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的包括病毒载体的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒),该病毒载体包括可操作连接至病毒复制所必需的病毒基因的肿瘤细胞特异性启动子;b)向该肿瘤部位局部施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合);以及c)向该肿瘤部位局部施用有效量的不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点抑制剂。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点分子的调节剂,该免疫检查点分子选自由下列组成的组:CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、TIM3、B7-H3、B7-H4、LAG-3、KIR、以及它们的配体。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫刺激剂。在一些实施方案中,免疫刺激剂为OX40、4-1BB或CD40的活化剂。在一些实施方案中,方法包括局部施用免疫调节剂的组合,其包括一种或多种免疫检查点抑制剂和/或一种或多种免疫刺激剂(例如至少两种免疫检查点抑制剂、至少两种免疫刺激剂或至少一种免疫检查点抑制剂和至少一种免疫刺激剂的组合)。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为E2F-1启动子,例如人类E2F-1启动子或包括SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。在一些实施方案中,病毒复制所必需的病毒基因选自由下列组成的组:E1A、E1B和E4。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞为自体的。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞为同种异体的。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞来自肿瘤细胞系。在一些实施方案中,通过辐照使不活化的肿瘤细胞不活化。在一些实施方案中,同时施用溶瘤病毒和不活化的肿瘤细胞(例如在单一组合物中)。在一些实施方案中,在即将施用之前混合溶瘤病毒和不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,依序施用溶瘤病毒和不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,在施用后立刻在施用部位混合溶瘤病毒和不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,将溶瘤病毒、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,该方法还包括通过局部施用除外的施用途径施用溶瘤病毒和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞。

[0260] 在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴肿瘤的方法,其包含:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的包括病毒载体的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒),该病毒载体包括可操作连接至病毒复制所必需的病毒基因的肿瘤细胞特异性启动子和编码可操作连接至病毒启动子的免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素)的核酸;b)向该肿瘤部位局部施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合);以及c)向该肿瘤部位局部施用有效量的不活化的肿瘤细胞,其中使不活化的肿瘤细胞不活化。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点抑制剂。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点分子的调节剂,该免疫检查点分子

选自由下列组成的组:CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、TIM3、B7-H3、B7-H4、LAG-3、KIR、以及它们的配体。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫刺激剂。在一些实施方案中,免疫刺激剂为OX40、4-1BB或CD40的活化剂。在一些实施方案中,方法包括局部施用免疫调节剂的组合,其包括一种或多种免疫检查点抑制剂和/或一种或多种免疫刺激剂(例如至少两种免疫检查点抑制剂、至少两种免疫刺激剂或至少一种免疫检查点抑制剂和至少一种免疫刺激剂的组合)。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为E2F-1启动子,例如人类E2F-1启动子或包括SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。在一些实施方案中,病毒复制所必需的病毒基因选自由下列组成的组:E1A、E1B和E4。在一些实施方案中,可操作连接至编码免疫相关分子的核酸的病毒启动子为E3启动子。在一些实施方案中,免疫相关分子为GM-CSF。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞为自体的。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞为同种异体的。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞来自肿瘤细胞系。在一些实施方案中,通过辐照使不活化的肿瘤细胞不活化。在一些实施方案中,同时施用溶瘤病毒和不活化的肿瘤细胞(例如在单一组合物中)。在一些实施方案中,在即将施用之前混合溶瘤病毒和不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,依序施用溶瘤病毒和不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,在施用后立刻在施用部位混合溶瘤病毒和不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,将溶瘤病毒、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,将溶瘤病毒、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,该方法还包括通过局部施用除外的施用途径施用溶瘤病毒和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞。

[0261] 在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴肿瘤的方法,其包含:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的腺病毒血清型5,其中天然腺病毒的内源性E1a启动子和E3 19kD编码区经人类E2F-1启动子和编码免疫相关分子(例如细胞介素、趋化介素,例如GM-CSF)的核酸置换;b)向该肿瘤部位局部施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合);以及c)向该肿瘤部位局部施用有效量的不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点抑制剂。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点分子的调节剂,该免疫检查点分子选自由下列组成的组:CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、TIM3、B7-H3、B7-H4、LAG-3、KIR、以及它们的配体。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫刺激剂。在一些实施方案中,免疫刺激剂为OX40、4-1BB或CD40的活化剂。在一些实施方案中,方法包含局部施用免疫调节剂的组合,其包括一种或多种免疫检查点抑制剂和/或一种或多种免疫刺激剂(例如至少两种免疫检查点抑制剂、至少两种免疫刺激剂或至少一种免疫检查点抑制剂和至少一种免疫刺激剂的组合)。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为人类E2F-1启动子或包括SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。在一些实施方案中,病毒复制所必需的病毒基因选自由下列组成的组:E1A、E1B和E4。在一些实施方案中,可操作连接至编码免疫相关分子的核酸的病毒启动子为E3启动子。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞为自体的。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞为同种异体的。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞来自肿瘤细胞系。在一些实施方案中,通过辐照使不活化的肿瘤细胞不活化。在一些实施方案中,同时施用腺病毒和不活化的肿瘤细胞(例如在单一组合物中)。在一些实施方案中,在即将施用之前混合腺病毒和不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,依序施用腺病毒和不活

化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,在施用后立刻在施用部位混合腺病毒和不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,将腺病毒、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,将腺病毒、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,该方法还包括通过局部施用除外的施用途径施用腺病毒和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞。

[0262] 在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴肿瘤的方法,其包含:a)向该肿瘤部位局部施用有效量的CG0070;以及b)向该肿瘤部位局部施用有效量的免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合);以及c)向该肿瘤部位局部施用有效量的不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点抑制剂。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点分子的调节剂,该免疫检查点分子选自由下列组成的组:CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、TIM3、B7-H3、B7-H4、LAG-3、KIR、以及它们的配体。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫刺激剂。在一些实施方案中,免疫刺激剂为OX40、4-1BB或CD40的活化剂。在一些实施方案中,方法包括局部施用免疫调节剂的组合,其包括一种或多种免疫检查点抑制剂和/或一种或多种免疫刺激剂(例如至少两种免疫检查点抑制剂、至少两种免疫刺激剂或至少一种免疫检查点抑制剂和至少一种免疫刺激剂的组合)。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞为自体的。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞为同种异体的。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞来自肿瘤细胞系。在一些实施方案中,通过辐照使不活化的肿瘤细胞不活化。在一些实施方案中,同时施用CG0070和不活化的肿瘤细胞(例如在单一组合物中)。在一些实施方案中,在即将施用之前混合CG0070和不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,依序施用CG0070和不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,在施用后立刻在施用部位混合CG0070和不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,将CG0070、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞施用至具有实体或淋巴肿瘤的组织。在一些实施方案中,将CG0070、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,该方法还包括通过局部施用除外的施用途径施用CG0070和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞。

[0263] 在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴肿瘤的方法,其包含:a)肿瘤内施用有效量的CG0070;以及b)肿瘤内施用有效量的CTLA-4的抑制剂(例如抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)或经改造的脂质运载蛋白(例如特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白));c)肿瘤内施用有效量的4-1BB活化剂(例如激动性抗4-1BB抗体,例如PF-05082566);以及d)向肿瘤部位肿瘤内施用有效量的不活化的肿瘤细胞(例如同种异体不活化的肿瘤细胞),其中CG0070的有效量为每周约 $1 \times 10^8$ 至约 $1 \times 10^{14}$ 个病毒颗粒(vp)(例如以下中的约任一者:每周 $5 \times 10^{10}$ vp、 $1 \times 10^{11}$ vp、 $5 \times 10^{11}$ vp或 $1 \times 10^{12}$ vp),其中CTLA-4的抑制剂的有效量为约0.1mg至约100mg(例如不超过每周1mg、3mg、6mg、12mg或24mg中的约任一者),其中4-1BB活化剂的有效量为约0.1mg至约100mg(例如不超过每周1mg、3mg、6mg、12mg或24mg中的约任一者),并且其中不活化的肿瘤细胞的有效量为CG0070的有效量的至少约 $10^4$ 。在一些实施方案中,在施用CG0070和不活化的肿瘤细胞后立刻(例如,在施用后不超过5分钟)施用CTLA-4的抑制剂和4-1BB活化剂。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)(例如, YERVOY<sup>®</sup>)。在一些实施方案中,CTLA-4的抑制剂为经改造的脂质运载蛋白,例如特异性

识别CTLA-4的抗运载蛋白。在一些实施方案中,4-1BB活化剂为激动性抗4-1BB抗体,例如PF-05082566。在一些实施方案中,与CG0070施用组合进一步向个体肿瘤内施用有效量的DDM作为转导增强剂。在一些实施方案中,通过辐照使不活化的肿瘤细胞不活化。在一些实施方案中,同时施用CG0070和不活化的肿瘤细胞(例如在单一组合物中)。在一些实施方案中,在即将施用之前混合CG0070和不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,通过注射至具有肿瘤的组织中施用CG0070、CTLA-4的抑制剂、41-BB活化剂和不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,通过直接注射至肿瘤中施用CG0070、CTLA-4的抑制剂、41-BB活化剂和不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,在约1周至约8周(例如约4周或约6周)中每周施用CG0070、CTLA-4的抑制剂、41-BB活化剂和不活化的肿瘤细胞作为一个治疗过程。在一些实施方案中,每约2个月至约3个月重复治疗过程。在一些实施方案中,实体或淋巴肿瘤选自由下列组成的组:头颈癌、乳癌、结肠直肠癌、肝癌、胰腺腺癌、胆囊和胆管癌、卵巢癌、子宫颈癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肾细胞癌、膀胱癌、前列腺癌、骨癌、间皮瘤、脑癌、软组织肉瘤、子宫癌、甲状腺癌、鼻咽癌和黑色素瘤。在一些实施方案中,实体或淋巴肿瘤对于先前疗法难治。

[0264] 不活化的肿瘤细胞可自多种来源(包括但不限于自体来源、同种异体来源、肿瘤细胞系、以及它们的组合)获得。通常,不活化的肿瘤细胞属相同类型,或表达一种或多种相同肿瘤抗原和所治疗的实体或淋巴肿瘤。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞由肿瘤细胞的单一群体组成。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞包括肿瘤细胞的多个(例如2、3、4、5、6或更多个)群体。

[0265] 在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞源自同种异体来源。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞源自具有肿瘤(例如相同类型的实体或淋巴肿瘤)的不同个体。在一些实施方案中,所治疗个体的不活化的肿瘤细胞和实体或淋巴肿瘤表达至少一种共享肿瘤抗原(例如肿瘤相关抗原和/或肿瘤特异性抗原)。

[0266] 在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞源自与个体的实体或淋巴肿瘤共享相同或类似起源或遗传轮廓(例如肿瘤抗原表达轮廓)的肿瘤细胞系。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞并具有肿瘤的个体表达至少一种共享肿瘤抗原(例如肿瘤相关抗原和/或肿瘤特异性抗原)。例如,在所治疗的实体或淋巴肿瘤为前列腺癌时,前列腺肿瘤细胞为可选自由下列组成的组:DU145、PC-3和LnCaP。

[0267] 在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞源自具有实体或淋巴肿瘤的不同个体。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞源自具有实体或淋巴肿瘤的组织。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞源自实体或淋巴肿瘤(例如,肿瘤活检或切除的肿瘤)。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞源自个体的实体或淋巴肿瘤的转移部位。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞在活体内不活化的肿瘤细胞死亡期间提供一种或多种细胞、细胞介素、趋化介素和/或抗原性组分,其中取样一种或多种组分并由个体的抗原呈递细胞(例如树突细胞)交叉呈递以针对实体或淋巴肿瘤刺激免疫反应。

[0268] 在一些实施方案中,例如经由具有编码转基因的载体的感染剂转导修饰不活化的肿瘤细胞,例如经遗传修饰。可由感染剂在活体外或活体内转导或转染不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞经修饰以表达或分泌免疫相关分子。在一些实施方案中,免疫相关分子为细胞介素、趋化介素或另一免疫相关分子。在一些实施方案中,免疫相关分子选自由下列组成的组:IL-2、IL-12、干扰素(例如1型、2型或3型干扰素,例如干扰

素  $\gamma$ )、CCL4、CCL19、CCL21、CXCL13、TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、RIG-I、MDA5、LGP2和LT $\alpha\beta$ 。在一些实施方案中,免疫相关分子选自由下列组成的组:STING活化剂(例如CDN)、PRRago(例如CpG、咪喹莫特或聚I:C)、TLR刺激物(例如GS-9620、AED-1419、CYT-003-QbG10、AVE-0675或PF-7909)和RLR刺激物(例如RIG-I、Mda5或LGP2刺激物)。

[0269] 在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞经修饰以表达或分泌一种或多种免疫调节剂。在一些实施方案中,一种或多种免疫调节剂包括免疫刺激剂。在一些实施方案中,免疫刺激剂为免疫刺激分子的天然或经改造的配体,包括(例如)OX40的配体(例如,OX40L)、CD-28的配体(例如,CD80、CD86)、ICOS的配体(例如,B7RP1)、4-1BB的配体(例如,4-1BBL、Ultra4-1BBL)、CD27的配体(例如,CD70)、CD40的配体(例如,CD40L)和TCR的配体(例如,MHC I类或II类分子、IMCgp100)。在一些实施方案中,免疫刺激剂为选自由下列组成的组的抗体:抗CD28(例如,TGN-1412)、抗OX40(例如,MEDI6469、MEDI-0562)、抗ICOS(例如,MEDI-570)、抗GITR(例如,TRX518、INBRX-110、NOV-120301)、抗41-BB(例如,BMS-663513、PF-05082566)、抗CD27(例如,BION-1402、瓦利路单抗和hCD27.15)、抗CD40(例如,CP870,893、BI-655064、BMS-986090、APX005、APX005M)、抗CD3(例如,布利莫单抗、莫罗单抗)和抗HVEM。在一些实施方案中,抗体为激动性抗体。在一些实施方案中,抗体为单株抗体。在一些实施方案中,抗体为选自由下列组成的组的抗原结合片段:全长抗体的Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、和Fv、scFv或其他抗原结合子序列。在一些实施方案中,抗体为人类、人类化或嵌合抗体。在一些实施方案中,抗体为双特异性抗体、多特异性抗体、单一结构域抗体、包括抗体部分的融合蛋白、或其任何其他功能变体或衍生物。

[0270] 在一些实施方案中,一种或多种免疫调节剂包括免疫检查点抑制剂。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂为抑制性免疫检查点分子的天然或经改造的配体,包括(例如)CTLA-4的配体(例如,B7.1、B7.2)、TIM3的配体(例如,半乳凝素-9)、A2a受体的配体(例如,腺苷、Regadenoson)、LAG3的配体(例如,MHC I类或MHC II类分子)、BTLA的配体(例如,HVEM、B7-H4)、KIR的配体(例如,MHC I类或MHC II类分子)、PD-1的配体(例如,PD-L1、PD-L2)、IDO的配体(例如,NKTR-218、吡啶西莫、NLG919)和CD47的配体(例如,SIRP- $\alpha$ 受体)。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂为靶向抑制性免疫检查点蛋白的抗体。在一些实施方案中,免疫调节剂为选自由下列组成的组的抗体:抗CTLA-4(例如,伊匹单抗、曲美目单抗、KAHR-102)、抗TIM3(例如,F38-2E2、ENUM005)、抗LAG3(例如,BMS-986016、IMP701、IMP321、C9B7W)、抗KIR(例如,利利单抗和IPH2101)、抗PD-1(例如,尼沃鲁单抗、匹利珠单抗、派姆单抗、BMS-936559、阿替珠单抗、兰布鲁珠单抗、MK-3475、AMP-224、AMP-514、STI-A1110、TSR-042)、抗PD-L1(例如,KY-1003(EP20120194977)、MCLA-145、RG7446、BMS-936559、MEDI-4736、MSB0010718C、AUR-012、STI-A1010、PCT/US2001/020964、MPDL3280A、AMP-224、达匹珠单抗(CDP-7657)、MEDI-4920)、抗CD73(例如,AR-42(OSU-HDAC42、HDAC-42、AR42、AR 42、OSU-HDAC 42、OSU-HDAC-42、NSC D736012、HDAC-42、HDAC 42、HDAC42、NSCD736012、NSC-D736012)、MEDI-9447)、抗B7-H3(例如,MGA271、DS-5573a、8H9)、抗CD47(例如,CC-90002、TTI-621、VLST-007)、抗BTLA、抗VISTA、抗A2aR、抗B7-1、抗B7-H4、抗CD52(例如阿伦单抗)、抗IL-10、抗IL-35和抗TGF- $\beta$ (例如夫苏木单抗)。在一些实施方案中,抗体为拮抗性抗体。在一些实施方案中,抗体为单株抗体。在一些实施方案中,抗体为单株抗体。在一些实施方案

中,抗体为选自由下列组成的组的抗原结合片段:全长抗体的Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、和Fv、scFv或其他抗原结合子序列。在一些实施方案中,抗体为人类、人类化或嵌合抗体。在一些实施方案中,抗体为双特异性抗体、多特异性抗体、单一结构域抗体、包括抗体部分的融合蛋白、或其任何其他功能变体或衍生物。

[0271] 在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞由组合疗法中所用的感染剂转导和遗传修饰。

[0272] 肿瘤细胞可通过业内已知的方法中的任一者(包括但不限于机械、酶分离方法、以及它们的组合)自组织、切除的肿瘤或肿瘤活检分离。例如,可使用胶原酶、DNA水解酶和玻尿酸酶的混合物以培育肿瘤样品以获得不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,分离自体肿瘤细胞的多个批次是在疗程期间自个体的实体或淋巴肿瘤或转移部位获得。在一些实施方案中,在不活化之前冷冻保藏不活化的肿瘤细胞。

[0273] 由于尤其在转移部位中的癌细胞为经历快速复制和频繁突变的的不同细胞纯系的非均相混合物,故有时优选具有在此类变化发生时可适应此类变化的特异性组分。可自初始手术样品、活检或稍后移除转移性病灶制备自体肿瘤细胞。此方法的优点之一在于可根据患者的反应肿瘤样品的可用性改变自体肿瘤细胞。例如,原发性肿瘤期中生成的肿瘤-感染剂(例如病毒)活的和活体内疫苗系统可不同于稍后使用来自转移部位的肿瘤细胞生成者。在一些实施方案中,最终目标是根据优势肿瘤类型适用免疫治疗反应,此为在途径靶向疗法或单株抗体定向疗法的最近研发中不可发现的优点。

[0274] 在施用之前使不活化的肿瘤细胞不活化。通常,不活化的肿瘤细胞胜任增殖。可利用业内已知方法中的任一者使肿瘤细胞不活化。在一些实施方案中,通过辐照使不活化的肿瘤细胞不活化。在一些实施方案中,在施用患者之前,以约50至约200rad/min或约120至约140rad/min的剂量辐照不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,以2,500rad、5,000rad、10,000rad、15,000rad或20,000rad中的约任一者的总剂量辐照不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,以约10,000至约20,000rad的总剂量辐照不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,以足以抑制实质上100%细胞进一步增殖的总剂量辐照不活化的肿瘤细胞。在其中不活化的肿瘤细胞经遗传修饰的一些实施方案中,辐照的总剂量不足以抑制免疫相关分子(例如GM-CSF)的表达或分泌。在一些实施方案中,辐照的总剂量在施用时不足以由感染剂抑制不活化的肿瘤细胞的转导或遗传修饰。在一些实施方案中,在施用之前冷冻保藏不活化的肿瘤细胞。

[0275] 通过(例如)肿瘤内注射肿瘤内施用不活化的肿瘤细胞。用于施用的不活化的肿瘤细胞的适宜剂量取决于实体或淋巴肿瘤的状态(例如,微环境、类型、阶段等)和个体的其他诊断和风险因素。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞的适宜剂量为 $1 \times 10^3$ 、 $1 \times 10^4$ 、 $1 \times 10^5$ 、 $2 \times 10^5$ 、 $5 \times 10^5$ 、 $1 \times 10^6$ 、 $2 \times 10^6$ 、 $5 \times 10^6$ 、 $1 \times 10^7$ 、 $5 \times 10^7$ 或 $1 \times 10^8$ 个细胞中的约任一者。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞的适宜剂量为约 $1 \times 10^3$ 至约 $1 \times 10^4$ 、约 $1 \times 10^4$ 至约 $1 \times 10^5$ 、约 $1 \times 10^5$ 至约 $2 \times 10^5$ 、约 $2 \times 10^5$ 至约 $5 \times 10^5$ 、约 $5 \times 10^5$ 至约 $10^6$ 、约 $10^6$ 至约 $2 \times 10^6$ 、约 $2 \times 10^6$ 至约 $5 \times 10^6$ 、约 $5 \times 10^6$ 至约 $1 \times 10^7$ 、约 $1 \times 10^7$ 至约 $5 \times 10^7$ 或约 $5 \times 10^7$ 至约 $1 \times 10^8$ 个肿瘤细胞中的任一者。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞的剂量计算为细胞/Kg体重。

[0276] 在一些实施方案中,感染剂(例如病毒)对不活化的肿瘤细胞的相对比率是基于感染倍数(MOI)指数,该指数是使用感染剂颗粒数对仅不活化的肿瘤细胞数或对活肿瘤细胞

总数(包括不活化的肿瘤细胞和施用部位的估计活肿瘤细胞数)来计算。在一些实施方案中,MOI为至少1、2、5、10、50、100、200、500、1000、5000、 $10^4$ 、 $10^5$ 、 $10^6$ 或更大中的约任一者。在一些实施方案中,感染剂是以与估计肿瘤部位的体积成正比的量提供。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞是以受以下限制的量提供:自肿瘤活检、肿瘤切除术、肿瘤细胞培养和业内已知分离肿瘤细胞的其他方法的制剂。在一些实施方案中,感染剂以约 $1 \times 10^5$ 个颗粒至约 $1 \times 10^{14}$ 个颗粒(例如,约 $1 \times 10^{12}$ 个颗粒)提供于组合物中。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞是以约 $1 \times 10^3$ 个细胞至约 $1 \times 10^8$ 个细胞(例如,约 $1 \times 10^5$ 个不活化的肿瘤细胞)提供于组合物中。

[0277] 在一些实施方案中,每日施用不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞是一周施用至少约1次、2次、3次、4次、5次、6次或7次(即每日)中的任一者。在一些实施方案中,每周施用不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞是每两周施用;每周无间断;三周中的两周每周施用;四周中的三周每周施用;每2周一次;每3周一次;每4周一次;每6周一次;每8周一次、每月或每2至12个月施用。在一些实施方案中,每次施用之间之间隔小于以下中的约任一者:6个月、3个月、1个月、20天、15天、12天、10天、9天、8天、7天、6天、5天、4天、3天、2天或1天。在一些实施方案中,每次施用之间之间隔超过以下中的约任一者:1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、8个月或12个月。在一些实施方案中,给药时间表中无间断。在一些实施方案中,每次施用之间的间隔不超过约一周。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞是以与感染剂相同的给药时间表施用。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞是以与感染剂不同的给药时间表施用。

[0278] 不活化的肿瘤细胞的施用可在延长时间段(例如约1个月高达至约7年)内。在一些实施方案中,在至少以下中的约任一者的时段内施用不活化的肿瘤细胞:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、18、24、30、36、48、60、72或84个月。在一些实施方案中,在至少3周或6周的时段内施用不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,每3个月在四周中的三周中每周施用不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,每3个月在6周中每周施用不活化的肿瘤细胞。

[0279] 在一些实施方案中,每周施用感染剂。在一些实施方案中,每周施用免疫调节剂。在一些实施方案中,每周施用不活化的肿瘤细胞。

[0280] 在一些实施方案中,每日施用感染剂。在一些实施方案中,每日施用免疫调节剂。在一些实施方案中,每日施用不活化的肿瘤细胞。

[0281] 在一些实施方案中,感染剂首先在第一治疗过程中每日或每周施用多次(例如1、2、3、4、5、6、7、10或更多次中的任一者)、之后在第二治疗过程中每日或每周施用多次(例如1、2、3、4、5、6、7、10或次中的任一者),以及随后每个月或每几个(例如2、3、4、5、6或更多个的任一者)月维持治疗过程。在一些实施方案中,免疫调节剂首先在第一治疗过程中每日或每周施用多次(例如1、2、3、4、5、6、7、10或更多次中的任一者)、之后在第二治疗过程中每日或每周施用多次(例如1、2、3、4、5、6、7、10或次中的任一者),以及随后每个月或每几个(例如2、3、4、5、6或更多个的任一者)月维持治疗过程。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞首先在第一治疗过程中每日或每周施用多次(例如1、2、3、4、5、6、7、10或更多次中的任一者)、之后在第二治疗过程中每日或每周施用多次(例如1、2、3、4、5、6、7、10或次中的任一者),以及随后每个月或每几个(例如2、3、4、5、6或更多个的任一者)月维持治疗过程。

[0282] 在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂和不活化的细胞是利用上述给药时间表

的任一组合施用。每一治疗过程可包括在数天、数周或数月的过程内施用。只要需要,可重复治疗过程。

[0283] 在一些实施方案中,依序施用上文论述的感染剂和不活化的肿瘤细胞,即在施用不活化的肿瘤细胞之前或之后施用感染剂的施用。在一些实施方案中,在施用不活化的肿瘤细胞之前施用感染剂。在一些实施方案中,在施用不活化的肿瘤细胞之前不超过约以下中的任一者施用感染剂:15分钟、30分钟、1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、12小时或24小时。在一些实施方案中,在施用不活化的肿瘤细胞之前大约天或周(例如约以下中的任一者:1天、2天、3天、4天、5天、6天、1周、2周、3周、4周或更长时间)施用感染剂。在一些实施方案中,在施用不活化的肿瘤细胞之后施用感染剂。在一些实施方案中,在施用不活化的肿瘤细胞之后不超过约以下中的任一者施用感染剂:15分钟、30分钟、1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、12小时或24小时。在一些实施方案中,在施用不活化的肿瘤细胞之后大约天或周(例如约以下中的任一者:1天、2天、3天、4天、5天、6天、1周、2周、3周、4周或更长时间)施用感染剂。在一些实施方案中,感染剂和不活化的肿瘤细胞是在一者之后立刻施用另一者(例如,两次施用之间在5分钟或更少时间内)。例如,在一些实施方案中,在即将施用不活化的肿瘤细胞之前施用感染剂。在一些实施方案中,在施用不活化的肿瘤细胞之后立刻施用感染剂。

[0284] 在一些实施方案中,同时施用感染剂和不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,经由单独组合物同时施用感染剂和不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,感染剂和不活化的肿瘤细胞是以单一组合物形式施用。在一些实施方案中,在施用组合物之前(例如在即将施用组合物之前,例如在施用组合物之前小于约10、5或1分钟内)混合感染剂和不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,预制备包括感染剂和不活化的肿瘤细胞的组合物且在施用之前将其储存至少1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、12小时、24小时、2天、3天、4天、5天、6天、7天、2周、3周或更长时间中的约任一者。在一些实施方案中,完全分开不活化的肿瘤细胞和感染剂直至施用至个体的时刻。在一些实施方案中,感染剂和不活化的肿瘤细胞在施用之前无需预培育。

#### [0285] 套装和药物组合物

[0286] 在另一方面中,提供可用于本文所述方法中的任一者的套装、单位剂量和制品。

[0287] 例如,在一些实施方案中,提供用于治疗个体的实体或淋巴肿瘤(例如用于抑制肿瘤转移)的套装,其包括:a)感染剂,b)免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合),以及c)用于向肿瘤部位局部施用感染剂和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)的装置。在一些实施方案中,感染剂为病毒,例如溶瘤病毒,例如溶瘤腺病毒。在一些实施方案中,感染剂包括编码免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素)的核酸。在一些实施方案中,免疫相关分子选自由下列组成的组:GM-CSF、IL-2、IL12、干扰素(例如1型、2型或3型干扰素,例如干扰素 $\gamma$ )、CCL4、CCL19、CCL21、CXCL13、TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、RIG-I、MDA5、LGP2和LT $\alpha\beta$ 。在一些实施方案中,免疫刺激剂为OX40、4-1BB或CD40的活化剂(例如激动剂抗体)。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点分子的调节剂,该免疫检查点分子选自由下列组成的组(例如抗体):CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、TIM3、B7-H3、B7-H4、LAG-3、KIR、以及它们的配体。在一些实施方案中,套装包括免疫调节剂的组合,其包含一种或多种免疫检查点抑制剂和/或一种或多种免疫刺激剂(例如CTLA-4抑制剂和CD40

