



(21)申請案號：108141982

(22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 11 月 19 日

(51)Int. Cl. :

C07K14/47 (2006.01)A61K39/39 (2006.01)

A61P37/04 (2006.01)A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2018/11/19美國62/769,347

(71)申請人：加拿大商伊繆諾疫苗科技股份有限公司 (加拿大) IMMUNOVACCINE TECHNOLOGIES INC. (IMV) (CA)
加拿大

(72)發明人：史丹佛馬里安 STANFORD, MARIANNE (CA)；菲瑟史戴分 Fiset, STEPHAN (CA)；麥可登麗莎黛安娜 MACDONALD, LISA DIANA (CA)；威爾紀娜薇瑪莉 WEIR, GENEVIEVE MARY (CA)；羅珈格普蘭羅卡納 RAJAGOPALAN, RAJKANNAN (CA)

(74)代理人：陳長文

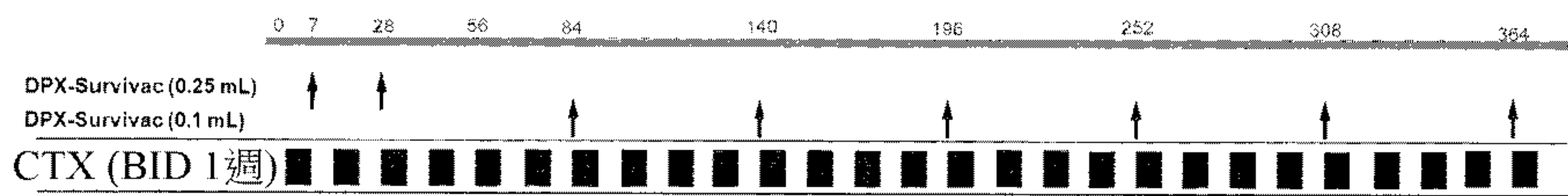
申請實體審查：無申請專利範圍項數：47 項圖式數：8共 203 頁

(54)名稱
在治療腫瘤中改善存活素療法功效的方法

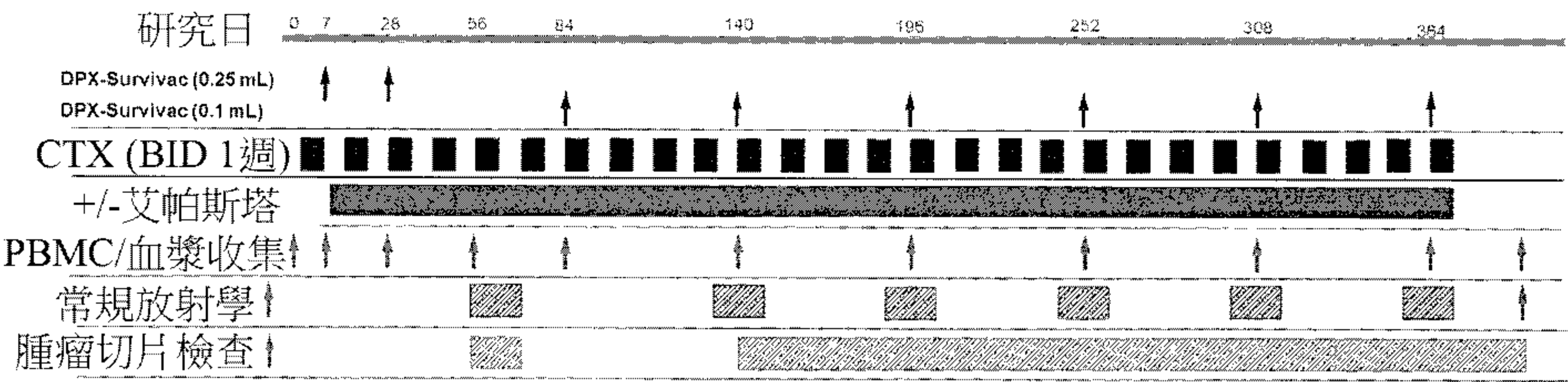
(57)摘要
本申請案大體上關於用於治療腫瘤之方法，且尤其關於藉由改善腫瘤中存活素特異性 T 細胞浸潤而在治療腫瘤中改善存活素療法功效的方法。

The present application relates generally to methods for treating tumors, and in particular to methods for improving the efficacy of a survivin therapeutic in the treatment of tumors by improving survivin specific T cell infiltration in tumor.

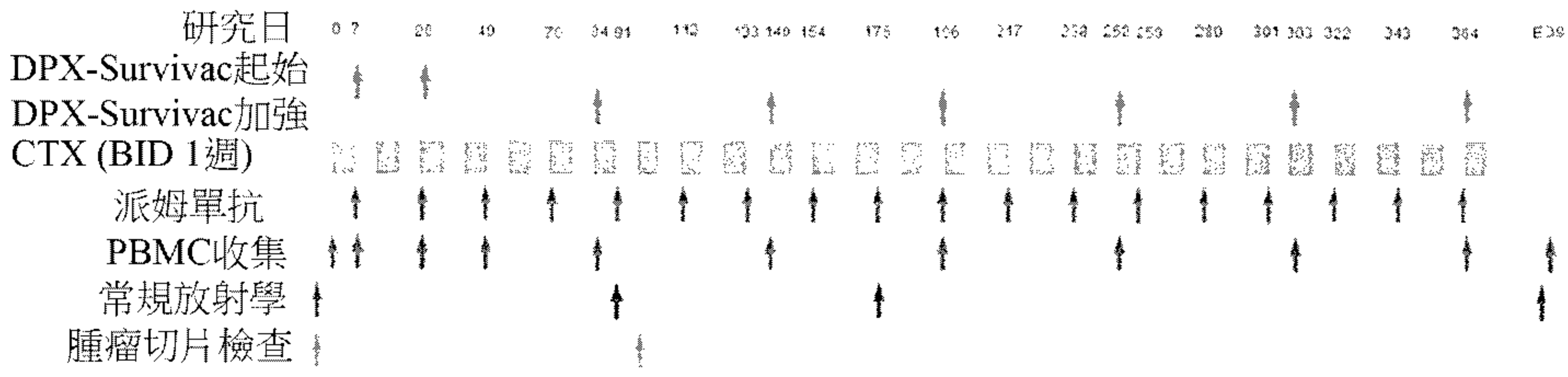
指定代表圖：



【圖1A】



【圖1B】



根據方案可能需要重新起始

【圖1C】



202039532

【發明摘要】

【中文發明名稱】

在治療腫瘤中改善存活素療法功效的方法

【英文發明名稱】

METHODS FOR IMPROVING THE EFFICACY OF A SURVIVIN
THERAPEUTIC IN THE TREATMENT OF TUMORS

【中文】

本申請案大體上關於用於治療腫瘤之方法，且尤其關於藉由改善腫瘤中存活素特異性T細胞浸潤而在治療腫瘤中改善存活素療法功效的方法。

【英文】

The present application relates generally to methods for treating tumors, and in particular to methods for improving the efficacy of a survivin therapeutic in the treatment of tumors by improving survivin specific T cell infiltration in tumor.

【指定代表圖】

圖1A-C

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

在治療腫瘤中改善存活素療法功效的方法

【英文發明名稱】

METHODS FOR IMPROVING THE EFFICACY OF A SURVIVIN
THERAPEUTIC IN THE TREATMENT OF TUMORS

【技術領域】

【0001】 本申請案大體上關於用於治療腫瘤之方法，且尤其關於藉由改善腫瘤中存活素特異性T細胞浸潤而在治療腫瘤中改善存活素療法功效的方法。

【先前技術】

【0002】 卵巢癌係一種嚴重且危及生命之疾病。每年美國大約22,240名女性罹患卵巢癌，且大約2.5%女性因疾病到達晚期而死亡(SEER Incidence Data)。此統計資料可能部分歸因於以下：約75%診斷是在疾病處於晚期(亦即III-IV)時進行的，因為腹部中之疼痛或壓力之早期症狀不存在或誤診(Cancer Facts and Figures from the American Cancer Society[®] 2018；Jelovac及Armstrong, Recent progress in the diagnosis and treatment of ovarian cancer, CA Cancer J Clin 2011 61(3) 183-203)。

【0003】 晚期卵巢癌之第一線治療為積極性減積手術，通常接著進行化學療法。化學療法之重複給藥/停藥方案引起顯著耐受性問題，此影響患者之生活品質。不幸地，額外治療線路引起顯著風險益處，包括治療相關之毒性。Bruchim等人, 2013 (*Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*

166(1):94-8)之回顧性研究顯示第二線化學療法之後的化學治療益處非常有限，其中第3線中僅11.9%、第4線中2.9%、第5線中4.5%及第6線或更多線化學療法中0%之反應率令人絕望。因此，復發率極其高，且減少復發之選擇方案有限，因而導致高死亡率。

【0004】 近期免疫療法中之進展經證實為許多腫瘤類型之有效治療選擇方案，提供持久益處且改善生活品質。然而，其當前僅限用於具有遺傳傾向性或因副作用而耐受性低之患者。雖然許多T細胞活化治療劑(例如疫苗)已顯示臨床前發展之前景，但其最終未能在人類中測試時證實臨床益處。在涉及癌症治療時，治療性干預係複雜挑戰，且疾病之許多態樣，諸如療法相對於護理標準之時間安排、癌症之階段及類型均對治療結果有影響。

【0005】 因此，此項技術中需要用於基於活性免疫治療劑之新穎治療的新穎且有效之手段，其產生有限毒性及更佳安全型態。此類發明有望改變諸如但(當然)不限於晚期卵巢癌之致死性癌症之治療範例。

【發明內容】

【0006】 申請人現已意外地發現存活素療法功效可藉由向具有低目標腫瘤負荷之受試者投與存活素療法來改善。

【0007】 在一態樣中，本發明係關於在治療個體之腫瘤中改善T細胞活化治療劑功效的方法，該方法包含：a)量測該個體之估計腫瘤負荷；b)向有需要之該個體投與有效量之至少一種活性劑，其中該個體具有低的腫瘤負荷；以及c)向該個體投與治療有效量之該T細胞活化治療劑，其中該T細胞活化治療劑包含至少一種存活素抗原。

【0008】 在一態樣中，本發明係關於治療具有低腫瘤負荷之個體之

腫瘤的方法，該方法包含：a)量測該個體之估計腫瘤負荷；b)向有需要之該個體投與有效量之至少一種活性劑，其中該個體具有低的腫瘤負荷；以及c)向該個體投與治療有效量之T細胞活化治療劑，其中該T細胞活化治療劑包含至少一種存活素抗原。

【0009】 在本文揭示之方法之某些實施例中，個體具有至少一個可量測腫瘤病灶。在某些實施例中，腫瘤為實體腫瘤。在某些實施例中，腫瘤為皮下實體腫瘤。在某些實施例中，腫瘤為惡性血液病。在某些實施例中，腫瘤為乳癌、卵巢腫瘤、輸卵管腫瘤、腹膜腫瘤、膀胱腫瘤、彌漫性大B細胞淋巴瘤、神經膠質瘤、非小細胞肺腫瘤或肝細胞癌。在某些實施例中，腫瘤為卵巢腫瘤。在某些實施例中，腫瘤為彌漫性大B細胞淋巴瘤。

【0010】 在本文揭示之方法之某些實施例中，估計腫瘤負荷係基於最大腫瘤病灶。在某些實施例中，估計腫瘤負荷係基於最大腫瘤病灶之最長直徑。在某些實施例中，當最大腫瘤病灶之最長直徑小於約10 cm、約9 cm、約8 cm、約7 cm、約6 cm、約5 cm、約4 cm、約3 cm或約2 cm時，個體具有低的估計腫瘤負荷。在某些實施例中，當最大腫瘤病灶之最長直徑小於約4 cm時，個體具有低的估計腫瘤負荷。

【0011】 在本文揭示之方法之某些實施例中，當最大腫瘤病灶涉及淋巴結時估計腫瘤負荷係基於淋巴結之短軸直徑。在某些實施例中，當包含腫瘤之淋巴結的短軸長度小於約7 cm、約6 cm、約5 cm、約4 cm、約3 cm或約2 cm時，個體具有低的估計腫瘤負荷。在某些實施例中，當包含腫瘤之淋巴結的短軸長度小於約4 cm時，個體具有低的估計腫瘤負荷。

【0012】 在本文揭示之方法之某些實施例中，估計腫瘤負荷係基於

至少兩個目標腫瘤病灶之直徑的和。在某些實施例中，直徑為目標腫瘤病灶之最長直徑。在某些實施例中，當目標腫瘤病灶涉及淋巴結時直徑為淋巴結之短軸直徑。在某些實施例中，當目標腫瘤病灶涉及淋巴結時直徑為淋巴結之長軸直徑。在某些實施例中，估計腫瘤負荷係基於至少兩個目標腫瘤病灶之直徑之積和。在某些實施例中，目標腫瘤病灶係基於其尺寸及/或該病灶進行準確重複量測之適合性來選擇。在某些實施例中，目標腫瘤病灶為最大腫瘤病灶。在某些實施例中，目標腫瘤病灶之數目介於2與5之間。在某些實施例中，每個器官量測不超過兩個目標腫瘤病灶。

【0013】 在某些實施例中，當目標腫瘤病灶之最長直徑之和小於約10 cm、約9 cm、約8 cm、約7 cm、約6 cm、約5 cm、約4 cm或約3 cm時，個體具有低的估計腫瘤負荷。在某些實施例中，當目標腫瘤病灶之最長直徑之和小於約5 cm時，個體具有低的估計腫瘤負荷。

【0014】 在某些實施例中，當目標腫瘤病灶之最長直徑之和小於約30 cm²、約27 cm²、約25 cm²、約22 cm²、約20 cm²、約17 cm²、約15 cm²、約12 cm²或約10 cm²時，個體具有低的估計腫瘤負荷。在某些實施例中，當目標腫瘤病灶之最長直徑之和小於約20 cm²時，個體具有低的估計腫瘤負荷。

【0015】 在本文揭示之方法之某些實施例中，腫瘤負荷或估計目標腫瘤負荷藉由實體腫瘤反應評價標準(RECIST)準則來量測。在某些實施例中，腫瘤負荷或估計目標腫瘤負荷藉由RECIST 1.1標準量測。

【0016】 在本文揭示之方法之某些實施例中，在步驟b)中，活性劑之有效量為足夠提供免疫調節作用之量。

【0017】 在本文揭示之方法之某些實施例中，在T細胞活化治療劑

之前、在其之後或與其同時投與活性劑。在某些實施例中，在T細胞活化治療劑之前投與活性劑。

【0018】 在本文揭示之方法之某些實施例中，活性劑投與至少兩次。

【0019】 在本文揭示之方法之某些實施例中，步驟b)包含在投與T細胞活化治療劑之前至少兩天向個體投與第一劑量之活性劑。

【0020】 在本文揭示之方法之某些實施例中，在投與T細胞活化治療劑之前至少四天投與活性劑。

【0021】 在本文揭示之方法之某些實施例中，步驟b)包含在投與T細胞活化治療劑之前約一週向個體投與第一劑量之活性劑。

【0022】 在本文揭示之方法之某些實施例中，步驟b)包含向個體投與第一劑量之活性劑，接著一或多個維持劑量之活性劑。

【0023】 在本文揭示之方法之某些實施例中，步驟b)包含每天向個體投與活性劑至少1次、2次、3次或4次。

【0024】 在本文揭示之方法之某些實施例中，步驟b)包含每天向個體投與活性劑兩次，歷時約一週時間。

【0025】 在本文揭示之方法之某些實施例中，步驟b)包含在投與T細胞活化治療劑之前每天向個體投與活性劑兩次，歷時約一週時間。

【0026】 在本文揭示之方法之某些實施例中，該方法進一步包含在投與T細胞活化治療劑之前停止向個體投與活性劑。

【0027】 在本文揭示之方法之某些實施例中，在投與T細胞活化治療劑之過程期間繼續向個體投與活性劑。

【0028】 在本文揭示之方法之某些實施例中，步驟b)包含以低劑量

節拍式方案向個體投與活性劑。

【0029】 在本文揭示之方法之某些實施例中，節拍式方案包含每隔一週每天向個體投與活性劑，歷時約一週時間。在某些實施例中，每日投與活性劑兩次。

【0030】 在本文揭示之方法之某些實施例中，節拍式方案包含投與活性劑，週期為兩週，其中在該週期之第一週期間向個體投與活性劑，其中在該週期之第二週期間不向個體投與活性劑，且其中節拍式方案包含至少兩個週期。

【0031】 在本文揭示之方法之某些實施例中，步驟c)包含約每三週向個體投與T細胞活化治療劑一次。

【0032】 在本文揭示之方法之某些實施例中，步驟c)包含向個體投與T細胞活化治療劑2次、3次、4次或更多次。

【0033】 在本文揭示之方法之某些實施例中，步驟b)包含在投與第一劑量之T細胞活化治療劑之前約一週開始向個體投與活性劑，且步驟c)包含約每三週向個體投與T細胞活化治療劑一次。

【0034】 在本文揭示之方法之某些實施例中，存活素抗原為肽抗原或編碼肽抗原之核酸。在某些實施例中，存活素抗原為包含來自能夠引發個體中之細胞毒性T淋巴細胞(CTL)反應之存活素蛋白的胺基酸序列(SEQ ID NO: 1)的肽抗原，或編碼該肽抗原之核酸分子。在某些實施例中，存活素抗原為包含以下胺基酸序列中之至少一者的肽抗原：FEELTLGEF (SEQ ID NO: 2)；FTELTGGEF (SEQ ID NO: 3)；LTLGGEFLKL (SEQ ID NO: 4)；LMLGGEFLKL (SEQ ID NO: 5)；RISTFKNWPF (SEQ ID NO: 6)；RISTFKNWPK (SEQ ID NO: 7)；STFKNWPFL (SEQ ID NO: 8)；

或LPPAWQPFL (SEQ ID NO: 9)，或編碼該肽抗原之核酸分子。在某些實施例中，至少一種存活素抗原包含包括以下胺基酸序列之五種肽抗原之混合物：FTELTGGEF (SEQ ID NO: 3)；LMLGEFLKL (SEQ ID NO: 5)；RISTFKNWPK (SEQ ID NO: 7)；STFKNWPFL (SEQ ID NO: 8)或LPPAWQPFL (SEQ ID NO: 9)。

【0035】 在本文揭示之方法之某些實施例中，至少一種存活素抗原以各肽抗原約0.1 mg/ml至約5 mg/ml之濃度投與。在某些實施例中，至少一種存活素抗原以各肽抗原約1 mg/ml之濃度投與。在某些實施例中，T細胞活化治療劑以約0.01 ml至約1 ml之劑量投與。在某些實施例中，T細胞活化治療劑以約0.25 ml或約0.5 ml之劑量投與。在某些實施例中，T細胞活化治療劑抗原以約0.01 ml至約1 ml之起始劑量投與。在某些實施例中，T細胞活化治療劑以約0.25 ml或約0.5 ml之起始劑量投與。在某些實施例中，T細胞活化治療劑以約0.01 ml至約1 ml之加強劑量投與。在某些實施例中，T細胞活化治療劑以約0.1 ml之加強劑量投與。

【0036】 在本文揭示之方法之某些實施例中，活性劑干擾DNA複製。在某些實施例中，活性劑能夠選擇性靶向免疫系統之迅速分裂細胞且引起計劃性細胞死亡。

【0037】 在本文揭示之方法之某些實施例中，活性劑為烷基化劑。在某些實施例中，烷基化劑為氮芥類烷基化劑。在某些實施例中，氮芥類烷基化劑為環磷醯胺。

【0038】 在本文揭示之方法之某些實施例中，活性劑為吉西他濱(gemcitabine)、5-FU、順鉑(cisplatin)、奧沙利鉑(oxaliplatin)、替莫唑胺(temozolomide)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)、卡培他濱

(capecitabine)、甲胺喋呤(methotrexate)、表柔比星(epirubicin)、艾達黴素(idarubicin)、米托蒽醌(mitoxantrone)、博萊黴素(bleomycin)、地西他濱(decitabine)或多烯紫杉醇(docetaxel)中之至少一者。

【0039】 在本文揭示之方法之某些實施例中，活性劑為沙力度胺(thalidomide)、硼替佐米(bortezomib)、IL-2、IL-12、IL-15、IFN- γ 、IFN- α 或TNF- α 、二甲雙胍(metformin)或來那度胺(lenalidomide)中之至少一者。

【0040】 在本文揭示之方法之某些實施例中，活性劑為VEGF、VEGFR或CD40中之至少一者的抑制劑。

【0041】 在本文揭示之方法之某些實施例中，活性劑之量為約25-300毫克/天、約50-100毫克/天或約100毫克/天。在某些實施例中，活性劑之量為每劑約50 mg。在某些實施例中，一天投與活性劑兩次。

【0042】 在本文揭示之方法之某些實施例中，步驟b)包含經口向個體投與活性劑。在本文揭示之方法之某些實施例中，步驟b)包含藉由注射向個體投與活性劑。在本文揭示之方法之某些實施例中，注射為靜脈內、皮下、腫瘤間或肌肉內注射。在本文揭示之方法之某些實施例中，步驟b)包含藉由注射向個體投與T細胞活化治療劑。在某些實施例中，注射為皮下注射。

【0043】 在本文揭示之方法之某些實施例中，T細胞活化治療劑為包含至少一種存活素抗原、脂質體及包含疏水性物質之連續相之載劑的組合物。在某些實施例中，組合物進一步包含T-輔助抗原決定基。在某些實施例中，T-輔助抗原決定基為包含胺基酸序列AQYIKANSKFIGITEL (SEQ ID NO: 10)之肽。在某些實施例中，組合物進一步包含佐劑。在某

些實施例中，佐劑為polyI.C多核苷酸，其中該多核苷酸係基於DNA或RNA。在某些實施例中，載劑為疏水性物質，諸如植物油、堅果油或礦物油。在某些實施例中，載劑為礦物油或為於礦物油溶液中之二縮甘露醇油酸酯。在某些實施例中，載劑為Montanide® ISA 51。

【0044】 在本文揭示之方法之某些實施例中，活性劑藉由直接增強針對抗原之免疫反應，諸如藉由增加抗原特異性CD8+ T細胞活性或數目來改善T細胞活化治療劑功效。在某些實施例中，增加抗原特異性CD8+ T細胞之活性或數目包括抗原特異性CD8+ T細胞因總CD8+ T細胞相對減少而富集。在某些實施例中，活性劑藉由減少抑制免疫細胞、例如CD4+FoxP3+調節T細胞(Treg)、骨髓衍生之抑制細胞(MDSC)及/或CD19+CD1d+CD5+ B細胞(Breg)之數目或活性來改善T細胞活化治療劑功效。

【0045】 在本文揭示之方法之某些實施例中，該方法進一步包含d) 投與至少一種額外治療劑。

【0046】 在本文揭示之方法之某些實施例中，至少一種額外治療劑為一或多種檢查點抑制劑。在某些實施例中，檢查點藥劑為免疫檢查點蛋白抑制劑，其中該免疫檢查點蛋白為計劃性死亡-配位體1 (PD-L1，亦稱為B7-H1、CD274)、計劃性死亡1 (PD-1、CD279)、CTLA-4 (CD154)、LAG3 (CD223)、TIM3 (HAVCR2、CD366)、41BB (CD137)、ICOS (誘導性T細胞共刺激分子)、殺傷細胞抑制性受體(KIR)、CD27、OX-40、GITR或磷脂醯絲胺酸(PS)。

【0047】 在本文揭示之方法之某些實施例中，檢查點藥劑為PD-1抑制劑。在某些實施例中，PD-1抑制劑為抗體。在某些實施例中，抗體為

派姆單抗。

【0048】 在本文揭示之方法之某些實施例中，至少一種額外治療劑為雷帕羅吉(rapalogue)、組蛋白去乙酰基酶(HDAC)抑制劑、parp抑制劑或吲哚胺2,3-雙加氧酶抑制劑中之一或多者。在某些實施例中，吲哚胺2,3-雙加氧酶為IDO1。

【0049】 在本文揭示之方法之某些實施例中，至少一種額外治療劑為小紅莓(doxorubicin)、曲妥珠單抗(trastuzumab)、貝伐單抗(bevacizumab)、舒尼替尼(sunitinib)、索拉非尼(sorafenib)或其組合。在某些實施例中，小紅莓經由脂質體投與。

【0050】 在本文揭示之方法之某些實施例中，向個體投與至少兩劑額外治療劑。

【0051】 在本文揭示之方法之某些實施例中，向個體投與額外治療劑，歷時連續至少兩天時間。

【0052】 在本文揭示之方法之某些實施例中，向個體投與第一劑量之額外治療劑，接著投與一或多種維持劑量之額外治療劑。

【0053】 在本文揭示之方法之某些實施例中，向個體投與第一劑量之額外治療劑，接著投與一或多種維持劑量之額外治療劑。

【0054】 在本文揭示之方法之某些實施例中，每天向個體投與額外治療劑。在某些實施例中，每天向個體投與額外治療劑至少1次、2次、3次或4次。在某些實施例中，每日投與額外治療劑兩次。

【0055】 在本文揭示之方法之某些實施例中，額外治療劑約每1至4週投與。在某些實施例中，額外治療劑每3週投與。

【0056】 在本文揭示之方法之某些實施例中，在T細胞活化治療劑

之前、在其之後或與其同時投與額外治療劑。

【0057】 在本文揭示之方法之某些實施例中，在第一劑量之T細胞活化治療劑之後向個體投與第一劑量之額外治療劑。

【0058】 在本文揭示之方法之某些實施例中，在第一劑量之T細胞活化治療劑後之日向個體投與第一劑量之額外治療劑。

【0059】 在本文揭示之方法之某些實施例中，在投與T細胞活化治療劑過程期間繼續投與治療劑。

【0060】 在本文揭示之方法之某些實施例中，步驟d)包含以每劑約50 mg至每劑約500 mg投與額外治療劑。在某些實施例中，額外治療劑之量小於每劑300 mg。在某些實施例中，額外治療劑之量介於每劑約25 mg至小於5 g之間。在某些實施例中，額外治療劑之量介於每劑約25 mg至約300 mg之間。在本文揭示之方法之某些實施例中，額外治療劑之量為約100毫克/劑。在本文揭示之方法之某些實施例中，額外治療劑之量為200毫克/天。

【0061】 在本文揭示之方法之某些實施例中，向個體經口投與額外治療劑。在某些實施例中，藉由注射向個體投與額外治療劑。在某些實施例中，注射為靜脈內、皮下、腫瘤間或肌肉內注射。

【0062】 在本文揭示之方法之某些實施例中，藉由清創術降低腫瘤負荷。

【0063】 在本文揭示之方法之某些實施例中，該方法進一步包含選擇具有低腫瘤負荷之個體。在某些實施例中，該方法進一步包含監測個體之腫瘤負荷。在某些實施例中，在監測期間個體之腫瘤負荷藉由實體腫瘤反應評價標準(RECIST)準則來量測。在某些實施例中，RECIST標準為

RECIST 1.1標準。

【0064】 在本文揭示之方法之某些實施例中，個體為人類。

【0065】 在以下描述、申請專利範圍及圖中一般技術者將顯而易見本文所述之此等及其他態樣。

【圖式簡單說明】

【0066】 圖1A至圖1C提供本發明之投藥模式之非限制性示意圖。

圖1A：個體接受0.25 mL起始及0.1 mL加強之DPX-Survivac。在SD0開始，以50 mg BID投與環磷醯胺，連續7天且中斷7天。圖1B：個體接受0.25 mL起始及0.1 mL加強之DPX-Survivac。在SD0開始，以50 mg BID投與環磷醯胺，連續7天且中斷7天。在SD8開始，向所有個體投與至多300 mg BID的艾帕斯塔(Epacadostat)。圖1C：個體接受0.50 mL起始及0.1 mL加強之DPX-Survivac。在SD0開始，以50 mg BID投與環磷醯胺，連續7天且中斷7天。在SD7開始，每3週以200 mg投與派姆單抗。

【0067】 圖2提供對亞群之瀑布分析，其展示在給藥組之1b期意圖治療群體中處於最佳總反應下腫瘤負荷自基線之個別個體變化。A圖描繪來自進入研究之根據RECIST 1.1總目標病灶尺寸<5 cm之第1組個體(N=5)的結果。B圖表示來自根據RECIST 1.1基線總目標病灶尺寸>5 cm之第1組個體(N=8)的結果。C圖表示來自根據RECIST 1.1總目標病灶尺寸<5 cm之第2組個體(N=9)的結果。D圖表示來自根據RECIST 1.1基線總目標病灶尺寸>5 cm之組個體(N=21)的結果。第1給藥組接受至多100 mg艾帕斯塔，第2給藥組接受300 mg艾帕斯塔。僅僅展示完成至少一個研究中放射成像之個體。縮寫：PD：疾病進展；PR：部分反應；RECIST：實體腫瘤反應評價標準。

【0068】 **圖3**提供給藥組之1b期意圖治療群體中腫瘤負荷隨時間推移之個別個體變化。A圖描繪來自進入研究之根據RECIST 1.1總目標病灶尺寸<5 cm之個體(N=14)的結果。B圖表示來自根據RECIST 1.1基線總目標病灶尺寸>5 cm之個體(N=28)的結果。僅僅展示完成至少一個研究中放射成像之個體。縮寫：PD：疾病進展；PR：部分反應；RECIST：實體腫瘤反應評價標準。

【0069】 **圖4A及4B**：圖4A提供編碼人類存活素之胺基酸序列(SEQ ID NO: 1)之非限制性實例。圖4B提供包括終止密碼子之存活素(智人)之非限制性實例的編碼序列(SEQ ID NO: 11)。

【0070】 **圖5**提供瀑布分析，其展示相對於腫瘤負荷，目標病灶自基線之最大變化百分比。詳言之，該圖展示在給藥組之2期意圖治療群體中處於最佳總反應下腫瘤病灶自基線之個別個體變化百分比。進入研究之個體(N=16)不具有長度為或超過4 cm之單一腫瘤病灶。個體接受0.25 mL起始及0.1 mL加強之DPX-Survivac。在SD0開始，以50 mg BID投與環磷醯胺，連續7天且中斷7天。在D56或D140進行掃描。僅僅展示完成至少一個研究中放射成像之個體。

【0071】 **圖6**提供對可評估個體中直徑積和(SPD)(亦即，最長總腫瘤直徑及垂直於最長總直徑之最長直徑)自基線之減少百分比的瀑布分析。詳言之，圖6展示在給藥組之2期意圖治療群體中處於最佳總反應下腫瘤負荷自基線之個別個體變化。個體(N=8)進入研究。在研究第7天及第28天，個體接受相隔21天之0.5 mL DPX-Survivac之兩個起始劑量，且每兩個月0.1 mL維持注射。個體在研究期亦接受節拍式口服環磷醯胺(50 mg BID；連續7天/中斷7天)。每3週靜脈內以200 mg投與派姆單抗，其在研

究第7天開始，總共輸注18次。僅僅展示完成至少一個研究中放射成像之個體。縮寫：PD：疾病進展；SD：疾病穩定；PR：部分反應；CR：完全反應。

【0072】圖7提供如藉由直徑積和(SPD)所量測，給藥組之2期意圖治療群體中目標病灶反應隨時間推移之個別個體變化百分比。該圖描繪來自進入研究之目標病灶尺寸 $<4\text{ cm}$ 之個體(N=8)的結果。在研究第7天及第28天，個體接受相隔21天之0.5 mL DPX-Survivac之兩個起始劑量，且每兩個月0.1 ml維持注射。個體在研究期亦接受節拍式口服環磷醯胺(50 mg BID；連續7天/中斷7天)。每3週靜脈內以200 mg投與派姆單抗，其在研究第7天開始，總共輸注18次。僅僅展示完成至少一個研究中放射成像之個體。

【0073】圖8描繪獲得疾病進展(PD)、疾病穩定(SD)及部分反應(PR)之腫瘤負荷與T細胞活性之間的平衡。

【實施方式】

相關申請案之交叉參考

【0074】本申請案主張2018年11月19日申請之美國臨時申請案第62/769,347號之優先權，其揭示內容以全文引用的方式併入本文中。

序列表

【0075】本申請案含有序列表，其已呈ASCII格式以電子方式提交且以全文引用的方式併入本文中。該ASCII複本於2019年11月6日創建，命名為249979_000057_SL.txt且大小為7,002個位元組。

【0076】在描述本發明之前，應瞭解，本發明不限於描述之特定方法及實驗條件，因為此類方法及條件可變化。亦應瞭解，本文所用術語僅

出於描述特定實施例之目的且不意欲為限制性的。

【0077】 晚期癌症利用若干種機制逃避免疫介導之偵測及破壞，因此降低癌症治療劑之效力多個水準。腫瘤誘發之免疫抑制係癌症標誌之一，且為癌症之任何免疫療法的巨大障礙(Hanahan及Weinberg, Cell, 144(5): 646-674, 2011)。當其顯現時，腫瘤改變以經由若干機制來避免及逃避免疫偵測。腫瘤微環境例如上調促進抑制性免疫細胞產生之許多因子，該等抑制性免疫細胞諸如CD4+FoxP3+調節T細胞(Tregs) (Curiel等人, Nat Med 10(9): 942-949, 2004)及骨髓衍生之抑制細胞(MDSC) (Nagaraj及Gabrilovich, Cancer Res 68(8): 2561-3, 2008)。腫瘤微環境亦藉由釋放諸如TNF- β 之免疫抑制性細胞介素，直接抑制活化CD8+ T細胞 (Yang等人, Trends Immunol 31(6): 220-227, 2010)。對免疫壓力起反應之其他腫瘤逃避機制為免疫編輯、I類MHC之下調及抗原加工及呈現之改變。因此，T細胞活化治療劑誘發之CD8+ T細胞必須在腫瘤細胞有機會改變之前有機會迅速識別及破壞腫瘤細胞。免疫調節劑抵消腫瘤誘發之免疫抑制的用途可改善包括T細胞活化治療劑之癌症治療劑之功效。

【0078】 本發明之方法係關於藉由組合投與活性劑(例如干擾DNA複製之藥劑及/或免疫調節劑)及存活素療法(例如DPX-Survivac)治療具有低腫瘤負荷(例如低目標腫瘤負荷)之個體之腫瘤。存活素係一種與細胞凋亡之負面調節有關之蛋白質，其在許多腫瘤類型中高度表現且具有所報導之預後價值。如本文所用，「存活素療法」意欲涵蓋任何疫苗、識別存活素之經工程改造CAR T細胞、T細胞活化治療劑或用於向個體投與本文所述之存活素抗原中之一或多者的抗原遞送方式。本文描述此類「存活素療法」之示例性實施例；然而，技術人員將瞭解涵蓋任何T細胞活化治療劑

或用於向個體遞送抗原之方式。

【0079】 在一態樣中，本發明係關於一種在治療個體之腫瘤中改善T細胞活化治療劑功效的方法，該方法包含：向有需要之個體投與有效量之至少一種活性劑(例如干擾DNA複製之藥劑及/或免疫調節劑)，其中該個體具有低腫瘤負荷(例如如藉由估計腫瘤負荷所量測)；以及向個體投與治療有效量之T細胞活化治療劑，其中該T細胞活化治療劑包含至少一種存活素抗原(例如DPX-Survivac)。

【0080】 在另一態樣中，本發明係關於一種治療具有低腫瘤負荷之個體之腫瘤的方法，該方法包含：向有需要之個體投與有效量之至少一種活性劑(例如干擾DNA複製之藥劑及/或免疫調節劑)，其中該個體具有低腫瘤負荷(例如如藉由估計腫瘤負荷所量測)；以及隨後向個體投與治療有效量之T細胞活化治療劑，其中該T細胞活化治療劑包含至少一種存活素抗原(例如DPX-Survivac)。

【0081】 定義

【0082】 必須注意，除非上下文另外明確規定，否則如本說明書及隨附申請專利範圍中所使用，單數形式「一(a/an)」及「該(the)」包括複數個提及物。除非另外定義，否則本文中所用之所有技術及科學術語具有與一般熟習本發明所屬技術者通常所理解之含義相同的含義。

【0083】 如本文在說明書及申請專利範圍中使用之片語「及/或」應理解為意謂如此結合之要素中的「任一者或兩者」，亦即，在一些情況下聯合存在且在其他情況下未聯合存在的要素。使用「及/或」列出之多個要素應以相同方式解釋，亦即，如此結合之「一或多個」要素。除藉由「及/或」子句特別確定之要素之外，可視情況存在其他要素，無論與特

別確定之彼等要素相關或無關。由此，作為非限制性實例，在結合諸如「包含」之開放式措辭使用時，提及「A及/或B」在一個實施例中可僅指A（視情況包括除B以外之要素）；在另一實施例中，可僅指B（視情況包括除A之外之要素）；在又一實施例中，可指A及B兩者（視情況包括其他要素）；等等。

【0084】 如本文全篇所用，術語「約」意謂合理地接近。舉例而言，「約」可意謂在如藉由一般熟習此項技術者所測定之特定值的可接受之標準偏差及/或可接受之誤差範圍內，此將視如何量測特定值而定。此外，當表示整數時，約可指整數任一側上之小數值。當在範圍之情況下使用時，術語「約」涵蓋介於範圍一端之一個特定值與範圍另一端之其他特定值之間的所有示例性值，以及超出各端之合理接近值。

【0085】 如本文所用，無論在本說明書中還是在隨附申請專利範圍中，過渡術語「包含」、「包括」、「載有」、「具有」、「含有」、「涉及」及其類似術語應理解為包括性或開放性（亦即，意謂包括（但不限於）），且其不排除未列出之要素、材料或方法步驟。僅過渡片語「由……組成」及「基本上由……組成」分別為關於本文中之申請專利範圍及例示性實施例段落的封閉或半封閉式過渡片語。

【0086】 如本文所用，「改善T細胞活化治療劑功效(improving T cell activation therapeutic efficacy)」或「改善T細胞活化治療劑功效(improving the efficacy of T cell activation therapeutic)」或其類似詞組係指能夠使本發明之存活素療法更有效地治療癌症的個體免疫反應之任何變化或改變。在一些實施例中，此可涉及加速對存活素療法之免疫反應之出現及/或改善對存活素療法之免疫反應的持久性或強度。免疫反應可為

細胞介導之免疫反應或體液性免疫反應。

【0087】 在本發明之方法中，藥劑可藉由直接或間接增強T細胞活化治療劑中針對存活素抗原之免疫反應來「改善T細胞活化治療劑功效」(例如存活素療法)。此可例如藉由降低抑制免疫細胞之數目及/或活性來實現。已報導腫瘤微環境例如上調許多促進抑制免疫細胞產生之因子，該等細胞諸如CD4⁺FoxP3⁺調節T細胞(Treg) (Curiel等人, Nat Med 10(9): 942-949, 2004)、骨髓衍生之抑制細胞(MDSC) (Nagaraj及Gabrilovich, Cancer Res 68(8): 2561-3, 2008)及CD19⁺CD5⁺CD1dhiIL-10⁺B細胞(Breg) (Balkwill等人, Trends Immunol, 3 Dec. 2012, 10.1016/j.it.2012.10.007 (電子優先出版))。因此，降低此等抑制免疫細胞之數目或活性的能力代表用於改善T細胞活化治療劑功效之實施例。

【0088】 「改善T細胞活化治療劑功效」(例如存活素療法)亦可例如藉由增加抗原特異性CD8⁺ T細胞之數目及/或活性來實現。在此方面，已報導腫瘤微環境例如藉由釋放諸如TNF- α 及TGF- β 之免疫抑制性細胞介素而促成活化CD8⁺ T細胞之直接抑制(Yang等人, Trends Immunol 31(6): 220-227, 2010)。因此，增加抗原特異性CD8⁺ T細胞之活性的能力代表改善T細胞活化治療劑功效之潛在機制。抗原特異性CD8⁺ T細胞之增加可能為此類細胞之數目增加、此類細胞之活性增加及/或產生相對於總CD8⁺ T細胞富集之抗原特異性CD8⁺ T細胞群體，諸如總CD8⁺ T細胞相對減少。

【0089】 更一般而言，「改善T細胞活化治療劑功效」係指本發明之方法藉由以下而能夠增強存活素療法之免疫原性：增強細胞介導之免疫反應及/或由存活素療法誘發之體液性免疫反應；增加疫苗接種部位或腫瘤

部位處免疫細胞及/或抗體之數目；或諸如藉由增強癌症之預防性治療及/或治療性治療及/或緩解、延遲或抑制疾病症狀之進展，改善由本發明之存活素療法所提供之治療作用。改善存活素療法之功效亦可引起與單一療法治療相比改善生活品質或降低發病率。

【0090】 「改善T細胞活化治療劑功效」亦可意謂產生所期望結果需要較低劑量之本發明之組合之活性成分。此涵蓋劑量本身較小之實施例及存活素療法、活性劑及/或額外治療劑(例如干擾DNA複製之治療劑及/或免疫調節劑)以較低頻率施加之實施例兩種。

【0091】 如本文所用之「治療(treatment)」或「treatment of」或「預防(preventing)」或「預防(prevention of)」係指用於獲得有益或所期望結果之方法。有益或所期望結果可包括(但不限於)緩解或減輕一或多種症狀或病狀、減輕疾病程度、穩定疾病狀態、預防疾病顯現、預防疾病擴散、延遲或減緩疾病進展(例如抑制)、延遲或減緩疾病發作、賦予針對致病原之保護性免疫及改善或緩和疾病病況。「治療」或「預防」亦可意謂延長患者之存活率超出在缺乏治療下所預期之存活率，且亦可意謂暫時抑制疾病進展或，諸如藉由預防個體之感染而預防疾病出現。「治療」或「預防」亦可指腫瘤塊尺寸減小、腫瘤負荷降低、目標腫瘤負荷降低、腫瘤侵襲性降低等。

【0092】 「治療」與「預防」之區別在於「治療」通常在已患有疾病或病症或已知已暴露於感染物之個體中出現，而「預防」通常在未患有疾病或病症或尚未知曉暴露於感染物之個體中出現。如所瞭解，治療及預防中可存在重疊。例如，可「治療」個體之疾病，而同時「預防」疾病之症狀或進展。此外，「治療」及「預防」可重疊，因為治療個體以誘發免

疫反應(例如疫苗接種)可具有預防病原體感染或預防由感染病原體所引起之潛在疾病或症狀的後續作用。本文中藉由諸如「治療腫瘤」或「治療癌症」之表述涵蓋此等預防態樣。

【0093】 如本文所用，術語「癌症」、「癌細胞」、「腫瘤」及「腫瘤細胞」(可互換使用)係指展現異常生長的特徵在於顯著喪失對細胞增殖之控制的細胞，或永生化細胞。術語「癌症」或「腫瘤」包括轉移性以及非轉移性癌症或腫瘤。癌症可使用此項技術中一般接受之標準來診斷，包括惡性腫瘤之存在。

【0094】 如本文所用，「治療有效量」意謂活性劑、T細胞活化治療劑及/或任何額外治療劑向個體有效提供治療、預防或診斷益處的量及/或足夠調節個體之免疫反應及/或體液反應的量。如本文所用，「調節」免疫及/或體液反應與活化免疫及/或體液反應相異及不同。「調節」意謂本文中之活性劑及/或額外治療劑增強藉由其他機制或化合物(例如藉由抗原或免疫原)活化之免疫及/或體液反應。在一實施例中，在投與活性劑、T細胞活化治療劑及/或本文中有效之任何額外治療劑之前活化免疫及/或體液反應。在另一實施例中，免疫及/或體液反應可與活性劑、T細胞活化治療劑及/或本文描述之有效的任何額外治療劑同時活化。在另一實施例中，免疫及/或體液反應可在活性劑、T細胞活化治療劑及/或本文描述之有效的任何額外治療劑投與之後活化。

【0095】 術語「個體(subject)」、「患者」、「個體(individual)」及「動物」在本文中可互換使用，且係指哺乳動物，包括(但不限於)人類及獸醫學動物(例如靈長類動物、貓、犬、牛、馬、綿羊、豬、兔、小鼠、大鼠等)及實驗動物模型。在一較佳實施例中，個體為人類。

【0096】 腫瘤負荷

【0097】 本文所揭示之方法包含向具有低腫瘤負荷之個體投與活性劑以及包含至少一種存活素抗原(例如DPX-Survivac)之T細胞活化治療劑。在某些實施例中，該方法包含向具有低腫瘤負荷之個體投與該T細胞活化治療劑。

【0098】 「腫瘤負荷」係指分佈在整個體內之腫瘤物質之總量。舉例而言，腫瘤負荷可指整個體內癌細胞之總數目或腫瘤之總尺寸，包括淋巴結(例如惡性或病態擴大淋巴結(例如在實體腫瘤之情況下短軸中 ≥ 15 mm))及骨髓。在某些實施例中，可基於至少一個腫瘤病灶(包括淋巴結及骨髓)之腫瘤尺寸估計腫瘤負荷，如下文更詳細地描述。

【0099】 術語「腫瘤尺寸」係指腫瘤之總尺寸，其可量測為腫瘤之直徑、長度及寬度、或總面積、垂直直徑之和或體積。腫瘤尺寸可藉由此項技術中已知之多種方法測定，諸如藉由量測腫瘤尺寸，而在體內使用成像技術，例如CT、MRI、PET、骨骼掃描、X射線或超音波或例如使用測徑規量測自個體移除後腫瘤之尺寸。在一些實施例中，腫瘤在一維上量測(例如腫瘤病灶之最長直徑)。在一些實施例中，腫瘤在二維上量測(例如最長直徑及垂直於最長直徑之直徑)。

【0100】 在某些實施例中，目標腫瘤病灶藉由實體腫瘤反應評價標準(RECIST)準則來量測。在某些實施例中，目標腫瘤病灶藉由RECIST 1.1標準量測。以下進一步概述可使用之RECIST 1.1標準。一般技術者瞭解，此方法可更新或修改，在此情況下經更新或修改之方法可用於量測目標腫瘤病灶。

【0101】 估計腫瘤負荷

【0102】 如以上所接觸，可基於至少一個腫瘤病灶之腫瘤尺寸估計個體之腫瘤負荷。不同方法可用於估計腫瘤負荷，只要該方法良好地表示欲達到臨床反應，必須由T細胞消除之實際腫瘤體積或腫瘤細胞數目。

【0103】 在某些實施例中，估計腫瘤負荷係基於最大腫瘤病灶之腫瘤尺寸。在某些實施例中，估計腫瘤負荷係基於至少兩個腫瘤病灶(亦即，目標腫瘤病灶)之腫瘤尺寸的和。

【0104】 在某些實施例中，估計腫瘤負荷可藉由最大腫瘤病灶之尺寸(例如直徑、長度及寬度(例如最大直徑乘以其垂直直徑)、垂直直徑與最長直徑之和(亦即，直徑之積和)或體積)來確定。在某些實施例中，估計腫瘤負荷係基於最大腫瘤病灶之最長直徑。在某些實施例中，若該最大腫瘤病灶涉及淋巴結，則該估計腫瘤負荷可基於惡性/病態淋巴結之短軸或長軸之直徑。在某些實施例中，若最大腫瘤病灶涉及淋巴結時，則估計腫瘤負荷可基於惡性/病態淋巴結之短軸直徑。

【0105】 當在治療之前存在超過一個可量測病灶時，可基於腫瘤病灶尺寸(例如直徑或長度及寬度)及/或腫瘤病灶適用於準確重複量測之適合性來選擇。在某些實施例中，可選擇目標腫瘤病灶代表包含腫瘤病灶之所有器官。在某些實施例中，目標腫瘤病灶可為最大腫瘤病灶。

【0106】 在某些實施例中，估計腫瘤負荷可藉由某一數目之腫瘤病灶(亦即，目標腫瘤病灶，其亦包括惡性/病態淋巴結及骨髓)之尺寸(例如直徑、長度及寬度(例如最長直徑乘以其垂直直徑之最長直徑)或體積)來確定。在某些實施例中，估計腫瘤負荷可藉由目標腫瘤病灶之最長直徑之和來確定。在某些實施例中，若目標腫瘤病灶涉及淋巴結，則所進行之量測為惡性/病態淋巴結之短軸或長軸之直徑。在某些實施例中，若目標腫

瘤病灶涉及淋巴結，則所進行之量測為惡性/病態淋巴結之短軸直徑。

【0107】 在某些實施例中，估計腫瘤負荷可藉由至少約2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個或10個目標腫瘤病灶之尺寸之和來確定。在某些實施例中，估計腫瘤負荷可藉由約2個、3個、4個或5個目標腫瘤病灶之尺寸之和來確定。在某些實施例中，每個器官量測不超過2個目標腫瘤病灶。

【0108】 低估計腫瘤負荷

【0109】 不受理論束縛，向具有低腫瘤負荷之個體投與活性劑以及包含至少一種存活素抗原(例如DPX-Survivac)之靶向T細胞免疫療法的益處係充分利用T細胞能夠浸潤腫瘤且刺激腫瘤細胞破壞及/或控制腫瘤生長之能力。換言之，益處係確保適當數目之T細胞以超過腫瘤細胞增殖之動力學浸潤及殺死腫瘤細胞(參見例如圖8)。在一些情況下，具有低腫瘤負荷之個體的腫瘤體積或腫瘤生理學可使得T細胞(例如腫瘤浸潤性淋巴細胞(TIL))能夠浸潤腫瘤且介導消退。

【0110】 如本文所涵蓋之「低估計腫瘤負荷」或「低估計目標腫瘤負荷」(可互換使用)將為熟習此項技術者已知，或可藉由常規技能確定。在某些實施例中，熟習此項技術者可基於腫瘤類型確定低估計腫瘤負荷或低估計目標腫瘤負荷之構成、腫瘤所位於之組織及/或個體之具體特徵(例如年齡、體重、性別、免疫狀態、健康、癌症階段等)。不受理論束縛，構成低估計腫瘤負荷之值可藉由找到腫瘤尺寸與T細胞減少腫瘤負荷或至少降低腫瘤負荷生長速率之能力之間的平衡來確定。T細胞減少腫瘤負荷或降低腫瘤負荷生長速率之能力可為T細胞反應之結果。

