(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 114423453 A
(43)申请公布日 2022.04.29

(21)申请号 202080065407.6
(22)申请日 2020.07.29
(30)优先权数据
62/880,514 2019.07.30 US
62/896,453 2019.09.05 US
62/931,405 2019.11.06 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.03.17
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2020/043999 2020.07.29
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/021882 EN 2021.02.04
(71)申请人 乐天医药生技股份有限公司
地址 美国加利福尼亚州
(72)发明人 M·加西亚－古斯曼 R·海姆 J·方
(74)专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司 31100
代理人 陈扬扬 钱文宇
(51)Int.Cl.
A61K 39/395(2006.01)
A61K 41/00(2020.01)
A61K 47/68(2017.01)
A61P 35/00(2006.01)
A61P 35/04(2006.01)
C07K 16/28(2006.01)

权利要求书5页 说明书57页 附图15页

(54)发明名称

使用偶联的抗CD25酞菁和抗PD1的基于光化学的癌症疗法近红外(NIR)光免疫疗法(PIT)

(57)摘要

本公开涉及用于治疗癌症,如包括第一肿瘤或原发性肿瘤、转移性肿瘤细胞和/或侵袭性肿瘤细胞的癌症患者的近红外(NIR)光免疫疗法(PIT)。所述方法包括向对象给予与诸如IR700的酞菁染料偶联的会结合CD25的靶向分子,且给予免疫检查点抑制剂,如PD-1抗体,接着用适合于活化酞菁染料的光波长照射第一肿瘤或原发性肿瘤。

CN 114423453 A

1.一种用于治疗癌症的方法,其包括:

(a)向患有包含第一肿瘤及肿瘤细胞的继发性群体的癌症的对象给予抗PD-1抗体;

(b)向所述对象给予包含连接至抗CD25抗体的酞菁染料的偶联物;以及

(c)在给予所述偶联物之后,在600nm或约600nm至850nm或约850nm的波长下,及以25J/cm^2或约25J/cm^2至400J/cm^2或约400J/cm^2或2J/cm纤维长度或约2J/cm纤维长度至500J/cm纤维长度或约500J/cm纤维长度的剂量照射该第一肿瘤,其中不直接照射该继发性群体;

其中与仅给予该偶联物、仅给予该偶联物接着照射、或仅给予该抗PD-1抗体相比,该第一肿瘤和/或该继发性群体受到更大程度抑制。

2.如权利要求1所述的方法,其中所述抑制包括以下一种或多种:肿瘤体积、肿瘤尺寸或肿瘤块的增加小于20%或小于约20%,或肿瘤体积、肿瘤尺寸或肿瘤块减小,或肿瘤细胞数目减小。

3.如权利要求2所述的方法,其中肿瘤体积、肿瘤尺寸或肿瘤块、或肿瘤细胞数目的减小包含减小30%或约30%或更多。

4.如权利要求1至3中任一项所述的方法,其中该继发性群体包含转移性肿瘤细胞。

5.如权利要求1至3中任一项所述的方法,其中该继发性群体包含侵袭性肿瘤细胞。

6.如权利要求1至5中任一项所述的方法,其中该继发性群体包含转移性肿瘤细胞及侵袭性肿瘤细胞。

7.如权利要求1至6中任一项所述的方法,其中该抗PD-1抗体与该偶联物同时向该对象给予。

8.如权利要求1至7中任一项所述的方法,其中该抗PD-1抗体在给予该偶联物24至48小时内向该对象给予。

9.如权利要求1至8中任一项所述的方法,其中该抗PD-1抗体在给予该偶联物24小时±4小时内向该对象给予。

10.如权利要求1至9中任一项所述的方法,其中在给予该偶联物所述之前给予第一剂量的该抗PD-1抗体。

11.如权利要求10所述的方法,其中在给予该偶联物之前至少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、1周、2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周或10周给予该第一剂量的该抗PD-1抗体。

12.如权利要求1至11中任一项所述的方法,其中向该对象给予该抗PD-1抗体一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

13.如权利要求1至12中任一项所述的方法,其中在给予该偶联物之前给予抗PD-1抗体一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次或10次,随后,接着在给予该偶联物之后向该对象给予该抗PD-1抗体零次、一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

14.如权利要求1至12中任一项所述的方法,其中该抗PD-1抗体与该偶联物同时给予,随后,接着在给予该偶联物之后向该对象给予该抗PD-1抗体零次、一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

15.如权利要求1至12中任一项所述的方法,其中在向该对象给予该偶联物之后给予该抗PD-1抗体一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

16.如权利要求1至15中任一项所述的方法,其中该继发性群体包含于实体肿瘤中。

17.如权利要求1至16中任一项所述的方法,其中该对象展现完全反应。

18.如权利要求1至17中任一项所述的方法,其中该抗CD25抗体包含功能性Fc区。

19.如权利要求1至17中任一项所述的方法,其中该抗CD25抗体为巴利昔单抗或达利珠单抗,或其生物类似物、可互换物、生物改良剂、生物复制物或生物仿制物。

20.如权利要求19所述的方法,其中该抗CD25抗体为巴利昔单抗。

21.如权利要求1至20中任一项所述的方法,其中该抗PD-1抗体是选自由以下组成的组:派姆单抗(MK-3475、KEYTRUDA;拉立珠单抗)、纳武单抗(OPDIVO)、赛咪单抗(LIBTAYO)、特瑞普利单抗(JS001)、HX008、SG001、GLS-010、多斯利单抗(TSR-042)、缇勒珠单抗(BGB-A317)、西利单抗(JNJ-63723283)、皮立珠单抗(CT-011)、杰诺珠单抗(APL-501、GB226)、BCD-100、赛咪单抗(REGN2810)、F520、斯迪利单抗(IBI308)、CS1003、LZM009、坎立珠单抗(SHR-1210)、SCT-I10A、MGA012、AK105、PF-06801591、AMP-224、AB122、AMG 404、BI754091、HLX10、JTX-4014、AMP-514(MEDI0680)、Sym021、MGD019、MGD013、AK104、XmAb20717、RO7121661、CX-188、斯巴达珠单抗、BCD-217、HX009、IBI308、PDR001、REGN2810及TSR-042(ANB011)。

22.如权利要求1至21中任一项所述的方法,其中该酞菁染料为Si-酞菁染料。

23.如权利要求22所述的方法,其中该Si-酞菁染料为IR700。

24.如权利要求1至23中任一项所述的方法,其中该照射是在给予该偶联物之后30分钟至96小时之间进行。

25.如权利要求24所述的方法,其中该照射是在给予该偶联物之后24小时±4小时进行。

26.如权利要求1至25中任一项所述的方法,其中在690±40nm的波长下照射该第一肿瘤。

27.如权利要求1至26中任一项所述的方法,其中以50J/cm2或100J/cm纤维长度或约50J/cm^2或100J/cm纤维长度的剂量照射该第一肿瘤。

28.如权利要求1至27中任一项所述的方法,其进一步包括(d)给予额外治疗剂或抗癌治疗。

29.如权利要求1至28中任一项所述的方法,其中重复步骤(a)、(b)、(c)或(d)中的一或多个。

30.如权利要求1至29中任一项所述的方法,其中该癌症是选自由以下组成的组:结肠癌、结直肠癌、胰腺癌、乳癌、皮肤癌、肺癌、非小细胞肺癌、肾细胞癌、甲状腺癌、前列腺癌、头颈癌、胃肠癌、胃癌、小肠癌、梭状细胞赘瘤、肝癌瘤、肝癌、周边神经癌、脑癌、骨胳肌癌、平滑肌癌、骨癌、脂肪组织癌、子宫颈癌、子宫癌、生殖器癌、淋巴瘤及多发性骨髓瘤。

31.如权利要求1至30中任一项所述的方法,其中该继发性群体位于与该第一肿瘤所在的组织或器官不同的一个、两个、三个或超过三个组织或器官。

32.如权利要求1至31中任一项所述的方法,其中与仅给予该偶联物接着照射相比及与仅给予该抗PD-1抗体相比,该第一肿瘤和/或该继发性群体受到更大程度抑制。

33.一种用于在患有癌症的对象中产生增强的反应的方法,其包括:

(a)向患有包含肿瘤的癌症的该对象给予抗PD-1抗体;

(b)向该对象给予包含连接至抗CD25抗体的酞菁染料的偶联物,其中在该偶联物之前或同时给予该抗PD-1抗体;以及

(c)在给予该偶联物之后,在600nm或约600nm至850nm或约850nm的波长下,及以25J/cm^2或约25J/cm^2至400J/cm^2或约400J/cm^2或2J/cm纤维长度或约2J/cm纤维长度至500J/cm纤维长度或约500J/cm纤维长度的剂量照射该肿瘤;

其中:

该增强的反应包括与给予该偶联物接着照射及给予该抗PD-1抗体之前该对象的全身免疫性相比,该对象的全身免疫性增强;和/或

该增强的反应包括与仅给予该偶联物、仅给予该偶联物接着照射或仅给予该抗PD-1抗体相比,增强抑制该肿瘤。

34.如权利要求33所述的方法,其中该增强的反应为累加或协同性。

35.如权利要求33或34所述的方法,其中抑制包括以下各项中的一种或多种:肿瘤体积、肿瘤尺寸或肿瘤块的增加小于20%或小于约20%,或肿瘤体积、肿瘤尺寸或肿瘤块减小,或肿瘤细胞数目减小。

36.如权利要求35所述的方法,其中肿瘤体积、肿瘤尺寸或肿瘤块或者肿瘤细胞数目的减小包含减小30%或约30%或更多。

37.如权利要求33至36中任一项所述的方法,其中:

该肿瘤包含第一肿瘤及肿瘤细胞的继发性群体,且其中照射该第一肿瘤且不直接照射该继发性群体;

该肿瘤包含第一肿瘤及转移性肿瘤细胞,且其中照射该第一肿瘤且不直接照射该转移性肿瘤细胞;和/或

该肿瘤包含第一肿瘤及侵袭性肿瘤细胞,且其中照射该第一肿瘤且不直接照射该侵袭性肿瘤细胞。

38.如权利要求34至37中任一项所述的方法,其中该增强的反应为协同反应,其中该协同反应包含协同减小第一肿瘤的生长、肿瘤体积、肿瘤尺寸或肿瘤块,协同减小该对象中的该继发性群体中的细胞数目,协同减小转移性或侵袭性肿瘤细胞的生长、肿瘤体积、肿瘤尺寸、肿瘤块或数目,或其任何组合。

39.如权利要求33至38中任一项所述的方法,其中该抗PD-1抗体在给予该偶联物24小时至48小时内向该对象给予。

40.如权利要求33至39中任一项所述的方法,其中该抗PD-1抗体在给予该偶联物24小时±4小时内向该对象给予。

41.如权利要求33至40中任一项所述的方法,其中在给予该偶联物之前给予第一剂量的该抗PD-1抗体。

42.如权利要求41所述的方法,其中在给予该偶联物之前至少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、1周、2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周或10周给予该第一剂量的该抗PD-1抗体。

43.如权利要求33至42中任一项所述的方法,其中全身免疫性通过以下一种或多种测量:细胞毒性T淋巴细胞(CTL)活性分析、瘤内T细胞耗竭分析、瘤内效应T细胞扩增分析、T细胞受体多样性分析、活化$CD8^+$T细胞分析、循环调节T细胞(Treg)分析、瘤内Treg分析或$CD8^+$T

细胞:Treg分析。

44.如权利要求33至43中任一项所述的方法,其中全身免疫性是使用任选地在照射该对象的第一肿瘤之后第4天与第28天之间自该对象收集的脾细胞或外周血细胞或骨髓细胞或淋巴结细胞,通过CTL活性分析法测量。

45.如权利要求33至43中任一项所述的方法,其中全身免疫性是使用任选地在照射该对象的第一肿瘤之后第4天与第28天之间自该对象的第一肿瘤或转移性肿瘤细胞块或侵袭性肿瘤细胞块收集的T细胞,通过瘤内T细胞耗竭分析法测量。

46.如权利要求33至43中任一项所述的方法,其中全身免疫性是使用任选地在照射该对象的第一肿瘤之后第4天与第28天之间自该对象的第一肿瘤或转移性肿瘤细胞块或侵袭性肿瘤细胞块收集的T细胞,通过瘤内效应T细胞扩增分析法测量。

47.如权利要求33至43中任一项所述的方法,其中全身免疫性是使用任选地在照射该对象的第一肿瘤之后第4天与第28天之间自该对象的第一肿瘤或转移性肿瘤细胞块或侵袭性肿瘤细胞块或周边循环收集的T细胞,通过T细胞受体多样性分析法测量。

48.如权利要求33至43中任一项所述的方法,其中全身免疫性的测量是在任选地照射该对象的第一肿瘤之后第4天与第28天之间,由自该对象收集的第一肿瘤或转移性肿瘤细胞块或侵袭性肿瘤细胞块,测定肿瘤中调节T细胞(Treg)的存在、数目或频率和/或瘤内Treg细胞对瘤内CD8+T细胞或瘤内CD4+T细胞的比率。

49.如权利要求33至48中任一项所述的方法,其中该抗CD25抗体包含功能性Fc区。

50.如权利要求33至49中任一项所述的方法,其中该抗CD25抗体为巴利昔单抗或达利珠单抗,或其生物类似物、可互换物、生物改良剂、生物复制物或生物仿制物。

51.如权利要求50所述的方法,其中该抗CD25抗体为巴利昔单抗。

52.如权利要求33至51中任一项所述的方法,其中该抗PD-1抗体是选自由以下组成的组:派姆单抗(MK-3475、KEYTRUDA;拉立珠单抗)、纳武单抗(OPDIVO)、赛咪单抗(LIBTAYO)、特瑞普利单抗(JS001)、HX008、SG001、GLS-010、多斯利单抗(TSR-042)、缇勒珠单抗(BGB-A317)、西利单抗(JNJ-63723283)、皮立珠单抗(CT-011)、杰诺珠单抗(APL-501、GB226)、BCD-100、赛咪单抗(REGN2810)、F520、斯迪利单抗(IBI308)、CS1003、LZM009、坎立珠单抗(SHR-1210)、SCT-I10A、MGA012、AK105、PF-06801591、AMP-224、AB122、AMG 404、BI 754091、HLX10、JTX-4014、AMP-514(MEDI0680)、Sym021、MGD019、MGD013、AK104、XmAb20717、RO7121661、CX-188、斯巴达珠单抗、BCD-217、HX009、IBI308、PDR001、REGN2810及TSR-042(ANB011)。