活化剂的组合、或CTLA-4抑制剂和4-1BB活化剂的组合)。在一些实施方案中,套装还包括选自下列组成的组的免疫相关分子:GM-CSF、IL-2、IL12、干扰素(例如1型、2型或3型干扰素,例如干扰素 $\gamma$ )、CCL4、CCL19、CCL21、CXCL13、TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、RIG-I、MDA5、LGP2、LT $\alpha$  $\beta$ 、STING活化剂(例如CDN)、PRRago(例如CpG、咪喹莫特或聚I:C)、TLR刺激物(例如GS-9620、AED-1419、CYT-003-QbG10、AVE-0675或PF-7909)和RLR刺激物(例如RIG-I、Mda5或LGP2刺激物)。在一些实施方案中,套装还包括包括转导增强剂的预处理组合物,例如N-十二烷基- $\beta$ -D-麦芽糖苷(DDM)。在一些实施方案中,套装还包括多个不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,多个不活化的肿瘤细胞为自体的、同种异体的、来自肿瘤细胞系、或它们的组合。在一些实施方案中,通过辐照使多个不活化的肿瘤细胞不活化。在一些实施方案中,套装还包括用于在施用之前混合感染剂和多个不活化的肿瘤细胞的装置、材料和/或说明书。在一些实施方案中,用于局部施用的装置用于同时施用多个不活化的肿瘤细胞和感染剂。在一些实施方案中,用于局部施用的装置用于将感染剂、和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞施用直接至肿瘤中。在一些实施方案中,用于局部施用的装置用于将感染剂、和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,局部施用是膀胱内施用。在一些实施方案中,套装还包括用于实施上述方法中的任一者的说明书。

[0288] 在一些实施方案中,提供用于治疗个体的实体或淋巴肿瘤(例如用于抑制肿瘤转移)的套装,其包括:a)复制胜任溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒),b)免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合),以及c)用于向肿瘤部位局部施用用于向肿瘤部位局部施用溶瘤病毒和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)的装置。在一些实施方案中,溶瘤病毒包括可操作连接至病毒复制所必需的基因(例如,E1A、E1B或E4基因)的肿瘤特异性启动子(例如E2F-1启动子)。在一些实施方案中,溶瘤病毒包括编码免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素)的核酸。在一些实施方案中,编码免疫相关分子的核酸可操作连接至病毒启动子,例如E3启动子。在一些实施方案中,免疫刺激剂为OX40、4-1BB或CD40的活化剂(例如激动剂抗体)。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点分子的调节剂,该免疫检查点分子选自下列组成的组(例如抗体):CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、TIM3、B7-H3、B7-H4、LAG-3、KIR、以及它们的配体。在一些实施方案中,套装包括免疫调节剂的组合,其包括一种或多种免疫检查点抑制剂和/或一种或多种免疫刺激剂(例如CTLA-4抑制剂和CD40活化剂的组合、或CTLA-4抑制剂和4-1BB活化剂的组合)。在一些实施方案中,套装还包括包括转导增强剂的预处理组合物,例如N-十二烷基- $\beta$ -D-麦芽糖苷(DDM)。在一些实施方案中,多个不活化的肿瘤细胞为自体的、同种异体的、来自肿瘤细胞系、或它们的组合。在一些实施方案中,通过辐照使多个不活化的肿瘤细胞不活化。在一些实施方案中,套装还包括用于在施用之前混合溶瘤病毒和多个不活化的肿瘤细胞的装置、材料和/或说明书。在一些实施方案中,用于局部施用的装置用于同时施用多个不活化的肿瘤细胞和溶瘤病毒。在一些实施方案中,用于局部施用的装置用于将溶瘤病毒、和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)、和/或不活化的肿瘤细胞施用直接至肿瘤中。在一些实施方案中,用于局部施用的装置用于将溶瘤病毒、和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,局部施用是膀胱内施用。在一些实施方案中,套装还包括用于实施上述方法中的任一者的说明书。

[0289] 在一些实施方案中,提供用于治疗个体的实体或淋巴瘤(例如用于抑制肿瘤转移)的套装,其包括:a)腺病毒血清型5,其中天然腺病毒的内源性E1a启动子和E3 19kD编码区经人类E2F-1启动子和编码免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素,例如GM-CSF)的核酸置换,b)免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合),以及c)用于向肿瘤部位局部施用用于向肿瘤部位局部施用溶瘤病毒和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)的装置。在一些实施方案中,免疫刺激剂为OX40、4-1BB或CD40的活化剂(例如激动剂抗体)。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点分子的调节剂,该免疫检查点分子选自由下列组成的组(例如抗体):CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、TIM3、B7-H3、B7-H4、LAG-3、KIR、以及它们的配体。在一些实施方案中,套装包括免疫调节剂的组合,其包括一种或多种免疫检查点抑制剂和/或一种或多种免疫刺激剂(例如CTLA-4抑制剂和CD40活化剂的组合、或CTLA-4抑制剂和4-1BB活化剂的组合)。在一些实施方案中,套装还包括包括转导增强剂的预处理组合物,例如N-十二烷基- $\beta$ -D-麦芽糖苷(DDM)。在一些实施方案中,多个不活化的肿瘤细胞为自体的、同种异体的、来自肿瘤细胞系、或它们的组合。在一些实施方案中,通过辐照使多个不活化的肿瘤细胞不活化。在一些实施方案中,套装还包括用于在施用之前混合腺病毒和多个不活化的肿瘤细胞的装置、材料和/或说明书。在一些实施方案中,用于局部施用的装置用于同时施用多个不活化的肿瘤细胞和腺病毒。在一些实施方案中,用于局部施用的装置用于将腺病毒、和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)、和/或不活化的肿瘤细胞施用直接至肿瘤中。在一些实施方案中,用于局部施用的装置用于将腺病毒、和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,局部施用是膀胱内施用。在一些实施方案中,套装还包括用于实施上述方法中的任一者的说明书。

[0290] 在一些实施方案中,提供用于治疗个体的实体或淋巴瘤(例如用于抑制肿瘤转移)的套装,其包括:a)CG0070,b)免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合),以及c)用于向肿瘤部位局部施用用于向肿瘤部位局部施用溶瘤病毒和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)的装置。在一些实施方案中,免疫刺激剂为OX40、4-1BB或CD40的活化剂(例如激动剂抗体)。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点分子的调节剂,该免疫检查点分子选自由下列组成的组(例如抗体):CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、TIM3、B7-H3、B7-H4、LAG-3、KIR、以及它们的配体。在一些实施方案中,套装包括免疫调节剂的组合,其包括一种或多种免疫检查点抑制剂和/或一种或多种免疫刺激剂(例如CTLA-4抑制剂和CD40活化剂的组合、或CTLA-4抑制剂和4-1BB活化剂的组合)。在一些实施方案中,套装还包括包括转导增强剂的预处理组合物,例如N-十二烷基- $\beta$ -D-麦芽糖苷(DDM)。在一些实施方案中,多个不活化的肿瘤细胞为自体的、同种异体的、来自肿瘤细胞系、或它们的组合。在一些实施方案中,通过辐照使多个不活化的肿瘤细胞不活化。在一些实施方案中,套装还包括用于在施用之前混合CG0070和多个不活化的肿瘤细胞的装置、材料和/或说明书。在一些实施方案中,用于局部施用的装置用于同时施用多个不活化的肿瘤细胞和CG0070。在一些实施方案中,用于局部施用的装置用于将CG0070、和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞施用直接至肿瘤中。在一些实施方案中,用于局部施用的装置用于将CG0070、和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,局部施用是膀胱内施用。在一些实施方案中,套装还包括用于实施上述方法中的任一者的说明书。

[0291] 套装还可包括适于治疗的个体的选择的说明。例如, 套装可包括基于一个或多个生物标记(例如PD-1、PD-L1或PD-L2)的表达的个体的选择的说明。在一些实施方案中, 套装还包括用于评价生物标记(例如PD-1、PD-L1或PD-L2)的表达程度的试剂。本发明套装中供应的说明书通常为标记或包装插页(例如, 套装中包括的纸页)上的书面说明书, 但也可接受机读说明书(例如, 载于磁性或光学储存盘上的说明书)。

[0292] 另外提供肿瘤细胞制备套装, 其包括执行肿瘤解离和制备的材料和说明书、酶和/或病毒载体转导试剂、冷冻保藏小瓶等, 以及含有使用说明的包装插页。肿瘤细胞制备套装可用于提供不活化的肿瘤细胞, 并且套装可与用于治疗上述实体或淋巴肿瘤的套装中的任一者组合用于实施包括感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)以及经分离和不活化的肿瘤细胞的组合疗法。

[0293] 与感染剂(例如溶瘤腺病毒, 例如CG0070)和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)的使用有关的说明书通常包括关于用于预期治疗的剂量、给药时间表和施用途径的信息。容器可为单位剂量、体包装(例如, 多剂量包装)或亚单位剂量。例如, 可提供含有足够剂量的如本文公开的感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)以提供个体的有效治疗达延长时段(例如一周、8天、9天、10天、11天、12天、13天、2周、3周、4周、6周、8周、3个月、4个月、5个月、7个月、8个月、9个月或更长时间中的任一者)的套装。套装也可包括感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)的多个单位剂量和使用说明书, 其以足以储存并用于药房(例如动物药房和复合药房)的量包装。

[0294] 本发明的套装是呈适宜包装。适宜包装包括但不限于小瓶、瓶、广口瓶、挠性包装(例如, 密封Mylar或塑料袋)及诸如此类。套装可视情况提供附加组分, 例如缓冲液和解释性信息。因此, 本专利申请还提供制品, 其包括小瓶(例如密封小瓶)、瓶、广口瓶、挠性包装及诸如此类。

[0295] 该制品可包括容器和位于该容器上或与该容器相连的标记或包装插页。适宜容器包括(例如)瓶、小瓶、注射器等。此类容器可自多种材料(例如玻璃或塑料)形成。通常, 容器容纳有效治疗本文所述疾病或病况的组合物, 并且可具有无菌存取埠(例如, 该容器可为静脉内溶液袋或具有可由皮下注射针刺穿的塞子的小瓶)。组合物中的至少一种活性剂为a) 感染剂; 或b) 免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)。标记或包装插页指示该组合物用于治疗个体的特定病况。标记或包装插页将还包括用于向个体施用组合物的说明书。还涵盖包括本文所述组合疗法的制品和套装。

[0296] 包装插页是指通常包括于治疗产品的商业包装内的说明书, 其含有关于适应症、用法、剂量、施用、禁忌症和/或关于此类治疗产品的使用的警告的信息。在一些实施方案中, 包装插页指示该组合物用于治疗实体或淋巴瘤(例如膀胱癌、肾细胞癌或黑色素瘤)。

[0297] 另外, 制品可另外包括第二容器, 该第二容器包括药学上可接受的缓冲液, 例如注射用抑菌水(BWFI)、磷酸盐缓冲盐水、林格氏溶液(Ringer's solution)和右旋糖溶液。其还可包括自商业和使用者角度来看期望的其他材料, 包括其他缓冲液、稀释剂、滤膜、针和注射器。

[0298] 用于局部施用(例如膀胱内或肿瘤内注射)感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞的医疗装置为业内已知。举例而言, 用于膀胱内递送的医疗装置可包括导管, 例如Rusch 173430 Foley导管和BARD LUBRI-SIL Foley导管编号

70516SI。用于肿瘤内注射的医疗装置可包括注射器、针或针数组和多个出口。肿瘤内注射装置可尤其经设计以确保感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞在肿瘤部位中均匀分布。在一些实施方案中,肿瘤内注射装置包括强制空气喷嘴。

[0299] 在另一方面中,提供包括感染剂和免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)的药物组合物(例如,混合剂)。例如,在一些实施方案中,提供包含以下的药物组合物:a) 感染剂,b) 免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合),以及c) 适于将组合物局部施用至肿瘤部位的药学上可接受的赋形剂。在一些实施方案中,感染剂为病毒,例如溶瘤病毒,例如溶瘤腺病毒。在一些实施方案中,感染剂包括编码免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素)的核酸。在一些实施方案中,免疫相关分子选自由下列组成的组:GM-CSF、IL-2、IL12、干扰素(例如1型、2型或3型干扰素,例如干扰素 $\gamma$ )、CCL4、CCL19、CCL21、CXCL13、TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、RIG-I、MDA5、LGP2和LT $\alpha\beta$ 。在一些实施方案中,药物组合物还包括选自由下列组成的组的免疫相关分子:GM-CSF、IL-2、IL12、干扰素(例如1型、2型或3型干扰素,例如干扰素 $\gamma$ )、CCL4、CCL19、CCL21、CXCL13、TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、RIG-I、MDA5、LGP2、LT $\alpha\beta$ 、STING活化剂(例如CDN)、PRRago(例如CpG、咪喹莫特或聚I:C)、TLR刺激物(例如GS-9620、AED-1419、CYT-003-QbG10、AVE-0675或PF-7909)和RLR刺激物(例如RIG-I、Mda5或LGP2刺激物)。在一些实施方案中,药物组合物还包括包括转导增强剂的预处理组合物,例如N-十二烷基- $\beta$ -D-麦芽糖苷(DDM)。在一些实施方案中,药物组合物还包括多个不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,多个不活化的肿瘤细胞为自体的、同种异体的、来自肿瘤细胞系、或它们的组合。在一些实施方案中,通过辐照使多个不活化的肿瘤细胞不活化。在一些实施方案中,免疫刺激剂为OX40、4-1BB或CD40的活化剂(例如激动剂抗体)。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点分子的调节剂,该免疫检查点分子选自由下列组成的组(例如抗体):CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、TIM3、B7-H3、B7-H4、LAG-3、KIR、以及它们的配体。在一些实施方案中,药物组合物包括免疫调节剂的组合,其包括一种或多种免疫检查点抑制剂和/或一种或多种免疫刺激剂(例如CTLA-4抑制剂和CD40活化剂的组合、或CTLA-4抑制剂和4-1BB活化剂的组合)。在一些实施方案中,赋形剂适于将感染剂和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,赋形剂适于将感染剂和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,赋形剂为聚合物,例如水凝胶。在一些实施方案中,聚合物(例如,水凝胶)适于延迟感染剂、和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞的释放。

[0300] 在一些实施方案中,提供包括以下的药物组合物:a) 复制胜任溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒),b) 免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合),以及c) 适于将组合物局部施用至肿瘤部位的药学上可接受的赋形剂。在一些实施方案中,溶瘤病毒包括可操作连接至病毒复制所必需的基因(例如,E1A、E1B或E4基因)的肿瘤特异性启动子(例如E2F-1启动子)。在一些实施方案中,溶瘤病毒包括编码免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素)的核酸。在一些实施方案中,编码免疫相关分子的核酸可操作连接至病毒启动子,例如E3启动子。在一些实施方案中,药物组合物还包括多个不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,多个不活化的肿瘤细胞为自体的、同种异体的、来自肿瘤细胞系、或它们的组合。在一些实施方案中,通过辐照使多个不活化的肿瘤细胞不活化。在一些实施方案中,免疫刺激剂为OX40、4-1BB或CD40的

活化剂(例如激动剂抗体)。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点分子的调节剂,该免疫检查点分子选自由下列组成的组(例如抗体):CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、TIM3、B7-H3、B7-H4、LAG-3、KIR、以及它们的配体。在一些实施方案中,药物组合物包括免疫调节剂的组合,其包括一种或多种免疫检查点抑制剂和/或一种或多种免疫刺激剂(例如CTLA-4抑制剂和CD40活化剂的组合、或CTLA-4抑制剂和4-1BB活化剂的组合)。在一些实施方案中,赋形剂适于将溶瘤病毒和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,赋形剂适于将溶瘤病毒和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,赋形剂为聚合物,例如水凝胶。在一些实施方案中,聚合物(例如,水凝胶)适于延迟溶瘤病毒、和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞的释放。

[0301] 在一些实施方案中,提供包括以下的药物组合物:a)腺病毒血清型5,其中天然腺病毒的内源性E1a启动子和E3 19kD编码区经人类E2F-1启动子和编码免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素,例如GM-CSF)的核酸置换;b)免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合),以及c)适于将组合物局部施用至肿瘤部位的药学上可接受的赋形剂。在一些实施方案中,药物组合物还包括多个不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,多个不活化的肿瘤细胞为自体的、同种异体的、来自肿瘤细胞系、或它们的组合。在一些实施方案中,通过辐照使多个不活化的肿瘤细胞不活化。在一些实施方案中,免疫刺激剂为OX40、4-1BB或CD40的活化剂(例如激动剂抗体)。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点分子的调节剂,该免疫检查点分子选自由下列组成的组(例如抗体):CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、TIM3、B7-H3、B7-H4、LAG-3、KIR、以及它们的配体。在一些实施方案中,药物组合物包括免疫调节剂的组合,其包括一种或多种免疫检查点抑制剂和/或一种或多种免疫刺激剂(例如CTLA-4抑制剂和CD40活化剂的组合、或CTLA-4抑制剂和4-1BB活化剂的组合)。在一些实施方案中,赋形剂适于将腺病毒和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,赋形剂适于将腺病毒和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,赋形剂为聚合物,例如水凝胶。在一些实施方案中,聚合物(例如,水凝胶)适于延迟腺病毒、和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞的释放。

[0302] 在一些实施方案中,提供包括以下的药物组合物:a)CG0070;b)免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合),以及c)适于将组合物局部施用至肿瘤部位的药学上可接受的赋形剂。在一些实施方案中,药物组合物还包括复数个不活化的肿瘤细胞。在一些实施方案中,多个不活化的肿瘤细胞为自体的、同种异体的、来自肿瘤细胞系、或它们的组合。在一些实施方案中,通过辐照使多个不活化的肿瘤细胞不活化。在一些实施方案中,免疫刺激剂为OX40、4-1BB或CD40的活化剂(例如激动剂抗体)。在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点分子的调节剂,该免疫检查点分子选自由下列组成的组(例如抗体):CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、TIM3、B7-H3、B7-H4、LAG-3、KIR、以及它们的配体。在一些实施方案中,药物组合物包括免疫调节剂的组合,其包括一种或多种免疫检查点抑制剂和/或一种或多种免疫刺激剂(例如CTLA-4抑制剂和CD40活化剂的组合、或CTLA-4抑制剂和4-1BB活化剂的组合)。在一些实施方案中,赋形剂适于将CG0070和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞直接施用至肿瘤中。在一些实施方案中,赋形剂适于将CG0070和/或免疫调节剂

(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞施用至具有肿瘤的组织。在一些实施方案中,赋形剂为聚合物,例如水凝胶。在一些实施方案中,聚合物(例如,水凝胶)适于延迟CG0070、和/或免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和/或不活化的肿瘤细胞的释放。

[0303] 药物组合物可包括任何适宜赋形剂,包括用于药品递送的主动或被动赋形剂,例如聚合物和非聚合物系统。在一些实施方案中,赋形剂为天然多糖,例如表多糖水凝胶。适于用作药物组合物的赋形剂的示例性聚合物包括但不限于非生物可降解的聚合物,例如有机硅、交联PVA和EVA;生物可降解的天然聚合物,例如明胶、胶原、端胶原、硬葡聚糖、结兰胶和瓜尔胶;生物可降解的合成聚合物,例如PLA、PGA、PLGA、聚己内酯、聚对二噁烷、聚磷酸酯、聚酸酐和聚磷腈。可用作赋形剂的其他系统包括具有或无聚合物的微球体和纳米球体,包括“智能(smart)”聚合物系统,其包括pH反应性树枝状聚合物,例如聚-酰胺基酰胺(PAMAM)树枝状聚合物、聚(伸丙基亚胺)树枝状聚合物、聚(L-离氨酸)酯、聚(羟基脯氨酸)、聚(丙基丙烯酸)、聚(甲基丙烯酸)、CARBOPOL<sup>®</sup>、聚硅胺、EUDRAGIT<sup>®</sup> S-100、EUDRAGIT<sup>®</sup> L-100、几丁聚糖、聚(甲基丙烯酸)(PMMA)、PMAA-PEG共聚物、马来酸酐(MA)、甲基丙烯酸N,N-二甲基胺基乙基酯(DMAEMA);温度反应性聚合物,例如泊洛沙姆(Poloxamer)(PLURONICS<sup>®</sup>)、普拉司汀(Prolastin)、聚(N-取代的丙烯酰胺)、聚(有机磷腈)、具有聚(乙二醇)和氨基酸酯的环三磷腈、聚(乙二醇)/聚(乳酸-共-乙醇酸)的嵌段共聚物、聚(乙二醇)(PEG)、聚(丙二醇)(PPG)、PMAA、聚(乙烯醇)(PVA)、各种丝-弹性蛋白样聚合物、聚(硅胺)、聚(乙基甲醚)(PVME)、聚(乙基甲基噁唑啉酮)(PVMO)、聚(乙基吡咯啉酮)(PVP)、聚(N-乙基己内酰胺)、聚(N-乙基异丁基酰胺)、聚(乙基甲醚)、聚(N-乙基己内酰胺)(PVCL)、聚(硅氧基乙二醇)、聚(甲基丙烯酸二甲胺基乙基酯)、三嵌段共聚物聚(DL-乳酸交酯-共-乙交酯-b-乙二醇-b-DL-乳酸交酯-共-乙交酯)(PLGA-PEG-PLGA)、纤维素衍生物、海藻酸盐、结兰胶、木糖葡聚糖;磁场敏感性聚合物,例如聚(N-异丙基丙烯酰胺)(PNIPAAm);包括铁磁性材料PNIPAAm-共-丙烯酰胺的水凝胶;电信号敏感性聚合物,例如几丁聚糖、磺化聚苯乙烯、聚(噻吩)、聚(乙基噁唑啉);离子型聚合物,例如海藻酸钠(Ca<sup>2+</sup>)、几丁聚糖(Mg<sup>2+</sup>);以及光敏性聚合物,例如经修饰的聚(丙烯酰胺)。

[0304] 在一些实施方案中,感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和不活化的肿瘤细胞可独立地或一起调配于药物组合物中的聚合物(例如水凝胶)中。该聚合物(例如水凝胶)可使得药物组合物的一种或多种组分(即感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和不活化的肿瘤细胞中的任一者或组合)能够延迟释放。该聚合物(例如水凝胶)调配物中的一种或多种组分可延迟该组分在施用部位的释放至少1分钟、5分钟、10分钟、30分钟、1小时、2小时、3小时、6小时或更长时间中的任一者。该聚合物(例如水凝胶)可包括适宜材料中的任一者,例如业内已知的天然或合成聚合物。在一些实施方案中,该聚合物为生物可降解且生物相容的。

[0305] 本文所述组合物(例如药物组合物)的组分(包括感染剂、免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)和多个不活化的肿瘤细胞)可彼此以特定相对比率存在。在一些实施方案中,感染剂对不活化的肿瘤细胞的相对比率是基于感染倍数(MOI)指数,其是使用感染剂颗粒的数目对仅不活化的肿瘤细胞的数目或对活肿瘤细胞的总数目(包括不活化的肿瘤细胞和施用部位的活肿瘤细胞的估计数目)计算。在一些实施方案中,MOI为至少约1、2、5、10、50、

100、200、500、1000、5000、 $10^4$ 、 $10^5$ 、 $10^6$ 或更大中的任一者。在一些实施方案中,感染剂是以与估计肿瘤部位的体积成比例的量提供。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞是以受以下限制的量提供:自肿瘤生检、肿瘤切除、肿瘤细胞培养和业内已知分离肿瘤细胞的其他方法的制备。在一些实施方案中,感染剂是以约 $1 \times 10^5$ 个颗粒至约 $1 \times 10^{14}$ 个颗粒(例如约 $1 \times 10^{12}$ 个颗粒)提供于组合物中。在一些实施方案中,不活化的肿瘤细胞是以约 $1 \times 10^3$ 个细胞至约 $1 \times 10^8$ 个细胞(例如约 $1 \times 10^5$ 个不活化的肿瘤细胞)提供于组合物中。在一些实施方案中,免疫调节剂(包括免疫调节剂的组合)是以约0.1mg/Kg至约100mg/Kg体重(例如约1mg/Kg体重)提供于组合物中。

[0306] 在一些实施方案中,组合物的总量对于单一局部施用(例如肿瘤内注射或膀胱内施用)的全剂量足够。在一些实施方案中,组合物的总量对于向复数个肿瘤部位中的一者单一局部施用(例如肿瘤内注射)的分开剂量足够。在一些实施方案中,组合物的总量对于多次局部施用(包括向一个肿瘤部位中的单一局部施用(例如肿瘤内注射)与多个肿瘤部位的多次分开剂量施用的组合)足够。

#### [0307] 感染剂

[0308] 本文所述方法和组合物为关于感染剂,包括但不限于细菌(例如BCG)和病毒(包括病毒载体,例如溶瘤病毒,例如溶瘤腺病毒)。感染剂可为天然感染剂或经遗传修饰的感染剂,例如经减毒的感染剂、和/或具有附加有利特征(例如,在癌细胞中优先复制或编码免疫相关分子)的感染剂。

[0309] 在一些实施方案中,感染剂为病毒。适用于本发明中的示例性病毒包括但不限于腺病毒,例如H101( **ONCOCRINE**<sup>®</sup> )、CG-TG-102(Ad5/3-D24-GM-CSF)和CG0070;单纯疱疹病毒,例如Talimogene laherparapvec(T-VEC)和HSV-1716( **SEPREHVIR**<sup>®</sup> );里奥病毒,例如**REOLYSIN**<sup>®</sup>;牛痘病毒,例如JX-594;塞尼卡谷病毒,例如NTX-010和SVV-001;新城鸡瘟病毒,例如NDV-NS1和GL-ONC1;脊髓灰质炎病毒,例如PVS-RIP0;麻疹病毒,例如MV-NIS;柯萨奇病毒,例如Cavatak<sup>™</sup>;水疱性口炎病毒;马拉巴和棒状病毒;小病毒和腮腺炎病毒。

[0310] 在一些实施方案中,感染剂为细菌,例如分枝杆菌及其衍生物、或单核球增多性李氏菌。示例性分枝杆菌及其衍生物包括但不限于卡介苗(“BCG”)和分枝杆菌细胞壁-DNA复合物(“MCNA”或“MCC”,例如UROCIDIN<sup>™</sup>)。

[0311] 在一些实施方案中,感染剂为野生型感染剂。在一些实施方案中,感染剂经遗传修饰。在一些实施方案中,感染剂经减毒(例如经由多次传代、不活化或遗传修饰)。在一些实施方案中,感染剂仅为可引起感染、发炎或感染样效应的野生型感染剂的一个或多个部分。

[0312] 在一些实施方案中,感染剂为非溶瘤病毒。在一些实施方案中,非溶瘤病毒为野生型非溶瘤病毒。在一些实施方案中,非溶瘤病毒经遗传修饰。在一些实施方案中,非溶瘤病毒经减毒(例如经由多次传代、不活化或遗传修饰)。在一些实施方案中,非溶瘤病毒不复制。在一些实施方案中,非溶瘤病毒胜任复制。在一些实施方案中,非溶瘤病毒优先在癌细胞中复制。在一些实施方案中,非溶瘤病毒包括可操作连接至病毒复制所必需的病毒基因的肿瘤细胞特异性启动子和包括编码可操作连接至病毒启动子的免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素)的核酸的病毒载体。在一些实施方案中,免疫相关分子为GM-CSF。