【0111】 在某些實施例中，若最大腫瘤病灶之尺寸(例如最大腫瘤病

灶之最長直徑或淋巴結之短軸或長軸)為約10 cm或更少、約9 cm或更少、約8.75 cm或更少、約8.5 cm或更少、約8.25 cm或更少、約8 cm或更少、約7.75 cm或更少、約7.5 cm或更少、約7.25 cm或更少、約7 cm或更少、約6.75 cm或更少、約6.5 cm或更少、約6.25 cm或更少、約6 cm或更少、約5.75 cm或更少、約5.5 cm或更少、約5.25 cm或更少、約5 cm或更少、約4.75 cm或更少、約4.5 cm或更少、約4.25 cm或更少、約4 cm或更少、約3.75 cm或更少、約3.5 cm或更少、約3.25 cm或更少、約3 cm或更少、約2.75 cm或更少、約2.5 cm或更少、約2.25 cm或更少、約2 cm或更少、約1.75 cm或更少、約1.5 cm或更少、約1.25 cm或更少、約1 cm或更少、約0.75 cm或更少、約0.5 cm或更少、約0.25 cm或更少、約0.1 cm或更少、約0.075 cm或更少、約0.015 cm或更少或約0.0125 cm或更少，則具有腫瘤(例如經診斷具有腫瘤)之個體具有低估計腫瘤負荷。在某些實施例中，若最大腫瘤病灶之尺寸(例如最大腫瘤病灶之最長直徑或淋巴結之短軸或長軸)為約5 cm或更少、約4.9 cm或更少、約4.8 cm或更少、約4.75 cm或更少、約4.6 cm或更少、約4.5 cm或更少、約4.4 cm或更少、約4.25 cm或更少、約4.2 cm或更少、約4 cm或更少、約3.8 cm或更少、約3.75 cm或更少、約3.6 cm或更少、約3.5 cm或更少、約3.4 cm或更少、約3.25 cm或更少、約3.2 cm或更少、約3.0 cm或更少、約2.8 cm或更少、約2.75 cm或更少、約2.6 cm或更少、約2.5 cm或更少、約2.4 cm或更少、約2.25 cm或更少、約2.2 cm或更少或約2 cm或更少，則個體具有低估計腫瘤負荷。在某些實施例中，若最大腫瘤病灶之尺寸(例如最大腫瘤病灶之最長直徑或淋巴結之短軸或長軸)為約4 cm或更少，則個體具有低估計腫瘤負荷。

【0112】 在某些實施例中，若最大腫瘤病灶之尺寸(例如最大腫瘤病灶之最長直徑或淋巴結之短軸或長軸)少於約10 cm、少於約9 cm、少於約8.75 cm、少於約8.5 cm、少於約8.25 cm、少於約8 cm、少於約7.75 cm、少於約7.5 cm、少於約7.25 cm、少於約7 cm、少於約6.75 cm、少於約6.5 cm、少於約6.25 cm、少於約6 cm、少於約5.75 cm、少於約5.5 cm、少於約5.25 cm、少於約5 cm、少於約4.75 cm、少於約4.5 cm、少於約4.25 cm、少於約4 cm、少於約3.75 cm、少於約3.5 cm、少於約3.25 cm、少於約3 cm、少於約2.75 cm、少於約2.5 cm、少於約2.25 cm、少於約2 cm、少於約1.75 cm、少於約1.5 cm、少於約1.25 cm、少於約1 cm、少於約0.75 cm、少於約0.5 cm、少於約0.25 cm、少於約0.1 cm、少於約0.075 cm、少於約0.015 cm或少於約0.0125 cm，則具有腫瘤(例如經診斷具有腫瘤)之個體具有低估計腫瘤負荷。在某些實施例中，若最大腫瘤病灶之尺寸(例如最大腫瘤病灶之最長直徑或淋巴結之短軸或長軸)少於約5 cm、少於約4.9 cm、少於約4.8 cm、少於約4.75 cm、少於約4.6 cm、少於約4.5 cm、少於約4.4 cm、少於約4.25 cm、少於約4.2 cm、少於約4 cm、少於約3.8 cm、少於約3.75 cm、少於約3.6 cm、少於約3.5 cm、少於約3.4 cm、少於約3.25 cm、少於約3.2 cm、少於約3.0 cm、少於約2.8 cm、少於約2.75 cm、少於約2.6 cm、少於約2.5 cm、少於約2.4 cm、少於約2.25 cm、少於約2.2 cm或少於約2 cm，則個體具有低估計腫瘤負荷。在某些實施例中，若最大腫瘤病灶之尺寸(例如最大腫瘤病灶之最長直徑或淋巴結之短軸或長軸)少於約4 cm，則個體具有低估計腫瘤負荷。

【0113】 在某些實施例中，若最大腫瘤病灶之尺寸(例如最大腫瘤病

灶之最長直徑或淋巴結之短軸或長軸)不超過約10 cm、不超過約9 cm、不超過約8.75 cm、不超過約8.5 cm、不超過約8.25 cm、不超過約8 cm、不超過約7.75 cm、不超過約7.5 cm、不超過約7.25 cm、不超過約7 cm、不超過約6.75 cm、不超過約6.5 cm、不超過約6.25 cm、不超過約6 cm、不超過約5.75 cm、不超過約5.5 cm、不超過約5.25 cm、不超過約5 cm、不超過約4.75 cm、不超過約4.5 cm、不超過約4.25 cm、不超過約4 cm、不超過約3.75 cm、不超過約3.5 cm、不超過約3.25 cm、不超過約3 cm、不超過約2.75 cm、不超過約2.5 cm、不超過約2.25 cm、不超過約2 cm、不超過約1.75 cm、不超過約1.5 cm、不超過約1.25 cm、不超過約1 cm、不超過約0.75 cm、不超過約0.5 cm、不超過約0.25 cm、不超過約0.1 cm、不超過約0.075 cm、不超過約0.015 cm或不超過約0.0125 cm，則具有腫瘤(例如經診斷具有腫瘤)之個體具有低估計腫瘤負荷。在某些實施例中，若最大腫瘤病灶之尺寸(例如最大腫瘤病灶之最長直徑或淋巴結之短軸或長軸)不超過約5 cm、不超過約4.9 cm、不超過約4.8 cm、不超過約4.75 cm、不超過約4.6 cm、不超過約4.5 cm、不超過約4.4 cm、不超過約4.25 cm、不超過約4.2 cm、不超過約4 cm、不超過約3.8 cm、不超過約3.75 cm、不超過約3.6 cm、不超過約3.5 cm、不超過約3.4 cm、不超過約3.25 cm、不超過約3.2 cm、不超過約3.0 cm、不超過約2.8 cm、不超過約2.75 cm、不超過約2.6 cm、不超過約2.5 cm、不超過約2.4 cm、不超過約2.25 cm、不超過約2.2 cm或不超過約2 cm，則個體具有低估計腫瘤負荷。在某些實施例中，若最大腫瘤病灶之尺寸(例如最大腫瘤病灶之最長直徑或淋巴結之短軸或長軸)不超過約4 cm，則個體具有低估計腫瘤負荷。

【0114】 在某些實施例中，若腫瘤(例如最大腫瘤)之尺寸或目標腫

瘤病灶之和為約50 cm²或更少、約48 cm²或更少、約46 cm²或更少、約44 cm²或更少、約42 cm²或更少、約40 cm²或更少、約39 cm²或更少、38 cm²或更少、37 cm²或更少、36 cm²或更少、35 cm²或更少、34 cm²或更少、33 cm²或更少、32 cm²或更少、31 cm²或更少、約30 cm²或更少、約29 cm²或更少、約28 cm²或更少、約27 cm²或更少、約26 cm²或更少、約25 cm²或更少、約24 cm²或更少、約23 cm²或更少、約22 cm²或更少、約21 cm²或更少、約20 cm²或更少、約19 cm²或更少、約18 cm²或更少、約17 cm²或更少、約16 cm²或更少、約15 cm²或更少、約14 cm²或更少、約13 cm²或更少、約12 cm²或更少、約11 cm²或更少、約10 cm²或更少、約9 cm²或更少、約8.75 cm²或更少、約8.5 cm²或更少、約8.25 cm²或更少、約8 cm²或更少、約7.75 cm²或更少、約7.5 cm²或更少、約7.25 cm²或更少、約7 cm²或更少、約6.75 cm²或更少、約6.5 cm²或更少、約6.25 cm²或更少、約6 cm²或更少、約5.75 cm²或更少、約5.5 cm²或更少、約5.25 cm²或更少、約5 cm²或更少、約4.75 cm²或更少、約4.5 cm²或更少、約4.25 cm²或更少、約4 cm²或更少、約3.75 cm²或更少、約3.5 cm²或更少、約3.25 cm²或更少、約3 cm²或更少、約2.75 cm²或更少、約2.5 cm²或更少、約2.25 cm²或更少、約2 cm²或更少、約1.75 cm²或更少、約1.5 cm²或更少、約1.25 cm²或更少、約1 cm²或更少、約0.75 cm²或更少、約0.5 cm²或更少、約0.25 cm²或更少、約0.1 cm²或更少、約0.075 cm²或更少、約0.015 cm²或約0.0125 cm²或更少，則具有腫瘤(例如經診斷具有腫瘤)之個體具有低估計腫瘤負荷。在某些實施例中，若腫瘤(例如最大腫瘤)之尺寸或目標腫瘤病灶之和為約20 cm²或16 cm²，則個體具有低估計腫瘤負荷。在某些實施例中，尺寸量測為最大腫瘤病灶之長度及寬

度(例如最大直徑乘以其最長垂直直徑)。在某些實施例中，尺寸量測為目標腫瘤病灶之長度及寬度之和(例如最大直徑乘以其最長垂直直徑)。

【0115】 在某些實施例中，若腫瘤(例如最大腫瘤)之尺寸或目標腫瘤病灶之和少於約50 cm²、少於約48 cm²、少於約46 cm²、少於約44 cm²、少於約42 cm²、少於約40 cm²、少於約39 cm²、少於約38 cm²、少於約37 cm²、少於約36 cm²、少於約35 cm²、少於約34 cm²、少於約33 cm²、少於約32 cm²、少於約31 cm²、少於約30 cm²、少於約29 cm³、少於約28 cm²、少於約27 cm²、少於約26 cm²、少於約25 cm²、少於約24 cm²、少於約23 cm²、少於約22 cm²、少於約21 cm²、少於約20 cm²、少於約19 cm²、少於約18 cm²、少於約17 cm²、少於約16 cm²、少於約15 cm²、少於約14 cm²、少於約13 cm²、少於約12 cm²、少於約11 cm²、少於約10 cm²、少於約9 cm²、少於約8.75 cm²、少於約8.5 cm²、少於約8.25 cm²、少於約8 cm²、少於約7.75 cm²、少於約7.5 cm²、少於約7.25 cm²、少於約7 cm²、少於約6.75 cm²、少於約6.5 cm²、少於約6.25 cm²、少於約6 cm²、少於約5.75 cm²、少於約5.5 cm²、少於約5.25 cm²、少於約5 cm²、少於約4.75 cm²、少於約4.5 cm²、少於約4.25 cm²、少於約4 cm²、少於約3.75 cm²、少於約3.5 cm²、少於約3.25 cm²、少於約3 cm²、少於約2.75 cm²、少於約2.5 cm²、少於約2.25 cm²、少於約2 cm²、少於約1.75 cm²、少於約1.5 cm²、少於約1.25 cm²、少於約1 cm²、少於約0.75 cm²、少於約0.5 cm²、少於約0.25 cm²、少於約0.1 cm²、少於約0.075 cm²、少於約0.015 cm²或少於約0.0125 cm²，則具有腫瘤(例如經診斷具有腫瘤)之個體具有低估計腫瘤負荷。在某些實施例中，若腫瘤(例如最大腫瘤)之尺寸或目標腫瘤病灶之和少於約20 cm²或16 cm²，則個體具

有低估計腫瘤負荷。在某些實施例中，尺寸量測為最大腫瘤病灶之長度及寬度(例如最大直徑乘以其最長垂直直徑)。在某些實施例中，尺寸量測為目標腫瘤病灶之長度及寬度之和(例如最大直徑乘以其最長垂直直徑)。

【0116】 在某些實施例中，若腫瘤(例如最大腫瘤)之尺寸或目標腫瘤病灶之和不超過約50 cm²、不超過約48 cm²、不超過約46 cm²、不超過約44 cm²、不超過約42 cm²、不超過約40 cm²、不超過約39 cm²、不超過約38 cm²、不超過約37 cm²、不超過約36 cm²、不超過約35 cm²、不超過約34 cm²、不超過約33 cm²、不超過約32 cm²、不超過約31 cm²、不超過約30 cm²、不超過約29 cm³、不超過約28 cm²、不超過約27 cm²、不超過約26 cm²、不超過約25 cm²、不超過約24 cm²、不超過約23 cm²、不超過約22 cm²、不超過約21 cm²、不超過約20 cm²、不超過約19 cm²、不超過約18 cm²、不超過約17 cm²、不超過約16 cm²、不超過約15 cm²、不超過約14 cm²、不超過約13 cm²、不超過約12 cm²、不超過約11 cm²、不超過約10 cm²、不超過約9 cm²、不超過約8.75 cm²、不超過約8.5 cm²、不超過約8.25 cm²、不超過約8 cm²、不超過約7.75 cm²、不超過約7.5 cm²、不超過約7.25 cm²、不超過約7 cm²、不超過約6.75 cm²、不超過約6.5 cm²、不超過約6.25 cm²、不超過約6 cm²、不超過約5.75 cm²、不超過約5.5 cm²、不超過約5.25 cm²、不超過約5 cm²、不超過約4.75 cm²、不超過約4.5 cm²、不超過約4.25 cm²、不超過約4 cm²、不超過約3.75 cm²、不超過約3.5 cm²、不超過約3.25 cm²、不超過約3 cm²、不超過約2.75 cm²、不超過約2.5 cm²、不超過約2.25 cm²、不超過約2 cm²、不超過約1.75 cm²、不超過約1.5 cm²、不超過約1.25 cm²、不超過約1 cm²、不超過約0.75 cm²、不超過約0.5 cm²、不超過約0.25 cm²、不超過約0.1

cm^2 、不超過約 0.075 cm^2 、不超過約 0.015 cm^2 或不超過約 0.0125 cm^2 ，則具有腫瘤(例如經診斷具有腫瘤)之個體具有低估計腫瘤負荷。在某些實施例中，若腫瘤(例如最大腫瘤)之尺寸或目標腫瘤病灶之和不超過約 20 cm^2 或 16 cm^2 ，則個體具有低估計腫瘤負荷。在某些實施例中，尺寸量測為最大腫瘤病灶之長度及寬度(例如最大直徑乘以其最長垂直直徑)。在某些實施例中，尺寸量測為目標腫瘤病灶之長度及寬度之和(例如最大直徑乘以其最長垂直直徑)。

【0117】 在某些實施例中，若腫瘤(例如最大腫瘤)之尺寸或目標腫瘤病灶之和為約 200 cm^3 或更少、約 195 cm^3 或更少、約 190 cm^3 或更少、約 185 cm^3 或更少、約 180 cm^3 或更少、約 175 cm^3 或更少、約 170 cm^3 或更少、約 165 cm^3 或更少、約 160 cm^3 或更少、約 155 cm^3 或更少、約 150 cm^3 或更少、約 145 cm^3 或更少、約 140 cm^3 或更少、約 135 cm^3 或更少、約 130 cm^3 或更少、約 125 cm^3 或更少、約 120 cm^3 或更少、約 115 cm^3 或更少、約 110 cm^3 或更少、約 100 cm^3 或更少、約 95 cm^3 或更少、約 90 cm^3 或更少、約 85 cm^3 或更少、約 80 cm^3 或更少、約 75 cm^3 或更少、約 70 cm^3 或更少、約 65 cm^3 或更少、約 60 cm^3 或更少、約 55 cm^3 或更少、約 50 cm^3 或更少、約 48 cm^3 或更少、約 46 cm^3 或更少、約 44 cm^3 或更少、約 42 cm^3 或更少、約 40 cm^3 或更少、約 39 cm^3 或更少、 38 cm^3 或更少、 37 cm^3 或更少、 36 cm^3 或更少、 35 cm^3 或更少、 34 cm^3 或更少、 33 cm^3 或更少、 32 cm^3 或更少、 31 cm^3 或更少、約 30 cm^3 或更少、約 29 cm^3 或更少、約 28 cm^3 或更少、約 27 cm^3 或更少、約 26 cm^3 或更少、約 25 cm^3 或更少、約 24 cm^3 或更少、約 23 cm^3 或更少、約 22 cm^3 或更少、約 21 cm^3 或更少、約 20 cm^3 或更少、約 19 cm^3 或更少、約 18 cm^3 或更少、約 17 cm^3 或更少、約 16

cm^3 或更少、約15 cm^3 或更少、約14 cm^3 或更少、約13 cm^3 或更少、約12 cm^3 或更少、約11 cm^3 或更少、約10 cm^3 或更少、約9 cm^3 或更少、約8.75 cm^3 或更少、約8.5 cm^3 或更少、約8.25 cm^3 或更少、約8 cm^3 或更少、約7.75 cm^3 或更少、約7.5 cm^3 或更少、約7.25 cm^3 或更少、約7 cm^3 或更少、約6.75 cm^3 或更少、約6.5 cm^3 或更少、約6.25 cm^3 或更少、約6 cm^3 或更少、約5.75 cm^3 或更少、約5.5 cm^3 或更少、約5.25 cm^3 或更少、約5 cm^3 或更少、約4.75 cm^3 或更少、約4.5 cm^3 或更少、約4.25 cm^3 或更少、約4 cm^3 或更少、約3.75 cm^3 或更少、約3.5 cm^3 或更少、約3.25 cm^3 或更少、約3 cm^3 或更少、約2.75 cm^3 或更少、約2.5 cm^3 或更少、約2.25 cm^3 或更少、約2 cm^3 或更少、約1.75 cm^3 或更少、約1.5 cm^3 或更少、約1.25 cm^3 或更少、約1 cm^3 或更少、約0.75 cm^3 或更少、約0.5 cm^3 或更少、約0.25 cm^3 或更少、約0.1 cm^3 或更少、約0.075 cm^3 或更少、約0.015 cm^3 或約0.0125 cm^3 或更少，則具有腫瘤(例如經診斷具有腫瘤)之個體具有低估計腫瘤負荷。在某些實施例中，若腫瘤(例如最大腫瘤)之尺寸或目標腫瘤病灶之和為約33 cm^3 或更少或約34 cm^3 或更少，則個體具有低估計腫瘤負荷。在某些實施例中，尺寸量測為最大腫瘤病灶(例如藉由MRI)之體積。在某些實施例中，尺寸為目標腫瘤病灶之體積之和。在某些實施例中，若目標腫瘤之和之尺寸為約165 cm^3 或更少或167 cm^3 或更少，則個體具有低估計腫瘤負荷。

【0118】 在某些實施例中，若腫瘤(例如最大腫瘤)之尺寸或目標腫瘤病灶之和少於約200 cm^3 、少於約195 cm^3 、少於約190 cm^3 、少於約185 cm^3 、少於約180 cm^3 、少於約175 cm^3 、少於約 cm^3 、少於約165 cm^3 、少於約160 cm^3 、少於約155 cm^3 、少於約150 cm^3 、少於約145

cm^3 、少於約140 cm^3 、少於約135 cm^3 、少於約130 cm^3 、少於約125 cm^3 、少於約120 cm^3 、少於約115 cm^3 、少於約110 cm^3 、少於約100 cm^3 、少於約95 cm^3 、少於約90 cm^3 、少於約85 cm^3 、少於約80 cm^3 、少於約75 cm^3 、少於約70 cm^3 、少於約65 cm^3 、少於約60 cm^3 、少於約55 cm^3 、少於約50 cm^3 、少於約48 cm^3 、少於約46 cm^3 、少於約44 cm^3 、少於約42 cm^3 、少於約40 cm^3 、少於約39 cm^3 、少於約38 cm^3 、少於約37 cm^3 、少於約36 cm^3 、少於約35 cm^3 、少於約34 cm^3 、少於約33 cm^3 、少於約32 cm^3 、少於約31 cm^3 、少於約30 cm^3 、少於約29 cm^3 、少於約28 cm^3 、少於約27 cm^3 、少於約26 cm^3 、少於約25 cm^3 、少於約24 cm^3 、少於約23 cm^3 、少於約22 cm^3 、少於約21 cm^3 、少於約20 cm^3 、少於約19 cm^3 、少於約18 cm^3 、少於約17 cm^3 、少於約16 cm^3 、少於約15 cm^3 、少於約14 cm^3 、少於約13 cm^3 、少於約12 cm^3 、少於約11 cm^3 、少於約10 cm^3 、少於約9 cm^3 、少於約8.75 cm^3 、少於約8.5 cm^3 、少於約8.25 cm^3 、少於約8 cm^3 、少於約7.75 cm^3 、少於約7.5 cm^3 、少於約7.25 cm^3 、少於約7 cm^3 、少於約6.75 cm^3 、少於約6.5 cm^3 、少於約6.25 cm^3 、少於約6 cm^3 、少於約5.75 cm^3 、少於約5.5 cm^3 、少於約5.25 cm^3 、少於約5 cm^3 、少於約4.75 cm^3 、少於約4.5 cm^3 、少於約4.25 cm^3 、少於約4 cm^3 、少於約3.75 cm^3 、少於約3.5 cm^3 、少於約3.25 cm^3 、少於約3 cm^3 、少於約2.75 cm^3 、少於約2.5 cm^3 、少於約2.25 cm^3 、少於約2 cm^3 、少於約1.75 cm^3 、少於約1.5 cm^3 、少於約1.25 cm^3 、少於約1 cm^3 、少於約0.75 cm^3 、少於約0.5 cm^3 、少於約0.25 cm^3 、少於約0.1 cm^3 、少於約0.075 cm^3 、少於約0.015 cm^3 或少於約0.0125 cm^3 ，則具有腫瘤(例如經診斷具有腫瘤)之個體具有低估計腫瘤負荷。在某些實施例中，若腫瘤(例如最大腫瘤)之尺

寸或目標腫瘤病灶之和少於約33 cm³或少於約34 cm³，則個體具有低估計腫瘤負荷。在有些實施例中，尺寸量測為最大腫瘤病灶(例如藉由MRI)之體積。在某些實施例中，尺寸為目標腫瘤病灶之體積之和。在某些實施例中，若目標腫瘤病灶之和之尺寸少於約165 cm³或少於約167 cm³，則個體具有低估計腫瘤負荷。

【0119】 在某些實施例中，若腫瘤(例如最大腫瘤)之尺寸或目標腫瘤病灶之和為不超過約200 cm³、不超過約195 cm³、不超過約190 cm³、不超過約185 cm³、不超過約180 cm³、不超過約175 cm³、不超過約170 cm³、不超過約165 cm³、不超過約160 cm³、不超過約155 cm³、不超過約150 cm³、不超過約145 cm³、不超過約140 cm³、不超過約135 cm³、不超過約130 cm³、不超過約125 cm³、不超過約120 cm³、不超過約115 cm³、不超過約110 cm³、不超過約100 cm³、不超過約95 cm³、不超過約90 cm³、不超過約85 cm³、不超過約80 cm³、不超過約75 cm³、不超過約70 cm³、不超過約65 cm³、不超過約60 cm³、不超過約55 cm³、不超過約50 cm³、不超過約48 cm³、不超過約46 cm³、不超過約44 cm³、不超過約42 cm³、不超過約40 cm³、不超過約39 cm³、不超過約38 cm³、不超過約37 cm³、不超過約36 cm³、不超過約35 cm³、不超過約34 cm³、不超過約33 cm³、不超過約32 cm³、不超過約31 cm³、不超過約30 cm³、不超過約29 cm³、不超過約28 cm³、不超過約27 cm³、不超過約26 cm³、不超過約25 cm³、不超過約24 cm³、不超過約23 cm³、不超過約22 cm³、不超過約21 cm³、不超過約20 cm³、不超過約19 cm³、不超過約18 cm³、不超過約17 cm³、不超過約16 cm³、不超過約15 cm³、不超過約14 cm³、不超過約13 cm³、不超過約12 cm³、不超過約11 cm³、不超過約10 cm³、不超過約

9 cm³、不超過約8.75 cm³、不超過約8.5 cm³、不超過約8.25 cm³、不超過約8 cm³、不超過約7.75 cm³、不超過約7.5 cm³、不超過約7.25 cm³、不超過約7 cm³、不超過約6.75 cm³、不超過約6.5 cm³、不超過約6.25 cm³、不超過約6 cm³、不超過約5.75 cm³、不超過約5.5 cm³、不超過約5.25 cm³、不超過約5 cm³、不超過約4.75 cm³、不超過約4.5 cm³、不超過約4.25 cm³、不超過約4 cm³、不超過約3.75 cm³、不超過約3.5 cm³、不超過約3.25 cm³、不超過約3 cm³、不超過約2.75 cm³、不超過約2.5 cm³、不超過約2.25 cm³、不超過約2 cm³、不超過約1.75 cm³、不超過約1.5 cm³、不超過約1.25 cm³、不超過約1 cm³、不超過約0.75 cm³、不超過約0.5 cm³、不超過約0.25 cm³、不超過約0.1 cm³、不超過約0.075 cm³、不超過約0.015 cm³或不超過約0.0125 cm³，則具有腫瘤(例如經診斷具有腫瘤)之個體具有低估計腫瘤負荷。在某些實施例中，若腫瘤(例如最大腫瘤)之尺寸或目標腫瘤病灶之和為不超過約33 cm³或不超過約34 cm³，則個體具有低估計腫瘤負荷。在某些實施例中，尺寸量測為最大腫瘤病灶(例如藉由MRI)之體積。在某些實施例中，尺寸為目標腫瘤病灶之體積之和。在某些實施例中，若目標腫瘤病灶之和之尺寸不超過約165 cm³或不超過約167 cm³，則個體具有低估計腫瘤負荷。

【0120】 在某些實施例中，若目標腫瘤病灶之和(例如目標腫瘤之最長直徑之和或若其為淋巴結，則為目標腫瘤之短軸或長軸之直徑之和)為約30 cm或更少、約29 cm或更少、約28 cm或更少、約27 cm或更少、約26 cm或更少、約25 cm或更少、約24 cm或更少、約23 cm或更少、約22 cm或更少、約21 cm或更少、約20 cm或更少、約19 cm或更少、約18 cm或更少、約17 cm或更少、約16 cm或更少、約15 cm或更少、約14 cm或

更少、約13 cm或更少、約12 cm或更少、約11 cm或更少、約10 cm或更少、約9 cm或更少、約8.75 cm或更少、約8.5 cm或更少、約8.25 cm或更少、約8 cm或更少、約7.75 cm或更少、約7.5 cm或更少、約7.25 cm或更少、約7 cm或更少、約6.75 cm或更少、約6.5 cm或更少、約6.25 cm或更少、約6 cm或更少、約5.75 cm或更少、約5.5 cm或更少、約5.25 cm或更少、約5 cm或更少、約4.75 cm或更少、約4.5 cm或更少、約4.25 cm或更少、約4 cm或更少、約3.75 cm或更少、約3.5 cm或更少、約3.25 cm或更少、約3 cm或更少、約2.75 cm或更少、約2.5 cm或更少、約2.25 cm或更少、約2 cm或更少、約1.75 cm或更少、約1.5 cm或更少、約1.25 cm或更少、約1 cm或更少、約0.75 cm或更少、約0.5 cm或更少、約0.25 cm或更少、約0.1 cm或更少、約0.075 cm或更少、約0.015 cm或更少或約0.0125 cm或更少，則具有腫瘤(例如經診斷具有腫瘤)之個體具有低估計腫瘤負荷。在某些實施例中，若目標腫瘤病灶之和(例如目標腫瘤之最長直徑之和或若其為淋巴結，則為目標腫瘤之短軸或長軸之直徑之和)為約6 cm或更少、約5.9 cm或更少、約5.8 cm或更少、約5.75 cm或更少、約5.6 cm或更少、約5.5 cm或更少、約5.4 cm或更少、約5.25 cm或更少、約5.2 cm或更少、約5 cm或更少、約4.8 cm或更少、約4.75 cm或更少、約4.6 cm或更少、約4.5 cm或更少、約4.4 cm或更少、約4.25 cm或更少、約4.2 cm或更少、約4.0 cm或更少、約3.8 cm或更少、約3.75 cm或更少、約3.6 cm或更少、約3.5 cm或更少、約3.4 cm或更少、約3.25 cm或更少、約3.2 cm或更少或約3 cm或更少，則個體具有低估計腫瘤負荷。在某些實施例中，若目標腫瘤病灶之和(例如目標腫瘤之最長直徑之和或若其為淋巴結，則為目標腫瘤之短軸或長軸之直徑之和)為約5 cm或更少，則個體具

有低估計腫瘤負荷。

【0121】 在某些實施例中，若目標腫瘤病灶之和(例如目標腫瘤之最長直徑之和或若其為淋巴結，則為目標腫瘤之短軸或長軸之直徑之和)少於約30 cm、少於約29 cm、少於約28 cm、少於約27 cm、少於約26 cm、少於約25 cm、少於約24 cm、少於約23 cm、少於約22 cm、少於約21 cm、少於約20 cm、少於約19 cm、少於約18 cm、少於約17 cm、少於約16 cm、少於約15 cm、少於約14 cm、少於約13 cm、少於約12 cm、少於約11 cm、少於約10 cm、少於約9 cm、少於約8.75 cm、少於約8.5 cm、少於約8.25 cm、少於約8 cm、少於約7.75 cm、少於約7.5 cm、少於約7.25 cm、少於約7 cm、少於約6.75 cm、少於約6.5 cm、少於約6.25 cm、少於約6 cm、少於約5.75 cm、少於約5.5 cm、少於約5.25 cm、少於約5 cm、少於約4.75 cm、少於約4.5 cm、少於約4.25 cm、少於約4 cm、少於約3.75 cm、少於約3.5 cm、少於約3.25 cm、少於約3 cm、少於約2.75 cm、少於約2.5 cm、少於約2.25 cm、少於約2 cm、少於約1.75 cm、少於約1.5 cm、少於約1.25 cm、少於約1 cm、少於約0.75 cm、少於約0.5 cm、少於約0.25 cm、少於約0.1 cm、少於約0.075 cm、少於約0.015 cm或少於約0.0125 cm，則具有腫瘤(例如經診斷具有腫瘤)之個體具有低估計腫瘤負荷。在某些實施例中，若目標腫瘤病灶之和(例如目標腫瘤之最長直徑之和或若其為淋巴結，則為目標腫瘤之短軸或長軸之直徑之和)少於約6 cm、少於約5.9 cm、少於約5.8 cm、少於約5.75 cm、少於約5.6 cm、少於約5.5 cm、少於約5.4 cm、少於約5.25 cm、少於約5.2 cm、少於約5 cm、少於約4.8 cm、少於約4.75 cm、少於約4.6 cm、少於約4.5 cm、少於約4.4 cm、少於約4.25 cm、少於約4.2 cm、少

於約4.0 cm、少於約3.8 cm、少於約3.75 cm、少於約3.6 cm、少於約3.5 cm、少於約3.4 cm、少於約3.25 cm、少於約3.2 cm或少於約3 cm，則個體具有低估計腫瘤負荷。在某些實施例中，若目標腫瘤病灶之和(例如目標腫瘤之最長直徑之和或若其為淋巴結，則為目標腫瘤之短軸或長軸之直徑之和)少於約5 cm，則個體具有低估計腫瘤負荷。

【0122】 在某些實施例中，若目標腫瘤病灶之和(例如目標腫瘤之最長直徑之和或若其為淋巴結，則為目標腫瘤之短軸或長軸之直徑之和)不超過約30 cm、不超過約29 cm、不超過約28 cm、不超過約27 cm、不超過約26 cm、不超過約25 cm、不超過約24 cm、不超過約23 cm、不超過約22 cm、不超過約21 cm、不超過約20 cm、不超過約19 cm、不超過約18 cm、不超過約17 cm、不超過約16 cm、不超過約15 cm、不超過約14 cm、不超過約13 cm、不超過約12 cm、不超過約11 cm、不超過約10 cm、不超過約9 cm、不超過約8.75 cm、不超過約8.5 cm、不超過約8.25 cm、不超過約8 cm、不超過約7.75 cm、不超過約7.5 cm、不超過約7.25 cm、不超過約7 cm、不超過約6.75 cm、不超過約6.5 cm、不超過約6.25 cm、不超過約6 cm、不超過約5.75 cm、不超過約5.5 cm、不超過約5.25 cm、不超過約5 cm、不超過約4.75 cm、不超過約4.5 cm、不超過約4.25 cm、不超過約4 cm、不超過約3.75 cm、不超過約3.5 cm、不超過約3.25 cm、不超過約3 cm、不超過約2.75 cm、不超過約2.5 cm、不超過約2.25 cm、不超過約2 cm、不超過約1.75 cm、不超過約1.5 cm、不超過約1.25 cm、不超過約1 cm、不超過約0.75 cm、不超過約0.5 cm、不超過約0.25 cm、不超過約0.1 cm、不超過約0.075 cm、不超過約0.015 cm或不超過約0.0125 cm，則具有腫瘤(例如經診斷具有腫瘤)之個體具有低估計腫瘤

負荷。在某些實施例中，若目標腫瘤病灶之和(例如目標腫瘤之最長直徑之和或若其為淋巴結，則為目標腫瘤之短軸或長軸之直徑之和)不超過約6 cm、不超過約5.9 cm、不超過約5.8 cm、不超過約5.75 cm、不超過約5.6 cm、不超過約5.5 cm、不超過約5.4 cm、不超過約5.25 cm、不超過約5.2 cm、不超過約5 cm、不超過約4.8 cm、不超過約4.75 cm、不超過約4.6 cm、不超過約4.5 cm、不超過約4.4 cm、不超過約4.25 cm、不超過約4.2 cm、不超過約4.0 cm、不超過約3.8 cm、不超過約3.75 cm、不超過約3.6 cm、不超過約3.5 cm、不超過約3.4 cm、不超過約3.25 cm、不超過約3.2 cm或不超過約3 cm，則個體具有低估計腫瘤負荷。在某些實施例中，若目標腫瘤病灶之和(例如目標腫瘤之最長直徑之和或若其為淋巴結，則為目標腫瘤之短軸或長軸之直徑之和)不超過約5 cm，則個體具有低估計腫瘤負荷。

【0123】 在某些實施例中，藉由將腫瘤組織清創或減積來實現低腫瘤負荷或低估計腫瘤負荷。在某些實施例中，清創或減積藉由切除及/或抽吸腫瘤組織來進行。在某些實施例中，清創為手術(例如解剖刀、鉗子、剪刀及其他工具)、化學、機械(例如注射器及導管，或潤至乾敷料)或自溶性清創術。

【0124】 在某些實施例中，藉由使T細胞活化治療劑、活性劑及/或額外治療劑可滲透腫瘤來實現低腫瘤負荷或低估計腫瘤負荷。

【0125】 在某些實施例中，與基線或對照(亦即，無低腫瘤負荷或不視為低腫瘤負荷下之治療)相比，如本文所述之方法減少腫瘤負荷、降低腫瘤負荷生長速率、減少目標腫瘤病灶尺寸及/或降低目標腫瘤病灶之生長速率至少約或多達約1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、

10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、22%、24%、26%、28%、30%、32%、34%、36%、38%、40%、42%、44%、46%、48%、50%、52%、54%、56%、58%、60%、62%、64%、66%、68%、70%、72%、74%、76%、78%、80%、82%、84%、86%、88%、90%、92%、94%、96%、98%或100%。

【0126】 在某些實施例中，與對照(亦即，無低腫瘤負荷或不視為低腫瘤負荷下之治療)相比，如本文所述之方法增加疾病控制率、客觀反應率、部分反應率、完全反應率及/或壽命至少約或多達約1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、22%、24%、26%、28%、30%、32%、34%、36%、38%、40%、42%、44%、46%、48%、50%、52%、54%、56%、58%、60%、62%、64%、66%、68%、70%、72%、74%、76%、78%、80%、82%、84%、86%、88%、90%、92%、94%、96%、98%或100%。

【0127】 在某些實施例中，如本文所述之方法使壽命增加至少約或多達約1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天或21天。在某些實施例中，如本文所述之方法使壽命增加至少約或多達約1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週、9週、10週、11週、12週、13週、14週、15週、16週、17週、18週、19週、20週或21週。在某些實施例中，如本文所述之方法使壽命增加至少約或多達約1個月、2個月、3個月、4個月、5個月、6個月、7個月、8個月、9個月、10個月、11個月、12個月、13個月、14個月、15個月、16個月、17個月、18個月、19個月、20

個月或21個月。在某些實施例中，如本文所述之方法使壽命增加至少約或多達約1年、2年、3年、4年、5年、6年、7年、8年、9年、10年、11年、12年、13年、14年、15年、16年、17年、18年、19年、20年或21年。

【0128】 在某些實施例中，如本文所述之方法實現約、至少約或多達約5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、22%、24%、26%、28%、30%、32%、34%、36%、38%、40%、42%、44%、46%、48%、50%、52%、54%、56%、58%、60%、62%、64%、66%、68%、70%、72%、74%、76%、78%、80%、82%、84%、86%、88%、90%、92%、94%、96%、98%或100%之疾病控制率。在某些實施例中，如本文所述之方法實現約、至少約或多達約66%或67%之疾病控制率。在某些實施例中，如本文所述之方法實現約、至少約或多達約81%之疾病控制率。

【0129】 在某些實施例中，如本文所述之方法引起約、至少約或多達約1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、22%、24%、26%、28%、30%、32%、34%、36%、38%、40%、42%、44%、46%、48%、50%、52%、54%、56%、58%、60%、62%、64%、66%、68%、70%、72%、74%、76%、78%、80%、82%、84%、86%、88%、90%、92%、94%、96%、98%或100%個體達到疾病穩定。在一些實施例中，相對於基線進行比較。在一些實施例中，相對於對照群體(例如無低腫瘤負荷或不視為低腫瘤負荷下之治療)進行比較。在某些實施例中，如本文所述之方法引起個體約、至少約或多達約40%達到疾病穩定。在某些實施例中，如本文所述之方法引起個體約、至少約或多達約68%或約69%達到疾病穩

定。

【0130】 在某些實施例中，如本文所述之方法實現約、至少約或多達約1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、22%、24%、26%、28%、30%、32%、34%、36%、38%、40%、42%、44%、46%、48%、50%、52%、54%、56%、58%、60%、62%、64%、66%、68%、70%、72%、74%、76%、78%、80%、82%、84%、86%、88%、90%、92%、94%、96%、98%或100%個體部分反應及/或完全反應。在一些實施例中，相對於基線進行比較。在一些實施例中，相對於對照群體(例如無低腫瘤負荷或不視為低腫瘤負荷下之治療)進行比較。在某些實施例中，如本文所述之方法實現與基線相比約、至少約或多達約26%或27%之部分反應及/或完全反應。在某些實施例中，如本文所述之方法實現與基線相比約、至少約或多達約12%或13%之部分反應及/或完全反應。

【0131】 量測方法

【0132】 此等為量測方法之非限制性實例。一般技術者能夠基於腫瘤類型及病灶特徵確定量測病灶尺寸之最適當方法。

【0133】 在某些實施例中，目標腫瘤負荷藉由RECIST 1.1標準量測。在某些實施例中，在體內時使用成像技術獲得腫瘤尺寸。在某些實施例中，成像技術可為CT、MRI、PET、骨骼掃描、X射線(例如肺)及/或超音波。在某些實施例中，成像技術為MRI掃描。在某些實施例中，成像技術為CT掃描。在某些實施例中，使用直尺或測徑規進行量測。

【0134】 習知CT及MRI：在某些實施例中，最小尺寸病灶為重構間隔之兩倍。基線病灶之最小尺寸可為20 mm，條件為圖像以10 mm之最小

值連續重構。在某些實施例中，使用MRI，其中藉由在隨後檢查上使用相同成像順序，可在相同解剖平面中量測病灶。在某些實施例中，使用CT，其中藉由在隨後檢查上使用相同成像順序，可在相同解剖平面中量測病灶。只要可能，均應使用相同掃描儀。

【0135】 螺旋CT：基線病灶之最小尺寸可為10 mm，條件為圖像以5 mm之間隔連續重構。此規格適用於胸部、腹部及骨盆之腫瘤。

【0136】 胸部X射線：當病灶清晰界定且由充氣肺包圍時，根據胸部X射線之病灶可接受作為可量測病灶。在某些實施例中，MRI較佳。

【0137】 臨床檢查：在某些實施例中，臨床上偵測之病灶在為表面病灶(例如皮膚結節及可觸知之淋巴結)時僅藉由RECIST標準考慮為可量測的。在某些實施例中，對於皮膚病灶，藉由彩色攝影術，包括直尺及視野中之患者研究數目，估計病灶之尺寸來證明。

【0138】 如本文所用，「RECIST 1.1反應標準」意謂Eisenhauer等人, E.A.等人, Eur. J Cancer 45:228-247 (2009)中關於目標病灶所闡述之定義，適當時，基於量測腫瘤及/或反應之情形。Eisenhauer以全文引用之方式且出於所有預期目的併入本文中。

【0139】 簡言之，按照RECIST 1.1量測目標腫瘤負荷不一定意謂包括所有可量測病灶作為目標病灶。在某些實施例中，在基線下(亦即，治療前)鑑別代表所有受累器官的所有可量測病灶為目標病灶，每個器官最多2個病灶且總共5個病灶，且記錄及量測，且視情況在治療後再次進行，以確定目標腫瘤負荷是否存在變化。在某些實施例中，基於尺寸(例如對於實體腫瘤病灶，為最長直徑；且對於淋巴結，為短軸或長軸尺寸)及/或適用於準確重複量測之適合性(例如藉由成像技術或臨床上)，選擇目標病

灶。在某些實施例中，計算實體腫瘤目標病灶之最長直徑(LD)的和且報導為基線和LD。基線和LD可用作參考，用以表徵客觀腫瘤反應。

【0140】 RECIST 1.1標準

【0141】 目標病灶之評價

○ 用於評估目標病灶之反應的定義如下：

■ 完全反應(CR)：所有目標病灶消失。任何病態淋巴結必須短軸上 <10 mm。

■ 部分反應(PR)：取直徑之基線和為參考，目標病灶之直徑之和減少至少30%(例如自基線之變化百分比)。

■ 疾病穩定：既未足夠收縮至認定為PR，亦未足夠增加至認定為疾病進展。

■ 疾病進展(PD)：取治療開始時記錄之直徑最小和為參考，目標病灶之直徑之和增加至少20%(例如自最低點之變化百分比，其中最低點定義為治療開始時記錄之直徑最小和)。另外，和必須自5 mm之最低點絕對增加。

■ 不適用(NA)：在基線下無目標病灶。

■ 不可評價(NE)：無法藉由先前五個定義中之一者分類。

【0142】 非目標病灶之評價

○ 用於評估非目標病灶之反應的定義如下：

■ 完全反應(CR)：所有非目標病灶消失。在基線下鑑別為疾病部位之所有淋巴結必須為非病態的(例如短軸<10 mm)。

■ 非CR/非PD：持續1或多個非目標病灶或在基線0 mm短軸下鑑別為疾病部位之淋巴結。

- 疾病進展(PD)：存在之非目標病灶明確進展。
- 不適用(NA)：在基線下無非目標病灶。
- 不可評價(NE)：無法藉由先前四個定義中之一者分類。

【0143】 新穎病灶

○ 新惡性病表示疾病進展必須明確。在隨訪中在基線下未掃描之解剖位置中確定的病灶視為新病灶。任何不明確之新病灶應繼續追蹤。由研究者決定，可繼續治療，直至進行下一預定評估。若在下一次評估時新病灶視為明確的，則應記錄進展。

【0144】 目標及非目標病灶之基線記錄

【0145】 在某些實施例中，在基線下鑑別代表所有受累器官的每個器官最多五個病灶且總共十個病灶之所有可量測病灶為目標病灶且記錄及量測。

【0146】 可基於尺寸(具有LD之病灶)及適用於準確重複量測之適合性(臨床上或藉由成像技術)，選擇目標病灶。

【0147】 在某些實施例中，可計算所有目標病灶之LD之和且報導為基線和LD。基線和LD可用作參考，用以表徵客觀腫瘤反應。

【0148】 所有其他病灶(或疾病部位)可鑑別為非目標病灶且亦可在基線下記錄。雖然不需要量測此等病灶，但各病灶存在或不存在可在整個隨訪期間注意。

【0149】 指示病灶之證明可包括評估日期、病灶部位之描述、尺寸及用於追蹤病灶之診斷研究類型。

【0150】 在某些實施例中，使用直尺或測徑規進行量測且以度量符號記錄。

【0151】 其他考量

【0152】 對於血液科惡性病，可藉由不同標準考慮腫瘤負荷。舉例而言，在非霍奇金氏淋巴瘤(Non-Hodgkin Lymphoma)中，大腫塊疾病視為直徑超過10 cm之任何病灶。在濾泡性淋巴瘤中，大腫塊疾病為超過7 cm之腫瘤。在某些實施例中，量測在淋巴結內發現之腫瘤、額外結節腫瘤(例如其他器官上)、循環腫瘤血細胞及/或骨髓浸潤。

【0153】 用以量測血液科惡性病中之腫瘤負荷之方法的非限制性實例包括關於霍奇金氏及非霍奇金氏淋巴瘤之Cheson等人, J. Clin. Onc. 207, 25(5), 579-586；關於多發性骨髓瘤之國際骨髓瘤工作組(International Myeloma Working Group, IMWG)均一反應標準(imwg.myeloma.org/international-myeloma-working-group-imwg-uniform-response-criteria-for-multiple-myeloma/)；以及關於慢性淋巴細胞性白血病之iwCLL準則(Hallek等人, Blood, 2017 131:2745-2760)，其各者以全文引用之方式併入本文中。

【0154】 活性劑及額外治療劑

【0155】 本文所揭示之方法包含向具有低腫瘤負荷之個體投與至少一種活性劑以及包含至少一種存活素抗原(例如DPX-Survivac)之T細胞活化治療劑。在某些實施例中，本發明進一步包含投與額外治療劑。在某些實施例中，活性劑及額外治療劑用相同方案投與。在某些實施例中，活性劑及額外治療劑用不同方案投與。

【0156】 如本文所揭示之活性劑及/或額外治療劑可以治療有效量向個體投與。在某些實施例中，活性劑及/或額外治療劑之有效量為足夠提供免疫調節作用之量。

【0157】術語「試劑」包括任何物質、分子、元素、化合物、實體或其組合。其可為天然產物、合成化合物或兩種或更多種物質的組合。除非另外規定，否則術語「試劑」、「物質」及「化合物」在本文中可互換地使用。

【0158】如本文所用，「活性劑」或「額外治療劑」係指醫藥學上或治療學上之藥劑。活性劑及/或額外治療劑各自可個別地為小分子藥物、抗體、抗體模擬物或其任一者之功能同等物或功能片段。

【0159】在本文所揭示之方法中，任何特定活性劑及/或額外治療劑之量可視藥劑類型、待治療之疾病或病症及/或個體之具體特徵(例如年齡、體重、性別、免疫狀態等)而定。熟習此項技術者容易藉由實證檢驗確定特定應用中所需要的活性劑及/或額外治療劑之量。

【0160】小分子藥物

【0161】在某些實施例中，活性劑及/或額外治療劑為小分子藥物。術語「小分子藥物」係指可用於治療、治癒、預防或診斷病症、疾病或病狀之有機或無機化合物。

【0162】如本文所用，術語「小分子」係指可以合成方式產生或自天然來源獲得且分子量小於2000道爾頓(Da)、小於1500 Da、小於1000 Da、小於900 Da、小於800 Da、小於700 Da、小於600 Da或小於500 Da的低分子量化合物。在一實施例中，小分子藥物具有約900 Da或小於900 Da之分子量。更特定言之，在一實施例中，小分子藥物具有小於600 Da且甚至更具體而言小於500 Da之分子量。

【0163】在一實施例中，小分子藥物具有介於約100 Da至約2000 Da、約100 Da至約1500 Da、約100 Da至約1000 Da、約100 Da至約900

Da、約100 Da至約800 Da、約100 Da至約700 Da、約100 Da至約600 Da或約100 Da至約500 Da之間的分子量。在一實施例中，小分子藥物具有約100 Da、約150 Da、約200 Da、約250 Da、約300 Da、約350 Da、約400 Da、約450 Da、約500 Da、約550 Da、約600 Da、約650 Da、約700 Da、約750 Da、約800 Da、約850 Da、約900 Da、約950 Da或約1000 Da之分子量。在一實施例中，小分子藥物可具有約1 nm之尺寸。

【0164】 在一實施例中，小分子藥物為化學製造之活性物質或化合物(亦即，其不藉由生物過程產生)。一般而言，此等化合物以經典方式，藉由不同有機化合物及/或無機化合物之間的化學反應合成。如本文所用，術語「小分子藥物」不涵蓋藉由生物過程製造之較大結構，諸如多核苷酸、蛋白質及多醣。

【0165】 小分子藥物可呈投與其之形式發揮其活性，或小分子藥物可為前藥。在此方面，如本文所用，術語「小分子藥物」涵蓋活性形式與前藥。

【0166】 術語「前藥」係指在生理條件下轉化成治療活性劑之化合物或物質。在一實施例中，前藥為在投與之後在個體體內代謝成醫藥活性形式(例如藉由個體體內之酶活性)的化合物或物質。用於製造前藥之一常見方法為包括在生理條件下水解，從而顯出醫藥活性形式之選擇部分。