53.如权利要求33至52中任一项所述的方法,其中向该对象给予该抗PD-1抗体一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

54.如权利要求33至53中任一项所述的方法,其中该酞菁染料为Si-酞菁染料。

55.如权利要求54所述的方法,其中该Si-酞菁染料为IR700。

56.如权利要求33至55中任一项所述的方法,其中该照射是在给予偶联物之后30分钟与96小时之间进行。

57.如权利要求56所述的方法,其中该照射是在给予偶联物之后24小时±4小时进行。

58.如权利要求33至57中任一项所述的方法,其中在690±40nm的波长下照射该肿瘤。

59.如权利要求33至58中任一项所述的方法,其中以50J/cm^2或100J/cm纤维长度或约

50J/cm^{2}或100J/cm纤维长度的剂量照射该肿瘤。

60.如权利要求33至59中任一项所述的方法，其进一步包括(d)给予额外治疗剂或抗癌治疗。

61.如权利要求33至60中任一项所述的方法，其中重复步骤(a)、(b)、(c)或(d)中的一或多个。

62.如权利要求33至61中任一项所述的方法，其中该癌症是选自由以下组成的组：结肠癌、结直肠癌、胰腺癌、乳癌、皮肤癌、肺癌、非小细胞肺癌、肾细胞癌、甲状腺癌、前列腺癌、头颈癌、胃肠癌、胃癌、小肠癌、梭状细胞赘瘤、肝癌瘤、肝癌、周边神经癌、脑癌、骨胳肌癌、平滑肌癌、骨癌、脂肪组织癌、子宫颈癌、子宫癌、生殖器癌、淋巴瘤及多发性骨髓瘤。

63.如权利要求33至62中任一项所述的方法，其中该增强的反应包括与仅给予该偶联物接着照射相比及与仅给予该抗PD-1抗体相比的累加反应或协同反应。

使用偶联的抗CD25酞菁和抗PD1的基于光化学的癌症疗法近红外(NIR)光免疫疗法(PIT)

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求2019年6月30日提交的题为“用于癌症、肿瘤及肿瘤细胞的局部及全身性治疗的组合物及方法”的美国临时申请第62/880,514号,2019年9月5日提交的题为“用于癌症、肿瘤及肿瘤细胞的局部及全身性治疗的组合物及方法”的美国临时申请第62/896,453号,和2019年11月6日提交的题为“用于癌症、肿瘤及肿瘤细胞的局部及全身性治疗的组合物及方法”的美国临时申请第62/931,405号的优先权,其全部内容通过引用全文纳入本文。

技术领域

[0003] 本公开是关于用于治疗患有癌症,诸如包含第一肿瘤或原发性肿瘤、转移性肿瘤细胞和/或侵袭性肿瘤细胞的癌症的对象的组合物、组合、方法及用途。所述方法包括向对象给予与诸如IR700的酞菁染料偶联的结合CD25的靶向分子,和给予免疫检查点抑制剂,接着用适合于活化酞菁染料的光波长照射第一肿瘤或原发性肿瘤。本文所述的方法及用途提供包括第一肿瘤、原发性肿瘤、转移性肿瘤细胞和/或侵袭性肿瘤细胞的肿瘤及肿瘤细胞的减少、生长及消除。还提供用于增强患有癌症,诸如包含第一肿瘤或原发性肿瘤、转移性肿瘤细胞和/或侵袭性肿瘤细胞的癌症的对象中针对肿瘤生长的全身免疫性的组合物、组合、方法及用途。

背景技术

[0004] 癌转移是癌症相关死亡的主要原因。尽管一些可利用的治疗可用于某些类型癌症,但是仍迫切地需要有效治疗癌症,包括涉及原发性及转移性肿瘤的癌症的治疗策略。治疗转移性癌症尤其仍代表巨大的临床挑战。

发明内容

[0005] 本文提供用于治疗癌症,包括包含肿瘤,诸如第一肿瘤的癌症以及具有肿瘤细胞的继发性群体,诸如转移性肿瘤细胞、侵袭性肿瘤细胞或浸润性细胞的癌症的组合物、组合、方法及用途。

[0006] 本文提供用于治疗癌症的方法及用途。在任何实施方式中的一些实施方式中,所提供的方法及用途涉及:向患有包含第一肿瘤及肿瘤细胞的继发性群体的癌症的对象给予免疫检查点抑制剂;向该对象给予包含连接至抗CD25抗体的酞菁染料的偶联物;以及在给予该偶联物之后,在600nm或约600nm至850nm或约850nm的波长下及以25J/cm^2或约25J/cm^2至400J/cm^2或约400J/cm^2或2J/cm纤维长度或约2J/cm纤维长度至500J/cm纤维长度或约500J/cm纤维长度的剂量照射该第一肿瘤,其中不直接照射该继发性群体。

[0007] 在任何实施方式中的一些实施方式中,与仅给予偶联物、仅给予偶联物接着照射或仅给予免疫检查点抑制剂相比,第一肿瘤和/或继发性群体受到更大程度抑制。在任何实

施方式中的一些实施方式中，免疫检查点抑制剂是选自由以下组成的组：PD-1抑制剂、PD-L1抑制剂或CTLA-4抑制剂。在任何实施方式中的一些实施方式中，免疫检查点抑制剂为或包含抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或抗CTLA-4抗体或其抗原结合片段。在任何实施方式中的一些实施方式中，免疫检查点抑制剂为或包含抗PD-1抗体或其抗原结合片段。

[0008] 本文提供用于治疗癌症的方法及用途。在任何实施方式中的一些实施方式中，所提供的方法及用途涉及：向患有包含第一肿瘤及肿瘤细胞的继发性群体的癌症的对象给予抗PD-1抗体；向该对象给予包含连接至抗CD25抗体的酞菁染料的偶联物；以及在给予该偶联物之后，在600nm或约600nm至850nm或约850nm的波长下及以25J/cm^2或约25J/cm^2至400J/cm^2或约400J/cm^2或2J/cm纤维长度或约2J/cm纤维长度至500J/cm纤维长度或约500J/cm纤维长度的剂量照射该第一肿瘤，其中不直接照射该继发性群体；其中与仅给予偶联物、仅给予偶联物接着照射或仅给予抗PD-1抗体相比，第一肿瘤和/或继发性群体受到更大程度抑制。

[0009] 在任何实施方式中的一些实施方式中，抑制包含以下各项中的一种或多种：肿瘤体积、肿瘤尺寸或肿瘤块的增加小于20％或小于约20％，或肿瘤体积、肿瘤尺寸或肿瘤块减小，或肿瘤细胞数目减小。在任何实施方式中的一些实施方式中，肿瘤体积、肿瘤尺寸或肿瘤块或者肿瘤细胞数目的减小包含减小30％或约30％或更多。

[0010] 在任何实施方式中的一些实施方式中，继发性群体包含转移性肿瘤细胞。在任何实施方式中的一些实施方式中，继发性群体包含侵袭性肿瘤细胞。在任何实施方式中的一些实施方式中，继发性群体包含转移性肿瘤细胞及侵袭性肿瘤细胞。

[0011] 在任何实施方式中的一些实施方式中，免疫检查点抑制剂与偶联物同时向对象给予。在任何实施方式中的一些实施方式中，免疫检查点抑制剂在给予偶联物24至48小时内向对象给予。在任何实施方式中的一些实施方式中，免疫检查点抑制剂在给予偶联物24小时±4小时内向对象给予。

[0012] 在任何实施方式中的一些实施方式中，在给予偶联物之前给予第一剂量的免疫检查点抑制剂。在任何实施方式中的一些实施方式中，在给予偶联物之前至少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、1周、2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周或10周给予第一剂量的免疫检查点抑制剂。

[0013] 在任何实施方式中的一些实施方式中，向对象给予免疫检查点抑制剂一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。在任何实施方式中的一些实施方式中，在给予偶联物之前给予免疫检查点抑制剂一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次或10次，随后，接着在给予偶联物之后向对象给予免疫检查点抑制剂零次、一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。在任何实施方式中的一些实施方式中，免疫检查点抑制剂与给予偶联物同时给予，随后，接着在给予偶联物之后向对象给予免疫检查点抑制剂零次、一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。在任何实施方式中的一些实施方式中，在向对象给予偶联物之后给予免疫检查点抑制剂一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

[0014] 在任何实施方式中的一些实施方式中，抗PD-1抗体与偶联物同时向对象给予。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗PD-1抗体在给予偶联物24至48小时内向对象给予。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗PD-1抗体在给予偶联物24小时±4小时内向对象

给予。

[0015] 在任何实施方式中的一些实施方式中，在给予偶联物之前给予第一剂量的抗PD-1抗体。在任何实施方式中的一些实施方式中，在给予偶联物之前至少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、1周、2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周或10周给予第一剂量的抗PD-1抗体。

[0016] 在任何实施方式中的一些实施方式中，向对象给予抗PD-1抗体一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。在任何实施方式中的一些实施方式中，在给予偶联物之前给予抗PD-1抗体一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次或10次，随后，接着在给予偶联物之后向对象给予抗PD-1抗体零次、一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗PD-1抗体与给予偶联物同时给予，随后，接着在给予偶联物之后向对象给予抗PD-1抗体零次、一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。在任何实施方式中的一些实施方式中，在向对象给予偶联物之后给予抗PD-1抗体一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

[0017] 在任何实施方式中的一些实施方式中，继发性群体包含于实体肿瘤中。

[0018] 在任何实施方式中的一些实施方式中，对象展现完全反应。

[0019] 在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CD25抗体包含功能性Fc区。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CD25抗体为巴利昔单抗(basiliximab)或达利珠单抗(daclizumab)，或其生物类似物、可互换物、生物改良剂、生物复制物或生物仿制物(biogeneric)。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CD25抗体为巴利昔单抗。

[0020] 在任何实施方式中的一些实施方式中，抗PD-1抗体是选自由以下组成的组：派姆单抗(pembrolizumab)(MK-3475、KEYTRUDA；拉立珠单抗(lambrolizumab))、纳武单抗(nivolumab)(OPDIVO)、赛咪单抗(cemiplimab)(LIBTAYO)、特瑞普利单抗(toripalimab)(JS001)、HX008、SG001、GLS-010、多斯利单抗(dostarlimab)(TSR-042)、缇勒珠单抗(tislelizumab)(BGB-A317)、西利单抗(cetrelimab)(JNJ-63723283)、皮立珠单抗(pidilizumab)(CT-011)、杰诺珠单抗(genolimzumab)(APL-501、GB226)、BCD-100、赛咪单抗(REGN2810)、F520、斯迪利单抗(sintilimab)(IBI308)、CS1003、LZM009、坎立珠单抗(camrelizumab)(SHR-1210)、SCT-I10A、MGA012、AK105、PF-06801591、AMP-224、AB122、AMG 404、BI 754091、HLX10、JTX-4014、AMP-514(MEDI0680)、Sym021、MGD019、MGD013、AK104、XmAb20717、RO7121661、CX-188、斯巴达珠单抗(spartalizumab)、BCD-217、HX009、IBI308、PDR001、REGN2810及TSR-042(ANB011)。

[0021] 在任何实施方式中的一些实施方式中，酞菁染料为Si-酞菁染料。在任何实施方式中的一些实施方式中，Si-酞菁染料为IR700。

[0022] 在任何实施方式中的一些实施方式中，照射是在给予偶联物之后30分钟与96小时之间进行。在任何实施方式中的一些实施方式中，照射是在给予偶联物之后24小时±4小时进行。在任何实施方式中的一些实施方式中，在690±40nm的波长下照射第一肿瘤。在任何实施方式中的一些实施方式中，以50J/cm^2或100J/cm纤维长度或约50J/cm^2或100J/cm纤维长度的剂量照射第一肿瘤。

[0023] 在任何实施方式中的一些实施方式中，所述方法及用途还涉及(d)给予额外治疗

剂或抗癌治疗。

[0024] 在任何实施方式中的一些实施方式中，重复步骤(a)、(b)、(c)或(d)中的一或多个。

[0025] 在任何实施方式中的一些实施方式中，癌症是选自由以下组成的组：结肠癌、结直肠癌、胰腺癌、乳癌、皮肤癌、肺癌、非小细胞肺癌、肾细胞癌、甲状腺癌、前列腺癌、头颈癌、胃肠癌、胃癌、小肠癌、梭状细胞赘瘤、肝癌瘤、肝癌、周边神经癌、脑癌、骨胳肌癌、平滑肌癌、骨癌、脂肪组织癌、子宫颈癌、子宫癌、生殖器癌、淋巴瘤及多发性骨髓瘤。

[0026] 在任何实施方式中的一些实施方式中，继发性群体位于一个、两个、三个或超过三个与第一肿瘤所位于的组织或器官不同的组织或器官。

[0027] 在一些实施方式中，与仅给予偶联物接着照射相比及与仅给予免疫检查点抑制剂相比，第一肿瘤和/或继发性群体受到更大程度抑制。在一些实施方式中，与仅给予偶联物接着照射相比及与仅给予抗PD-1抗体相比，第一肿瘤和/或继发性群体受到更大程度抑制。