[0313] 在一些实施方案中,感染剂为溶瘤病毒,例如溶瘤腺病毒。在一些实施方案中,溶瘤病毒为野生型溶瘤病毒。在一些实施方案中,溶瘤病毒经遗传修饰。在一些实施方案中,溶瘤病毒经减毒(例如经由多次传代、不活化或遗传修饰)。在一些实施方案中,溶瘤病毒胜任复制。在一些实施方案中,溶瘤病毒优先在癌细胞中复制。

[0314] 在一些实施方案中,感染剂为包括包括可操作连接至病毒复制所必需的病毒基因的肿瘤细胞特异性启动子的病毒载体的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒)。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为E2F-1启动子,例如人类E2F-1启动子或包括如下文所示SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。在一些实施方案中,病毒复制所必需的病毒基因选自由下列组成的组:E1A、E1B和E4。

[0315] SEQ ID NO:1

[0316]           gggcccaaaa ttagcaagtg accacgtggt tctgaagcca gtggcctaag gaccaccctt   60  
gcagaaccgt ggtctccttg tcacagtcta ggcagcctct ggcttagcct ctgtttcttt   120

cataacctt ctcagcgct gctctgggcc agaccagtgt tgggaggagt cgctactgag 180  
 ctctagatt ggcaggggag gcagatggag aaaaggagtg tgtgtgtca gcattggagc 240  
 agaggcagca gtgggcaata gaggaagtga gtaaactcct gggagggctc ctagaagtg 300  
 atgtgtttc tttttgtt ttagagacag gatctcgtc tctcggccag gctggtgtgc 360  
 agtggcatga tcatagctca ctgcagcctc gactctcgg gctcaagcaa tctcccacc 420  
 tcagcctccc aagtagctgg gactacgggc acacgccacc atgcctggct aattttgta 480  
 tttttgtag agatgggtct tcaccatgtt gatcaggctg gtctcgaact cctgggctca 540  
 tgcatccac cccgccagct gattacaggg attccgggtg tgagccaccg cgcccagacg 600  
 ccacttcac gtattgtaa cgtctgttac cttctgttc cctgtctac tggactgtga 660  
 gctcctagg gccacgaatt gaggatgggg cacagagcaa gctctccaaa cgtttgtga 720  
 atgagtgagg gaatgaatga gttcaagcag atgctatac tggctgtg gagattttg 780  
 [0317] ctaaatggg actigcagga aagcccagc tcccctcgc cattccagg caccgctct 840  
 cagctgggc tctgggtgag cgggataggg ctgggtgcag gattaggata atgcatggg 900  
 tgaggcaagt tgaggatgga agaggtggct gatggctggg ctgtggaact gatgatcctg 960  
 aaaagaagag gggacagtct ctggaatct aagctgaggc tgttgggggc tacaggttga 1020  
 gggtcacgtg cagaagagag gctctgttct gaacctgcac tatagaaagg tcagtgggat 1080  
 gcgggagcgt cggggcgggg cggggcctat gttcccgtgt ccccacgcct ccagcagggg 1140  
 acggccgggc tggggcggg gagtcagacc gcgcctgta ccatccggac aaagcctgcg 1200  
 cgcgccccgc cccgccattg gccgtaccgc cccgcgcgc cgccccatcc cgcccctcgc 1260  
 cgccgggtcc ggcgcttaa agccaatagg aaccgccgc gttgttccg tcaaggacgg 1320  
 ggagccaat tgtggcggcg ctggcggct cgtggctct tcgcgcaaa aaggattgg 1380  
 cgcgtaaaag tggccgggac ttgcaggca gcggcggccg gggcgggagc gggatcgagc 1440  
 cctcgccgag gcctgccgc atgggcccgc gccgccgcg ccgcctgtca cccgggccgc 1500  
 gcgggccgtg agcgtcatg 1519

[0318] 在一些实施方案中,感染剂为包括包括可操作连接至病毒复制所必需的病毒基因的肿瘤细胞特异性启动子和编码可操作连接至病毒启动子的免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素)的核酸的病毒载体的溶瘤病毒(例如溶瘤腺病毒)。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为E2F-1启动子,例如人类E2F-1启动子或包括SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。在一些实施方案中,病毒复制所必需的病毒基因选自由下列组成的组: E1A、E1B和E4。在一些实施方案中,可操作连接至编码免疫相关分子的核酸的病毒启动子为E3启动子。在一些实施方案中,免疫相关分子为GM-CSF。

[0319] 在一些实施方案中,感染剂为腺病毒血清型5,其中天然腺病毒的内源性E1a启动子和E3 19kD编码区经人类E2F-1启动子和编码免疫相关分子(例如细胞介素或趋化介素,例如GM-CSF)的核酸置换。在一些实施方案中,肿瘤特异性启动子为人类E2F-1启动子或包括SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列的E2F-1启动子。

[0320] 在一些实施方案中,感染剂为CG0070,一种具有E1a基因的E2F启动子和E3基因的

GM-CSF表达的腺病毒血清型5。

[0321] CG0070为经设计以优先在Rb途径缺陷性癌细胞中复制并杀死此类细胞的条件性复制溶瘤腺病毒(血清型5)。此载体是由在Rb途径缺陷性肿瘤细胞中上调的启动子(例如E2F-1启动子)转录调控。在约85%的所有癌症中,Rb途径的一个或多个基因(例如肿瘤抑制Rb基因)突变。CG0070除其限制繁殖外还编码人类细胞介素GM-CSF,其在感染肿瘤细胞中选择性表达以针对未感染远程(例如转移)和局部肿瘤病灶刺激免疫反应。

[0322] 溶瘤腺病毒载体CG0070的基因体结构示意图示于图1中。腺病毒早期E1A基因的产物是腺病毒基因体的其他区的足够表达所必需的。CG0070经改造以在人类E2F-1启动子控制下表达E1A基因,该人类E2F-1启动子提供针对E1A基因产物的肿瘤特异性。为防止转录通读活化E1A表达,在E2F-1启动子的5'插入多聚腺苷酸化信号(PA)。CG0070包括除19kD-编码区外的整个野生型E3区。含E3的溶瘤腺病毒载体与E3缺失的溶瘤腺病毒载体的直接比较显示含E3的载体在肿瘤扩散和效能中的优势。代替19kD基因,CG0070携带在内源性E3启动子(E3P)控制下的人类GM-CSF的cDNA。由于E3启动子又被E1A活化,故病毒复制和GM-CSF表达二者最终皆在E2F-1启动子控制下。病毒载体主链的其余部分(包括E2、E4、晚期蛋白质区和反转末端重复(ITR)),与野生型Ad5基因体相同。

[0323] CG0070是在HeLa-S3细胞中制备,并借由清洁剂溶解自感染的HeLa-S3细胞释放。借由层析自溶解物纯化CG0070,随后调配于5%蔗糖、10mM Tris、0.05%聚山梨醇酯-80、1%甘氨酸、1mM氯化镁(pH 7.8)中。

[0324] CG0070以无菌、轻微乳白色、冷冻液体形式于加塞子的玻璃小瓶中供应。在每批次CG0070的分析证书上列出每mL的颗粒浓度(vp/mL)。

[0325] CG0070的附加潜在抗肿瘤活性在于其携带人类GM-CSF(一种用于产生长效抗肿瘤免疫性的关键细胞介素)的cDNA。因此,CG0070为具有通过两种机制攻击肿瘤的潜力的选择性复制的溶瘤载体:作为复制载体的直接细胞毒性和诱导宿主免疫反应。在以下部分中概述为表征CG0070的肿瘤选择性和抗肿瘤活性和安全性而执行的活体外和活体内研究。

#### [0326] 免疫调节剂

[0327] 在一些实施方案中,本发明的方法包括施用感染剂与免疫调节剂。

[0328] “免疫调节剂”是指在存在时改变、抑制或刺激身体的免疫系统的试剂。免疫调节剂可靶向特异性分子(例如检查点分子),或非特异性调节免疫反应。免疫调节剂可包括活化免疫系统的组合物或调配物(例如,佐剂或活化剂)或下调免疫系统的组合物或调配物。佐剂可包括基于铝的组合物、以及包括细菌或分枝杆菌细胞壁组分的组合物。活化剂可包括活化抗原呈递细胞以刺激细胞免疫反应的分子。例如,活化剂可为免疫刺激性肽。活化剂可包括但不限于类铕受体TLR-2、3、4、6、7、8或9的激动剂、颗粒球巨噬细胞群落刺激因子(GM-CSF);TNF;CD40L;CD28;FLT-3配体;或细胞介素,例如IL-1、IL-2、IL-4、IL-7、IL-12、IL-15或IL-21。活化剂可包括T细胞上的活化受体(包括共刺激受体)的激动剂,例如CD28、OX40、GITR、CD137、CD27、CD40或HVEM的激动剂(例如,激动性抗体)。活化剂也可包括抑制免疫抑制剂的活性的化合物(例如免疫抑制IL-10、IL-35、TGF- $\beta$ 、IDO或环磷酰胺的抑制剂),或抑制免疫检查点的活性的化合物(例如CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、LAG3、B7-1、B7-H3、B7-H4、BTLA、VISTA、KIR、A2aR或TIM3的拮抗剂(例如,拮抗性抗体))。活化剂也可包括共刺激分子,例如CD40、CD80或CD86。免疫调节剂也可包括下调免疫系统的试剂,例如针对IL-

12p70的抗体、类铎受体TLR-2、3、4、5、6、8或9的拮抗剂、或免疫功能的一般阻抑剂(例如环磷酰胺、环孢素A或FK506)。此类试剂(例如,佐剂、活化剂或下调剂)可经组合以达成最佳免疫反应。

[0329] 本发明中尤其感兴趣的免疫调节剂包括免疫刺激剂和免疫检查点抑制剂。如本文所用术语“免疫检查点抑制剂”、“检查点抑制剂”及诸如此类是指抑制免疫系统的控制机制的活性的化合物。免疫系统检查点或免疫检查点为免疫系统中通常用于维持自身耐受性或调节生理免疫反应的持续时间和幅度以最小化附带组织损害的抑制性途径。检查点抑制剂可在途径中通过刺激刺激性检查点分子的活性或抑制抑制性检查点分子的活性来抑制免疫系统检查点。刺激性检查点分子为刺激或正性调控免疫系统的分子(例如蛋白质)。抑制性检查点分子为抑制或负性调控免疫系统的分子(例如蛋白质)。免疫系统检查点分子包括但不限于细胞毒性T-淋巴球抗原4(CTLA-4)、程序化细胞死亡1蛋白质(PD-1)、程序化细胞死亡1配体1(PD-L1)、程序化细胞死亡1配体2(PD-L2)、淋巴球活化基因3(LAG3)、B7-1、B7-H3、B7-H4、T细胞膜蛋白质3(TIM3)、B-和T-淋巴球减毒剂(BTLA)、含有V-结构域免疫球蛋白(Ig)的T细胞活化阻抑剂(VISTA)、杀伤细胞免疫球蛋白样受体(KIR)和A2A腺苷受体(A2aR)。因此,检查点抑制剂包括CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、LAG3、B7-1、B7-H3、B7-H4、BTLA、VISTA、KIR、A2aR或TIM3的拮抗剂。例如,结合至CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、LAG3、B7-1、B7-H3、B7-H4、BTLA、VISTA、KIR、A2aR或TIM3且拮抗其功能的抗体为检查点抑制剂。此外,抑制免疫系统检查点的抑制性功能的任何分子(例如,肽、核酸、小分子等)为检查点抑制剂。

[0330] 免疫调节剂可为业内已知的分子模态中的任一者,包括但不限于适配体、mRNA、siRNA、微小RNA、shRNA、肽、抗体、抗运载蛋白、球形核酸、TALEN、锌指核酸酶、CRISPR/Cas9和小分子。

[0331] 在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫刺激剂。在一些实施方案中,免疫刺激剂为免疫刺激分子的天然或经改造的配体,包括(例如)OX40的配体(例如,OX40L)、CD-28的配体(例如,CD80、CD86)、ICOS的配体(例如,B7RP1)、4-1BB的配体(例如,4-1BBL、Ultra4-1BBL)、CD27的配体(例如,CD70)、CD40的配体(例如,CD40L)和TCR的配体(例如,MHC I类或II类分子、IMCgp100)。在一些实施方案中,免疫刺激剂为选自由下列组成的组的抗体:抗CD28(例如,TGN-1412)、抗OX40(例如,MEDI6469、MEDI-0562)、抗ICOS(例如,MEDI-570)、抗GITR(例如,TRX518、INBRX-110、NOV-120301)、抗41-BB(例如,BMS-663513、PF-05082566)、抗CD27(例如,BION-1402、瓦利路单抗和hCD27.15)、抗CD40(例如,CP870,893、BI-655064、BMS-986090、APX005、APX005M)、抗CD3(例如,布利莫单抗、莫罗单抗)和抗HVEM。在一些实施方案中,抗体为激动性抗体。在一些实施方案中,抗体为单株抗体。在一些实施方案中,抗体为选自由下列组成的组的抗原结合片段:全长抗体的Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、scFv以及其他抗原结合子序列。在一些实施方案中,抗体为人类、人类化或嵌合抗体。在一些实施方案中,抗体为双特异性抗体、多特异性抗体、单一结构域抗体、包括抗体部分的融合蛋白、或其任何其他功能变体或衍生物。

[0332] 在一些实施方案中,免疫调节剂为免疫检查点抑制剂。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂为抑制性免疫检查点分子的天然或经改造的配体,包括(例如)CTLA-4的配体(例如,B7.1、B7.2)、TIM3的配体(例如,半乳凝素-9)、A2a受体的配体(例如,腺苷、

Regadenoson)、LAG3的配体(例如,MHC I类或MHC II类分子)、BTLA的配体(例如,HVEM、B7-H4)、KIR的配体(例如,MHC I类或MHC II类分子)、PD-1的配体(例如,PD-L1、PD-L2)、IDO的配体(例如,NKTR-218、吡啶西莫、NLG919)和CD47的配体(例如,SIRP- $\alpha$ 受体)。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂为靶向抑制性免疫检查点蛋白的抗体。在一些实施方案中,免疫调节剂为选自由下列组成的组的抗体:抗CTLA-4(例如,伊匹单抗、曲美目单抗、KAHR-102)、抗TIM3(例如,F38-2E2、ENUM005)、抗LAG3(例如,BMS-986016、IMP701、IMP321、C9B7W)、抗KIR(例如,利利单抗和IPH2101)、抗PD-1(例如,尼沃鲁单抗、匹利珠单抗、派姆单抗、BMS-936559、阿替珠单抗、兰布鲁珠单抗、MK-3475、AMP-224、AMP-514、STI-A1110、TSR-042)、抗PD-L1(例如,KY-1003(EP20120194977)、MCLA-145、RG7446、BMS-936559、MEDI-4736、MSB0010718C、AUR-012、STI-A1010、PCT/US2001/020964、MPDL3280A、AMP-224、达匹珠单抗(CDP-7657)、MEDI-4920)、抗CD73(例如,AR-42(OSU-HDAC42、HDAC-42、AR42、AR 42、OSU-HDAC 42、OSU-HDAC-42、NSC D736012、HDAC-42、HDAC 42、HDAC42、NSCD736012、NSC-D736012)、MEDI-9447)、抗B7-H3(例如,MGA271、DS-5573a、8H9)、抗CD47(例如,CC-90002、TTI-621、VLST-007)、抗BTLA、抗VISTA、抗A2aR、抗B7-1、抗B7-H4、抗CD52(例如阿伦单抗)、抗IL-10、抗IL-35和抗TGF- $\beta$ (例如夫苏木单抗)。在一些实施方案中,抗体为拮抗性抗体。在一些实施方案中,抗体为单株抗体。在一些实施方案中,抗体为选自由下列组成的组的抗原结合片段:全长抗体的Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、scFv以及其他抗原结合子序列。在一些实施方案中,抗体为人类、人类化或嵌合抗体。在一些实施方案中,抗体为双特异性抗体、多特异性抗体、单一结构域抗体、包括抗体部分的融合蛋白、或其任何其他功能变体或衍生物。

[0333] 免疫调节剂可单独或组合使用。例如,任一数目(例如1、2、3、4、5、6或更多中的任一者)的免疫检查点抑制剂可同时或依序使用,或任一数目(例如2、3、4、5、6或更多中的任一者)的免疫刺激剂可同时或依序使用。或者,与任一数目(例如2、3、4、5、6或更多中的任一者)的免疫刺激剂组合的任一数目(例如1、2、3、4、5、6或更多中的任一者)的免疫检查点抑制剂可同时或依序使用。免疫调节剂的依序施用可隔开数小时、数天或数周。两种或更多种免疫调节剂的施用途径可相同或不同。例如,一种免疫调节剂可肿瘤内施用,并且第二免疫调节剂可静脉内施用;或两种免疫调节剂可皆肿瘤内施用。

[0334] 下文论述示例性免疫检查点分子及其免疫调节剂。应理解,业内已知的其他适宜免疫检查点分子和免疫调节剂还在本专利申请的范围内。

#### [0335] CTLA-4

[0336] CTLA-4为在活化的T细胞上被上调的免疫检查点分子。抗CTLA-4mAb可阻断CTLA-4与CD80/86的相互作用并切断免疫抑制的机制并使得能够由DC连续刺激T细胞。抗CTLA-4抗体的示例为伊匹单抗(参见美国专利6,984,720、7,452,535、7,605,238、8,017,114和8,142,778)、曲美木单抗(参见美国专利6,68,736、7,109,003、7,132,281、7,411,057、7,807,797、7,824,679和8,143,379)以及其他抗CTLA-4抗体(包括单链抗体)(例如,参见美国专利5,811,097、6051,227和7,229,628以及美国专利公开US20110044953)。

[0337] 针对CTLA-4的两种IgG mAb伊匹单抗和曲美目单抗已在临床试验中测试用于多种适应症。伊匹单抗由FDA批准用于治疗黑色素瘤,例如用于晚期阶段黑色素瘤患者。完全处方资讯完全阐述于YERVOY<sup>®</sup>(Bristol Meyers)的包装插页中。YERVOY<sup>®</sup>(伊匹单

抗)以50mg单次使用小瓶出现。

[0338] 抗运载蛋白为能够识别并以高亲和力结合特异性靶标的经改造蛋白。其为抗体仿真物,但其在结构上与抗体无关。相反,其为源自属天然结合蛋白的家族的人类脂质运载蛋白。使用抗运载蛋白代替单株抗体,但是大小为约180个氨基酸且质量为约20kDa的单株抗体的约1/8。抗运载蛋白阐述于美国专利7,250,297中。已研发以高亲和力和特异性结合CTLA-4的抗运载蛋白,其阐述于(例如)国际专利申请公开W02012072806中。CTLA-4-结合抗运载蛋白中的任一者皆可用于本申请中。在一些实施方案中,CTLA-4结合抗运载蛋白为PRS-010(Piers AG)。

#### [0339] PD-1

[0340] PD-1为调控T细胞活化和耐受的共刺激分子的B7/CD28家族的一部分,并且因此,拮抗性抗PD-1抗体可用于克服耐受性。PD-1被定义为B7-4的受体。B7-4在结合至免疫细胞上的抑制性受体时可抑制免疫细胞活化。PD-1/PD-L1途径的接合引起T细胞效应物功能的抑制、细胞介素分泌和增殖。(Turnis等人,OncoImmunology 1(7):1172-1174,2012)。高含量的PD-1与耗尽或长期刺激的T细胞相关。此外,增加的PD-1表达与癌症患者的降低存活有关。

[0341] 用于下调PD-1、B7-4和免疫细胞中的B7-4与PD-1抑制性信号之间的相互作用的药剂造成免疫反应增强。业内已知的抗PD-1抗体中的任一者皆可用于本发明中,例如参见美国专利US7101550、US5698520、US6808710、US7029674、US7794710、US7892540、US8008449、US8088905、US8163503、US8168757、US8354509、US8460927、US8609089、US8747833、US8779105、US8900587、US8952136、US8981063、US8993731、US9062112、US9067999、US9073994、US9084776、US9102728和US7488802;以及美国专利公开US20020055139、US20140044738。例如,尼沃鲁单抗为针对PD-1的人类mAb,其由FDA批准用于治疗不可切除的或转移性黑色素瘤以及鳞状非小细胞肺癌。

#### [0342] PD-L1/PD-L2

[0343] PD-L1(程序化细胞死亡-配体1)还称为分化簇274(CD274)或B7同系物1(B7-H1)。PD-L1用作PD-1的配体以在特定事件(例如怀孕、组织同种异体移植、自体免疫疾病以及其他疾病状态,例如肝炎和癌症)期间抑制免疫系统中起主要作用。PD-1受体/PD-L1配体复合物的形成传递抑制性信号,其减少淋巴结的CD8<sup>+</sup>T细胞的增殖。

[0344] 已知抗PD-L1抗体中的任一者皆可用于本发明中,参见(例如)美国专利US7943743、US7722868、US8217149、US8383796、US8552154和US9102725;以及美国专利申请公开US20140341917和US20150203580;以及国际专利申请PCT/US2001/020964。例如,正在临床研发中的抗PD-L1抗体包括BMS935559(还称为MDX-1105)、MPDL3280A、MEDI4736、阿维鲁单抗(还称为MSB0010718C)、KY-1003、MCLA-145、RG7446(还称为阿替珠单抗)和STI-A1010。

[0345] PD-L2(程序化细胞死亡1配体2)还称为B7-DC。PD-L2用作PD-1的配体。在某些情况下,PD-L2及其抑制剂分别可用作PD-L1及其抑制剂的替代物。

#### [0346] CD40

[0347] CD40(分化簇40)为在抗原呈递细胞上发现的共刺激蛋白且为此类细胞活化所需。T<sub>H</sub>细胞上CD40L(CD154)与CD40的结合活化抗原呈递细胞并诱导多种下游效应以刺激免疫

反应。

[0348] 刺激CD40的活性的试剂可用作免疫刺激剂。已知激动性抗CD40抗体中的任一者皆可用本发明中,参见(例如)美国专利US5786456、US5674492、US5182368、US5801227、US7824683、US6843989、US7618633、US7537763、US5677165、US5874082、US6051228、US6312693、US6315998、US6413514、US6838261、US6843989、US6946129、US7063845、US7172759、US7193064、US7288251、US7338660、US7547438、US7563442、US7626012、US8778345;以及美国专利公开US 2003059427、US 20020142358和US20050136055;国际专利公开W0 02/088186、W0 01/56603、W0 88/06891、W0 94/04570和W005/63289;Schlossman等人,Leukocyte Typing,1995,1:547-556;以及Paulie等人,1984,Cancer Immunol.Immunother.17:165-179。例如,正在临床研发中的激动性抗CD40抗体包括CP-870,893、达西珠单抗(还称为SGN-40)和ChiLob 7/4或APX005M。

[0349] OX40

[0350] OX40(还称为CD134和TNFRSF4)为受体的TNFR-超家族的成员。OX40为在T细胞活化后24至72小时之后表达的共刺激免疫检查点分子。OX40L与OX40的相互作用将持续T细胞增殖和免疫反应和记忆超出前两天。在T细胞由抗原启动期间或之后不久通过在T细胞表面上由OX40受体结合剂OX40L或OX40激动剂接合OX40受体来增强针对肿瘤抗原的免疫反应的方法可在CLIVS中用作免疫检查点抑制剂。

[0351] LAG-3

[0352] 使用LAG-3(淋巴球活化基因-3)和以更常见方式使用MHC II类配体或MHC II类样配体作为疫苗的佐剂以加强抗原特异性免疫反应已在临床前模型中成功。针对或调节LAG-3基因产物的抗体或试剂可在本发明中有帮助。关于LAG-3相关专利和申请专利范围的详情,参见美国专利5773578、引用和参考的专利。

[0353] 实施例

[0354] 以下实施例意欲对本发明仅为示例性且因此不应视为以任何方式限制本发明。以说明方式而非限制方式提供以下实施例和具体实施方式。

[0355] 实施例1:在具有肌肉侵袭性膀胱癌的患者中膀胱内施用CG0070与CTLA-4抑制剂的组合的I/II期临床研究

[0356] 此实施例阐述在具有肌肉侵袭性膀胱癌(MIBC)的患者中膀胱内施用CG0070与抗CTLA-4抗体的组合的临床研究。在本文中选择的肌肉侵袭性膀胱癌作为实施例,此乃因CG0070已显示在膀胱癌中具有活性。此外,所有肌肉侵袭性膀胱癌患者皆需要进行膀胱切除术,由此提供良好肿瘤样品以制备此疫苗系统所需的肿瘤细胞。另外,尽管使用前导性化学疗法,但肌肉侵袭性膀胱癌患者(T3-4)的预后较差。大部分此类患者为60岁以上且极少可经历化学疗法的严重副作用。可最小化此患者群体中疾病复发的风险的有效试剂未满足的需要。

[0357] 此临床研究为在具有移行细胞肌肉侵袭性膀胱癌疾病的患者中膀胱内CG0070与CTLA-4抑制剂的组合作为前导性疗法的I/II期、单臂、开放标签、介入剂量递增安全性和性能研究,此类患者经选择进行根治性膀胱切除术和盆腔淋巴结切除术。研究的主要安全性目标为研究在膀胱切除术之前CG0070和CTLA-4阻断对于MIBC患者的前导性治疗是否为安全且耐受的。研究的主要性能目标为测量在CG0070和CTLA-4抑制剂前导性治疗之后的肿瘤

PD-L1或PD-1含量变化。次要研究目标包括评估2年无疾病存活(DFS)、2年无进展存活(PFS)、整体存活(OS)、膀胱切除术时的病理完全反应比例(p0比例)、膀胱切除术时的病理分阶段降低比例和膀胱切除术时的器官限制疾病比例。

[0358] 在研究的I期部分中,(例如,3至6个)患者的队列以4个剂量值中的一者接受膀胱内CG0070和CTLA-4阻断。第一剂量值仅由CG0070组成。每一患者以4个剂量值中的一者接受每周4次滴注膀胱内CG0070(例如,在每一周的第1天)和自第二周(例如,第8、15和22天)每周3次CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗),并且CTLA-4抑制剂的施用为在CG0070之后。

[0359] 剂量递增遵循经修改的Fibonacci顺序,其中剂量增量随着剂量增加而变小。例如,如果队列中的前三个患者皆不经历剂量限制性毒性,则将以下一更高剂量值治疗另外三个患者。然而,如果前三个患者中的一者经历剂量限制性毒性,则将相同剂量值治疗另外三个患者。剂量递增继续,直至3至6个患者的队列中的至少2个患者经历剂量限制性毒性(即,在该剂量值下 $\geq 33\%$ 的患者具有剂量限制性毒性)。用于试验的下一阶段或期的推荐剂量通常被定义为恰好低于该毒性剂量值的剂量值。剂量限制性毒性(DLT)是使用常见不良事件评价准则(CTCAE)版本4定义。DLT定义为自治疗的第1周的第1天至第4周的第1天的 $\geq 3$ 级药品相关的不良事件(AE),包括需要中断研究治疗超过3个连续周和/或由于免疫相关毒性而永久性中断的任何3级或更高级毒性,但不包括肿瘤加剧的3级AE(定义为局部疼痛、刺激、或位于已知或怀疑肿瘤部位的疹)和皮肤(疹、瘙痒)或内分泌系统的3级免疫介导的事件(甲状腺功能减退、甲状腺功能亢进、垂体机能减退、肾上腺机能不全、性腺低能症和Cushingoid症候群),其在施用或未施用类固醇的情况下在3周内恢复至1级或基线。肝免疫毒性定义为天冬氨酸转氨酶、丙氨酸转氨酶或总胆红素的3级或更高级升高。将显著D-二聚体增加(自基线以至少 $1\mu\text{g}/\text{mL}$ 增加20%)与INR、PT、PTT、血小板或纤维蛋白原的 $>2$ 级变化的组合持续 $>7$ 天视为DLT。另外,将与CG0070治疗相关的临床上显著的血栓形成或出血视为DLT。将由于与研究治疗相关的毒性而治疗延迟超过21天的患者视为具有治疗相同的DLT。出于除治疗相关毒性外的原因,替换队列中治疗延迟超过7天或在3次施用之前退出研究的患者。最大耐受剂量(MTD)为在即将产生2DLT之前的剂量。如果最大可行剂量(MTD)未经定义,则无2DLT施用的最高剂量将为MFD。不允许此研究中患者的剂量降低。然而,如果剂量值1中6个患者中的至少2个经历DLT,则3个患者将入选剂量值1。此外,如果剂量值1中6个患者中的至少2个经历DLT,则3个患者将入选剂量值2。