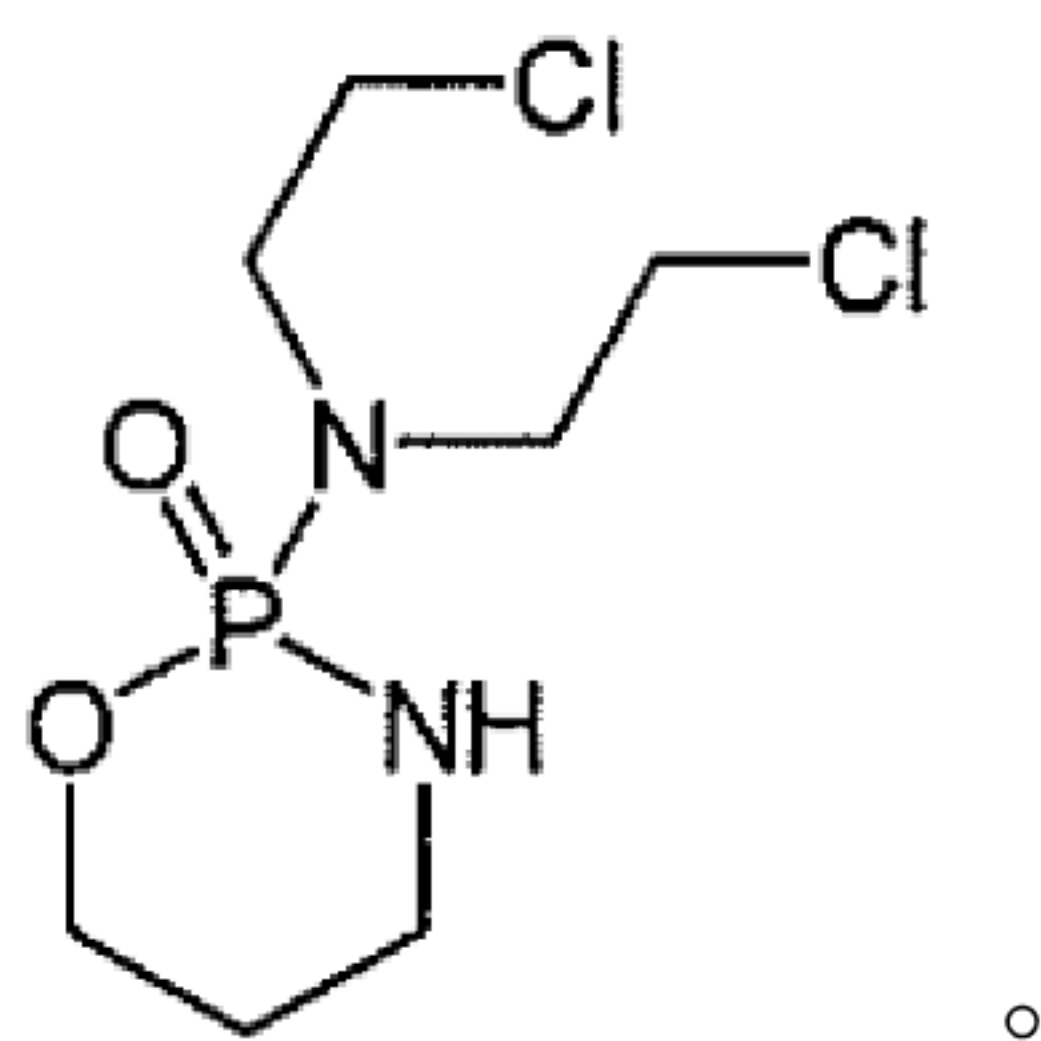
【0167】 在一實施例中，且不限制，小分子藥物為細胞毒性劑、抗癌劑、抗腫瘤劑、化學治療劑、抗贅生劑、免疫調節劑(例如免疫增強劑)、免疫反應檢查點抑制劑、抗血管生成劑、抗破骨細胞形成劑、酶調節劑、生物反應調節劑、前藥、細胞介素、趨化因子、維生素、類固醇、配位體、靶向劑、放射性藥品或放射性同位素。

【0168】如本文所用，小分子藥物可為其醫藥學上可接受之鹽。如本文所用，術語「醫藥學上可接受之鹽」係指投與所關注之個體安全且有效且具有所期望生物、醫藥及/或治療活性的本文所述之活性劑及/或免疫調節劑之任何鹽形式。醫藥學上可接受之鹽包括酸性或鹼性基團之鹽。醫藥學上可接受之酸加成鹽可包括(但不限於)鹽酸鹽、氫溴酸鹽、氫碘酸鹽、硝酸鹽、硫酸鹽、硫酸氫鹽、磷酸鹽、酸式磷酸鹽、異菸鹼酸鹽、乙酸鹽、乳酸鹽、水楊酸鹽、檸檬酸鹽、酒石酸鹽、泛酸鹽、酒石酸氫鹽、抗壞血酸鹽、丁二酸鹽、順丁烯二酸鹽、龍膽酸鹽、反丁烯二酸鹽、葡萄糖酸鹽、葡萄糖醛酸鹽、葡萄糖二酸鹽、甲酸鹽、苯甲酸鹽、麩胺酸鹽、甲烷磺酸鹽、乙烷磺酸鹽、苯磺酸鹽、對甲苯磺酸鹽及雙羥萘酸鹽(例如1,1'-亞甲基-雙-(2-羥基-3-萘甲酸鹽))。適合之鹼鹽包括但不限於鋁、鈣、鋰、鎂、鉀、鈉、鋅及二乙醇胺鹽。A 醫藥學上可接受之鹽之評述可見於例如 Berge, 1977，以全文引用的方式併入本文中以達成所有預期目的。

【0169】在一實施例中，小分子藥物為干擾DNA複製之藥劑。如本文所用，表述「干擾DNA複製」意欲涵蓋阻止、抑制或延遲細胞之DNA複製(亦即，複製)之生物過程的任何作用。技術人員將瞭解存在多種阻止、抑制或延遲DNA複製之機制，諸如DNA交聯、DNA甲基化、鹼基取代等。本發明涵蓋干擾DNA複製之任何藥劑之使用。可使用之此類藥劑之示例性非限制性實施例描述於例如WO2014/153636及WO2017/190242中，各以全文併入本文中以達成所有目的。在一實施例中，干擾DNA複製之藥劑為烷基化劑，諸如氮芥類烷基化劑(例如環磷醯胺、苯達莫司汀(bendamustine)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、異環磷醯胺(ifosfamide)、甲氮芥(mechlorethamine)、美法侖(melphalan)、亞硝基脲烷基化劑(例如

卡莫司汀(carmustine)、洛莫司汀(lomustine)、鏈脲菌素(streptozocin)、烷基磺酸酯烷基化劑(例如白消安(busulfan))、三嗪烷基化劑(例如達卡巴嗪(dacarbazine)、替莫唑胺(temozolomide))或伸乙基亞胺烷基化劑(例如六甲蜜胺(altretamine)、噻替派(thiotepa))。在某些實施例中，干擾DNA複製之藥劑為環磷醯胺。

【0170】 在一實施例中，小分子藥物為環磷醯胺或其醫藥學上可接受之鹽。環磷醯胺(N,N-雙(2-氯乙基)-1,3,2-氧氮雜磷雜環己烷-2-胺2-氧化物)。環磷醯胺之化學結構為：



【0171】 環磷醯胺亦以商標Endoxan®、Cytosan®、Neosar®、Procytox®及Revimmune®已知且提及。環磷醯胺(CPA)係一種前藥，其藉由P450酶氧化而轉化成其活性代謝物4-羥基-環磷醯胺及醛磷醯胺。細胞內4-羥基-環磷醯胺自然分解成最終活性代謝物磷醯胺氮芥。

【0172】 CPA之活性代謝物係脂質可溶的，且經由被動擴散進入細胞。細胞內4-OH-CPA自然分解成最終活性代謝物磷醯胺氮芥。磷醯胺氮芥催化股內及股間DNA交聯以及DNA-蛋白質交聯，此抑制DNA複製，引起細胞死亡(de Jonge, Huitema等人 2005)。磷醯胺氮芥藉由細胞質醛去氫酶(ALDH)進行酶催化下轉化成羧基磷醯胺而消除(Emmenegger, Shaked等人, 2007; 2011)。具有低含量ALDH之細胞往往累積CPA代謝物且對其作用較敏感，且實際上ALDH之腫瘤上調係CPA抗性之一種機制(Zhang, Tian等人 2005)。除ALDH之外，低細胞內ATP含量亦與CPA對特

定細胞類型之選擇性相關聯(Zhao, Cao等人 2010)。在高劑量下，通常在1-5 g/m²範圍內，CPA之作用對迅速分裂之細胞最具細胞毒性，對細胞類型不加區別，且CPA抑制骨髓，因為大部分造血細胞迅速分裂(Bruce, Meeker等人 1966；Smith及Sladek 1985)。

【0173】 與環磷醯胺相同類別之其他氮芥類烷基化劑包括(但不限於)帕利伐米(palifosfamide)、苯達莫司汀及異環磷醯胺。

【0174】 在一實施例中，小分子藥物可為(但不限於)吉西他濱、5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil)、順鉑、奧沙利鉑、替莫唑胺、太平洋紫杉醇、沙力度胺(thalidomide)、卡培他濱、甲胺喋呤、表柔比星、艾達黴素、米托蒽醌、博萊黴素、硼替佐米(bortezomib)、地西他濱、多烯紫杉醇、異環磷醯胺、阿磷胺(afosfamide)、美法侖、苯達莫司汀、烏拉莫司汀(uramustine)、帕利伐米、苯丁酸氮芥、白消安(busulfan)、4-羥基環磷醯胺、雙氯乙基亞硝基脲(BCNU)、絲裂黴素C (mitomycin C)、優代里斯(yondelis)、丙卡巴肼(procarbazine)、達卡巴嗪(dacarbazine)、卡鉑(carboplatin)、阿昔洛韋(acyclovir)、胞嘧啶阿拉伯糖苷、更昔洛韋(ganciclovir)、喜樹鹼(camptothecin)、拓朴替康(topotecan)、伊立替康(irinotecan)、小紅莓(doxorubicin)、道諾黴素(daunorubicin)、依託泊苷(etoposide)、替尼泊苷(teniposide)或匹蒽醌(pixantrone)，或任一者之醫藥學上可接受之鹽。

【0175】 在一實施例中，小分子藥物可為環磷醯胺、吉西他濱、5-氟尿嘧啶、順鉑、奧沙利鉑、替莫唑胺、太平洋紫杉醇、沙力度胺、卡培他濱、甲胺喋呤、表柔比星、艾達黴素、米托蒽醌、博萊黴素、硼替佐米、地西他濱或多烯紫杉醇。

【0176】 在一實施例中，小分子藥物可為免疫反應檢查點抑制劑。如本文所用，「免疫反應檢查點抑制劑」係指完全或部分調節(例如抑制或活化)一或多種檢查點分子(例如蛋白質)之活性或功能的任何化合物或分子。檢查點分子負責T細胞反應之共刺激或抑制性相互作用。檢查點分子調控且維持自身耐受性以及生理免疫反應之持續時間及幅度。一般而言，存在兩種類型檢查點分子：刺激性檢查點分子及抑制性檢查點分子。

【0177】 刺激性檢查點分子在增強免疫反應中起作用。已知大量刺激性檢查點分子，諸如且不限於：CD27、CD28、CD40、CD122、CD137、CD137/4-1BB、ICOS、IL-10、OX40、TGF- β 、TOR受體及糖皮質激素誘發之TNFR相關蛋白GITR。在一實施例中，小分子藥物為一或多種刺激性檢查點分子之促效劑或超促效劑。技術人員十分瞭解可用於調節刺激性檢查點分子之小分子藥物。

【0178】 抑制性檢查點分子在減少或阻斷免疫反應(例如負反饋環)中起作用。已知大量抑制性檢查點蛋白，諸如CTLA-4及其配位體CD80及CD86；以及PD-1及其配位體PD-L1及PD-L2。其他抑制性檢查點分子包括(但不限於)腺苷A2A受體(A2AR)；B7-H3 (CD276)；B7-H4 (VTCN1)；BTLA (CD272)；殺手細胞免疫球蛋白樣受體(KIR)；淋巴細胞活化基因-3 (LAG3)；T細胞活化之V域Ig抑制因子(VISTA)；以及T細胞免疫球蛋白結構域及黏蛋白結構域3 (TIM-3)；以及其配位體及/或受體。在一實施例中，小分子藥物為一或多種抑制性檢查點分子之拮抗劑(亦即，抑制劑)。技術人員十分瞭解可用於調節抑制性檢查點分子之小分子藥物。

【0179】 在一實施例中，小分子藥物為作為計劃性死亡-配位體1

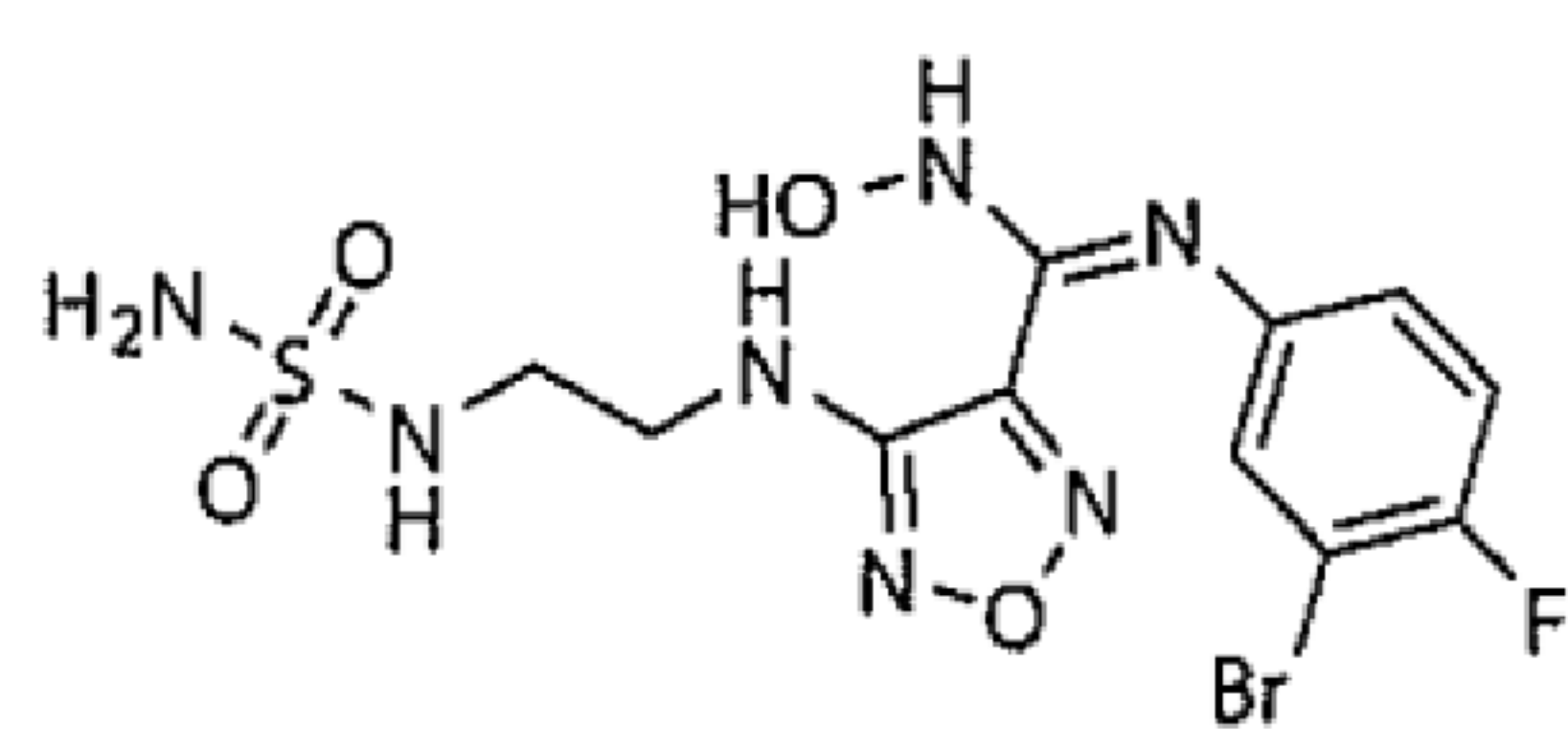
(PD-L1，亦稱為B7-H1、CD274)、計劃性死亡1 (PD-1、CD279)、CTLA-4 (CD154)、PD-L2 (B7-DC、CD273)、LAG3 (CD223)、TIM3 (HAVCR2、CD366)、41BB (CD137)、2B4、A2aR、B7H1、B7H3、B7H4、B-淋巴細胞及T-淋巴細胞衰減因子(BTLA)、CD2、CD27、CD28、CD30、CD33、CD40、CD70、CD80、CD86、CD160、CD226、CD276、DR3、GAL9、GITR、HVEM、ICOS (誘導性T細胞共刺激因子)、殺手抑制性受體(KIR)、LAG-3、LAIR1、LIGHT、MARCO (具有膠原結構之巨噬細胞受體)、磷脂醯絲胺酸(PS)、OX-40、Siglec-5、Siglec-7、Siglec-9、Siglec-11、SLAM、TIGIT、TIM3、TNF- α 、VISTA、VTCN1或其任何組合之抑制劑的免疫反應檢查點抑制劑。

【0180】 在一實施例中，小分子藥物為作為PD-L1、PD-1、CTLA-4、LAG3、TIM3、41BB、ICOS、KIR、CD27、OX-40、GITR或PS或其任何組合之抑制劑的免疫反應檢查點藥劑。

【0181】 在一實施例中，小分子藥物可為吡啶胺2,3-雙加氧酶(例如IDO1及/或IDO2)中之一或多者之抑制劑。在某些實施例中，吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制劑為艾帕斯塔。

【0182】 在一實施例中，小分子藥物可為艾帕斯塔、雷帕黴素(rapamycin)、小紅莓、丙戊酸、米托蒽醌、伏立諾他(vorinostat)、伊立替康(irinotecan)、順鉑(cisplatin)、甲胺喋呤、他克莫司(tacrolimus)或其任一者之醫藥學上可接受之鹽。

【0183】 在一實施例中，小分子藥物為艾帕斯塔：



或其醫藥學上可接受之鹽。

【0184】 技術人員十分瞭解可用於實施本發明之其他小分子藥物。舉例而言且不限於，參考DrugBank™ (Wishart, 2017)。2017年12月20日發行之DrugBank™之5.0.11版含有10,990種藥物條目，包括超過2,500種經批准之小分子藥物，其以全文引用的方式併入本文中以達成所有目的。作為另一實例且不限制，參考國家癌症研究所(National Cancer Institute)(www.cancer.gov/about-cancer/treatment/drugs)中所提供之癌症藥物之A至Z清單，其以全文引用的方式併入本文中以達成所有目的。

【0185】 抗體、抗體模擬物或功能同等物或片段

【0186】 在一實施例中，活性劑及/或額外治療劑為抗體、抗體之功能同等物或抗體之功能片段。

【0187】 廣義上，「抗體」係指由抗體結構域組成或包含抗體結構域之多肽或蛋白質，該等抗體結構域理解為免疫球蛋白之重鏈及/或輕鏈的恆定域及/或可變域，有或無連接序列。在一實施例中，若多肽包含經環序列連接的由抗體結構域結構之至少兩個 β -鏈組成之 β -桶序列，則其理解為抗體結構域。抗體結構域可具有原生結構或藉由誘變或衍生化進行修飾，例如修飾結合特異性或任何其他特性。

【0188】 術語「抗體」係指完整抗體。在一實施例中，「抗體」可包含具有全長重鏈及/或輕鏈之完全(亦即，全長)免疫球蛋白分子，包括例如多株、單株、嵌合、人類化及/或人類型式。術語「抗體」涵蓋任何及所有同型及子類，包括(但不限於)IgA、IgD、IgE、IgG及IgM之主要類別及子類IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及IgA2。在一實施例中，抗體為IgG。抗體可為天然存在之抗體，或藉由技術人員可利用之任何方式，諸如藉由使用動物或融合瘤，及/或藉由免疫球蛋白基因片段重組方法製備

之抗體。抗體一般描述於例如Greenfield, 2014。

【0189】 在一實施例中，抗體呈分離形式，意謂該抗體實質上不含針對不同目標抗原及/或包含抗體結構域之不同結構佈置的其他抗體。在一實施例中，抗體可為自哺乳動物之血清樣品分離之抗體。在一實施例中，抗體呈純化形式，諸如提供於僅僅包含經分離及純化之抗體作為活性劑之製劑中。此製劑可用於製備本發明之組合物。在一實施例中，抗體為親和力純化抗體。

【0190】 抗體可為任何來源，包括天然、重組及/或合成來源。在一實施例中，抗體可為動物來源。在一實施例中，抗體可為哺乳動物來源，包括(但不限於)人類、鼠類、兔及山羊。在一實施例中，抗體可為重組抗體。

【0191】 在一實施例中，抗體可為單株抗體、多株抗體、嵌合抗體、人類化抗體、人類抗體或完全人類抗體。技術人員將充分瞭解應用於此等術語之含義及其中涵蓋之抗體類型。

【0192】 簡言之且不限制，如本文所用，術語「嵌合抗體」係指含有來源於一種物種，諸如嚙齒動物之抗體的可變域(包括互補決定區(CDR))，而抗體之恆定域來源於不同物種，諸如人類的重組蛋白。對於獸醫學應用，嵌合抗體之恆定域可來源於諸如貓或狗之動物。

【0193】 不受限制，如本文所用，「人類化抗體」係指其中來自例如嚙齒動物之一種物種之抗體的CDR自嚙齒動物抗體之可變重鏈及輕鏈轉移至人類重鏈及輕鏈可變域中的重組蛋白，包括人類構架區(FR)序列。人類化抗體之恆定域同樣來源於人類抗體。

【0194】 不受限制，如本文所用，「人類抗體」係指自經基因工程

改造以響應於抗原激發而產生特定人類抗體之轉殖基因動物(例如小鼠)獲得的抗體。在此技術中，人類重鏈及輕鏈基因座之元件引入到來源於含有內源性重鏈及輕鏈基因座之靶向破壞的胚胎幹細胞株之小鼠之品系中。基因轉殖動物可合成對人類抗原具有特異性之人類抗體，且動物可用於產生分泌人類抗體之融合瘤。用於自轉殖基因小鼠獲得人類抗體之方法描述於例如Green, 1994；Lonberg, 1994；及Taylor, 1994。完全人類抗體亦可藉由基因或染色體轉染方法以及噬菌體展示技術構築，該等方法均為此項技術中已知。(關於在活體外自來自未經免疫之供體的免疫球蛋白可變域基因譜系產生人類抗體及其片段，參見例如McCafferty, 1990)。在此技術中，抗體可變域基因同框選殖至絲狀噬菌體之主要或次要外殼蛋白基因中且呈功能性抗體片段展示在噬菌體粒子之表面上。因為絲狀粒子含有噬菌體基因組之單股DNA複本，所以基於抗體之功能性特性的選擇亦對編碼顯示彼等特性之抗體之基因進行選擇。以這種方式，噬菌體模擬B細胞之一些特性。噬菌體展示可以多種格式進行；關於其評述，參見例如Johnson及Chiswell, 1993。人類抗體亦可藉由活體外活化之B細胞產生(參見例如美國專利第5,567,610號及第5,229,275號)。

【0195】 如本文所用，關於抗體之術語「功能片段」係指抗體之抗原結合部分。在此背景下，「功能」意謂片段維持其結合於目標抗原之能力。在一實施例中，結合親和力可等於或超過親本抗體。在一實施例中，結合親和力可小於親本抗體，然而，功能片段維持對目標抗原之特異性及/或選擇性。

【0196】 在一實施例中，除功能片段維持其結合於親本抗體之目標抗原之能力之外，若適用，功能片段亦維持抗體之效應功能(例如活化經

典補體路徑；抗體依賴性細胞毒性(ADCC)；其他下游信號傳導過程)。

【0197】 抗體之功能片段包括(但不限於)抗體之一部分，諸如 $F(ab')_2$ 、 $F(ab)_2$ 、 Fab' 、 Fab 、 Fab_2 、 Fab_3 、單域抗體(例如Dab或VHH)及其類似物，包括IgG4之半個分子(van der Neut Kolfshoten, 2007)。無論結構如何，抗體之功能片段均結合完整抗體所識別之相同抗原。關於抗體之術語「功能片段」亦包括由可變區組成之分離片段，諸如由重鏈及輕鏈之可變區組成之「Fv」片段及輕鏈及重鏈可變區由肽連接子連接之重組單鏈多肽分子(「scFv蛋白」)。如本文所用，術語「功能片段」不包括諸如Fc片段之不含抗原結合位點之片段。

【0198】 抗體片段，諸如本文所述之彼等抗體片段，可併入至單域抗體(例如奈米抗體)、單鏈抗體、最大抗體、艾維伯迪、微型抗體、胞內抗體、雙功能抗體、三功能抗體、四功能抗體、vNAR、雙scFv及其他類似結構中(參見例如Hollinger及Hudson, 2005)。包括纖網蛋白多肽單功能抗體之抗體多肽亦揭示於美國專利第6,703,199號中。其他抗體多肽揭示於美國專利公開案第20050238646號中。出於所有目的，本文中所引用之各參考文獻均以全文引用之方式併入本文中。

【0199】 功能片段之另一形式為包含抗體之一或多個CDR或CDR之一或多個部分的肽，條件為所得肽保留結合目標抗原之能力。

【0200】 功能片段可為合成蛋白質或經基因工程改造之蛋白質。舉例而言，功能片段包括由輕鏈可變區組成之分離片段、由重鏈及輕鏈之可變區組成之「Fv」片段及重鏈及輕鏈區由肽連接子連接之重組單鏈多肽分子(scFv蛋白)。

【0201】 如本文所用，術語「抗體」及抗體之「功能片段」涵蓋其

任何衍生物。「衍生物」意謂對抗體或功能片段之任何修飾，包括天然存在(例如在活體內)或人工引入(例如藉由實驗設計)之兩種修飾。此類修飾之非限制性實例包括例如序列修飾(例如胺基酸取代、插入或缺失)、轉譯後修飾(例如磷酸化、N連接之糖基化、O連接之糖基化、乙醯化、羥基化、甲基化、泛素化、醯胺化等)或異源分子(例如多肽、定位信號、標記、靶向分子等)之任何其他共價附接或其他方式併入。在一實施例中，可對抗體或其功能片段進行修飾以產生雙特異性抗體或片段(亦即，具有超過一種抗原結合特異性)或雙官能抗體或片段(亦即，具有超過一種效應功能)。

【0202】 如本文所用，在抗體之情況下「功能等效物」係指具有與抗體類似之對特定目標之結合特徵，但不一定為抗體之可識別「片段」的多肽或其他化合物或分子。在一實施例中，功能等效物為對特定目標之平衡解離常數(K_D)在 10^{-7} 至 10^{-12} 範圍內的多肽。在一實施例中，功能等效物對特定目標之 K_D 為 10^{-8} 或更低。在一實施例中，功能等效物對特定目標之 K_D 為 10^{-10} 或更低。在一實施例中，功能等效物對特定目標之 K_D 為 10^{-11} 或更低。在一實施例中，功能等效物對特定目標之 K_D 為 10^{-12} 或更低。如本文所定義之平衡常數(K_D)為化合物對其目標之解離速率(K-off)及締合速率(K-on)的比率。

【0203】 在一實施例中，抗體、其功能片段或其功能等效物為結合免疫細胞上之目標，結合由免疫細胞產生之蛋白質或多肽，或結合與免疫細胞相互作用或對免疫細胞發揮功能之蛋白質或多肽(例如配位體)的抗體、其功能片段或其功能等效物。

【0204】 在一實施例中，抗體、其功能片段或其功能等效物為具有

免疫調節活性或功能之抗體、其功能片段或其功能等效物。「免疫調節活性或功能」意謂抗體、其功能片段或其功能等效物可增強(上調)、遏制(下調)、引導、重新引導免疫反應或將免疫反應再程式化。

【0205】 在一實施例中，抗體、其功能片段或其功能等效物為結合於諸如且不限於本文所述之彼等分子之刺激性檢查點分子及/或抑制性檢查點分子的抗體、其功能片段或其功能等效物。在一實施例中，抗體、其功能片段或其功能等效物為刺激性檢查點分子及/或抑制性檢查點分子之促效劑或拮抗劑。在一實施例中，抗體、其功能片段或其功能等效物為抑制性檢查點分子之拮抗劑。在一實施例中，抗體、其功能片段或其功能等效物為刺激性檢查點分子之促效劑或超級促效劑。

【0206】 在一實施例中，抗體可為抗PD-1抗體、其功能片段或其功能等效物，或其任何組合。PD-1 (CD279)係充當免疫檢查點，下調免疫反應且提昇自身耐受性之細胞表面受體。在一實施例中，PD-1抗體可為(但不限於)納武單抗(nivolumab) (OpdivoTM ; Bristol-Myers Squibb)、派姆單抗(pembrolizumab) (KeytrudaTM ; Merck)、皮立珠單抗(pidilizumab) (Cure Tech)、AMP-224 (MedImmune & GSK)或RMP1-4或J43 (BioXCell)或其人類或人類化對應物。在某些實施例中，PD-1抗體可為派姆單抗。

【0207】 在一實施例中，抗體可為抗PD-L1抗體、其功能片段或其功能等效物，或其任何組合。PD-L1係PD-1受體之配位體，且與其受體之結合傳遞可減少CD8⁺ T細胞之增殖且亦可誘發細胞凋亡之抑制信號。在一實施例中，PD-L1抗體可為(但不限於) BMS-936559 (Bristol Myers Squibb)、阿特珠單抗(atezolizumab) (MPDL3280A ; Roche)、阿維魯單

抗(avelumab) (Merck & Pfizer)或德瓦魯單抗(durvalumab) (MEDI4736 ; MedImmune/AstraZeneca)。

【0208】 在其他實施例中且不限制，抗體、其功能片段或功能等效物可為抗PD-1或抗PD-L1抗體，諸如以全文引用之方式併入本文中以達成所有預期目的之WO 2015/103602中所揭示的彼等抗體。

【0209】 在一實施例中，抗體可為抗CTLA-4抗體、其功能片段或其功能等效物，或其任何組合。CTLA-4 (CD152)係充當免疫檢查點之下調免疫反應的蛋白受體。在一實施例中，抗CTLA-4抗體抑制CTLA-4活性或功能，藉此增強免疫反應。在一實施例中，抗CTLA-4抗體可為(但不限於)伊派利單抗(ipilimumab)(Bristol-Myers Squibb)、曲美木單抗(tremelimumab) (Pfizer ; AstraZeneca)或BN-13 (BioXCell)。在另一實施例中，抗CTLA-4抗體可為UC10-4F10-11、9D9或9H10 (BioXCell)或其人類或人類化對應物。

【0210】 在一實施例中，活性劑為抗體模擬物、抗體模擬物之功能等效物或抗體模擬物之功能片段。

【0211】 如本文所用，術語「抗體模擬物」係指像抗體一樣，可特異性及/或選擇性結合抗原或其他目標，但結構上不與抗體相關之化合物。抗體模擬物通常為人工肽或蛋白質，但其不限於此類實施例。通常，抗體模擬物小於抗體，莫耳質量為約3-20 kDa (而抗體通常約150 kDa)。抗體模擬物之非限制性實例包括肽適體、親和體、人泛素(affilin)、親和抗體、親和素(affitin)、 α 抗體、抗運載蛋白、高親和性多聚體、DARPinTM、非諾莫(fynomer)、孔尼茲域(Kunits domain)肽、nanoCLAMPsTM、親和試劑及骨架蛋白。核酸及小分子亦可為抗體模擬

物。

【0212】 如本文所用，術語「肽適體」係指經設計以干擾細胞內之其他蛋白質相互作用的肽或蛋白質。其由在兩端附接至蛋白質骨架之可變肽環組成。此雙重結構約束大大增加肽適體之結合親和力至與抗體相當之水準(奈莫耳範圍)。可變肽環通常包含10至20個胺基酸，且骨架可為具有良好溶解性之任何蛋白質。當前，細菌蛋白質硫化還原蛋白-A係常用骨架蛋白，可變肽環插入氧化還原活性位點內，該位點為野生蛋白質中之-Cys-Gly-Pro-Cys-環(SEQ ID NO: 17)，兩條半胱胺酸側向鏈能夠形成二硫橋鍵。可使用不同系統選擇肽適體，但當前酵母雙雜交系統使用最廣泛。

【0213】 如本文所用，術語「親和體」表示肽適體之演變。親和體為經工程改造以呈現肽環之高度穩定之較小蛋白，該等肽環為特定目標蛋白或抗原提供高親和力結合表面。親和體可具有與抗體相同之特異性益處，但較小，可化學合成或化學修飾，且具有不含細胞培養污染物之益處。親和體為低分子量、通常12至14 kDa之蛋白質，其來源於胱抑素之半胱胺酸蛋白酶抑制劑家族。親和體骨架係基於胱抑素蛋白質摺疊之穩定蛋白質。其呈現兩個肽環及N端序列，可經隨機化以高親和力及特異性結合不同目標蛋白質。

【0214】 如本文所用，術語「人泛素」係指藉由使用 γ -B晶體或泛素作為骨架且藉由無規誘變對此等蛋白質之表面上之胺基酸進行修飾而研發出的抗體模擬物。例如藉由噬菌體呈現或核糖體呈現技術，實現具有期望目標特異性之人泛素的選擇。視骨架而定，人泛素具有大約10 kDa (泛素)或20 kDa (γ -B晶體)之分子量。如本文所用，術語人泛素亦指人泛素之

二聚或多聚形式(Weidle, 2013)。

【0215】 如本文所用，術語「親和抗體」係指來源於葡萄球菌蛋白A之Z-結構域的抗體模擬物家族。在結構上，親和抗體分子係基於亦可併入至融合蛋白中之三螺旋束結構域。親和抗體本身具有大約6 kDa之分子量，且在高溫下及在酸性或鹼性條件下穩定。藉由位於與親本蛋白結構域之結合活性有關之兩個 α -螺旋中的13個胺基酸的隨機化，獲得目標特異性(Feldwisch及Tolmachev, 2012，其全文併入本文中以達成所有預期目的)。在一實施例中，其為源自於親和抗體AB (Stockholm, Sweden)之Affibody™。

【0216】 「親和素」(亦稱為nanofitin)係一種來源於嗜酸熱硫化葉菌(*Sulfolobus acidocaldarius*)之DNA結合蛋白Sac7d的抗體模擬蛋白。親和素通常具有大約7kDa之分子量且藉由將胺基酸隨機化在結合表面上進行設計以特異性結合目標分子(Mouratou,2012)。在一實施例中，親和素如全文併入本文中以達成所有預期目的之WO 2012/085861中所述。

【0217】 如本文所用，術語「 α 抗體」係指經工程改造以結合於多種抗原之小型10 kDa蛋白質。 α 抗體作為具有一組可經修飾以結合蛋白質目標同時維持正確摺疊及熱穩定性之胺基酸殘基的骨架研發。雖然 α 抗體骨架以計算方式基於捲曲螺旋結構設計，但其在自然界中尚無已知之對應物。最初，骨架由非共價締合以形成平行捲曲螺旋三聚物之三種肽製成(美國專利公開案第20100305304號)，但隨後重新設計成含有三個由連接子區連接之 α -螺旋的單肽鏈(Desmet, 2014)。

【0218】 如本文所用，術語「抗運載蛋白」係指來源於脂質運載蛋白之經工程改造之蛋白質(Beste, 1999)；Gebauer及Skerra, 2009)。抗運

載蛋白具有八股 β -桶，其在脂質運載蛋白之間形成高度保守之核心單元且藉助於開口端上之四個結構可變環，天然形成配位體之結合位點。抗運載蛋白雖然不與IgG超家族同源，但展示迄今為止已視為抗體結合位點典型之特徵：(i)由序列變異引起之高結構可塑性及(ii)提高之構形可撓性，此允許誘發適應具有不同形狀之目標。

【0219】如本文所用，術語「高親和性多聚體」(親和性多聚體)係指由兩個或更多個各30至35個胺基酸之肽序列組成之一類抗體模擬物,其來源於多種膜受體之A-結構域且由連接肽連接。目標分子之結合經由A-結構域進行且可例如藉由噬菌體呈現技術選擇具有期望結合特異性之結構域。高親和性多聚體中所含之不同A-結構域之結合特異性可但不一定一致(Weidle, 2013)。

【0220】如本文所用，術語「DARPin™」係指設計之錨蛋白重複結構域(166個殘基)，其提供由通常三個重複 β -轉角產生之剛性界面。DARPin通常攜帶與人造共同序列對應之三個重複序列，其中每個重複序列之六個位置隨機。因此，DARPin缺乏結構可撓性(Gebauer及Skerra, 2009)。

【0221】如本文所用，術語「Fynomer™」係指來源於人類Fyn SH3結構域之非免疫球蛋白來源之結合多肽。Fyn SH3來源之多肽為此項技術中熟知，且已描述於例如Grabulovski, 2007；WO 2008/022759；Bertschinger, 2007；Gebauer及Skerra, 2009；及Schlatter, 2012)。

【0222】「孔尼茲域肽」來源於諸如牛胰臟胰蛋白酶抑制劑(BPTI)、澱粉樣蛋白前驅蛋白(APP)或組織因子路徑抑制劑(TFPI)之孔尼茲型蛋白酶抑制劑的孔尼茲域。孔尼茲域具有大約6kDA之分子量且可藉

由諸如噬菌體呈現之呈現技術(Weidle, 2013)選擇具有所需目標特異性之結構域。

【0223】如本文所用，術語「單功能抗體」(亦稱為「纖維蛋白」)係指基於人類纖維網蛋白III之第10細胞外域(10Fn3)之分子，其採用94殘基之Ig樣 β -夾心摺疊與2至3個暴露環，但缺乏中央二硫橋(Gebauer及Skerra, 2009)。可藉由將修飾引入該蛋白質之特定環中，對具有期望目標特異性之單功能抗體進行基因工程改造。在一實施例中，單功能抗體為ADNECTIN™ (Bristol-Myers Squibb, New York, New York)。

【0224】如本文所用，術語「nanoCLAMP」(梭狀芽孢桿菌抗體模擬蛋白)係指具有緊密、選擇性及平緩可逆之與目標分子之結合的親和試劑，其為15 kDa蛋白質。nanoCLAMP骨架係基於來自產氣莢膜梭菌(*Clostridium perfringens*)玻尿酸酶(μ 毒素)之IgG樣之熱穩定碳水化合物結合模組家族32 (CBM32)。nanoCLAMPs之形狀接近長度為大約4 nm且直徑為2.5 nm之圓柱體，尺寸大致與奈米抗體相同。藉由改變胺基酸序列且有時改變連接構成 β -夾心摺疊之 β 股的三個暴露於溶劑之相鄰環之長度，賦予針對目標之結合親和力及特異性來產生針對特定目標之nanoCLAMP (Suderman, 2017)。

【0225】如本文所用，術語「親和試劑」係指結合於較大目標分子以鑑別、追蹤、捕捉或影響其活性之任何化合物或物質。雖然抗體及肽適體為常見實例，但技術人員可獲得許多不同類型之親和試劑。在一實施例中，親和試劑提供可經工程改造以特異性結合目標之活骨架(例如Top7為經工程改造以特異性結合CD4之骨架；Boschek, 2009)。

【0226】如本文所用，術語「骨架蛋白」係指與信號傳導路徑之多

個成員相互作用及/或結合的多肽或蛋白質。其為許多關鍵信號傳導路徑之調節劑。在此類路徑中，其調控信號轉導且幫助定位路徑組分。本文中，其涵蓋於術語「抗體模擬物」中，因為其能夠特異性及/或選擇性結合目標蛋白質，很像抗體。除其結合功能及特異性之外，骨架蛋白亦可具有酶活性。示例性骨架蛋白包括(但不限於)Ras 1之激酶抑制劑(KNS)、MEK激酶1 (MEKK1)、B細胞淋巴瘤/白血病10 (BCL-10)、錨定A-激酶之蛋白質(AKAP)、神經母細胞分化相關蛋白AHNAK、HOMER1、pellino蛋白、NLRP家族、discs大同源物1 (DLG1)及樹突棘素(spinophilin)(PPP1R9B)。

【0227】 抗體模擬物之其他實施例包括(但不限於)蛋白A之Z結構域、 γ B晶體、泛素、胱抑素、來自嗜酸熱硫化葉菌(*Sulfolobus acidocaldarius*)之Sac7D、脂質運載蛋白、膜受體之A結構域、錨蛋白重複基元、Fyn之SH3結構域、蛋白酶抑制劑之孔尼茲域、纖網蛋白之第10類型III結構域、3-或4-螺旋束蛋白、犰狳重複結構域、富白胺酸重複結構域、PDZ結構域、SUMO或SUMO樣結構域、免疫球蛋白樣結構域、磷酸酪胺酸結合域、普列克受質蛋白(pleckstrin)同源結構域或src同源2結構域。

【0228】 如本文所用，關於抗體模擬物之術語「功能片段」係指維持結合於其目標分子之能力的抗體模擬物之任何部分或片段。抗體模擬物之功能片段可為例如如本文所述之任一抗體模擬物之一部分。在一實施例中，結合親和力可等於或超過親本抗體模擬物之結合親和力。在一實施例中，結合親和力可小於親本抗體模擬物，然而，功能片段維持對目標抗原之特異性及/或選擇性。

【0229】 在一實施例中，除抗體模擬物之功能片段維持其結合於親本抗體模擬物之目標分子之能力之外，功能片段亦維持抗體模擬物之效應功能(若適用)(例如下游信號傳導)。

【0230】 如本文所用，在抗體模擬物之情況下「功能等效物」係指具有與抗體模擬物類似之結合特徵，但不一定為抗體模擬物之可識別「片段」的多肽或其他化合物或分子。在一實施例中，功能等效物為對特定目標之平衡解離常數(K_D)在 10^{-7} 至 10^{-12} 範圍內的多肽。在一實施例中，功能等效物對特定目標之 K_D 為 10^{-8} 或更低。在一實施例中，功能等效物對特定目標之 K_D 為 10^{-10} 或更低。在一實施例中，功能等效物對特定目標之 K_D 為 10^{-11} 或更低。在一實施例中，功能等效物對特定目標之 K_D 為 10^{-12} 或更低。如本文所定義之平衡常數(K_D)為化合物對其目標之解離速率(K_{off})及締合速率(K_{on})的比率。

【0231】 在一實施例中，抗體模擬物、其功能片段或其功能等效物為結合免疫細胞上之目標、結合由免疫細胞產生之蛋白質或多肽或結合與免疫細胞相互作用或對免疫細胞發揮功能之蛋白質或多肽(例如配位體)的抗體模擬物、其功能片段或其功能等效物。

【0232】 在一實施例中，抗體模擬物、其功能片段或其功能等效物為具有免疫調節活性或功能之抗體模擬物、其功能片段或其功能等效物。在一實施例中，抗體模擬物、其功能片段或其功能等效物為結合於諸如且不限於本文所述之彼等分子之刺激性檢查點分子及/或抑制性檢查點分子的抗體模擬物、其功能片段或其功能等效物。在一實施例中，抗體模擬物、其功能片段或其功能等效物為刺激性檢查點分子及/或抑制性檢查點分子之促效劑或拮抗劑。在一實施例中，抗體模擬物、其功能片段或其功

能等效物為抑制性檢查點分子(例如CTLA-4、PD-1或PD-L1)之拮抗劑。在一實施例中，抗體模擬物、其功能片段或其功能等效物為刺激性檢查點分子之促效劑或超級促效劑。

【0233】 如本文所述之任何特定活性劑之量可視藥劑類型(例如小分子藥物、抗體、功能片段等)而定。熟習此項技術者容易藉由實證檢驗確定特定應用中所需要的活性劑之量。

【0234】 免疫調節劑

【0235】 在某些實施例中，活性劑及/或額外治療劑為免疫調節劑。如本文所用，「免疫調節劑」為調節免疫反應之活性及/或效力之化合物或分子。如本文所用，「調節」意謂增強(上調)、引導、重新引導免疫反應或將免疫反應再程式化。術語「調節」並不意欲意謂活化或誘導。此意謂免疫調節劑調節(增強或引導)由特定物質(例如抗原)活化、起始或誘導之免疫反應，但是免疫調節劑本身不為免疫反應所針對之物質，亦不為來源於該物質之免疫調節劑。

【0236】 在一實施例中，免疫調節劑為調節骨髓細胞(單核球、巨噬細胞、樹突狀細胞、巨核細胞及粒細胞)或淋巴細胞(T細胞、B細胞及自然殺手(NK)細胞)之免疫調節劑。在一特定實施例中，免疫調節劑為僅僅調節淋巴細胞之免疫調節劑。在一實施例中，免疫調節劑為當投與時刺激免疫細胞增殖或變活化之治療劑。

【0237】 在一實施例中，免疫調節劑為增強免疫反應之免疫調節劑。免疫反應可為先前已活化或起始但功效不足以提供適當或期望治療益處之免疫反應。或者，免疫調節劑可提前提供以引發免疫系統，藉此增強隨後活化之免疫反應。

【0238】 在一實施例中，增強免疫反應之免疫調節劑可選自細胞介素(例如某些介白素及干擾素)、幹細胞生長因子、淋巴毒素、共刺激分子、造血因子、群落刺激因子、紅細胞生成素、血小板生成素及其類似物以及此等分子之合成類似物。

【0239】 在一實施例中，增強免疫反應之免疫調節劑可選自以下非限制性實例：淋巴毒素，諸如腫瘤壞死因子(TNF)；造血因子，諸如介白素(IL)；群落刺激因子，諸如顆粒球-群落刺激因子(G-CSF)或顆粒球巨噬細胞-群落刺激因子(GM-CSF)；干擾素，諸如干擾素- α 、干擾素- β 或干擾素- λ ；以及幹細胞生長因子，諸如稱為「SI因子」之幹細胞生長因子。

【0240】 細胞介素尤其包括生長激素，諸如(但不限於)人類生長激素、N-甲硫胺醯基甲硫胺醯基人類生長激素及牛生長激素；副甲狀腺激素；甲狀腺素；胰島素；胰島素原；鬆弛素；鬆弛素原；糖蛋白激素，諸如(但不限於)促卵泡激素(FSH)、促甲狀腺激素(TSH)及促黃體生成激素(LH)；肝生長因子；前列腺素、纖維母細胞生長因子；促乳素；胎盤催乳激素、OB蛋白；腫瘤壞死因子- α 及腫瘤壞死因子- β ；苗勒氏管抑制物質(mullerian-inhibiting substance)；小鼠促性腺激素相關肽；抑制素；活化素；血管內皮生長因子(VEGF)；整合素；血小板生成素(TPO)；神經生長因子，諸如(但不限於)NGF- β ；血小板生長因子；轉型生長因子(TGF)，諸如(但不限於) TGF- α 及TGFP；類胰島素生長因子-I及類胰島素生長因子-II；紅血球生成素(EPO)；骨性誘導因子；干擾素，諸如(但不限於)干擾素- α 、干擾素- β 及干擾素- γ ；群落群落刺激因子(CSF)，諸如(但不限於)巨噬細胞-CSF (M-CSF)；介白素(IL)，諸如(但不限於) IL-1、IL-1 α 、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、kit-配位體或FLT-3、血管生長抑素、血小板反應蛋白、內皮生長抑素及腫瘤壞死因子。

【0241】 在一實施例中，免疫調節劑可為調節檢查點分子之藥劑。上文更詳細地論述檢查點分子。

【0242】 在一實施例中，免疫調節劑為作為免疫檢查點抑制劑之任何化合物、分子或物質，包括(但不限於)選自以下各者之免疫檢查點蛋白之抑制劑：計劃性死亡配位體1 (PD-L1，亦稱為B7-H1、CD274)、計劃性死亡1 (PD-1、CD279)、CTLA-4 (CD154)、PD-L2 (B7-DC、CD273)、LAG3 (CD223)、TIM3 (HAVCR2、CD366)、41BB (CD137)、2B4、A2aR、B7H1、B7H3、B7H4、B-淋巴細胞及T淋巴細胞衰減因子(BTLA)、CD2、CD27、CD28、CD30、CD33、CD40、CD70、CD80、CD86、CD160、CD226、CD276、DR3、GAL9、GITR、HVEM、ICOS (誘導性T細胞共刺激因子)、殺手抑制性受體(KIR)、LAG-3、LAIR1、LIGHT、MARCO (具有膠原結構之巨噬細胞受體)、磷脂醯絲胺酸(PS)、OX-40、Siglec-5、Siglec-7、Siglec-9、Siglec-11、SLAM、TIGIT、TIM3、TNF- α 、VISTA、VTCN1或其任何組合。

【0243】 在一實施例中，免疫調節劑為抑制或阻斷CTLA-4之任何化合物、分子或物質。CTLA-4信號傳導抑制T細胞活化，尤其在強T細胞反應期間。使用諸如抗CTLA-4單株抗體之CTLA-4抑制劑阻斷CTLA-4具有巨大吸引力，因為抑制信號之遏制引起抗腫瘤T細胞反應之產生。臨床與臨床前數據均指示CTLA-4阻斷引起CD4+及CD8+效應細胞之直接活

化，且抗CTLA-4單株抗體療法已顯示有望用於大量癌症中。

【0244】 在一實施例中，免疫調節劑為抑制或阻斷PD-1之任何化合物、分子或物質。如CTLA-4信號傳導一般，PD-1/PD-L1調節T細胞反應。在健康狀況下在活化T細胞之細胞表面上表現的PD-1之正常功能係下調不必要或過度免疫反應，包括自體免疫反應。PD-1路徑代表可藉由腫瘤細胞嚙合以克服活性T細胞免疫監視之主要免疫控制開關，且其通常由腫瘤劫持來遏制免疫控制。表現PD-1之Treg已顯示具有免疫抑制劑反應，因此認為PD-1/PD-L1表現表現在自身耐受性中起作用。在癌症之情況下，腫瘤細胞過度表現PD-1及PD-L1以避開免疫系統識別。阻斷PD-L1/PD-1之抗癌療法增加效應T細胞活性且降低抑制性Treg活性，此允許個體之免疫系統識別及破壞腫瘤。

【0245】 可使用多種檢查點抑制劑。舉例而言，檢查點抑制劑可為結合及拮抗抑制性檢查點蛋白之抗體。示例性抗體包括抗PD-1抗體(派姆單抗、納武單抗、皮立珠單抗、AMP-224、RMP1-4或J43)、抗PD-L1抗體(阿特珠單抗、阿維魯單抗、BMS-936559或德瓦魯單抗)、抗CTLA-4抗體(伊派利單抗、曲美木單抗、BN-13、UC10-4F10-11、9D9或9H10)及其類似物。在一些實施例中，檢查點抑制劑可為靶向抑制性檢查點蛋白之小分子或RNAi。在一些實施例中，檢查點抑制劑可為肽模擬物或多肽。

【0246】 在一實施例中，免疫調節劑可為免疫共刺激分子促效劑。免疫共刺激分子為在調節免疫反應中起作用之信號傳導蛋白。一些免疫共刺激分子為位於細胞表面上之對細胞外信號傳導起反應的受體。在活化時，免疫共刺激分子產生促炎性反應，該促炎性反應可包括遏制調節T細胞及活化細胞毒性或殺手T細胞。因此，免疫共刺激分子促效劑可用於活

化個體個體中之免疫系統以殺死癌細胞。

【0247】 示例性免疫共刺激分子包括CD27、CD28、CD40、CD122、CD137、CD137/4-1BB、ICOS、IL-10、OX40 TGF- β 、TOR受體及糖皮質激素誘發之TNFR相關蛋白GITR中之任一者。舉例而言，OX40刺激抑制Treg細胞功能，同時增強效應T細胞存活及活性，藉此增加抗腫瘤免疫性。

【0248】 在一實施例中，免疫調節劑為作為共刺激免疫分子之促效劑的任何化合物、分子或物質，該共刺激免疫分子包括(但不限於)選自CD27、CD28、CD40、CD122、CD137、CD137/4-1BB、ICOS、IL-10、OX40 TGF- β 、TOR受體及糖皮質激素誘發之TNFR相關蛋白GITR之共刺激免疫分子。