[0028] 本文提供用于在患有癌症的对象中产生增强的反应的方法及用途。在任何实施方式中的一些实施方式中，方法及用途涉及：向患有包含肿瘤的癌症的对象给予免疫检查点抑制剂；向该对象给予包含连接至抗CD25抗体的酞菁染料的偶联物，其中免疫检查点抑制剂在偶联物之前或与偶联物同时给予；以及在给予该偶联物之后，在600nm或约600nm至850nm或约850nm的波长下及以25J/cm^2或约25J/cm^2至400J/cm^2或约400J/cm^2或2J/cm纤维长度或约2J/cm纤维长度至500J/cm纤维长度或约500J/cm纤维长度的剂量照射该肿瘤。

[0029] 在任何实施方式中的一些实施方式中：增强的反应包含与给予偶联物接着照射及给予免疫检查点抑制剂之前对象的全身免疫性相比，对象的全身免疫性增强；和/或增强的反应包含与仅给予偶联物、仅给予偶联物接着照射或仅给予免疫检查点抑制剂相比，肿瘤的抑制增强。

[0030] 在任何实施方式中的一些实施方式中，免疫检查点抑制剂是选自由以下组成的组：PD-1抑制剂、PD-L1抑制剂或CTLA-4抑制剂。在任何实施方式中的一些实施方式中，免疫检查点抑制剂为或包含抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或抗CTLA-4抗体或其抗原结合片段。在任何实施方式中的一些实施方式中，免疫检查点抑制剂为或包含抗PD-1抗体或其抗原结合片段。

[0031] 本文提供用于在患有癌症的对象中产生增强的反应的方法及用途。在任何实施方式中的一些实施方式中，方法及用途涉及：向患有包含肿瘤的癌症的对象给予抗PD-1抗体；向该对象给予包含连接至抗CD25抗体的酞菁染料的偶联物，其中抗PD-1抗体在偶联物之前或与偶联物同时给予；以及在给予该偶联物之后，在600nm或约600nm至850nm或约850nm的波长下及以25J/cm^2或约25J/cm^2至400J/cm^2或约400J/cm^2或2J/cm纤维长度或约2J/cm纤维长度至500J/cm纤维长度或约500J/cm纤维长度的剂量照射该肿瘤；其中：增强的反应包含与给予偶联物接着照射及给予抗PD-1抗体之前对象的全身免疫性相比，对象的全身免疫性增强；和/或增强的反应包含与仅给予偶联物、仅给予偶联物接着照射或仅给予抗PD-1抗体相比，肿瘤的抑制增强。

[0032] 在任何实施方式中的一些实施方式中，增强的反应为累加或协同的。

[0033] 在任何实施方式中的一些实施方式中，抑制包含以下各项中的一种或多种：肿瘤体积、肿瘤尺寸或肿瘤块的增加小于20％或小于约20％，或肿瘤体积、肿瘤尺寸或肿瘤块减

小，或肿瘤细胞数目减小。在任何实施方式中的一些实施方式中，肿瘤体积、肿瘤尺寸或肿瘤块或者肿瘤细胞数目的减小包含减小30％或约30％或更多。

[0034] 在任何实施方式中的一些实施方式中：肿瘤包含第一肿瘤及肿瘤细胞的继发性群体，且其中照射第一肿瘤且不直接照射继发性群体；肿瘤包含第一肿瘤及转移性肿瘤细胞，且其中照射第一肿瘤且不直接照射转移性肿瘤细胞；和/或肿瘤包含第一肿瘤及侵袭性肿瘤细胞，且其中照射第一肿瘤且不直接照射侵袭性肿瘤细胞。

[0035] 在任何实施方式中的一些实施方式中，增强的反应为协同反应，其中协同反应包含第一肿瘤的生长、肿瘤体积、肿瘤尺寸或肿瘤块协同减小，对象中的继发性群体中的细胞数目协同减小，转移性或侵袭性肿瘤细胞的生长、肿瘤体积、肿瘤尺寸、肿瘤块或数目协同减小，或其任何组合。

[0036] 在任何实施方式中的一些实施方式中，免疫检查点抑制剂在给予偶联物24小时至48小时内向对象给予。在任何实施方式中的一些实施方式中，免疫检查点抑制剂在给予偶联物24小时±4小时内向对象给予。在任何实施方式中的一些实施方式中，在给予偶联物之前给予第一剂量的免疫检查点抑制剂。在任何实施方式中的一些实施方式中，在给予偶联物之前至少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、1周、2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周或10周给予第一剂量的免疫检查点抑制剂。

[0037] 在任何实施方式中的一些实施方式中，抗PD-1抗体在给予偶联物24小时至48小时内向对象给予。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗PD-1抗体在给予偶联物24小时±4小时内向对象给予。在任何实施方式中的一些实施方式中，在给予偶联物之前给予第一剂量的抗PD-1抗体。在任何实施方式中的一些实施方式中，在给予偶联物之前至少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、1周、2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周或10周给予第一剂量的抗PD-1抗体。

[0038] 在任何实施方式中的一些实施方式中，全身免疫性通过以下中的一种或多种测量：细胞毒性T淋巴细胞(CTL)活性分析、瘤内T细胞耗竭分析、瘤内效应T细胞扩增分析、T细胞受体多样性分析、活化$CD8^+$T细胞分析、循环调节T细胞(Treg)分析、瘤内Treg分析或$CD8^+$T细胞：Treg分析。在任何实施方式中的一些实施方式中，全身免疫性通过CTL活性分析，使用任选地在照射对象中的第一肿瘤之后第4天与第28天之间自对象收集的脾细胞或外周血细胞或骨髓细胞或淋巴结细胞测量。在任何实施方式中的一些实施方式中，全身免疫性通过瘤内T细胞耗竭分析，使用任选地在照射对象的第一肿瘤之后第4天与第28天之间自对象的第一肿瘤或转移性肿瘤细胞块或侵袭性肿瘤细胞块收集的T细胞测量。在任何实施方式中的一些实施方式中，全身免疫性通过瘤内效应T细胞扩增分析，使用任选地在照射对象的第一肿瘤之后第4天与第28天之间自对象的第一肿瘤或转移性肿瘤细胞块或侵袭性肿瘤细胞块收集的T细胞测量。在任何实施方式中的一些实施方式中，全身免疫性通过T细胞受体多样性分析，使用任选地在照射对象的第一肿瘤之后第4天与第28天之间自对象的第一肿瘤或转移性肿瘤细胞块或侵袭性肿瘤细胞块或周边循环收集的T细胞测量。

[0039] 在任何实施方式中的一些实施方式中，全身免疫性的测量是在任选地照射对象的第一肿瘤之后第4天与第28天之间，由自对象收集的第一肿瘤或转移性肿瘤细胞块或侵袭性肿瘤细胞块，测定肿瘤中调节T细胞(Treg)的存在、数目或频率和/或瘤内Treg细胞与瘤内CD8+T细胞或瘤内CD4+T细胞的比率来测量。

[0040] 在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CD25抗体包含功能性Fc区。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CD25抗体为巴利昔单抗或达利珠单抗，或其生物类似物、可互换物、生物改良剂、生物复制物或生物仿制物。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CD25抗体为巴利昔单抗。

[0041] 在任何实施方式中的一些实施方式中，抗PD-1抗体是选自由以下组成的组：派姆单抗(MK-3475、KEYTRUDA；拉立珠单抗)、纳武单抗(OPDIVO)、赛咪单抗(LIBTAYO)、特瑞普利单抗(JS001)、HX008、SG001、GLS-010、多斯利单抗(TSR-042)、缇勒珠单抗(BGB-A317)、西利单抗(JNJ-63723283)、皮立珠单抗(CT-011)、杰诺珠单抗(APL-501、GB226)、BCD-100、赛咪单抗(REGN2810)、F520、斯迪利单抗(IBI308)、CS1003、LZM009、坎立珠单抗(SHR-1210)、SCT-I10A、MGA012、AK105、PF-06801591、AMP-224、AB122、AMG 404、BI 754091、HLX10、JTX-4014、AMP-514(MEDI0680)、Sym021、MGD019、MGD013、AK104、XmAb20717、RO7121661、CX-188、斯巴达珠单抗、BCD-217、HX009、IBI308、PDR001、REGN2810及TSR-042(ANB011)。

[0042] 在任何实施方式中的一些实施方式中，向对象给予免疫检查点抑制剂一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。在任何实施方式中的一些实施方式中，向对象给予抗PD-1抗体一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

[0043] 在任何实施方式中的一些实施方式中，酞菁染料为Si-酞菁染料。在任何实施方式中的一些实施方式中，Si-酞菁染料为IR700。

[0044] 在任何实施方式中的一些实施方式中，照射是在给予偶联物之后30分钟与96小时之间进行。在任何实施方式中的一些实施方式中，照射是在给予偶联物之后24小时±4小时进行。在任何实施方式中的一些实施方式中，在690±40nm的波长下照射肿瘤。在任何实施方式中的一些实施方式中，以50J/cm^2或100J/cm纤维长度或约50J/cm^2或100J/cm纤维长度的剂量照射肿瘤。

[0045] 在任何实施方式中的一些实施方式中，所述方法及用途还涉及(d)给予额外治疗剂或抗癌治疗。

[0046] 在任何实施方式中的一些实施方式中，重复步骤(a)、(b)、(c)或(d)中的一或多个。

[0047] 在任何实施方式中的一些实施方式中，癌症是选自由以下组成的组：结肠癌、结直肠癌、胰腺癌、乳癌、皮肤癌、肺癌、非小细胞肺癌、肾细胞癌、甲状腺癌、前列腺癌、头颈癌、胃肠癌、胃癌、小肠癌、梭状细胞赘瘤、肝癌瘤、肝癌、周边神经癌、脑癌、骨胳肌癌、平滑肌癌、骨癌、脂肪组织癌、子宫颈癌、子宫癌、生殖器癌、淋巴瘤及多发性骨髓瘤。

[0048] 在任何实施方式中的一些实施方式中，增强的反应包含与仅给予偶联物接着照射相比及与仅给予免疫检查点抑制剂相比的累加反应或协同反应。在任何实施方式中的一些实施方式中，增强的反应包含与仅给予偶联物接着照射相比及与仅给予抗PD-1抗体相比的累加反应或协同反应。

[0049] 在一些实施方式中提供使用光免疫疗法，例如用光敏感性酞菁染料-靶向分子偶联物治疗对象的癌症的方法。在一些实施方式中，该方法包括向患有癌症，诸如包括第一肿瘤或原发性肿瘤及侵袭性肿瘤细胞和/或转移性肿瘤细胞的癌症的对象给予含有连接至结合于肿瘤微环境中存在的细胞表面上的CD25蛋白的靶向分子，诸如抗体或其抗原结合片段

的酞菁染料的偶联物。在一些实施方式中，偶联物单独或与免疫检查点抑制剂(ICI)组合给予。在一些实施方式中，在给予偶联物之后，在500至900nm的波长下以至少1J/cm^{2}或1J/cm纤维长度的剂量照射第一肿瘤或原发性肿瘤，由此治疗对象的肿瘤。在一些实施方式中，照射波长为600nm至850nm，诸如660nm至740nm。

[0050] 在一些实施方式中，癌症包括第一肿瘤或原发性肿瘤或多种第一肿瘤或原发性肿瘤、侵袭性肿瘤细胞和/或转移性肿瘤细胞。

[0051] 提供用于治疗癌症的方法及用途。在任何实施方式中的一些实施方式中，方法及用途涉及：(a)向患有包含第一肿瘤或原发性肿瘤及转移性肿瘤细胞的癌症的对象给予包含连接至靶向分子的酞菁染料的偶联物，其中该靶向分子结合于CD25；(b)向该对象给予免疫检查点抑制剂；及(c)在给予该偶联物之后，在600nm或约600nm至850nm或约850nm的波长下及以25J/cm^{2}或约25J/cm^{2}至400J/cm^{2}或约400J/cm^{2}或2J/cm纤维长度或约2J/cm纤维长度至500J/cm纤维长度或约500J/cm纤维长度的剂量照射该第一肿瘤或原发性肿瘤，其中对象中的第一肿瘤或原发性肿瘤及转移性肿瘤细胞中的一或两种的生长和/或体积增加得到抑制。在任何实施方式中的一些实施方式中，不直接照射转移性肿瘤细胞。

[0052] 在任何实施方式中的一些实施方式中，转移性肿瘤细胞包含于实体肿瘤中。在任何实施方式中的一些实施方式中，与仅给予偶联物与免疫检查点抑制剂中的一种相比，第一肿瘤或原发性肿瘤、转移性肿瘤细胞或两者的生长抑制是协同的。

[0053] 在任何实施方式中的一些实施方式中，对象展现完全反应。

[0054] 在任何实施方式中的一些实施方式中，靶向分子为抗体或其抗原结合片段或包括抗原结合片段。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗体为抗CD25抗体。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CD25抗体包括功能性Fc区。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CD25抗体为巴利昔单抗或达利珠单抗，或其生物类似物、可互换物、生物改良剂、生物复制物或生物仿制物。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CD25抗体为巴利昔单抗。

[0055] 在任何实施方式中的一些实施方式中，免疫检查点抑制剂是选自由以下组成的组：PD-1抑制剂、PD-L1抑制剂或CTLA-4抑制剂。在任何实施方式中的一些实施方式中，免疫检查点抑制剂为或包括抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或抗CTLA-4抗体或其抗原结合片段。

[0056] 在任何实施方式中的一些实施方式中，免疫检查点抑制剂为或包括抗PD-1抗体或其抗原结合片段。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗PD-1抗体是选自由以下组成的组：派姆单抗(MK-3475、KEYTRUDA)、纳武单抗(OPDIVO)、赛咪单抗(LIBTAYO)、特瑞普利单抗(JS001)、HX008、SG001、GLS-010、多斯利单抗(TSR-042)、缇勒珠单抗(BGB-A317)、西利单抗(JNJ-63723283)、皮立珠单抗(CT-011)、杰诺珠单抗(APL-501、GB226)、BCD-100、赛咪单抗(REGN2810)、F520、斯迪利单抗(IBI308)、GLS-010、CS1003、LZM009、坎立珠单抗(SHR-1210)、SCT-I10A、MGA012、AK105、PF-06801591、AMP-224、AB 122、AMG 404、BI 754091、HLX10、JTX-4014、MEDI0680、Sym021、MGD019、MGD013、AK104、XmAb20717、RO7121661、CX-188及斯巴达珠单抗。