[0360] 例如,剂量值I包括以 $1 \times 10^{12}$ 个病毒颗粒(vp)的剂量在4周内每周一次膀胱内施用单独CG0070。剂量值II包括:(1)以 $1 \times 10^{12}$ 个病毒颗粒(vp)的剂量在4周内每周一次膀胱内施用CG0070;以及(2)在CG0070滴注和引流后立刻以 $0.1\text{mg}/\text{Kg}$ 、但每个剂量总共不超过 $20\text{mg}$ 的剂量在3周中每周膀胱内施用CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗),自第2周开始且在第4周结束。剂量值III包括:(1)以 $1 \times 10^{12}$ 个病毒颗粒(vp)的剂量在4周内每周一次膀胱内施用CG0070;(2)在CG0070滴注和引流后立刻以 $0.2\text{mg}/\text{Kg}$ 、但每个剂量总共不超过 $20\text{mg}$ 的剂量在3周中每周膀胱内施用CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗),自第2周开始且在第4周结束。剂量值IV包括:(1)以 $1 \times 10^{12}$ 个病毒颗粒(vp)的剂量在4周内每周一次膀胱内施用CG0070;以及(2)在CG0070滴注和引流后立刻以 $0.3\text{mg}/\text{Kg}$ 、但每个剂量总共不超过 $20\text{mg}$ 的剂量在3周中每周膀胱内施用CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗),自第2周开始且在第4周结束。

[0361] 在研究的II期部分中,在4周治疗过程中以研究的I期部分中测定的剂量值向每一

患者膀胱内施用CG0070与CTLA-4抑制剂的组合。在研究的I期和II期部分二者期间,在施用膀胱内疗法之前,评价每一患者的不良事件,并且收集试样(例如血液和尿液试样)用于实验室评价。例如,在首次膀胱内施用CG0070之前,自每一患者收集血液和尿液试样以评价GM-CSF含量、以及CG0070和野生型腺病毒含量。在第2、3和4周施用中的每一者之前,收集患者的试样用于血液学(例如例如具有差异、化学和凝固的CBC)、血清化学(例如钠、钾、氯化物、BUN、肌酸酐、葡萄糖、总蛋白、白蛋白、钙、总胆红素、直接胆红素、碱性磷酸盐、LDH、AST、ALT和甲状腺功能)和尿分析的实验室评价。在每一CG0070治疗之前和在治疗期间每小时总共2小时记录生命征象(包括血压、脉搏、呼吸和温度)以确保患者在临床上稳定。

[0362] CG0070和CTLA-4抑制剂可如下施用。建议患者在治疗前4小时内不要喝流体,并且应在治疗施用前排空其膀胱。在研究当天,每一患者接受经由导管(Rusch 173430 Foley导管和BARD LUBRI-SIL Foley导管编号70516SI)经膀胱内施用的转导增强剂(DDM)的预处理。预处理包括用100mL生理盐水进行膀胱内洗涤、之后用75mL 0.1%DDM进行膀胱内洗涤。然后患者接受膀胱内滴注100mL的0.1%DDM,其在膀胱中保留12-15分钟,并且随后用100mL盐水冲洗。如果患者不能耐受至少5分钟的DDM预处理,则对该治疗应中断使用CG0070和CTLA-4抑制剂的进一步治疗。如果CG0070的膀胱内输注在DDM预处理后延迟超过2小时,则患者不会接受CG0070,并且必须在2天后不久重新排定DDM和CG0070治疗。如果治疗延迟超过2周,则患者必须在再治疗前继续满足合格性准则。在用DDM预处理后,每一患者经由导管(例如,Rusch 173430 Foley导管和BARD LUBRI-SIL Foley导管编号70516SI)接受100mL浓度为 $1.0 \times 10^{10}$  vp/mL的CG0070的单次膀胱内灌注,驻留时间为45至50分钟。治疗必须在任何先前膀胱生检后至少14天发生。在导管插入(创伤性导管插入术)期间经历出血的患者不应使用CG0070治疗。当CG0070保持在膀胱中时,患者应自左侧向右侧重新定位,并且还应在背部和腹部上以使膀胱表面暴露于CG0070最大化。患者位置每10-12分钟更换一次,总共45至50分钟。CG0070然后经由导管排放至处理袋中。一旦CG0070溶液自膀胱排出,则将适当剂量的CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗,例如 YERVOY<sup>®</sup>) (例如,I期研究的剂量值I不包括任何CTLA-4)稀释至100ml生理盐水中,并滴注至膀胱中。滴注后,然后撤出尿道导管,并且在通过排尿排空之前要求患者再保持45min至1小时(或尽可能长的时间)。

[0363] 在研究的II期部分中的6周治疗过程后,每一患者接受膀胱切除术。在最后一次膀胱内治疗后10至14天(例如约第40天)或一旦任何治疗相关毒性已经减退且医学病况适于手术时,实施膀胱切除术。在膀胱切除术后,自患者获得肿瘤样品并在病理实验室中评价,并实施实验室评估以确定患者是否对治疗有反应。此评价包括对切除的肿瘤的病理学和免疫学评价:(1)肿瘤阶段和等级(如果存在);(2)肿瘤免疫参数,例如Treg、CD4、CD8以及其他T细胞亚组;(3)通过免疫组织化学方法检测肿瘤PD-L1表达状态;(4)淋巴结侵犯;(5)治疗前与治疗后的宏观照片比较。在自膀胱切除术的日期起的第3、6、12、18和24个月(加或减2周)评估每一患者,以监测CG0070的长期反应和毒性、疾病复发或进展和随后疗法和反应。2年后,每年接触一次患者,以评价与基因疗法相关的长期毒性(例如新的恶性病、自体免疫疾病、神经和血液病症等)以及在首次膀胱内CG0070疗法后五年存活。使用CG0070治疗后或根据目前FDA指南和目前护理标准,追踪患者高达总共5年。

[0364] 如下测定研究的主要结果量度。在整个研究期间和在完成研究之后,对患者进行追踪,以评价AE、SAE和SUSAR,以测定治疗的安全性和耐受性。另外,在膀胱切除术时,通过

测定PD-L1和PD-1状态的变化率来评价治疗的性能,该变化率定义为对于至少三次或更多完成的膀胱内滴注介入前后PDL1或PD1阳性的患者的比例差异。

[0365] 如下测定研究的次要结果量度。在膀胱切除术时,通过测定在膀胱切除术介入后在原发性肿瘤部位具有病理学完全肿瘤反应的患者的比例(通过T分阶段且针对整个患者组进一步分层)来评价每一T阶段的膀胱切除术的病理学完全反应比例(p0比例)。在膀胱切除术时还测定膀胱切除术时的病理分阶段降低比例,其定义为在膀胱切除术介入后在原发性肿瘤部位具有肿瘤分阶段或分级的分级下降的患者的比例;以及膀胱切除术时器官限制疾病比例,定义为在膀胱切除术中未发现阳性淋巴结的患者的比例。在膀胱切除术后高达2年,追踪患者以测定2年无疾病存活,定义为自膀胱切除术的日期起至疾病复发早期或死亡(无论什么原因)的月数;以及膀胱切除术后具有残存疾病的患者的2年无进展存活,定义为自膀胱切除术的日期起至疾病进展早期或死亡(无论何种原因)的月数。在膀胱切除术后高达5年,追踪患者以测定整体存活,定义为自膀胱切除术的日期至死亡日期(无论什么原因)的月数。

[0366] 另外,在研究过程期间欲评价的探索性结果量度包括但不限于患者中的原发性肿瘤部位内的免疫功能的变化,包括评价干预之前和之后的Treg (CD4+CD25+Foxp3+)、CD4、CD8、CD4R045和CD4IC0Shigh等;通过在干预之前和之后拍摄的照片的原发性肿瘤部位的宏观变化;系统性绝对淋巴球计数;以及系统性细胞介素模式。

[0367] 患者必须符合所有以下条件才对于研究合格。

[0368] 1. 18岁或以上;

[0369] 2. 病理诊断的移行细胞(尿路)膀胱癌患者;其中具有治愈意图的根治性膀胱切除术适于肌肉侵袭性疾病(即,美国癌症联合委员会(AJCC) T2-4a阶段,  $N_{x-1}$ , M0)。患者必须能够在其最近的诊断程序(通常为诊断生检、膀胱肿瘤经尿道切除术(TURBT)程序或其他诊断扫描(例如CT、MRI和PET程序))的五周内进入研究;

[0370] 3. 组织病理学确认的移行细胞(尿路)癌。具有混合组织学(但具有<50%变体)的尿路肿瘤是合格的;

[0371] 4. 由于可由研究者确认的医学病况,不适合接受前导性化学疗法。(例如,肾损伤可基于计算的肌酐清除率约<60ml/min或听力损失 $\geq 25$ dB,该听力损失是通过测听术测量,在至少1个耳中于3个邻接测试频率下平均化;或其他显著心脏功能障碍、血管疾病或慢性阻塞性肺病等),或者在介绍无前导性化学疗法的情况下复发和发病率风险增加的特定知情同意后拒绝接受前导性化学疗法;

[0372] 5. 美国东岸癌症临床研究合作组织(ECOG)体能状态 $\leq 2$ ;

[0373] 6. 未怀孕或泌乳;

[0374] 7. 同意研究知情同意书和HIPAA授权以发布个人健康信息;

[0375] 8. 基线CBC和肝功能充足,定义如下:

[0376] a. WBC $>3000$ 个细胞/ $\text{mm}^3$ , ANC $>1,000$ 个细胞/ $\text{mm}^3$ , 血红素 $>9\text{g/dL}$ 和血小板计数 $>80,000/\text{mm}^3$ ;

[0377] b. 胆红素、AST和ALT小于2.5x正常值上限;

[0378] c. 充足的凝血与可接受的PT/INR、PTT和纤维蛋白原(小于1.5的正常值上限或根据机构规格);

[0379] d. 绝对淋巴球计数 $\geq 800/\mu\text{L}$ 。

[0380] 自研究中排除满足以下排除准则中的任一者的患者：

[0381] 1. 暴露于人类化或人类治疗性人类化或人类后的过敏性反应史、对GM-CSF的过敏史、临床上有意义的过敏反应或任何已知的过敏史或对研究药品中的任何调配物赋形剂的先前反应史；

[0382] 2. 已知的HIV、HBV或HCV感染；

[0383] 3. 在研究时未在研究方案中指定的化学疗法或放射疗法的预期使用；

[0384] 4. 任何潜在的医学病况，在研究者看来，其将使研究药品的施用对患者有害，会模糊对不良事件或手术切除的解释；

[0385] 5. 在注册前28天内对任何研究性临床试验进行系统性治疗；

[0386] 6. 与其他免疫抑制剂或免疫调节剂（包括任何全身性类固醇（例外：允许吸入或局部施用的类固醇、和急性和慢性标准剂量NSAID）同时治疗。使用糖皮质激素的短疗程（即 $\leq 1$ 天）对于防止对用于CT扫描的IV造影的反应是可接受的；

[0387] 7. 研究进入3个月内免疫抑制疗法，包括：环孢素、抗胸腺细胞球蛋白或他克莫司（tacrolimus）；

[0388] 8. III或更大阶段癌症史，不包括尿路上皮癌。基底或鳞状细胞皮肤癌必须经充分治疗，并且受试者在注册时必须无疾病。具有I或II阶段癌症史的患者必须经充分治疗且在注册时已无疾病 $\geq 2$ 年；

[0389] 9. 伴随的活动性自体免疫疾病（例如类风湿性关节炎、多发性硬化、自体免疫性甲状腺疾病、眼色素层炎）；

[0390] 10. 进行性或当前的病毒或细菌感染。在置于研究之前，所有感染必须消退且患者必须在无抗生素情况下保持无发热7天。

[0391] 实施例2：具有难治性可注射的物理肿瘤的患者肿瘤内施用CG0070与CTLA-4抑制剂的组合的I/II期临床研究

[0392] 此实施例阐述具有难治性可注射的物理肿瘤的患者CG0070与CTLA-4抑制剂（例如抗CTLA-4单株抗体或阻断剂）的组合的I/II期临床研究。此研究是旨在评估具有物理肿瘤（包括皮肤或内脏病灶，例如头颈鳞状细胞癌、乳癌、结肠直肠癌、胰脏腺癌、卵巢癌、非小细胞肺癌、前列腺癌和黑色素瘤）的患者中包括肿瘤内施用CG0070和CTLA-4抑制剂的组合疗法的安全性和性能的多中心、单臂、开放标签、介入研究。CG0070施用可包括用转导剂（例如DDM）预处理。

[0393] I期中的临床研究分成三个阶段。在阶段1中，在6周中每周（例如，在每一周的第1天）经由肿瘤内注射向每一受试者施用CG0070。（例如，3至6个）患者的队列接受四个剂量值中的一者的肿瘤内CG0070（例如，使用DDM预处理）。剂量递增程序如实施例1中所述，并且阶段1中测定的MTD/MFD用于阶段2的开始。

[0394] 在I期的阶段2中，在6周中每周（例如，在每一周的第1天）经由肿瘤内注射向每一受试者施用CTLA-4抑制剂（例如抗CTLA-4mAb或阻断剂，例如伊匹单抗）。（例如，3至6个）患者的队列接受三个剂量值中的一者的肿瘤内CTLA-4抑制剂。剂量递增程序如实施例1中所述，并且阶段1中测定的MTD/MFD用于阶段3的开始。

[0395] 在I期的阶段3中，在6周中每周（例如，在每一周的第1天）经由肿瘤内注射向每一

受试者施用研究的阶段1中测定的剂量的CG0070 (例如,使用DDM预处理) 与研究的阶段2中测定的剂量的CTLA-4抑制剂的组合。(例如,3至6个) 患者的队列先后接受三个剂量值中的一者的肿瘤内CG0070 (例如,使用DDM预处理) 和CTLA-4抑制剂达6周。剂量递增程序如实施例1中所述。一旦达到MTD或MFD,患者在首次注射后3个月接受重复的6周治疗过程(每周一次持续六周构成一个过程) 和随后每3个月进行过程,直至完全反应、所有可注射的肿瘤消失、确认的疾病进展或对研究治疗不耐受,以先发生者为准。在自完全成功入选评估的最后一次干预三个月的时段之后,处于研究的阶段1或阶段2部分的剂量递增期的患者可入选重复MTD或MFD过程研究。

[0396] 此研究有两个主要结果量度:(1) 安全性和耐受性;以及(2) 性能。自每一阶段开始直至每一阶段中最后一个受试者入选后3个月评估安全性和耐受性。阶段1确定如借由在具有难治性实体肿瘤的患者中剂量限制毒性(DLT) 的发生率评价的CG0070 (例如,使用DDM预处理) 的安全性和耐受性。阶段2确定如借由在具有难治性实体肿瘤的患者中剂量限制毒性(DLT) 的发生率评价的CTLA-4抑制剂(例如抗CTLA-4mAb或阻断剂) 的安全性和耐受性。阶段3确定如通过在具有难治性物理肿瘤的患者中剂量限制毒性(DLT) 的发生率评价的CG0070 (例如,使用DDM预处理) 与CTLA-4抑制剂(例如抗CTLA-4mAb或阻断剂) 的组合的安全性和耐受性。自每一阶段开始直至每一阶段最后一个受试者入选后24个月评估性能。通过具有可注射的难治性物理肿瘤的患者中阶段1中仅经CG0070 (例如,使用DDM预处理) 治疗、阶段2中仅经CTLA-4抑制剂(例如抗CTLA-4mAb或阻断剂) 治疗、和阶段3中经CG0070 (例如,使用DDM预处理) 与CTLA-4抑制剂(例如抗CTLA-4mAb或阻断剂) 的组合治疗的确认的客观反应率(ORR) 评价性能。

[0397] 此研究的次要结果量度如下。自每一阶段开始直至每一阶段最后一个受试者入选后24个月评估安全性次要结果。对于所有三个阶段,安全性次要结果量度包括以下事件的发生率:所有不良事件(AE)、3级或更高级AE、需要中断研究药品的事件、对肿瘤的局部效应、临床上显著的实验室变化和临床上显著的生命征象变化。自每一阶段开始直至每一阶段最后一个受试者入选后24个月评估性能次要结果。对于所有三个阶段,性能次要结果量度包括最佳总体反应率(BOR)、疾病控制率(DCR)、耐久反应率(DRR)、反应持续时间(DOR)、至反应的时间(TTR)、无进展存活(PFS)、整体存活率(OS)、1年和2年存活率。

[0398] 基于以下纳入准则确定两种性别的患者对于研究的合格性:

[0399] 1. 患者必须具有使用标准疗法(手术、化学疗法、放射疗法或内分泌疗法) 失败且不存在治愈性选择的组织学确认的物理肿瘤,包括但不限于:头颈鳞状细胞癌、皮肤鳞状细胞癌、乳癌、恶性黑色素瘤、结肠直肠癌、胰脏腺癌、卵巢癌、非小细胞肺癌和前列腺癌;

[0400] 2. 患者可能已具有任何种类和数目的先前癌症疗法;

[0401] 3. 患者必须具有可通过RECIST方法评估的可测量病灶;

[0402] 4. 欲治疗的肿瘤块必须足够用于注射(即,远离主要血管结构超过2cm) 和通过RECIST测量;

[0403] 5. 患者必须 $\geq 18$ 岁;

[0404] 6. 患者的预期寿命必须 $\geq 12$ 周;

[0405] 7. 患者必须具有0、1或2的美国东岸癌症临床研究合作组织(ECOG) 体能状态;

[0406] 8. 患者必须有足够的肝功能,定义如下:

- [0407] a. 总胆红素含量 $\leq 1.5 \times$ 正常值上限 (ULN); 以及
- [0408] b. 如果存在肝转移, 则AST/ALT含量 $\leq 2.5 \times$ ULN、或 $\leq 5 \times$ ULN;
- [0409] 9. 患者必须具有足够肾功能, 定义如下: 血清肌酸酐 $\leq 1.5 \times$ ULN, 或对于肌酸酐 $> 1.5 \times$ ULN的患者肌酸酐清除率(计算值) $\geq 60\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ ;
- [0410] 10. 患者必须有足够骨髓功能, 定义如下:
- [0411] a. 绝对嗜中性球计数 $\geq 1,200/\mu\text{L}$ ; 以及
- [0412] b. 血小板计数 $\geq 80,000/\mu\text{L}$ ;
- [0413] 11. 患者必须无已知的出血素质或凝血病变, 其将使得肿瘤内注射或生检不安全;
- [0414] 12. 有生育潜力的男性和女性必须同意在研究进入之前使用适当避孕措施并且长达六个月;
- [0415] 13. 有生育潜力的女性在开始治疗前一周内必须进行阴性尿液或血清妊娠测试; 以及
- [0416] 14. 患者必须能够理解并愿意签署书面知情同意书文件。
- [0417] 自研究中排除以下患者:
- [0418] 1. 在筛选前4周内接受化学疗法、免疫疗法或放射疗法、或因在筛选前超过4周施用的试剂产生的不良事件 $>1$ 级(脱发除外)的患者;
- [0419] 2. 具有显著肿瘤出血或凝血或出血病症史的患者;
- [0420] 3. 基于如由放射师确定的明确成像发现, 具有可潜在地侵入主要血管结构(例如无名动脉、颈动脉)的靶肿瘤的患者;
- [0421] 4. 具有 $\geq 1$ 级预先存在的神经异常(CTCAE版本4.0)的患者;
- [0422] 5. 在研究进入之前30天期间因需要住院评估、治疗或程序的紧急病况住院的患者。另外, 需要住院评估、治疗或程序的紧急病况必须在进入研究之前30天已经消退或在医学上稳定且不严重;
- [0423] 6. 具有临床上显著的人类免疫缺失病毒(HIV)、B型肝炎病毒(HBV)、C型肝炎病毒(HCV)或艾司坦-巴尔病毒(Epstein-Barr virus, EBV)感染的患者。在治疗前筛选期间测试患者的HIV;
- [0424] 7. (例如) 针对类风湿性关节炎接受类固醇或免疫抑制剂的患者;
- [0425] 8. 同时使用任何其他研究药剂的患者;
- [0426] 9. 存在中枢神经系统转移或有该病史的患者;
- [0427] 10. 在研究期限内怀孕或哺乳的女性或希望怀孕的女性;
- [0428] 11. 具有不受控间发病(包括但不限于正在进行或活动性感染、症状性郁血性心脏衰竭、不稳定性心绞痛、心律不整或将限制对研究需求的顺从性的精神病学疾病/社会情况)的患者。
- [0429] 实施例3: 具有晚期阶段物理肿瘤(例如黑色素瘤)的患者肿瘤内施用CG0070与CTLA-4抑制剂和CD40激动剂的组合的I/II期临床研究
- [0430] 此实施例阐述具有实体或淋巴肿瘤的患者CG0070与CTLA-4抑制剂(例如抗CTLA-4单株抗体或阻断剂)和CD40激动剂(例如激动性抗CD40抗体)的组合的I/II期临床研究。I期研究为具有难治性物理肿瘤的患者剂量递增研究。II期研究是旨在评估具有物理肿瘤(例如难治性不可切除、或转移性III/IV阶段恶性黑色素瘤)的患者中重复肿瘤内注射

CG0070、CTLA-4抑制剂和CD40激动剂的性能、安全性和耐受性的单臂、开放标签、介入研究。CG0070施用可包括转导增强剂,例如DDM。

[0431] I期中的临床研究分成三个阶段。阶段1为仅肿瘤内注射CG0070的剂量递增研究。(例如,3至6个)患者的队列接受以下四个剂量值中的一者的CG0070(例如,具有DDM)的每周肿瘤内注射达4周: $5 \times 10^{10}$ vp、 $1 \times 10^{11}$ vp、 $5 \times 10^{11}$ vp或 $1 \times 10^{12}$ vp。例如,将病毒CG0070在盐水中的0.1%DDM中重构。每一剂量的总体积为2mL。CG0070溶液的浓度对于最低剂量为约 $2.5 \times 10^{10}$ vp/ml且对于最高剂量为约 $5 \times 10^{11}$ vp/ml。如果患者具有单一病灶(其必须大于2cm),则将总体积的CG0070溶液注射至病灶中。如果存在两个或更多个病灶,则遵循如表1中所示基于病灶大小的最大注射体积。如果最大病灶为至少2cm,则将任何剩余体积注射至最大病灶中。如果最大病灶小于2cm,则将剩余体积在两个较大病灶之间分开。所注射病灶的最大数目为3。给予总剂量而与病灶的总数目和大小无关。剂量递增程序如实施例1中所述,并且将MTD/MFD命名为剂量值阶段1,其在阶段2开始时使用。

[0432] 表1. 基于肿瘤大小的每个病灶的注射体积

肿瘤大小(最长尺寸)	最大注射体积
$\geq 5.0$ cm	2.0mL
$\geq 2.0$ cm至5.0cm	1.0mL
$> 0.5$ cm至2.0cm	0.5mL

[0434] I期的阶段2为剂量递增的肿瘤内注射剂量值阶段1的CTLA-4抑制剂(例如抗CTLA-4mAb或阻断剂,例如伊匹单抗)与CG0070的组合。(例如,3至6个)患者的队列接受固定剂量的CG0070(例如,具有DDM)与以下三个剂量值中的一者的CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗)的组合的每周肿瘤内注射达6周:6mg、12mg或18mg。对于每一施用,根据如阶段1中所定义的一个病灶的注射体积首先肿瘤内注射CG0070。在每一CG0070注射后立刻施用CTLA-4抑制剂。每一剂量值下的总体积、和基于两个以上注射病灶的病灶大小的最大注射体积列举于下表2中。所注射病灶的最大数目为3,并且给予CTLA-4抑制剂的总剂量而与病灶的总数目和大小无关。在所注射病灶周围皮下施用任何剩余体积的CTLA-4抑制剂。倘如果病灶在最后计划的治疗之前完全消退,则可向先前未注射的病灶施用CG0070和CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗)二者。如果所有病灶皆在治疗过程结束之前消退,则可在先前病灶处或其周围的皮下区域中仅注射CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗)。剂量递增程序如实施例1中所述,并且将MTD/MFD命名为剂量值阶段2,其在阶段3开始时使用。

[0435] 表2. 基于肿瘤大小的每个病灶的免疫调节剂的注射体积

剂量值	6.0mg		12mg		18mg	
肿瘤大小 (最长尺寸)	每个病 灶的最 大剂 量	最大 体 积	每个病 灶的最 大剂 量	最大 体 积	每个病 灶的最 大剂 量	最大 体 积
$\geq 5.0$ cm	6.0mg	1.2mL	12mg	2.4mL	18mg	3.6mL
$\geq 2.0$ cm至5.0cm	3.0mg	0.6mL	6.0mg	1.2mL	9mg	1.8mL
$> 0.5$ cm至2cm	1.5mg	0.3mL	3.0mg	0.6mL	4.5mg	0.9mL

[0438] I期的阶段3为剂量递增的肿瘤内注射剂量值阶段2的CD40激动剂(例如CD40激动性抗体,例如APX005M)与CTLA-4抑制剂(例如抗CTLA-4mAb或阻断剂,例如伊匹单抗)和CG0070的组合。(例如,3至6个)患者的队列接受固定剂量的CG0070(例如,具有DDM)和CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗)与以下三个剂量值中的一者的CD40激动剂(例如,APX005M)的组合的每周肿瘤内注射达6周:6mg、12mg或18mg。对于每一施用,将剂量值阶段2的CG0070和CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗)调节至2mL并根据如表1中所定义的每个病灶的注射体积进行肿瘤内注射。在每一CG0070/CTLA-4抑制剂注射后立刻施用CD40激动剂(例如,APX005M)。每一剂量值下的总体积、和基于两个以上注射病灶的病灶大小的最大注射体积列举于下表2中。所注射病灶的最大数目为3,并且给予CD40激动剂(例如,APX005M)的总剂量而与病灶的总数目和大小无关。在所注射病灶周围皮下施用任何剩余体积的CD40激动剂(例如,APX005M)。倘如果病灶在最后计划的治疗之前完全消退,则可向先前未注射的病灶施用CG0070、CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗)和CD40激动剂(例如,APX005M)。如果所有病灶皆在治疗过程结束之前消退,则可在先前病灶处或其周围的皮下区域中仅注射CD40激动剂(例如,APX005M)。剂量递增程序如实施例1中所述,并且将MTD/MFD命名为研究剂量,其用于II期中。

[0439] 对于研究的II期,患者的队列首先接受I期的阶段3中测定的研究剂量的CG0070(例如,具有DDM)、CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗)和CD-40激动剂(例如,APX005M)的三组分组合的每周一次肿瘤内注射达4周,之后每2周一次肿瘤内注射三组分组合共四次。其后,施用三组分组合的每月肿瘤内注射用于维持治疗,直至完全反应、所有可注射的肿瘤消失、确认的疾病进展或对研究治疗不耐受,以先发生者为准。处于I期的剂量递增期(例如,阶段1、2或3)的患者可入选II期研究,只要存在自最后剂量起至少四周的休息期即可。对于每一施用,首先向病灶注射GC0070,之后注射CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗)和CD40激动剂(例如,APX005M)。最大可注射的肿瘤(如通过PI所测定)为欲注射的第一肿瘤,并且注射体积和剂量是根据表3和表4。将任何剩余体积的药品注射至下一最大可注射的肿瘤(如通过PI所测定)中,并且注射体积和剂量是根据表3和表4。对于其他剩余体积重复此程序,直至注射如I期中测定的整个总体积和剂量。在特定注射部位的病灶不再存活时,在该部位省略CG0070注射。然而,即使在病灶消失时,还向相同部位中施用CTLA-4抑制剂和CD40激动剂注射直至治疗过程结束为止。每一患者接受CTLA-4抑制剂和CD40激动剂的最少8次注射。