【0249】 可使用多種免疫共刺激分子促效劑。舉例而言，免疫共刺激分子促效劑可為結合及活化免疫共刺激分子之抗體。在其他實施例中，免疫共刺激分子促效劑可為靶向及活化免疫共刺激分子之小分子。

【0250】 在一實施例中，免疫調節劑可為作為免疫抑制性細胞毒性藥物之任何化合物、分子或物質。在一實施例中，免疫抑制性細胞毒性藥物為糖皮質激素、細胞生長抑制劑(例如烷基化劑、抗代謝物)、抗體、作用於免疫親和素之藥物、干擾素、類鴉片物質或TNF結合蛋白。免疫抑制性細胞毒性藥物包括(但不限於)氮芥(例如環磷醯胺)、亞硝基脲、鉑化合物、葉酸類似物(例如甲胺喋呤)、嘌呤類似物(例如硫唑嘌呤(azathioprine)及巯基嘌呤(mercaptopurine))、嘧啶類似物(例如氟尿嘧啶)、蛋白質合成抑制劑、細胞毒性抗生素(例如放線菌素D(dactinomycin)、蒽環黴素(anthracycline)、絲裂黴素C、博萊黴素及光神

黴素(mithramycin))、環孢靈(cyclosporine)、他克莫司、西羅莫司(silolimus)/雷帕黴素(rapamycin)、依維莫司(everolimus)、潑尼松(prednisone)、地塞米松(dexamethasone)、氫化可的松(hydrocortisone)、甲氮芥(mechlorethamine)、苯丁酸氮芥、黴酚酸(mycopholic acid)、芬戈莫德(fingolimod)、多球殼菌素(myriocin)、英利昔單抗(infliximab)、依那西普(etanercept)或阿達木單抗(adalimumab)。

【0251】在一實施例中，免疫調節劑可為消炎劑。在一個實施例中，消炎劑可為非類固醇消炎劑。在一實施例中，非類固醇消炎劑可為Cox-1及/或Cox-2抑制劑。在一實施例中，消炎劑包括不限於阿司匹林(aspirin)、雙水楊酸酯(salsalate)、二氟尼柳(diflunisal)、布洛芬(ibuprofen)、非諾洛芬(fenoprofen)、氟比洛芬(flubiprofen)、芬那酸(fenamate)、酮基布洛芬(ketoprofen)、萘丁美酮(nabumetone)、吡羅昔康(piroxicam)、萘普生(naproxen)、雙氯芬酸(diclofenac)、吲哚美辛(indomethacin)、舒林酸(sulindac)、托美丁(tolmetin)、依託度酸(etodolac)、酮咯酸(ketorolac)、奧沙普嗪(oxaprozin)或塞內昔布(celecoxi)。在一個實施例中，消炎劑可為類固醇消炎劑。在一實施例中，類固醇消炎劑可為皮質類固醇。

【0252】在一實施例中，免疫調節劑為如本文所述之活性劑(例如小分子藥物、抗體、抗體模擬物或其功能等效物或片段)中之任一或多者，藉此活性劑具有免疫調節功能。

【0253】在一實施例中，免疫調節劑為如本文所述之額外治療劑(例如小分子藥物、抗體、抗體模擬物或其功能等效物或片段)，藉此活性劑

具有免疫調節功能。在某些實施例中，額外治療劑為艾帕斯塔、雷帕黴素、小紅莓、丙戊酸、米托蒽醌、伏立諾他、環磷醯胺、伊立替康、順鉑、甲胺喋呤、他克莫司、抗CTLA-4抗體或抗PD-1抗體(例如派姆單抗)中之任一或多者。

【0254】 技術人員十分瞭解以上中涵蓋之其他免疫調節劑。特別地，如本文所用，術語「免疫調節劑」不涵蓋藉由延長抗原對免疫細胞之暴露(亦即，藉由遞送平台，諸如Freund™完全或不完全佐劑、Montanide™ ISA或其他油基載劑)用以增強抗原之免疫原性的化合物或組合物。

【0255】 如本文所述之任何特定免疫調節劑之量可視藥劑類型(例如小分子藥物、抗體等)而定。熟習此項技術者容易藉由實證檢驗確定特定應用中所需要的免疫調節劑之量。

【0256】 *T細胞活化治療組合物*

【0257】 本發明之T細胞活化治療組合物可具有任何適合於向個體遞送存活素抗原之形式。根據本發明之T細胞活化治療組合物可根據已知方法，諸如藉由將一或多種存活素抗原與一或多種醫藥學上可接受之賦形劑或載劑、可接受用於投與人類之賦形劑或載劑混合來調配。此類賦形劑、載劑及調配方法之實例可見於例如Remington's Pharmaceutical Sciences (Maack Publishing Co, Easton, PA)。為調配適合於有效投與之醫藥學上可接受之T細胞活化治療組合物，此類組合物將通常含有治療有效量之存活素抗原，諸如如本文所述之存活素多肽、存活素肽或存活素肽變異體，或編碼此類存活素抗原之核酸分子或載體。

【0258】 根據本發明之T細胞活化治療組合物可以治療有效量投與

個體。如本文所用，「治療有效量」意謂T細胞活化治療或活性成分(例如一或多種存活素抗原)有效治療、預防、緩解或改善腫瘤或癌症或腫瘤或癌症之症狀，延長所治療個體之存活，及/或誘導或增強個體之免疫反應，諸如細胞毒性T細胞反應的量。在一些實施例中，T細胞活化治療劑之治療有效量為在腫瘤治療中能夠誘導個體之臨床反應的量。熟習此項技術者熟習此項技術者完全能夠測定T細胞活化治療劑之治療有效量，尤其依據本文提供之揭示內容。治療有效量可根據諸如個體之狀況、體重、性別及年齡之多種因素變化。

【0259】 一旦已選擇一或多種適當存活素抗原包括於根據本發明之T細胞活化治療組合物中，則抗原可藉由此項技術中已知之多種合適方式遞送。用於本文所述之方法中的T細胞活化治療組合物可包括例如且不限於脂肽(例如Vitiello, A.等人, J. Clin. Invest. 95:341, 1995)、囊封於聚(DL-丙交酯-共-乙交酯)(「PLG」)微米球中之肽組合物(參見例如Eldridge等人, Molec. Immunol. 28:287-294, 1991；Alonso等人, Vaccine 12:299-306, 1994；Jones等人, Vaccine 13:675-681, 1995)、免疫刺激複合物中所含之肽組合物(ISCOMS) (參見例如Takahashi等人, Nature 344:873-875, 1990；Hu等人, Clin Exp Immunol. 113:235-243, 1998)、多種抗原肽系統(MAP) (參見例如Tarn, J. P., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85:5409-5413, 1988；Tarn, J. P., J. Immunol. Methods 196:17-32, 1996)、調配為多價肽之肽；用於彈道式遞送系統中之肽，通常結晶肽、病毒遞送載體(Perkus, M. E.等人, Concepts in vaccine development, Kaufmann, S. H. E.編輯, 第379頁, 1996；Chakrabarti, S.等人, Nature 320:535, 1986；Hu, S. L.等人, Nature 320:537, 1986；Kieny, M.-P.等人, AIDS

Bio/Technology 4:790, 1986 ; Top, F. H.等人, J. Infect. Dis. 124:148, 1971 ; Chanda, P. K.等人, Virology 175:535, 1990)、病毒或合成來源之粒子(例如Kofler, N.等人, J. Immunol. Methods. 192:25, 1996 ; Eldridge, J. H.等人, Sem. Hematol. 30:16, 1993 ; Falo, L. D., Jr.等人, Nature Med. 7:649, 1995)、佐劑(Warren, H. S., Vogel, F. R., 及Chedid, L. A. Annu. Rev. Immunol. 4:369, 1986 ; Gupta, R. K.等人, Vaccine 11:293, 1993)、脂質體(Reddy, R.等人, J. Immunol. 148:1585, 1992 ; Rock, K. L, Immunol. Today 17:131, 1996)或裸cDNA或粒子吸收之cDNA(Ulmer, J. B.等人, Science 259:1745, 1993 ; Robinson, H. L, Hunt, L. A., 及Webster, R. G., Vaccine 11:957, 1993 ; Shiver, J. W.等人, Concepts in vaccine development, Kaufmann, S. H. E.編輯, 第423頁, 1996 ; Cease, K. B., 及Berzofsky, J. A., Annu. Rev. Immunol. 12:923, 1994及Eldridge, J. H.等人, Sem. Hematol. 30:16, 1993)。此段落中所揭示之各參考文獻以引用之方式併入本文中以達成所有預期目的。

【0260】本發明之T細胞活化治療組合物亦涵蓋核酸介導之模態。舉例而言，可向個體投與編碼如本文所述之存活素抗原中之一或多者的DNA或RNA。此類方法描述於例如Wolff等人, Science 247:1465 (1990)以及美國專利第5,580,859號、第5,589,466號、第5,804,566號、第5,739,118號、第5,736,524號、第5,679,647號及第WO 98/04720號。基於DNA之遞送技術之實例包括「裸DNA」、促進(布比卡因(bupivacaine、聚合物、肽介導)遞送、陽離子脂質複合物及粒子介導(「基因槍」)或壓力介導之遞送(參見例如美國專利第5,922,687號)。此段落中所揭示之各參考文獻以引用之方式併入本文中以達成所有預期目的。

【0261】 在T細胞活化治療組合物之其他實施例中，存活素抗原(例如存活素肽)亦可由病毒或細菌載體表現。表現載體之實例包括減毒病毒宿主，諸如牛痘或鳥痘。此方法涉及牛痘病毒之使用，其例如作為表現編碼如本文所述之存活素肽之核苷酸序列的載體。引入急性感染宿主或慢性感染宿主中或引入未感染宿主中後，重組牛痘病毒表現抗原肽，且藉此引發宿主免疫反應。適用於免疫接種方案中之牛痘載體及方法描述於例如美國專利第4,722,848號中。另一種載體為BCG (卡介苗(Bacille Calmette Guerin))。BCG載體描述於Stover等人, Nature 351 :456-460 (1991)。熟習此項技術者將顯而易知，適用於治療性投與或免疫接種本發明之肽之多種其他載體，例如腺及腺相關病毒載體、反轉錄病毒載體、傷寒沙門桿菌 (*Salmonella typhi*)載體、解毒化炭疽毒素載體及其類似者，且T細胞活化治療組合物涵蓋該等載體。此段落中所揭示之各參考文獻以引用之方式併入本文中以達成所有預期目的。

【0262】 根據本發明之T細胞活化治療劑亦涵蓋含有存活素抗原中之一或多者的組合物，其中抗原可個別存在或呈含有相同或不同存活素抗原之多個複本之構築體存在。舉例而言，存活素抗原可呈編碼若干相同或不同存活素抗原之單個核酸分子(例如載體)存在。或在其他實施例中，可使用包含相同存活素抗原之多個複本的均聚物，或多種不同存活素抗原之雜聚物。此類聚合物可具有增加免疫反應之益處，因為其包含存活素抗原之多個複本，使得所得作用可為用存活素之一或多個抗原決定子誘導免疫反應之能力增強。組合物可包含一或多種存活素抗原之天然存在之區域，或可包含例如以重組方式或藉由化學合成製備之抗原。

【0263】 本發明之T細胞活化治療劑亦可包括抗原呈遞細胞(APC)，

諸如樹突狀細胞(DC)，作為呈遞一或多種存活素抗原(例如存活素肽)之媒劑。此類T細胞活化治療組合物可在活體外在樹突狀細胞動員及收穫之後建立，藉此在活體外出現樹突狀細胞之負載。舉例而言，樹突狀細胞經編碼一或多種存活素抗原之DNA或RNA轉染或經存活素肽抗原進行脈衝處理。接著可向個體投與樹突狀細胞以在活體內引發免疫反應。

【0264】 根據本發明之T細胞活化治療劑可藉由任何適合方式投與，該等方式諸如注射(例如肌肉內、皮內、皮下、靜脈內或腹膜內)、氣溶膠、經口、經鼻、局部、陰道內、經皮、經黏膜或任何其他合適途徑。T細胞活化治療劑可調配用於在個體體內全身或局部分佈。全身調配物包括經設計用於藉由注射投與之調配物，以及經設計用於經皮、經黏膜或經口投與之調配物。

【0265】 對於注射，T細胞活化治療劑可調配在包含如本文所述之疏水性物質之連續相的載劑，諸如油包水乳液或油基載劑中。在一些實施例中，脂質體可連同載劑一起使用。T細胞活化治療劑亦可諸如於漢克氏溶液(Hank's solution)、林格氏溶液(Ringer's solution)或生理鹽水緩衝液中調配為水溶液。

【0266】 如自上文顯而易見，本發明之T細胞活化治療組合物意謂涵蓋可用於治療癌症之任何組合物或抗原遞送方式(例如病毒載體)，包括在投與時能夠刺激個體之免疫反應、諸如特定細胞毒性T細胞反應之組合物。

【0267】 為獲得本發明之T細胞活化治療組合物，適合將可為相對較小之存活素肽的存活素抗原與諸如佐劑、賦形劑、界面活性劑、免疫刺激組分及/或載劑之多種材料。佐劑可包括於T細胞活化治療組合物中以增

強特定免疫反應。可使用不同載劑，視期望投與途徑或在個體中之期望分佈(例如全身或局部)而定。

【0268】 在一特定實施例中，用於本發明之方法中的T細胞活化治療劑為包含至少一種存活素抗原、脂質體及包含疏水性物質之連續相之載劑的組合物。在另一實施例中，組合物可另外包含佐劑。在另一實施例中，組合物可另外包含T-輔助抗原決定基或抗原。

【0269】 因此，在一實施例中，T細胞活化治療組合物包含一或多種存活素抗原；T-輔助抗原決定基；佐劑；脂質體；以及包含疏水性物質之連續相之載劑。T-輔助抗原決定基可為例如包含胺基酸序列 AQYIKANSKFIGITEL (SEQ ID NO: 10)之肽。佐劑可為(作為實例而非限制) 聚I:C聚dIdC多核苷酸。

【0270】 在另一實施例中，用於本發明之方法中的T細胞活化治療劑為如下組合物，其包含至少一種存活素抗原以及IMV, Inc之基於脂質體及/或基於兩親媒性化合物之疫苗輔助平台，包括(但不限於)VacciMax®及DepoVax™平台技術(參見例如美國專利第6,793,923號及第7,824,686號；美國專利公開案第20160067335號、WO 2002/038175；WO 2007/041832；WO 2009/039628；WO 2009/043165；WO 2009/146523、WO 2013049941、WO 2014/153636、WO 2016/176761、WO 2016/109880、WO 2017/190242、WO 2017/083963、WO 2018/058230，各者以全文引用之方式併入本文中以達成所有預期目的)。DepoVax™平台為向免疫系統提供抗原加佐劑之控制及長期暴露的T細胞活化治療劑遞送調配物。該平台能夠提供強烈、特定及持續之免疫反應且能夠實現單劑效力。

【0271】 在某些實施例中，本發明之T細胞活化治療劑包含至少一種存活素抗原，其中各存活素抗原濃度為約0.01 mg/ml至約10 mg/ml、約0.025 mg/ml至約9 mg/ml、約0.05 mg/ml至約8 mg/ml、約0.75 mg/ml至約7 mg/ml、約0.1 mg/ml至約6 mg/ml、約0.25 mg/ml至約5 mg/ml、約0.5 mg/ml至約4 mg/ml、約0.75 mg/ml至約3 mg/ml、約1 mg/ml至約2 mg/ml。在某些實施例中，本發明之T細胞活化治療劑包含至少一種存活素抗原，其中各存活素抗原濃度為約0.1 mg/ml至約5 mg/ml、約0.5 mg/ml至約3 mg/ml或約0.5 mg/ml至約2 mg/ml。在某些實施例中，本發明之T細胞活化治療劑包含至少一種存活素抗原，其中各存活素抗原濃度為約0.01 mg/ml、約0.02 mg/ml、約0.03 mg/ml、約0.04 mg/ml、約0.05 mg/ml、約0.06 mg/ml、約0.07 mg/ml、約0.08 mg/ml、約0.09 mg/ml、約0.1 mg/ml、約0.2 mg/ml、約0.3 mg/ml、約0.4 mg/ml、約0.5 mg/ml、約0.6 mg/ml、約0.7 mg/ml、約0.8 mg/ml、約0.9 mg/ml、約1 mg/ml、約2 mg/ml、約3 mg/ml、約4 mg/ml、約5 mg/ml、約6 mg/ml、約7 mg/ml、約8 mg/ml、約9 mg/ml或約10 mg/ml。在某些實施例中，本發明之T細胞活化治療劑包含至少一種存活素抗原，其中各存活素抗原濃度為約1 mg/ml。

【0272】 在某些實施例中，本發明之T細胞活化治療劑包含至少一種存活素抗原，其中該T細胞活化治療劑以約0.01至約3 ml、約0.05 ml至約2 ml、約0.075 ml至約1.75 ml、約0.1 ml至約1.5 ml、約0.125 ml至約1.25 ml、約0.15 ml至約1 ml、約0.175 ml至約0.75 ml、約0.2 ml至約0.5 ml或約0.25 ml至約0.5 ml之劑量進行投與。在某些實施例中，本發明之T細胞活化治療劑包含至少一種存活素抗原，其中該T細胞活化治療劑以約

0.01 ml至約1 ml、約0.5 ml至約0.75或約0.25 ml至約0.5 ml之劑量進行投與。在某些實施例中，本發明之T細胞活化治療劑包含至少一種存活素抗原，其中該T細胞活化治療劑以約0.05 ml、約0.06 ml、約0.07 ml、約0.08 ml、約0.09 ml、約0.1 ml、約0.125 ml、約0.15 ml、約0.175 ml、約0.2 ml、約0.225 ml、約0.25 ml、約0.275 ml、約0.3 ml、約0.325 ml、約0.35 ml、約0.375 ml、約0.4 ml、約0.425 ml、約0.45 ml、約0.475 ml、約0.5 ml、約0.525 ml、約0.55 ml、約0.575 ml、約0.6 ml、約0.625 ml、約0.65 ml、約0.675 ml、約0.7 ml、約0.725 ml、約0.75 ml、約0.775 ml、約0.8 ml、約0.825 ml、約0.85 ml、約0.875 ml、約0.9 ml、約0.925 ml、約0.95 ml、約0.975 ml、約1 ml、約1.25 ml、約1.5 ml、約1.75 ml或約2 ml之劑量進行投與。在某些實施例中，本發明之T細胞活化治療劑包含至少一種存活素抗原，其中該T細胞活化治療劑以約0.25 ml或約0.5 ml之劑量進行投與。在某些實施例中，本發明之T細胞活化治療劑包含至少一種存活素抗原，其中該T細胞活化治療劑以約0.1 ml之劑量進行投與。在某些實施例中，劑量為起始劑量。在某些實施例中，劑量為加強劑量。

【0273】 在另一實施例中，本發明之T細胞活化治療劑為任何適合之如上文所述之組合物，該組合物包含具有以下胺基酸序列之一或多種存活素肽抗原：FEELTLGEF (SEQ ID NO: 2)；FTELTGEF (SEQ ID NO: 3)；LTLGGEFLKL (SEQ ID NO: 4)；LMLGGEFLKL (SEQ ID NO: 5)；RISTFKNWPF (SEQ ID NO: 6)；RISTFKNWPK (SEQ ID NO: 7)；STFKNWPFL (SEQ ID NO: 8)；及LPPAWQPFL (SEQ ID NO: 9)。

【0274】 在另一實施例中，T細胞活化治療組合物包含含有以下胺

基酸序列之五種存活素肽抗原：FTELTGGEF (SEQ ID NO: 3)、LMLGGEFLKL (SEQ ID NO: 5)、RISTFKNWPK (SEQ ID NO: 7)、STFKNWPFL (SEQ ID NO: 8)及LPPAWQPFL (SEQ ID NO: 9)；T-輔助抗原決定基；佐劑；脂質體；以及包含疏水性物質之連續相之載劑。T-輔助抗原決定基可例如為包含胺基酸序列AQYIKANSKFIGITEL (SEQ ID NO: 10)之肽。佐劑可例如為基於RNA或DNA之多核苷酸佐劑(例如聚I:C、聚dIdC等)。脂質體可例如由1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(DOPC；合成磷脂)及膽固醇構成。疏水性載劑可例如為Montanide® ISA51 VG。

【0275】 在一特定實施例中，本發明之T細胞活化治療劑可為IMV Inc之候選抗癌免疫治療劑DPX-Survivac。DPX-Survivac包含具有以下胺基酸序列之五種合成存活素肽抗原：FTELTGGEF (SEQ ID NO: 3)、LMLGGEFLKL (SEQ ID NO: 5)、RISTFKNWPK (SEQ ID NO: 7)、STFKNWPFL (SEQ ID NO: 8)及LPPAWQPFL (SEQ ID NO: 9)；來自破傷風類毒素之通用T-輔助抗原決定基(AQYIKANSKFIGITEL；SEQ ID NO: 10)；聚I:C多核苷酸佐劑；由DOPC及膽固醇組成之脂質體；以及疏水性載劑Montanide® ISA 51 VG。各組分之示例性量(每毫升T細胞活化治療組合物)包括(但不限於)各存活素抗原1.0 mg；T-輔助抗原決定基(例如SEQ ID NO: 10) 0.5 mg；佐劑0.4 mg(例如聚I:C多核苷酸)；合成DOPC磷脂120.0 mg；膽固醇12.0 mg；以及疏水性載劑0.7 ml (例如Montanide® ISA51 VG)。

【0276】 在一特定實施例中，本發明之T細胞活化治療劑可為IMV Inc之候選抗癌免疫治療劑DPX-Survivac。DPX-Survivac包含具有以下胺

基酸序列之五種合成存活素肽抗原：FTELTGGEF (SEQ ID NO: 3)、LMLGEFLKL (SEQ ID NO: 5)、RISTFKNWPK (SEQ ID NO: 7)、STFKNWPFL (SEQ ID NO: 8)及LPPAWQPFL (SEQ ID NO: 9)；來自破傷風類毒素之通用T-輔助抗原決定基(AQYIKANSKFIGITEL；SEQ ID NO: 10)；dIdC多核苷酸佐劑；由DOPC及膽固醇組成之脂質體；以及疏水性載劑Montanide® ISA 51 VG。各組分之示例性量(每毫升T細胞活化治療組合物)包括(但不限於)各存活素抗原1.0 mg；T-輔助抗原決定基(例如SEQ ID NO: 10) 0.5 mg；佐劑0.4 mg(例如聚dIdC多核苷酸)；合成DOPC磷脂120.0 mg；膽固醇12.0 mg；以及疏水性載劑0.7 ml (例如Montanide® ISA51 VG)。

【0277】 T細胞活化治療劑可視情況進一步包含其他組分，諸如乳化劑。以下描述T細胞活化治療劑及其組分之示例性實施例之更詳細揭示。

【0278】 (i)存活素抗原

【0279】 本發明之T細胞活化治療組合物包含至少一種存活素抗原。表述「至少一種」在本文中與表述「一或多種」可互換使用。除非本文中另外明確陳述，否則此等表述係指T細胞活化治療劑中之不同存活素抗原之數目，且並非指任何特定存活素抗原之量。根據「至少一種」或「一或多種」之正常含義，本發明之T細胞活化治療組合物含有最少一種存活素抗原。

【0280】 存活素亦稱為含重複序列之桿狀病毒細胞凋亡抑制劑5 (BIRC5)，係與細胞凋亡之負調控有關之蛋白質。其已分類為細胞凋亡蛋白抑制劑(IAP)家族之一員。存活素為16.5 kDa細胞質蛋白質，其含有單

一BIR基元及代替RING指之高度帶電羧基端捲曲區域。編碼存活素之基因幾乎與效應細胞蛋白酶受體-1 (EPR-1)之序列一致，但在相反方向上定向。存活素之編碼序列(智人)為429個核苷酸長(SEQ ID NO: 11)，包括終止密碼子。所編碼蛋白質存活素(智人)為142個胺基酸長(SEQ ID NO: 1)。

【0281】 假定存活素蛋白用以抑制凋亡蛋白酶活化，藉此負調控細胞凋亡或計劃性細胞死亡。與此功能相一致，存活素已鑑別為在許多癌症類型中始終上調之最前面基因之一，但在正常組織中未上調(參見例如 Altieri等人, Lab Invest, 79: 1327-1333, 1999；以及美國專利第 6,245,523號)。因此，此事實使得存活素成為癌症療法之理想目標，因為靶向癌細胞，而不靶向正常細胞。實際上，存活素在包括大部分人類癌症之許多腫瘤類型中高度表現，且具有所報導之預後價值。

【0282】 本發明之T細胞活化治療劑包含一或多種存活素抗原。如本文所用，術語「存活素抗原」涵蓋來源於存活素蛋白或其片段之任何肽、多肽或其變異體(例如存活素肽變異體)。術語「存活素抗原」亦涵蓋編碼本文所述之存活素肽、存活素肽變異體或存活素肽功能等效物的多核苷酸。

【0283】 多核苷酸可為DNA (例如基因組DNA或cDNA)或RNA (例如mRNA)或其組合。其可為天然存在的或合成的(例如化學合成)。預期多核苷酸可在核苷酸鏈中含有一或多個含氮鹼基、戊糖或磷酸酯基之修飾。此類修飾為此項技術中熟知且可出於例如提高多核苷酸穩定性之目的。

【0284】 在一實施例中，存活素抗原可包含全長存活素多肽或編碼全長存活素多肽之核酸。或者，存活素抗原可為包含存活素蛋白之任何長

度之片段的存活素肽。示例性實施例包括包含至少5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20個胺基酸殘基之存活素肽。在特定實施例中，存活素肽由七肽、八肽、九肽、十肽或十一肽組成，該等肽分別由存活素蛋白之7、8、9、10、11個連續胺基酸殘基(例如SEQ ID NO: 1)組成。存活素抗原之特定實施例包括約9或10個胺基酸之存活素肽。

【0285】 本發明之存活素抗原亦涵蓋存活素肽之變異體及功能等效物。存活素肽之變異體或功能等效物涵蓋展現與存活素蛋白之特定序列相比具有差異，諸如一或多種胺基酸取代、缺失或添加或其任何組合之胺基酸序列的肽。差異可量測為存活素蛋白質序列與存活素肽變異體或存活素肽功能等效物之間的一致性降低。

【0286】 胺基酸序列之間的一致性可使用此項技術中熟知之演算法計算。當存活素肽變異體或功能等效物較佳在其整個長度上與存活素蛋白之肽序列至少70%一致，諸如與存活素蛋白之肽序列至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致或至少95%一致，包括96%、97%、98%或99%一致時，其視為在本發明之「存活素抗原」之含義內。在一特定實施例中，存活素肽變異體具有與SEQ ID NO: 1之連續胺基酸序列至少85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致之序列。

【0287】 存活素抗原可源自之存活素蛋白為來自表現該蛋白質之任何動物物種的存活素蛋白。一個特定實施例為來自人類之存活素蛋白(SEQ ID NO: 1)。基於所選存活素蛋白之序列，存活素抗原可藉由對存活素蛋白或編碼核酸進行任何適當化學或酶處理來獲得。或者，存活素抗原可藉由一般熟習此項技術者熟悉之任何習知肽或核酸合成程序合成。

【0288】 本發明之存活素抗原(肽或核酸)可具有作為存活素之原生序列的序列。或者，存活素抗原可為藉由一或多個取代、缺失或添加進行修飾之肽或核酸序列，諸如本文所述之存活素肽變異體或功能等效物。增加肽免疫原性之存活素肽之示例性程序及修飾包括例如WO 2004/067023(以全文引用的方式併入本文中以達成所有預期目的)中所述之彼等程序及修飾，其涉及引入錨定位置之增加肽與HLA I類分子結合之胺基酸取代。

【0289】 在一實施例中，存活素抗原為能夠結合MHC I類HLA分子之來源於存活素蛋白之任何肽，或其任何存活素肽變異體。沿此等線路，存活素抗原可為能夠誘導或增強個體之免疫反應的任何存活素肽或其存活素肽變異體。

【0290】 在一實施例中，存活素抗原為能夠引發個體之細胞毒性T淋巴細胞(CTL)反應之包含來自存活素蛋白之胺基酸序列(SEQ ID NO: 1)的肽抗原，或編碼該肽之核酸分子。

【0291】 在一實施例中，T細胞活化治療劑包含基於存活素蛋白之胺基酸序列、諸如SEQ ID NO: 1中所示之胺基酸序列的一或多種合成存活素肽或其變異體。

【0292】 存活素肽、存活素肽變異體及存活素功能等效物及其用於診斷及治療目的、特別在癌症中之用途已描述於例如WO 2004/067023及WO 2006/081826中，各全文併入本文中以達成所有預期目的。發現此等公開案中所揭示之新穎肽能夠在癌症患者中引發細胞毒性T淋巴細胞(CTL)反應。詳言之，在WO 2004/067023中，發現MHC I類限制肽可來源於存活素蛋白，其能夠結合於MHC I類HLA分子且藉此在罹患各種癌症

疾病之患者中引發離體與原位CTL免疫反應。

【0293】 在一實施例中，本發明之T細胞活化治療劑可包括WO 2004/067023及WO 2006/081826中所揭示之存活素肽、存活素肽變異體或存活素肽功能等效物中之任一或多者。

【0294】 在另一實施例中，本發明之T細胞活化治療劑可包括能夠結合選自HLA-A、HLA-B或HLA-C分子之任一MHC I類分子的存活素肽、存活素肽變異體或存活素肽功能等效物中之一或多者。

【0295】 存活素肽、存活素肽變異體或存活素肽功能等效物可結合之示例性MHC I類HLA-A分子包括(但不限於) HLA-A1、HLA-A2、HLA-A3、HLA-A9、HLA-A10、HLA-A11、HLA-A19、HLA-A23、HLA-A24、HLA-A25、HLA-A26、HLA-A28、HLA-A29、HLA-A30、HLA-A31、HLA-A32、HLA-A33、HLA-A34、HLA-A36、HLA-A43、HLA-A66、HLA-A68及HLA-A69。

【0296】 存活素肽、存活素肽變異體或存活素肽功能等效物可結合之示例性MHC I類HLA-B分子包括(但不限於) HLA-B5、HLA-B7、HLA-B8、HLA-B12、HLA-B13、HLA-B14、HLA-B15、HLA-B16、HLA-B17、HLA-B18、HLA-B21、HLA-B22、HLA-B27、HLA-B35、HLA-B37、HLA-B38、HLA-B39、HLA-B40、HLA-B41、HLA-B42、HLA-B44、HLA-B45、HLA-B46及HLA-B47。

【0297】 存活素肽、存活素肽變異體或存活素肽功能等效物可結合之示例性MHC I類HLA-C分子包括(但不限於) HLA-C1、HLA-C2、HLA-C3、HLA-C4、HLA-C5、HLA-C6、HLA-C7及HLA-C16。

【0298】 在一特定實施例中，本發明之T細胞活化治療劑可包含選

自以下之存活素肽抗原中之一或多者：i) FEELTLGEF (SEQ ID NO: 2) [HLA-A1]；ii) FTELTGEF (SEQ ID NO: 3) [HLA-A1]；iii) LTLGEFLKL (SEQ ID NO: 4) [HLA-A2]；iv) LMLGEFLKL (SEQ ID NO: 5) [HLA-A2]；v) RISTFKNWPF (SEQ ID NO: 6) [HLA-A3]；vi) RISTFKNWPK (SEQ ID NO: 7) [HLA-A3]；vii) STFKNWPFL (SEQ ID NO: 8) [HLA-A24]；viii) LPPAWQPFL (SEQ ID NO: 9) [HLA-B7]。

【0299】 以上列出之存活素肽代表(不限於)本發明涵蓋之示例性MHC I類限制肽。咸信各存活素肽結合之特定MHC I類HLA分子以方括號展示在右側上。本發明之T細胞活化治療劑可包含此等存活素肽中之一或多者，呈任何合適之組合。

【0300】 在另一實施例中，本發明之T細胞活化治療劑包含以下所列出之五種存活素肽中之任一或多者，呈任何合適之組合：i) FTELTGEF (SEQ ID NO: 3) [HLA-A1]；ii) LMLGEFLKL (SEQ ID NO: 5) [HLA-A2]；iii) RISTFKNWPK (SEQ ID NO: 7) [HLA-A3]；iv) STFKNWPFL (SEQ ID NO: 8) [HLA-A24]；v) LPPAWQPFL (SEQ ID NO: 9) [HLA-B7]。

【0301】 在一特定實施例中，本發明之T細胞活化治療組合物包含如IMV Inc之候選抗癌免疫治療劑T細胞活化治療劑DPX-Survivac中發現的所有五種上列存活素肽抗原，或一或多種肽抗原之任何組合。在一較佳實施例中，組合物將包含所有五種存活素肽抗原，候選抗癌免疫治療劑T細胞活化治療劑DPX-Survivac。

【0302】 除至少一種存活素抗原之外，本發明之T細胞活化治療劑之其他實施例可包含一或多種可用於治療癌症或可用於誘導或增強針對癌

症之免疫反應的額外抗原

【0303】 在下文描述此類額外抗原之示例性實施例。

【0304】 (ii)額外抗原

【0305】 適用於本發明之組合物中之其他抗原包括(但不限於)能夠誘導或增強個體之有益於治療腫瘤或癌症之免疫反應，例如細胞介導或體液介導之免疫反應的抗原。

【0306】 細胞介導之免疫係不涉及抗體，而實際上涉及巨噬細胞及自然殺手細胞之活化、抗原特異性細胞毒性T淋巴細胞之產生及多種細胞介素響應於抗原之釋放的免疫反應。細胞毒性T淋巴細胞為能夠誘發受感染體細胞或腫瘤細胞之死亡的T淋巴細胞子群(一類白血球)；其殺死感染病毒(或其他病原體)之細胞，或以其他方式受損傷或功能異常。

【0307】 大部分細胞毒性T細胞表現可識別結合於I類MHC分子之特定肽抗原的T細胞受體。此等CTL亦表現CD8 (CD8+ T細胞)，其吸引至I類MHC分子之部分。此親和力保持CTL及目標細胞在抗原特異性活化期間緊密結合在一起。

【0308】 細胞免疫藉由以下來保護身體：例如活化抗原特異性細胞毒性T淋巴細胞，該等抗原特異性細胞毒性T淋巴細胞能夠溶解在表面上展現外源抗原之抗原決定基的身體細胞，諸如病毒感染細胞、具有細胞內細菌之細胞及展現腫瘤抗原之癌細胞；活化巨噬細胞及自然殺手細胞，使其能夠破壞細胞內病原體；以及刺激細胞分泌影響與適應性免疫反應及先天性免疫反應有關之其他細胞之功能的多種細胞介素。

【0309】 因此，在其他實施例中，本發明之T細胞活化治療組合物可包含除一或多種存活素抗原外之額外抗原。舉例而言，額外抗原可為

(不限於)肽、合適之原生、非原生、重組或變性蛋白或多肽，或其片段，或能夠誘導或增強個體之CTL免疫反應的抗原決定基。

【0310】 額外抗原亦可為編碼充當抗原之多肽的多核苷酸。已知基於核酸之疫苗接種策略，其中向個體投與含有多核苷酸之T細胞活化治療組合物。由多核苷酸編碼之抗原性多肽在個體中表現，使得抗原性多肽最終存在於個體中，如同T細胞活化治療組合物本身含有該多肽。出於本發明之目的，根據上下文，額外抗原涵蓋編碼充當抗原之多肽的此類多核苷酸。

【0311】 術語「多肽」涵蓋任何胺基酸鏈，無論長度(例如至少6、8、10、12、14、16、18或20個胺基酸)或轉譯後修飾(例如糖基化或磷酸化)如何，且包括例如天然蛋白質、合成或重組多肽及肽、抗原決定基、雜交分子、變異體、同源物、類似物、類肽、肽模擬物等。其變異體或衍生物包括缺失，包括截短及片段；插入及添加，例如保守性取代、定點突變體及對偶基因變異體；以及包括具有一或多個共價連接至肽之非胺基醯基(例如糖、脂質等)類肽的修飾及轉譯後修飾。如本文所用，術語「保守性胺基酸取代」或「保守性取代」係指在肽中之既定位置處一種胺基酸取代另一胺基酸，其中可在相關功能不顯著喪失下進行取代。在進行此類變化下，類似胺基酸殘基之取代可基於側鏈取代基之相對相似性進行，例如其尺寸、電荷、疏水性、親水性及其類似性質，且可藉由常規測試分析此類取代對肽功能之影響。保守性取代之特定非限制性實例包括以下實例：

表1. 保守性胺基酸取代

初始殘基	保守性取代
Ala	Ser
Arg	Lys
Asn	Gln、His

Asp	Glu
Cys	Ser
Gln	Asn
Glu	Asp
His	Asn 、 Gln
Ile	Leu 、 Val
Leu	Ile 、 Val
Lys	Arg 、 Gln 、 Glu
Met	Leu 、 Ile
Phe	Met 、 Leu 、 Tyr
Ser	Thr
Thr	Ser
Trp	Tyr
Tyr	Trp 、 Phe
Val	Ile 、 Leu

【0312】 可使用與較佳抗原序列顯著一致之多肽或肽。若兩個序列在最佳比對時(允許間隙)共享至少大約50%序列一致性，或若序列共享所界定之功能基元，則認為其具有顯著一致性。在替代實施例中，若最佳比對序列在指定區域上共享至少60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%一致性，則可認為其實質上一致(亦即，具有顯著一致性)。術語「一致性」係指兩個多肽分子之間的序列相似性。一致性可藉由比較比對序列中之各位置來確定。胺基酸序列之間的一致性程度為例如在指定區域上在序列共享之位置處一致或匹配胺基酸之數目的函數。用於比較一致性之序列最佳比對可使用如此項技術中已知之多種演算法進行，包括可在<http://clustalw.genome.ad.jp>獲得之ClustalW程式；Smith及Waterman, 1981 , Adv. Appl. Math 2: 482之局部同源性演算法；Needleman及Wunsch, 1970, J. Mol. Biol. 48:443之同源性比對演算法；Pearson及Lipman, 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444之相似性搜索方法；及此等演算法之計算機實施方案(諸如Wisconsin Genetics套裝軟

體中之GAP、BESTFIT、FASTA及TFASTA, Genetics Computer Group, Madison, WI, U.S.A.)。亦可使用Altschul等人, 1990, J. Mol. Biol. 215:403-10中所述之BLAST演算法(使用公開之預設設置)確定序列一致性。例如, 可使用「BLAST 2序列」工具, 可經由國家生物技術資訊中心(National Center for Biotechnology Information)獲得(經由網際網路<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/bl2seq/wblast2.cgi>)), 選擇在以下預設設置下之「blastp」程式: 預期閾值10; 字長3; 矩陣BLOSUM 62; 間隙成本存在11, 延長1。在另一實施例中, 熟習此項技術者容易及正確地比對任何既定序列且藉由純粹目視檢查推導序列一致性及/或同源性。

【0313】用作本發明之T細胞活化治療劑中之額外抗原的多肽及肽可自天然來源分離, 合成, 或為重組產生之多肽。肽及蛋白質可在活體外或在活體內重組表現。用於實施本發明之肽及多肽可使用此項技術中已知之任何方法製備及分離。用於實施本發明之多肽及肽亦可使用此項技術中熟知之化學方法完全或部分合成。參見例如Caruthers (1980) Nucleic Acids Res. Symp. Ser. 215-223; Horn (1980) Nucleic Acids Res. Symp. Ser. 225-232; Banga, A. K, Therapeutic Peptides and Proteins, Formulation,

【0314】Processing and Delivery Systems (1995) Technomic Publishing Co., Lancaster, Pa。舉例而言, 肽合成可使用多種固相技術進行(參見例如Roberge (1995) Science 269:202; Merrifield (1997) Methods Enzymol. 289:3-13)且可例如使用ABI 431A肽合成器(Perkin Elmer)根據製造商提供之說明書實現自動化合成。

【0315】在一些實施例中, 額外抗原可為純化抗原, 例如約25%至

50%純、約50%至約75%純、約75%至約85%純、約85%至約90%純、約90%至約95%純、約95%至約98%純、約98%至約99%純或超過99%純。

【0316】如上所指出，額外抗原包括編碼充當抗原之多肽的多核苷酸。如本文所用，術語「多核苷酸」涵蓋任何長度核苷酸(例如9、12、18、24、30、60、150、300、600、1500個或更多個核苷酸)或股數(例如單股或雙股)之鏈。多核苷酸可為DNA (例如基因組DNA或cDNA)或RNA (例如mRNA)或其組合。其可為天然存在的或合成的(例如化學合成)。預期多核苷酸可在核苷酸鏈中含有一或多個含氮鹼基、戊糖或磷酸酯基之修飾。此類修飾為此項技術中熟知且可出於例如提高多核苷酸穩定性之目的。

【0317】多核苷酸可呈各種形式遞送。在一些實施例中，可使用呈線性形式之裸多核苷酸，或插入至質體、諸如表現質體中。在其他實施例中，可使用諸如病毒或細菌載體之活載體。

【0318】可存在幫助DNA轉錄成RNA及/或RNA轉譯成多肽之一或多個調控序列。在一些情況下，諸如在作為信使核糖核酸(mRNA)分子之多核苷酸之情況下，不需要關於轉錄過程之調控序列(例如啟動子)，且在不存在啟動子下可影響蛋白質表現。熟練技術人員可根據情況需要包括合適調控序列。

【0319】在一些實施例中，多核苷酸存在於表現卡匣中，其中其可操作地連接於將允許多核苷酸在投與本發明之組合物之個體中表現的調控序列。表現卡匣之選擇視投與組合物之個體以及對表現之多肽所期望之特徵而定。

【0320】通常，表現卡匣包括啟動子，其在個體中具功能性且可為

組成性或誘導性的；核糖體結合位點；必要時起始密碼子(ATG)；編碼所關注多肽之多核苷酸；終止密碼子；以及視情況3'末端區域(轉譯及/或轉錄終止子)。可包括諸如編碼信號肽之區域的額外序列。編碼所關注多肽之多核苷酸可與表現卡匣中之任一其他調控序列同源或異源。待與所關注多肽一起表現之序列、諸如信號肽編碼區通常位與編碼待表現之蛋白質之多核苷酸的鄰近處且置於適當閱讀框架中。由編碼待表現之蛋白質之多核苷酸構成的開放閱讀框架單獨或連同待表現之任何其他序列(例如信號肽)置於處於啟動子的控制下，以使得轉錄及轉譯在投與組合物之個體中進行。

【0321】 在如本文所述之T細胞活化治療組合物之單一治療中使用的額外抗原之量可視抗原類型及個體體型而變化。熟習此項技術者在不進行過度實驗下能夠確定用於特定應用中之額外抗原的有效量。

【0322】 在一些實施例中，額外抗原可為能夠誘導CTL反應之至少一種CTL抗原決定基。舉例而言，額外抗原可為來源於經鑑別在癌細胞中上調之蛋白質的CTL抗原決定基。

【0323】 在一實施例中，CTL抗原決定基可為腫瘤相關蛋白、諸如黑色素瘤相關蛋白之抗原決定基。在一些實施例中，黑色素瘤相關蛋白為酪胺酸相關蛋白-2 (TRP-2)或p53，其可藉由包括重組技術或化學合成之多種方法獲得。

【0324】 以下基因編碼(不限於)具有可作為額外抗原併入本發明之T細胞活化治療劑中之肽序列的腫瘤相關蛋白：p53、HPV E6及E7、ART-4、CAMEL、CEA、Cyp-B、HER2/neu、hTERT、hTRT、iCE、MUC1、MUC2、PRAME、P15、RUI、RU2、SART-1、SART-3、

WT1、PSA、酪胺酸酶、TRP-1、TRP-2、gp100、MART-1/Melan A、MAGE-A1、MAGE-A2、MAGE-A3、MAGE-A6、MAGE-A10、MAGE-A12、BAGE、DAM-6、DAM-10、GAGE-1、GAGE-2、GAGE-3、GAGE-4、GAGE-5、GAGE-6、GAGE-7B、GAGE-8、NA88-A、NY-ESO-1、NY-ESO-1 a (CAG-3)、AFP、 β -連環蛋白/m、凋亡蛋白酶-8/m、CDK-4/m、ELF2M、GnT-V、G250、Ras、HSP70-2M、HST-2、KIAA0205、MUM-1、MUM-2、MUM-3、肌球蛋白/m、RAGE、SART-2、存活素、TRP-2/INT2及707-AP。

【0325】 在一實施例中，T細胞活化治療劑可包含與癌症相關之CTL抗原決定基之混合物作為誘導CTL反應之抗原。舉例而言，抗原可包含如本文所述之存活素抗原中之至少一種或多種，諸如及不限於具有以下胺基酸序列之存活素肽抗原：FEELTLGEF (SEQ ID NO: 2)；FTELTLGEF (SEQ ID NO: 3)；LTLGEFLKL (SEQ ID NO: 4)；LMLGEFLKL (SEQ ID NO: 5)；RISTFKNWPF (SEQ ID NO: 6)；RISTFKNWPK (SEQ ID NO: 7)；STFKNWPFL (SEQ ID NO: 8)；以及LPPAWQPFL (SEQ ID NO: 9)，以及腫瘤相關蛋白之至少一種額外抗原。

【0326】 (iii) T-輔助抗原決定基

【0327】 在一些實施例中，本發明之T細胞活化治療劑包含至少一種T-輔助抗原決定基或T-輔助抗原。

【0328】 T-輔助抗原決定基為具有T-輔助活性之胺基酸序列(天然或非天然胺基酸)。T-輔助抗原決定基由T-輔助淋巴細胞識別，其在建立及最大化免疫系統之能力中起重要作用，且與活化及引導其他免疫細胞、諸

如細胞毒性T淋巴細胞有關。

【0329】 T-輔助抗原決定基可由連續或不連續抗原決定基組成。因此，並非T-輔助抗原決定基之每個胺基酸必需為抗原決定基之一部分。因此，包括T-輔助抗原決定基之類似物及區段之T-輔助抗原決定基能夠增強或刺激免疫反應。免疫顯性T-輔助抗原決定基在具有廣泛相異之MHC類型之動物及人類群體中廣泛具有反應性(Celis等人, (1988) J. Immunol. 140:1808-1815；Demotz等人, (1989) J. Immunol. 142:394- 402；Chong等人, (1992) Infect. Immun. 60:4640-4647)。主題肽之T-輔助結構域具有約10至約50個胺基酸且較佳約10至約30個胺基酸。當存在多種T-輔助抗原決定基時，各T-輔助抗原決定基獨立地起作用。

【0330】 在一些實施例中，T-輔助抗原決定基可形成本文所述之抗原之一部分。詳言之，若抗原具有足夠尺寸，則其可含有充當T-輔助抗原決定基之抗原決定基。在其他實施例中，T-輔助抗原決定基為與抗原分開之分子。

【0331】 在另一實施例中，T-輔助抗原決定基類似物可在T-輔助抗原決定基中包括一個至約10個胺基酸殘基之取代、缺失及插入。T-輔助區段為足以增強或刺激免疫反應之T-輔助抗原決定基之相連部分。T-輔助區段之一實例為來源於單一較長肽之一系列重疊肽。

【0332】 在一特定實施例中，本發明之組合物可包含經修飾之破傷風毒素肽A16L (830至844；AQYIKANSKFIGITEL (SEQ ID NO: 10)作為T-輔助抗原決定基或抗原，其中胺基端添加丙胺酸殘基以增強穩定性(Slingluff等人, Clin Cancer Res., 7: 3012-3024, 2001)。

【0333】 可用於本發明組合物中之T-輔助抗原決定基之其他來源包

括例如B型肝炎表面抗原輔助T細胞抗原決定基、百日咳毒素輔助T細胞抗原決定基、麻疹病毒F蛋白輔助T細胞抗原決定基、沙眼披衣菌(*Chlamydia trachomatis*)主要外膜蛋白輔助T細胞抗原決定基、白喉毒素輔助T細胞抗原決定基、惡性瘧原蟲(*Plasmodium falciparum*)環子孢子輔助T細胞抗原決定基、曼氏血吸蟲(*Schistosoma mansoni*)磷酸丙糖異構酶輔助T細胞抗原決定基、大腸桿菌TraT輔助T細胞抗原決定基及此等T-輔助抗原決定基中之任一者之免疫增強類似物及區段。

【0334】 在一些實施例中，T-輔助抗原決定基可為通用T-輔助抗原決定基。如本文所用，通用T-輔助抗原決定基係指以呈II類(CD4+ T細胞)限制方式活化T細胞功能之方式結合於多種MHC II類分子的肽或其他免疫原性分子或其片段。通用T-輔助抗原決定基之一實例為PADRE (泛DR抗原決定基)，其包含肽序列AKXVAAWTLKAAA (SEQ ID NO: 13)，其中X可為環己基丙胺醯基。PADRE特異性具有CD4+ T-輔助抗原決定基，亦即，其刺激PADRE特異性CD4+ T-輔助反應之誘導。

【0335】 除前面提及之經修飾之破傷風毒素肽A16L之外，破傷風類毒素具有以與PADRE相似之方式工作的其他T-輔助抗原決定基。破傷風及白喉毒素具有針對人類CD4+細胞之通用抗原決定基(Diethelm-Okita, B.M.等人, J. Infect. Diseases, 181 :1001-1009, 2000)。在另一實施例中，T-輔助抗原決定基可為破傷風類毒素肽，諸如包含肽序列FNNFTVSFWLRVPKVS ASHLE (胺基酸947-967；SEQ ID NO: 15)之F21 E。

【0336】 在某些實施例中，T-輔助抗原決定基與本發明之T細胞活化治療劑中之一或多種存活素抗原中的至少一者融合或與可包括在T細胞

活化治療劑中之額外抗原融合(例如融合肽)。

【0337】 (iv)佐劑

【0338】 在一些實施例中，本發明之T細胞活化治療劑包含一或多種醫藥學上可接受之佐劑。已描述大量佐劑且熟習此項技術者已知該等佐劑。參見例如Remington's Pharmaceutical Sciences (Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pa., USA 1985)及The United States Pharmacopoeia: The National Formulary (USP 24 NF19) 1999年出版。