[0057] 在任何实施方式中的一些实施方式中，抗PD-L1抗体是选自由以下组成的组：阿特珠单抗(atezolizumab)(MPDL3280A，Tecentriq)、阿维鲁单抗(avelumab)(BAVENCIO)、德瓦鲁单抗(durvalumab)(MED14736、IMFINZI)、LDP、NM-01、STI-3031、KN035、LY3300054、M7824(MSB0011359C)、BMS-936559、MSB2311、BCD-135、BGB-A333、CBT-502、科西贝利单抗

(cosibelimab)(CK-301)、CS1001、FAZ053、MDX-1105、SHR-1316、TG-1501、ZKAB001、INBRX-105、MCLA-145、KN046、LY3415244、REGN3504及HLX20。

[0058] 在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CTLA-4抗体是选自由以下组成的组：伊派利单抗(ipilimumab)(YERVOY)、曲美木单抗(tremelimumab)、AGEN1181、AGEN1884、ADU-1064、BCD-145及BCD-217。

[0059] 在任何实施方式中的一些实施方式中，在给予免疫检查点抑制剂之前、与给予免疫检查点抑制剂同时或在给予免疫检查点抑制剂之后向对象给予偶联物。

[0060] 在任何实施方式中的一些实施方式中，向对象给予免疫检查点抑制剂一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。在任何实施方式中的一些实施方式中，在给予偶联物之前给予免疫检查点抑制剂一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次或10次，随后，接着在给予偶联物之后向对象给予免疫检查点抑制剂零次、一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。在任何实施方式中的一些实施方式中，免疫检查点抑制剂与给予偶联物同时给予，随后，接着在给予偶联物之后向对象给予免疫检查点抑制剂零次、一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。在任何实施方式中的一些实施方式中，在向对象给予偶联物之后给予免疫检查点抑制剂一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

[0061] 在任何实施方式中的一些实施方式中，酞菁染料为Si-酞菁染料。在任何实施方式中的一些实施方式中，Si-酞菁染料为IR700。

[0062] 在任何实施方式中的一些实施方式中，照射是在给予偶联物之后30分钟与96小时之间进行。在任何实施方式中的一些实施方式中，照射是在给予偶联物之后24小时±4小时进行。在任何实施方式中的一些实施方式中，在690±40nm的波长下照射第一肿瘤或原发性肿瘤。在任何实施方式中的一些实施方式中，以50J/cm^2或100J/cm纤维长度或约50J/cm^2或100J/cm纤维长度的剂量照射第一肿瘤或原发性肿瘤。

[0063] 在任何实施方式中的一些实施方式中，重复步骤(a)、(b)或(c)中的一或多个。

[0064] 在任何实施方式中的一些实施方式中，所提供的方法或用途进一步涉及(d)给予额外治疗剂或抗癌治疗。

[0065] 在任何实施方式中的一些实施方式中，癌症是选自由以下组成的组：结肠癌、结直肠癌、胰腺癌、乳癌、皮肤癌、肺癌、非小细胞肺癌、肾细胞癌、甲状腺癌、前列腺癌、头颈癌、胃肠癌、胃癌、小肠癌、梭状细胞赘瘤、肝癌瘤、肝癌、周边神经癌、脑癌、骨胳肌癌、平滑肌癌、骨癌、脂肪组织癌、子宫颈癌、子宫癌、生殖器癌、淋巴瘤及多发性骨髓瘤。在任何实施方式中的一些实施方式中，转移性肿瘤细胞位于一个、两个、三个或超过三个与第一肿瘤或原发性肿瘤所位于的组织或器官不同的组织或器官。

[0066] 提供用于治疗癌症的方法及用途，其涉及：(1)向患有包括第一肿瘤或原发性肿瘤及侵袭性肿瘤细胞的癌症的对象给予包含连接至靶向分子的酞菁染料的偶联物，其中该靶向分子结合于CD25；(2)向该对象给予免疫检查点抑制剂；及(3)在给予该偶联物之后，在600nm或约600nm至850nm或约850nm的波长下及以25J/cm^2或约25J/cm^2至400J/cm^2或约400J/cm^2或2J/cm纤维长度或约2J/cm纤维长度至500J/cm纤维长度或约500J/cm纤维长度的剂量照射该第一肿瘤或原发性肿瘤，其中对象中的第一肿瘤或原发性肿瘤及侵袭性肿瘤细胞中的一或两种的生长和/或体积增加得到抑制。在任何实施方式中的一些实施方式中，

不直接照射侵袭性肿瘤细胞。

[0067] 提供用于治疗癌症的方法及用途。在任何实施方式中的一些实施方式中，方法及用途涉及：侵袭性肿瘤细胞包含于实体肿瘤中。

[0068] 在任何实施方式中的一些实施方式中，与仅给予偶联物及免疫检查点抑制剂中的一种相比，第一肿瘤或原发性肿瘤、侵袭性肿瘤细胞或两者的生长抑制为协同的。

[0069] 在任何实施方式中的一些实施方式中，对象展现完全反应。

[0070] 在任何实施方式中的一些实施方式中，靶向分子为抗体或其抗原结合片段或包括抗原结合片段。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗体为抗CD25抗体。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CD25抗体包括功能性Fc区。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CD25抗体为巴利昔单抗或达利珠单抗，或其生物类似物、可互换物、生物改良剂、生物复制物或生物仿制物。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CD25抗体为巴利昔单抗。

[0071] 在任何实施方式中的一些实施方式中，免疫检查点抑制剂是选自由以下组成的组：PD-1抑制剂、PD-L1抑制剂或CTLA-4抑制剂。在任何实施方式中的一些实施方式中，免疫检查点抑制剂为或包括抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或抗CTLA-4抗体或其抗原结合片段。

[0072] 在任何实施方式中的一些实施方式中，免疫检查点抑制剂为或包括抗PD-1抗体或其抗原结合片段。提供用于治疗癌症的方法及用途。在任何实施方式中的一些实施方式中，方法及用途涉及：抗PD-1抗体是选自由以下组成的组：派姆单抗(MK-3475、KEYTRUDA)、纳武单抗(OPDIVO)、赛咪单抗(LIBTAYO)、特瑞普利单抗(JS001)、HX008、SG001、GLS-010、多斯利单抗(TSR-042)、缇勒珠单抗(BGB-A317)、西利单抗(JNJ-63723283)、皮立珠单抗(CT-011)、杰诺珠单抗(APL-501、GB226)、BCD-100、赛咪单抗(REGN2810)、F520、斯迪利单抗(IBI308)、GLS-010、CS1003、LZM009、坎立珠单抗(SHR-1210)、SCT-I10A、MGA012、AK105、PF-06801591、AMP-224、AB122、AMG 404、BI 754091、HLX10、JTX-4014、MEDI0680、Sym021、MGD019、MGD013、AK104、XmAb20717、RO7121661、CX-188及斯巴达珠单抗。

[0073] 在任何实施方式中的一些实施方式中，抗PD-L1抗体是选自由以下组成的组：阿特珠单抗(MPDL3280A，Tecentriq)、阿维鲁单抗(BAVENCIO)、德瓦鲁单抗(MEDI4736、IMFINZI)、LDP、NM-01、STI-3031、KN035、LY3300054、M7824(MSB0011359C)、BMS-936559、MSB2311、BCD-135、BGB-A333、CBT-502、科西贝利单抗(CK-301)、CS1001、FAZ053、MDX-1105、SHR-1316、TG-1501、ZKAB001、INBRX-105、MCLA-145、KN046、LY3415244、REGN3504及HLX20。

[0074] 在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CTLA-4抗体是选自由以下组成的组：伊派利单抗(YERVOY)、曲美木单抗、AGEN1181、AGEN1884、ADU-1064、BCD-145及BCD-217。

[0075] 提供用于治疗癌症的方法及用途。在任何实施方式中的一些实施方式中，方法及用途涉及：在给予免疫检查点抑制剂之前、与给予免疫检查点抑制剂同时或在给予免疫检查点抑制剂之后向对象给予偶联物。

[0076] 在任何实施方式中的一些实施方式中，向对象给予免疫检查点抑制剂一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。在任何实施方式中的一些实施方式中，在给予偶联物之前给予免疫检查点抑制剂一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次或10次，随后，接着在给予偶联物之后向对象给予免疫检查点抑制剂零次、一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。在任何实施方式中的一些实施方式中，免疫检查点抑制剂与给予偶联物同时给予，随后，接着在给予偶联物之后

向对象给予免疫检查点抑制剂零次、一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。在任何实施方式中的一些实施方式中，在向对象给予偶联物之后给予免疫检查点抑制剂一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

[0077] 在任何实施方式中的一些实施方式中，酞菁染料为Si-酞菁染料。在任何实施方式中的一些实施方式中，Si-酞菁染料为IR700。

[0078] 在任何实施方式中的一些实施方式中，照射是在给予偶联物之后30分钟与96小时之间进行。在任何实施方式中的一些实施方式中，照射是在给予偶联物之后24小时±4小时进行。

[0079] 在任何实施方式中的一些实施方式中，在690±40nm的波长下照射第一肿瘤或原发性肿瘤。在任何实施方式中的一些实施方式中，以50J/cm^2或100J/cm纤维长度或约50J/cm^2或100J/cm纤维长度的剂量照射第一肿瘤或原发性肿瘤。

[0080] 在任何实施方式中的一些实施方式中，重复步骤(1)、(2)或(3)中的一或多个。

[0081] 在任何实施方式中的一些实施方式中，所提供的方法及用途还涉及(4)给予额外治疗剂或抗癌治疗。

[0082] 在任何实施方式中的一些实施方式中，癌症是选自由以下组成的组：结肠癌、结直肠癌、胰腺癌、乳癌、皮肤癌、肺癌、非小细胞肺癌、肾细胞癌、甲状腺癌、前列腺癌、头颈癌、胃肠癌、胃癌、小肠癌、梭状细胞赘瘤、肝癌瘤、肝癌、周边神经癌、脑癌、骨胳肌癌、平滑肌癌、骨癌、脂肪组织癌、子宫颈癌、子宫癌、生殖器癌、淋巴瘤及多发性骨髓瘤。

[0083] 还提供用于增强具有肿瘤的对象中的全身免疫性的方法及用途。在任何实施方式中的一些实施方式中，方法及用途涉及：(a)向具有肿瘤的对象给予包含连接至抗CD25抗体的酞菁染料的偶联物；(b)向该对象给予免疫检查点抑制剂；及(c)在给予该偶联物之后，在600nm或约600nm至850nm或约850nm的波长下及以25J/cm^2或约25J/cm^2至400J/cm^2或约400J/cm^2或2J/cm纤维长度或约2J/cm纤维长度至500J/cm纤维长度或约500J/cm纤维长度的剂量照射该肿瘤，其中与给予偶联物及免疫检查点抑制剂之前对象的全身免疫性相比对象的全身免疫性得到增强。

[0084] 在任何实施方式中的一些实施方式中，全身免疫性通过以下中的一种或多种测量：细胞毒性T淋巴细胞(CTL)活性分析、瘤内T细胞耗竭分析、瘤内效应T细胞扩增分析或T细胞受体多样性分析。

[0085] 在任何实施方式中的一些实施方式中，肿瘤包括第一肿瘤或原发性肿瘤及转移性肿瘤细胞，且其中照射该第一肿瘤或原发性肿瘤且不直接照射该转移性肿瘤细胞；或肿瘤包括第一肿瘤或原发性肿瘤及侵袭性肿瘤细胞，且其中照射该第一肿瘤或原发性肿瘤且不直接照射该侵袭性肿瘤细胞。

[0086] 在任何实施方式中的一些实施方式中，全身免疫性通过CTL活性分析，使用任选地在照射对象中的第一肿瘤或原发性肿瘤之后第4天与第28天之间自对象收集的脾细胞或外周血细胞或骨髓细胞或淋巴结细胞测量。

[0087] 在任何实施方式中的一些实施方式中，全身免疫性通过瘤内T细胞耗竭分析，使用自第一肿瘤或原发性肿瘤或转移性肿瘤细胞块或侵袭性肿瘤细胞块收集的T细胞，任选地在照射对象中的第一肿瘤或原发性肿瘤之后第4天与第28天之间自对象收集的T细胞测量。

[0088] 在任何实施方式中的一些实施方式中，全身免疫性通过瘤内效应T细胞扩增分析，

使用自第一肿瘤或原发性肿瘤或转移性肿瘤细胞块或侵袭性肿瘤细胞块收集的T细胞，任选地在照射对象中的第一肿瘤或原发性肿瘤之后第4天与第28天之间自对象收集的T细胞测量。

[0089] 在任何实施方式中的一些实施方式中，全身免疫性通过T细胞受体多样性分析，使用自第一肿瘤或原发性肿瘤或转移性肿瘤细胞块或侵袭性肿瘤细胞块或周边循环收集的T细胞，任选地在照射对象中的第一肿瘤或原发性肿瘤之后第4天与第28天之间自对象收集的T细胞测量。

[0090] 在任何实施方式中的一些实施方式中，全身免疫性通过确定肿瘤中调节T细胞(Treg)的存在、数目或频率和/或来自第一肿瘤或原发性肿瘤或转移性肿瘤细胞块或侵袭性肿瘤细胞块，任选地在照射对象中的第一肿瘤或原发性肿瘤之后第4天与第28天之间自对象收集的瘤内Treg细胞与瘤内CD8+T细胞或瘤内CD4+T细胞的比率来测量。