[0440] 表3. 基于肿瘤大小的每个病灶的注射体积

肿瘤大小(最长尺寸)	最大注射体积
≥5.0cm	2.0mL
≥2.0cm至5.0cm	1.0mL
>0.75cm至2.0cm	0.5mL
<0.75cm	0.1mL

[0442] 表4. 基于肿瘤大小的每个病灶的试剂(免疫调节剂和/或免疫相关分子)的剂量

	肿瘤大小 ( 最长尺寸 )	最大注射体积
[0443]	≥ 5.0cm	MTD/MFD 试剂编号 1 剂量和 MTD/MFD 试剂编号 2 剂量
	≥ 2.0cm 至 5.0cm	1/3 MTD/MFD 试剂编号 1 剂量和 1/3 MTD/MFD 试剂编号 2 剂量
	> 0.75cm 至 2.0cm	1/6 MTD/MFD 试剂编号 1 剂量和 1/6 MTD/MFD 试剂编号 2 剂量
	< 0.75cm	1/10 MTD/MFD 试剂编号 1 剂量和 1/10 MTD/MFD 试剂编号 2 剂量

[0444] 此研究有两个主要结果量度：(1) 安全性和耐受性；以及(2) 性能。自每一阶段开始直至每一阶段或II期中最后一个受试者入选后3个月评估安全性和耐受性。阶段1确定如通过在具有难治性物理肿瘤的患者中剂量限制毒性 (DLT) 的发生率评价的CG0070 (例如, 具有DDM) 的安全性和耐受性。阶段2确定如借由在具有难治性实体肿瘤的患者中剂量限制毒性 (DLT) 的发生率评价的CTLA-4抑制剂 (例如抗CTLA-4mAb或阻断剂, 例如伊匹单抗) 与CG0070的组合同安全性和耐受性。阶段3和II期确定如借由在具有难治性物理肿瘤的患者中剂量限制毒性 (DLT) 的发生率评价的CD40激动剂 (激动性抗CD40抗体, 例如APX005M) 与CG0070和CTLA-4抑制剂的组合同安全性和耐受性。自每一阶段或II期开始直至每一阶段或II期最后一个受试者入选后24个月评估性能。通过具有可注射的难治性实体肿瘤的患者中阶段1中仅经CG0070 (例如, 具有DDM) 治疗、阶段2中经CG0070和CTLA-4抑制剂 (例如抗CTLA-4mAb或阻断剂, 例如伊匹单抗) 的组合同治疗、阶段3和II期中经CG0070、CTLA-4抑制剂和CD40激动剂 (例如激动性抗CD40抗体, 例如APX005M) 的组合同治疗的确认的客观反应率 (ORR) 评价性能。

[0445] 此研究的次要结果量度如下。自每一阶段开始直至每一阶段或II期最后一个受试者入选后24个月评估安全性次要结果。对于所有三个阶段和II期, 安全性次要结果量度包括以下事件的发生率: 所有不良事件 (AE)、3级或更高级AE、需要中断研究药品的事件、对肿瘤的局部效应、临床上显著的实验室变化和临床上显著的生命征象变化。自每一阶段或II期开始直至每一阶段或II期最后一个受试者入选后24个月评价性能次要结果。对于所有三个阶段和II期, 性能次要结果量度包括最佳总体反应率 (BOR)、疾病控制率 (DCR)、耐久反应率 (DRR)、反应持续时间 (DOR)、至反应的时间 (TTR)、无进展存活 (PFS)、整体存活率 (OS)、1年和2年存活率。

[0446] 基于以下纳入准则确定两种性别的患者对于研究的合格性：

[0447] 1. 患者必须具有使用标准疗法 (手术、化学疗法、放射疗法或内分泌疗法) 失败且不存在治愈性选择的组织学确认的物理肿瘤, 包括但不限于: 头颈鳞状细胞癌、皮肤鳞状细胞癌、乳癌、恶性黑色素瘤、结肠直肠癌、胰腺腺癌、卵巢癌、非小细胞肺癌和前列腺癌；

[0448] 2. 患者可能已具有任何种类和数目的先前癌症疗法；

[0449] 3. 患者必须具有可通过RECIST方法评估的可测量病灶；

[0450] 4. 欲治疗的肿瘤块必须可经由皮肤途径评价且足够用于注射 (即, 远离主要血管结构超过2cm) 和通过RECIST测量；

[0451] 5. 患者必须≥18岁；

[0452] 6. 患者的预期寿命必须≥12周；

[0453] 7. 患者必须具有0、1或2的美国东岸癌症临床研究合作组织 (ECOG) 体能状态；

[0454] 8. 患者必须有足够的肝功能, 定义如下：

- [0455] a. 总胆红素含量 $\leq 1.5 \times$ 正常值上限 (ULN); 以及
- [0456] b. 如果存在肝转移, 则AST/ALT含量 $\leq 2.5 \times$ ULN、或 $\leq 5 \times$ ULN;
- [0457] 9. 患者必须具有足够肾功能, 定义如下: 血清肌酸酐 $\leq 1.5 \times$ ULN, 或对于肌酸酐 $> 1.5 \times$ ULN的患者肌酸酐清除率(计算值) $\geq 60\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ ;
- [0458] 10. 患者必须有足够骨髓功能, 定义如下:
- [0459] a. 绝对嗜中性球计数 $\geq 1,200/\mu\text{L}$ ; 以及
- [0460] b. 血小板计数 $\geq 80,000/\mu\text{L}$ ;
- [0461] 11. 患者必须无已知的出血素质或凝血病变, 其将使得肿瘤内注射或活检不安全;
- [0462] 12. 有生育潜力的男性和女性必须同意在研究进入之前使用适当避孕措施并且长达六个月;
- [0463] 13. 有生育潜力的女性在开始治疗前一周内必须进行阴性尿液或血清妊娠测试; 以及
- [0464] 14. 患者必须能够理解并愿意签署书面知情同意书文件。
- [0465] 自研究中排除以下患者:
- [0466] 1. 在筛选前4周内接受化学疗法、免疫疗法或放射疗法、或因在筛选前超过4周施用的试剂产生的不良事件 $>1$ 级(脱发除外)的患者;
- [0467] 2. 具有显著肿瘤出血或凝血或出血病症史的患者;
- [0468] 3. 基于如由放射师确定的明确成像发现, 具有可潜在地侵入主要血管结构(例如无名动脉、颈动脉)的靶肿瘤的患者;
- [0469] 4. 具有 $\geq 1$ 级预先存在的神经异常(CTCAE版本4.0)的患者;
- [0470] 5. 在研究进入之前30天期间因需要住院评估、治疗或程序的紧急病况住院的患者。另外, 需要住院评估、治疗或程序的紧急病况必须在进入研究之前30天已经消退或在医学上稳定且不严重;
- [0471] 6. 具有临床上显著的人类免疫缺失病毒(HIV)、B型肝炎病毒(HBV)、C型肝炎病毒(HCV)或艾司坦-巴尔病毒(EBV)感染的患者。在治疗前筛选期间测试患者的HIV;
- [0472] 7. (例如) 针对类风湿性关节炎接受类固醇或免疫抑制剂的患者;
- [0473] 8. 同时使用任何其他研究药剂的患者;
- [0474] 9. 存在中枢神经系统转移或有该病史的患者;
- [0475] 10. 在研究期限内怀孕或哺乳的女性或希望怀孕的女性;
- [0476] 11. 具有不受控间发病(包括但不限于正在进行或活动性感染、症状性郁血性心脏衰竭、不稳定性心绞痛、心律不整或将限制对研究需求的顺从性的精神病学疾病/社会情况)的患者。
- [0477] 实施例4: 不活化的肿瘤细胞的制备。
- [0478] 此实施例阐述制备可用于与感染剂和免疫调节剂组合局部施用至肿瘤部位(例如通过肿瘤内注射)的不活化的肿瘤细胞的示例性方法。
- [0479] 肿瘤细胞可来自自体或同种异体来源的肿瘤活检或切除术。或者, 其可自确立的肿瘤细胞系或个别研发的肿瘤细胞系收获, 来自自体或同种异体来源。通常通过梯度密度离心、塑料黏附和胰蛋白酶化分离肿瘤细胞。经由多个代扩增分离的肿瘤细胞以为治疗提供足够细胞。在自细胞系收获的肿瘤细胞的情形下, 将细胞进一步洗涤, 过滤并分析用于表

征(例如,肿瘤抗原的表达)、无菌性和存活率。将肿瘤细胞冷冻保藏于细胞库中,或储存为等分试样以备施用。

#### [0480] 自手术样品的肿瘤细胞的制备

[0481] 对于常用手术样品,移出一片肿瘤用于病理分类且随后将主要肿瘤细胞块放置于具有含健他霉素(gentamycin)的HBSS的管中并储存于8°C下。在约8-12小时内,将新鲜肿瘤样品携带至实验室,此类样品将于该实验室进一步解离。用解剖刀将肿瘤样品切成较小片,通常为1cm<sup>3</sup>。随后将其于37°C下在酶溶液中培育。最有效的常用酶溶液为胶原酶、DNA水解酶和玻尿酸酶的混合物。培育后,将所得悬浮液经由孔径为40μm的耐纶筛网过滤。重复此类步骤,直至肿瘤样品的所有主要部分皆溶解。随后将所得细胞悬浮液在HBSS中洗涤三次且随后然后准备冷冻保藏。

#### [0482] 肿瘤细胞的冷冻保藏和解冻

[0483] 随后将以此方式分离的肿瘤细胞在10%人类血清白蛋白和10%DMSO中冷冻,并在液氮中以10<sup>7</sup>个细胞的等分试样储存。细胞冷冻可以在冷冻计算机Kryo 10系列II(Messers-Griesheim)中实施。在计划施用的当天,将细胞在添加10%人类血清白蛋白的温培养基中小心地解冻,并且随后在此培养基中洗涤三次。

#### [0484] 肿瘤细胞的不活化

[0485] 在施用之前使用远隔钴源利用200Gy使肿瘤细胞的增殖能力不活化。

#### [0486] 用于注射至肿瘤部位的不活化的肿瘤细胞的制备

[0487] 将10<sup>7</sup>个不活化的肿瘤细胞的等分试样调节至适于肿瘤内注射的体积。例如,参见实施例5。通常,可将不活化的细胞离心并在具有10%白蛋白的37°C培养基中重构至约2mL的体积。

#### [0488] 实施例5:在具有肝细胞癌的患者中肿瘤内施用CG0070与CTLA-4抑制剂、4-1BB激动剂和不活化的肿瘤细胞的组合的I/II期临床研究

[0489] 此实施例阐述用于评估用于治疗具有难治性可注射的肝肿瘤的患者包括CG0070、CTLA-4抑制剂、4-1BB激动剂和不活化的肿瘤细胞的组合疗法的性能、安全性和耐受性的I/II期、多中心、开放标签临床研究。将CG0070、CTLA-4抑制剂、4-1BB激动剂和不活化的肿瘤细胞的组合肝内施用至具有肝细胞癌的患者或具有自乳房腺癌、结肠直肠腺癌、胃食管癌(腺癌或鳞状细胞癌)、黑色素瘤、非小细胞肺癌或透明细胞肾细胞癌的肝转移的患者中具有已知进展的肝肿瘤中。

[0490] 在此研究中,不活化的肿瘤细胞系来自同种异体来源。CG0070与不活化的肿瘤细胞的组合(下文称作“VC”或“VC组合”)具有固定组成,其中不活化的肿瘤细胞的数目较CG0070病毒颗粒的数目低约至少4个对数。例如,每次施用每个患者注射约1×10<sup>8</sup>或更低数目的不活化的肿瘤细胞与1×10<sup>12</sup>vp的剂量的CG0070的组合。CTLA-4抑制剂可为特异性识别CTLA-4的抗运载蛋白。抗运载蛋白可调配于LPGA中。举例而言,可使用75:25重量比的LPGA调配物中的CTLA-4特异性抗运载蛋白(下文称作抗运载蛋白/LPGA 75:25)。4-1BB激动剂可为激动性抗4-1BB抗体,例如PF-05082566。

[0491] 临床研究的I期分成三个阶段。在阶段1中,在6周中每周(例如,在每一周的第1天)经由肿瘤内注射向每一患者施用包括CG0070和不活化的肿瘤细胞(例如,不活化的同种异体肿瘤细胞)的VC组合。(例如,3至6个)患者的队列接受四个剂量值中的一者的肿瘤内VC。

(例如,3至6个)患者的队列接受以下四个剂量值中的一者的CG0070(例如,具有DDM)的每周肿瘤内注射达四周: $5 \times 10^{10}$ vp的CG0070和 $5 \times 10^6$ 个不活化的肿瘤细胞、 $1 \times 10^{11}$ vp的CG0070和 $1 \times 10^7$ 个不活化的肿瘤细胞、 $5 \times 10^{11}$ vp的CG0070和 $5 \times 10^7$ 个不活化的肿瘤细胞或 $1 \times 10^{12}$ vp的CG0070和 $1 \times 10^8$ 个不活化的肿瘤细胞。例如,在即将施用之前将CG0070和不活化的肿瘤细胞以2m的总体积混合于盐水(例如,具有0.1%DDM)中。如果患者具有单一病灶(其必须大于2cm),则将总体积的VC溶液注射至病灶中。如果存在两个或更多个病灶,则遵循如表1中所示基于病灶大小的最大注射体积。如果最大病灶为至少2cm,则将任何剩余体积注射至最大病灶中。如果最大病灶小于2cm,则将剩余体积在两个较大病灶之间分开。所注射病灶的最大数目为3。给予总剂量而与病灶的总数目和大小无关。剂量递增程序如实施例1中所述,并且将MTD/MFD命名为剂量值阶段1,其在阶段2开始时使用。

[0492] I期的阶段2为剂量递增的肿瘤内注射剂量值阶段1的CTLA-4抑制剂(例如,抗运载蛋白/LPGA 75:25)与VC组合的组合。(例如,3至6个)患者的队列接受固定剂量的CG0070和以下三个剂量值中的一者的不活化的肿瘤细胞与CTLA-4抑制剂(例如,抗运载蛋白/LPGA 75:25)的组合的每周肿瘤内注射达6周:1.2mg、2.4mg或3.6mg。对于每一施用,根据如阶段1中所定义每个病灶的注射体积首先肿瘤内注射VC组合。在每一VC注射注射后立刻向相同注射部位以根据表5的体积施用CTLA-4抑制剂(例如,抗运载蛋白/LPGA 75:25)。所注射病灶的最大数目为3,并且给予CTLA-4抑制剂的总剂量而与病灶的总数目和大小无关。在所注射病灶周围皮下施用任何剩余体积的CTLA-4抑制剂。倘如果病灶在最后计划的治疗之前完全消退,则可向先前未注射的病灶施用VC组合和CTLA-4抑制剂(例如,抗运载蛋白/LPGA 75:25)二者。如果所有病灶皆在治疗过程结束之前消退,则可在先前病灶处或其周围的皮下区域中仅注射CTLA-4抑制剂(例如,抗运载蛋白/LPGA 75:25)。剂量递增程序如实施例1中所述,并且将MTD/MFD命名为剂量值阶段2,其在阶段3开始时使用。

[0493] 表5. 基于肿瘤大小的每个病灶的免疫调节剂的注射体积

剂量值	1.2mg		2.4mg		3.6mg	
	每个病灶 的最大剂 量	最大体积	每个病 灶的最 大剂量	最大体 积	每个病 灶的最 大剂量	最大体 积
≥ 5.0cm	1.2mg	1.2mL	2.4mg	2.4mL	3.6mg	3.6mL
≥ 2.0cm 至 5.0cm	0.6mg	0.6mL	1.2mg	1.2mL	1.8mg	1.8mL
> 0.5cm 至 2cm	0.3mg	0.3mL	0.6mg	0.6mL	0.9mg	0.9mL

[0494] I期的阶段3为剂量递增的肿瘤内注射剂量值阶段2的4-1BB激动剂(例如4-1BB激动性抗体,例如PF-05082566)与VC组合和CTLA-4抑制剂(例如,抗运载蛋白/LPGA 75:25)的组合。(例如,3至6个)患者的队列接受固定剂量的VC组合和以下三个剂量值中的一者的CTLA-4抑制剂(例如,抗运载蛋白/LPGA 75:25)与4-1BB激动剂(例如,PF-05082566)的组合的每周肿瘤内注射达6周:6mg、12mg或18mg。对于每一施用,将剂量值阶段2的VC组合和CTLA-4抑制剂(例如,抗运载蛋白/LPGA 75:25)调节至2mL并根据如表1中所定义每个病灶的注射体积进行肿瘤内注射。在每一VC/CTLA-4抑制剂注射后立刻施用4-1BB激动剂(例如,PF-05082566)。每一剂量值下的总体积、和基于两个以上注射病灶的病灶大小的最大注

射体积列举于下表2中。所注射病灶的最大数目为3,并且给予4-1BB激动剂(例如,PF-05082566)的总剂量而与病灶的总数目和大小无关。在所注射病灶周围皮下施用任何剩余体积的4-1BB激动剂(例如,PF-05082566)。倘如果病灶在最后计划的治疗之前完全消退,则可向先前未注射的病灶施用VC组合、CTLA-4抑制剂(例如,抗运载蛋白/LPGA 75:25)和4-1BB激动剂(例如,PF-05082566)。如果所有病灶皆在治疗过程结束之前消退,则可在先前病灶处或其周围的皮下区域中仅注射4-1BB激动剂(例如,PF-05082566)。剂量递增程序如实施例1中所述,并且将MTD/MFD命名为研究剂量,其用于II期中。

[0496] 对于研究的II期,患者的队列首先接受I期的阶段3中测定的研究剂量的CG0070(例如,具有DDM)、不活化的肿瘤细胞(例如,不活化的同种异体肿瘤细胞)、CTLA-4抑制剂(例如,抗运载蛋白/LPGA 75:25)和4-1BB激动剂(例如,PF-05082566)的四组分组合的每周一次肿瘤内注射达4周,之后每2周一次肿瘤内注射四组分组合共四次。其后,施用四组分组合的每月肿瘤内注射用于维持治疗,直至完全反应、所有可注射的肿瘤消失、确认的疾病进展或对研究治疗不耐受,以先发生者为准。处于I期的剂量递增期(例如,阶段1、2或3)的患者可入选II期研究,只要存在自最后剂量起至少四周的休息期即可。对于每一施用,在即将施用之前首先混合GC0070和不活化的肿瘤细胞(例如,同种异体不活化的肿瘤细胞),注射至病灶部位,之后注射CTLA-4抑制剂(例如,抗运载蛋白/LPGA 75:25)和4-1BB激动剂(例如,PF-05082566)。最大可注射的肿瘤(如通过PI所测定)为欲注射的第一肿瘤,并且注射体积和剂量是根据表3和表4。将任何剩余体积的药品注射至下一最大可注射的肿瘤(如通过PI所测定)中,并且注射体积和剂量是根据表3和表4。对于其他剩余体积重复此程序,直至注射如I期中测定的整个总体积和剂量。在特定注射部位的病灶不再存活时,在该部位省略VC组合注射。然而,即使在病灶消失时,还向相同部位中施用CTLA-4抑制剂和4-1BB激动剂注射直至治疗过程结束为止。每一患者接受CTLA-4抑制剂和4-1BB激动剂的最少8次注射。

[0497] 此研究有两个主要结果量度:(1)安全性和耐受性;以及(2)性能。自每一阶段或II期开始直至每一阶段或II期中最后一个受试者入选后3个月评估安全性和耐受性。阶段1确定如通过在具有难治性肝肿瘤的患者中剂量限制毒性(DLT)的发生率评价的CG0070(例如,具有DDM)与不活化的肿瘤细胞(例如,同种异体不活化的肿瘤细胞)的组合的安全性和耐受性。阶段2确定如通过在具有难治性肝肿瘤的患者中剂量限制毒性(DLT)的发生率评价的CG0070(例如,具有DDM)、不活化的肿瘤细胞(例如,同种异体不活化的肿瘤细胞)和CTLA-4抑制剂(例如,抗运载蛋白/LPGA 75:25)的组合的安全性和耐受性。阶段3确定如通过在具有难治性肝肿瘤的患者中剂量限制毒性(DLT)的发生率评价的CG0070(例如,具有DDM)、不活化的肿瘤细胞(例如,同种异体不活化的肿瘤细胞)、CTLA-4抑制剂(例如,抗运载蛋白/LPGA 75:25)和4-1BB激动剂(例如,PF-05082566)的组合的安全性和耐受性。II期借由具有难治性肝肿瘤的患者中剂量限制毒性(DLT)的发生率确定CG0070(例如,具有DDM)、不活化的肿瘤细胞(例如,同种异体不活化的肿瘤细胞)、CTLA-4抑制剂(例如,抗运载蛋白/LPGA 75:25)和4-1BB激动剂(例如,PF-05082566)的组合的安全性和耐受性。自II期的每一阶段开始直至每一阶段最后一个受试者入选后24个月评估性能。通过具有可注射的难治性肝肿瘤的患者中阶段1中CG0070(例如,具有DDM)和不活化的肿瘤细胞(例如,不活化的同种异体肿瘤细胞)的组合治疗、阶段2中CG0070(例如,具有DDM)、不活化的肿瘤细胞(例如,不活化的同种异体肿瘤细胞)和CTLA-4抑制剂(例如,抗运载蛋白/LPGA 75:25)的组合治疗、以及

阶段3和II期中CG0070(例如,具有DDM)、不活化的肿瘤细胞(例如,不活化的同种异体肿瘤细胞)、CTLA-4抑制剂(例如,抗运载蛋白/LPGA 75:25)和4-1BB激动剂(例如,PF-05082566)的组合治疗的确认的客观反应率(ORR)评价性能。

[0498] 此研究的次要结果量度如下。自每一阶段或II期开始直至每一阶段或II期最后一个受试者入选后24个月评价安全性次要结果。对于所有三个阶段和II期,安全性次要结果量度包括以下事件的发生率:所有不良事件(AE)、3级或更高级AE、需要中断研究药品的事件、对肿瘤的局部效应、临床上显著的实验室变化和临床上显著的生命征象变化。自每一阶段开始直至每一阶段或II期最后一个受试者入选后24个月评估性能次要结果。对于所有三个阶段和II期,性能次要结果量度包括最佳总体反应率(BOR)、疾病控制率(DCR)、耐久反应率(DRR)、反应持续时间(DOR)、至反应的时间(TTR)、无进展存活(PFS)、整体存活率(OS)、1年和2年存活率。

[0499] 基于以下纳入准则确定两种性别的患者对于研究的合格性:(1)受试者必须具有组织学确认的具有肝转移的乳房腺癌、结肠直肠腺癌、胃食管癌(腺癌或鳞状细胞癌)、黑色素瘤、非小细胞肺癌或透明细胞肾细胞癌或具有已知疾病进展的肝细胞癌;(2)非肝细胞癌受试者必须已接受至少1次先前护理标准的全身性抗癌疗法用于其转移性疾病;(3)受试者必须具有适于注射的可测量的肝肿瘤;(4)美国东岸癌症临床研究合作组织体能状态必须为0或1,并且预期寿命应大于5个月或更长。需要足够血液、肾、肝和凝血功能;(5)Child-Pugh评分必须为A至B7。

[0500] 自研究中排除以下患者:(1)受试者不得为具有治愈性意图或计划全身性抗癌疗法的肝手术或肝肿瘤的局部疗法的候选者;(2)估计肝肿瘤不得侵入约三分之一的肝;(7)在入选之前,实施肝肿瘤定向疗法、肝手术、基于抗体的疗法或免疫疗法不得<28天、化学疗法<21天和靶向小分子疗法或激素疗法<14天;(8)受试者不得具有中枢神经系统转移或自乳房腺癌、非小细胞肺癌、透明细胞肾细胞癌或黑色素瘤的经辐照、稳定的脑转移;(9)受试者不得具有症状性自体免疫肺炎、肾小球性肾炎、血管炎或其他症状性自体免疫疾病的病史或证据;(10)受试者不得具有症状性自体免疫疾病或经免疫抑制;(11)受试者不得具有物理器官移植的病史;(12)对于非肝细胞癌,不得存在急性或慢性B型肝炎病毒或C型肝炎病毒感染;(13)对于肝细胞癌,B型肝炎病毒和C型肝炎病毒病毒负荷必须为不可检测的,并且其最近不得经某些抗病毒药剂治疗;(14)肿瘤不应宏观血管内侵入主要门静脉、肝静脉或大静脉;(15)受试者不得具有活动性疱疹性皮肤病灶或疱疹性感染的先前并发症(例如,疱疹性角膜炎或脑炎)并且不必需要用抗疱疹性药品治疗;(16)受试者不得要求同时经杀鼠灵(warfarin)治疗;(17)具有生育潜力的女性受试者在方案治疗期间和至介入的最后剂量后3个月不愿使用可接受的有效避孕方法。

[0501] 实施例6:具有难治性非霍奇金氏淋巴瘤、鼻咽癌和黑色素瘤的患者的放射预处理、之后肿瘤内施用CG0070与CTLA-4抑制剂和CD40激动剂的组合的I/II期临床研究

[0502] 此研究是旨在评估具有实体或淋巴肿瘤(例如非霍奇金氏淋巴瘤、鼻咽癌或黑色素瘤)的患者中包括辐射预处理、之后肿瘤内施用CG0070、CTLA-4抑制剂和CD40激动剂的组合疗法的安全性和性能的多中心、单臂、开放标签、介入研究。

[0503] 辐射预处理如下实施。在每次施用疗法(例如,CG0070、CG0070与CTLA-4抑制剂的组合、或CG0070、CTLA-4抑制剂和CD40激动剂的组合)之前2天,每日向患者的每一治疗肿瘤

部位施用2Gy的单一剂量的外部辐射达2天。辐射的最大剂量限于每个月一个辐射过程(2Gy达2天),持续最多4个月。在此最大剂量后,停止所有辐射。在4个月疗程中所接受的总辐射应不超过16Gy。

[0504] I期中的临床研究分成三个阶段。阶段1为CG0070与辐射预处理的组合的肿瘤内注射的剂量递增研究。(例如,3至6个)患者的队列接受每周辐射预处理、之后以下四个剂量值中的一者的CG0070(例如,具有DDM)的肿瘤内注射达4周: $5 \times 10^{10}$  vp、 $1 \times 10^{11}$  vp、 $5 \times 10^{11}$  vp或 $1 \times 10^{12}$  vp。例如,将病毒CG0070在盐水中的0.1%DDM中重构。每一剂量的总体积为2mL。CG0070溶液的浓度对于最低剂量为约 $2.5 \times 10^{10}$  vp/ml且对于最高剂量为约 $5 \times 10^{11}$  vp/ml。如果患者具有单一病灶(其必须大于2cm),则将总体积的CG0070溶液注射至病灶中。如果存在两个或更多个病灶,则遵循如表1中所示基于病灶大小的最大注射体积。如果最大病灶为至少2cm,则将任何剩余体积注射至最大病灶中。如果最大病灶小于2cm,则将剩余体积在两个较大病灶之间分开。所注射病灶的最大数目为3。给予总剂量而与病灶的总数目和大小无关。剂量递增程序如实施例1中所述,并且将MTD/MFD命名为剂量值阶段1,其在阶段2开始时使用。