【0339】 示例性佐劑包括(但不限於)明礬、其他鋁化合物、卡介苗(BCG)、TiterMax™、Ribi™、弗氏完全佐劑(Freund's Complete Adjuvant, FCA)、含CpG之寡去氧核苷酸(CpG ODN)、脂肽及多核苷酸(例如聚I:C、聚dIdC等)。一種示例性CpG ODN為5'-TCCATGACGTTCTGACGTT-3' (SEQ ID NO: 16)。技術人員容易基於目標物種及功效選擇其他適當CpG ODN。一種示例性脂肽包括不限於Pam3Cys-SKKK (SEQ ID NO: 18) (EMC Microcollections, Germany)或其變異體、同源物及類似物。脂肽之Pam2家族已展示為脂肽之Pam3家族的有效替代物。

【0340】 如本文所用，「聚I:C」或「聚I:C多核苷酸」為含有肌苷酸殘基(I)及胞苷酸殘基(C)且能夠誘導或增強諸如干擾素之至少一種發炎性細胞介素在哺乳動物個體中產生的多核苷酸分子(RNA或DNA或DNA與RNA之組合)。

【0341】 聚I:C多核苷酸可具有約8、10、12、14、16、18、20、22、24、25、28、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、

85、90、95、100、150、200、250、300、500、1000個或更多個殘基之長度。可信上限並非必要的。較佳聚I:C多核苷酸可具有約6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28或30個核苷酸之最小長度及約1000、500、300、200、100、90、80、70、60、50、45或40個核苷酸之最大長度。在某些實施例中，聚I:C多核苷酸長度為約20個或更多個殘基(通常長度為22、24、26、28或30個殘基)。若以半合成方式製造(例如使用酶)，則股之長度可為500、1000個或更多個殘基。

【0342】 在一些實施例中，聚I:C多核苷酸為雙股。在此類實施例中，其可由全部由含胞嘧啶之核苷酸組成的一股及全部由含肌苷之核苷酸的一股構成，不過其他組態亦為可能的。舉例而言，各股可含有含胞嘧啶之核苷酸與含肌苷之核苷酸。非限制性實例包括各股含有至少6個相連肌苷酸或胞苷酸殘基或6個選自肌苷酸及胞苷酸之呈任何次序之相連殘基(例如IICIIC、ICICIC或IIICCC)的多核苷酸。在一些情況下，任一或兩個股可另外含有一或多個非胞嘧啶或非肌苷核苷酸。

【0343】 在其他實施例中，聚I:C多核苷酸可為含有肌苷酸殘基(I)及胞苷酸殘基(C)之單股分子。舉例而言且不限於，單股聚I:C可為重複dIdC之序列。在一特定實施例中，單股聚I:C之序列可為(IC)₁₃之26聚體序列，亦即ICICICICICICICICICICICICICIC (SEQ ID NO: 19)。如技術人員將瞭解，歸因於其性質(例如互補)，預期重複dIdC之此等單股分子將天然形成均二聚體，因此其在概念上類似於聚I/聚C二聚體。

【0344】 在某些實施例中，聚I:C多核苷酸之各股可為肌苷酸或胞苷酸殘基之均聚物，或各股可為含有肌苷酸與胞苷酸殘基之雜聚物。在任一情況下，聚合物可間雜有一或多個非肌苷酸或非胞苷酸殘基(例如尿苷)，

條件為存在至少一個如上所述之6 I、6 C或6 I/C殘基之相連區域。通常，聚I:C多核苷酸之各股將含有每6個I/C殘基不超過1個非I/C殘基，更佳地，每8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28或30個I/C殘基不超過1個非I/C殘基。

【0345】 聚I:C多核苷酸中之肌苷酸或胞苷酸(或其他)殘基可如此項技術中已知進行衍生化或修飾，條件為保持該聚I:C多核苷酸促進諸如干擾素之發炎性細胞介素產生的能力。衍生物或修飾之非限制性實例包括例如疊氮基修飾、氟修飾或使用硫酯(或類似)鍵代替天然磷酸二酯鍵以增強在活體內之穩定性。聚I:C多核苷酸亦可藉由例如使分子與帶正電之聚離胺酸及羧基甲基纖維素或與帶正電之合成肽複合進行修飾以例如增強其對活體內降解之抗性。

【0346】 在某些實施例中，T細胞活化治療劑包含聚I:C多核苷酸作為佐劑，諸如且不限於26聚體去氧肌苷/胞嘧啶合成多核苷酸。在某些實施例中，T細胞活化治療劑包含dIdC DNA多核苷酸作為佐劑。

【0347】 聚I:C多核苷酸將通常以每單位劑量組合物約0.001 mg至1 mg之量包括在本發明之組合物中。在某些實施例中，聚I:C多核苷酸之量將為約0.04 mg/mL T細胞活化治療組合物。

【0348】 T細胞活化治療劑之其他合適佐劑為活化或增加TLR2之活性的佐劑。如本文所用，「活化」或「增加」TLR之活性的佐劑包括充當TLR促效劑之任何佐劑，在一些實施例中，基於脂質之佐劑。此外，活化或增加TLR2之活性涵蓋其呈任何單體、均二聚或雜二聚形式之活化，且尤其包括呈與TLR1或TLR6之雜二聚體(亦即，TLR1/2或TLR2/6)的TLR2活化。

【0349】活化或增加TLR2之活性之佐劑的一例示性實施例為包含至少一種脂質部分或脂質組分之基於脂質之佐劑。

【0350】如本文所用，表述「脂質部分」或「脂質組分」係指任何脂肪酸(例如脂肪醯基)或其衍生物，包括例如三酸甘油酯、二酸甘油酯及單酸甘油酯。示例性脂肪酸包括(但不限於)軟脂醯基、肉豆蔻醯基、硬脂醯基及癸醯基或任何C2至C30飽和或不飽和脂肪醯基，較佳任何C14至C22飽和或不飽和脂肪醯基且更佳C16飽和或不飽和脂肪醯基。因此，如本文中所提及，表述「基於脂質之佐劑」涵蓋包含脂肪醯基之任何佐劑或其衍生物。

【0351】基於脂質之佐劑含有最少至少一種脂質部分或合成/半合成脂質部分類似物，其可偶合至胺基酸、寡肽或其他分子(例如碳水化合物、聚糖、多醣、生物素、若丹明等)上。因此，不限於，基於脂質之佐劑可為例如脂胺基酸、脂肽、脂聚糖、脂多醣或脂磷壁酸。

【0352】此外，脂質部分或含有脂質部分之結構可共價或非共價偶合至抗原以產生具有內置佐劑特性之抗原化合物。例如且不限於，基於脂質之部分可包含陽離子(例如鎳)以提供正電荷用於非共價偶合。

【0353】在一些實施例中，脂質部分或脂質組分可為天然存在的，諸如來自革蘭氏陽性或革蘭氏陰性細菌、綠色紅假單胞菌(*Rhodopseudomonas viridis*)或黴漿菌(*mycoplasma*)之細胞壁組分(例如脂蛋白)。在其他實施例中，脂質部分或脂質組分可為合成或半合成的。

【0354】基於脂質之佐劑可包含棕櫚酸(PAM)作為佐劑之脂質部分或組分中之至少一者。此類基於脂質之佐劑在本文中稱為「棕櫚酸佐劑」。棕櫚酸係在大腸桿菌之免疫反應性勃氏脂蛋白中發現的低分子量脂

質。棕櫚酸之其他常見化學名稱包括例如IUPAC命名法中之十六烷酸及1-十五烷甲酸。棕櫚酸之分子式為 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CO}_2\text{H}$ 。如熟習此項技術者所瞭解，棕櫚酸之脂質鏈可改變。在本文中可用作棕櫚酸佐劑之示例性化合物及其合成方法描述於例如美國專利公開案US 2008/0233143、US 2010/0129385及US 2011/0200632 (各全文併入本文中以達成所有預期目的)中。

【0355】 如上一般針對脂質部分所述，棕櫚酸佐劑含有最少至少一種棕櫚酸部分，其可偶合至胺基酸、寡肽或其他分子上。棕櫚酸部分或含有棕櫚酸之結構可共價或非共價偶合至抗原以產生具有內置佐劑特性之抗原化合物。棕櫚酸部分或含有棕櫚酸之化學結構可結合於半胱胺酸肽(Cys)以允許佐劑呈多種結構組態，包括線性及分支結構。半胱胺酸殘基通常藉由C端之諸如絲胺酸(Ser)及/或離胺酸(Lys)之極性殘基延長，以產生具有改善溶解性之佐劑化合物。含有棕櫚酸之佐劑化合物可與抗原混合，經由非共價相互作用與抗原締合，或者直接或藉助於連接子/間隔子共價連接至抗原，以產生增強之免疫反應。最通常，兩個棕櫚酸部分附接至甘油基骨架及半胱胺酸殘基，產生二軟脂醯基-S-甘油基-半胱胺酸(PAM2Cys)或三棕櫚醯基-S-甘油基-半胱胺酸(PAM3Cys)，其亦可呈如上所述之多種組態使用。

【0356】 因此，在一實施例中，組合物之佐劑可包含棕櫚酸部分或組分。棕櫚酸部分可經修飾或操縱以提高其在活體外或在活體內之穩定性，增強其與受體之結合(諸如如下所述之toll樣受體)或增強其生物活性。

【0357】 在一特定實施例中，棕櫚酸佐劑可包含PAM2Cys或

PAM3Cys。在另一特定實施例中，棕櫚酸佐劑可為Pam-2-Cys-Ser-(Lys)4 (SEQ ID NO: 20)或Pam-3-Cys-Ser-(Lys)4 (SEQ ID NO: 21)。此類棕櫚酸佐劑例如可作為來自EMC Microcollections GmbH (Germany)及InvivoGen (San Diego, California, USA)之研究試劑獲得。亦自EMC Microcollections獲得Pam-2-Cys-Ser-(Lys)4 (SEQ ID NO: 20)及Pam-3-Cys-Ser-(Lys)4(SEQ ID NO: 21)之多種類似物，包括標記類似物。

【0358】本發明之組合物可包含如上所述之佐劑與至少一種其他合適佐劑組合。至少一種其他佐劑之示例性實施例涵蓋但決不限於有機及無機化合物、聚合物、蛋白質、肽、來自合成、非生物或生物來源之糖(包括(但不限於)病毒顆粒、病毒樣粒子、病毒及細菌或其組分)。[0189]相容佐劑之其他實例可包括(不限於)趨化因子、Toll樣受體促效劑、群落刺激因子、細胞介素、1018 ISS、鋁鹽、Amplivax、AS04、AS15、ABM2、Adjumer、Algammulin、AS01 B、AS02 (SBASA)、AS02A、BCG、骨化三醇、聚葡萄糖胺糖、霍亂毒素、CP-870,893、CpG、聚IC、CyaA、溴化二甲基二(十八烷基)銨(DDA)、鄰苯二甲酸二丁酯(DBP)、dSLIM、 γ 菊糖、GM-CSF、GMDP、甘油、IC30、IC31、咪喹莫特(Imiquimod)、ImuFact IMP321、IS Patch、ISCOM、ISCOMATRIX、JuvImmune、LipoVac、LPS、脂質核心蛋白、MF59、單磷醯基脂質A、Montanide® IMS1312、基於Montanide®之佐劑、OK-432、OM-174、OM-197-MP-EC、ONTAK、PepTel載體系統、其他基於軟脂醯基之分子、PLG微米粒子、雷西莫特(resiquimod)、角鯊烯、SLR172、YF-17 DBCG、QS21、QuilA、P1005、泊洛沙姆(Poloxamer)、皂素、合成多核苷酸、酵母聚糖、百日咳毒素。

【0359】 因此，組合物可包含一或多種醫藥學上可接受之佐劑。在一些實施例中，一或多種存活素抗原或額外抗原中之至少一者可與佐劑中之至少一者偶合。

【0360】 所用佐劑之量視抗原之量及佐劑類型而定。熟習此項技術者容易藉由實證檢驗確定特定應用中所需要的佐劑之量。

【0361】 (v)脂質體

【0362】 在一些實施例中，本發明之T細胞活化治療劑包含脂質體。在一特定實施例中，當T細胞活化治療組合物包含如本文所述之包含疏水性物質之連續相的載劑時包括脂質體。

【0363】 脂質體代表本發明涵蓋之佐劑系統之一特定實施例。在某些實施例中，然而，本發明之T細胞活化治療劑可不包括脂質體。例如在T細胞活化治療劑之一些實施例中，一或多種存活素抗原可與任何合適之活性劑、額外治療劑及/或用於遞送存活素抗原至個體之佐劑組合。

【0364】 脂質體之一般論述可見於Gregoriadis G. Immunol. Today, 11:89-97, 1990；及Frezard, F., Braz. J. Med. Bio. Res., 32:181-189, 1999，各以全文引用的方式併入本文中以達成所有目的。如本文所用且在申請專利範圍中，術語「脂質體」意欲涵蓋如上所述之所有此類囊泡結構，包括(但不限於)此項技術中描述為「類脂質體」、「轉移體」及「病毒顆粒」之結構。

【0365】 雖然任何脂質體可用於本發明中，包括由古菌脂質製成之脂質體，特別適用之脂質體使用磷脂及未酯化膽固醇於脂質體調配物中。當使用膽固醇時，膽固醇可以足夠使脂質穩定在脂膜中之任何量使用。在一實施例中，膽固醇可以等於磷脂重量約10%之量(例如10:1 w/w之

DOPC:膽固醇比率)使用。膽固醇可穩定磷脂小泡粒子之形成。若使用除膽固醇外之化合物，則熟習此項技術者容易確定所需之量。熟習此項技術者已知其他脂質體穩定之化合物。舉例而言，飽和磷脂產生具有較高轉變溫度，表明穩定性增加之脂質體。

【0366】 較佳用於製備脂質體之磷脂為選自由以下組成之群的具有至少一種頭基之磷脂：磷酸甘油、磷酸乙醇胺、磷絲胺酸、磷酸膽鹼(例如DOPC；1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼)及磷酸肌醇。更佳為包含係94-100%磷脂醯膽鹼之脂質的脂質體。此類脂質可以卵磷脂Phospholipon® 90G購得。當脂質體調配物中亦使用未酯化膽固醇時，膽固醇以等於磷脂重量約10%之量使用。若除膽固醇外之化合物用於穩定脂質體，則熟習此項技術者容易確定組合物中所需要之量。在一實施例中，磷脂可為磷脂醯膽鹼或包含磷脂醯膽鹼之脂質之混合物。在一實施例中，脂質可為DOPC (Lipoid GmbH, Germany)或Lipoid S100卵磷脂。在一些實施例中，可使用DOPC與未酯化膽固醇之混合物。在其他實施例中，可使用Lipoid S100卵磷脂與未酯化膽固醇之混合物。

【0367】 可例如藉由使用天然脂質、合成脂質、鞘脂、醚脂質、固醇、心磷脂、陽離子型脂質及經聚(乙二醇)及其他聚合物修飾之脂質獲得脂質體組合物。合成脂質可包括以下脂肪酸成分；十二醯基、肉豆蔻醯基、軟脂醯基、硬脂醯基、花生醯基、油醯基、亞油醯基、芥醯基或此等脂肪酸之組合。

【0368】 在一實施例中，本文所揭示之組合物包含約120 mg/ml DOPC及約12 mg/ml膽固醇。

【0369】 另一常見磷脂為鞘磷脂。鞘磷脂含有神經鞘胺醇、具有長

不飽和烴鏈之胺基醇。脂肪醯基側鏈藉由醯胺鍵連接至神經鞘胺醇之胺基，以形成腦醯胺。神經鞘胺醇之羥基酯化成磷酸膽鹼。如磷酸甘油酯一般，鞘磷脂為兩親媒性的。

【0370】 亦可使用之卵磷脂係通常來源於雞蛋、羊絨、大豆及其他蔬菜來源之磷脂之天然混合物。

【0371】 所有此等及其他磷脂可用於實施本發明。在多種其他供應商之間，磷脂可購自例如Avanti lipids (Alabaster, AL, USA)、Lipoid LLC (Newark, NJ, USA)及Lipoid GmbH (Germany)。

【0372】 存在可形成之多種基於脂質之結構，且本文所揭示之組合物可包含單一類型之基於脂質之結構或包含不同類型基於脂質之結構之混合物。

【0373】 在一實施例中，基於脂質之結構可為閉合囊泡結構。其通常為球形或實質上球形，但可形成其他形狀及構形且不排除。「實質上球形」意謂基於脂質之結構接近球形，但可不為完美球體。閉合囊泡結構之其他形狀包括(但不限於)橢圓形、長橢圓形、正方形、矩形、三角形、立方體、新月形、菱形、圓柱形或半球形。可形成任何有規則或不規則之形狀。閉合囊泡結構之示例性實施例包括(但不限於)單層囊泡結構(例如微胞或相反微胞)及雙層囊泡結構(例如單層或多層囊泡)或其多種組合。

【0374】 「單層」意謂脂質不形成雙層，而實際上保持呈疏水性部分在一側上取向且親水性部分在相對側上取向之層。「雙層」意謂脂質形成兩層片狀，諸如各層疏水性部分在內部朝向雙層中心取向且親水性部分在外部取向。或者，相反組態亦為可能，亦即各層親水性部分在內部朝向雙層中心取向且疏水性部分在外部取向。術語「多層」意謂涵蓋單層及雙

層結構之任何組合。採用之形式可視所用特定脂質及組合物無水或含水而定。

【0375】 閉合囊泡結構可由單層脂質膜、雙層脂質膜及/或多層脂質膜形成。脂質膜主要由脂質構成及形成，但亦可包含其他組分。例如且不限於，脂膜可包括穩定化分子以幫助維持結構完整性。可使用任何可利用之穩定化分子。

【0376】 在一實施例中，基於脂質之結構為雙層囊泡結構，諸如脂質體。脂質體為完全閉合之脂質雙層膜。脂質體可為單層囊泡(具有單個雙層膜)、多層囊泡(特徵在於多膜雙層，其中各雙層可與下一雙層由水層分離或不分離)或多囊泡之囊泡(在囊泡內具有一或多個囊泡)。在一實施例中，當本文中之組合物含水時基於脂質之結構為脂質體。

【0377】 在一實施例中，一或多個基於脂質之結構由單層脂質組件構成。存在各種類型之可形成之此等基於脂質之結構，且本文所揭示之組合物可包含具有單層脂質組件的單一類型之基於脂質之結構，或包含不同此類基於脂質之結構之混合物。

【0378】 在一實施例中，當本文中之組合物無水時本文中之基於脂質之結構具有單層脂質組件。

【0379】 在一實施例中，具有單層脂質組件之基於脂質之結構部分或完全包圍T細胞活化治療劑。舉例而言，基於脂質之結構可為包圍T細胞活化治療劑之閉合囊泡結構。在一實施例中，囊泡結構中脂質之疏水性部分向外朝向疏水性載劑取向。

【0380】 作為另一實例，具有單層脂質組件之一或多個基於脂質之結構可包含脂質聚集體，其中脂質之疏水性部分向外朝向疏水性載劑取向

且脂質之親水性部分聚集為核心。此等結構不一定形成連續脂質層膜。在一實施例中，其為單體脂質之聚集體。

【0381】 在一實施例中，具有單層脂質組件之一或多個基於脂質之結構包含相反微胞。水溶液中之典型微胞與親水性部分形成聚集體，該等親水性部分與周圍水溶液接觸，使疏水性部分隔離在微胞中心中。相比之下，在疏水性載劑中，反向/相反微胞與疏水性部分形成，該等疏水性部分接觸周圍疏水性溶液，將親水性部分隔離在微胞中心中。球形反微胞可將具有親水性親和力之T細胞活化治療劑包裝在其核心(亦即，內部環境)內。

【0382】 不受限制，具有單層脂質組件之基於脂質之結構的尺寸在直徑上在2 nm (20Å)至20 nm (200Å)之範圍內。在一實施例中，具有單層脂質組件之基於脂質之結構的尺寸在直徑上介於約2 nm至約10 nm之範圍內。在一實施例中，具有單層脂質組件之基於脂質之結構的尺寸在直徑上為約2 nm、3 nm、4 nm、5 nm、6 nm、about 7 nm、約8 nm、約9 nm或約10 nm。在一實施例中，基於脂質之結構之最大直徑為約4 nm或約6 nm。在一實施例中，此等尺寸之基於脂質之結構為反微胞。

【0383】 在一實施例中，在溶解於疏水性載劑中之後T細胞活化治療劑中之一或多者在基於脂質之結構內部。「在基於脂質之結構內部」意謂T細胞活化治療劑實質上由脂質包圍，使得T細胞活化治療劑之親水性組分不暴露於疏水性載劑。在一實施例中，在基於脂質之結構內部的T細胞活化治療劑主要為親水性的。

【0384】 在一實施例中，在溶解於疏水性載劑中之後T細胞活化治療劑中之一或多者在基於脂質之結構外部。「在基於脂質之結構外部」意

謂T細胞活化治療劑不隔離在脂膜或組件內部之環境內。在一實施例中，在基於脂質之結構外部的T細胞活化治療劑主要為疏水性的。

【0385】 (vi)載劑

【0386】 在一些實施例中，本發明之T細胞活化治療劑包含醫藥學上可接受之載劑、賦形劑或稀釋劑。如本文所用，醫藥學上可接受之載劑係指適合於遞送本發明之T細胞活化治療組合物且可用於本發明方法中的任何物質。

【0387】 可用於本發明之T細胞活化治療劑之載劑為此項技術中所熟知，且包括但決不限於例如水、磷酸鹽緩衝鹽水、林格氏溶液(Ringer's solution)、右旋糖溶液、含血清溶液、漢克氏溶液(Hank's solution)、其他水性生理平衡溶液、水包油乳化液、油、油包水乳液、酯、聚(乙烯-乙酸乙烯酯)、乳酸與乙醇酸之共聚物、聚(乳酸)、明膠、膠原蛋白基質、多醣、聚(D,L丙交酯)、聚(蘋果酸)、聚(己內酯)、纖維素、白蛋白、澱粉、酪蛋白、聚葡萄糖、聚酯、乙醇、甲基丙烯酸酯、聚胺酯、聚乙烯、乙烯基聚合物、二醇、甲狀球蛋白、諸如人類血清白蛋白之白蛋白、破傷風類毒素、諸如聚L-離胺酸、聚L-麩胺酸之聚胺基酸、流感、B型肝炎病毒核心蛋白、其混合物及其類似物。參見例如Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 2000, Gennaro, A R編輯, Eaton, Pa.: Mack Publishing Co。

【0388】 在一特定實施例中，T細胞活化治療組合物之載劑為包含疏水性物質、較佳液體疏水性物質之連續相的載劑。連續相可為基本上純疏水性物質或疏水性物質之混合物。另外，載劑可為水於疏水性物質中之乳液或水於疏水性物質之混合物中之乳液，條件為疏水性物質構成連續

相。此外，在另一實施例中，載劑可充當佐劑。

【0389】 可用於如本文所述之組合物中的疏水性物質為醫藥學上及/或免疫學上可接受之疏水性物質。載劑較佳為液體，但在大氣溫度下非液體之某些疏水性物質可例如藉由升溫而液化，且亦可用於本發明。在一個實施例中，疏水性載劑可為磷酸鹽緩衝鹽水/弗氏不完全佐劑(PBS/FIA)乳液。

【0390】 油或油包水乳液為尤其適用於本發明之T細胞活化治療組合物的載劑。油應為醫藥學上及/或免疫學上可接受的。合適油包括例如礦物油(尤其輕或低黏度礦物油，諸如Drakeol® 6VR)、植物油(例如大豆油)、堅果油(例如花生油)或其混合物。因此，在一特定實施例中，載劑為疏水性物質，諸如植物油、堅果油或礦物油。亦可使用動物脂肪及人造疏水性聚合物質，尤其在大氣溫度下為液體或相對容易液化之彼等物質。

【0391】 為增強癌症T細胞活化治療劑之免疫原性，IMV Inc.已開發一種輔助T細胞活化治療平台，其經設計以促進對肽抗原之強烈及穩固免疫反應。DepoVax™ (DPX)係一種油包脂質體調配物，其包括TLR-佐劑及通用T-輔助肽，可用任何抗原決定基或抗原決定基之混合物調配，以誘導細胞毒性T淋巴細胞介導之免疫反應(Karkada等人, J Immunother 33(3):2050-261, 2010)及/或體液性免疫反應。DPX在免疫接種部位形成強儲槽，此延長抗原暴露於免疫系統。

【0392】 已顯示用DPX中之肽進行單次疫苗接種引起的免疫反應與用其他習知調配物中之肽進行多次疫苗接種所產生的免疫反應相當或更佳，該等習知調配物諸如Montanide ISA51 VG乳液，類似於作為第一代基於乳液之T細胞活化治療平台的VacciMax (Daftarian等人, J Transl Med

5:26, 2007 ; Mansour等人, J Transl Med 5:20, 2007)。稱為DPX-0907的基於DepoVax™之肽-T細胞活化治療劑近來已完成在乳癌、卵巢癌及前列腺癌患者中之I期臨床試驗，此證明此等晚期患者中之安全性及免疫原性(Berinstein等人, J Transl Med 10(1): 156, 2012)。

【0393】 因此，在一特定實施例中，本發明之T細胞活化治療劑之載劑可為IMV, Inc之基於脂質體之佐劑系統。不同於依賴於包覆含有抗原及佐劑之水滴之油的基於油包水乳液之T細胞活化治療劑，基於DepoVax™之調配物依賴於脂質體以促進抗原及佐劑直接併入油中，無需乳化。此方法之優點包括：(1)增強親水性抗原/佐劑於油稀釋劑中之溶解性，親水性抗原/佐劑在水基稀釋劑中通常具有最大溶解度；及(2)消除在T細胞活化治療劑投與之前繁瑣的乳化程序。

【0394】 在一較佳實施例中，載劑為礦物油或為二縮甘露醇油酸酯/礦物油溶液，諸如以Montanide® ISA 51 (SEPPIC, France)市售者。

【0395】 在某些實施例中，組合物可基本上不含水(例如「無水」。此等「無水」組合物之疏水性載劑仍可含有少量水，條件為水存在於載劑之非連續相中。舉例而言，組合物之個別組分可具有未藉由諸如凍乾或蒸發之製程完全移除的結合水，且某些疏水性載劑可含有少量水溶解於其中。一般而言，「無水」之本發明組合物含有例如以組合物之載劑組分之總重量計少於約10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.1%、0.05%或0.01%重量/重量水。

【0396】 製備示例性T細胞活化治療組合物之方法

【0397】 T細胞活化治療組合物可藉由關於本發明之技術中已知之方法製備。在下文描述(不限於)用於製備本文所揭示之組合物的示例性實

施例。

【0398】 在某些實施例中，本發明之T細胞活化治療組合物為包含至少一種存活素抗原、脂質體及包含疏水性物質之連續相之載劑的組合物。

【0399】 用於製造脂質體之方法為此項技術中所熟知。參見例如Gregoriadis (1990)及Frezard (1999)，均在前面引用。用於製造脂質體之任何適合之方法可用於實施本發明，或可自商業來源獲得脂質體。脂質體通常藉由使將形成脂質雙層之脂質體組分(例如磷脂及膽固醇)與水溶液水合來製備，該水溶液可為純水或一或多種組分溶解於水中之溶液，例如磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)、無磷酸鹽鹽水或任何其他生理相容之水溶液。

【0400】 在一實施例中，脂質體組分或脂質體組分之混合物，諸如磷脂(例如Phospholipon® 90G)或DOPC及膽固醇，可溶解於諸如氯仿與甲醇之混合物的有機溶劑中，接著過濾(例如PTFE 0.2 μm 過濾器)且例如藉由旋轉蒸發進行乾燥，以移除溶劑。所得脂質混合物之水合可藉由例如將脂質混合物注射至水溶液中或對脂質混合物及水溶液進行音波處理來實現。在形成脂質體期間，脂質體組分形成單個雙層(單層)或多個雙層(多層)，該等雙層包圍一定體積之與脂質體組分進行水合之水溶液。

【0401】 在一些實施例中，接著諸如藉由冷凍乾燥或凍乾使脂質體脫水。

【0402】 在一些實施例中，脂質體與適當載劑、諸如包含連續疏水相之載劑組合。此可以多種方式來進行。

【0403】 若載劑僅僅由疏水性物質或疏水性物質之混合物構成(例如使用100%礦物油載劑)，則脂質體可簡單地與疏水性物質混合，或若存在

多種疏水性物質，則與該等疏水性物質中之任一者或其組合混合。

【0404】 若實際上包含疏水性物質之連續相之載劑含有不連續水相，則載劑將通常採取水相於疏水相中之乳液形式，諸如油包水乳液。此類組合物可含有乳化劑以穩定化乳液且促進脂質體之均勻分佈。關於此，乳化劑可為適用的，即使使用無水載劑，以促進脂質體在載劑中之均勻分佈。典型乳化劑包括二縮甘露醇油酸酯(Arlacel™ A)、卵磷脂(例如S100卵磷脂)、磷脂、Tween™ 80及Spans™ 20、80、83及85。通常，疏水性物質與乳化劑之體積比(v/v)在約5:1至約15:1之範圍內，以約10:1之比率為較佳。

【0405】 在一些實施例中，脂質體可添加至成品乳液，或在乳化之前其可存在於水相或疏水相中。

【0406】 存活素抗原或如本文所述之額外抗原可在調配製程之多個不同階段引入。超過一種類型抗原可併入至組合物中。如此部分中使用，術語「抗原」按常規使用且可指如本文所述之存活素抗原、一或多種存活素抗原、如本文所述之額外抗原或一或多種額外抗原、或其任何組合。該術語通常用於描述任何抗原如何在本發明之T細胞活化治療組合物中調配。術語「抗原」涵蓋單數形式「抗原」與複數種「抗原」。不需要所有抗原均以相同方式引入T細胞活化治療組合物中。

【0407】 在一些實施例中，抗原存在於用於使該等用以形成脂質體之脂質雙層(例如磷脂及膽固醇)之組分水合的水溶液中。在此情況下，抗原將囊封在脂質體中，存在於其水性內部中。若所得脂質體不進行洗滌或乾燥，使得存在殘餘水溶液，最終與包含疏水性物質之連續相之載劑混合，則在最終產物中額外抗原可存在於脂質體外部。在相關技術中，在用

水溶液水合之前，抗原可與用以形成脂質體之脂質雙層之組分混合。抗原亦可添加至預先形成之脂質體中，在此情況下，抗原可主動負載至脂質體中或結合於脂質體表面，或抗原可保持在脂質體外部。在此類實施例中，在添加抗原之前，預先形成之脂質體可為空脂質體(例如不含囊封之抗原或基於脂質之佐劑)，或預先形成之脂質體可含有併入至脂質體中或與脂質體締合的基於脂質之佐劑。此等步驟較佳可在與包含疏水性物質之連續相之載劑混合之前進行。

【0408】 在替代方法中，實際上抗原可與包含疏水性物質之連續相之載劑在載劑與脂質體組合之前、期間或之後混合。若載劑為乳液，則抗原可在乳化之前與水相或疏水相中之任一者或兩者混合。或者，抗原可在乳化之後與載劑混合。

【0409】 可使用如上所述將抗原與載劑組合以及將抗原囊封在脂質體中之技術，以使得抗原存在於脂質體內及包含疏水性物質之連續相之載劑中。

【0410】 在包括如本文所述之組合物之T-輔助抗原決定基及/或佐劑的實施例中，上述用於將抗原引入至組合物中之程序亦適用於如本文所述之組合物之T-輔助抗原決定基及/或佐劑。亦即，在載劑與脂質體組合之前、期間或之後T-輔助抗原決定基及/或佐劑可引入至例如以下各項中之一或多者中：(1)用於使該等用以形成脂質體之脂質雙層之組分水合的水溶液；(2)在脂質體之脂質雙層形成之後的水溶液；(3)用以形成脂質體之脂質雙層之組分；或(4)包含疏水性物質之連續相之載劑。若載劑為乳液，則T-輔助抗原決定基及/或佐劑可在乳化之前、期間或之後與水相或疏水相中之任一者或兩者混合。

【0411】 可使用將T-輔助抗原決定基及/或佐劑與載劑組合以及將此等組分囊封在脂質體中或將此等組分添加至脂質體之技術，以使得T-輔助抗原決定基及/或佐劑存在於脂質體內部及/或外部以及包含疏水性物質之連續相之載劑中。

【0412】 T-輔助抗原決定基及/或佐劑可連同抗原在相同加工步驟併入組合物中，或在不同加工步驟分開併入組合物中。舉例而言，抗原、T-輔助抗原決定基及佐劑可均存在於用於使形成脂質雙層之脂質體組分水合的水溶液中，以使得所有三種組分囊封在脂質體中。或者，抗原及T-輔助抗原決定基可囊封在脂質體中，且佐劑與包含疏水性物質之連續相之載劑混合。在另一實施例中，可在抗原囊封步驟之後，藉由使脂質體-抗原製劑通過人工微型擠出機且接著將所得脂質體-抗原製劑與基於脂質之佐劑混合於例如磷酸鹽緩衝液中來將T-輔助抗原決定基及/或佐劑併入至組合物中。亦可在形成脂質體之後，單獨或連同抗原一起，將T-輔助抗原決定基及/或佐劑併入至組合物中，以使得T-輔助抗原決定基及佐劑可與脂質體締合或保持在脂質體外部。T-輔助抗原決定基及/或佐劑亦可在添加抗原之前併入至脂質體中或與脂質體締合，其中抗原保持在預先形成之脂質體外部或藉由進一步加工來負載至脂質體/與脂質體締合。在此類實施例中，所得製劑可凍乾且接著在包含疏水性物質之連續相之載劑中復原。應瞭解，許多此類組合係可能的。

【0413】 若組合物含有一或多種其他佐劑，則此類額外佐劑可以與上文針對佐劑所述類似之方式或藉由組合此類方法中之若干方法來併入組合物中，視額外佐劑而定。

【0414】 諸如糖、抗氧化劑或防腐劑之穩定劑可添加至此類組合物

中，該等穩定劑維持抗原、佐劑、脂質體或連續疏水性載劑之生物活性或提高其化學穩定性以延長其存放期。

【0415】 在一些實施例中，可使用抗原/佐劑混合物，在此情況下抗原及佐劑同時併入至組合物中。「抗原/佐劑混合物」係指抗原及佐劑至少在併入組合物中之前處於相同稀釋劑中的實施例。抗原/佐劑混合物中之抗原及佐劑可但不一定以化學方式連接，諸如藉由共價鍵連接。

【0416】 在一個用於製備組合物之實施例中，脂質製劑藉由在平緩震盪下使脂質或脂質混合物溶解於合適溶劑中來製備。接著T細胞活化治療劑可直接(例如添加活性劑及/或免疫調節劑)添加至脂質製劑中，或藉由首先製備T細胞活化治療劑溶解於合適溶劑中之原液再添加。在某些實施例中，在平緩震盪下將T細胞活化治療劑添加至脂質製劑或與脂質製劑組合。接著使T細胞活化治療製劑乾燥以形成乾餅狀物，且使乾餅狀物再懸浮於疏水性載劑中。乾燥步驟可藉由此項技術中已知之多種方式進行，諸如冷凍乾燥、凍乾、旋轉蒸發、加壓蒸發等。亦可使用不損害組分完整性之低熱乾燥。

【0417】 「合適溶劑」為能夠溶解相應組分(例如脂質、藥劑或兩者)之溶劑且可藉由技術人員確定。

【0418】 關於脂質，在一個實施例中，合適溶劑為極性質子性溶劑，諸如醇(例如第三丁醇、正丁醇、異丙醇、正丙醇、乙醇或甲醇)、水、乙酸鹽緩衝液、甲酸或氯仿。在一實施例中，合適溶劑為40%第三丁醇。技術人員可視待使用之脂質來確定其他合適溶劑。

【0419】 在製備組合物之一特定實施例中，可藉由在室溫下在300 RPM下震盪直至溶解，使含有10:1比率(w:w)之DOPC及膽固醇之脂質混

合物(Lipoid GmbH, Germany)溶解於40%第三丁醇中。活性劑/免疫調節劑原液可在DMSO中製備，且用40%第三丁醇稀釋，接著與溶解之脂質-混合物混合。接著可在300 RPM下震盪約5分鐘，將T細胞活化治療劑原液添加至溶解之脂質-混合物。接著可使製劑冷凍乾燥。接著冷凍乾燥之餅狀物可在Montanide® ISA 51 VG (SEPPIC, France)中復原，以獲得澄清溶液。通常，冷凍乾燥之餅狀物儲存(例如在-20°C下)直至投與時間，此時將冷凍乾燥之餅狀物在疏水性載劑中復原。

【0420】 在另一實施例中，為製備組合物，使T細胞活化治療劑溶解於具有S100脂質及膽固醇(Lipoid, Germany)之磷酸鈉或乙酸鈉緩衝液中。接著凍乾此等組分以形成乾餅狀物。在臨注射時，使乾餅狀物再懸浮於ISA51 VG油(SEPPIC, France)中以製備無水油基組合物。

【0421】 在另一實施例中，為製備組合物，使活性劑及/或免疫調節劑溶解於具有DOPC及膽固醇(Lipoid, Germany)之磷酸鈉或乙酸鈉緩衝液中。接著凍乾此等組分以形成乾餅狀物。在臨注射時，使乾餅狀物再懸浮於ISA51 VG油(SEPPIC, France)中以製備無水油基組合物。

【0422】 在另一實施例中，為製備組合物，將乾餅狀物與脂質/膽固醇奈米粒子(尺寸 ≤ 110 nm)混合於磷酸鈉或乙酸鈉緩衝液(100 mM, pH 6.0)中。脂質可為DOPC。接著凍乾該等組分以形成乾餅狀物。在臨注射時，使乾餅狀物再懸浮於ISA51 VG油(SEPPIC, France)中以製備無水油基組合物。

【0423】 在一些實施例中，疏水性載劑中適宜包括乳化劑以在乾餅狀物之組分再懸浮於疏水性載劑中幫助穩定化該等組分。乳化劑以足夠使活性劑及/或免疫調節劑與脂質之乾混合物再懸浮於疏水性載劑中且維持

活性劑及/或免疫調節劑及脂質處於溶解於疏水性載劑中之狀態的量提供。舉例而言，乳化劑可以疏水性載劑之約5%至約15%重量/重量或重量/體積存在。

【0424】 諸如糖、抗氧化劑或防腐劑之穩定劑可添加至組合物中，該等穩定劑維持任一組分之生物活性或提高其化學穩定性以延長其存放期。

【0425】 在一實施例中，用於製備本文中之組合物的方法可包括WO 2009/043165中所揭示之彼等方法，視本發明之上下文需要。在此等情況下，如本文所述之活性劑及/或免疫調節劑將以與WO 2009/043165中針對抗原所述類似之方式併入至組合物中。

【0426】 在一實施例中，用於製備本文中之組合物的方法可包括涉及尺寸化脂質囊泡粒子之使用的公開案PCT/CA2017/051335及PCT/CA2017/051336中所揭示之彼等方法。在此等情況下，如本文所述之活性劑及/或免疫調節劑將以與公開案PCT/CA2017/051335及PCT/CA2017/051336中針對治療劑所述類似之方式併入至組合物中，兩個公開案均以全文引用的方式併入本文中以達成所有預期目的。

【0427】 在一特定實施例中，本發明之T細胞活化治療劑為DPX-Survivac。一種製備DPX-Survivac之例示性方法如下。然而，應瞭解，本文中亦涵蓋替代實施例，諸如抗原、佐劑及T-輔助抗原決定基可在T細胞活化治療劑之調配過程中之任何階段以任何次序引入且最終可在脂質體內部、外部或內部與外部發現的上述實施例。

【0428】 在某些實施例中，為製備DPX-Survivac，藉由在存活素抗原及佐劑存在下混合脂質組分及使其水合之製程，在水性緩衝液中用五種

存活素抗原(SEQ ID No: 3、5、7、8及9)、佐劑(例如聚I:C或聚dIdC多核苷酸)及脂質體(DOPC及膽固醇)形成複合物，擠壓以實現一定粒徑，可無菌過濾，接著填充至小瓶中且凍乾成乾餅狀物。接著在注射之前使乾餅狀物再懸浮於疏水性載劑Montanide ISA51 VG中。此例示性製備方法可用於存活素抗原、任何合適佐劑及任何合適T-輔助抗原決定基之任何組合。

【0429】 在某些實施例中，為製備DPX-Survivac，將五種存活素抗原(SEQ ID No: 3、5、7、8及9)及佐劑(例如聚I:C或聚dIdC多核苷酸)添加至先前尺寸化之脂質體(<100 nm，pdi <0.1)中，無菌過濾且冷凍乾燥。接著在注射之前使乾餅狀物再懸浮於疏水性載劑Montanide ISA51 VG中。此例示性製備方法可用於存活素抗原、任何合適佐劑及任何合適T-輔助抗原決定基之任何組合。

【0430】 在一些實施例中，包含疏水性物質之連續相之載劑本身可具有佐劑活性。不完全弗氏佐劑及Montanide® ISA 51 VG係具有佐劑作用之疏水性載劑之實例。如本文及申請專利範圍中所用，當使用術語「佐劑」時，此意欲指示除包含疏水性物質之連續相之載劑提供之任何佐劑活性之外，亦存在佐劑。

【0431】 投與模式

【0432】 本文所揭示之方法包含向具有低腫瘤負荷之個體投與至少一種活性劑(例如干擾DNA複製之藥劑及/或免疫調節劑)以及包含至少一種存活素抗原之T細胞活化治療劑(例如DPX-Survivac)。在某些實施例中，本發明進一步包含投與額外治療劑。在某些實施例中，活性劑及額外治療劑用相同方案投與。在某些實施例中，活性劑及額外治療劑用不同方案投與。

【0433】如本文所用，術語「組合」、「共同投與」或「組合投與」或其類似術語意謂涵蓋向單個患者投與活性劑及T細胞活化治療劑，且意欲包括藥劑及T細胞活化治療劑不一定藉由相同投與途徑或同時投與之情況。舉例而言，活性劑及T細胞活化治療劑可分開、依次或使用交替投與來投與。

【0434】在某些實施例中，活性劑在投與T細胞活化治療劑之前、同時及/或之後投與。

【0435】活性劑通常以足夠提供免疫調節作用之量投與。

【0436】在某些實施例中，活性劑以約5 mg至約5 g、約10 mg至約4.5 g、約15 mg至約4 g、約20 mg至約3.5 g、約25 mg至約3 g、約30 mg至約2.5 g、約35 mg至約2 g、約40 mg至約1.5 g、約45 mg至約1 g、約50 mg至約900 mg、約55 mg至約850 mg、約60 mg至約800 mg、約65 mg至約750 mg、約70 mg至約700 mg、約75 mg至約650 mg、約80 mg至約600 mg、約85 mg至約550 mg、約90 mg至約500 mg、約95 mg至約450 mg、約100 mg至約400 mg、約110 mg至約350 mg、約120 mg至約300 mg、約130 mg至約290 mg、約140 mg至約280 mg、約150 mg至約270 mg、約160 mg至約260 mg、約170 mg至約250 mg、約180 mg至約240 mg、約190 mg至約230 mg或約200 mg至約220 mg之劑量進行投與。在某些實施例中，活性劑以至少約5 mg、至少約10 mg、至少約15 mg、至少約20 mg、至少約25 mg、至少約30 mg、至少約40 mg、至少約50 mg、至少約60 mg、至少約70 mg、至少約75 mg、至少約80 mg、至少約90 mg、至少約100 mg、至少約125 mg、至少約150 mg、至少約175 mg、至少約200 mg、至少約225 mg、至少約250 mg、至少約275 mg、

至少約300 mg、至少約325 mg、至少約350 mg、至少約375 mg、至少約400 mg、至少約425 mg、至少約450 mg、至少約475 mg、至少約500 mg、至少約525 mg、至少約550 mg、至少約575 mg、至少約600 mg、至少約625 mg、至少約650 mg、至少約675 mg、至少約700 mg、至少約725 mg、至少約750 mg、至少約775 mg、至少約800 mg、至少約825 mg、至少約850 mg、至少約875 mg、至少約900 mg、至少約925 mg、至少約950 mg、至少約975 mg、至少約1 g、至少約2 g、至少約3 g、至少約4 g或至少約5g之劑量進行投與。

【0437】 在某些實施例中，「足夠提供免疫調節作用之量」可為「低劑量」之量。因此，在某些實施例中，本發明之方法涉及低劑量活性劑與T細胞活化治療劑組合使用。

【0438】 在涉及本發明之某些實施例時，「低劑量」可指少於約300 mg/m²、諸如約100-300 mg/m²之活性劑劑量。就每日投與而言，活性劑之「低劑量」介於約25-300毫克/天或約50-150毫克/天之間。在某些實施例中，日劑量為約100 mg活性劑。在某些實施例中，日劑量為每劑約50 mg活性劑。

【0439】 在涉及活性劑為烷基化劑環磷醯胺之本發明之某些實施例時，表述「低劑量」通常係指少於約300 mg/m²、諸如約100-300 mg/m²之環磷醯胺劑量。就每日投與而言，環磷醯胺之「低劑量」介於約25-300毫克/天或約50-150毫克/天之間。在某些實施例中，日劑量為約100 mg環磷醯胺。在某些實施例中，日劑量為每劑約50 mg環磷醯胺。

【0440】 如本文所涵蓋之其他活性劑的「低劑量」之量將為熟習此項技術者已知，或可藉由常規技能來確定。

【0441】 在某些實施例中，本發明之方法包含在第一次投與T細胞活化治療劑之前投與至少兩劑活性劑。結合此等實施例，活性劑可另外在用T細胞活化治療劑進行之治療過程之前、期間或之後的任何其他時間投與個體，只要在第一次投與T細胞活化治療劑之前投與至少兩劑即可。

【0442】 如本文所用，表述「至少兩劑」意欲涵蓋超過單次劑量之任何劑量次數。在一實施例中，至少兩劑包括2-50劑之間，更尤其2-28劑之間，且更尤其2-14劑之間。在一實施例中，至少兩劑為2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14劑。該至少兩劑可相隔任何合適時間量。在一特定實施例中，至少兩劑包含每天2劑，歷時一週時間，總計14劑。

【0443】 在某些實施例中，本發明之方法涉及投與至少兩劑活性劑，且接著隨後投與本發明之T細胞活化治療劑。「隨後投與」意謂活性劑之投與在第一次投與T細胞活化治療劑之前開始(例如在T細胞活化治療劑之前給與個體至少一劑或至少兩劑藥劑)。然而，如本文所述，可在投與T細胞活化治療劑開始之後繼續向個體投與活性劑。在替代實施例中，在第一次投與T細胞活化治療劑之前停止投與活性劑。

【0444】 在某些實施例中，本發明之方法使得第一劑活性劑在用T細胞活化治療劑對個體進行之任何治療之前。在一實施例中，第一次投與活性劑與第一次投與T細胞活化治療劑相隔之最少時間量可為足夠提供免疫調節作用之任何時間量。熟練技術人員將基於活性劑及個體來瞭解及考慮足夠提供免疫調節之時間量。

【0445】 在一些實施例中，在第一次投與T細胞活化治療劑之前至少12小時，且較佳在第一次投與T細胞活化治療劑之前至少兩天、四天或

六天投與第一劑活性劑。在另一實施例中，可在第一次投與T細胞活化治療劑之前約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14天或更多天提供第一劑活性劑。在一特定實施例中，在第一次投與T細胞活化治療劑之前1-4天進行活性劑之第一次投與。在某些實施例中，在第一次投與T細胞活化治療劑之前約一週進行活性劑之第一次投與。

【0446】 在第一劑活性劑之後，可以各劑之間任何所期望之時間間隔投與隨後劑量，只要在第一次投與T細胞活化治療劑之前投與至少兩劑藥劑即可。可在用T細胞活化治療劑進行之治療之前、期間或之後停止給與活性劑。

【0447】 在一實施例中，第一劑活性劑之後可為一或多個維持劑量。如本文所用，術語「維持劑量」意謂涵蓋以維持個體體內足夠量之藥劑及/或其活性代謝物(例如避免個體全身整體清除藥劑及/或其活性代謝物)的時間間隔及/或量給與的活性劑之劑量。藉由提供維持劑量，可在投與T細胞活化治療劑之過程之前、期間及/或之後延長及/或維持活性劑之免疫調節作用一段延長的時間。

【0448】 在某些實施例中，為維持免疫調節作用，活性劑可每日投與1、2、3、4或5次或更多次。在某些實施例中，為維持免疫調節作用，活性劑可每日投與1、2、3、4或5次或更多次，只要維持低劑量投與即可(例如多次較小劑量總計為所期望之低日劑量)。可在單個時間點，給與單劑(亦即，投與)活性劑，諸如吞服之丸劑。或者，可在短的連續時間內，諸如藉由靜脈內滴注，給與單劑活性劑。

【0449】 對於活性劑為環磷醯胺之本發明之實施例，適合例如每6-18小時提供維持劑量。熟習此項技術者將知道或可藉由常規技能確定環磷

醯胺以及如本文所涵蓋之其他活性劑之維持劑量的適當時間間隔。

【0450】 在一特定實施例中，在第一次投與T細胞活化治療劑之前投與活性劑至少連續兩天之時間。在此等天，可每日向個體投與活性劑至少1、2、3或4次或任何所需次數。在某些實施例中，可每日向個體投與活性劑至少1、2、3或4次或任何所需次數，以提供每日低劑量之量之藥劑。

【0451】 在另一實施例中，在第一次投與T細胞活化治療劑之前投與活性劑約一週時間。可在此一週時間期間提供多劑。在示例性實施例中，可每天、每兩天或以提供所述維持劑量之任何合適之時間間隔投與活性劑。舉例而言，在某些實施例中，本發明之方法包含每日投與活性劑兩次，歷時約一週之時間，接著投與T細胞活化治療劑。

【0452】 在本發明之方法中，在第一次投與T細胞活化治療劑之前用活性劑進行之治療可中斷。在此類實施例中，在第一次投與T細胞活化治療劑之前可永久或暫時停止投與活性劑。活性劑最後一劑與T細胞活化治療劑第一劑之間的時間段可為任何合適時間段，只要個體自藥劑仍獲得免疫調節益處即可。舉例而言且不限於，可在投與第一劑T細胞活化治療劑的同時停止活性劑之投與，或在第一劑T細胞活化治療劑之前至多約一週之任何時間停止投與活性劑。舉例而言且不限於，可在第一劑T細胞活化治療劑之前約6、12、18、24、36、48、60或72小時或更多小時停止投與活性劑。在某些實施例中，在第一劑T細胞活化治療劑之前約2、4或7天停止活性劑之投與。

【0453】 在一個替代實施例中，用活性劑治療個體延續用T細胞活化治療劑進行之治療的整個過程，其中藥劑投與有或無間歇性中斷。在其

他實施例中，用活性劑進行之治療可在用T細胞活化治療劑進行之治療停止後繼續。因此，在一實施例中，活性劑可在每次投與T細胞活化治療劑之前的時間段期間投與。或者，活性劑僅僅在第一次投與T細胞活化治療劑之前的時間段期間投與。