[0091] 在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CD25抗体包含功能性Fc区。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CD25抗体为巴利昔单抗或达利珠单抗，或其生物类似物、可互换物、生物改良剂、生物复制物或生物仿制物。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CD25抗体为巴利昔单抗。在任何实施方式中的一些实施方式中，免疫检查点抑制剂为或包括抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或抗CTLA-4抗体或其抗原结合片段。

[0092] 在任何实施方式中的一些实施方式中，免疫检查点抑制剂为或包括抗PD-1抗体或其抗原结合片段。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗PD-1抗体是选自由以下组成的组：派姆单抗(MK-3475、KEYTRUDA；拉立珠单抗)、纳武单抗(OPDIVO)、赛咪单抗(LIBTAYO)、特瑞普利单抗(JS001)、HX008、SG001、GLS-010、多斯利单抗(TSR-042)、缇勒珠单抗(BGB-A317)、西利单抗(JNJ-63723283)、皮立珠单抗(CT-011)、杰诺珠单抗(APL-501、GB226)、BCD-100、赛咪单抗(REGN2810)、F520、斯迪利单抗(IBI308)、GLS-010、CS1003、LZM009、坎立珠单抗(SHR-1210)、SCT-I10A、MGA012、AK105、PF-06801591、AMP-224、AB122、AMG 404、BI 754091、HLX 10、JTX-4014、AMP-514(MEDI0680)、Sym021、MGD019、MGD013、AK104、XmAb20717、RO7121661、CX-188、斯巴达珠单抗、BCD-217、HX009、IBI308、PDR001、REGN2810及TSR-042(ANB011)。

[0093] 在任何实施方式中的一些实施方式中，抗PD-L1抗体是选自由以下组成的组：阿特珠单抗(MPDL3280A，Tecentriq)、阿维鲁单抗(BAVENCIO)、德瓦鲁单抗(MEDI4736、IMFINZI)、LDP、NM-01、STI-3031、KN035、LY3300054、M7824(MSB0011359C)、BMS-936559、MSB2311、BCD-135、BGB-A333、CBT-502、科西贝利单抗(CK-301)、CS1001、FAZ053、MDX-1105、SHR-1316、TG-1501、ZKAB001、INBRX-105、MCLA-145、KN046、LY3415244、REGN3504及HLX20。

[0094] 在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CTLA-4抗体是选自由以下组成的组：伊派利单抗(YERVOY)、曲美木单抗、AGEN1181、AGEN1884、ADU-1064、BCD-145及BCD-217。

[0095] 在任何实施方式中的一些实施方式中，在给予免疫检查点抑制剂之前、与给予免疫检查点抑制剂同时或在给予免疫检查点抑制剂之后向对象给予偶联物。在任何实施方式中的一些实施方式中，向对象给予免疫检查点抑制剂一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

[0096] 在任何实施方式中的一些实施方式中，酞菁染料为Si-酞菁染料。在任何实施方式中的一些实施方式中，Si-酞菁染料为IR700。

[0097] 在任何实施方式中的一些实施方式中，照射是在给予偶联物及免疫检查点抑制剂之后30分钟与96小时之间进行。在任何实施方式中的一些实施方式中，照射是在给予偶联物及免疫检查点抑制剂之后24小时±4小时进行。

[0098] 在任何实施方式中的一些实施方式中，在690±40nm的波长下照射肿瘤。在任何实施方式中的一些实施方式中，以50J/cm^2或100J/cm纤维长度或约50J/cm^2或100J/cm纤维长度的剂量照射肿瘤。

[0099] 在任何实施方式中的一些实施方式中，重复步骤(a)、(b)、(c)或(d)中的一或多个。

[0100] 在任何实施方式中的一些实施方式中，肿瘤是选自由以下组成的组：结肠癌、结直肠癌、胰腺癌、乳癌、皮肤癌、肺癌、非小细胞肺癌、肾细胞癌、甲状腺癌、前列腺癌、头颈癌、胃肠癌、胃癌、小肠癌、梭状细胞赘瘤、肝癌瘤、肝癌、周边神经癌、脑癌、骨胳肌癌、平滑肌癌、骨癌、脂肪组织癌、子宫颈癌、子宫癌、生殖器癌、淋巴瘤及多发性骨髓瘤。

[0101] 还提供用于在对象中产生协同反应的方法及用途。在一些实施方式中，方法及用途涉及：(1)向患有包括第一肿瘤或原发性肿瘤的癌症的对象给予包含连接至靶向分子的酞菁染料的偶联物，其中该靶向分子结合于CD25；(2)向该对象给予免疫检查点抑制剂；及(3)在给予该偶联物之后，在600nm或约600nm至850nm或约850nm的波长下及以25J/cm^2或约25J/cm^2至400J/cm^2或约400J/cm^2或2J/cm纤维长度或约2J/cm纤维长度至500J/cm纤维长度或约500J/cm纤维长度的剂量照射该第一肿瘤或原发性肿瘤，其中与仅给予偶联物或仅给予免疫检查点抑制剂相比第一肿瘤或原发性肿瘤的生长和/或体积增加协同减少。

[0102] 在任何实施方式中的一些实施方式中，癌症进一步包括转移性肿瘤细胞，且其中与仅给予偶联物或仅给予免疫检查点抑制剂相比转移性肿瘤细胞的生长和/或体积增加减少。在任何实施方式中的一些实施方式中，转移性肿瘤细胞的生长或体积增加的减少是协同的。

[0103] 在任何实施方式中的一些实施方式中，癌症进一步包括侵袭性肿瘤细胞，且其中与仅给予偶联物或仅给予免疫检查点抑制剂相比，侵袭性肿瘤细胞的生长和/或体积增加减少。在任何实施方式中的一些实施方式中，侵袭性肿瘤细胞的生长或体积增加的减少是协同的。

[0104] 在任何实施方式中的一些实施方式中，靶向分子为抗体或其抗原结合片段或包括抗原结合片段。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗体为抗CD25抗体。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CD25抗体包括功能性Fc区。在一些实施方式中，抗CD25抗体为抗体片段。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CD25抗体为巴利昔单抗或达利珠单抗，或其生物类似物、可互换物、生物改良剂、生物复制物或生物仿制物。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CD25抗体为巴利昔单抗。在任何实施方式中的一些实施方式中，免疫检查点抑制剂是选自由以下组成的组：PD-1抑制剂、PD-L1抑制剂或CTLA-4抑制剂。在任何实施方式中的一些实施方式中，免疫检查点抑制剂为或包括抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或抗CTLA-4抗体或其抗原结合片段。

[0105] 在任何实施方式中的一些实施方式中，免疫检查点抑制剂为或包括抗PD-1抗体或其抗原结合片段。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗PD-1抗体是选自由以下组成的组：派姆单抗(MK-3475、KEYTRUDA；拉立珠单抗)、纳武单抗(OPDIVO)、赛咪单抗(LIBTAYO)、

特瑞普利单抗(JS001)、HX008、SG001、GLS-010、多斯利单抗(TSR-042)、缇勒珠单抗(BGB-A317)、西利单抗(JNJ-63723283)、皮立珠单抗(CT-011)、杰诺珠单抗(APL-501、GB226)、BCD-100、赛咪单抗(REGN2810)、F520、斯迪利单抗(IBI308)、GLS-010、CS1003、LZM009、坎立珠单抗(SHR-1210)、SCT-I10A、MGA012、AK105、PF-06801591、AMP-224、AB122、AMG 404、BI 754091、HLX10、JTX-4014、AMP-514(MEDI0680)、Sym021、MGD019、MGD013、AK104、XmAb20717、RO7121661、CX-188、斯巴达珠单抗、BCD-217、HX009、IBI308、PDR001、REGN2810及TSR-042(ANB011)。

[0106] 在任何实施方式中的一些实施方式中,抗PD-L1抗体是选自由以下组成的组:阿特珠单抗(MPDL3280A,Tecentriq)、阿维鲁单抗(BAVENCIO)、德瓦鲁单抗(MEDI4736、IMFINZI)、LDP、NM-01、STI-3031、KN035、LY3300054、M7824(MSB0011359C)、BMS-936559、MSB2311、BCD-135、BGB-A333、CBT-502、科西贝利单抗(CK-301)、CS1001、FAZ053、MDX-1105、SHR-1316、TG-1501、ZKAB001、INBRX-105、MCLA-145、KN046、LY3415244、REGN3504及HLX20。

[0107] 在任何实施方式中的一些实施方式中,抗CTLA-4抗体是选自由以下组成的组:伊派利单抗(YERVOY)、曲美木单抗、AGEN1181、AGEN1884、ADU-1064、BCD-145及BCD-217。

[0108] 在任何实施方式中的一些实施方式中,在给予免疫检查点抑制剂之前、与给予免疫检查点抑制剂同时或在给予免疫检查点抑制剂之后向对象给予偶联物。在任何实施方式中的一些实施方式中,向对象给予免疫检查点抑制剂一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。在任何实施方式中的一些实施方式中,在给予偶联物之前给予免疫检查点抑制剂一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次或10次,随后,接着在给予偶联物之后向对象给予免疫检查点抑制剂零次、一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。在任何实施方式中的一些实施方式中,免疫检查点抑制剂与给予偶联物同时给予,随后,接着在给予偶联物之后向对象给予免疫检查点抑制剂零次、一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。在任何实施方式中的一些实施方式中,在向对象给予偶联物之后给予免疫检查点抑制剂一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

[0109] 在任何实施方式中的一些实施方式中,酞菁染料为Si-酞菁染料。1在任何实施方式中的一些实施方式中,Si-酞菁染料为IR700。

[0110] 在任何实施方式中的一些实施方式中,照射是在给予偶联物之后30分钟与96小时之间进行。在任何实施方式中的一些实施方式中,照射是在给予偶联物之后24小时±4小时进行。

[0111] 在任何实施方式中的一些实施方式中,在690±40nm的波长下照射第一肿瘤或原发性肿瘤。在任何实施方式中的一些实施方式中,以50J/cm^2或100J/cm纤维长度或约50J/cm^2或100J/cm纤维长度的剂量照射第一肿瘤或原发性肿瘤。

[0112] 在任何实施方式中的一些实施方式中,重复步骤(1)、(2)及(3)中的一或多个。

[0113] 在任何实施方式中的一些实施方式中,方法及用途还涉及(4)给予额外治疗剂或抗癌治疗。

[0114] 在任何实施方式中的一些实施方式中,癌症是选自由以下组成的组:结肠癌、结直肠癌、胰腺癌、乳癌、皮肤癌、肺癌、非小细胞肺癌、肾细胞癌、甲状腺癌、前列腺癌、头颈癌、胃肠癌、胃癌、小肠癌、梭状细胞赘瘤、肝癌瘤、肝癌、周边神经癌、脑癌、骨胳肌癌、平滑肌

癌、骨癌、脂肪组织癌、子宫颈癌、子宫癌、生殖器癌、淋巴瘤及多发性骨髓瘤。

[0115] 在任何实施方式中的一些实施方式中，转移性肿瘤细胞位于一个、两个、三个或超过三个与第一肿瘤或原发性肿瘤所位于的组织或器官不同的组织或器官。

[0116] 附图简单说明

[0117] 图1A-1B显示在小鼠CT26-EphA2克隆c4D10同种异体移植模型中在用抗PD-1抗体(RMP1-14)、PC61-IR700(抗CD25抗体-IR700偶联物，不照射)、PC61-IR700 PIT(抗CD25抗体-IR700偶联物及照射)、PC61-IR700 PIT与抗PD-1抗体的组合及生理盐水对照处理后体内肿瘤体积变化(图1A)及存活曲线(图1B)。

[0118] 图2A-2B显示在用抗PD-1抗体(RMP1-14)、PC61-IR700、PC61-IR700 PIT及PC61-IR700 PIT与抗PD-1抗体的组合处理后经照射的原发性肿瘤(图2A)及未照射的远端肿瘤(图2B)的体内肿瘤体积变化。

[0119] 图3A-3B显示在抗体给予后1天(图3A)及8天(图3B)具有野生型大鼠Fc区(PC61大鼠WT)、野生型小鼠Fc区(PC61小鼠WT)或N297Q突变体小鼠Fc区(PC61小鼠N297Q)的示例性抗CD25抗体对体内循环调节T细胞(Treg)的影响。

[0120] 图4A-4B显示抗PD-1及抗CD25(野生型Fc;mWT PC61)-IR700 PIT(图4A)及抗PD-1及N297Q Fc突变体抗CD25(N297Q PC61)-IR700 PIT(图4B)对未照射的远端肿瘤的协同效应。

[0121] 图5显示来自具有已用抗CD25-IR700与照射(PIT)、抗CD25-IR700偶联物且无照射(偶联物)或生理盐水对照处理的肿瘤的小鼠的$CD45^+$细胞当中瘤内$CD3^+CD4^+FoxP3^+$调节T(T_{reg})细胞的百分比。

[0122] 图6A显示在用抗CD25-IR700 PIT及生理盐水及仅偶联物(conj)(无照射)对照处理的小鼠中瘤内$CD8^+$T细胞的比较。图6B显示与生理盐水及仅偶联物(conj)(无照射)对照相比，在用抗CD25-IR700PIT处理的小鼠中瘤内耗竭$CD8^+$T细胞的比较。图6C显示在用抗CD25-IR700 PIT及生理盐水及仅偶联物(conj)(无照射)对照处理的小鼠中瘤内效应$CD8^+$T细胞的比较。

[0123] 图7显示抗CD25 PIT对来自具有已用抗CD25-IR700与照射(PIT)、抗CD25-IR700偶联物且无照射(conj)或生理盐水对照处理的肿瘤的小鼠的体内瘤内$CD8^+$T细胞活化的作用。

[0124] 图8A至图8B显示在照射之后2小时(图8A)或在照射之后8天(图8B)来自已用抗CD25-IR700与照射(PIT)、抗CD25-IR700偶联物且无照射(conj)或生理盐水对照处理的荷瘤小鼠的瘤内总$CD8^+$T细胞($CD3^+CD8^+$)与$CD3^+CD4^+FoxP3^+$Treg的比率。