[0505] I期的阶段2为剂量递增的肿瘤内注射剂量值阶段1的CTLA-4抑制剂(例如抗CTLA-4mAb或阻断剂,例如伊匹单抗)与CG0070和辐射预处理的组合。(例如,3至6个)患者的队列接受每周辐射预处理、之后肿瘤内注射固定剂量的CG0070(例如,具有DDM)与以下三个剂量值中的一者的CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗)的组合达6周:6mg、12mg或18mg。对于每一施用,根据如阶段1中所定义的一个病灶的注射体积首先肿瘤内注射CG0070。在每一CG0070注射后立刻施用CTLA-4抑制剂。每一剂量值下的总体积、和基于两个以上注射病灶的病灶大小的最大注射体积列举于下表2中。所注射病灶的最大数目为3,并且给予CTLA-4抑制剂的总剂量而与病灶的总数目和大小无关。在所注射病灶周围皮下施用任何剩余体积的CTLA-4抑制剂。倘如果病灶在最后计划的治疗之前完全消退,则可向先前未注射的病灶施用CG0070和CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗)二者。如果所有病灶皆在治疗过程结束之前消退,则可在先前病灶处或其周围的皮下区域中仅注射CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗)。剂量递增程序如实施例1中所述,并且将MTD/MFD命名为剂量值阶段2,其在阶段3开始时使用。

[0506] I期的阶段3为剂量递增的肿瘤内注射剂量值阶段2的CD40激动剂(例如CD40激动性抗体,例如APX005M)与CTLA-4抑制剂(例如抗CTLA-4mAb或阻断剂,例如伊匹单抗)、CG0070和辐射预处理的组合。(例如,3至6个)患者的队列接受每周辐射预处理、之后肿瘤内注射固定剂量的CG0070(例如,具有DDM)和CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗)与以下三个剂量值中的一者的CD40激动剂(例如,APX005M)的组合达6周:6mg、12mg或18mg。对于每一施用,将剂量值阶段2的CG0070和CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗)调节至2mL并根据如表1中所定义的一个病灶的注射体积进行肿瘤内注射。在每一CG0070/CTLA-4抑制剂注射后立刻施用CD40激动剂(例如,APX005M)。每一剂量值下的总体积、和基于两个以上注射病灶的病灶大小的最大注射体积列举于下表2中。所注射病灶的最大数目为3,并且给予CD40激动剂(例如,APX005M)的总剂量而与病灶的总数目和大小无关。在所注射病灶周围皮下施用任何剩余体积的CD40激动剂(例如,APX005M)。倘如果病灶在最后计划的治疗之前完全消退,则可向先前未注射的病灶施用CG0070、CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗)和CD40激动剂(例如,APX005M)。如果所有病灶皆在治疗过程结束之前消退,则可在先前病灶处或其周围的皮下

区域中仅注射CD40激动剂(例如,APX005M)。剂量递增程序如实施例1中所述,并且将MTD/MFD命名为研究剂量,其用于II期中。

[0507] 对于研究的II期,患者的队列首先接受每周一次辐射预处理、之后肿瘤内注射I期的阶段3中测定的研究剂量的CG0070(例如,具有DDM)、CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗)和CD-40激动剂(例如,APX005M)的三组分组合达4周,之后每2周一次肿瘤内注射三组分组合共四次。其后,施用三组分组合的每月肿瘤内注射用于维持治疗,直至完全反应、所有可注射的肿瘤消失、确认的疾病进展或对研究治疗不耐受,以先发生者为准。处于I期的剂量递增期(例如,阶段1、2或3)的患者可入选II期研究,只要存在自最后剂量起至少四周的休息期即可。对于每一施用,首先向病灶注射GC0070,之后注射CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗)和CD40激动剂(例如,APX005M)。最大可注射的肿瘤(如通过PI所测定)为欲注射的第一肿瘤,并且注射体积和剂量是根据表3和表4。将任何剩余体积的药品注射至下一最大可注射的肿瘤(如通过PI所测定)中,并且注射体积和剂量是根据表3和表4。对于其他剩余体积重复此程序,直至注射如I期中测定的整个总体积和剂量。在特定注射部位的病灶不再存活时,在该部位省略CG0070注射。然而,即使在病灶消失时,还向相同部位中施用CTLA-4抑制剂和CD40激动剂注射直至治疗过程结束为止。每一患者接受CTLA-4抑制剂和CD40激动剂的最少8次注射。

[0508] 此研究有两个主要结果量度:(1)安全性和耐受性;以及(2)性能。自每一阶段开始直至每一阶段或II期中最后一个受试者入选后3个月评估安全性和耐受性。阶段1确定如通过在具有难治性物理或淋巴肿瘤的患者中剂量限制毒性(DLT)的发病率评价的CG0070(例如,具有DDM)与辐射预处理的安全性和耐受性。阶段2确定如通过在具有难治性物理或淋巴肿瘤的患者中剂量限制毒性(DLT)的发生率评价的CTLA-4抑制剂(例如抗CTLA-4mAb或阻断剂,例如伊匹单抗)与CG0070和辐射预处理的组合的安全性和耐受性。阶段3和II期研究确定如通过在具有难治性物理或淋巴肿瘤的患者中剂量限制毒性(DLT)的发生率评价的CD40激动剂(激动性抗CD40抗体,例如APX005M)与CG0070和CTLA-4抑制剂与辐射预处理的组合的安全性和耐受性。自每一阶段或II期开始直至每一阶段或II期最后一个受试者入选后24个月评估性能。通过具有可注射的难治性物理或淋巴肿瘤的患者中阶段1中经CG0070(例如,具有DDM)与辐射预处理治疗、阶段2中经CG0070和CTLA-4抑制剂(例如抗CTLA-4mAb或阻断剂,例如伊匹单抗)与辐射预处理的组合治疗、阶段3和II期中经CG0070、CTLA-4抑制剂和CD40激动剂(例如激动性抗CD40抗体,例如APX005M)与辐射预处理的组合治疗的确认的客观反应率(ORR)评价性能。

[0509] 此研究的次要结果量度如下。自每一阶段开始直至每一阶段或II期最后一个受试者入选后24个月评估安全性次要结果。对于所有三个阶段和II期,安全性次要结果量度包括以下事件的发生率:所有不良事件(AE)、3级或更高级AE、需要中断研究药品的事件、对肿瘤的局部效应、临床上显著的实验室变化和临床上显著的生命征象变化。自每一阶段或II期开始直至每一阶段或II期最后一个受试者入选后24个月评价性能次要结果。对于所有三个阶段和II期,性能次要结果量度包括最佳总体反应率(BOR)、疾病控制率(DCR)、耐久反应率(DRR)、反应持续时间(DOR)、至反应的时间(TTR)、无进展存活(PFS)、整体存活率(OS)、1年和2年存活率。

[0510] 基于以下纳入准则确定两种性别的患者对于研究的合格性:(1)患者必须 $\geq 18$ 岁;

(2) 患者必须能够理解并愿意签署书面知情同意书文件；(3) 患者必须具有组织学确认的恶性病(即I期:组织学确认的黑色素瘤、或转移性鼻咽癌;II期:组织学确认的黑色素瘤、非霍奇金氏淋巴瘤或转移性鼻咽癌);(4) 患者必须已使用至少一种全身性疗法失败或不耐受至少一种先前全身性治疗;(5) 患者必须具有至少两个大小可通过经修改的世界卫生组织(mWHO)/Cheson准则评估的病灶;两个病灶中的一者必须适于生检(核心或细针抽吸物)和肿瘤内注射高达5ml(直径 $\geq 10$ mm);(6) 具有无症状脑转移的患者是合格的;(如果可能,应避免全身性类固醇,或受试者应对于最低临床上有效的剂量稳定);(7) 患者必须具有0、1或2的美国东岸癌症临床研究合作组织(ECOG)体能状态;(8) 患者的预期寿命不得小于16周;(9) 患者必须在起始研究的6周内具有基线(筛选/基线)放射照相影像,(例如,具有欲由主治医师测定的具体成像测试的脑、胸、腹部、骨盆和骨扫描);(10) 患者必须具有以下实验室结果:白细胞(WBC) $\geq 2000/\mu\text{L}$ (约 $2 \times 10^9/\text{L}$ );绝对嗜中性球计数 $\geq 1000/\mu\text{L}$ (约 $0.5 \times 10^9/\text{L}$ );血小板计数 $\geq 75 \times 10^3/\mu\text{L}$ (约 $75 \times 10^9/\text{L}$ );血红素 $\geq 9\text{g/dL}$ (可经输血);肌酸酐 $< 2.0 \times$ 正常值上限(ULN);对于无肝转移的受试者,天冬氨酸转氨酶(AST)/丙氨酸转氨酶(ALT) $= < 2.5 \times \text{ULN}$ , $= <$ 肝转移的个体的5倍;以及胆红素 $= < 2.0 \times \text{ULN}$ (患有吉尔伯特氏症候群(Gilbert's syndrome)的受试者除外,其必须具有小于 $3.0\text{mg/dL}$ 的总胆红素);(11) 患者不得具有人类免疫缺失病毒(HIV)、B型肝炎或C型肝炎的活动性或慢性感染;(12) 具有生育潜力的女性(WOCBP)必须在整个研究期间且在研究产品的最后剂量之后持续高达26周以使怀孕风险最小化的方式使用适当避孕方法以避免怀孕;以及(13) 具有生育潜力的男性必须在整个研究期间(且在研究产品的最后剂量之后持续高达26周)以使怀孕风险最小化的方式使用适当避孕方法以避免受孕。

[0511] 自研究排除以下患者:(1) 具有任何其他恶性病的患者,该患者无疾病少于5年,经充分治疗和治愈的基础或鳞状细胞皮肤癌、表浅性膀胱癌或子宫颈的原位癌除外;(2) 具有显著肿瘤出血、或凝血或出血病症的病史的患者;(3) 自此研究排除具有发炎性肠病(包括溃疡性结肠炎和克罗恩氏病(Crohn's disease))的病史的患者,还排除具有症状性疾病(例如,类风湿性关节炎、全身性进行性硬化症[硬皮症]、全身性红斑狼疮、自体免疫性血管炎[例如,韦格纳氏肉芽肿病(Wegener's Granulomatosis)]);认为自体免疫起源的动作神经病(例如,格林-巴利症候群(Guillain-Barre Syndrome)和重症肌无力)的病史的患者;(4) 具有任何潜在医学或精神病学病况的患者,在研究者的观点下,其将使得介入药品的施用有害或使不良事件(AE)(例如与频繁腹泻相关的病况)的解释模糊;(5) 由心脏学会诊认为不适合手术的具有潜在心脏病况的患者;(6) 利用于下中的任一者的同时治疗的患者:介白素-2(IL-2)、干扰素或其他非研究免疫疗法方案;细胞毒性化学疗法;免疫抑制剂;其他研究疗法;或长期使用全身性皮质类固醇(先前IL-2或干扰素的AE的病史不会阻止受试者进入当前研究);(7) 接受任何研究试剂的患者;(8) 接受免疫抑制剂的患者(除非需要治疗潜在AE);以及(9) 有生育潜力的女性(WOCBP),在其整个研究时段中和在停止研究药品后持续至少8周,其不愿意或不能够使用可接受的避孕方法以避免怀孕;在基线时具有阳性怀孕测试,或怀孕或哺乳。

[0512] 实施例7:具有难治性物理肿瘤的患者肿瘤内CCL21预处理、之后肿瘤内施用CG0070与CTLA-4抑制剂和CD40激动剂的组合的I/II期临床研究

[0513] 此研究是旨在评估具有难治性物理肿瘤的患者中包括肿瘤内CCL21预处理、之后

肿瘤内施用CG0070、CTLA-4抑制剂和CD40激动剂的组合疗法的安全性和性能的多中心、单臂、开放标签、介入研究。

[0514] 肿瘤内CCL21预处理如下实施。在每次施用疗法(例如,CG0070、CG0070与CTLA-4抑制剂的组合、或CG0070、CTLA-4抑制剂和CD40激动剂的组合)之前2天,以约200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的剂量向每一靶向肿瘤部位中施用肿瘤内CCL21纳米胶囊。对于最长尺寸超过5cm的肿瘤,肿瘤内CCL21纳米胶囊的剂量为约2mL;对于最长尺寸为2cm至5cm的肿瘤为约1mL;并且对于最长尺寸为0.5cm至2cm的肿瘤为约0.5mL。肿瘤内CCL21纳米胶囊是在研究的I期中在6周中每周施用,或在研究的II期中在4周中每周施用,之后每2周一次再进行4个循环。其后,每个月一次肿瘤内施用CCL21纳米胶囊直至疾病进展或发生毒性事件。

[0515] I期中的临床研究分成三个阶段。阶段1为CG0070与肿瘤内CCL21奈米胶囊预处理组合的肿瘤内注射的剂量递增研究。(例如,3至6个)患者的队列接受每周肿瘤内CCL21纳米胶囊预处理、之后以下四个剂量值中的一者的CG0070(例如,具有DDM)的肿瘤内注射达4周:  $5 \times 10^{10}$  vp、 $1 \times 10^{11}$  vp、 $5 \times 10^{11}$  vp或 $1 \times 10^{12}$  vp。例如,将病毒CG0070在盐水中的0.1%DDM中重构。每一剂量的总体积为2mL。CG0070溶液的浓度对于最低剂量为约 $2.5 \times 10^{10}$  vp/ml且对于最高剂量为约 $5 \times 10^{11}$  vp/ml。如果患者具有单一病灶(其必须大于2cm),则将总体积的CG0070溶液注射至病灶中。如果存在两个或更多个病灶,则遵循如表1中所示基于病灶大小的最大注射体积。如果最大病灶为至少2cm,则将任何剩余体积注射至最大病灶中。如果最大病灶小于2cm,则将剩余体积在两个较大病灶之间分开。所注射病灶的最大数目为3。给予总剂量而与病灶的总数目和大小无关。剂量递增程序如实施例1中所述,并且将MTD/MFD命名为剂量值阶段1,其在阶段2开始时使用。

[0516] I期的阶段2为剂量递增的肿瘤内注射剂量值阶段1的CTLA-4抑制剂(例如抗CTLA-4mAb或阻断剂,例如伊匹单抗)与CG0070和肿瘤内CCL21纳米胶囊预处理的组合。(例如,3至6个)患者的队列接受每周肿瘤内CCL21纳米胶囊预处理、之后肿瘤内注射固定剂量的CG0070(例如,具有DDM)与以下三个剂量值中的一者的CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗)的组合达6周:6mg、12mg或18mg。对于每一施用,根据如阶段1中所定义在每个病灶的注射体积首先肿瘤内注射CG0070。在每一CG0070注射后立刻施用CTLA-4抑制剂。每一剂量值下的总体积、和基于两个以上注射病灶的病灶大小的最大注射体积列举于下表2中。所注射病灶的最大数目为3,并且给予CTLA-4抑制剂的总剂量而与病灶的总数目和大小无关。在所注射病灶周围皮下施用任何剩余体积的CTLA-4抑制剂。倘如果病灶在最后计划的治疗之前完全消退,则可向先前未注射的病灶施用CG0070和CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗)二者。如果所有病灶皆在治疗过程结束之前消退,则可在先前病灶处或其周围的皮下区域中仅注射CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗)。剂量递增程序如实施例1中所述,并且将MTD/MFD命名为剂量值阶段2,其在阶段3开始时使用。

[0517] I期的阶段3为剂量递增的肿瘤内注射剂量值阶段2的CD40激动剂(例如CD40激动性抗体,例如APX005M)与CTLA-4抑制剂(例如抗CTLA-4mAb或阻断剂,例如伊匹单抗)、CG0070和肿瘤内CCL21纳米胶囊预处理的组合。(例如,3至6个)患者的队列接受每周肿瘤内CCL21纳米胶囊预处理、之后肿瘤内注射固定剂量的CG0070(例如,具有DDM)和CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗)与以下三个剂量值中的一者的CD40激动剂(例如,APX005M)的组合达6周:6mg、12mg或18mg。对于每一施用,将剂量值阶段2的CG0070和CTLA-4抑制剂(例如,伊匹

单抗)调节至2mL并根据如表1中所定义每个病灶的注射体积进行肿瘤内注射。在每一CG0070/CTLA-4抑制剂注射后立刻施用CD40激动剂(例如,APX005M)。每一剂量值下的总体积、和基于两个以上注射病灶的病灶大小的最大注射体积列举于下表2中。所注射病灶的最大数目为3,并且给予CD40激动剂(例如,APX005M)的总剂量而与病灶的总数目和大小无关。在所注射病灶周围皮下施用任何剩余体积的CD40激动剂(例如,APX005M)。倘如果病灶在最后计划的治疗之前完全消退,则可向先前未注射的病灶施用CG0070、CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗)和CD40激动剂(例如,APX005M)。如果所有病灶皆在治疗过程结束之前消退,则可在先前病灶处或其周围的皮下区域中仅注射CD40激动剂(例如,APX005M)。剂量递增程序如实施例1中所述,并且将MTD/MFD命名为研究剂量,其用于II期中。

[0518] 对于研究的II期,患者的队列首先接受每周一次肿瘤内CCL21纳米胶囊预处理、之后肿瘤内注射I期的阶段3中测定的研究剂量的CG0070(例如,具有DDM)、CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗)和CD-40激动剂(例如,APX005M)的三组分组合达4周,之后每2周一次肿瘤内注射三组分组合共四次。其后,施用三组分组合的每月肿瘤内注射用于维持治疗,直至完全反应、所有可注射的肿瘤消失、确认的疾病进展或对研究治疗不耐受,以先发生者为准。处于I期的剂量递增期(例如,阶段1、2或3)的患者可入选II期研究,只要存在自最后剂量起至少四周的休息期即可。对于每一施用,首先向病灶注射GC0070,之后注射CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗)和CD40激动剂(例如,APX005M)。最大可注射的肿瘤(如通过PI所测定)为欲注射的第一肿瘤,并且注射体积和剂量是根据表3和表4。将任何剩余体积的药品注射至下一最大可注射的肿瘤(如通过PI所测定)中,并且注射体积和剂量是根据表3和表4。对于其他剩余体积重复此程序,直至注射如I期中测定的整个总体积和剂量。在特定注射部位的病灶不再存活时,在该部位省略CG0070注射。然而,即使在病灶消失时,还向相同部位中施用CTLA-4抑制剂和CD40激动剂注射直至治疗过程结束为止。每一患者接受CTLA-4抑制剂和CD40激动剂的最少8次注射。

[0519] 此研究有两个主要结果量度:(1)安全性和耐受性;以及(2)性能。自每一阶段开始直至每一阶段或II期中最后一个受试者入选后3个月评估安全性和耐受性。阶段1确定如通过在具有难治性物理或淋巴肿瘤的患者中剂量限制毒性(DLT)的发病率评价的CG0070(例如,具有DDM)与肿瘤内CCL21预处理的安全性和耐受性。阶段2确定如通过在具有难治性物理或淋巴肿瘤的患者中剂量限制毒性(DLT)的发生率评价的CTLA-4抑制剂(例如抗CTLA-4mAb或阻断剂,例如伊匹单抗)与CG0070和肿瘤内CCL21预处理的组合的安全性和耐受性。阶段3和II期研究确定如通过在具有难治性物理或淋巴肿瘤的患者中剂量限制毒性(DLT)的发生率评价的CD40激动剂(激动性抗CD40抗体,例如APX005M)与CG0070和CTLA-4抑制剂与肿瘤内CCL21预处理的组合的安全性和耐受性。自每一阶段或II期开始直至每一阶段或II期最后一个受试者入选后24个月评估性能。通过具有可注射的难治性实体或淋巴肿瘤的患者中阶段1中经CG0070(例如,具有DDM)与肿瘤内CCL21预处理治疗、阶段2中经CG0070和CTLA-4抑制剂(例如抗CTLA-4mAb或阻断剂,例如伊匹单抗)与肿瘤内CCL21预处理的组合治疗、阶段3和II期中经CG0070、CTLA-4抑制剂和CD40激动剂(例如激动性抗CD40抗体,例如APX005M)与肿瘤内CCL21预处理的组合治疗的确认的客观反应率(ORR)评价性能。

[0520] 此研究的次要结果量度如下。自每一阶段开始直至每一阶段或II期最后一个受试者入选后24个月评估安全性次要结果。对于所有三个阶段和II期,安全性次要结果量度包

括以下事件的发生率:所有不良事件(AE)、3级或更高级AE、需要中断研究药品的事件、对肿瘤的局部效应、临床上显著的实验室变化和临床上显著的生命征象变化。自每一阶段或II期开始直至每一阶段或II期最后一个受试者入选后24个月评价性能次要结果。对于所有三个阶段和II期,性能次要结果量度包括最佳总体反应率(BOR)、疾病控制率(DCR)、耐久反应率(DRR)、反应持续时间(DOR)、至反应的时间(TTR)、无进展存活(PFS)、整体存活率(OS)、1年和2年存活率。

[0521] 基于以下纳入准则确定两种性别的患者对于研究的合格性:(1)患者必须具有使用标准疗法(手术、化学疗法、放射疗法或内分泌疗法)失败且不存在治愈性选择的组织学确认的物理肿瘤,包括但不限于:头颈鳞状细胞癌、皮肤鳞状细胞癌、乳癌、恶性黑色素瘤、结肠直肠癌、胰脏腺癌、卵巢癌、非小细胞肺癌和前列腺癌;(2)患者可能已具有任何种类和数目的先前癌症疗法;(3)患者必须具有可通过RECIST方法评估的可测量病灶;(4)欲治疗的肿瘤块必须足够用于注射(即,远离主要血管结构超过2cm)和通过RECIST测量;(5)患者必须 $\geq 18$ 岁;(6)患者的预期寿命必须 $\geq 12$ 周;(7)患者必须具有0、1或2的美国东岸癌症临床研究合作组织(ECOG)体能状态;(8)患者必须有足够的肝功能,定义如下:总胆红素含量 $\leq 1.5 \times$ 正常值上限(ULN);以及如果存在肝转移,则AST/ALT含量 $\leq 2.5 \times$ ULN、或 $\leq 5 \times$ ULN;(9)患者必须具有足够肾功能,定义如下:血清肌酸酐 $\leq 1.5 \times$ ULN,或对于肌酸酐 $> 1.5 \times$ ULN的患者肌酸酐清除率(计算值) $\geq 60 \text{ mL/min/1.73m}^2$ ;(10)患者必须有足够骨髓功能,定义如下:绝对嗜中性球计数 $\geq 1,200/\mu\text{L}$ ;以及血小板计数 $\geq 80,000/\mu\text{L}$ ;(11)患者必须无已知的出血素质或凝血病变,其将使得肿瘤内注射或活检不安全;(12)有生育潜力的男性和女性必须同意在研究进入之前使用适当避孕措施并且长达六个月;(13)有生育潜力的女性在开始治疗前一周内必须进行阴性尿液或血清妊娠测试;以及(14)患者必须能够理解并愿意签署书面知情同意书文件。

[0522] 自研究中排除以下患者:(1)在筛选前4周内接受化学疗法、免疫疗法或放射疗法、或因在筛选前超过4周施用的试剂产生的不良事件 $> 1$ 级(脱发除外)的患者;(2)具有显著肿瘤出血或凝血或出血病症史的患者;基于如由放射师确定的明确成像发现,具有可潜在地侵入主要血管结构(例如无名动脉、颈动脉)的靶肿瘤的患者;(3)具有 $\geq 1$ 级预先存在的神经异常(CTCAE版本4.0)的患者;(4)在研究进入之前30天期间因需要住院评估、治疗或程序的紧急病况住院的患者。另外,需要住院评估、治疗或程序的紧急病况必须在进入研究之前30天已经消退或在医学上稳定且不严重;(5)具有临床上显著的人类免疫缺失病毒(HIV)、B型肝炎病毒(HBV)、C型肝炎病毒(HCV)或艾司坦-巴尔病毒(EBV)感染的患者。在治疗前筛选期间测试患者的HIV;(6)(例如)针对类风湿性关节炎接受类固醇或免疫抑制剂的患者;(7)同时使用任何其他研究药剂的患者;(8)存在中枢神经系统转移或有该病史的患者;(9)在研究期限内怀孕或哺乳的女性或希望怀孕的女性;(10)具有不受控间发病(包括但不限于正在进行或活动性感染、症状性郁血性心脏衰竭、不稳定性心绞痛、心律不整或将限制对研究需求的顺从性的精神病学疾病/社会情况)的患者。

[0523] 实施例8:具有难治性物理肿瘤的患者肿瘤内CpG预处理、之后肿瘤内施用CG0070与CTLA-4抑制剂和OX40激动剂的组合的I/II期临床研究

[0524] 此研究是旨在评估具有难治性物理肿瘤的患者中包括肿瘤内CpG预处理、之后肿瘤内施用CG0070与CTLA-4抑制剂和OX40激动剂的组合的组合疗法的安全性和性能的多中

心、单臂、开放标签、介入研究。

[0525] 肿瘤内CpG预处理如下实施。在每次施用疗法(例如,CG0070、CG0070与CTLA-4抑制剂的组合、或CG0070、CTLA-4抑制剂和OX40激动剂的组合)之前2天,以约1mg/mL的剂量向每一靶向肿瘤部位中施用肿瘤内CpG(例如CpG 7909)。对于最长尺寸超过5cm的肿瘤,肿瘤内CpG的注射体积为约2mL;对于最长尺寸为2cm至5cm的肿瘤为约1mL;并且对于最长尺寸为0.5cm至2cm的肿瘤为约0.5mL。肿瘤内CpG是在研究的I期中在6周中每周施用,或在研究的II期中在4周中每周施用,之后每2周一次再进行4个循环。其后,每个月一次肿瘤内施用CpG直至疾病进展或发生毒性事件。

[0526] I期中的临床研究分成三个阶段。阶段1为CG0070与肿瘤内CpG(例如,CpG 7909)预处理组合的肿瘤内注射的剂量递增研究。(例如,3至6个)患者的队列接受每周肿瘤内CpG(例如,CpG 7909)预处理、之后肿瘤内注射以下四个剂量值中的一者的CG0070(例如,具有DDM)达4周: $5 \times 10^{10}$ vp、 $1 \times 10^{11}$ vp、 $5 \times 10^{11}$ vp或 $1 \times 10^{12}$ vp。举例而言,将病毒CG0070在盐水中的0.1%DDM中重构。每一剂量的总体积为2mL。CG0070溶液的浓度对于最低剂量为约 $2.5 \times 10^{10}$ vp/ml且对于最高剂量为约 $5 \times 10^{11}$ vp/ml。如果患者具有单一病灶(其必须大于2cm),则将总体积的CG0070溶液注射至病灶中。如果存在两个或更多个病灶,则遵循如表1中所示基于病灶大小的最大注射体积。如果最大病灶为至少2cm,则将任何剩余体积注射至最大病灶中。如果最大病灶小于2cm,则将剩余体积在两个较大病灶之间分开。所注射病灶的最大数目为3。给予总剂量而与病灶的总数目和大小无关。剂量递增程序如实施例1中所述,并且将MTD/MFD命名为剂量值阶段1,其在阶段2开始时使用。

[0527] I期的阶段2为剂量递增的肿瘤内注射剂量值阶段1的CTLA-4抑制剂(例如抗CTLA-4mAb或阻断剂,例如伊匹单抗)与CG0070和肿瘤内CpG预处理的组合。(例如,3至6个)患者的队列接受每周肿瘤内CpG(例如,CpG 7909)预处理、之后肿瘤内注射固定剂量的CG0070(例如,具有DDM)与以下三个剂量值中的一者的CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗)的组合达6周:6mg、12mg或18mg。对于每一施用,根据如阶段1中所定义的一个病灶的注射体积首先肿瘤内注射CG0070。在每一CG0070注射后立刻施用CTLA-4抑制剂。每一剂量值下的总体积、和基于两个以上注射病灶的病灶大小的最大注射体积列举于下表2中。所注射病灶的最大数目为3,并且给予CTLA-4抑制剂的总剂量而与病灶的总数目和大小无关。在所注射病灶周围皮下施用任何剩余体积的CTLA-4抑制剂。倘如果病灶在最后计划的治疗之前完全消退,则可向先前未注射的病灶施用CG0070和CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗)二者。如果所有病灶皆在治疗过程结束之前消退,则可在先前病灶处或其周围的皮下区域中仅注射CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗)。剂量递增程序如实施例1中所述,并且将MTD/MFD命名为剂量值阶段2,其在阶段3开始时使用。