【0454】 如本文所述，用活性劑進行之治療可在第一次投與T細胞活化治療劑之後繼續。在一實施例中，在有或無間歇性中斷下，活性劑每日投與，延續用T細胞活化治療劑進行之治療的整個過程。因此，在一些實施例中，在用T細胞活化治療劑進行之治療之前及期間投與藥劑。在此等情況下，一旦T細胞活化治療劑開始投與，即可與T細胞活化治療劑同時、相繼或在一天不同時間投與活性劑。當活性劑與T細胞活化治療劑同時投與時，其可呈單一組合物包括在本發明之T細胞活化治療組合物中或呈分開組合物投與。

【0455】 或者，可在投與T細胞活化治療劑之天數期間暫停活性劑之投與。因此，本發明之方案可包括在投與T細胞活化治療劑之過程期間中斷活性劑之投與。

【0456】 本文所述之用於在第一次投與T細胞活化治療劑之前投與活性劑的實施例亦適用於藥劑在第一次投與T細胞活化治療劑之後(例如在T細胞活化治療劑之各後續投與之前)的投與。

【0457】 在某些實施例中，本發明之方法包含用T細胞活化治療劑節拍式治療個體。出於本發明之目的，「節拍式治療」、「節拍式方案」或「節拍式給藥」或其類似術語意指頻繁投與低於干擾DNA複製之藥劑的正常劑量之量。如本文所用，術語「正常劑量之量」可指例如而不限於以下各者：(i)經由傳統給藥時程確立之最大耐受劑量(MTD)或標準劑量；或

(ii)在已確定特定活性劑之低劑量單次推注量的情況下，小於低劑量之量。

【0458】在節拍式給藥中，最終在某一時間段內可投與與經由傳統給藥時程所投與相同、更低或更高之累積劑量。在尤其合適之實施例中，此藉由延長進行給藥之時間範圍及/或增加投與頻率同時與正常劑量之量相比減小投與量來達成。舉例而言，在通常投與(例如藉由單次推注) 300 mg/m²低劑量之量之活性劑的情況下，節拍式方案可包含在若干天時間段內藉由頻繁投與低劑量來投與相同量。藉由此方法，可使用節拍式給藥來例如提供如本文所述之維持劑量。

【0459】在本發明之方法之一個實施例中，用活性劑進行之節拍式治療意欲涵蓋在某一時間段、諸如連續2、3、4、5、6或7天或更多天之時間段內每日投與低劑量該藥劑。在節拍式給藥之此等天期間，活性劑可以頻繁有規律之時間間隔或變化時間間隔提供。舉例而言，在一實施例中，可每1、2、3、4、6、8、12或24小時投與一定劑量之活性劑。在另一實施例中，可每2、3或4天投與一定劑量之活性劑。

【0460】在本發明之方法之一些實施例中，在用活性劑進行之節拍式治療時期中可存在中斷或間隙。以此方式，用活性劑進行之節拍式治療可呈循環方式，在進行投與期與關閉投與期之間交替進行。尤其適合為以每週交替時間間隔每日向個體投與活性劑。舉例而言，投與活性劑一週時間後停止治療一週，且重複循環。

【0461】在一實施例中，本發明之方法包含每兩週每日向個體投與活性劑，歷時一週時間。在此實施例之一特定態樣中，在第一次投與T細胞活化治療劑之前約一週開始投與活性劑。

【0462】 當涉及本發明之T細胞活化治療劑時，在一些實施例中，可適合以每週一次、每兩週一次或每三週一次、較佳每三週一次之時間間隔向個體投與T細胞活化治療劑。然而，T細胞活化治療劑投與之頻率及持續時間可針對任何既定個體視需要調整，且可比每週一次、每兩週一次或每三週一次更頻繁或頻率更低。在用T細胞活化治療劑進行之治療過程期間，投與之間的時間間隔亦可不恆定。在本發明之方法中，可向個體投與T細胞活化治療劑1、2、3、4、5、6、7、8、9、10次或更多次。應瞭解，用T細胞活化治療劑進行之治療可無限期繼續，視個體中之腫瘤治療如何進行而定。

【0463】 在某些實施例中，T細胞活化治療劑以約5 μg 至約1000 μg 、約10 μg 至約950 μg 、約15 μg 至約900 μg 、約20 μg 至約850 μg 、約25 μg 至約800 μg 、約30 μg 至約750 μg 、約35 μg 至約700 μg 、約40 μg 至約650 μg 、約45 μg 至約600 μg 、約50 μg 至約550 μg 、約55 μg 至約500 μg 、約60 μg 至約450 μg 、約65 μg 至約400 μg 、約65 μg 至約350 μg 、約70 μg 至約300 μg 、約75 μg 至約275 μg 、約80 μg 至約250 μg 、約85 μg 至約225 μg 、約90 μg 至約200 μg 、約95 μg 至約175 μg 或約100 μg 至約150 μg 之劑量進行投與。在某些實施例中，T細胞活化治療劑以約50 μg 至約500 μg 、約50 μg 至約100 μg 、約60 μg 至約90 μg 、70 μg 至約80 μg 、約100 μg 至約500 μg 、約120 μg 至約480 μg 、約140 μg 至約460 μg 、約160 μg 至約440 μg 、約180 μg 至約420 μg 、約200 μg 至約400 μg 、約220 μg 至約380 μg 、約240 μg 至約360 μg 、約260 μg 至約340 μg 、約280 μg 至約320 μg 或約300 μg 至約310 μg 之劑量進行投與。

【0464】 在本發明之方法之一個實施例中，活性劑可在T細胞活化

治療劑每次投與之前在間歇期期間作為激活劑投與。

【0465】 在一特定實施例中，包含活性劑與存活素療法之組合的本發明之方法將包括以每三週一次之時間間隔(例如第0天、第21天、第42天、第63天、第84天等)向個體投與存活素療法，且在第一次存活素療法投與之前約一週(例如第-7)開始第一次投與活性劑，且以每週時間間隔交替每日繼續投與(例如節拍式)。治療方案如圖1A中所示。

【0466】 如技術人員將瞭解，活性劑及存活素療法投與之頻率及持續時間可針對任何既定個體視需要調整。可考慮之因子包括例如：存活素療法中一或多種存活素抗原之性質、癌症類型、個體年齡、身體條件、體重、性別及飲食；以及其他臨床因素。

【0467】 活性劑可藉由任何合適之遞送方式及任何合適之投與途徑投與。在一實施例中，活性劑諸如呈丸劑、錠劑或膠囊形式經口投與。在一個替代實施例中，藉由注射(例如靜脈內)投與藥劑。在本發明之方法之一特定實施例中，藥劑為環磷醯胺且其經口投與。

【0468】 如本文所述之本發明之T細胞活化治療劑可呈適合於經口、經鼻、經直腸或非經腸投與之形式調配。非經腸投與包括靜脈內、腹膜內、皮內、皮下、肌肉內、經上皮、肺內、鞘內及局部投與模式。在實施例中，T細胞活化治療劑調配為如上所述之組合物，以便在注射部位實現儲槽作用。T細胞活化治療劑及活性劑不一定藉由相同投與途徑或同時投與。

【0469】 在本發明之方法之一特定實施例中，活性劑為烷基化劑，諸如環磷醯胺。

【0470】 在某些實施例中，投與額外治療劑。

【0471】 在某些實施例中，額外治療劑及T細胞活化治療劑投與單一患者意欲包括藥劑及T細胞活化治療劑不一定藉由相同投與途徑或同時投與之情況。舉例而言，額外治療劑及T細胞活化治療劑可分開、相繼或使用交替投與進行投與。

【0472】 在某些實施例中，活性劑在投與T細胞活化治療劑之前、同時或之後投與。

【0473】 額外治療劑通常以足夠提供免疫調節作用之量投與。

【0474】 在某些實施例中，額外治療劑以約10 mg至約1 g、約5 mg至約5 g、約10 mg至約4.5 g、約15 mg至約4 g、約20 mg至約3.5 g、約25 mg至約3 g、約30 mg至約2.5 g、約35 mg至約2 g、約40 mg至約1.5 g、約45 mg至約1 g、約50 mg至約900 mg、約55 mg至約850 mg、約60 mg至約800 mg、約65 mg至約750 mg、約70 mg至約700 mg、約75 mg至約650 mg、約80 mg至約600 mg、約85 mg至約550 mg、約90 mg至約500 mg、約95 mg至約450 mg、約100 mg至約400 mg、約110 mg至約350 mg、約120 mg至約300 mg、約130 mg至約290 mg、約140 mg至約280 mg、約150 mg至約270 mg、約160 mg至約260 mg、約170 mg至約250 mg、約180 mg至約240 mg、約190 mg至約230 mg或約200 mg至約220 mg之劑量進行投與。在某些實施例中，額外治療劑以約50 mg至約350 mg、約100 mg至約300 mg或約150 mg至約250 mg之劑量進行投與。在某些實施例中，額外治療劑之投與劑量為或至少為約5 mg、至少約10 mg、至少約15 mg、至少約20 mg、至少約25 mg、至少約30 mg、至少約40 mg、至少約50 mg、至少約60 mg、至少約70 mg、至少約75 mg、至少約80 mg、至少約90 mg、至少約100 mg、至少約125 mg、至

少約150 mg、至少約175 mg、至少約200 mg、至少約225 mg、至少約250 mg、至少約275 mg、至少約300 mg、至少約325 mg、至少約350 mg、至少約375 mg、至少約400 mg、至少約425 mg、至少約450 mg、至少約475 mg、至少約500 mg、至少約525 mg、至少約550 mg、至少約575 mg、至少約600 mg、至少約625 mg、至少約650 mg、至少約675 mg、至少約700 mg、至少約725 mg、至少約750 mg、至少約775 mg、至少約800 mg、至少約825 mg、至少約850 mg、至少約875 mg、至少約900 mg、至少約925 mg、至少約950 mg、至少約975 mg、至少約1 g、至少約2 g、至少約3 g、至少約4 g或至少約5 g。在某些實施例中，額外治療劑以每劑約100 mg之劑量進行投與。在某些實施例中，額外治療劑以每劑約200 mg投與。在某些實施例中，額外治療劑以約200 mg之劑量進行投與。在本文揭示之方法之某些實施例中，額外治療劑為檢查點藥劑。在某些實施例中，額外治療劑為PD-1抑制劑。在某些實施例中，PD-1抑制劑為抗體。在某些實施例中，抗體為派姆單抗。

【0475】 在某些實施例中，額外治療劑以每劑少於約300 mg、每劑少於約275 mg、每劑少於約250 mg、每劑少於約225 mg、每劑少於約200 mg、每劑少於約175 mg、每劑少於約150 mg、每劑少於約125 mg或每劑約100 mg之劑量進行投與。在本文揭示之方法之某些實施例中，額外治療劑為檢查點藥劑。在某些實施例中，額外治療劑為PD-1抑制劑。在某些實施例中，PD-1抑制劑為抗體。在某些實施例中，抗體為派姆單抗。

【0476】 在某些實施例中，額外治療劑以小於約600毫克/天、小於約575毫克/天、小於約550毫克/天、小於約525毫克/天、小於約500毫克/

天、小於約475毫克/天、小於約450毫克/天、小於約450毫克/天、小於約425毫克/天、小於約400毫克/天、小於約375毫克/天、小於約350毫克/天、小於約325毫克/天、小於約300毫克/天、小於約275毫克/天、小於約250毫克/天或小於約225毫克/天投與。在本文揭示之方法之某些實施例中，額外治療劑為檢查點藥劑。在某些實施例中，額外治療劑為PD-1抑制劑。在某些實施例中，PD-1抑制劑為抗體。在某些實施例中，抗體為派姆單抗。

【0477】 在本文揭示之方法之某些實施例中，額外治療劑約每1至24週、約1至20週、約1至19週、約1至18週、約1至17週、約1至16週、約1至15週、約1至14週、約1至13週、約1至12週、約1至10週、約1至9週、約1至8週、約1至7週、約1至6週、約1至5週、約1至4週、約1至3週或約1至2週投與。在某些實施例中，額外治療劑每週投與。在某些實施例中，額外治療劑每2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23或24週投與。在某些實施例中，額外治療劑每3週投與。在本文揭示之方法之某些實施例中，額外治療劑為檢查點藥劑。在某些實施例中，額外治療劑為PD-1抑制劑。在某些實施例中，PD-1抑制劑為抗體。在某些實施例中，抗體為派姆單抗。

【0478】 在某些實施例中，本發明之方法包含在第一次投與T細胞活化治療劑之前投與至少兩劑額外治療劑。結合此等實施例，藥劑可另外在用T細胞活化治療劑進行之治療過程之前、期間或之後的任何其他時間投與個體，只要在第一次投與T細胞活化治療劑之前投與至少兩劑即可。

【0479】 在某些實施例中，本發明之方法包含在第一次投與T細胞活化治療劑之後投與至少兩劑額外治療劑。結合此等實施例，藥劑可另外

在用T細胞活化治療劑進行之治療過程期間或之後的任何其他時間投與個體，只要在第一次投與T細胞活化治療劑之前投與至少兩劑即可。

【0480】 在一實施例中，至少兩劑包括2-50劑之間，更尤其2-28劑之間，且更尤其2-14劑之間。在一實施例中，至少兩劑為2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14劑。該至少兩劑可相隔任何合適時間量。在某些實施例中，至少兩劑包含日劑量。在某些實施例中，在治療個體腫瘤之時間期間每日給與日劑量。

【0481】 在某些實施例中，「足夠提供免疫調節作用之量」可為「低劑量」之量。因此，在某些實施例中，本發明之方法包括低劑量之額外治療劑與T細胞活化治療劑之組合使用。

【0482】 如本文所涵蓋之額外治療劑的「低劑量」之量將為熟習此項技術者已知，或可藉由常規技能來確定。

【0483】 在涉及本發明之某些實施例時，「低劑量」通常係指少於約300 mg/m²、諸如約100-300 mg/m²之額外治療劑之劑量。就每日投與而言，活性劑之「低劑量」介於約25-300毫克/天或約50-150毫克/天之間。在某些實施例中，日劑量為約100 mg額外治療劑。在某些實施例中，日劑量為每劑約50 mg額外治療劑。

【0484】 在某些實施例中，本發明之方法包括投與至少兩劑額外治療劑，且接著隨後投與本發明之T細胞活化治療劑(亦即，額外治療劑之投與在第一次投與T細胞活化治療劑之前開始(例如在T細胞活化治療劑之前向個體給與至少兩劑藥劑))。然而，如本文所述，可在投與T細胞活化治療劑開始之後繼續投與個體額外治療劑。在替代實施例中，在第一次投與T細胞活化治療劑之前停止投與額外治療劑。

【0485】 在某些本發明方法中，第一劑額外治療劑在用T細胞活化治療劑進行之對個體之任何治療之前。在一實施例中，第一次投與額外治療劑與第一次投與T細胞活化治療劑相隔之最少時間量可為足夠提供免疫調節作用之任何時間量。熟練技術人員將基於額外治療劑及個體來瞭解及考慮足夠提供免疫調節之時間量。

【0486】 在一些實施例中，在第一次投與T細胞活化治療劑之前至少12小時，且較佳在第一次投與T細胞活化治療劑之前至少兩天、四天或六天投與第一劑額外治療劑。在另一實施例中，可在第一次投與T細胞活化治療劑之前約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14天或更多天提供第一劑額外治療劑。在一特定實施例中，在第一次投與T細胞活化治療劑之前1-4天進行額外治療劑之第一次投與。在某些實施例中，在第一次投與T細胞活化治療劑之前約一週進行額外治療劑之第一次投與。

【0487】 在某些實施例中，本發明之方法包括在投與本發明之T細胞活化治療劑之後投與至少兩劑額外治療劑(亦即，T細胞活化治療劑之投與在第一次投與額外治療劑之前開始)。

【0488】 在某些本發明方法中，第一劑T細胞活化治療劑在用額外治療劑進行之對個體之任何治療之前。在一實施例中，第一次投與細胞活化治療劑與第一次投與額外治療劑相隔之最少時間量可為足夠提供免疫調節作用之任何時間量。熟練技術人員將基於額外治療劑及個體來瞭解及考慮足夠提供免疫調節之時間量。

【0489】 在一些實施例中，在第一次投與T細胞活化治療劑之後至少12小時或24小時投與第一劑額外治療劑。在另一實施例中，可在第一

次投與T細胞活化治療劑之後約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14天或更多天提供第一劑額外治療劑。在一特定實施例中，在第一次投與T細胞活化治療劑之後1-4天進行額外治療劑之第一次投與。

【0490】 在第一劑額外治療劑之後，可以各劑之間任何所期望之時間間隔投與隨後劑量。在某些實施例中，可在用T細胞活化治療劑進行之治療過程之前、期間或之後停止給與額外治療劑。在某些實施例中，在用T細胞活化治療劑進行之治療過程期間可繼續給與額外治療劑。

【0491】 在一實施例中，第一劑額外治療劑之後為一或多個維持劑量(亦即，以維持個體體內足夠量之藥劑及/或其活性代謝物(例如避免個體全身整體清除藥劑及/或其活性代謝物)的時間間隔及/或量給與的額外治療劑之劑量。藉由提供維持劑量，可在投與T細胞活化治療劑之過程之前、期間及/或之後延長及/或維持藥劑之免疫調節作用一段延長的時間。

【0492】 在某些實施例中，為維持免疫調節作用，可每日投與額外治療劑1、2、3、4或5次或更多次。在某些實施例中，為維持免疫調節作用，額外治療劑可每日投與1、2、3、4或5次或更多次，只要維持低劑量投與即可(例如多次較小劑量總計為所期望之低日劑量)。可在單個時間點，給與單劑(亦即，投與)額外治療劑，諸如吞服之丸劑。或者，可在短的連續時間內，諸如藉由靜脈內滴注，給與單劑額外治療劑。熟習此項技術者將知道或可藉由常規技能確定額外治療劑之維持劑量的適當時間間隔。

【0493】 在一特定實施例中，在第一次投與T細胞活化治療劑之前或之後投與額外治療劑至少連續兩天之時間。在此等天，可每日向個體投與額外治療劑至少1、2、3或4次或任何所需次數，以提供每日低劑量之量

的藥劑。

【0494】 在另一實施例中，在第一次投與T細胞活化治療劑之前投與額外治療劑約一週時間。在另一實施例中，在用T細胞活化治療劑進行之治療持續時間期間，投與額外治療劑。可在治療期間提供多劑。在示例性實施例中，可每天、每兩天或以適用於提供所述給藥之任何時間間隔投與額外治療劑。

【0495】 在本發明之方法中，在第一次投與T細胞活化治療劑之前用額外治療劑進行之治療可中斷。在此類實施例中，在第一次投與T細胞活化治療劑之前或之後可永久或暫時停止投與額外治療劑。額外治療劑最後一劑與T細胞活化治療劑第一劑之間的時間段可為任何合適時間段，只要個體自藥劑仍獲得免疫調節益處即可。

【0496】 在一個替代實施例中，用額外治療劑治療個體延續用T細胞活化治療劑進行之治療的整個過程，其中藥劑投與有或無間歇性中斷。在其他實施例中，用額外治療劑進行之治療可在用T細胞活化治療劑進行之治療停止後繼續。

【0497】 如本文所述，用額外治療劑進行之治療可在第一次投與T細胞活化治療劑之後繼續。在一實施例中，在有或無間歇性中斷下，額外治療劑每日投與，延續用T細胞活化治療劑進行之治療的整個過程。因此，在一些實施例中，在用T細胞活化治療劑進行之治療之前及期間投與藥劑。在此等情況下，一旦T細胞活化治療劑開始投與，即可與T細胞活化治療劑同時、相繼或在一天不同時間投與額外治療劑。當額外治療劑與T細胞活化治療劑同時投與時，其可呈單一組合物包括在本發明之T細胞活化治療組合物中或呈分開組合物投與。

【0498】或者，可在投與T細胞活化治療劑之天數期間暫停額外治療劑之投與。因此，本發明之方案可包括在投與T細胞活化治療劑之過程期間中斷T細胞活化治療劑之投與。

【0499】在某些實施例中，在第一次投與T細胞活化治療劑之前投與額外治療劑亦適用於藥劑在第一次投與T細胞活化治療劑之後(例如在T細胞活化治療劑之各後續投與之前)的投與。

【0500】在某些實施例中，本發明之方法包含用額外治療劑節拍式治療個體。在本發明之方法之一個實施例中，用額外治療劑進行之節拍式治療意欲涵蓋在某一時間段、諸如連續2、3、4、5、6或7天或更多天之時間段內每日投與低劑量該藥劑。在節拍式給藥之此等天期間，額外治療劑可以頻繁有規律之時間間隔或變化時間間隔提供。舉例而言，在一實施例中，可每1、2、3、4、6、8、12或24小時投與一定劑量之額外治療劑。在另一實施例中，可每2、3或4天投與一定劑量之額外治療劑。

【0501】在本發明之方法之一些實施例中，在用額外治療劑進行之節拍式治療時期中可存在中斷或間隙。以此方式，用額外治療劑進行之節拍式治療可呈循環方式，在進行投與期與關閉投與期之間交替進行。尤其適合為以每週交替時間間隔每日向個體投與額外治療劑。舉例而言，投與額外治療劑一週時間後停止治療一週，且重複循環。

【0502】在一個實施例中，因此，本發明之方法包含在腫瘤治療過程期間每日向個體投與額外治療劑。在某些實施例中，在第一次投與T細胞活化治療劑之後約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14天開始投與額外治療劑。在此實施例之一特定態樣中，在第一次投與T細胞活化治療劑之後約1天開始投與額外治療劑。

【0503】 如技術人員將瞭解，額外治療劑及存活素療法投與之頻率及持續時間可針對任何既定個體視需要調整。可考慮之因子包括例如：存活素療法中一或多種存活素抗原之性質；癌症類型；個體年齡、身體條件、體重、性別及飲食；以及其他臨床因素。

【0504】 額外治療劑可藉由任何合適遞送方式及任何合適投與途徑投與。在一實施例中，額外治療劑經口、諸如呈丸劑、錠劑或膠囊形式投與。在一個替代實施例中，藉由注射(例如靜脈內)投與藥劑。在本發明之方法之一特定實施例中，藥劑為IDO1抑制劑且其經口投與。在某些實施例中，IDO1抑制劑為艾帕斯塔。

【0505】 治療適應症

【0506】 如本文所述，本發明之方法係關於腫瘤之治療，包括癌症。能夠藉由本發明之方法治療及/或預防之腫瘤可包括例如表現存活素或與正常細胞相比過度表現存活素之任何腫瘤或癌症。

【0507】 在某些實施例中，腫瘤為實體腫瘤。在某些實施例中，腫瘤為皮下腫瘤。在某些實施例中，腫瘤為惡性血液病。在某些實施例中，腫瘤為卵巢腫瘤。在某些實施例中，腫瘤為彌漫性大B細胞淋巴瘤。

【0508】 可藉由本文所述之方法治療之腫瘤的非限制性實例包括例如癌瘤、淋巴瘤、肉瘤、母細胞瘤及白血病。非限制性特定實例包括例如乳房腫瘤、胰臟腫瘤、肝臟腫瘤、肺腫瘤、前列腺腫瘤、結腸腫瘤、腎腫瘤、膀胱腫瘤、頭頸癌、甲狀腺癌、軟組織肉瘤、卵巢瘤、原發性或轉移性黑色素瘤、鱗狀細胞癌、基底細胞癌、所有組織病理學類型之腦瘤、血管肉瘤(angiosarcoma)、血管肉瘤(hemangiosarcoma)、骨肉瘤、纖維肉瘤、黏液肉瘤、脂肪肉瘤、軟骨肉瘤、成骨性肉瘤、脊索瘤、血管肉瘤、

內皮肉瘤、淋巴管肉瘤、淋巴內皮肉瘤、滑膜瘤、睪丸腫瘤、子宮腫瘤、子宮頸腫瘤、胃腸道腫瘤、間皮瘤、與病毒感染相關聯之腫瘤(諸如(但不限於)人類乳頭狀瘤病毒(HPV)相關腫瘤(例如癌症子宮頸、陰道、外陰、頭頸部、肛門及陰莖癌))、尤文氏腫瘤(Ewing's tumor)、平滑肌肉瘤、尤文氏肉瘤、橫紋肌肉瘤、原發灶不明癌(CUP)、鱗狀細胞癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭狀癌、瓦爾登斯特倫巨球蛋白血症(Waldenstrom's macroglobulinemia)、乳頭狀腺癌、囊腺癌、支氣管癌、膽管癌、絨毛膜癌、精原細胞瘤、胚胎性癌、威耳姆士腫瘤(Wilms' tumor)、肺癌、上皮癌、子宮頸癌、睪丸腫瘤、神經膠質瘤、神經膠母細胞瘤、星形細胞瘤、髓母細胞瘤、顱咽管瘤、室管膜瘤、松果體瘤、血管母細胞瘤、聽神經瘤、少突神經膠質瘤、腦膜瘤、視網膜母細胞瘤、白血病、神經母細胞瘤、小細胞肺癌、膀胱癌、淋巴瘤、多發性骨髓瘤、髓性癌、B細胞淋巴瘤、T細胞淋巴瘤、NK細胞淋巴瘤、大顆粒淋巴細胞性淋巴瘤或白血病、 γ - δ T細胞淋巴瘤或 γ - δ T細胞白血病、套細胞淋巴瘤、骨髓瘤、白血病、慢性骨髓性白血病、急性骨髓性白血病、慢性淋巴細胞性白血病、急性淋巴細胞性白血病、毛細胞白血病、造血贅瘤、胸腺瘤、肉瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma)、霍奇金氏淋巴瘤、艾伯斯坦-巴爾病毒(Epstein-Barr virus, EBV)誘發之所有類型惡性病(包括(但不限於)EBV相關之霍奇金氏及非霍奇金氏淋巴瘤)、移植後淋巴瘤之所有形式(包括移植後淋巴增生病症(PTLD))、子宮癌、腎細胞癌、肝癌、肝母細胞瘤。可由本文所述之方法及組合物治療的腫瘤包括(但不限於)來自以下之腫瘤細胞：膀胱、血液、骨、骨髓、腦、乳房、結腸、食道、胃腸、齒齦、頭、腎臟、肝臟、肺、鼻咽、頸、卵巢、前列

腺、皮膚、胃、睪丸、舌或子宮。另外，癌症可特定具有以下組織學類型，儘管其不限於此等：贅瘤，惡性；癌瘤；癌，未分化；巨細胞及梭狀細胞癌；小細胞癌；乳頭狀癌；鱗狀細胞癌；淋巴上皮癌；基底細胞癌；毛母質癌；移行細胞癌；乳頭狀移行細胞癌；腺癌；胃泌素瘤，惡性；膽管癌；肝細胞癌；組合肝細胞癌及膽管癌；小樑性腺癌；腺樣囊性癌；腺瘤息肉中之腺癌；腺癌，家族性結腸息肉；實體癌；類癌，惡性；細支氣管肺泡腺癌；乳頭狀腺癌；嫌色細胞癌；嗜酸細胞癌；嗜酸性腺癌；嗜鹼細胞癌；透明細胞腺癌；顆粒細胞癌；濾泡狀腺癌；乳頭狀及濾泡狀腺癌；無包膜硬化性癌；腎上腺皮質癌；子宮內膜樣癌(endometroid carcinoma)；皮膚附屬器癌；大汗腺腺癌；皮脂腺癌；耵聍腺腺癌；黏液表皮樣癌；囊腺癌；乳頭狀囊腺癌；乳頭狀漿液性囊腺癌；黏液性囊腺癌；黏液性腺癌；印戒細胞癌；浸潤性導管癌；髓樣癌；小葉癌；炎性癌；佩吉特氏病(paget's disease)，乳腺；腺泡細胞癌；腺鱗癌；伴有鱗狀化生之腺癌；胸腺瘤，惡性；卵巢間質腫瘤，惡性；泡膜細胞瘤，惡性；粒層細胞瘤，惡性；睪丸母細胞瘤，惡性；塞特利氏細胞癌(sertoli cell carcinoma)；萊迪希細胞瘤(leydig cell tumor)，惡性；脂質細胞瘤，惡性；副神經節瘤，惡性；乳房外副神經節瘤，惡性；嗜鉻細胞瘤；血管球肉瘤；惡性黑素瘤；無黑色素性黑素瘤；淺表擴展性黑素瘤；巨大色素痣內惡性黑素瘤；上皮樣細胞黑素瘤；藍痣，惡性；肉瘤；纖維肉瘤；纖維組織細胞瘤，惡性；黏液肉瘤；脂肉瘤；平滑肌肉瘤；橫紋肌肉瘤；胚胎性橫紋肌肉瘤；小泡型橫紋肌肉瘤；間質肉瘤；混合瘤，惡性；苗勒管混合瘤；腎胚細胞瘤；肝母細胞瘤；癌肉瘤；間葉瘤，惡性；布倫納氏瘤(brenner tumor)，惡性；葉狀腫瘤，惡性；滑膜肉瘤；間皮瘤，惡性；無

性細胞瘤；胚胎性癌；畸胎瘤，惡性；卵巢甲狀腺腫，惡性；絨毛膜癌；中腎瘤，惡性；血管肉瘤；血管內皮瘤，惡性；卡波西肉瘤(kaposi's sarcoma)；血管外皮瘤，惡性；淋巴管肉瘤；骨肉瘤；皮質旁骨肉瘤；軟骨肉瘤；軟骨母細胞瘤，惡性；間質軟骨肉瘤；骨巨細胞瘤；尤文氏肉瘤；牙源性腫瘤，惡性；成釉細胞牙肉瘤；成釉細胞瘤，惡性；成釉細胞纖維肉瘤；松果體瘤，惡性；脊索瘤；神經膠質瘤，惡性；室管膜瘤；星形細胞瘤；原漿性星形細胞瘤；纖維性星形細胞瘤；星形母細胞瘤；神經膠母細胞瘤；少突神經膠質瘤；成少突神經膠質細胞瘤；原發性神經外胚層；小腦肉瘤；成神經節細胞瘤；神經母細胞瘤；視網膜母細胞瘤；嗅神經源性腫瘤；腦脊膜瘤，惡性；神經纖維肉瘤；神經鞘瘤，惡性；顆粒細胞瘤，惡性；惡性淋巴瘤；霍奇金氏病；霍奇金氏淋巴瘤；類肉芽腫；惡性淋巴瘤，小淋巴細胞性；惡性淋巴瘤，大細胞，彌散性；惡性淋巴瘤，濾泡性；蕁樣黴菌病；其他指定之非霍奇金氏淋巴瘤；惡性組織細胞增多病；多發性骨髓瘤；肥大細胞肉瘤；免疫增殖性小腸疾病；白血病；淋巴性白血病；漿細胞白血病；紅白血病；淋巴肉瘤細胞性白血病；骨髓白血病；嗜鹼細胞性白血病；嗜伊紅血球性白血病；單核細胞性白血病；肥大細胞白血病；巨核母細胞白血病；髓樣肉瘤；及毛細胞性白血病。

【0509】 在某些實施例中，能夠藉由本發明之方法治療之癌症包括(但不限於)癌瘤、腺癌、淋巴瘤、白血病、肉瘤、母細胞瘤、骨髓瘤及生殖細胞腫瘤。在一實施例中，腫瘤呈實體腫瘤形式。尤其合適之實施例包括不限於神經膠母細胞瘤、多發性骨髓瘤、卵巢癌、輸卵管癌、腹膜癌、膀胱癌、彌漫性大B細胞淋巴瘤、神經膠質瘤、非小細胞肺癌、肝細胞癌。

【0510】 在一些實施例中，個體可進行手術以移除大塊腫瘤，且本發明之方法可在腫瘤塊切除之前及/或之後應用。在其他實施例中，可給與個體放射線療法、化學療法或一些其他非手術性治療以控制或殺死癌細胞或惡性細胞，且本發明之方法可在此等療法之前或之後應用。在某些實施例中，癌症處於晚期。

【0511】 如上文所論述，在治療及/或預防癌症時，本發明之方法可用於「改善T細胞活化治療劑之功效」，如此表述本文中所描述。此可包括改善T細胞活化治療劑誘導細胞介導之免疫反應或體液性免疫反應中之任一者或兩者的功效。此亦可包括減少腫瘤誘發之免疫抑制。

【0512】 因為細胞介導之免疫性涉及多種細胞類型之參與且由不同機制介導，所以若干方法可用以證實在應用本發明之方法後免疫性之誘導或功效之改善。此等可廣泛分類為偵測以下各者：i)特定抗原呈遞細胞；ii)特定效應細胞及其功能及iii)釋放諸如細胞介素之可溶性介體。

【0513】 i)抗原呈遞細胞：樹突狀細胞及B細胞(及在較小程度上)裝備有允許增強T細胞活化之特殊免疫刺激受體，且稱為專業抗原呈遞細胞(APC)。在感染或疫苗接種之後，在抗原呈遞至諸如CD4⁺及CD8⁺細胞毒性T細胞之過程期間，此等細胞上此等免疫刺激分子(亦稱為共刺激分子)上調。此類共刺激分子(諸如CD80、CD86、MHC I類或MHC II類)可藉由使用流動式細胞測量術，利用針對此等分子之螢光染料結合之抗體以及特異性鑑別APC之抗體(諸如用於樹突狀細胞之CD11c)偵測。

【0514】 ii)細胞毒性T細胞：(亦稱為T_c、殺手T細胞或細胞毒性T淋巴細胞(CTL))係誘發感染病毒(及其他病原體)或表現腫瘤抗原之細胞死亡的T細胞子群。此等CTL直接侵襲在表面上載有某些外來或異常分子之其

他細胞。此類細胞毒性之能力可使用活體外細胞溶解分析(鉻釋放分析)來偵測。因此，適應性細胞免疫性之誘導可藉由此類細胞毒性T細胞之存在來證明，其中當抗原負載時，目標細胞由在疫苗接種或感染後在活體內產生之特定CTL溶解。

【0515】 當T細胞受體(TCR)與肽結合之MHC I類分子強烈相互作用時原始細胞毒性T細胞得到活化。此親和力視抗原/MHC複合物之類型及取向而定，且係保持CTL與感染細胞結合在一起之作用。一旦活化，CTL即可進行稱為純系擴增之過程，其中CTL獲得功能性，且迅速分裂，產生「武裝」效應細胞之軍隊。

【0516】 接著活化CTL在整個身體內移動，以搜索負載獨特MHC I類+肽之細胞。此可用以在活體外藉由在流動式細胞測量分析中使用肽-MHC I類四聚物鑑別此類CTL。

【0517】 當暴露於此等感染或功能異常體細胞時，效應CTL釋放穿孔素及顆粒溶素：在目標單元之質膜中形成孔隙，允許離子及水流入感染細胞中且引起細胞破裂或溶解的細胞毒素。CTL釋放顆粒酶，顆粒酶係一種經由孔隙進入細胞以誘發細胞凋亡(細胞死亡)之絲胺酸蛋白酶。此等分子自CTL之釋放可用作在疫苗接種後細胞免疫反應之成功誘導的量度。此可藉由酶聯結免疫吸附分析(ELISA)或酶聯結免疫斑點分析(ELISPOT)進行，其中可定量量測CTL。因為CTL亦能夠產生諸如IFN- γ 之重要細胞介素，所以可藉由此等細胞中細胞內IFN- γ 之ELISPOT及流動式細胞測量來定量量測產生IFN- γ 之CD8細胞。[0286] CD4+「輔助」T細胞：CD4+淋巴細胞或輔助T細胞為免疫反應介體，且在建立及最大化適應性免疫反應能力中起重要作用。此等細胞不具有細胞毒性或吞噬活性；且無法殺死感

染細胞或清除病原體，但本質上藉由引導其他細胞執行此等任務來「管理」免疫反應。兩種類型效應CD4⁺ T-輔助細胞反應可藉由專業APC誘發，稱為Th1及Th2，各經設計以消除不同類型病原體。

【0518】 輔助T細胞表現識別結合於II類MHC分子之抗原的T細胞受體(TCR)。原始輔助T細胞之活化引起其釋放細胞介素，此舉影響許多細胞類型之活性，包括活化其之APC。輔助T細胞需要之活化刺激比細胞毒性T細胞輕得多。輔助T細胞可提供「幫助」活化細胞毒性細胞之額外信號。兩種類型效應CD4⁺ T-輔助細胞反應可藉由專業APC誘發，稱為Th1及Th2，各經設計以消除不同類型病原體。兩種Th細胞群體之不同之處在於所產生之效應蛋白(細胞介素)之模式。一般而言，Th1細胞藉由活化巨噬細胞及細胞毒性T細胞來幫助細胞免疫反應；而Th2細胞藉由刺激B細胞轉化為漿細胞及藉由形成抗體來促進體液性免疫反應。例如，藉由Th1細胞調控之反應可在小鼠中誘發IgG2a及IgG2b (在人類中誘發IgG1及IgG3)且促進細胞介導之對抗原之免疫反應。若對抗原起反應之IgG藉由Th2型細胞調控，則其主要可增強小鼠中IgG1 (人類中IgG2)之產生。與Th1或Th2反應相關聯之細胞介素之量測將產生成功疫苗接種之量度。此可藉由經設計以針對Th1-細胞介素(諸如IFN- γ 、IL-2、IL-12、TNF-a及其他)或Th2-細胞介素(諸如尤其IL-4、IL-5、IL10)之特定ELISA來達成。

【0519】 iii)細胞介素之量測：自局部淋巴結釋放，充分表面成功免疫接種。作為APC及諸如CD4⁺及CD8⁺ T細胞之免疫效應細胞之抗原呈遞及成熟的結果，淋巴結細胞釋放若干細胞介素。藉由在活體外在抗原存在下培養此等LNC，可藉由量測諸如IFN- γ 、IL-2、IL-12、TNF-a及GM-CSF之某些重要細胞介素之釋放來偵測抗原特異性免疫反應。此可藉由

ELISA，使用培養上清液及重組細胞介素作為標準來進行。[0289] 成功免疫接種可用技術人員已知之多種方式確定，包括(但不限於)偵測功能性抗體之血球凝集抑制(HAI)及血清中和抑制分析；攻擊研究，其中經疫苗接種之個體用相關病原體攻擊以確定疫苗接種之功效；以及使用螢光活化細胞分選(FACS)確定表現特定細胞表面標記物之細胞群體，例如鑑別活化或記憶淋巴細胞。技術人員亦可使用其他已知方法確定本發明之方法是否改善細胞介導之免疫反應之功效。參見例如Current Protocols in Immunology Coligan等人編輯(Wiley Interscience, 2007)。

【0520】 在一些實施例中，本發明之方法亦可藉由誘導體液性免疫反應或藉由改善T細胞活化治療劑誘導體液性免疫反應之功效來用於治療癌症。此類實施例可尤其適用於本發明之T細胞活化治療劑包括除存活素抗原外之如本文所述之額外抗原的情況。此等方法可包括藉由誘導細胞介導之免疫反應與體液性免疫反應治療癌症。

【0521】 與細胞介導之免疫性相反，體液性免疫反應藉由在B淋巴細胞譜系之細胞(B細胞)中產生的分泌抗體介導。此類分泌抗體結合於抗原，諸如外來物質及/或病原體(例如病毒、細菌等)表面上之抗原，且標記其用於破壞。

【0522】 抗體為稱為B淋巴細胞(B細胞)之白血細胞子集的抗原特異性糖蛋白產物。抗原與在B細胞表面上表現之抗體嚙合可誘導抗體反應，包含刺激B細胞活化，進行有絲分裂及終末分化成漿細胞，漿細胞專門用於合成及分泌抗原特異性抗體。

【0523】 B細胞係免疫反應期間抗體之唯一生產者，因此其為有效體液免疫之關鍵要素。除產生大量抗體之外，B細胞亦充當抗原呈遞細胞

且可將抗原呈遞至T細胞，諸如T-輔助CD4或細胞毒性CD8，因此擴大免疫反應。B細胞以及T細胞為有助於T細胞活化治療劑功效之適應性免疫反應的一部分。在由疫苗接種或天然感染誘導之活性免疫反應期間，抗原特異性B細胞受到活化且純系擴增。在擴增期間，B細胞進化至對抗原決定基具有較高親和力。B細胞增殖可藉由活化T-輔助細胞間接誘發，且亦經由刺激受體、諸如toll樣受體(TLR)直接誘發。

【0524】 諸如樹突狀細胞及B細胞之抗原呈遞細胞吸引至疫苗接種部位且可與T細胞活化治療劑中所含之抗原及佐劑相互作用。佐劑刺激細胞活化，且抗原為目標提供藍本。不同類型佐劑向細胞提供不同刺激信號。舉例而言，聚I:C多核苷酸(TLR3促效劑)可活化樹突狀細胞，但不活化B細胞。諸如Pam3Cys、Pam2Cys及FSL-1之佐劑尤其適於活化及起始B細胞增殖，預期B細胞增生促進抗體反應之產生(Moyle等人, Curr Med Chem, 2008; So., J Immunol, 2012)。

【0525】 如本文所用，術語「抗體反應」係指響應於抗原引入個體體內，抗原特異性抗體在個體體內之量增加。

【0526】 一種評估抗體反應之方法係量測可與特定抗原反應之抗體的效價。此可使用此項技術中已知之多種方法，諸如自動物獲得之含抗體物質的酶聯結免疫吸附分析(ELISA)進行。舉例而言，可在個體中在暴露抗原前後確定結合於特定抗原之血清抗體的效價。在暴露於抗原後抗原特異性抗體之效價的統計學上顯著增加將表明個體已對抗原發起抗體反應。

【0527】 可用於偵測抗原特異性抗體之存在的其他分析包括(但不限於)免疫分析(例如放射免疫分析(RIA))、免疫沈澱分析及蛋白質墨點(例如西方墨點)分析；以及中和分析(例如在活體外或活體內分析中病毒感染性

之中和)。

【0528】 本發明之方法藉由改善T細胞活化治療劑誘導體液性免疫反應之功效而能夠治療及/或預防癌症。

【0529】 體液性免疫反應為有效感染性疾病T細胞活化治療劑之主要機制。然而，體液性免疫反應亦可用於對抗癌症。與經設計以產生可識別及破壞癌細胞之細胞毒性CD8⁺T細胞反應的癌症T細胞活化治療劑互補，B細胞介導之反應可經由其他機制靶向癌細胞，此在一些情況下可與細胞毒性CD8⁺ T細胞合作以獲得最大益處。B細胞介導(例如體液性免疫反應介導)之抗腫瘤反應之機制的實例包括(但不限於)：1)由B細胞產生之抗體，其結合於在腫瘤細胞或影響腫瘤形成之其他細胞上發現之表面抗原。此類抗體可例如誘發經由抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)或補體結合殺死目標細胞，可能引起免疫系統可識別之額外抗原釋放；2)結合於腫瘤細胞上之受體以阻斷其刺激且實際上中和其作用之抗體；3)結合於由腫瘤或腫瘤相關細胞釋放或與其相關聯之因子以調節支持癌症之信號傳導或細胞路徑的抗體；以及4)結合於細胞內目標且經由當前未知之機制介導抗腫瘤活性之抗體。

【0530】 待藉由本發明之方法治療的個體可為任何脊椎動物，較佳哺乳動物，更佳為人類。

【0531】 **套組及試劑**

【0532】 為實施本發明之方法，如本文所述之組合物可視情況呈套組提供以使用者。舉例而言，本發明之套組含有本發明之組合物之一或多種組分。套組可進一步包含一或多種額外試劑、包裝材料、用於容納套組組分之容器及詳述使用套組組分之較佳方法的說明書集或使用者手冊。

【0533】 在一特定實施例中，本發明之T細胞活化治療劑(例如DPX-Survivac)呈含有兩個容器之套組供應。容器1例如可包含凍乾佐劑系統(例如脂質體)、存活素抗原及佐劑。容器2例如可含有單獨油組分(Montanide® ISA51 VG)。可皮下注射適當體積(0.1或0.5 ml)之復原之T細胞活化治療劑。

【0534】 在某些實施例中，套組可另外含有活性劑。活性劑可包括在具有第三個容器之套組中，或藥劑可包括於容器1或容器2，如上所述。在一特定實施例中，包括在套組中之活性劑為烷基化劑，諸如環磷醯胺。

【0535】 在其他實施例中，套組可另外含有額外治療劑。額外治療劑可包括於具有第四個容器之套組中，或藥劑可包括於容器1、容器2或容器3中，如上所述。在一特定實施例中，包括於套組中之額外治療劑為烷基化劑，諸如IDO1抑制劑。在一特定實施例中，包括於套組中之額外治療劑為烷基化劑，諸如艾帕斯塔。在一特定實施例中，包括於套組中之額外治療劑為抗PD-1抗體，諸如派姆單抗。

【0536】 例示性實施例

【0537】 本發明亦藉助於以下例示性實施例描述及證明且決不限制本發明之範疇及含義。

1. 一種在治療個體之腫瘤中改善T細胞活化治療劑功效的方法，該方法包含：
 - a) 量測該個體之估計腫瘤負荷；
 - b) 向有需要之該個體投與有效量之至少一種活性劑，其中該個體具有低的估計腫瘤負荷；以及
 - c) 向該個體投與治療有效量之該T細胞活化治療劑，其中該T細胞

活化治療劑包含至少一種存活素抗原。

2. 一種治療具有低腫瘤負荷之個體之腫瘤的方法，該方法包含：
 - a) 量測該個體之估計腫瘤負荷；
 - b) 向有需要之該個體投與有效量之至少一種活性劑，其中該個體具有低的估計腫瘤負荷；以及
 - c) 向該個體投與治療有效量之T細胞活化治療劑，其中該T細胞活化治療劑包含至少一種存活素抗原。
3. 實施例1或實施例2之方法，其中該個體具有至少一個可量測腫瘤病灶。
4. 實施例1至3中任一者之方法，其中該腫瘤為實體腫瘤。
5. 實施例1至4中任一者之方法，其中該估計腫瘤負荷係基於最大腫瘤病灶。
6. 實施例1至5中任一者之方法，其中該估計腫瘤負荷係基於最大腫瘤病灶之最長直徑。
7. 實施例1至6中任一者之方法，其中當最大腫瘤病灶之最長直徑小於約10 cm、約9 cm、約8 cm、約7 cm、約6 cm、約5 cm、約4 cm、約3 cm或約2 cm時，該個體具有低的估計腫瘤負荷。
8. 實施例1至7中任一者之方法，其中當最大腫瘤病灶之最長直徑小於約4 cm時，該個體具有低的估計腫瘤負荷。
9. 實施例1至5之方法，其中當該最大腫瘤病灶涉及淋巴結時該估計腫瘤負荷係基於淋巴結之短軸直徑。
10. 實施例9之方法，其中當包含該腫瘤之該淋巴結的短軸長度小於約7 cm、約6 cm、約5 cm、約4 cm、約3 cm或約2 cm時，該個體具有

低的估計腫瘤負荷。

11. 實施例9或實施例10之方法，其中當包含該腫瘤之該淋巴結的短軸長度小於約4 cm時，該個體具有低的估計腫瘤負荷。

12. 實施例1至4中任一者之方法，其中該估計腫瘤負荷係基於至少兩個目標腫瘤病灶之直徑的和。

13. 實施例12之方法，其中該直徑為該目標腫瘤病灶之最長直徑。

14. 實施例12之方法，其中當該目標腫瘤病灶涉及淋巴結時該直徑為淋巴結之短軸直徑。

15. 實施例1至4中任一者之方法，其中該估計腫瘤負荷係基於至少兩個目標腫瘤病灶之直徑之積和。

16. 實施例12至15中任一者之方法，其中該目標腫瘤病灶係基於其尺寸及/或該病灶進行準確重複量測之適合性來選擇。

17. 實施例12至16中任一者之方法，其中該目標腫瘤病灶為最大腫瘤病灶。

18. 實施例12至17中任一者之方法，其中目標腫瘤病灶之數目介於2與5之間。

19. 實施例12至18中任一者之方法，其中每個器官量測不超過兩個目標腫瘤病灶。

20. 實施例12至14或16至19中任一者之方法，其中當該等目標腫瘤病灶之最長直徑之和小於約10 cm、約9 cm、約8 cm、約7 cm、約6 cm、約5 cm、約4 cm或約3 cm時，該個體具有低的估計腫瘤負荷。

21. 實施例12至14或16至20中任一者之方法，其中當該等目標腫瘤病灶之最長直徑之和小於約5 cm時，該個體具有低的估計腫瘤負荷。

22. 實施例15至19中任一者之方法，其中當該等目標腫瘤病灶之最長直徑之和小於約 30 cm^2 、約 27 cm^2 、約 25 cm^2 、約 22 cm^2 、約 20 cm^2 、約 17 cm^2 、約 15 cm^2 、約 12 cm^2 或約 10 cm^2 時，該個體具有低的估計腫瘤負荷。