[0125] 图9显示在事先用抗CD25抗体-IR700及照射(PC61-IR700 PIT)或PC61-IR700 PIT与抗PD-1抗体(RMP1-14)的组合(两者在初始处理之后均引起完全反应)处理的动物中进行对侧部位肿瘤再攻击的结果，及未处理(对照)动物中肿瘤体积的变化。

[0126] 图10显示在已事先用抗CD25抗体-IR700及照射(PC61-IR700PIT)与抗PD-1抗体(RMP1-14)的组合处理的小鼠中用不同肿瘤类型(4T1)进行肿瘤再攻击的结果，所述小鼠在用相同肿瘤类型作为初始肿瘤再攻击之后显示完全反应;及未处理(对照)动物中肿瘤体积的变化。

[0127] 图11显示在与自用抗CD25抗体-IR700及照射(PC61-IR700 PIT)或PC61-IR700

PIT与抗PD-1抗体(RMP1-14)的组合处理的完全反应(CR)小鼠获得的脾细胞一起孵育之后在30:1、15:1及7:1(对于不相关肿瘤细胞,250:1)的效应:靶标比率下在用肿瘤特异性抗原预致敏之后针对CT26肿瘤细胞或不相关肿瘤细胞的细胞毒性。

[0128] 图12A-12B显示在用抗PD-1抗体(RMP1-14)、抗CD25抗体-IR700及照射(PC61-IR700 PIT)、PC61-IR700 PIT与抗PD-1抗体的组合及PC61-IR700 PIT与抗PD-1抗体的组合处理后在CD8+T细胞耗尽的条件下经照射的原发性肿瘤(图12A)及未照射的远端肿瘤(图12B)的体内肿瘤体积变化。

[0129] 图13A显示来自已用抗CD25-IR700偶联物PIT(CD25 PIT)、抗CD25-IR700偶联物且无照射(CD25 conj)、抗CD25-IR700偶联物PIT与抗PD-1抗体(CD25 PIT+PD1)、抗CD25-IR700偶联物且无照射与抗PD-1抗体(CD25 conj+PD1)及生理盐水对照处理的具有肿瘤的小鼠的瘤内$CD3^+CD4^+$T细胞当中总$FoxP3^+$Treg的百分比。图13B显示来自已用抗CD25-IR700偶联物PIT(CD25 PIT)、抗CD25-IR700偶联物且无照射(CD25 conj)、抗CD25-IR700偶联物PIT与抗PD-1抗体(CD25 PIT+PD1)、抗CD25-IR700偶联物且无照射与抗PD-1抗体(CD25 conj+PD1)及生理盐水对照处理的具有肿瘤的小鼠的瘤内$CD4^+FoxP3^-$辅助T细胞与$CD4^+FoxP3^+$Treg细胞的比率。图13C显示来自已用抗CD25-IR700偶联物PIT(抗CD25-IR700 PIT)、抗CD25-IR700偶联物且无照射(抗CD25-IR700)、抗CD25-IR700偶联物PIT与抗PD-1抗体(抗CD25-IR700 PIT+抗PD1)、抗CD25-IR700偶联物且无照射与抗PD-1抗体(抗CD25-IR700+抗PD1)及生理盐水对照处理的具有肿瘤的小鼠的瘤内$CD8^+$T细胞与$FoxP3^+$Treg细胞的比率。

[0130] 图14显示所提出的抗CD25-IR700 PIT耗尽瘤内Treg细胞的作用机制的示意图。

具体实施方式

[0131] 本文提供用于治疗癌症的组合物、组合及方法,该癌症诸如包括第一肿瘤或原发性肿瘤或多种原发性肿瘤以及转移性肿瘤细胞、例如转移性癌症的癌症;和/或包括原发性肿瘤或多种原发性肿瘤以及侵袭性或浸润性肿瘤细胞、例如侵袭性癌症或浸润性癌症的癌症。还提供用于增强对象,诸如患有癌症,诸如侵袭性癌症、浸润性癌症或转移性癌症的对象的全身免疫性的组合物、组合及方法。还提供用于在对象、例如患有癌症或肿瘤,诸如侵袭性癌症、浸润性癌症或转移性癌症的对象中产生增强的反应、例如对治疗或疗法的增强的反应的组合物、组合及方法。

[0132] 所提供的组合物、组合、方法及用途可用于治疗包括第一肿瘤或原发性肿瘤、转移性肿瘤细胞和/或侵袭性肿瘤细胞的癌症。在一些实施方式中,与结合CD25的靶向分子偶联的酞菁染料单独或与免疫检查点抑制剂组合使用。本文所述的方法及用途提供治疗癌症、例如转移性癌症和/或侵袭性癌症的多个优点,包括不需要定位和/或直接照射转移性肿瘤细胞和/或侵袭性肿瘤细胞。本发明还提供增强对象例如针对癌症复发的全身免疫性的意外特征。

[0133] 在一些情况下,所提供的实施方式是基于以下观测结果:用酞菁染料-靶向分子偶联物,诸如抗CD25抗体-IR700偶联物治疗癌症、接着照射第一肿瘤或原发性肿瘤不仅治疗所照射的肿瘤,诸如所照射的第一肿瘤或所照射的原发性肿瘤,且还有效治疗远离照射部位的肿瘤(例如转移的肿瘤)且有效治疗在对象在治疗初始肿瘤后具有完全反应之后引入

的肿瘤，表明肿瘤特异性免疫记忆反应。所提供的实施方式是基于以下进一步观测结果：用抗CD25抗体-IR700偶联物及免疫检查点抑制剂，诸如抗PD-1抗体组合治疗引起治疗所照射的第一肿瘤或原发性肿瘤及远端肿瘤或随后引入的肿瘤，诸如包含肿瘤细胞的继发性群体、转移性肿瘤和/或侵袭性肿瘤的肿瘤的显著协同效应。因此，证明所提供的组合物、组合、方法及用途提供对癌症的实质上改善及有效的治疗，该癌症包括：包括第一肿瘤或原发性肿瘤或多种原发性肿瘤以及转移性肿瘤细胞、例如转移性癌症的癌症；和/或包括第一肿瘤或原发性肿瘤或多种原发性肿瘤以及侵袭性肿瘤细胞、例如侵袭性癌症的癌症。所提供的组合物、组合、方法及用途可增强或改善对象的免疫反应，例如针对癌症的全身免疫反应，包括可有效针对可在治疗之后显现的肿瘤的免疫记忆反应。

[0134] 本文提供的方法及用途包括用包含连接至靶向分子，诸如结合于CD25的靶向分子的酞菁染料的偶联物治疗具有一或多种第一肿瘤、例如原发性肿瘤及任选的细胞的继发性群体，诸如转移性肿瘤细胞和/或侵袭性肿瘤细胞的对象，且在给予偶联物之后，用适用于酞菁染料的光波长照射该一或多个第一肿瘤或原发性肿瘤。该方法的一些实施方式包括在给予偶联物之前、同时或之后给予免疫检查点抑制剂。

[0135] I.用于治疗癌症、例如侵袭性癌症或转移性癌症的方法及用途

[0136] 在一些实施方式中，提供使用含有靶向分子结合CD25的酞菁染料-靶向分子偶联物(例如抗CD25抗体-IR700偶联物)的组合物治疗癌症的方法及用途，该癌症诸如包括第一肿瘤或多种肿瘤(例如一或多种原发性肿瘤)以及癌细胞的继发性群体，诸如转移性肿瘤细胞(例如转移性癌症)、侵袭性肿瘤细胞(例如侵袭性癌症)或浸润性肿瘤细胞(例如浸润性癌症)的。在一些实施方式中，癌细胞的继发性群体诸如直接或间接地与第一肿瘤相关。在一些实施方式中，细胞的继发性群体不直接来源于第一肿瘤。所提供的方法及用途包括治疗方法及用途，例如涉及向患有癌症的对象给予偶联物，接着使用特定光波长及剂量照射(或辐照)与癌症相关的肿瘤(诸如第一肿瘤)或肿瘤微环境。在一些方面中，照射(或辐照)引起表达靶标分子(例如CD25)的细胞的照射依赖性溶解及死亡，对癌症产生治疗作用或治疗(在一些情况下称为光免疫疗法(PIT))。在一些方面中，方法还涉及免疫调节剂，诸如免疫检查点抑制剂(例如抗PD-1抗体)与酞菁染料-靶向分子偶联物组合给予。在一些方面中，在所提供的方法及用途中，诸如在所提供的用于治疗癌症的方法及用途中，采用酞菁染料-靶向分子偶联物与免疫检查点抑制剂(例如抗PD-1抗体)的组合。

[0137] 用途包括组合物及组合在此类方法及治疗中的用途及此类组合物及组合在制备药剂以便执行此类治疗方法中的用途。在一些实施方式中，所述方法及用途由此治疗对象的癌症，诸如包括肿瘤的癌症及包括作为原发性肿瘤或非原发性肿瘤的第一肿瘤及肿瘤细胞的一或多个继发性群体(例例如转移性肿瘤细胞和/或侵袭性肿瘤细胞)，诸如转移性和/或侵袭性癌症的癌症。在一些实施方式中，继发性肿瘤细胞与第一肿瘤相关。在方法及用途的一些实施方式中，治疗超过一种肿瘤。在一些方面中，还提供此类组合物及组合增强、强化、加强、巩固、增加、强化或支持对象中的免疫功能，诸如全身免疫性的方法及用途。

[0138] 方法包括向具有第一肿瘤的对象给予包含连接至靶向分子的酞菁染料的偶联物，其中靶向分子结合于CD25且在给予偶联物之后用适合于所选酞菁染料的光波长照射至少第一肿瘤。在一些实施方式中，方法包括在给予偶联物之前、同时或之后给予免疫检查点抑制剂，诸如抗PD-1抗体。在一些实施方式中，方法进一步给予额外治疗剂或抗癌治疗。

[0139] 在一些实施方式中，方法涉及用光照射与癌症相关的肿瘤或肿瘤的微环境(肿瘤微环境;TME)或TME中存在的细胞。在一些方面中，用适合于疗法或治疗的光波长照射肿瘤或TME。在一些实施方式中，适用于酞菁染料的光波长包括通过用吸收光照射，波长实现染料-偶联物活化的光，使得光攻击光敏剂，且杀死细胞，因而减少或消除病灶(例如肿瘤)，减少或抑制肿瘤生长，减少、抑制或消除肿瘤细胞的继发性群体，诸如肿瘤细胞癌转移，减少、抑制或消除侵袭性和/或转移性肿瘤细胞，或其任何组合。

[0140] 在一些实施方式中，照射是在约500nm与900nm之间、约600nm与850nm之间、约650nm与800nm之间或约660nm与740nm之间的波长下。在一些实施方式中，照射是在690+50nm的波长下或在或约690+20nm的波长下。

[0141] 照射剂量可为至少1J/cm^2或1J/cm纤维长度。在一些实施方式中，病灶在2J/cm^2或约2J/cm^2至约400J/cm^2或2J/cm纤维长度或约2J/cm纤维长度至约500J/cm纤维长度的剂量下照射。在一些实施方式中，照射剂量为至少或至少约2J/cm^2、5J/cm^2、10J/cm^2、25J/cm^2、50J/cm^2、75J/cm^2、100J/cm^2、150J/cm^2、200J/cm^2、300J/cm^2、400J/cm^2或500J/cm^2;或病灶在至少以下或至少约以下的剂量下照射:2J/cm纤维长度、5J/cm纤维长度、10J/cm纤维长度、25J/cm纤维长度、50J/cm纤维长度、75J/cm纤维长度、100J/cm纤维长度、150J/cm纤维长度、200J/cm纤维长度、250J/cm纤维长度、300J/cm纤维长度、400J/cm纤维长度或500J/cm纤维长度。

[0142] 在一些实施方式中，照射剂量为25J/cm^2至400J/cm^2或约2J/cm纤维长度至约500J/cm纤维长度。在一些实施方式中，照射剂量为5J/cm^2至200J/cm^2或20J/cm纤维长度至500J/cm纤维长度。在一些实施方式中，照射剂量为约50J/cm^2或100J/cm纤维长度。

[0143] 在本文所提供的方法及用途的一些实施方式中，在给予酞菁染料-靶向分子偶联物之后实现照射。在一些实施方式中，在给予酞菁染料-靶向分子偶联物(例如IR700-抗CD25抗体偶联物)之后30分钟与96小时之间或约30分钟与96小时之间，诸如30分钟与48小时、30分钟与24小时或12小时与48小时之间，诸如一般在给予偶联物之后至少30分钟、1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、7小时、8小时、9小时、10小时、11小时、12小时、13小时、14小时、15小时、16小时、17小时、18小时、19小时、20小时、21小时、22小时、23小时、24小时或更多小时，进行或实现照射。在一些实施方式中，在给予偶联物之后约24小时内或在给予偶联物之后24小时±4小时内，或在给予偶联物之后约20、21、22、23、24、24、26、27或28小时内进行照射。

[0144] 本文所述的方法包括照射对象中的第一肿瘤或第一肿瘤，诸如原发性肿瘤的肿瘤微环境(TME)。在一些实施方式中，本文所提供的方法及用途包括治疗具有一或多个肿瘤的对象。对象可具有一个、两个、三个或超过三个肿瘤。此类肿瘤可在一或多个组织或器官中，诸如在一个组织或器官中，在两个不同组织或器官中，在三个不同组织或器官中，或在超过三个不同组织或器官中。

[0145] 在一些方面中，原发性肿瘤可指对象中的第一或原始肿瘤，且还可指经选择用于用本文所提供的方法及用途照射的一或多个肿瘤。在一些实施方式中，第一肿瘤或额外肿瘤可为实体肿瘤，可为淋巴瘤，或可为白血病。肿瘤可为肺、胃、肝脏、胰腺、乳房、食道、头颈部、脑、周边神经、皮肤、小肠、结肠、直肠、肛门、卵巢、子宫、膀胱、前列腺、脂肪组织、骨胳肌、平滑肌、血管、骨骼、骨髓、眼睛、舌、淋巴结、脾、肾、子宫颈、男性生殖器、女性生殖器、睾