[0528] I期的阶段3为剂量递增的肿瘤内注射剂量值阶段2的OX40激动剂(例如OX40激动性抗体,例如MEDI-6469)与CTLA-4抑制剂(例如抗CTLA-4mAb或阻断剂,例如伊匹单抗)、CG0070和肿瘤内CpG(例如,CpG 7909)预处理的组合。(例如,3至6个)患者的队列接受每周肿瘤内CpG预处理、之后肿瘤内注射固定剂量的CG0070(例如,具有DDM)和CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗)与以下三个剂量值中的一者的OX40激动剂(例如,MEDI-6469)的组合达6周:6mg、12mg或18mg。对于每一施用,将剂量值阶段2的CG0070和CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗)调节至2mL并根据如表1中所定义的一个病灶的注射体积进行肿瘤内注射。在每一

CG0070/CTLA-4抑制剂注射后立刻施用OX40激动剂(例如,MEDI-6469)。每一剂量值下的总体积、和基于两个以上注射病灶的病灶大小的最大注射体积列举于下表2中。所注射病灶的最大数目为3,并且给予OX40激动剂(例如,MEDI-6469)的总剂量而与病灶的总数目和大小无关。在所注射病灶周围皮下施用任何剩余体积的OX40激动剂(例如,MEDI-6469)。倘如果病灶在最后计划的治疗之前完全消退,则可向先前未注射的病灶施用CG0070、CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗)和OX40激动剂(例如,MEDI-6469)。如果所有病灶皆在治疗过程结束之前消退,则可在先前病灶处或其周围的皮下区域中仅注射OX40激动剂(例如,MEDI-6469)。剂量递增程序如实施例1中所述,并且将MTD/MFD命名为研究剂量,其用于II期中。

[0529] 对于研究的II期,患者的队列首先接受每周一次肿瘤内CpG预处理、之后肿瘤内注射I期的阶段3中测定的研究剂量的CG0070(例如,具有DDM)、CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗)和OX-40激动剂(例如,MEDI-6469)的三组分组合达4周,之后每2周一次肿瘤内注射三组分组合共四次。其后,施用三组分组合的每月肿瘤内注射用于维持治疗,直至完全反应、所有可注射的肿瘤消失、确认的疾病进展或对研究治疗不耐受,以先发生者为准。处于I期的剂量递增期(例如,阶段1、2或3)的患者可入选II期研究,只要存在自最后剂量起至少四周的休息期即可。对于每一施用,首先向病灶注射GC0070,之后注射CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗)和OX-40激动剂(例如,MEDI-6469)。最大可注射的肿瘤(如通过PI所测定)为欲注射的第一肿瘤,并且注射体积和剂量是根据表3和表4。将任何剩余体积的药品注射至下一最大可注射的肿瘤(如通过PI所测定)中,并且注射体积和剂量是根据表3和表4。对于其他剩余体积重复此程序,直至注射如I期中测定的整个总体积和剂量。在特定注射部位的病灶不再存活时,在该部位省略CG0070注射。然而,即使在病灶消失时,还向相同部位中施用CTLA-4抑制剂和OX-40激动剂(例如,MEDI-6469)注射直至治疗过程结束为止。每一患者接受CTLA-4抑制剂和OX-40激动剂(例如,MEDI-6469)的最少8次注射。

[0530] 此研究有两个主要结果量度:(1)安全性和耐受性;以及(2)性能。自每一阶段开始直至每一阶段或II期中最后一个受试者入选后3个月评估安全性和耐受性。阶段1确定如通过在具有难治性物理或淋巴肿瘤的患者中剂量限制毒性(DLT)的发病率评价的CG0070(例如,具有DDM)与肿瘤内CpG预处理的安全性和耐受性。阶段2确定如通过在具有难治性物理或淋巴肿瘤的患者中剂量限制毒性(DLT)的发生率评价的CTLA-4抑制剂(例如抗CTLA-4mAb或阻断剂,例如伊匹单抗)与CG0070和肿瘤内CpG预处理的组合的安全性和耐受性。阶段3和II期研究确定如通过在具有难治性实体或淋巴肿瘤的患者中剂量限制毒性(DLT)的发病率评价的OX40激动剂(激动性抗OX40抗体,例如MEDI-6469)与CG0070和CTLA-4抑制剂与肿瘤内CpG预处理的组合的安全性和耐受性。自每一阶段或II期开始直至每一阶段或II期最后一个受试者入选后24个月评估性能。通过具有可注射的难治性物理或淋巴肿瘤的患者中阶段1中经CG0070(例如,具有DDM)与肿瘤内CpG预处理治疗、阶段2中经CG0070和CTLA-4抑制剂(例如抗CTLA-4mAb或阻断剂,例如伊匹单抗)与肿瘤内CpG预处理的组合治疗、阶段3和II期中经CG0070、CTLA-4抑制剂和OX40激动剂(例如激动性抗OX40抗体,例如MEDI-6469)与肿瘤内CpG预处理的组合治疗的确认的客观反应率(ORR)评价性能。

[0531] 此研究的次要结果量度如下。自每一阶段开始直至每一阶段或II期最后一个受试者入选后24个月评估安全性次要结果。对于所有三个阶段和II期,安全性次要结果量度包括以下事件的发生率:所有不良事件(AE)、3级或更高级AE、需要中断研究药品的事件、对肿

瘤的局部效应、临床上显著的实验室变化和临床上显著的生命征象变化。自每一阶段或II期开始直至每一阶段或II期最后一个受试者入选后24个月评价性能次要结果。对于所有三个阶段和II期,性能次要结果量度包括最佳总体反应率(BOR)、疾病控制率(DCR)、耐久反应率(DRR)、反应持续时间(DOR)、至反应的时间(TTR)、无进展存活(PFS)、整体存活率(OS)、1年和2年存活率。

[0532] 基于以下纳入准则确定两种性别的患者对于研究的合格性:(1)患者必须具有使用标准疗法(手术、化学疗法、放射疗法或内分泌疗法)失败且不存在治愈性选择的组织学确认的物理肿瘤,包括但不限于:头颈鳞状细胞癌、皮肤鳞状细胞癌、乳癌、恶性黑色素瘤、结肠直肠癌、胰脏腺癌、卵巢癌、非小细胞肺癌和前列腺癌;(2)患者可能已具有任何种类和数目的先前癌症疗法;(3)患者必须具有可通过RECIST方法评估的可测量病灶;(4)欲治疗的肿瘤块必须足够用于注射(即,远离主要血管结构超过2cm)和通过RECIST测量;(5)患者必须 $\geq 18$ 岁;(6)患者的预期寿命必须 $\geq 12$ 周;(7)患者必须具有0、1或2的美国东岸癌症临床研究合作组织(ECOG)体能状态;(8)患者必须有足够的肝功能,定义如下:总胆红素含量 $\leq 1.5 \times$ 正常值上限(ULN);以及如果存在肝转移,则AST/ALT含量 $\leq 2.5 \times$ ULN、或 $\leq 5 \times$ ULN;(9)患者必须具有足够肾功能,定义如下:血清肌酸酐 $\leq 1.5 \times$ ULN,或对于肌酸酐 $> 1.5 \times$ ULN的患者肌酸酐清除率(计算值) $\geq 60 \text{ mL/min/1.73m}^2$ ;;(10)患者必须有足够骨髓功能,定义如下:绝对嗜中性球计数 $\geq 1,200/\mu\text{L}$ ;以及血小板计数 $\geq 80,000/\mu\text{L}$ ;(11)患者必须无已知的出血素质或凝血病变,其将使得肿瘤内注射或生检不安全;(12)有生育潜力的男性和女性必须同意在研究进入之前使用适当避孕措施并且长达六个月;(13)有生育潜力的女性开始治疗前一周内必须进行阴性尿液或血清妊娠测试;以及(14)患者必须能够理解并愿意签署书面知情同意书文件。

[0533] 自研究中排除以下患者:(1)在筛选前4周内接受化学疗法、免疫疗法或放射疗法、或因在筛选前超过4周施用的试剂产生的不良事件 $> 1$ 级(脱发除外)的患者;(2)具有显著肿瘤出血或凝血或出血病史的患者;基于如由放射师确定的明确成像发现,具有可潜在地侵入主要血管结构(例如无名动脉、颈动脉)的靶肿瘤的患者;(3)具有 $\geq 1$ 级预先存在的神经异常(CTCAE版本4.0)的患者;(4)在研究进入之前30天期间因需要住院评估、治疗或程序的紧急病况住院的患者。另外,需要住院评估、治疗或程序的紧急病况必须在进入研究之前30天已经消退或在医学上稳定且不严重;(5)具有临床上显著的人类免疫缺失病毒(HIV)、B型肝炎病毒(HBV)、C型肝炎病毒(HCV)或艾司坦-巴尔病毒(EBV)感染的患者。在治疗前筛选期间测试患者的HIV;(6)(例如)针对类风湿性关节炎接受类固醇或免疫抑制剂的患者;(7)同时使用任何其他研究药剂的患者;(8)存在中枢神经系统转移或有该病史的患者;(9)在研究期限内怀孕或哺乳的女性或希望怀孕的女性;(10)具有不受控间发病(包括但不限于正在进行或活动性感染、症状性郁血性心脏衰竭、不稳定性心绞痛、心律不整或将限制对研究需求的顺从性的精神病学疾病/社会情况)的患者。

[0534] 实施例9:鳞状细胞肺癌小鼠同种异体移植模型中Ar20-1004与抗CTLA-4抗体和/或抗PD-L1抗体的组合的肿瘤内施用的活体内研究。

[0535] 此实施例阐述KLN 205鼠类鳞状细胞肺癌小鼠同种异体移植模型中单独施用或与抗CTLA-4抗体9H10和/或抗PD-L1抗体WBP315组合施用溶瘤腺病毒Ar20-1004的性能的活体内研究。通过监测肿瘤生长和转移评价效能。Ar20-1004为具有除表达小鼠GM-CSF外与

CG0070相同的构筑体的条件复制溶瘤腺病毒(CG0070表达人类GM-CSF)。由于肿瘤选择性E2F-1启动子的存在,Ar20-1004在具有Rb-途径缺陷的肿瘤细胞中选择性复制并选择性杀死此类肿瘤细胞。细胞死亡事件和表达的GM-CSF可刺激针对远程未感染转移的免疫反应。Ar20-1004已阐述于以引用方式并入本文中的US2008/0118470中。

#### [0536] 材料和方法

[0537] Ar20-1004( $1.2 \times 10^{12}$ vp/mL)和抗PD-L1(WBP315)(5.6mg/mL)是于Cold Genesys Inc.制备并在使用之前储存于-80°C下。分别以6.15mg/mL和9.55mg/mL原液形式供应的抗CTLA-4 9H10和仓鼠多株IgG购自BioX cell(West Lebanon,NH)。所有给药溶液皆是每天新鲜制备且在给药之前将溶液组合用于整组动物。将抗PD-L1(WBP315)、抗CTLA-4 9H10和仓鼠IgG同型各自稀释于PBS中以产生1mg/mL的给药溶液。

[0538] 将KLN 205肿瘤细胞接种在雌性DBA/2小鼠的右侧腹和左侧腹中。在植入右侧后4天,在左侧上植入肿瘤。当右侧腹中的肿瘤达到99-102mm<sup>3</sup>的组平均体积时,在具有确立的皮下KLN 205肿瘤的8组小鼠(n=10)中在第1天(D)开始治疗。所有试剂在第1天、第4天、第7天和第10天肿瘤内施用至右侧腹肿瘤。以 $1 \times 10^{10}$ pfu/动物施用Ar20-1004。各自以20μg/动物施用抗CTLA-4、仓鼠多株IgG和抗PD-L1。对照动物未经处理。动物组和给药方案概述于图2中。

[0539] 每周两次在两腹上测量肿瘤。研究终点定义为对照组右侧腹中的平均肿瘤体积为1000mm<sup>3</sup>或35天,以先到者为准。当对照组达到肿瘤体积终点时,在第23天结束研究。治疗结果是基于肿瘤生长抑制百分比(%TGI),定义为在第19天经治疗小鼠和对照小鼠的中值肿瘤体积(MTV)(双侧肿瘤体积的总和)的差异百分比。使用Mann-Whitney U测试分析结果,并且在P<0.05时认为具有统计学显著性。

[0540] 还通过对第23天(即研究的最后一天)的肺转移病灶进行计数来分析结果。在终点使用异氟醚麻醉处死动物,并实施尸检以鉴别转移。通过将右肺之上、中、下和后腔静脉瓣中计数的病灶数目与在左肺中计数的病灶数目相加来获得总计数。抑制百分比定义为指定对照组的转移病灶的数目与药品治疗组的转移病灶的数目之间的差,表示为指定对照的转移病灶的数目的百分比。

[0541] 抑制% =  $[1 - (\text{药品治疗的病灶数} / \text{对照病灶数})] \times 100$ 。

[0542] 使用Kruskal-Wallis测试分析结果,并且在P<0.05时认为具有统计学显著性。通过体重(BW)测量和频繁观察治疗相关(TR)副作用的临床体征来评价治疗耐受性。

#### [0543] 结果

[0544] 此研究表征在KLN 205鼠类鳞状细胞肺癌同种异体移植模型中由Ar20-1004诱导的抗肿瘤反应。当Ar20-1004与抗CTLA-4和/或抗PD-L1组合施用时,还评估反应。直至第23天每周两次测量肿瘤,并在第D19实施TGI分析。在第23天对肺转移病灶进行计数。所有治疗均耐受良好。

[0545] 当在雌性DBA/2小鼠中的KLN 205鼠类鳞状细胞肺癌模型中肿瘤内施用时,单独或组合的Ar20-1004、抗CTLA-4和抗PD-L1不显示显著的肿瘤生长抑制(图4)。Ar20-1004、抗CTLA-4和抗PD-L1单一疗法分别将转移抑制71%、60%和66%,但与未经处理组相比,此类结果在统计上不显著。类似地,Ar20-1004与抗CTLA-4的组合、或抗CTLA-4和抗PD-L1的双重疗法(无Ar20-1004)分别将转移抑制69%和74%,其在统计上不显著。

[0546] 值得注意的是,包括Ar20-1004和抗PD-L1的组合疗法引起转移计数的显著84%抑制,并且包括Ar20-1004、抗PD-L1和抗CTLA-4的三重组合疗法引起转移病灶的显著94%抑制(图3)。

[0547] 实施例10:4T1同源小鼠模型中肿瘤内施用Ar20-1004与肿瘤内抗CTLA-4 9H10和/或局部辐照的组的活体内研究。

[0548] 此实施例阐述评估4T1同源小鼠模型中原发性肿瘤部位的由单独或与CTLA-4-阻断和/或辐照的组的Ar20-1004诱导的抗肿瘤免疫反应以和对转移的治疗影响的活体内研究。

[0549] 4T1为Rb-途径缺陷性小鼠乳癌细胞系。作为预备步骤,通过4T1细胞存活率和毒性(即,GM-CSF产生)分析评价Ar20-1004(一种具有小鼠特异性GM-CSF序列的人类腺病毒(Ad5)衍生物)的抗肿瘤效应。在相同活体外分析中使用LNCap纯系FGC(ATCC®CRL-1740™)人类细胞系作为阳性对照。分别以10、100和1000的MOI用Ar20-1004感染癌细胞的一式三分孔达24小时。在感染后24小时、72小时和120小时经由MTT分析评价细胞存活率。在感染后24小时、72小时和120小时收集细胞上清液,并通过ELISA测试总GM-CSF蛋白。

[0550] 在活体内研究中,向8-12周龄的雌性BALB/c小鼠的第4腹股沟乳房脂肪垫中正位注射 $10^4$ 个4T1肿瘤细胞。在肿瘤达到50-100mm<sup>3</sup>的平均大小时,实施成对匹配,并且将小鼠随机化成如表1中所示的治疗组以开始治疗。给药方案如图5中所示。在施用Ar20-1004(治疗方案1)和视情况抗CTLA-4抗体9H10(BioXcell)或Syrian仓鼠IgG2同型对照(BioXcell,治疗方案2)的第1剂量之前1天给予5Gy的辐照。利用如表6中所列举的治疗方案1和2以3天间隔治疗小鼠4次。每次将所有药剂至一个注射器中用于单一剂量肿瘤内施用。总剂量体积不超过50μl/剂量/小鼠。

[0551] 表6.

组	数目	治疗方案 1 Ar20-1004 (IT) $1 \times 10^{10}$ pfu/剂量	治疗方案 2 抗 CTLA-4 (IT) 或叙利亚 仓鼠 IgG2 (同型对照, IT) 30 $\mu$ g/剂量/动物	治疗方案 3 原发性 肿瘤部位处辐照
1	观察组 (Look-See Group)	-	-	-
2	10	-	-	-
[0552] 3	10	生理盐水	叙利亚仓鼠 IgG2	-
4	10	+	叙利亚仓鼠 IgG2	-
5	10	生理盐水	抗 CTLA-4	-
6	10	+	抗 CTLA-4	-
7	10	-	-	+
8	10	生理盐水	叙利亚仓鼠 IgG2	+
9	10	+	叙利亚仓鼠 IgG2	+
10	10	生理盐水	抗 CTLA-4	+
11	10	+	抗 CTLA-4	+

[0553] 研究具有两个主要终点: (1) 肿瘤生长抑制 (TGI); 以及 (2) 转移计数。还检查动物的治疗对正常行为的任何效应, 例如移动性、食物和水消耗的视觉估计、体重增加/减少 (体重在第一周的工作日测量, 并且随后在随机化后每周两次测量)、眼/毛发垫和任何其他异常效应。报告任何不良反应或死亡。

[0554] 为监测肿瘤生长, 使用测径器测量原发性肿瘤的体积。对单次观察到 >30% 体重减轻或连续三次测量到 >25% 体重减轻的个别动物实施安乐死。平均体重减轻 >20% 或 >10% 死亡率的任何组停止给药, 但该组未实施安乐死且允许恢复。在具有 >20% 体重减轻的组中, 对达到个体体重减轻终点的个体实施安乐死。如果组治疗相关的体重减轻恢复至原始重量的 10% 内, 则可以更低剂量或更低频率的给药时间表重新开始给药。

[0555] 为测定转移计数, 将来自观察组的 2-3 只动物在第 12 天开始每两天安乐死。在具有最小支气管下自每只小鼠移出动物的肺, 并且使用印度墨对肺表面上的肿瘤病灶进行染色并计数。当在观察组中观察到每个肺组 50-100 个转移病灶时, 达到转移计数终点, 并且将所有小鼠安乐死并对其肺转移病灶进行计数。在评价所有动物的转移时, 还基于在研究的最后一天进行的肿瘤体积测量来计算 % TGI。还在终止时对所有动物实施全身验尸以通过在注射部位、局部淋巴结、肺、肝、肾、脾和脑印度墨染色来鉴别任何转移。

#### [0556] 示例性实施方案

[0557] 实施方案 1: 在一些实施方案中, 提供治疗个体的实体或淋巴肿瘤的方法, 该方法包括: a) 向该肿瘤部位局部施用有效量的感染剂; 以及 b) 向该肿瘤部位局部施用有效量的免疫调节剂。

[0558] 实施方案 2: 在实施方案 1 的一些其他实施方案中, 该感染剂为病毒。

[0559] 实施方案 3: 在实施方案 2 的一些其他实施方案中, 该病毒选自由下列组成的组: 腺

病毒、单纯疱疹病毒、牛痘病毒、腮腺炎病毒、新城鸡瘟病毒、脊髓灰质炎病毒、麻疹病毒、塞尼卡谷病毒、柯萨奇病毒、里奥病毒、水疱性口炎病毒、马拉巴和棒状病毒、以及小病毒。

[0560] 实施方案4:在实施方案2或实施方案3的一些其他实施方案中,该病毒为非溶瘤病毒。

[0561] 实施方案5:在实施方案2或实施方案3的一些其他实施方案中,该病毒为溶瘤病毒。

[0562] 实施方案6:在实施方案5的一些其他实施方案中,该溶瘤病毒为溶瘤腺病毒。

[0563] 实施方案7:在实施方案5或实施方案6的一些其他实施方案中,该溶瘤病毒优先在癌细胞中复制。

[0564] 实施方案8:在实施方案7的一些其他实施方案中,该溶瘤病毒包括包括可操作连接至该病毒复制所必需的病毒基因的肿瘤细胞特异性启动子的病毒载体。

[0565] 实施方案9:在实施方案8的一些其他实施方案中,该肿瘤特异性启动子为E2F-1启动子。

[0566] 实施方案10:在实施方案9的一些其他实施方案中,该肿瘤特异性启动子为人类E2F-1启动子。

[0567] 实施方案11:在实施方案9或实施方案10的一些其他实施方案中,该E2F-1启动子包括SEQ ID NO:1中所述的核苷酸序列。

[0568] 实施方案12:在实施方案8至11中任一者的一些其他实施方案中,该病毒复制所必需的该病毒基因选自自由下列组成的组:E1A、E1B和E4。

[0569] 实施方案13:在实施方案1的一些其他实施方案中,该感染剂为细菌。

[0570] 实施方案14:在实施方案13的一些其他实施方案中,该细菌为卡介苗 (BCG)、分枝杆菌细胞壁-DNA复合物 (“MCNA”) 或单核球增多性李氏菌。

[0571] 实施方案15:在实施方案1至14中任一者的一些其他实施方案中,将该感染剂直接施用至该肿瘤中。

[0572] 实施方案16:在实施方案1至14中任一者的一些其他实施方案中,将该感染剂施用至具有该肿瘤的组织中。

[0573] 实施方案17:在实施方案1至16中任一者的一些其他实施方案中,将该免疫调节剂直接施用至该肿瘤中。

[0574] 实施方案18:在实施方案1至16中任一者的一些其他实施方案中,将该免疫调节剂施用至具有该肿瘤的组织。

[0575] 实施方案19:在实施方案1至18中任一者的一些其他实施方案中,依序施用该感染剂和该免疫调节剂。

[0576] 实施方案20:在实施方案19的一些其他实施方案中,在施用该免疫调节剂之前施用该感染剂。

[0577] 实施方案21:在实施方案19的一些其他实施方案中,在施用该免疫调节剂后施用该感染剂。

[0578] 实施方案22:在实施方案1至18中任一者的一些其他实施方案中,同时施用该感染剂和该免疫调节剂。

[0579] 实施方案23:在实施方案22的一些其他实施方案中,在同一组合物中施用该感染

剂和该免疫调节剂。

[0580] 实施方案24:在实施方案1至23中任一者的一些其他实施方案中,该免疫调节剂为免疫检查点分子的调节剂,该免疫检查点分子选自由下列组成的组:CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、TIM3、B7-H3、B7-H4、LAG-3、KIR、以及它们的配体。

[0581] 实施方案25:在实施方案24的一些其他实施方案中,该免疫调节剂为CTLA-4的抑制剂。

[0582] 实施方案26:在实施方案25的一些其他实施方案中,该CTLA-4的抑制剂为抗CTLA-4抗体。

[0583] 实施方案27:在实施方案26的一些其他实施方案中,抗CTLA-4抗体选自由下列组成的组:伊匹单抗、曲美木单抗和单链抗CTLA-4抗体。

[0584] 实施方案28:在实施方案27的一些其他实施方案中,该抗CTLA-4抗体为伊匹单抗。

[0585] 实施方案29:在实施方案25的一些其他实施方案中,该CTLA-4的抑制剂为特异性识别CTLA-4的经改造的脂质运载蛋白。

[0586] 实施方案30:在实施方案29的一些其他实施方案中,该经改造的脂质运载蛋白为特异性结合至CTLA-4的抗运载蛋白分子。

[0587] 实施方案31:在实施方案1至23中任一者的一些其他实施方案中,该免疫调节剂为免疫刺激剂。

[0588] 实施方案32:在实施方案31的一些其他实施方案中,该免疫刺激剂为OX40、4-1BB或CD40的活化剂。

[0589] 实施方案33:在实施方案32的一些其他实施方案中,该免疫刺激剂为CD40的刺激剂。

[0590] 实施方案34:在实施方案33的一些其他实施方案中,该免疫调节剂为CD40的激动剂抗体。

[0591] 实施方案35:在实施方案1至34中任一者的一些其他实施方案中,该方法还包括向该肿瘤部位局部施用免疫相关分子。

[0592] 实施方案36:在实施方案35的一些其他实施方案中,该免疫相关分子选自由下列组成的组:GM-CSF、IL-2、IL-12、干扰素、CCL4、CCL19、CCL21、CXCL13、TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、RIG-I、MDA5、LGP2和LT $\alpha\beta$ 。

[0593] 实施方案37:在实施方案35的一些其他实施方案中,该免疫相关分子选自由下列组成的组:STING活化剂、PRRago、TLR刺激物和RLR刺激物。

[0594] 实施方案38:在实施方案35至37中任一者的一些其他实施方案中,该免疫相关分子与该感染剂分开施用。

[0595] 实施方案39:在实施方案35或实施方案36的一些其他实施方案中,该免疫相关分子为由该感染剂表达,其中该感染剂包括编码该免疫相关分子的核酸。

[0596] 实施方案40:在实施方案39的一些其他实施方案中,该感染剂为包括病毒载体的病毒,并且其中该病毒载体包括编码该免疫相关分子的该核酸。

[0597] 实施方案41:在实施方案40的一些其他实施方案中,编码该免疫相关分子的该核酸可操作连接至病毒启动子。

[0598] 实施方案42:在实施方案41的一些其他实施方案中,该病毒为腺病毒,并且该病毒

启动子为E3启动子。

[0599] 实施方案43:在实施方案1至42中任一者的一些其他实施方案中,该感染剂为腺病毒血清型5,其中天然腺病毒的内源性E1a启动子和E319kD编码区经人类E2F-1启动子和编码人类GM-CSF的核酸置换。

[0600] 实施方案44:在实施方案43的一些其他实施方案中,该感染剂为CG0070。

[0601] 实施方案45:在实施方案1至44中任一者的一些其他实施方案中,该方法还包括在施用该感染剂之前向该肿瘤部位局部施用预处理组合物。

[0602] 实施方案46:在实施方案45的一些其他实施方案中,该预处理组合物包括转导增强剂。

[0603] 实施方案47:在实施方案46的一些其他实施方案中,该转导增强剂为N-十二烷基- $\beta$ -D-麦芽糖苷(DDM)。

[0604] 实施方案48:在实施方案1至47中任一者的一些其他实施方案中,在施用该感染剂和该免疫调节剂之前,该个体经历先前疗法。

[0605] 实施方案49:在实施方案48的一些其他实施方案中,该先前疗法为辐射疗法。

[0606] 实施方案50:在实施方案49的一些其他实施方案中,该先前疗法包括施用治疗剂。

[0607] 实施方案51:在实施方案50的一些其他实施方案中,该治疗剂为增加参与免疫原性途径的细胞介素的含量的药剂。

[0608] 实施方案52:在实施方案50的一些其他实施方案中,该治疗剂为引起肿瘤的结构组分功能障碍或对其损害的药剂。

[0609] 实施方案53:在实施方案52的一些其他实施方案中,该治疗剂选自自由下列组成的组:抗VEGF抗体、玻尿酸酶、CCL21和N-十二烷基- $\beta$ -麦芽糖苷。