23. 實施例15至19或22中任一者之方法，其中當該等目標腫瘤病灶之最長直徑之和小於約 20 cm^2 時，該個體具有低的估計腫瘤負荷。

24. 實施例1至23中任一者之方法，其中該方法進一步包含監測該個體之腫瘤負荷。

25. 實施例1至4或12至24中任一者之方法，其中該腫瘤負荷或估計目標腫瘤負荷藉由實體腫瘤反應評價標準(RECIST)準則來量測。

26. 實施例25之方法，其中該腫瘤負荷或估計目標腫瘤負荷藉由RECIST 1.1標準量測。

27. 實施例1至26中任一者之方法，其中該方法進一步包含選擇具有低腫瘤負荷之個體。

28. 實施例1至27中任一者之方法，其中在步驟b)中，該活性劑之該有效量為足夠提供免疫調節作用之量。

29. 實施例1至28中任一者之方法，其中在該T細胞活化治療劑之前、在其之後或與其同時投與該活性劑。

30. 實施例1至29中任一者之方法，其中在該T細胞活化治療劑之前投與該活性劑。

31. 實施例1至30中任一者之方法，其中該活性劑投與至少兩次。

32. 實施例1至31中任一者之方法，其中步驟b)包含在投與該T細胞活化治療劑之前至少兩天向該個體投與第一劑量之該活性劑。

33. 實施例32之方法，其中該活性劑在投與該T細胞活化治療劑之前至少四天投與。

34. 實施例1至33中任一者之方法，其中步驟b)包含在投與該T細胞活化治療劑之前約一週向該個體投與第一劑量之該活性劑。

35. 實施例1至34中任一者之方法，其中步驟b)包含向該個體投與第一劑量之該活性劑，接著一或多個維持劑量之該活性劑。

36. 實施例1至35中任一者之方法，其中步驟b)包含每天向該個體投與該活性劑至少1次、2次、3次或4次。

37. 實施例1至36中任一者之方法，其中步驟b)包含每天向該個體投與該活性劑兩次，歷時約一週時間。

38. 實施例1至37中任一者之方法，其中步驟b)包含在投與該T細胞活化治療劑之前每天向該個體投與該活性劑兩次，歷時約一週時間。

39. 實施例1至38中任一者之方法，其進一步包含在投與該T細胞活化治療劑之前停止向該個體投與該活性劑。

40. 實施例1至39中任一者之方法，其中在投與該T細胞活化治療劑之過程期間繼續向該個體投與該活性劑。

41. 實施例1至40中任一者之方法，其中步驟b)包含以低劑量節拍式方案向該個體投與該活性劑。

42. 實施例41之方法，其中該節拍式方案包含每隔一週每天向該個體投與該活性劑，歷時約一週時間。

43. 實施例42之方法，其中每日投與該活性劑兩次。

44. 實施例41至43中任一者之方法，其中該節拍式方案包含投與該活性劑，週期為兩週，其中在該週期之第一週期間向該個體投與該活性

劑，其中在該週期之第二週期間不向該個體投與該活性劑，且其中該節拍式方案包含至少兩個週期。

45. 實施例1至44中任一者之方法，其中步驟c)包含約每三週向該個體投與該T細胞活化治療劑一次。

46. 實施例1至45中任一者之方法，其中步驟c)包含向該個體投與該T細胞活化治療劑2次、3次、4次或更多次。

47. 實施例1至46中任一者之方法，其中步驟b)包含在投與第一劑量之該T細胞活化治療劑之前約一週開始向該個體投與該活性劑，且步驟c)包含約每三週向該個體投與該T細胞活化治療劑一次。

48. 實施例1至47中任一者之方法，其中該存活素抗原為肽抗原或編碼該肽抗原之核酸。

49. 實施例1至48中任一者之方法，其中該存活素抗原為包含來自能夠引發個體中之細胞毒性T淋巴細胞(CTL)反應之存活素蛋白的胺基酸序列(SEQ ID NO: 1)的肽抗原，或編碼該肽抗原之核酸分子。

50. 實施例1至49中任一者之方法，其中該存活素抗原為包含胺基酸序列中之至少一者的肽抗原，其中該胺基酸序列為FEELTLGEF (SEQ ID NO: 2)；FTELTLGEF (SEQ ID NO: 3)；LTLGEFLKL (SEQ ID NO: 4)；LMLGEFLKL (SEQ ID NO: 5)；RISTFKNWPF (SEQ ID NO: 6)；RISTFKNWPK (SEQ ID NO: 7)；STFKNWPFL (SEQ ID NO: 8)；或LPPAWQPFL (SEQ ID NO: 9)，或編碼該肽抗原之核酸分子。

51. 實施例1至50中任一者之方法，其中該至少一種存活素抗原包含包括以下胺基酸序列之五種肽抗原之混合物：FTELTLGEF (SEQ ID NO: 3)；LMLGEFLKL (SEQ ID NO: 5)；RISTFKNWPK (SEQ ID NO:

7)；STFKNWPFL (SEQ ID NO: 8)或LPPAWQPFL (SEQ ID NO: 9)。

52. 實施例1至51中任一者之方法，其中該至少一種存活素抗原以各肽抗原約0.1 mg/ml至約5 mg/ml之濃度投與。

53. 實施例52之方法，其中該至少一種存活素抗原以各肽抗原約1 mg/ml之濃度投與。

54. 實施例52或實施例53中任一者之方法，其中該T細胞活化治療劑以約0.01 ml至約1 ml之劑量投與。

55. 實施例54之方法，其中該T細胞活化治療劑以約0.25 ml或約0.5 ml之劑量投與。

56. 實施例1至55中任一者之方法，其中該T細胞活化治療劑抗原以約0.01 ml至約1 ml之起始劑量投與。

57. 實施例56之方法，其中該T細胞活化治療劑以約0.25 ml或約0.5 ml之起始劑量投與。

58. 實施例1至57中任一者之方法，其中該T細胞活化治療劑以約0.01 ml至約1 ml之加強劑量投與。

59. 實施例58之方法，其中該T細胞活化治療劑以約0.1 ml之加強劑量投與。

60. 實施例1至59中任一者之方法，其中該活性劑為干擾DNA複製之藥劑。

61. 實施例60之方法，其中該活性劑能夠選擇性靶向免疫系統之迅速分裂細胞且引起計劃性細胞死亡。

62. 實施例60或實施例61之方法，其中該活性劑為烷基化劑。

63. 實施例62之方法，其中該烷基化劑為氮芥類烷基化劑。

64. 實施例63之方法，其中該氮芥類烷基化劑為環磷醯胺。

65. 實施例60或實施例61之方法，其中該活性劑為吉西他濱、5-FU、順鉑、奧沙利鉑、替莫唑胺、太平洋紫杉醇、卡培他濱、甲胺喋呤、表柔比星、艾達黴素、米托蒽醌、博萊黴素、地西他濱或多烯紫杉醇中之至少一者。

66. 實施例1至65中任一者之方法，其中該活性劑為沙力度胺、硼替佐米、IL-2、IL-12、IL-15、IFN- γ 、IFN- α 或TNF- α 、二甲雙胍或來那度胺中之至少一者。

67. 實施例1至66中任一者之方法，其中該活性劑為VEGF、VEGFR或CD40中之至少一者的抑制劑。

68. 實施例1至67中任一者之方法，其中步驟b)包含以約25-300毫克/天、約50-100毫克/天或約100毫克/天投與該活性劑。

69. 實施例1至68中任一者之方法，其中步驟b)包含一每劑約50 mg投與該活性劑。

70. 實施例69之方法，其中一天投與該活性劑兩次。

71. 實施例1至70中任一者之方法，其中步驟b)包含經口向該個體投與該活性劑。

72. 實施例1至70中任一者之方法，其中步驟b)包含藉由注射向該個體投與該活性劑。

73. 實施例72之方法，其中該注射為靜脈內、皮下、腫瘤間或肌肉內注射。

74. 實施例1至73中任一者之方法，其中步驟b)包含藉由注射向該個體投與該T細胞活化治療劑。

75. 實施例74之方法，其中該注射為皮下注射。

76. 實施例1至75中任一者之方法，其中該T細胞活化治療劑為包含該至少一種存活素抗原、脂質體及包含疏水性物質之連續相之載劑的組合物。

77. 實施例76之方法，其中該組合物進一步包含T-輔助抗原決定基。

78. 實施例77之方法，其中該T-輔助抗原決定基為包含胺基酸序列AQYIKANSKFIGITEL (SEQ ID NO: 10)之肽。

79. 實施例76至78中任一者之方法，其中該組合物進一步包含佐劑。

80. 實施例79之方法，其中該佐劑為polyI.C多核苷酸，其中該多核苷酸係基於DNA或RNA。

81. 實施例76至80中任一者之方法，其中該載劑為疏水性物質，諸如植物油、堅果油或礦物油。

82. 實施例76至81中任一者之方法，其中該載劑為礦物油或為於礦物油溶液中之二縮甘露醇油酸酯。

83. 實施例82之方法，其中該載劑為Montanide® ISA 51。

84. 實施例1至83中任一者之方法，其中該活性劑藉由直接增強針對該抗原之免疫反應，諸如藉由增加抗原特異性CD8+ T細胞活性或數目來改善該T細胞活化治療劑功效。

85. 實施例84之方法，其中增加抗原特異性CD8+ T細胞之活性或數目包括抗原特異性CD8+ T細胞因總CD8+ T細胞相對減少而富集。

86. 實施例1至85中任一者之方法，其中該活性劑藉由減少抑制免

疫細胞、例如CD4+FoxP3+調節T細胞(Treg)、骨髓衍生之抑制細胞(MDSC)及/或CD19+CD1d+CD5+ B細胞(Breg)之數目或活性來改善該T細胞活化治療劑功效。

87. 實施例1至86中任一者之方法，其中該方法進一步包含步驟d)投與至少一種額外治療劑。

88. 實施例87之方法，其中該至少一種額外治療劑為一或多種檢查點藥劑。

89. 實施例88之方法，其中該檢查點藥劑為免疫檢查點蛋白抑制劑，其中該免疫檢查點蛋白為計劃性死亡-配位體1 (PD-L1，亦稱為B7-H1、CD274)、計劃性死亡1 (PD-1、CD279)、CTLA-4 (CD154)、LAG3 (CD223)、TIM3 (HAVCR2、CD366)、41BB (CD137)、ICOS (誘導性T細胞共刺激分子)、殺傷細胞抑制性受體(KIR)、CD27、OX-40、GITR或磷脂醯絲胺酸(PS)。

90. 實施例89之方法，其中該檢查點藥劑為PD-1抑制劑。

91. 實施例90之方法，其中該PD-1抑制劑為抗體。

92. 實施例91之方法，其中該抗體為派姆單抗。

93. 實施例87至92中任一者之方法，其中該至少一種額外治療劑為雷帕羅吉(rapalogue)、組蛋白去乙醯基酶(HDAC)抑制劑、parp抑制劑或吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制劑中之一或多者。

94. 實施例93之方法，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶為IDO1。

95. 實施例87至94中任一者之方法，其中該至少一種額外治療劑為小紅莓、曲妥珠單抗、貝伐單抗、舒尼替尼、索拉非尼或其組合。

96. 實施例95之方法，其中該小紅莓經由脂質體投與。

97. 實施例87至96中任一者之方法，其中向該個體投與至少兩劑該額外治療劑。

98. 實施例87至97中任一者之方法，其中向該個體投與第一劑量之該額外治療劑，接著投與一或多種維持劑量之該額外治療劑。

99. 實施例87至98中任一者之方法，其中向該個體投與該額外治療劑，歷時連續至少兩天時間。

100. 實施例87至99中任一者之方法，其中每天向該個體投與該額外治療劑。

101. 實施例87至100中任一者之方法，其中每天向該個體投與該額外治療劑至少1次、2次、3次或4次。

102. 實施例101之方法，其中每日投與該額外治療劑兩次。

103. 實施例87至98中任一者之方法，其中該額外治療劑約每1至4週投與。

104. 實施例103之方法，其中該額外治療劑每3週投與。

105. 實施例87至104中任一者之方法，其中在該T細胞活化治療劑之前、在其之後或與其同時投與該額外治療劑。

106. 實施例87至105中任一者之方法，其中與該第一劑量之該T細胞活化治療劑同一天向該個體投與該第一劑量之該額外治療劑。

107. 實施例87至106中任一者之方法，其中在該第一劑量之該T細胞活化治療劑之後向該個體投與該第一劑量之該額外治療劑。

108. 實施例107之方法，其中在該第一劑量之該T細胞活化治療劑後之日向該個體投與該第一劑量之該額外治療劑。

109. 實施例87至108中任一者之方法，其中在投與該T細胞活化治療

劑過程期間繼續投與該額外治療劑。

110. 實施例87至109中任一者之方法，其中步驟d)包含以每劑約50 mg至每劑約500 mg投與該額外治療劑。

111. 實施例87至110中任一者之方法，其中步驟d)包含以每劑約100 mg投與該額外治療劑。

112. 實施例87至110中任一者之方法，其中步驟d)包含以每劑約200 mg投與該額外治療劑。

113. 實施例87至110中任一者之方法，其中步驟d)包含以每劑小於300 mg之量投與該額外治療劑。

114. 實施例87至109中任一者之方法，其中步驟d)包含投與每劑約25 mg至約每劑5 g之間的該額外治療劑。

115. 實施例87至109中任一者之方法，其中步驟d)包含投與每劑約25 mg至每劑約300 mg之間的該額外治療劑。

116. 實施例87至102、105-110、112、114或115中任一者之方法，其中步驟d)包含以約200毫克/天投與該額外治療劑。

117. 實施例87至116中任一者之方法，其中向該個體經口投與該額外治療劑。

118. 實施例87至116中任一者之方法，其中藉由注射向該個體投與該額外治療劑。

119. 實施例118之方法，其中該注射為靜脈內、皮下、腫瘤間或肌肉內注射。

120. 實施例1至119中任一者之方法，其中藉由清創術降低該腫瘤負荷。

121. 實施例1至120中任一者之方法，其中該腫瘤為實體腫瘤。

122. 實施例121之方法，其中該腫瘤為皮下實體腫瘤。

123. 實施例1至120中任一者之方法，其中該腫瘤為惡性血液病。

124. 根據實施例1至123中任一者之方法，其中該腫瘤為乳癌、卵巢腫瘤、輸卵管腫瘤、腹膜腫瘤、膀胱腫瘤、彌漫性大B細胞淋巴瘤、神經膠質瘤、非小細胞肺腫瘤或肝細胞癌。

125. 根據實施例1至124中任一者之方法，其中該腫瘤為卵巢腫瘤。

126. 根據實施例1至124中任一者之方法，其中該腫瘤為彌漫性大B細胞淋巴瘤。

127. 根據實施例1至126中任一者之方法，其中該個體為人類。

實例

【0538】 亦藉助於以下實例描述及說明本發明。然而，說明書中任何地方之此等及其他實例的使用僅為說明性的且決不限制本發明或任何例示術語之範疇及意義。同樣地，本發明不限於本文所述之任何尤其較佳之實施例。實際上，本發明之許多修改及變化形式在熟習此項技術者閱讀本說明書時可為顯而易見的，且該等變化形式可在不背離本發明之精神或範疇之情況下進行。因此，本發明僅受隨附申請專利範圍之項目以及彼等申請專利範圍所授權之等效物之完整範疇限制。

【0539】 實例1

【0540】 1b期研究檢查免疫治療劑DPX-Survivac (IND #016739)與低劑量環磷醯胺及艾帕斯塔(INCB024360)在復發性卵巢癌患者中之功效。在1b期中評估總共53名患者。

【0541】 DPX-Survivac為一種T細胞活化治療劑，其由具有以下胺

基酸序列之五種合成存活素肽抗原、來自破傷風類毒素之通用T-輔助抗原決定基(AQYIKANSKFIGITEL；SEQ ID NO: 10)、聚I:C聚核苷酸佐劑(例如dIdC)、由10:1(w:w)比率之DOPC與膽固醇組成的脂質混合物及疏水性載劑Montanide ISA 51 VG組成：FTELTGGEF (SEQ ID NO: 3)；LMLGGEFLKL (SEQ ID NO: 5)；RISTFKNWPK (SEQ ID NO: 7)；STFKNWPFL (SEQ ID NO: 8)或LPPAWQPFL (SEQ ID NO: 9)。DPX-Survivac經設計以靶向存活素。抗原/佐劑/脂質複合物在乙酸鹽緩衝液中調配，無菌過濾，填充至小瓶中，且凍乾成乾餅狀物。在臨床中，在注射之前使餅狀物再懸浮於Montanide ISA 51 VG中。在交替大腿上部之前面及/或外部區域，經皮下在深部投與用DPX-Survivac進行之治療，且離先前注射部位不小於10 cm。

【0542】 市售(亦即FDA/Health Canada批准)環磷醯胺(50 mg)根據製造商說明書使用及儲存。

【0543】 艾帕斯塔係人類腫瘤細胞及人類樹突狀細胞中之酶吡咯胺2,3雙加氧酶1 (IDO1)之新穎、有效及選擇性抑制劑。艾帕斯塔(INCB024360；C₁₁H₁₃BrFN₇O₄S及438.23 g/mol之分子量)呈100 mg及/或25 mg立即釋放錠劑供應。該等錠劑含有活性藥物(INCB024360)以及常用藥典賦形劑(單水合乳糖、微晶纖維素、聚維酮、交聯羧甲纖維素鈉、膠態二氧化矽及硬脂酸鎂)。

【0544】 納入診斷及標準如下：

【0545】 1. 組織學上證實之IIc-IV期上皮卵巢、輸卵管或腹膜癌。(需要經由病理報告之原始原發性腫瘤之組織學記錄)

【0546】 2. 已完成一線治療(減積手術及用諸如卡鉑及太平洋紫杉

醇之護理標準治療進行之輔助或新輔助治療)之抗鉑性及鉑敏感性個體。
 抗鉑性及鉑敏感性分別定義為在3個月與6個月之間(包括3個月與6個月)或
 超過6個月進展。個體可具有許多後續化學療法路線。

【0547】 3. 必須有證據證明疾病進展，具有生化進展(必須藉由兩次相隔至少2週之量測證實CA-125正在上升且超過實驗室之正常之上限(ULN))或放射性進展或兩者。

【0548】 4. 個體必須具有藉由RECIST v1.1可量測之疾病，成功地完成治療前腫瘤切片檢查，且願意在治療期間進行腫瘤切片檢查。僅僅具有一個可量測疾病病灶但在治療前切片檢查之後不可量測之個體不符合條件。

【0549】 5. 任何人種或種族群體之18歲以上女性。

【0550】 6. 必須可走動，東部腫瘤協作組(ECOG)效能狀態為0-1

【0551】 7. 預期壽命 ≥ 6 個月

【0552】 8. 實驗室要求：

血液學：

- 白血球 $> 2,500/\text{mcL}$ ($> 2.5 \times 10^9/\text{L}$)
- 絕對嗜中性白血球計數 $> 1,000/\text{mcL}$ ($> 1 \times 10^9/\text{L}$)
- 血小板計數 $> 75,000/\text{mcL}$ ($> 75 \times 10^9/\text{L}$)
- 血紅蛋白 $\geq 8 \text{ g/dL}$ ($\geq 80 \text{ g/L}$) (在接受第一劑環磷醯胺之前至多一週接受輸血或紅血球生成素的個體有資格進行該項研究)

凝血時間：

- 國際標準化比值(INR)或凝血酶原時間(PT) $< 1.5 \times \text{ULN}$ (正常之上限)

- 活化部分凝血活酶時間(aPTT) $<1.5 \times \text{ULN}$

腎功能：

- 血清肌酐 $<1.5 \times \text{ULN}$ 或計算肌酐清除(CrCl) $>60 \text{ mL/min}$

肝功能：

- 除非已知具有吉伯特病(Gilbert's disease)史，否則總膽紅素 $<1.5 \times \text{ULN}$

- ALT及AST $< 2.5 \times \text{ULN}$

- 若鹼性磷酸酶 $< 5.0 \times \text{ULN}$ ，則招收在篩選放射照相檢查時具有骨癌轉移且無肝實質癌轉移之個體

【0553】 9. 能夠理解及提供簽名之知情審查委員會/研究倫理委員會(IRB/REB)。

【0554】 10. 能夠遵循方案要求。

【0555】 在第一天治療之前長達28天，研究第0天(SD0)，篩選個體之合格性。在篩選訪視時收集病史，包括自先前療法開始所有先前針對個體可獲得之CA-125數據、手術前及化學療法前絕對淋巴細胞計數及上一次打破傷風針(若可獲得)之日期、身體檢查、基線尿分析及進行CA-125及實驗室測試之血液樣品。

【0556】 對於此項研究，抗鉑性患者定義為在第一療程基於鉑之化學療法之後三個月與六個月之間進展的患者。鉑敏感性患者為在第一療程基於鉑之化學療法之後超過六個月進展的患者。難治性患者或在第一基於鉑之化學療法之後不足三個月進展的患者無資格進行此項研究。

【0557】 符合所有其他合格標準之個體進行治療前腫瘤切片檢查，以定量存活素及IDO表現及進行其他生物標記物分析。在治療開始後進行

放射線成像及腫瘤切片檢查。針對免疫細胞浸潤之變化來評估腫瘤樣品。浸潤與治療前腫瘤切片檢查之類似分析相比較。可進行其他探索性分析，包括T細胞受體(TCR)譜系之變化及基因表現之變化。

【0558】 在開始治療之前個體進行身體檢查及放射學及實驗室評估。在治療期間個體大約每個月進行身體檢查。在治療前、在治療期間大約每兩個月及此外若個體基於臨床及實驗室發現正在進展中，則進行常規放射線成像(例如CT掃描)。若臨床上有所指示，則在第一次記錄疾病進展(改版RECIST)之後4週進行驗證性成像。

【0559】 藉由免疫原性分析確定細胞介導之免疫性，且描述為對T細胞活化治療劑中之一或多種抗原決定基具有陽性免疫反應之個體的百分比以及免疫細胞浸潤腫瘤之變化。對於ELISpot，抗原特異性反應率超過自治療前及/或未經刺激/背景細胞獲得之平均值+2SD (通常>64 SFU/106 PBMC)視為陽性反應。此外，基於治療後之ELISpot反應程度，將個體歸類為對治療之低(> 64至< 512 SFU/106 PBMC)或高(> 512 SFU/106 PBMC)免疫反應者或描述為具有高及持續免疫反應(3個分開時間點> 512 SFU/106 PBMC)。

【0560】 經由對治療前及治療時生檢進行之多參數免疫組織化學(IHC或類似)量測腫瘤浸潤。定量包括T細胞之淋巴細胞之頻率。獲得此等不同細胞子集之相對豐度，且使用成對t檢驗或在需要時使用非參數檢驗測試所收集之所有個體之治療前與治療時切片檢查樣品之間的差異。亦僅僅使用藉由免疫學及/或臨床量度對療法起反應之個體進行探索性分析。

【0561】 個體接受以下方案達1年或直至疾病進展，以先到者為準

(參見圖1B)：

- 在研究D7及研究D28，相隔3週兩劑0.25 mL DPX-Survivac，接著相隔8週，至多六劑0.1 mL DPX-Survivac
- 研究D0至研究D6 (7天)，以50 mg BID之劑量間歇性低劑量CPA (口服)，接著停藥7天及給藥7天，歷時1年或直至疾病進展
- 自研究D8開始，以至多300 mg BID之劑量口服艾帕斯塔，至研究D370或直至疾病進展，以先到者為準。

【0562】 主要終點包括使用常見不良事件術語標準(CTCAE) 4.03版報導之不良事件、細胞介導之免疫學、藉由ELISPOT量測之抗原特異性反應率及免疫細胞浸潤(腫瘤切片檢查中效應細胞群體[諸如CD3+細胞、CD8+細胞或CD8+/叉頭框(Fox)P3+比率]之增加或免疫抑制細胞群體[諸如FoxP3+細胞]之減少)。對於該項研究之2期部分，一額外主要終點為客觀反應率(ORR)，使用改版RECIST 1.1評估。

【0563】 次要終點包括ORR、疾病控制率(DCR)、反應持續時間(DOR)、達至進展之時間、總存活率(OS)、癌症抗原125 (CA-125)反應、CA-125進展及生物標記物分析。

【0564】 如此處所指示進行改版RECIST 1.1。按照RECIST，不一定包括所有可量測之病灶作為目標病灶。在基線下鑑別代表所有受累器官的所有可量測病灶為目標病灶，每個器官最多2個病灶且總共5個病灶，且記錄及量測。可基於尺寸(具有最長直徑之病灶)及適用於準確重複量測之適合性(藉由成像技術或臨床上)，選擇目標病灶。計算所有目標病灶之最長直徑(LD)的和且報導為基線和LD。基線和LD將用作參考，用以表徵客觀腫瘤反應。鑑別所有其他病灶(或疾病部位)為非目標病灶，且亦記錄在

基線下。雖然不需要量測此等病灶，但在整個隨訪期間注意各病灶存在或不存在。

【0565】 在第一次治療之前21天內進行初始腫瘤成像(SD0)。部位研究小組回顧研究前圖像以根據RECIST 1.1版(入選標準#5)證實個體患有在二維成像研究上存在之可量測疾病。

【0566】 作為常規臨床管理之一部分進行的放射性評估若具有診斷品質且在第一劑研究治療之前21天內進行，則可接受用作篩選掃描。根據RECIST 1.1版(Eisenhauer等人 *Eur J Cancer* 45:228-47 2009，以全文引用的方式併入本文中以達成所有預期目的)使用電腦斷層攝影術(CT)或磁共振成像(MRI)。在整個研究中個體中使用相同成像模態，且只要可能，相同放射學家對個體進行所有回顧。

【0567】 在基線下對病灶進行標準之全面評估，包括胸部、腹部及骨盆之掃描。追蹤在篩選訪視時觀測到之所有病灶。為選擇目標病灶，應根據RECIST 1.1版。例如，RECIST將目標病灶之選擇阻止在先前輻射範圍內。位於先前輻射區域中或經受其他局部區域療法之區域中的病灶通常不視為可量測的，除非其為可量測疾病之孤立部位，且已證明病灶進展。理想地，未選擇用於RECIST之病灶用於進行切片檢查。若個體僅僅具有一個可量測病灶且進行切除切片檢查，則必須在治療前切片檢查之後仍可獲得腫瘤以進行治療時切片檢查；否則，個體視為不合格的。

【0568】 若放射性成像顯示疾病進展(PD)，則在>4週後重複評估，以證實PD。若初始成像顯示PD，則由治療醫師決定保持個體進行研究治療，以如改版RECIST建議中所述等待證實，或中斷研究治療。

【0569】 在確定腫瘤負荷增加還是減少時，研究者考慮所有目標病

灶以及非目標病灶。若放射學上證實進展，則個體中斷研究治療且PD之第一放射照相證據應為進展日期。若放射學上未證實進展，則個體繼續研究治療且根據方案指定之時程進行下一個掃描。若未證實進展且個體繼續治療，則證明疾病進展(且藉由至少4週後之第二個掃描證實)之下一個掃描視為疾病進展日期。

【0570】 資料意外地證明估計腫瘤負荷可為個體對研究治療起反應之可能性的關鍵替代標記物。來自顯示估計腫瘤負荷<5 cm (如藉由目標腫瘤病灶之最長直徑之和所量測)之個體亞群的資料更可能起反應，如表2中所示。在估計腫瘤負荷<5 cm之15名個體中，4名個體(26.7%)達到部分反應(PR)且6名個體(40.0%)達到疾病穩定(SD)，得到66.7%之DCR。

【0571】 對此亞群之進一步分解證明DPX-Survivac、間歇性低劑量CPA及艾帕斯塔100 mg群組中之個體比與艾帕斯塔300 mg群組之組合更可能得益於治療。在DPX-Survivac與間歇性低劑量CPA及艾帕斯塔100 mg群組之組合中，所有個體(N=5)在治療期腫瘤減小，DCR為100%。例如，即使自PD+26%走向SD+6%之個體613視為PD，但個體經歷腫瘤減小且自進展移動至疾病穩定(圖2)。五名個體中之三名(60%)達到PR，且兩名個體(40%)以繼續無進展狀態完成該研究，對應超過25個月及23個月。

表2：基線TTB及群組-研究1b期意圖治療群體之比較功效

功效參數	總目標病灶尺寸 <5cm			總目標病灶尺寸 ≥5cm		
	所有 (N=15)	艾帕斯塔 100mg BID (N=5)	艾帕斯塔 300mg BID (N=10)	所有 (N=38)	艾帕斯塔 100mg BID (N=9)	艾帕斯塔 300mg BID (N=29)
ORR	4 (26.7%)	3 (60%)	1 (10.0%)	1 (2.6%)	0	1 (3.4%)
CR	0	0	0	0	0	0
PR	4 (26.7%)	3 (60.0%)	1 (10.0%)	1 (2.6%)	0	1 (3.4%)
SD	6 (40.0%)	2 (40.0%)	4 (40.0%)	14 (36.8%)	3 (33.3%)	11 (37.9%)

未掃描	1 (6.7%)	0 (0.0%)	1 (10.0%)	9 (23.7%)	1 (11.1)	8 (27.6%)
DCR (CR + PR + SD)	10 (66.7%)	5 (100%)	5 (50.0%)	15 (39.5%)	3 (33.3%)	12 (41.4%)

縮寫：CR：完全反應；DCR：疾病控制率；ORR：整體反應率；PR：部分反應；SD：疾病穩定；TTB：目標腫瘤負荷。

【0572】 概言之，該研究顯示DPX-Survivac與間歇低劑量CPA及艾帕斯塔組合具有良好耐受性，其中在艾帕斯塔100 mg群組中14名個體中之5名中及艾帕斯塔300 mg BID群組中39名個體中之6名中目標病灶之腫瘤負荷具有可量測之減少。此外，觀測到之臨床益處在較低基線目標腫瘤負荷(<5 cm)之個體中更大，其中所有個體均顯示出疾病控制速率且100 mg群組中5名患者之3名顯示反應。300 mg群組中之結果亦顯示較低基線腫瘤負荷中之DCR及反應率(RR)更佳。亦參見圖3。

【0573】 招收之具有較高腫瘤負荷(5 cm及更大)之患者的腫瘤減小程度不大，或均未減小；14名患者中之一名患者由於患者類別及疾病穩定而實現PR。初步分析提出艾帕斯塔缺乏劑量相關之活性，且甚至提出艾帕斯塔300 mg與DPX-Survivac組合並非有效的。此假設藉由如下觀測結果支持：100 mg中治療期平均持續時間、T細胞反應及腫瘤消退比300 mg中更重要，如表3中所示。

表3：艾帕斯塔劑量之反應資料

群組(N)	艾帕斯塔100mg (N=14)	艾帕斯塔300mg ^a (N=39)	全部(N=53)
根據方案不可評估(腫瘤切片檢查未完成)	4/14 (28.6%)	17/39 (43.6%)	21/53 (39.6%)
不可評估(未掃描CT)	1/14 (7.1%)	9/39 (23.1%)	10/53 (18.9%)
治療期持續時間	4.7個月	3.4個月	3.8個月
陽性T細胞反應(存活素)	11/11 (100%)	9/16 (56.3%) ^b	22/27 (81.5%)
腫瘤消退	5/14 (35.7%)	6/39 (15.4%)	11/53 (20.1%)

PR	3/14 (21.4%)	2/39 (5.1%)	5/53 (9.4%)
SD	5/14 (35.7%)	15/39 (38.5%)	20/53 (37.0%)
PD	5/14 (35.7%)	13/39 (33.3%)	18/53 (34.0%)

^a：此群組中之部分監測數據。尚未收到所有數據。數據可改。

縮寫：CT：電腦斷層攝影術；PD：疾病進展；PR：部分反應；SD：疾病穩定。

【0574】 可在基線處目標病灶之和<5 cm之亞群群體中更清楚地觀測到負面影響之相同趨勢(表4)。雖然少數個體可供分析，但觀測到該亞群中100 mg BID中治療期平均持續時間為8.8個月，對比300 mg BID中5.2個月。此表明100 mg BID亞群中之個體在研究中保持在治療期中更長時間。此外，來自100 mg之所有可評估個體均顯示存活素特異性T細胞反應，而300 mg中無一名個體顯示出反應。當觀察腫瘤反應時，來自100 mg群組之所有個體在試驗期間之一些時刻均具有腫瘤消退，而300 mg群組中僅僅3/9名個體(33%)。來自100 mg之五名患者中之三名達到最佳PR反應，而300 mg群組中9名個體中僅1名。

表4：基線處目標病灶之和<5 cm之個體中艾帕斯塔劑量之反應資料

參數	艾帕斯塔100 mg (N=5)	艾帕斯塔300 mg ^a (N=10)	全部(N=15)
n	5/14 (35.7%)	10/39 (25.6%)	15/53 (283%)
根據方案不可評估(腫瘤切片檢查未完成)	0/5 (0%)	3/10 (30.0%)	3/15 (6.7%)
不可評估(未掃描CT)	0/5 (0%)	1/10 (10.0%)	1/15 (6.7%)
治療期持續時間	8.8個月	5.2個月	6.4個月
陽性T細胞反應(存活素)	4/4 (100%)	1/4 (25%) ^a	
腫瘤消退	5/5 (100%)	3/10 (30.0%)	8/15 (53.3%)
部分反應	3/5 (60.0%)	1/10 (10.0%)	4/15 (26.7%)
疾病穩定	2/5 (40.0%)	4/10 (40.0%)	5/15 (33.3%)
疾病進展	0/5 (0%)	5/10 (50.0%)	5/15 (33.3%)

^a 此群組中部分監測數據。縮寫：CT：電腦斷層攝影術；PD：疾

病進展；PR：部分反應；SD：疾病穩定。

【0575】 為證實在兩組之間觀測到之差異並非因為個體特徵之間的不平衡，觀察一些已知與此群體中更佳反應相關聯之特徵：疾病階段、對先前治療之反應、先前化學療法路線及抗鉑性狀態。100 mg群組中之患者在進入研究時疾病階段比300 mg晚，其中分別3c期為71.4%對比51.3%，且4期為28.6%對比12.8%。300 mg中比100 mg中更多個體在其最後治療方案下具有最佳PD反應，分別為51.3%對比14.3%。

【0576】 300 mg中比100 mg中治療路線平均數目高(分別為4.0對比3.1)。雖然此可能對所觀測到之差異有影響，但在100 mg中患有抗鉑性疾病之患者中觀測到臨床反應的事實表明鉑狀態特徵可能並非所觀測到之差異中的因素。

【0577】 實例2

【0578】 進行一項2期研究，該項研究檢查免疫治療劑DPX-Survivac與低劑量環磷醯胺在復發性卵巢癌患者中之功效。招募基線目標腫瘤和<5 cm及≥5 cm之個體以證實在無艾帕斯塔之治療中觀測到在<5 cm中偵測到之益處。

【0579】 實例3

【0580】 進行一項2期研究，該項研究檢查免疫治療劑DPX-Survivac與間歇性低劑量環磷醯胺在復發性卵巢癌患者中之功效。該方案類似於實例1中所概述之方案-主要差異為個體未接受艾帕斯塔且僅僅招募單一腫瘤病灶之長度小於4 cm之個體(亦即，最大腫瘤之最長直徑必須小於4 cm)。

【0581】 個體接受以下方案(參見圖1A)：

- 在研究D7及研究D28，相隔3週兩劑0.25 mL DPX-Survivac，接著相隔8週，0.1 mL劑量之DPX-Survivac

- 研究D0至研究D6 (7天)，以50 mg BID之劑量間歇性低劑量CPA (口服)，接著停藥7天及給藥7天，歷時DPX-Survivac治療之持續時間。

【0582】 資料意外地證明估計腫瘤負荷可為個體對研究治療起反應之可能性的關鍵替代標記物。來自顯示估計腫瘤負荷<4 cm (如藉由最大腫瘤病灶之最長直徑所量測)之個體的資料更可能起反應，如圖5中所示，此證明大部分用DPX-Survivac/CPA治療之具有低腫瘤負荷之個體顯示腫瘤減小及令人印象深刻之疾病控制率。在估計腫瘤負荷<4 cm之16名個體中，2名個體(12.5%)此時已達到部分反應(PR)且11名個體(68.75%)已達到疾病穩定(SD)，得到目標病灶上81.25%之DCR。

【0583】 實例4

【0584】 瀰漫性大B細胞淋巴瘤(DLBCL)為最常見類型之非霍奇金淋巴瘤。雖然在3名患者中之2名中標準療法常常成功治癒DLBCL，但大約33%患者將停止對其當前治療產生反應，或其癌症將捲土重來。迫切需要針對此等患者之新且有效之治療，因為其存活率低。

【0585】 DLBCL為與其他類型淋巴瘤相比一直表現出「高而強」之存活素表現的淋巴瘤亞型。研究已藉由免疫組織化學顯示60% DLBCL患者(134/222)中存活素表現與存活率負相關之存活素表現 (Adida C, Haioun C, Gaulard P等人, Prognostic significance of survivin expression in diffuse large B-cell lymphomas. Blood. 2000;96(5):1921-1925)及39% DLBCL患者(22/56)中存活素表現與更短存活期相關之存活素表現(>45%陽性腫瘤細胞)(Markovic O, Marisavljevic D, Cemerikic-Martinovic V等

人, Survivin expression in patients with newly diagnosed nodal diffuse large B cell lymphoma (DLBCL). Med Oncol. 2012;29(5):3515-3521)。

【0586】 此實例報導一項2期非隨機化、開放標記、不可控制之功效及安全性研究，該項研究檢查免疫治療劑DPX-Survivac與低劑量環磷醯胺連同程式化細胞死亡1(PD-1)抑制劑(例如派姆單抗)投與在患有持續性或復發性/難治性彌漫性大B細胞淋巴瘤(DLBCL)之患者中的功效。研究個體患有復發性彌漫性大細胞B細胞淋巴瘤(DLBCL)且無資格進行高劑量療法及自體幹細胞移植(ASCT)。此界定群體最終將死於其疾病，因為無法獲得有效補救療法。

【0587】 研究參與者接受以下治療方案(圖1C)：

- 在研究第7天及第28天，相隔21天之0.5 mL DPX-Survivac之兩個起始劑量，且每兩個月0.1 ml維持注射。所有注射均在大腿上部皮膚下給與。
- 研究D0至研究D6 (7天)，以50 mg BID之劑量間歇性低劑量CPA(口服)，接著停藥7天及給藥7天，歷時研究之持續時間。
- 每3週靜脈內200 mg派姆單抗，在研究第7天開始。

【0588】 在大約研究第70天(若有證據證明研究第49天明顯的2級或更高級別之注射部位反應或潰瘍)或通常在大約研究第91天且此外在所有參與者之研究結束或退出研究時，參與者進行「再分期」，以評估其疾病狀態。

【0589】 在研究第77天-第83天之間，針對在SD49或SD98與SD104之間(若無證據證明注射部位反應或潰瘍)具有任何2級或更高級別之注射部位反應或潰瘍的參與者，進行隨訪腫瘤切片檢查。

【0590】 標準**【0591】 進入標準**

- 患有組織學上證實之復發性DLBCL的個體。個體在針對DLBCL之一級、二級或三級治療方案之後可能復發。
- 在侵襲性第一線組合化學療法(例如RCHOP、Hyper-CVAD或其他侵襲性「治癒性」組合)、自體幹細胞移植(ASCT)或侵襲性第二線組合療法後至少90天復發之個體符合條件。
- 在第一線療法(非ASCT候選這)之後具有部分反應或可量測之疾病或在第二線或第三線療法之後疾病無進展的患者亦符合條件。在針對第一線、第二線或第三線疾病進行有或無利妥昔單抗之非侵襲性組合或單一藥劑療法(亦即CVP、CHL或VP16)之後任何時候復發的患者符合條件。

【0592】 入選標準

- 願意且能夠為試驗提供書面知情同意書/同意。
- 在簽署知情同意書當天18歲以上且屬於任何人種或種族群體之男性或女性。
- 使用標準CT成像，基於Cheson標準，具有至少一個可量測之疾病部位。
- 願意為腫瘤病灶之最新獲得(在第0天之前至多3個月)之切片檢查提供組織。若此不可用，則患者必須願意在治療開始之前進行核心切片檢查。其必須亦願意提供治療期切片檢查。注意：可使用自上文所示在3個月時間線延長7天之治療前切片檢查。
- 具有據ECOG效能量表0-1之效能狀態。
- 展示如所定義之足夠器官功能。足夠器官功能應在接受第一劑研

究藥品(第0天)之前48小時內證實。具有多達正常之上限5倍之異常肝酶及/或在50-100%正常範圍內之減少GFR的患者若改變歸因於淋巴瘤，則可考慮招收其。

- 在SD0之前超過21天進行先前局部手術、放射線療法、化學療法及免疫療法。可針對已接受單一試劑療法之個體投與多達100毫克/天環磷醯胺，直至SD-1。

- 個體必須具有治療前腫瘤樣品中存活素表現之證據(>10%腫瘤細胞染色)。

- 預期壽命>6個月。

- 可能生育之女性個體應在接受第一劑研究藥品(第0天)之前72小時內具有陰性尿液或血清妊娠。若尿液測試為陽性或無法證實為陰性，則將需要血清妊娠測試。

- 可能生育之女性個體應願意使用2種節育方法或以外科手術方式絕育，或在最後一劑研究藥品之後120天之研究過程內避免異性性行為(參考文獻部分6.1.8)。可能生育之個體為尚未以外科手術方式絕育或尚未絕經超過1年的個體。

- 男性個體應同意自第一劑研究療法開始至最後一次研究問診後120天使用適當避孕方法。

- 能夠遵循方案要求。

【0593】 排除標準

- 在第一劑治療(SD0)之21天內當前正參與及接受研究療法或已參與研究性藥劑之研究及接受研究療法或使用研究性裝置。

- 有資格進行諸如ASCT之可能治癒性療法之患者。

- LDH超過5倍正常之上限。
- 在第一劑試驗治療(SD0)之前35天內經診斷具有免疫缺陷或正接受全身類固醇療法或任何其他形式之免疫抑制療法，但用作化學療法或對比度增強研究之預先藥物療法符合條件。個體可給與生理劑量之替換潑尼松或同等劑量之皮質類固醇(每日<10 mg)。
- 先前進行過同種異體幹細胞移植。
- 具有已知之活性TB (肺結核芽孢桿菌)。
- 對派姆單抗或其賦形劑中之任一者具有超敏反應。
- 在研究第0天之前21天內使用過先前抗癌單株抗體(mAb)或尚未自之前投與超過21天之藥劑引起的不良事件恢復(亦即，≤1級)。
- 在研究第0天之前21天內進行過先前化學療法、靶向小分子療法或放射線療法。個體必須已自先前治療之所有急性毒性中恢復；周圍神經病必須≤2級。
- 患有正進行或需要積極治療之已知之額外惡性病。例外包括已進行可能治癒性療法之皮膚基底細胞癌或皮膚鱗狀細胞癌或原位子宮頸癌。
- 患有已知之活動性中樞神經系統(CNS)癌轉移及/或癌性腦膜炎。先前已治療腦轉移瘤之個體可參與，條件為其穩定(在第一劑試驗治療之前至少四週內，藉由成像，無證據顯示進展，且任何神經症狀已回復至基線)，無新腦轉移瘤或腦轉移瘤增大之證據，且在試驗治療之前至少35天不使用類固醇。
- 在SD0之前35天內需要治療的進展性CNS淋巴瘤。
- 具有需要在過去2年內進行全身治療(亦即，使用疾病改善劑、皮質類固醇或免疫抑制藥物)之活動性自體免疫性疾病的病史。替代療法(例如

針對腎上腺或垂體機能不全之甲狀腺素、胰島素或生理皮質類固醇替代療法)不視為全身性治療形式。

- 具有已知之活動性非感染性肺炎病史或有任何該病之證據。
- 在過去5年內患有甲狀腺炎。
- 具有需要全身性療法之活動性感染。注意：在SD0之前7天完成針對急性感染之抗生素療程且未復發症狀或經歷發熱之個體符合條件。
- 具有可能混淆試驗結果、干擾個體在整個試驗持續時間之參與或在治療研究者觀點看來個體並非最有興趣參與的任何病狀、療法或實驗室異常之病史或當前證據。
- 患有將干擾與試驗要求之合作的已知之精神或藥物濫用病症。
- 懷孕或正在哺乳，或預期在試驗計劃持續時間內懷上或孕育孩子，在篩選訪視開始至完成研究後120天。
- 已接受抗PD-1、抗PD-L1或抗PD-L2藥劑之先前療法。
- 具有已知之人類免疫缺乏病毒病史(HIV)(HIV 1/2抗體)。
- 患有已知之活動性B型肝炎(例如HBsAg反應性)或C型肝炎(例如偵測到HCV RNA[定性])。允許有B型肝炎表面抗原之證據但無轉胺酶過高(transaminitis)，條件為患者用抗病毒療法(賀普塔韋(Heptavir)或替諾福韋(Tenofovir))進行治療。
- 先前已接受基於存活素之疫苗的患者。
- 干擾皮下注射或潛在皮膚反應之後續評估的急性或慢性皮膚病症。
- 嚴重間發性慢性或急性疾病，諸如心臟疾病(紐約心臟協會第III或IV類)、肝病或研究者視為處於研究產品之不適當高度風險下的其他疾病。

- 對任何疫苗過敏，在用醫學監測器討論之後足夠嚴重而保證自此研究排除。
- 在研究療法計劃開始30天內接受活毒疫苗；注意：用於注射之季節性流感疫苗一般為失活流感疫苗且予以允許；然而，鼻內流感疫苗為減毒疫苗，且不予允許。

表5：DLBLC：基於腫瘤負荷，隨時間推移每個可評估個體之反應

量測	篩選	成像#1 (D70或91)	成像#2 (D175)	EOS	驗證性掃描
總腫瘤負荷(cm2)	4.15	3.62	7.92	—	4.54
最大病灶(SPD，以cm2為單位)	1.43	0.41	0.9	—	0.6
時間點反應	-	SD (-14%)	PD (+118%)	—	PD (-2.6%)
總腫瘤負荷(cm2)	14.96	5.03	3.00	2.9546	—
最大病灶(SPD，以cm2為單位)	4.32	2.1	0.32	0.4484	—
時間點反應	-	PR (-69.7%)	CR (-84.3%)	CR (-84.9%)	—
總腫瘤負荷(cm2)	2.00	0	50.05	—	—
最大病灶(SPD，以cm2為單位)	2.00	0	50.05	—	—
時間點反應	-	CR (-100%)	PD (+2402.5%)	—	—
總腫瘤負荷(cm2)	44.84	29.56	未決		
最大病灶(SPD，以cm2為單位)	22.44	15.4			
時間點反應	-	SD (-34.1%)			
總腫瘤負荷(cm2)	59.80	80.12	103.52	—	87.06
最大病灶(SPD，以cm2為單位)	16.10	19.98	30.25	—	22.55
時間點反應	-	SD (+34%)	PD (+73%)	—	PD (+45.6%)

總腫瘤負荷(cm2)	15.45	5.46	未決		
最大病灶(SPD，以cm2為單位)	3.12	1.62			
時間點反應	-	PR (-64.7%)			
總腫瘤負荷(cm2)	52.90	80.52	—	—	—
最大病灶(SPD，以cm2為單位)	15.30	27.45	—	—	—
時間點反應	-	PD (+52.2%)	—	—	—
總腫瘤負荷(cm2)	16.92	3.61	2.67	未決	
最大病灶(SPD，以cm2為單位)	12.92	2.73	2.31		
時間點反應	-	PR (-78.7%)	PR (-84.2%)		

【0594】 來自顯示估計腫瘤負荷≤20 cm² (如藉由目標病灶之SPD之和所量測)之個體的資料更可能起反應，如圖6及7中所示，此證明大部分用DPX-Survivac/CPA/派姆單抗治療之具有低腫瘤負荷之個體顯示所有可評估個體腫瘤消退及令人印象深刻之疾病控制率。連同表5，圖6及7突出顯示具有更佳反應百分比之個體主要為具有較低腫瘤負荷(小於20 cm²)之個體。。

參考文獻：

1) Bertschinger, J.; Grabulovski, D.; and Neri, D. (2007) “Selection of single domain binding proteins by covalent DNA display”, *Protein Eng Des Sel* 20(2):57-68.

2) Berge, S.M.; Bighley, L.D.; and Monkhouse, D.C. (1977) “Pharmaceutical salts”, *J Pharm Sci* 66(1):1-19.

3) Beste, G.; Schmidt, F.S.; Stibora, T.; and Skerra, A. (1999) “Small antibody-like proteins with prescribed ligand specificities derived from the lipocalin fold”, *Proc Natl Acad Sci U S A*. 96(5):1898-

1903.

4) Boschek, C.B.; Apiyo, D.O.; Soares, T.A.; Engelmann, H.E.; Pefaur, N.B.; Straatsma, T.P.; and Baird, C.L. (2009) “Engineering an ultra-stable affinity reagent based on Top7”, *Protein Engineering, Design and Selection* 22(5):325-332.

5) Curiel, T.J.; Coukos, G.; Zou, L.; Alvarez, X.; Cheng, P.; Mottram, P.; Evdemon-Hogan, M.; Conejo-Garcia, J.R.; Zhang, L.; Burow, M.; Zhu, Y.; Wei, S.; Kryczek, I.; Daniel, B.; Gordon, A.; Myers, L.; Lackner, A.; Disis, M.L.; Knutson, K.L.; Chen, L.; and Zou, W. (2004) “Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival”, *Nat Med* 10(9):942-949.

6) Desmet, J.; Verstraete, K.; Bloch, Y.; Lorent, E.; Wen, Y.; Devreese, B.; Vandenbroucke, K.; Loverix, S.; Hettmann, T.; Deroo, S.; Somers, K.; Henderikx, P.; Lasters, I.; and Savvides, S. N. (2014). "Structural basis of IL-23 antagonism by an Alphabody protein scaffold", *Nature Communications* 5:5237.

7) Feldwisch, J.; and Tolmachev, V. (2012) “Engineering of affibody molecules for therapy and diagnostics”, *Methods Mol Biol* 899:103-26.

8) Gebauer, M.; and Skerra, A. (2009) “Engineered protein scaffolds as next-generation antibody therapeutics”, *Curr Opinion in Chemical Biology* 13:245-255.

9) Grabulovski, D.; Kaspar, M.; and Neri, D. (2007) “A Novel, Non-immunogenic Fyn SH3-derived Binding Protein with Tumor Vascular Targeting Properties”, *J Biol Chem* 282:3196-3204.

10) Green, L.L.; Hardy, M.C.; Maynard-Currie, C.E.; Tsuda, H.; Louie, D.M.; Mendez, M.J.; Abderrahim, H.; Noguchi, M.; Smith, D.H.; Zeng, Y.; David, N.E.; Sasai, H.; Garza, D.; Brenner, D.G.; Hales, J.F.; McGuinness, R.P.; Capon, D.J.; Klapholz, S.; Jakobovits, A. (1994) “Antigen-specific human monoclonal antibodies from mice engineered with human Ig heavy and light chain YACs”, *Nature Genet* 7:13-21.

11) Greenfield, E.A. (ed.) (2014) “Antibodies: A Laboratory Manual”, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd Edition.

12) Hollinger, P.; and Hudson, P.J. (2005) “Engineered antibody fragments and the rise of single domains”, *Nat Biotechnol* 23(9):1126-1136.

13) Johnson, K.S.; and Chiswell, D.J. (1993) “Human antibody engineering”, *Current Opinion in Structural Biology* 3:564-571.

14) Lonberg, N.; Taylor, L.D.; Harding, F.A.; Trounstine, M.; Higgins, K.M.; Schramm, S.R.; Kuo, C.-C.; Mashayekh, R.; Wymore, K.; McCabe, J.G.; O'Regan, D.M.; O'Donnell, S.L.; Lapachet, E.S.G.; Bengoechea, T.; Fishwild, D.M.; Carmack, C.E.; Kay, R.M.; and Huszar, D. (1994) “Antigen-specific human antibodies from mice comprising four distinct genetic modifications”, *Nature* 368:856-859.

15) McCafferty, J.; Griffiths, A.D.; Winter, G.; and Chiswell, D.J.