丸的肿瘤或未知初始来源的肿瘤。

[0146] 在方法的一些实施方式中，抑制第一肿瘤或原发性肿瘤的生长，减小原发性肿瘤的体积，或减小肿瘤生长与肿瘤体积。在方法的一些实施方式中，与诸如仅给予偶联物、仅给予偶联物接着照射或仅给予抗PD-1抗体的单一疗法相比，可抑制第一肿瘤或原发性肿瘤的生长，减小原发性肿瘤的体积，或减小肿瘤生长与肿瘤体积。

[0147] 在一些实施方式中，本文所提供的方法及用途包括治疗具有一或多个肿瘤以及肿瘤细胞的继发性群体，诸如侵袭性肿瘤细胞的对象。在此类实施方式中的一些中，当源于肿瘤，诸如原发性肿瘤的细胞已侵袭至周围组织中时，继发性群体即含有所述细胞。方法包括向具有第一肿瘤及侵袭性肿瘤细胞的对象给予包含连接至靶向分子的酞菁染料的偶联物，其中靶向分子结合于CD25；及在给予偶联物之后，用适合于所选酞菁染料的波长照射第一肿瘤。在此类实施方式中的一些中，不直接照射肿瘤细胞的继发性群体。在一些实施方式中，方法包括在给予偶联物之前、同时或之后给予免疫检查点抑制剂。在一些实施方式中，方法包括在给予抗CD25抗体-IR700偶联物之前、同时或之后给予抗PD-1抗体，其中在偶联物给予之后照射第一肿瘤。

[0148] 在一些方面中，侵袭性肿瘤细胞是指源自原发性肿瘤的细胞且已侵袭至具有第一肿瘤的对象体内与原发性肿瘤相同的器官或相邻的器官的周围组织中。在一些实施方式中，第一肿瘤为原发性肿瘤，且侵袭性肿瘤细胞直接或间接地来源于第一肿瘤。在一些实施方式中，侵袭性肿瘤细胞不直接来源于第一肿瘤。

[0149] 本文所提供的方法及用途包括照射第一肿瘤和/或其他肿瘤，且不照射侵袭性肿瘤细胞中的一些或全部。在一些实施方式中，抑制、减小或消除侵袭性肿瘤细胞的生长，减小一或多个侵袭性肿瘤的体积、尺寸或质量，或其任何组合。在一些实施方式中，还抑制、减小或消除第一肿瘤的生长，还减小第一肿瘤或其他肿瘤的体积、尺寸或质量，以及对一或多个侵袭性肿瘤细胞的作用。

[0150] 在一些实施方式中，侵袭性肿瘤细胞包含于实体肿瘤中。在一些实施方式中，侵袭性肿瘤细胞包含于体液，包括但不限于腹膜液、胸膜液及脑脊髓液中。在一些实施方式中，侵袭性肿瘤细胞包含于体腔积液，包括但不限于腹膜积液(腹水)、肋膜积液及心包积液中。

[0151] 在一些实施方式中，本文所提供的方法及用途包括治疗具有第一肿瘤以及肿瘤细胞的继发性群体(例如相关肿瘤细胞的继发性群体)，诸如侵袭性和/或转移性肿瘤细胞的对象。方法包括向具有第一肿瘤及肿瘤细胞的继发性群体(例如相关肿瘤细胞的继发性群体)，诸如侵袭性和/或转移性肿瘤细胞的对象给予包含连接至靶向分子的酞菁染料的偶联物，其中靶向分子结合于CD25且在给予偶联物之后用适合于所选酞菁染料的波长照射第一肿瘤。在此类实施方式中的一些中，不直接照射肿瘤细胞的继发性群体。在一些实施方式中，方法包括在给予偶联物之前、同时或之后给予免疫检查点抑制剂，诸如抗PD-1抗体。在此类方法中，抑制、减小或消除第一肿瘤和/或肿瘤细胞的继发性群体，诸如转移性肿瘤细胞的生长(体积、尺寸或质量)，减小一或多个第一肿瘤和/或细胞的继发性群体的体积、尺寸或质量，或其任何组合。在一些实施方式中，与仅给予偶联物、仅给予偶联物接着照射或仅给予抗PD-1抗体相比，第一肿瘤和/或继发性群体受到更大程度抑制。在一些实施方式中，若肿瘤显示肿瘤体积、肿瘤尺寸或肿瘤块增加小于20％，肿瘤体积、尺寸或质量无变化(还即，肿瘤生长或进展停止)，或肿瘤的体积、尺寸或质量减小，或肿瘤细胞的数目减小，则

实现抑制。在一些方面中，肿瘤体积、肿瘤尺寸或肿瘤块或者肿瘤细胞数目的减小包含减小30％或约30％或更多。

[0152] 在本文中的任一方法及用途中，第一肿瘤可为原发性肿瘤或继发性肿瘤。在一些实施方式中，第一肿瘤及继发性群体相关。在一些实施方式中，细胞的继发性群体直接或间接地来源于第一肿瘤。在一些实施方式中，继发性群体不来源于第一肿瘤。在一些实施方式中，第一肿瘤为原发性肿瘤且细胞的继发性群体与原发性肿瘤相关；举例而言，细胞的继发性群体直接或间接地来源于原发性肿瘤。在一些实施方式中，第一肿瘤为原发性肿瘤且肿瘤细胞的继发性群体为第二原发性肿瘤。在一些实施方式中，第一肿瘤为继发性肿瘤且细胞的继发性群体与继发性肿瘤相关。在一些方面中，肿瘤的继发性群体包括源自原发性肿瘤且侵袭局部或远端健康组织(还即，侵袭性肿瘤细胞)或扩散至具有原发性肿瘤的对象的体内的远端组织或器官(还即，转移性肿瘤细胞)，例如位于原发性肿瘤远端或远离原发性肿瘤的组织或器官的细胞。在一些方面中，肿瘤细胞的继发性群体为侵袭性与转移性的。在一些方面中，肿瘤细胞的继发性群体为浸润性的。在一些方面中，肿瘤细胞的继发性群体为转移性的且直接或间接地与第一肿瘤相关，诸如来源于第一肿瘤。在其它方面中，肿瘤细胞的继发性群体为转移性的且不直接与第一肿瘤相关。转移性肿瘤细胞可位于肺、胃、肝脏、胰腺、乳房、食道、头颈部、脑、周边神经、皮肤、小肠、结肠、直肠、肛门、卵巢、子宫、膀胱、前列腺、脂肪组织、骨胳肌、平滑肌、血管、骨骼、骨髓、眼睛、舌、淋巴结、脾、肾、子宫颈、男性生殖器、女性生殖器、睾丸、血液、骨髓、脑脊髓液或任何其他组织或器官中的一或多个位置。在一些实施方式中，转移性肿瘤细胞包含于实体肿瘤中。在一些实施方式中，转移性肿瘤细胞为循环肿瘤细胞，为液体肿瘤，或不与肿瘤块相关。

[0153] 在本文所提供的方法及用途的一些实施方式中，继发性肿瘤细胞为在第一肿瘤远端的转移性肿瘤细胞且不照射，例如不直接照射转移性肿瘤细胞中的一些或全部。在本方法及用途的一些实施方式中，在给予偶联物之后仅照射第一肿瘤且不直接照射侵袭性或转移性肿瘤细胞。在一些实施方式中，照射超过一个肿瘤，包括第一肿瘤，但不照射肿瘤细胞的至少一个位点，诸如含有转移性肿瘤细胞的位点。

[0154] II.用于增强全身免疫性和/或反应的方法

[0155] 本文还提供组合物及组合增强、强化、加强或支持对象中，例如患有癌症或肿瘤的对象中的免疫功能，诸如全身免疫性的方法及用途。在一些实施方式中，本文中的方法及用途包括增强患有癌症、肿瘤或癌性病灶的对象中的全身免疫性。在一些方面中，“全身免疫性”是指对象免疫系统对免疫攻击，包括与癌症或肿瘤相关的免疫攻击以全身方式起反应的能力。在一些方面中，全身免疫性可包括对象后天免疫系统和/或先天免疫系统的全身反应。在一些方面中，全身免疫性包括包括血流、淋巴结、骨髓、脾和/或肿瘤微环境的不同组织中的免疫反应，且在一些情况下，包括组织及器官当中的协调反应及组织及器官的多种细胞及因子。本文还提供组合物及组合增强、强化或加强对象中，诸如患有癌症或肿瘤的对象中对治疗或疗法的反应的方法及用途。

[0156] 在一些方面中，所提供的方法及用途包括向对象给予包含连接至靶向分子的酞菁染料的偶联物，其中靶向分子结合于CD25；给予免疫检查点抑制剂；且在给予偶联物之后，照射肿瘤或癌性病灶或肿瘤微环境。关于波长、照射剂量及照射时间安排的照射条件为诸如本文所述的条件。可在给予偶联物之前、同时或之后，给予免疫检查点抑制剂，诸如本文

所述。在一些方面中，本文所提供的方法及用途增强对象中的全身免疫性，此转而可产生针对癌症疗法或治疗的增强或协同反应。在一些实施方式中，与仅给予偶联物、仅给予偶联物接着照射或仅给予抗PD-1抗体相比，本文所提供的方法及用途引起针对癌症或肿瘤的治疗或疗法的增强的反应，诸如协同反应。在一些方面中，增强的反应包含与给予偶联物接着照射及给予抗PD-1抗体之前对象的全身免疫性相比，对象的全身免疫性增强。在一些方面中，增强的反应包含与仅给予偶联物、仅给予偶联物接着照射或仅给予抗PD-1抗体相比，增强的反应，诸如额外、累加或协同反应，和/或更完全的反应、更持久的反应或更持续的反应。

[0157] 在本文所提供的方法及用途的一些实施方式中，增加或加强针对复发肿瘤的全身免疫性。在一些方面中，可基于瘤内$CD8^+$T淋巴细胞的数目、$CD8^+$T淋巴细胞与调节T细胞(T_{reg})的比率、瘤内T淋巴细胞耗竭(例如表达PD-1和/或CTLA4标记物的$CD3^+CD8^+$细胞的百分比)、瘤内活化$CD8^+$T淋巴细胞的数目或百分比(例如作为$CD45^+$细胞的百分比的$Ki67^+$或$CD69^+CD8$细胞)、细胞毒性瘤内T淋巴细胞的扩增(例如不表达PD-1和/或CTLA4标记物的$CD3^+CD8^+$细胞的百分比)，基于脾细胞针对肿瘤细胞的细胞毒性或其任何或所有组合，测量全身免疫性的水平、强度或程度。在一些方面中，瘤内$CD8^+$T淋巴细胞包括$CD3^+CD8^+$细胞，瘤内耗竭T淋巴细胞包括$PD\text{-}1^+CTLA\text{-}4^+CD3^+CD8^+$细胞，活化瘤内CD8+T淋巴细胞包括$CD3^+CD8^+Ki67^+$和/或$CD3^+CD8^+CD69^+$细胞，细胞毒性T淋巴细胞的扩增包括$PD\text{-}1^-CTLA\text{-}4^-CD3^+CD8^+$细胞。在一些方面中，瘤内$CD8^+$T淋巴细胞、耗竭瘤内T淋巴细胞、活化$CD8^+$T淋巴细胞或扩增的细胞毒性瘤内T淋巴细胞作为白细胞($CD45^+$细胞)和/或总$CD8^+$T细胞(例如$CD3^+CD8^+CD45^+$细胞)的百分比测量。此类数目或百分比的测定可使用若干熟知方法，包括本文所述的那些方法实现。举例而言，此类数目或百分比可通过诸如通过肿瘤和/或组织切片的机械解离产生单细胞悬浮液，或收集含有循环免疫细胞的血液样品，接着染色及进行流动式细胞测量分析或质谱细胞测量术来确定。其他方法可包括组织和/或肿瘤切片的多重化的免疫荧光成像。

[0158] 在此类实施方式中的一些中，免疫性的强度或程度与治疗之前同一对象中的免疫性的强度或程度相比较。在此类实施方式中的一些中，免疫性的强度或程度与一群对象相比较。在此类实施方式中的一些中，免疫性的强度或程度与阈值相比较。在一些实施方式中，在诸如抗CD25 PIT与给予检查点抑制剂(例如抗PD-1抗体)组合的组合疗法之后的免疫性的强度或程度与在用诸如给予单一药剂，诸如仅免疫检查点抑制剂(例如抗PD-1抗体)或抗CD25偶联物或抗CD25PIT的单一疗法治疗之后的免疫性的强度或程度相比较。

[0159] 在一些实施方式中，免疫性的强度或程度通过瘤内$CD8^+$T淋巴细胞，诸如$CD3^+CD8^+$T淋巴细胞的数目来测量，且若与治疗前相比，在治疗之后$CD45^+$细胞的总数目当中瘤内$CD8^+$T淋巴细胞(例如$CD3^+CD8^+$T淋巴细胞)的百分比增加，则针对复发肿瘤的全身免疫性增加或强化。在此类实施方式中的一些中，若瘤内$CD8^+$T淋巴细胞(例如$CD3^+CD8^+$T淋巴细胞)的数目为$CD45^+$细胞的总数目的至少或至少约30％，诸如$CD45^+$细胞的总数目的至少或至少约30％、35％、36％、37％、38％39％、40％、41％、42％43％、44％、45％、46％、47％、48％、49％、50％、51％、52％、53％、54％、55％、56％、57％、58％、59％、60％或更多，则针对复发肿瘤的全身免疫性增加或强化。在一些实施方式中，瘤内$CD8^+$T淋巴细胞的百分比为瘤内$CD45^+$细胞群体的至少40％。在一些实施方式中，若与治疗前相比，在治疗之后瘤内$CD45^+$细胞群体当中瘤内$CD3^+CD8^+$T细胞的百分比增加，则针对复发肿瘤的全身免疫性增加或强化。在此类实施方式中的一些中，与治疗前相比，在治疗之后瘤内$CD45^+$细胞群体当中瘤内$CD3^+CD8^+$T细胞