[0610] 实施方案54:在实施方案48至53中任一者的一些其他实施方案中,该先前疗法是以不足以根除此类肿瘤细胞的剂量提供。

[0611] 实施方案55:在实施方案1至54中任一者的一些其他实施方案中,该方法还包括向该肿瘤部位局部施用有效量的不活化的肿瘤细胞。

[0612] 实施方案56:在实施方案55的一些其他实施方案中,此类不活化的肿瘤细胞为自体的。

[0613] 实施方案57:在实施方案55的一些其他实施方案中,此类不活化的肿瘤细胞为同种异体的。

[0614] 实施方案58:在实施方案55的一些其他实施方案中,此类不活化的肿瘤细胞来自肿瘤细胞系。

[0615] 实施方案59:在实施方案55至58中任一者的一些其他实施方案中,通过辐照使此类不活化的肿瘤细胞不活化。

[0616] 实施方案60:在实施方案55至59中任一者的一些其他实施方案中,同时施用该感染剂和该不活化的肿瘤细胞。

[0617] 实施方案61:在实施方案60的一些其他实施方案中,该感染剂和此类不活化的肿瘤细胞是以单一组合物形式施用。

[0618] 实施方案62:在实施方案60或实施方案61的一些其他实施方案中,在即将该施用之前混合该感染剂和此类不活化的肿瘤细胞。

- [0619] 实施方案63:在实施方案1至62中任一者的一些其他实施方案中,该实体或淋巴瘤为膀胱癌。
- [0620] 实施方案64:在实施方案63的一些其他实施方案中,该感染剂是膀胱内施用。
- [0621] 实施方案65:在实施方案63或实施方案64的一些其他实施方案中,该免疫调节剂是膀胱内施用。
- [0622] 实施方案66:在实施方案63至65中任一者的一些其他实施方案中,该膀胱癌为肌肉侵袭性膀胱癌。
- [0623] 实施方案67:在实施方案63至65中任一者的一些其他实施方案中,该膀胱癌为非肌肉侵袭性膀胱癌。
- [0624] 实施方案68:在实施方案1至67中任一者的一些其他实施方案中,每周施用该感染剂。
- [0625] 实施方案69:在实施方案1至68中任一者的一些其他实施方案中,每周施用该免疫调节剂。
- [0626] 实施方案70:在实施方案1至69中任一者的一些其他实施方案中,该个体在该肿瘤中具有一个或多个选自以下的生物标记的高表达:PD-1、PD-L1和PD-L2。
- [0627] 实施方案71:在实施方案1至70中任一者的一些其他实施方案中,该个体在肿瘤源成熟树突细胞中具有一个或多个选自以下的生物标记的高表达:CD80、CD83、CD86和HLA-II类抗原。
- [0628] 实施方案72:在实施方案1至71中任一者的一些其他实施方案中,该个体具有一个或多个选自由下列组成的组的生物标记的高表达: CXCL9、CXCL10、CXCL11、CCR7、CCL5、CCL8、SOD2、MT2A、OASL、GBP1、HES4、MTIB、MTIE、MTIG、MTIH、GADD45A、LAMP3和miR-155。
- [0629] 实施方案73:在实施方案1至72中任一者的一些其他实施方案中,该个体为人类个体。
- [0630] 实施方案74:在一些实施方案中,提供治疗个体的实体或淋巴瘤的套装,其包括:a)感染剂,b)免疫调节剂,以及c)用于向肿瘤部位局部施用该感染剂或免疫调节剂的装置。
- [0631] 实施方案75:在实施方案74的一些其他实施方案中,该感染剂为病毒。
- [0632] 实施方案76:在实施方案75的一些其他实施方案中,该病毒为优先在癌细胞中复制的溶瘤腺病毒。
- [0633] 实施方案77:在实施方案75的一些其他实施方案中,该病毒为非溶瘤病毒。
- [0634] 实施方案78:在实施方案74至77中任一者的一些其他实施方案中,该免疫调节剂为免疫检查点分子的调节剂,该免疫检查点分子选自由下列组成的组:CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、TIM3、B7-H3、B7-H4、LAG-3、KIR、以及它们的配体。
- [0635] 实施方案79:在实施方案78的一些其他实施方案中,该免疫调节剂为CTLA-4的抑制剂。
- [0636] 实施方案80:在实施方案79的一些其他实施方案中,该CTLA-4的抑制剂为抗CTLA-4抗体。
- [0637] 实施方案81:在实施方案80的一些其他实施方案中,该抗CTLA-4抗体为伊匹单抗。
- [0638] 实施方案82:在实施方案79的一些其他实施方案中,该CTLA-4的抑制剂为特异性

识别CTLA-4的经改造的脂质运载蛋白。

[0639] 实施方案83:在实施方案82的一些其他实施方案中,该经改造的脂质运载蛋白为特异性结合至CTLA-4的抗运载蛋白分子。

[0640] 实施方案84:在实施方案74至83中任一者的一些其他实施方案中,该免疫调节剂为免疫刺激剂。

[0641] 实施方案85:在实施方案84的一些其他实施方案中,该免疫刺激剂为OX40、4-1BB或CD40的活化剂。

[0642] 实施方案86:在实施方案85的一些其他实施方案中,该免疫刺激剂为CD40的激动剂。

[0643] 实施方案87:在实施方案86的一些其他实施方案中,该免疫调节剂为CD40的激动剂抗体。

[0644] 实施方案88:在实施方案74至87中任一者的一些其他实施方案中,该感染剂包括编码免疫相关分子的核酸。

[0645] 实施方案89:在实施方案88的一些其他实施方案中,该免疫相关分子选自由下列组成的组:GM-CSF、IL-2、IL12、干扰素、CCL4、CCL19、CCL21、CXCL13、TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、RIG-I、MDA5、LGP2和LT $\alpha\beta$ 。

[0646] 实施方案90:在实施方案88或实施方案89的一些其他实施方案中,该感染剂为包括病毒载体的病毒,并且其中该病毒载体包括编码该免疫相关分子的该核酸。

[0647] 实施方案91:在实施方案90的一些其他实施方案中,编码该免疫相关分子的该核酸可操作连接至病毒启动子。

[0648] 实施方案92:在实施方案91的一些其他实施方案中,该病毒为腺病毒,并且该病毒启动子为E3启动子。

[0649] 实施方案93:在实施方案74至92中任一者的一些其他实施方案中,该感染剂为腺病毒血清型5,其中天然腺病毒的内源性E1a启动子和E319kD编码区经人类E2F-1启动子和编码人类GM-CSF的核酸置换。

[0650] 实施方案94:在实施方案93的一些其他实施方案中,该感染剂为CG0070。

[0651] 实施方案95:在实施方案74至94中任一者的一些其他实施方案中,该套装还包括包括转导增强剂的预处理组合物。

[0652] 实施方案96:在实施方案95的一些其他实施方案中,该转导增强剂为N-十二烷基- $\beta$ -D-麦芽糖苷(DDM)。

[0653] 实施方案97:在实施方案74至96中任一者的一些其他实施方案中,该套装还包括选自由下列组成的组的免疫相关分子:GM-CSF、IL-2、IL12、干扰素、CCL4、CCL19、CCL21、CXCL13、TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、RIG-I、MDA5、LGP2、LT $\alpha\beta$ 、STING活化剂、PRRago、TLR刺激物和RLR刺激物。

[0654] 实施方案98:在实施方案74至97中任一者的一些其他实施方案中,该套装还包括多个不活化的肿瘤细胞。

[0655] 实施方案99:在实施方案98的一些其他实施方案中,该套装还包括在施用之前混合该感染剂和此类不活化的肿瘤细胞的说明书。

[0656] 实施方案100:在实施方案98或实施方案99的一些其他实施方案中,用于局部施用

的该装置用于同时施用该多个不活化的肿瘤细胞和该感染剂。

[0657] 实施方案101:在实施方案74至100中任一者的一些其他实施方案中,用于局部施用的该装置是用于将该感染剂或该免疫调节剂直接施用至该肿瘤中。

[0658] 实施方案102:在实施方案74至101中任一者的一些其他实施方案中,用于局部施用的该装置是用于将该感染剂或该免疫调节剂施用至具有该肿瘤的组织。

[0659] 实施方案103:在一些实施方案中,提供包括以下的药物组合物:a) 感染剂,b) 免疫调节剂,以及c) 适于将该组合物局部施用至肿瘤部位的药学上可接受的赋形剂。

[0660] 实施方案104:在实施方案103的一些其他实施方案中,该药学上可接受的赋形剂为聚合物。

[0661] 实施方案105:在实施方案104的一些其他实施方案中,该聚合物为水凝胶。

[0662] 实施方案106:在实施方案103至105中任一者的一些其他实施方案中,该感染剂为病毒。

[0663] 实施方案107:在实施方案106的一些其他实施方案中,该病毒为优先在癌细胞中复制的溶瘤腺病毒。

[0664] 实施方案108:在实施方案107的一些其他实施方案中,病毒为非溶瘤病毒。

[0665] 实施方案109:在实施方案103至108中任一者的一些其他实施方案中,该免疫调节剂为免疫检查点分子的调节剂,该免疫检查点分子选自由下列组成的组:CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、TIM3、B7-H3、B7-H4、LAG-3、KIR、以及它们的配体。

[0666] 实施方案110:在实施方案109的一些其他实施方案中,该免疫调节剂为CTLA-4的抑制剂。

[0667] 实施方案111:在实施方案110的一些其他实施方案中,该CTLA-4的抑制剂为抗CTLA-4抗体。

[0668] 实施方案112:在实施方案111的一些其他实施方案中,该抗CTLA-4抗体为伊匹单抗。

[0669] 实施方案113:在实施方案110的一些其他实施方案中,该CTLA-4的抑制剂为特异性识别CTLA-4的经改造的脂质运载蛋白。

[0670] 实施方案114:在实施方案113的一些其他实施方案中,该经改造的脂质运载蛋白为特异性结合至CTLA-4的抗运载蛋白分子。

[0671] 实施方案115:在实施方案103至114中任一者的一些其他实施方案中,该免疫调节剂为免疫刺激剂。

[0672] 实施方案116:在实施方案115的一些其他实施方案中,该免疫刺激剂为OX40、4-1BB或CD40的活化剂。

[0673] 实施方案117:在实施方案116的一些其他实施方案中,该免疫刺激剂为CD40的刺激剂。

[0674] 实施方案118:在实施方案117的一些其他实施方案中,该免疫调节剂为CD40的激动剂抗体。

[0675] 实施方案119:在实施方案103至118中任一者的一些其他实施方案中,该感染剂包括编码免疫相关分子的核酸。

[0676] 实施方案120:在实施方案119的一些其他实施方案中,该免疫相关分子选自由下

列组成的组:GM-CSF、IL-2、IL12、干扰素、CCL4、CCL19、CCL21、CXCL13、TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、RIG-I、MDA5、LGP2和LT $\alpha\beta$ 。

[0677] 实施方案121:在实施方案119或实施方案120的一些其他实施方案中,该感染剂为包括病毒载体的病毒,并且该病毒载体包括编码该免疫相关分子的核酸。

[0678] 实施方案122:在实施方案121的一些其他实施方案中,编码该免疫相关分子的该核酸可操作连接至病毒启动子。

[0679] 实施方案123:在实施方案122的一些其他实施方案中,该病毒为腺病毒,并且该病毒启动子为E3启动子。

[0680] 实施方案124:在实施方案103至123中任一者的一些其他实施方案中,该感染剂为腺病毒血清型5,其中天然腺病毒的内源性E1a启动子和E3 19kD编码区经人类E2F-1启动子和编码人类GM-CSF的核酸置换。

[0681] 实施方案125:在实施方案124的一些其他实施方案中,该感染剂为CG0070。

[0682] 实施方案126:在实施方案103至125中任一者的一些其他实施方案中,该药物组合物还包括包括转导增强剂的预处理组合物。

[0683] 实施方案127:在实施方案126的一些其他实施方案中,该转导增强剂为N-十二烷基- $\beta$ -D-麦芽糖苷(DDM)。

[0684] 实施方案128:在实施方案103至127中任一者的一些其他实施方案中,该药物组合物还包括选自由下列组成的组的免疫相关分子:GM-CSF、IL-2、IL12、干扰素、CCL4、CCL19、CCL21、CXCL13、TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、RIG-I、MDA5、LGP2、LT $\alpha\beta$ 、STING活化剂、PRRago、TLR刺激物和RLR刺激物。

[0685] 实施方案129:在实施方案103至128中任一者的一些其他实施方案中,该药物组合物还包括多个不活化的肿瘤细胞。

[0686] 实施方案130:在实施方案129的一些其他实施方案中,该多个不活化的肿瘤细胞为自体的。

[0687] 实施方案131:在实施方案129的一些其他实施方案中,该多个不活化的肿瘤细胞为同种异体的。

[0688] 实施方案132:在实施方案129的一些其他实施方案中,该多个不活化的肿瘤细胞来自肿瘤细胞系。

[0689] 实施方案133:在实施方案129至132中任一者的一些其他实施方案中,通过辐照使该多个不活化的肿瘤细胞不活化。

[0001]	序列表	
[0002]	<110> Cold Genesys, Inc.	
[0003]	<120> 通过组合疗法治疗实体或淋巴瘤的方法	
[0004]	<130> 744442000140	
[0005]	<140> 尚未转让	
[0006]	<141> 与此同时	
[0007]	<150> US 62/243,512	
[0008]	<151> 2015-10-19	
[0009]	<160> 1	
[0010]	<170> FastSEQ for Windows 4.0版	
[0011]	<210> 1	
[0012]	<211> 1519	
[0013]	<212> DNA	
[0014]	<213> 智人(Homo sapiens)	
[0015]	<400> 1	
[0016]	gggccccaaa ttagcaagtg accacgtggt tctgaagcca gtggcctaag gaccaccctt	60
[0017]	gcagaaccgt ggtctccttg tcacagtcta ggcagcctct ggcttagcct ctgtttcttt	120
[0018]	cataaccttt ctacagcct gctctgggcc agaccagtgt tgggaggagt cgctactgag	180
[0019]	ctcctagatt ggcaggggag gcagatggag aaaaggagtg tgtgtgtgca gcattggagc	240
[0020]	agaggcagca gtgggcaata gaggaagtga gtaaattcctt gggagggctc cctagaagtg	300
[0021]	atgtgttttc ttttttgtt ttagagacag gatctcgtc tgctgcccag gctgggtgtgc	360
[0022]	agtggcatga tcatagctca ctgcagcctc gacttctcgg gctcaagcaa tctctcccacc	420
[0023]	tcagcctccc aagtagctgg gactacgggc acacgccacc atgcctggct aatTTTTTgta	480
[0024]	TTTTTgtag agatgggtct tcaccatgtt gatcaggctg gtctcgaact cctgggctca	540
[0025]	tgcgatccac cccgccagct gattacaggg attccgggtg tgagccaccg cgcccagacg	600
[0026]	ccacttcac gtattgtaa cgtctgttac ctttctgtc cctgtctac tggactgtga	660
[0027]	gctccttagg gccacgaatt gaggatggg cacagagcaa gctctccaaa cgtttgttga	720
[0028]	atgagtgagg gaatgaatga gttcaagcag atgctatacg ttggctgtg gagatTTTg	780
[0029]	ctaaaatggg acttgcagga aagcccagc tccccctgc catttccagg caccgctctt	840
[0030]	cagcttgggc tctgggtgag cgggataggg ctgggtgcag gattaggata atgtcatggg	900
[0031]	tgaggcaagt tgaggatgga agaggtggct gatggctggg ctgtggaact gatgatcctg	960
[0032]	aaaagaagag gggacagtct ctggaatct aagctgaggc tgttgggggc tacaggttga	1020
[0033]	gggtcacgtg cagaagagag gctctgttct gaacctgcac tatagaaagg tcagtgggat	1080
[0034]	gcgggagcgt cggggcggg cggggcctat gttcccgtg cccacgcct ccagcagggg	1140
[0035]	acgcccgggc tggggcggg gagtcagacc gcgcctggtc ccatccggac aaagcctgcg	1200
[0036]	cgcgccccgc cccgccattg gccgtaccgc cccgcgccgc cgccccatcc cgcccctgc	1260
[0037]	cgccgggtcc ggcggttaa agccaatagg aaccgccgc gttgttccc tcacggacgg	1320
[0038]	ggagccaat tgtggcggcg ctggcggtc cgtggtctt tcgcgcaaa aaggatttgg	1380
[0039]	cgcgtaaaag tggccgggac tttgcaggca gcggcggccg gggcgggagc gggatcgagc	1440
[0040]	cctcgccgag gcctgccgc atgggcccgc gccgccgcg ccgcctgtca cccgggccgc	1500
[0041]	gcgggccgtg agcgtcatg	1519

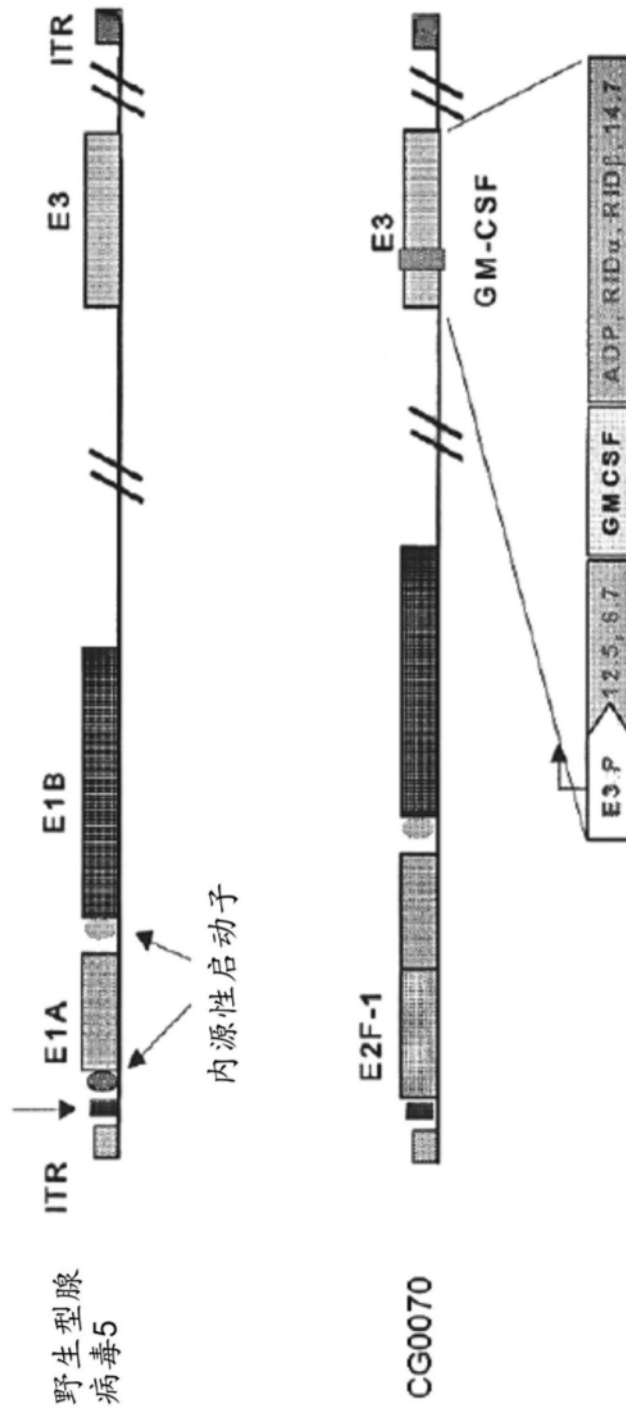


图1

关于组和给药方案的概述												
组	方案1: Ar20-1004			方案2: 抗CTLA4			方案3: 抗PD-L1			途径	时间表	
	数目	试剂	μg/动物	途径	时间表	试剂	μg/动物	途径	时间表			试剂
1	10	未治疗	-	-	-	未治疗	-	-	-	未治疗	-	-
2	10	生理盐水	-	IT	第1、4、7、10天	抗CTLA4 9H10	20	IT	第1、4、7、10天	生理盐水	-	第1、4、7、10天
3	10	Ar20-1004	1E+10	IT	第1、4、7、10天	仓鼠多株 IgG	20	IT	第1、4、7、10天	生理盐水	-	第1、4、7、10天
4	10	Ar20-1004	1E+10	IT	第1、4、7、10天	抗CTLA4 9H10	20	IT	第1、4、7、10天	生理盐水	-	第1、4、7、10天
5	10	生理盐水	-	IT	第1、4、7、10天	仓鼠多株 IgG	20	IT	第1、4、7、10天	抗PD-L1 (WBP315)	20	第1、4、7、10天
6	10	Ar20-1004	1E+10	IT	第1、4、7、10天	生理盐水	20	IT	第1、4、7、10天	抗PD-L1 (WBP315)	20	第1、4、7、10天
7	10	生理盐水	-	IT	第1、4、7、10天	抗CTLA4 9H10	20	IT	第1、4、7、10天	抗PD-L1 (WBP315)	20	第1、4、7、10天
8	10	Ar20-1004	1E+10	IT	第1、4、7、10天	抗CTLA4 9H10	20	IT	第1、4、7、10天	抗PD-L1 (WBP315)	20	第1、4、7、10天

图2

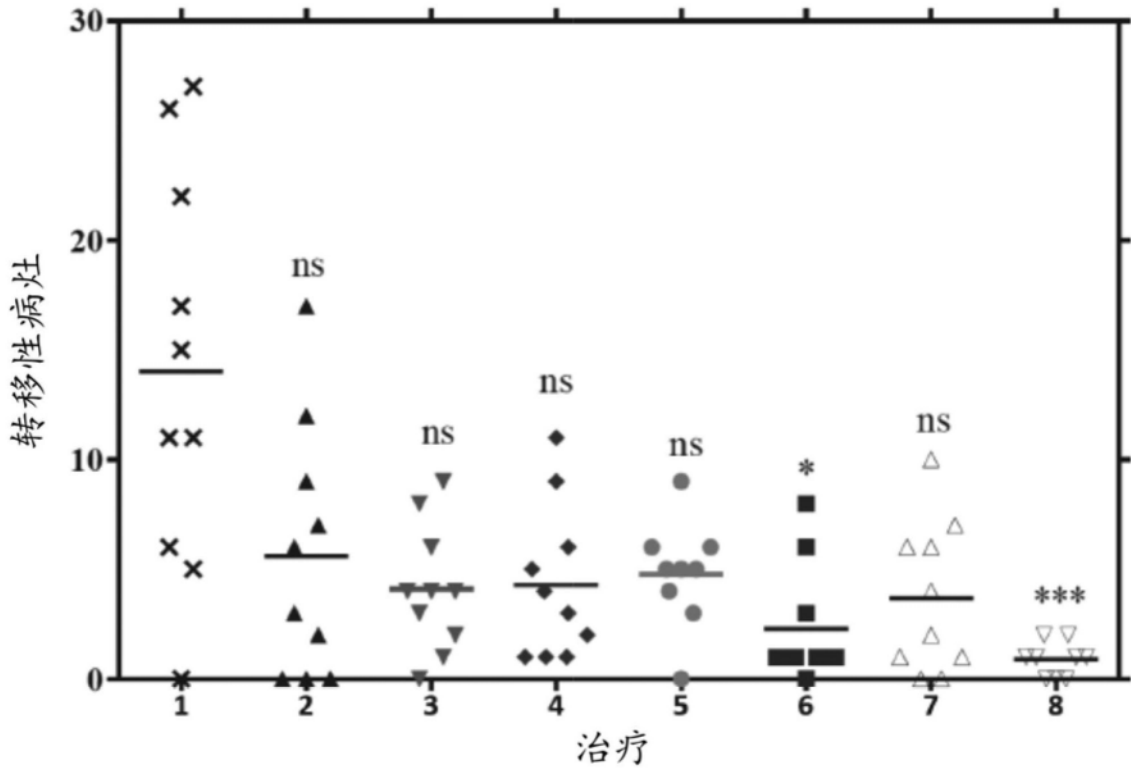


图3

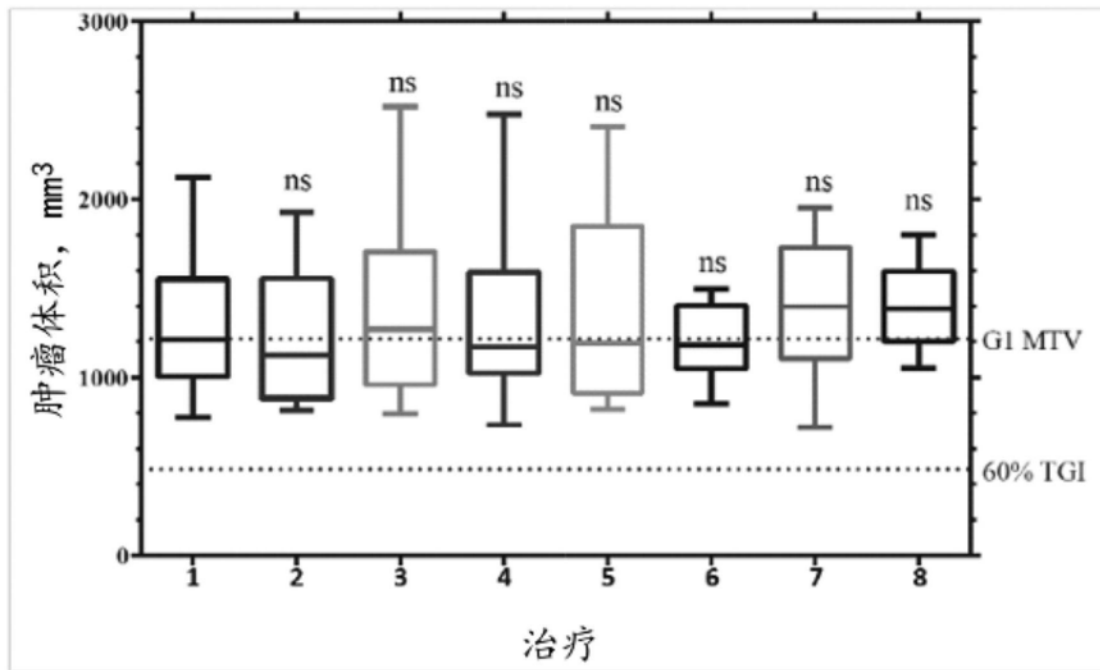


图4

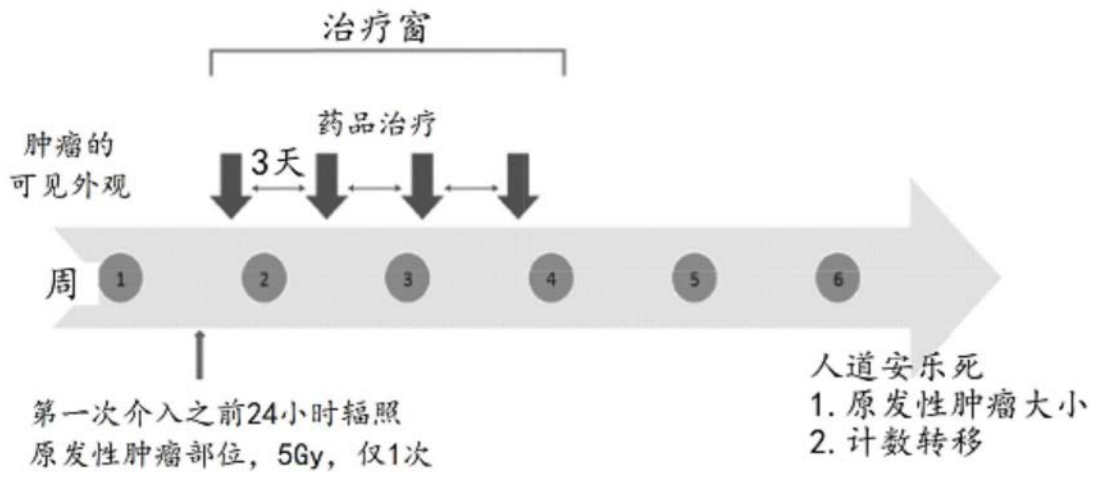


图5