(1990) “Phage antibodies: filamentous phage displaying antibody variable domains”, *Nature* 348:552-553.

16) Mouratou, B.; Behar, G.; Paillard- Laurance, L.; Colinet, S.; and Pecorari, F. (2012) “Ribosome display for the selection of Sac7d scaffolds”, *Methods Mol Biol* 805:315-31.

17) Nagaraj, S.; and Gabrilovich, D.I. (2008) “Tumor escape mechanism governed by myeloid-derived suppressor cells”, *Cancer Res* 68:2561-2563.

18) Pardoll, D.M. (2012) “The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy”, *Nature Reviews Cancer* 12:252-264.

19) Schlatter, D.; Brack, S.; Banner, D.W.; Batey, S.; Benz, J.; Bertschinger, J.; Huber, W.; Joseph, C.; Rufer, A.C.; van der Klooster, A.; Weber, M.; Grabulovski, D.; and Hennig, D. (2012) “Generation, characterization and structural data of chymase binding proteins based on the human Fyn kinase SH3 domain”, *MAbs* 4(4):497-508.

20) Suderman, R.J., Rice, D.A., Gibson, S.D., Strick, E.J., Chao, D.M. (2017) “Development of polyol-responsive antibody mimetics for single-step protein purification”, *Protein Expression and Purification* 134:114-124.

21) Taylor, L.D.; Carmack, C.E.; Huszar, D.; Higgins, K.M.; Mashayekh, R.; Sequar, G.; Schramm, S.R.; Kuo, C.C.; O'Donnell, S.L.; Kay, R.M.; et al. (1994) “Human immunoglobulin transgenes undergo rearrangement, somatic mutation and class switching in mice that lack

endogenous IgM”, *Int. Immun.* 6:579-591.

22) van der Neut Kolfshoten, M.; Schuurman, J.; Losen, M.; Bleeker, W.K.; Martínez-Martínez, P.; Vermeulen, E.; den Bleker, T.H.; Wiegman, L.; Vink, T.; Aarden, L.A.; De Baets, M.H.; van de Winkel, J.G.; Aalberse, R.C.; Parren, P.W. (2007) “Anti-inflammatory activity of human IgG4 antibodies by dynamic Fab arm exchange”, *Science* 317(5844):1554-1557.

23) Weidle, U.H.; Auer, J.; Brinkmann, U.; Georges, G.; Tiefenthaler, G. (2013) “The emerging role of new protein scaffold-based agents for treatment of cancer” *Cancer Genomics Proteomics* 10(4):155-68.

24) Wishart, D.S.; Feunang, Y.D.; Guo, A.C.; Lo, E.J.; Marcu, A.; Grant, J.R.; Sajed, T.; Johnson, D.; Li, C.; Sayeeda, Z.; Assempour, N.; Iynkkaran, I.; Liu, Y.; Maciejewski, A.; Gale, N.; Wilson, A.; Chin, L.; Cummings, R.; Le, D.; Pon, A.; Knox, C.; and Wilson, M. (2017) DrugBank 5.0: a major update to the DrugBank database for 2018, *Nucleic Acids Research* 46(D1): D1074-D1082.

25) Yang, L.; Pang, Y.; and Moses, H.L. (2010) “TGF- β and immune cells: an important regulatory axis in the tumor microenvironment and progression”, *Trends Immunol* 31(6): 220-227.

26) Yong, X.; Xiao, Y-F.; Luo, G.; He, B.; Lü, M-H.; Hu, C-J.; Guo, H.; and Yang, S-M. (2012) “Strategies for Enhancing Vaccine-Induced CTL Antitumor Immune Responses”, *J Biomed Biotechnol*

2012:605045.

* * *

【0595】 在本說明書中引用之所有公開案及專利申請案均以全文引用的方式併入本文中，如同各個別公開案或專利申請案特定且個別地指示以引用的方式併入本文中一般。對任何公開案之引用係針對其在申請日期之前的揭示內容，且不應解釋為承認本發明因先前發明而無權先於該公開案。

【0596】 儘管已出於理解清楚之目的藉助於圖示及實例相當詳細地描述前述發明，但根據本發明之教示，一般技術者容易顯而易見的是可在不背離所附申請專利範圍之精神或範疇的情況下對其作出某些改變及修改。

【序列表】

<110> 加拿大商伊繆諾疫苗科技股份有限公司(IMMUNOVACCINE TECHNOLOGIES INC.)

<120> 在治療腫瘤中改善存活素療法功效的方法

<130> 249979.000057

<140>

<141>

<150> 62/769,347

<151> 2018-11-19

<160> 21

<170> PatentIn version 3.5

 $\langle 210 \rangle$ 1

<211> 142

<212> PRT

<213> 智人

 $\langle 400 \rangle$ 1

Met Gly Ala Pro Thr Leu Pro Pro Ala Trp Gln Pro Phe Leu Lys Asp

1 5 10 15

His Arg Ile Ser Thr Phe Lys Asn Trp Pro Phe Leu Glu Gly Cys Ala

20 25 30

Cys Thr Pro Glu Arg Met Ala Glu Ala Gly Phe Ile His Cys Pro Thr

35 40 45

Glu Asn Glu Pro Asp Leu Ala Gln Cys Phe Phe Cys Phe Lys Glu Leu

50 55 60

Glu Gly Trp Glu Pro Asp Asp Asp Pro Ile Glu Glu His Lys Lys His

65 70 75 80

Ser Ser Gly Cys Ala Phe Leu Ser Val Lys Lys Gln Phe Glu Glu Leu

85 90 95

Thr Leu Gly Glu Phe Leu Lys Leu Asp Arg Glu Arg Ala Lys Asn Lys

202039532

100

105

110

Ile Ala Lys Glu Thr Asn Asn Lys Lys Lys Glu Phe Glu Glu Thr Ala
115 120 125

Lys Lys Val Arg Arg Ala Ile Glu Gln Leu Ala Ala Met Asp
130 135 140

 $\langle 210 \rangle$ 2 $\langle 211 \rangle$ 9

<212> PRT

<213> 智人

 $\langle 400 \rangle$ 2

Phe Glu Glu Leu Thr Leu Gly Glu Phe
1 5

 $\langle 210 \rangle$ 3 $\langle 211 \rangle$ 9

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列之描述：合成肽

 $\langle 400 \rangle$ 3

Phe Thr Glu Leu Thr Leu Gly Glu Phe
1 5

 $\langle 210 \rangle$ 4

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

 $\langle 400 \rangle$ 4

Leu Thr Leu Gly Glu Phe Leu Lys Leu
1 5

 $\langle 210 \rangle$ 5 $\langle 211 \rangle$ 9

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 5
Leu Met Leu Gly Glu Phe Leu Lys Leu
1 5

<210> 6
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 6
Arg Ile Ser Thr Phe Lys Asn Trp Pro Phe
1 5 10

<210> 7
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 7
Arg Ile Ser Thr Phe Lys Asn Trp Pro Lys
1 5 10

<210> 8
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 8
Ser Thr Phe Lys Asn Trp Pro Phe Leu
1 5

<210> 9
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 9
Leu Pro Pro Ala Trp Gln Pro Phe Leu
1 5

<210> 10
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 10
Ala Gln Tyr Ile Lys Ala Asn Ser Lys Phe Ile Gly Ile Thr Glu Leu
1 5 10 15

<210> 11
<211> 429
<212> DNA
<213> 智人

<400> 11
atgggtgccc cgacgttgcc cctgcctgg cagcccttc tcaaggacca ccgcatctct 60

acattcaaga actggccctt cttggagggc tgcgcctgca ccccggagcg gatggccgag 120

gctggcttca tccactgccc cactgagaac gagccagact tggcccagtg tttcttctgc 180

ttcaaggagc tggaaggctg ggagccagat gacgacccca tagaggaaca taaaaagcat 240

tcgtccggtt gcgctttcct ttctgtcaag aagcagtttg aagaattaac ccttggtgaa 300

tttttgaaac tggacagaga aagagccaag aacaaaattg caaaggaaac caacaataag 360

aagaaagaat ttgaggaaac tgcgaagaaa gtgcgccgtg ccatcgagca gctggctgcc 420

atggattga 429

<210> 12

<400> 12
000

<210> 13
<211> 13

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (3)..(3)
<223> 環己基丙胺鹽基

<400> 13
Ala Lys Ala Val Ala Ala Trp Thr Leu Lys Ala Ala Ala
1 5 10

<210> 14

<400> 14
000

<210> 15
<211> 21
<212> PRT
<213> 破傷風梭菌

<400> 15
Phe Asn Asn Phe Thr Val Ser Phe Trp Leu Arg Val Pro Lys Val Ser
1 5 10 15

Ala Ser His Leu Glu
 20

<210> 16
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 16
tccatgacgt tcctgacgtt20

<210> 17

<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 17
Cys Gly Pro Cys
1

<210> 18
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> Pam3Cys

<400> 18
Cys Ser Lys Lys Lys
1 5

<210> 19
<211> 26
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(1)
<223> 肌苷

<220>
<221> modified_base
<222> (3)..(3)
<223> 肌苷

<220>
<221> modified_base
<222> (5)..(5)
<223> 肌昔

<220>
<221> modified_base
<222> (7)..(7)
<223> 肌昔

<220>
<221> modified_base
<222> (9)..(9)
<223> 肌昔

<220>
<221> modified_base
<222> (11)..(11)
<223> 肌昔

<220>
<221> modified_base
<222> (13)..(13)
<223> 肌昔

<220>
<221> modified_base
<222> (15)..(15)
<223> 肌昔

<220>
<221> modified_base
<222> (17)..(17)
<223> 肌昔

<220>
<221> modified_base
<222> (19)..(19)
<223> 肌昔

<220>
<221> modified_base
<222> (21)..(21)
<223> 肌昔

<220>
<221> modified_base
<222> (23)..(23)
<223> 肌昔

<220>
<221> modified_base
<222> (25)..(25)
<223> 肌苷

<400> 19
nncnncnnc nncnncnnc nncnc

26

<210> 20
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> Pam2Cys

<400> 20
Cys Ser Lys Lys Lys Lys
1 5

<210> 21
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> Pam3Cys

<400> 21
Cys Ser Lys Lys Lys Lys
1 5

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種在治療個體之腫瘤中改善T細胞活化治療劑功效的方法，該方法包含：

a)量測該個體之估計腫瘤負荷；

b)向有需要之該個體投與有效量之至少一種活性劑，其中該個體具有低的估計腫瘤負荷；以及

c)向該個體投與治療有效量之該T細胞活化治療劑，其中該T細胞活化治療劑包含至少一種存活素抗原。

【第2項】

一種治療具有低腫瘤負荷之個體之腫瘤的方法，該方法包含：

a)量測該個體之估計腫瘤負荷；

b)向有需要之該個體投與有效量之至少一種活性劑，其中該個體具有低的估計腫瘤負荷；以及

c)向該個體投與治療有效量之T細胞活化治療劑，其中該T細胞活化治療劑包含至少一種存活素抗原。

【第3項】

如請求項1或請求項2之方法，其中該估計腫瘤負荷係基於最大腫瘤病灶。

【第4項】

如請求項1至3中任一項之方法，其中該估計腫瘤負荷係基於最大腫瘤病灶之最長直徑。

【第5項】

如請求項1至4之方法，其中當最大腫瘤病灶涉及淋巴結時，該估計腫瘤負荷係基於淋巴結之短軸直徑。

【第6項】

如請求項1至5中任一項之方法，其中當最大腫瘤病灶之最長直徑小於約10 cm、約9 cm、約8 cm、約7 cm、約6 cm、約5 cm、約4 cm、約3 cm或約2 cm時，該個體具有低的估計腫瘤負荷。

【第7項】

如請求項1至6中任一項之方法，其中當最大腫瘤病灶之最長直徑小於約4 cm時，該個體具有低的估計腫瘤負荷。

【第8項】

如請求項1或請求項2之方法，其中該估計腫瘤負荷係基於至少兩個目標腫瘤病灶之直徑的和。

【第9項】

如請求項8之方法，其中該直徑：

a) 為該目標腫瘤病灶之最長直徑；及/或

b) 當該目標腫瘤病灶涉及淋巴結時為淋巴結之短軸直徑。

【第10項】

如請求項1或請求項2之方法，其中該估計腫瘤負荷係基於至少兩個目標腫瘤病灶之直徑之積和。

【第11項】

如請求項8至10中任一項之方法，其中該等目標腫瘤病灶係：

a) 基於其尺寸及/或該病灶進行準確重複量測之適合性來選擇；及/或

b) 最大腫瘤病灶。

【第12項】

如請求項8至11中任一項之方法，其中目標腫瘤病灶之數目介於2與5之間且視情況其中每個器官量測不超過兩個目標腫瘤病灶。

【第13項】

如請求項8至12中任一項之方法，其中當該等目標腫瘤病灶之最長直徑之和小於約10 cm、約9 cm、約8 cm、約7 cm、約6 cm、約5 cm、約4 cm或約3 cm時，該個體具有低的估計腫瘤負荷。

【第14項】

如請求項8至13中任一項之方法，其中當該等目標腫瘤病灶之最長直徑之和小於約5 cm時，該個體具有低的估計腫瘤負荷。

【第15項】

如請求項8至14中任一項之方法，其中當該等目標腫瘤病灶之最長直徑之和小於約30 cm²、約27 cm²、約25 cm²、約22 cm²、約20 cm²、約17 cm²、約15 cm²、約12 cm²或約10 cm²時，該個體具有低的估計腫瘤負荷。

【第16項】

如請求項8至15中任一項之方法，其中當該等目標腫瘤病灶之最長直徑之和小於約20 cm²時，該個體具有低的估計腫瘤負荷。

【第17項】

如請求項1至16中任一項之方法，其中在步驟b)中，該活性劑之該有效量為足夠提供免疫調節作用之量。

【第18項】

如請求項1至17中任一項之方法，其中在該T細胞活化治療劑之前投

與該活性劑。

【第19項】

如請求項1至18中任一項之方法，其中步驟b)包含在投與該T細胞活化治療劑之前至少兩天向該個體投與第一劑量之該活性劑。

【第20項】

如請求項1至19中任一項之方法，其中步驟b)包含在投與該T細胞活化治療劑之前約一週向該個體投與第一劑量之該活性劑。

【第21項】

如請求項1至20中任一項之方法，其中步驟b)包含向該個體投與第一劑量之該活性劑，接著一或多個維持劑量之該活性劑。

【第22項】

如請求項1至21中任一項之方法，其中步驟b)包含每天向該個體投與該活性劑兩次，歷時約一週時間。

【第23項】

如請求項1至22中任一項之方法，其中步驟b)包含以低劑量節拍式方案向該個體投與該活性劑。

【第24項】

如請求項23之方法，其中該節拍式方案包含每隔一週每天向該個體投與該活性劑，歷時約一週時間。

【第25項】

如請求項24之方法，其中每日投與該活性劑兩次。

【第26項】

如請求項23至25中任一項之方法，其中該節拍式方案包含投與該活

性劑，週期為兩週，其中在該週期之第一週期間向該個體投與該活性劑，其中在該週期之第二週期間不向該個體投與該活性劑，且其中該節拍式方案包含至少兩個週期。

【第27項】

如請求項1至26中任一項之方法，其中步驟c)包含約每三週向該個體投與該T細胞活化治療劑一次。

【第28項】

如請求項1至27中任一項之方法，其中步驟b)包含在投與第一劑量之該T細胞活化治療劑之前約一週開始向該個體投與該活性劑，且步驟c)包含約每三週向該個體投與該T細胞活化治療劑一次。

【第29項】

如請求項1至28中任一項之方法，其中該存活素抗原為包含胺基酸序列中之至少一者的肽抗原，其中該胺基酸序列為FEELTLGEF (SEQ ID NO: 2)；FTELTLGEF (SEQ ID NO: 3)；LTLGEFLKL (SEQ ID NO: 4)；LMLGEFLKL (SEQ ID NO: 5)；RISTFKNWPF (SEQ ID NO: 6)；RISTFKNWPK (SEQ ID NO: 7)；STFKNWPFL (SEQ ID NO: 8)；或LPPAWQPFL (SEQ ID NO: 9)，或編碼該肽抗原之核酸分子。

【第30項】

如請求項1至29中任一項之方法，其中該活性劑為干擾DNA複製之藥劑。

【第31項】

如請求項30之方法，其中該活性劑為烷基化劑。

【第32項】

如請求項31之方法，其中該烷基化劑為氮芥類烷基化劑，視情況為環磷醯胺。

【第33項】

如請求項30之方法，其中該活性劑為：

a) 吉西他濱(gemcitabine)、5-FU、順鉑(cisplatin)、奧沙利鉑(oxaliplatin)、替莫唑胺(temozolomide)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)、卡培他濱(capecitabine)、甲胺喋呤(methotrexate)、表柔比星(epirubicin)、艾達黴素(idarubicin)、米托蒽醌(mitoxantrone)、博萊黴素(bleomycin)、地西他濱(decitabine)或多烯紫杉醇(docetaxel)中之至少一者；

b) 沙力度胺(thalidomide)、硼替佐米(bortezomib)、IL-2、IL-12、IL-15、IFN- γ 、IFN- α 或TNF- α 、二甲雙胍(metformin)或來那度胺(lenalidomide)中之至少一者；及/或

c) VEGF、VEGFR或CD40中之至少一者。

【第34項】

如請求項1至33中任一項之方法，其中該T細胞活化治療劑為包含該至少一種存活素抗原、脂質體及包含疏水性物質之連續相之載劑的組合物。

【第35項】

如請求項1至34中任一項之方法，其中該活性劑藉由直接增強針對該抗原之免疫反應，諸如藉由增加抗原特異性CD8⁺ T細胞活性或數目來改善該T細胞活化治療劑功效。

【第36項】

如請求項35之方法，其中增加抗原特異性CD8⁺ T細胞之活性或數目

包括抗原特異性CD8+ T細胞因總CD8+ T細胞相對減少而富集。

【第37項】

如請求項1至36中任一項之方法，其中該活性劑藉由減少抑制免疫細胞、例如CD4+FoxP3+調節T細胞(Treg)、骨髓衍生之抑制細胞(MDSC)及/或CD19+CD1d+CD5+ B細胞(Breg)之數目或活性來改善該T細胞活化治療劑功效。

【第38項】

如請求項1至37中任一項之方法，其中該方法進一步包含步驟d)投與至少一種額外治療劑。

【第39項】

如請求項38之方法，其中該至少一種額外治療劑為：

a)一或多種檢查點藥劑；

b)雷帕羅吉(rapalogue)、組蛋白去乙醯基酶(HDAC)抑制劑、parp抑制劑或吲哚胺2,3-雙加氧酶抑制劑中之一或多者；及/或

c)小紅莓(doxorubicin)、曲妥珠單抗(trastuzumab)、貝伐單抗(bevacizumab)、舒尼替尼(sunitinib)、索拉非尼(sorafenib)或其組合。

【第40項】

如請求項39之方法，其中該檢查點藥劑為免疫檢查點蛋白抑制劑，其中該免疫檢查點蛋白為計劃性死亡-配位體1 (PD-L1，亦稱為B7-H1、CD274)、計劃性死亡1 (PD-1、CD279)、CTLA-4 (CD154)、LAG3 (CD223)、TIM3 (HAVCR2、CD366)、41BB (CD137)、ICOS (誘導性T細胞共刺激分子)、殺傷細胞抑制性受體(KIR)、CD27、OX-40、GITR或磷脂醯絲胺酸(PS)。

【第41項】

如請求項40之方法，其中該PD-1抑制劑為抗體，視情況為派姆單抗(pembrolizumab)。

【第42項】

如請求項38至41中任一項之方法，其中向該個體投與第一劑量之該額外治療劑，接著投與一或多種維持劑量之該額外治療劑。

【第43項】

如請求項38至42中任一項之方法，其中該額外治療劑約每1至4週投與。

【第44項】

如請求項43之方法，其中該額外治療劑每3週投與。

【第45項】

如請求項1至44中任一項之方法，其中該腫瘤為實體腫瘤。

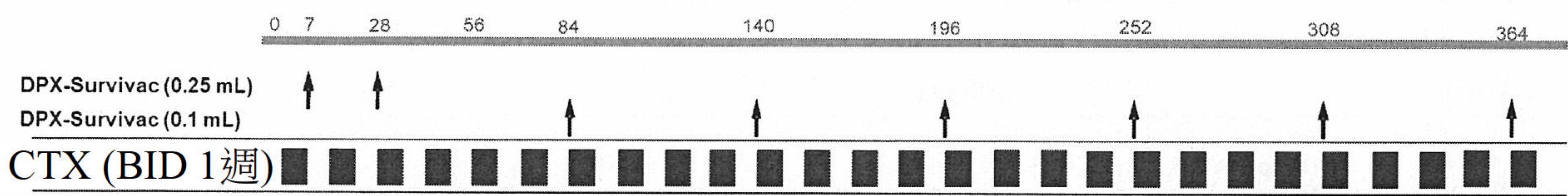
【第46項】

如請求項1至44中任一項之方法，其中該腫瘤為惡性血液病。

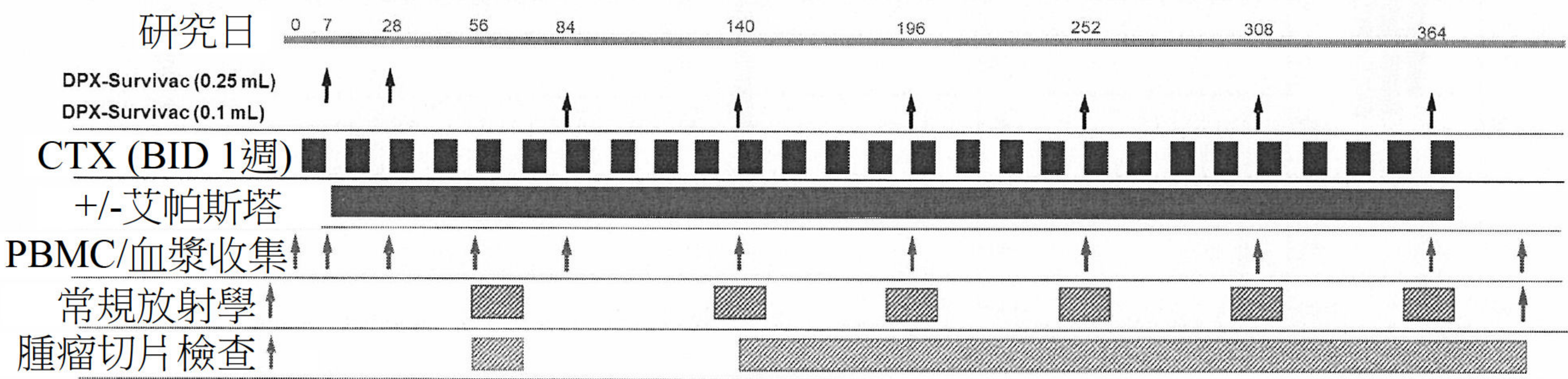
【第47項】

如請求項1至46中任一項之方法，其中該腫瘤為乳癌、卵巢腫瘤、輸卵管腫瘤、腹膜腫瘤、膀胱腫瘤、彌漫性大B細胞淋巴瘤、神經膠質瘤、非小細胞肺腫瘤或肝細胞癌。

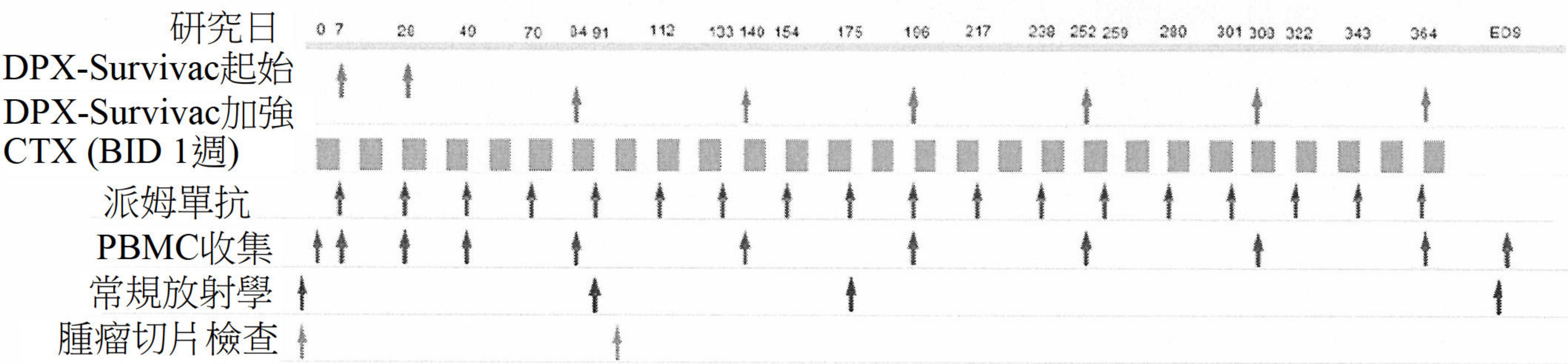
【發明圖式】



【圖1A】



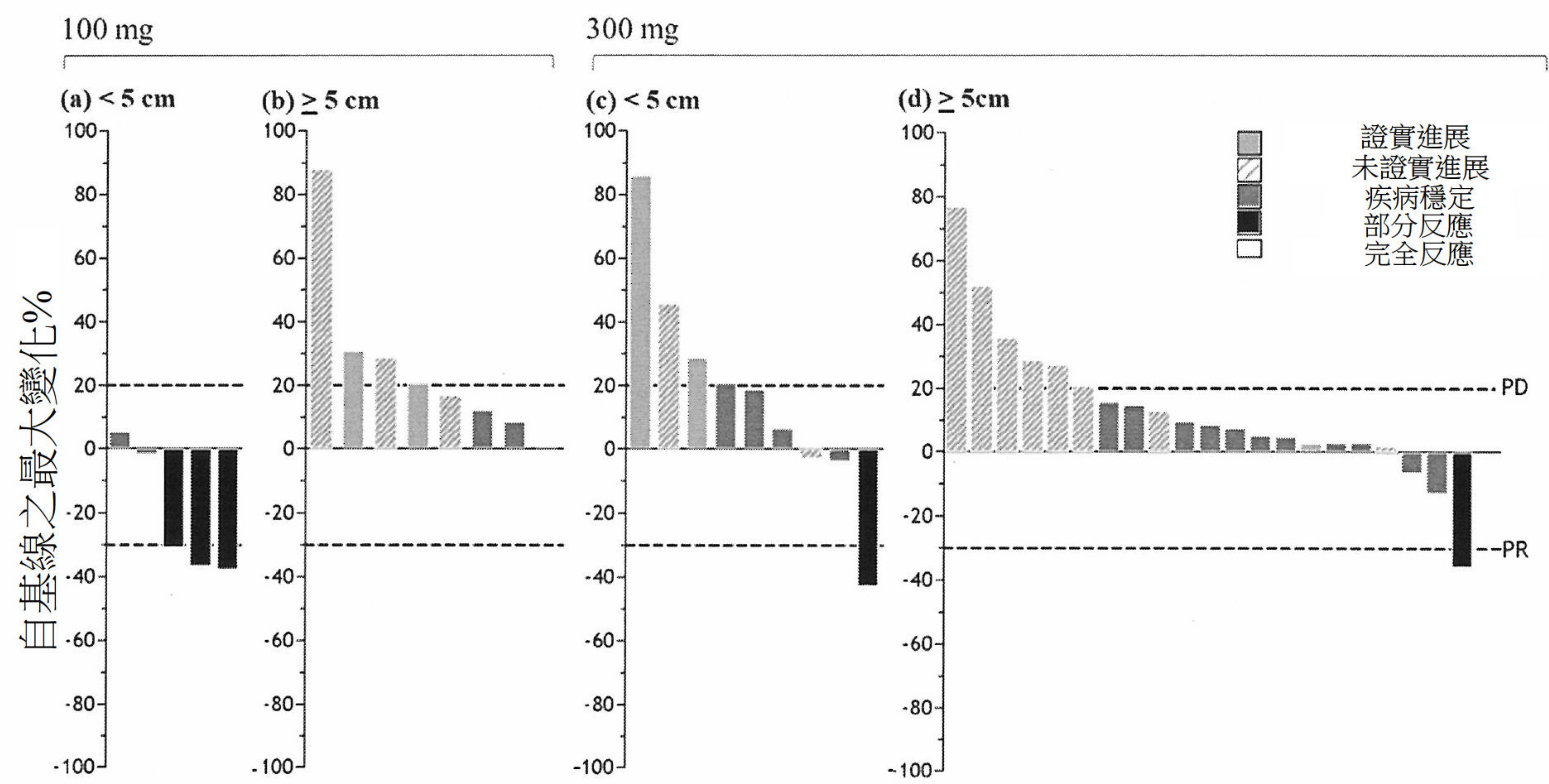
【圖1B】



根據方案可能需要重新起始

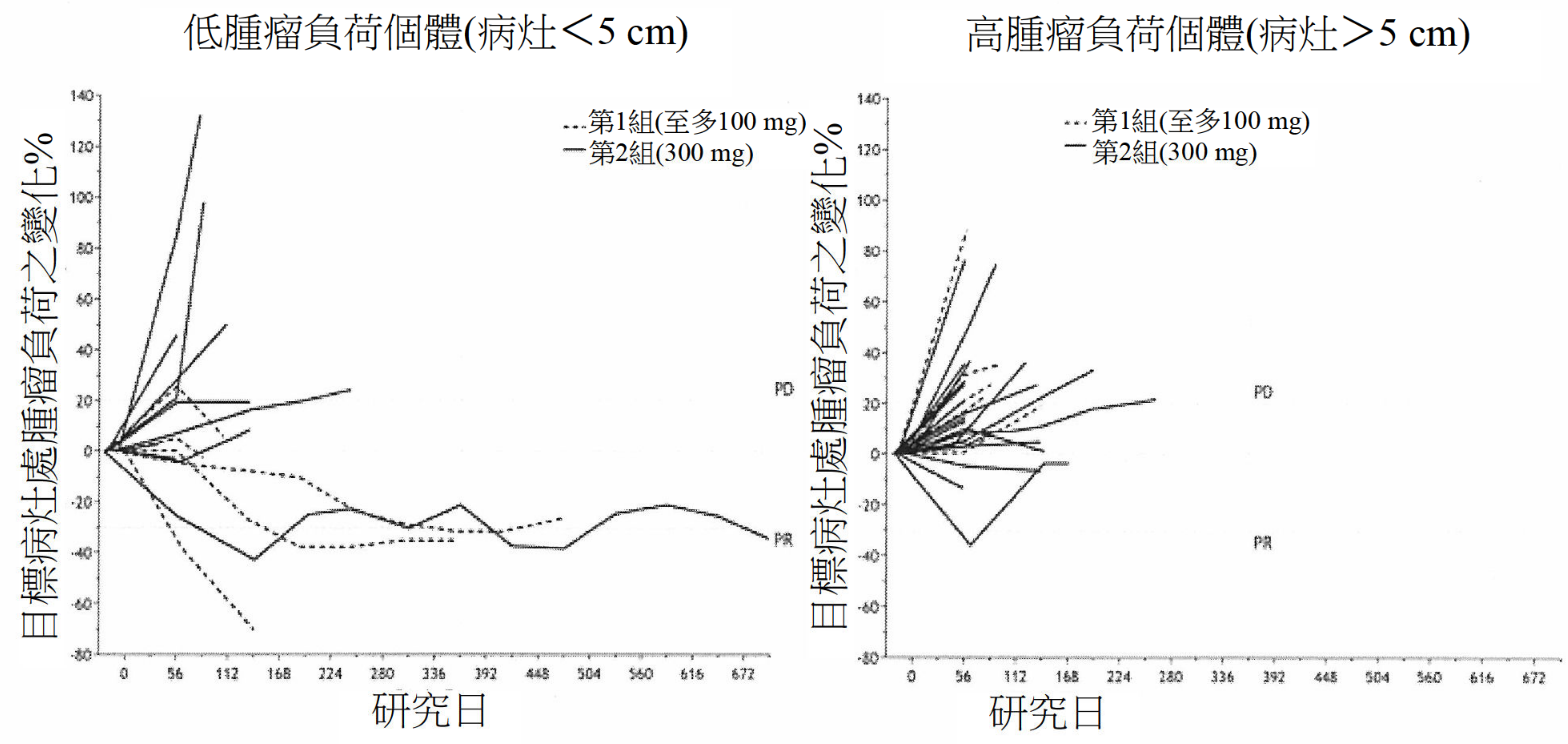
【圖1C】

卵巢癌(1b期)-相對於定義為目標病灶之和<5 cm之腫瘤負荷，腫瘤病灶自基線之最大變化%



【圖2】

卵巢癌(1b期-DPX-Survivac/CPA +/-艾帕斯塔)-具有低對比高腫瘤負荷之個體中目標病灶隨時間推移之變化%，其中低腫瘤負荷定義為目標病灶之和<5 cm



【圖3】

(SEQ ID NO: 1)

Met	Gly	Ala	Pro	Thr	Leu	Pro	Pro	Ala	Trp	Gln	Pro	Phe	Leu	Lys	Asp
1				5					10					15	
His	Arg	Ile	Ser	Thr	Phe	Lys	Asn	Trp	Pro	Phe	Leu	Glu	Gly	Cys	Ala
			20					25					30		
Cys	Thr	Pro	Glu	Arg	Met	Ala	Glu	Ala	Gly	Phe	Ile	His	Cys	Pro	Thr
		35					40					45			
Glu	Asn	Glu	Pro	Asp	Leu	Ala	Gln	Cys	Phe	Phe	Cys	Phe	Lys	Glu	Leu
	50					55					60				
Glu	Gly	Trp	Glu	Pro	Asp	Asp	Asp	Pro	Ile	Glu	Glu	His	Lys	Lys	His
65					70					75					80
Ser	Ser	Gly	Cys	Ala	Phe	Leu	Ser	Val	Lys	Lys	Gln	Phe	Glu	Glu	Leu
				85					90					95	
Thr	Leu	Gly	Glu	Phe	Leu	Lys	Leu	Asp	Arg	Glu	Arg	Ala	Lys	Asn	Lys
			100					105					110		
Ile	Ala	Lys	Glu	Thr	Asn	Asn	Lys	Lys	Lys	Glu	Phe	Glu	Glu	Thr	Ala
		115					120					125			
Lys	Lys	Val	Arg	Arg	Ala	Ile	Glu	Gln	Leu	Ala	Ala	Met	Asp		
		130				135					140				

【圖4A】

(SEQ ID NO: 11)

atgggtgccc cgacgttgcc cctgacctgg cagccctttc tcaaggacca ccgcattctct60

acattcaaga actggccctt cttggaggggc tgcgcctgca ccccgagagc gatggccgag120

gctggcttca tccactgccc cactgagaac gageccagact tggcccagtg tttctttctgc180

ttcaaggagc tggaaggctg ggagccagat gacgacccca tagaggaaca taaaaagcat240

tcgtccgggtt gcgctttcct ttctgtcaag aagcagtttg aagaattaac ccttggtgaa300

tttttgaaac tggacagaga aagagccaag aacaaaattg caaaggaaac caacaataag360

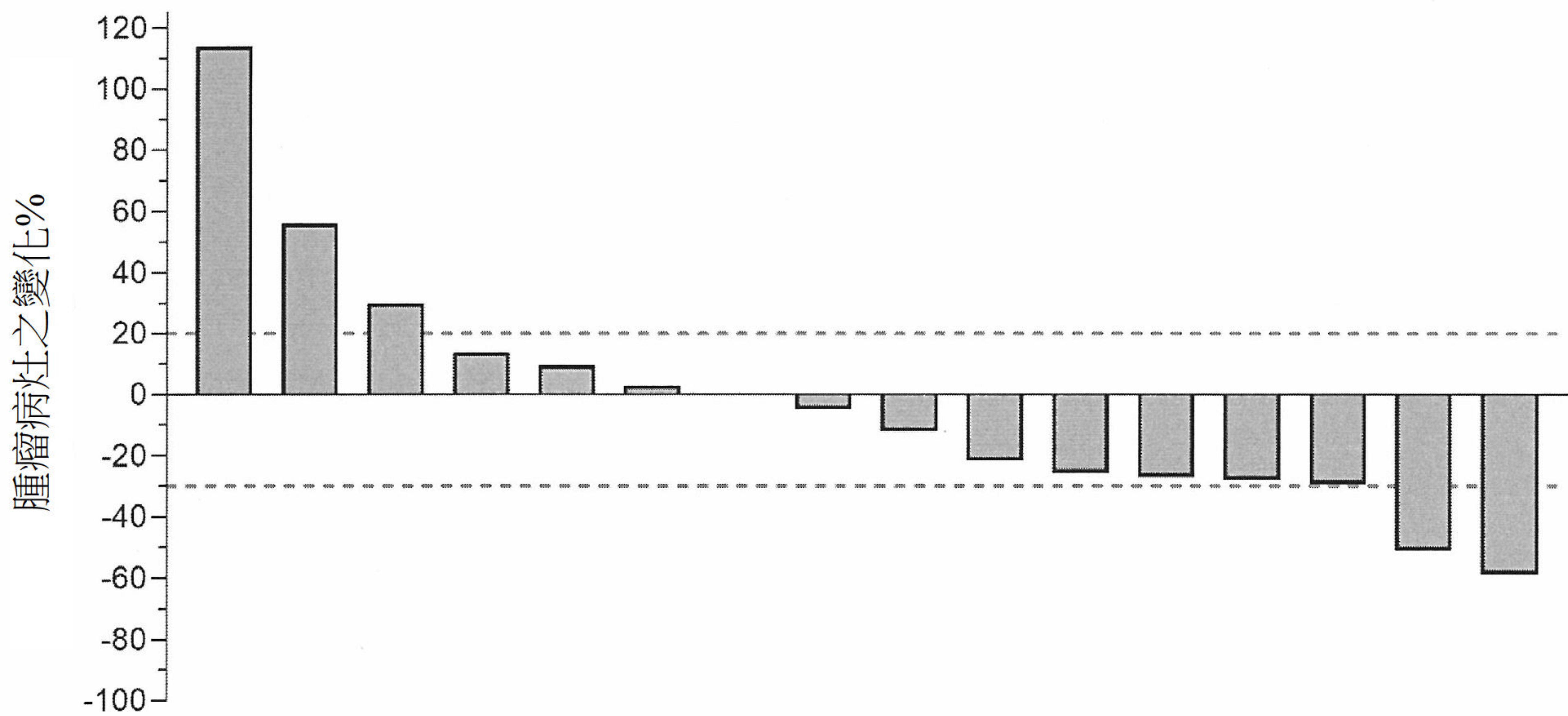
aagaaagaat ttgaggaaac tgcaagaaa gtgcgccgtg ccacgagca gctggctgcc420

atggattga429

【圖4B】

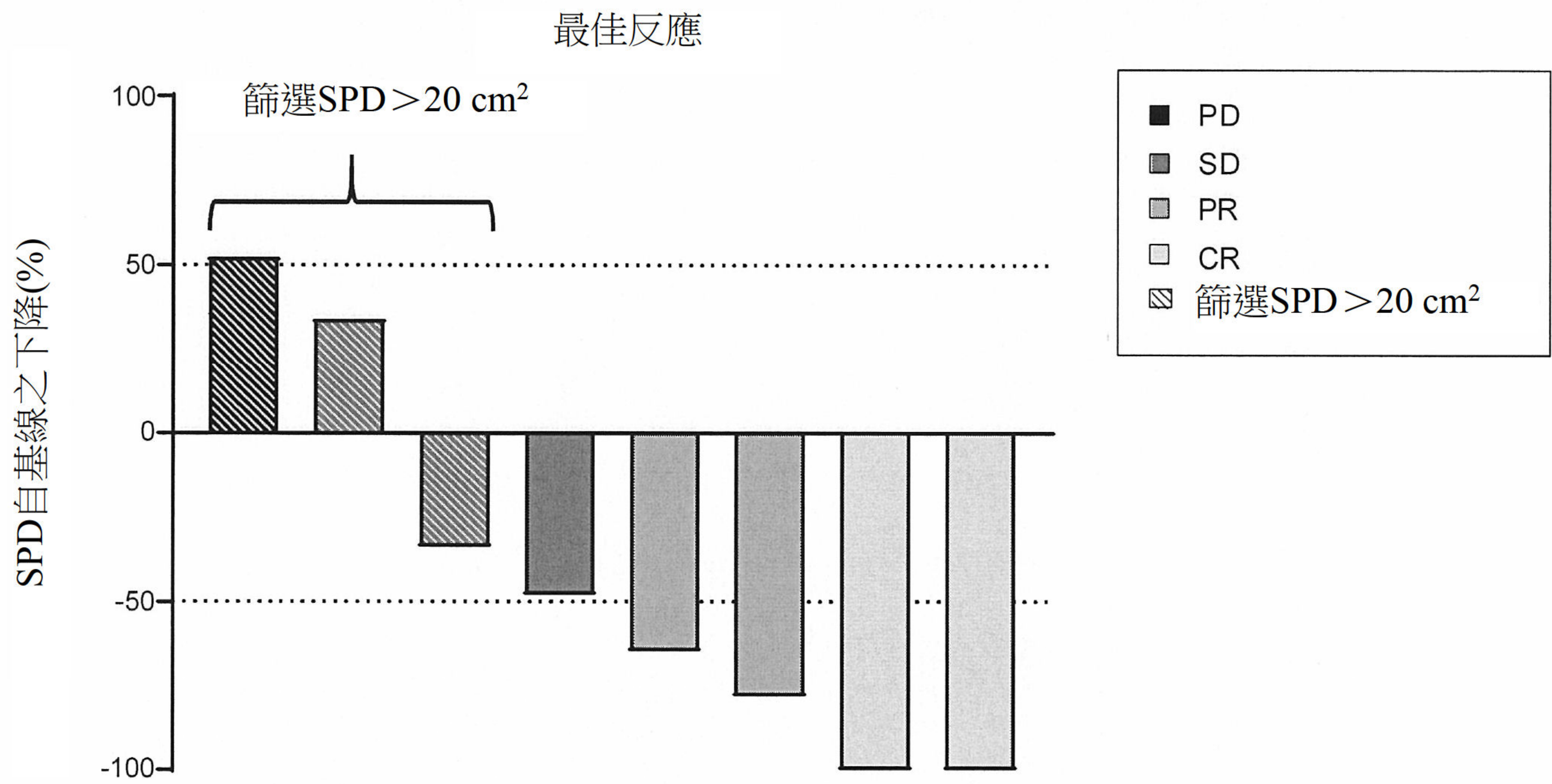
OvCa (2期-DPX-Survivac及CPA)：相對於定義為無單個病灶> 4 cm之腫瘤負荷，腫瘤病灶自基線之最大變化%

自在D56或D140進行之掃描之最佳反應



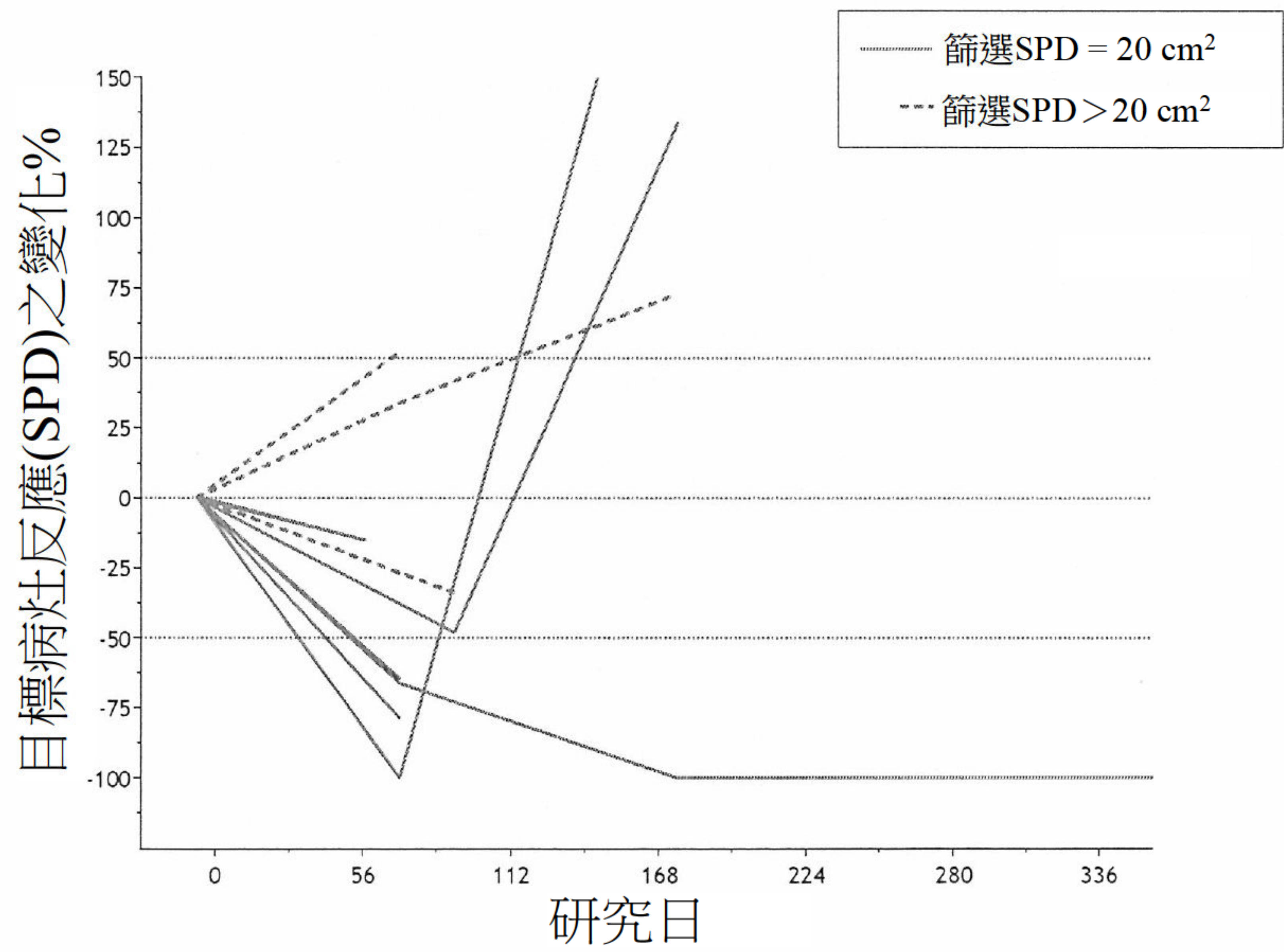
【圖5】

R/R DLBCL (DPX-Survivac/CPA + 派姆單抗)：可評估個體中SPD自基線之下降%

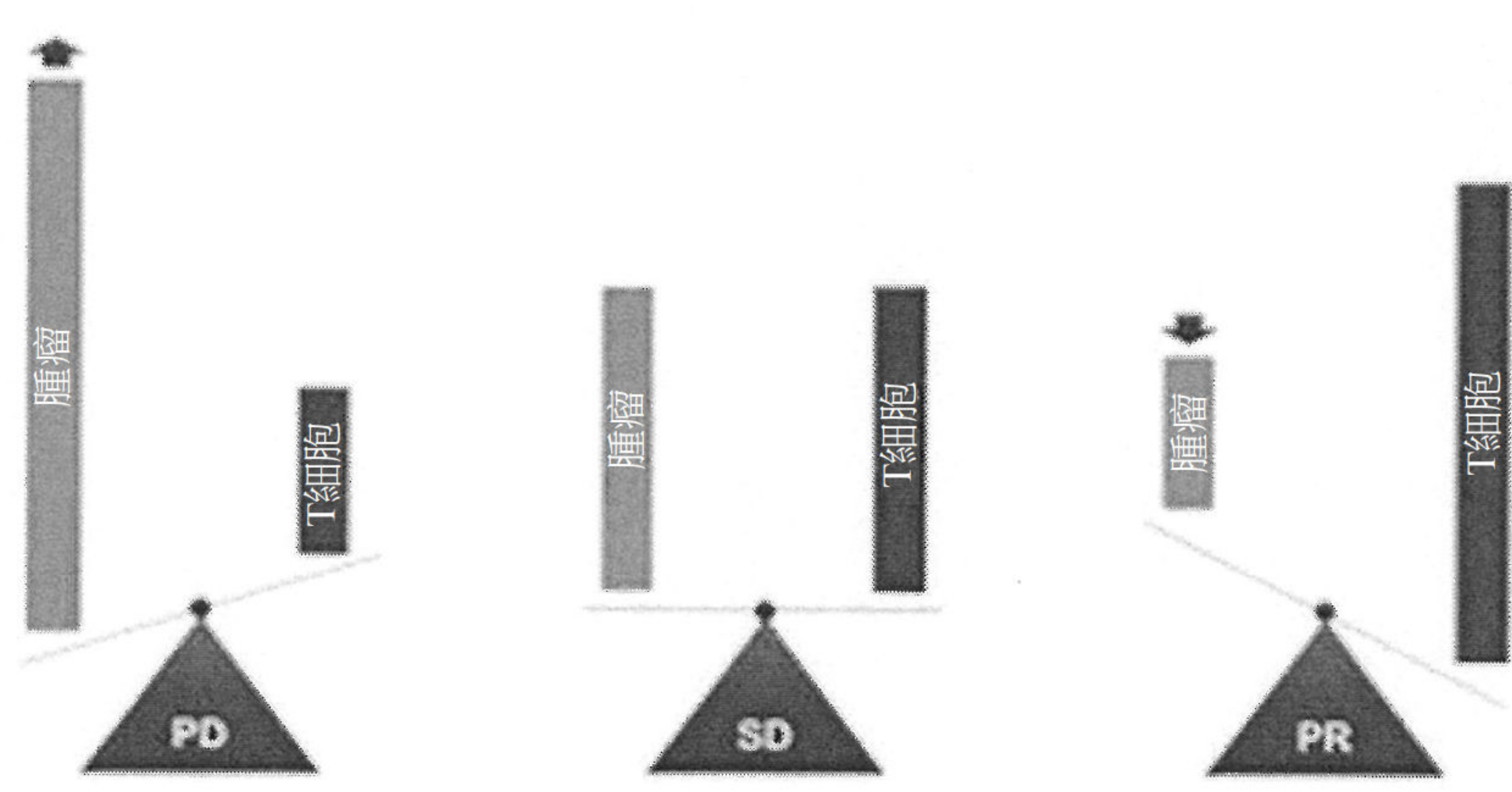


【圖6】

R/R DLBCL (DPX-Survivac/CPA + 派姆單抗)：藉由SPD量測之目標病灶反應隨時間推移之變化%



【圖7】



【圖8】