的百分比增加至少或至少约5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、25%、30%或更多。在一些实施方式中，与治疗前相比，在治疗之后瘤内$CD45^+$细胞群体当中瘤内$CD3^+CD8^+$T细胞的百分比增加至少10%。

[0160] 在一些实施方式中，免疫性的强度或程度通过耗竭的瘤内$CD8^+$T淋巴细胞，诸如作为瘤内$CD8^+$T淋巴细胞(例如CD3+CD8+T淋巴细胞)的百分比的$PD\text{-}1^+CTLA\text{-}4^+CD3^+CD8^+$细胞的数目来测量，且若与治疗前相比，在治疗之后瘤内$CD3^+CD8^+$T细胞当中$PD\text{-}1^+CTLA\text{-}4^+CD3^+CD8^+$细胞的百分比降低，则针对复发肿瘤的全身免疫性增加或加强。在此类实施方式中的一些中，若与治疗前相比，在治疗之后瘤内$CD3^+CD8^+$T细胞当中$PD\text{-}1^+CTLA\text{-}4^+CD3^+CD8^+$细胞的百分比小于20%或小于约20%，诸如小于19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%或更小，则针对复发肿瘤的全身免疫性增加。在一些实施方式中，若与治疗前相比，在治疗之后瘤内$CD3^+CD8^+$T细胞当中$PD\text{-}1^+CTLA\text{-}4^+CD3^+CD8^+$细胞的百分比减小，则针对复发肿瘤的全身免疫性增加或强化。在此类实施方式中的一些中，与治疗前相比，瘤内$CD3^+CD8^+$T细胞当中$PD\text{-}1^+CTLA\text{-}4^+CD3^+CD8^+$细胞的百分比减少至少或至少约5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、25%、30%或更多。在一些实施方式中，与治疗前相比，在治疗之后瘤内$CD3^+CD8^+$T细胞群体当中耗竭的瘤内$CD8^+$T细胞($PD\text{-}1^+CTLA\text{-}4^+CD3^+CD8^+$细胞)的百分比减少至少10%。

[0161] 在一些实施方式中，免疫性的强度或程度通过活化的瘤内$CD8^+$T淋巴细胞，诸如$CD3^+CD8^+Ki67^+$和/或$CD3^+CD8^+CD69^+$T淋巴细胞的数目来测量，且若与治疗前相比，在治疗之后作为瘤内$CD45^+$白细胞的百分比的活化的瘤内$CD8^+$T淋巴细胞，诸如$CD3^+CD8^+Ki67^+$和/或$CD3^+CD8^+CD69^+$T淋巴细胞的数目增加，则针对复发肿瘤的全身免疫性增加。在此类实施方式中的一些中，若在治疗之后瘤内$CD3^+CD8^+Ki67^+$细胞的数目为$CD45^+$细胞的总数目的至少或约0.15%，诸如瘤内$CD45^+$细胞的总数目的至少或至少约0.2%、0.25%、0.3%、0.35%、0.4%、0.45%、0.5%或更多，则针对复发肿瘤的全身免疫性增加或强化。在此类实施方式的其他实施方式中，若在治疗之后瘤内$CD3^+CD8^+CD69^+$细胞的数目为$CD45^+$细胞的总数目的至少或至少约0.5%，诸如瘤内$CD45^+$细胞的总数目的至少或约0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、1.0%、1.1%、1.2%、1.3%、1.4%、1.5%、1.6%、1.7%、1.8%、1.9%、2.0%、2.1%、2.2%、2.3%、2.4%、2.5%、2.6%、2.7%、2.8%、2.9%、3.0%或更多，诸如瘤内$CD45^+$细胞的总数目的至少约1.0%，则针对复发肿瘤的全身免疫性增加或强化。在一些实施方式中，若与治疗前相比，在治疗之后瘤内$CD45^+$细胞当中瘤内$CD3^+CD8^+Ki67^+$和/或$CD3^+CD8^+CD69^+$T淋巴细胞的百分比增加，则针对复发肿瘤的全身免疫性增加或强化。在此类实施方式中的一些中，与治疗前瘤内$CD45^+$细胞当中$CD3^+CD8^+Ki67^+$和/或$CD3^+CD8^+CD69^+$T淋巴细胞细胞的百分比相比，瘤内$CD45^+$细胞当中$CD3^+CD8^+Ki67^+$和/或$CD3^+CD8^+CD69^+$T淋巴细胞细胞的百分比增加至少或至少约1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、11倍、12倍、13倍、14倍、15倍、16倍、17倍、18倍、19倍、20倍、21倍、22倍、23倍、24倍、25倍、30倍、35倍、40倍、45倍、50倍、55倍、60倍或更多。在一些实施方式中，与治疗前瘤内$CD45^+$细胞当中$CD3^+CD8^+Ki67^+$T淋巴细胞细胞的百分比相比，瘤内$CD45^+$细胞当中瘤内$CD3^+CD8^+Ki67^+$T淋巴细胞细胞的百分比增加至少15倍或20倍。在一些实施方式中，与治疗前瘤内$CD45^+$细胞当中$CD3^+CD8^+CD69^+$T淋巴细胞细胞的百分比相比，瘤内$CD45^+$细胞当中瘤内$CD3^+CD8^+CD69^+$T淋巴细胞细胞的百分比增加至少5倍。

[0162] 在一些实施方式中，免疫性的强度或程度通过瘤内细胞毒性T淋巴细胞，诸如PD-1$^-$CTLA-4$^-$CD3$^+$CD8$^+$细胞的扩增来测量，且若与治疗前相比，在治疗之后CD8$^+$T细胞(例如CD3$^+$CD8$^+$T细胞)当中瘤内细胞毒性T淋巴细胞(例如PD-1$^-$CTLA-4$^-$CD3$^+$CD8$^+$细胞)的百分比增加，则针对复发肿瘤的全身免疫性增加或强化。在此类实施方式中的一些中，若瘤内细胞毒性T淋巴细胞(例如PD-1$^-$CTLA-4$^-$CD3$^+$CD8$^+$细胞)的数目为CD3$^+$CD8$^+$T细胞的总数目的至少或约20％，诸如CD45$^+$细胞的总数目的至少或至少约25％、30％、35％、40％、41％、42％、43％、44％、45％、46％、47％、48％、49％、50％、51％、52％、53％、54％、55％、56％、57％、58％、59％、60％、61％、62％、63％、64％、65％或更多，则针对复发肿瘤的全身免疫性增加或强化。在一些实施方式中，瘤内PD-1$^-$CTLA-4$^-$CD3$^+$CD8$^+$细胞的百分比为瘤内CD3$^+$CD8$^+$T细胞群体的至少或至少约40％、45％、50％或55％。在一些实施方式中，若与治疗前相比，在治疗之后瘤内CD3$^+$CD8$^+$T细胞群体当中瘤内PD-1$^-$CTLA-4$^-$CD3$^+$CD8$^+$细胞的百分比增加，则针对复发肿瘤的全身免疫性增加或强化。在此类实施方式中的一些中，与治疗前瘤内CD3$^+$CD8$^+$T细胞群体当中瘤内PD-1$^-$CTLA-4$^-$CD3$^+$CD8$^+$细胞的百分比相比，在治疗之后瘤内CD3$^+$CD8$^+$T细胞群体当中瘤内PD-1$^-$CTLA-4$^-$CD3$^+$CD8$^+$细胞的百分比增加至少或至少约5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、50％、60％、70％、75％、80％或更多。在一些实施方式中，与治疗前瘤内CD3$^+$CD8$^+$T细胞群体当中瘤内PD-1$^-$CTLA-4$^-$CD3$^+$CD8$^+$细胞的百分比相比，在治疗之后瘤内CD3$^+$CD8$^+$T细胞群体当中瘤内PD-1$^-$CTLA-4$^-$CD3$^+$CD8$^+$细胞的百分比增加至少30％。

[0163] 在一些实施方式中，根据本文所提供的方法及用途的治疗引起调节T细胞(Treg)，诸如瘤内CD4+FoxP3+Treg的细胞死亡或数目减小。因此，在一些实施方案中，可基于瘤内或循环调节T细胞(Treg)的数目或百分比测量全身免疫性的水平、强度或程度。在一些方面中，抗CD25偶联物与表达CD25的细胞，诸如某些Treg的表面的结合及实现表达CD25的细胞的照射依赖性裂解及死亡的照射引起表达CD25的细胞的数目减小。在一些方面中，此类结果引起肿瘤内免疫抑制细胞，诸如Treg的数目减小，且因此可缓解或逆转肿瘤中的免疫抑制。在一些方面中，此类免疫抑制细胞减少可引起可消除肿瘤细胞的瘤内T细胞，诸如瘤内CD8+细胞毒性T细胞或CD4+辅助T细胞的活化及增殖，且减小肿瘤体积和/或消除肿瘤。在一些方面中，根据所提供的实施方式的治疗可减少瘤内Treg和/或增加瘤内CD8+与Treg比率或瘤内CD4+与Treg比率。

[0164] 在一些方面中，根据本文所提供的方法及用途的治疗可引起瘤内Treg持续或持久的减少。在一些方面中，根据本文所提供的方法及用途的治疗可引起瘤内CD8+与Treg比率或瘤内CD4+与Treg比率持续或持久的增加。在一些实施方式中，全身免疫性的水平、强度或程度可通过确定瘤内CD8$^+$与Treg比率来测量，且若与治疗前相比，在治疗之后瘤内CD8$^+$与Treg比率增加，则针对复发肿瘤的全身免疫性增加或强化。在此类实施方式中的一些中，若与治疗前瘤内CD8$^+$与Treg比率相比，瘤内CD8$^+$与Treg比率增加至少或至少约1倍、1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、1.6倍、1.7倍、1.8倍、1.9倍、2.0倍、2.1倍、2.2倍、2.3倍、2.4倍、2.5倍、2.6倍、2.7倍、2.8倍、2.9倍、3.0倍、3.1倍、3.2倍、3.3倍、3.4倍、3.5倍、3.6倍、3.7倍、3.8倍、3.9倍、4.0倍或更多，则针对复发肿瘤的全身免疫性增加或强化。在一些实施方式中，全身免疫性的水平、强度或程度可通过确定瘤内CD4$^+$与Treg比率来测量，且若与治疗前相比，在治疗之后瘤内CD4$^+$与Treg比率增加，则针对复发肿瘤的全身免疫性增加或强化。在一些实施方式中，全身免疫性的水平、强度或程度可通过确定瘤内Treg与CD45$^+$比率来测

量，且若与治疗前相比，在治疗之后瘤内Treg与$CD45^+$比率减少，则针对复发肿瘤的全身免疫性增加或强化。在一些方面中，此类增加或减少可持续或约3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天或3、4、5、6、7或8周或更长。

[0165] 在一些方面中，全身免疫性的水平、强度或程度可通过CTL活性分析使用脾细胞或外周血细胞或骨髓细胞或淋巴结细胞来测量。在一些实施方式中，在照射对象中的第一肿瘤之后第4天与第28日之间自对象收集细胞。

[0166] 在一些方面中，全身免疫性的水平、强度或程度可通过瘤内T细胞耗竭分析使用自第一肿瘤或转移性肿瘤细胞块或侵袭性肿瘤细胞块收集的T细胞来测量。在一些实施方式中，在照射对象中的第一肿瘤之后第4天与第28日之间自对象收集细胞。

[0167] 在一些方面中，全身免疫性的水平、强度或程度可通过瘤内效应T细胞扩增分析使用自第一肿瘤或转移性肿瘤细胞块或侵袭性肿瘤细胞块收集的T细胞来测量。在一些实施方式中，在照射对象中的第一肿瘤之后第4天与第28日之间自对象收集细胞。

[0168] 在一些方面中，全身免疫性的水平、强度或程度可通过T细胞受体多样性分析使用自第一肿瘤或转移性肿瘤细胞块或侵袭性肿瘤细胞块或周边循环收集的T细胞来测量。在一些实施方式中，在照射对象中的第一肿瘤之后第4天与第28日之间自对象收集细胞。

[0169] 在一些方面中，全身免疫性的水平、强度或程度可通过确定肿瘤中调节T细胞(Treg)的存在、数目或频率，和/或来自第一肿瘤或转移性肿瘤细胞块或侵袭性肿瘤细胞块的瘤内Treg细胞与瘤内CD8+T细胞或瘤内CD4+T细胞的比率来测量。在一些实施方式中，在照射对象中的第一肿瘤之后第4天与第28日之间自对象收集细胞。

[0170] 在一些实施方式中，以上分析中的任一分析可组合使用。

[0171] III.根据本文中的方法使用的组合物

[0172] 在一些方面中，提供组合物及组合，其例如包含包含连接至结合于CD25蛋白的靶向分子，诸如抗体或其抗原结合片段的酞菁染料的偶联物及免疫检查点抑制剂，诸如抗PD-1抗体。在一些方面中，提供用于根据所提供的方法及用途的治疗方法或治疗方案或者制造供治疗癌症或肿瘤用的药剂的组合物及组合。在一些方面中，提供根据所提供的方法及用途使用的组合物及组合。

[0173] 本文所提供的方法及用途采用包括结合于CD25的靶向分子，诸如抗CD25抗体或结合于，诸如特异性结合于CD25的抗原结合片段的偶联物。CD25可在包括CD8+细胞、CD4+FoxP3+调节T细胞、活化B细胞、一些胸腺细胞、骨髓前体细胞及寡树突神经胶质细胞的活化T细胞上表达。CD25还称为白介素2受体α链(IL2RA)、IDDM10、IL2R、TCGFR、p55或IMD41。

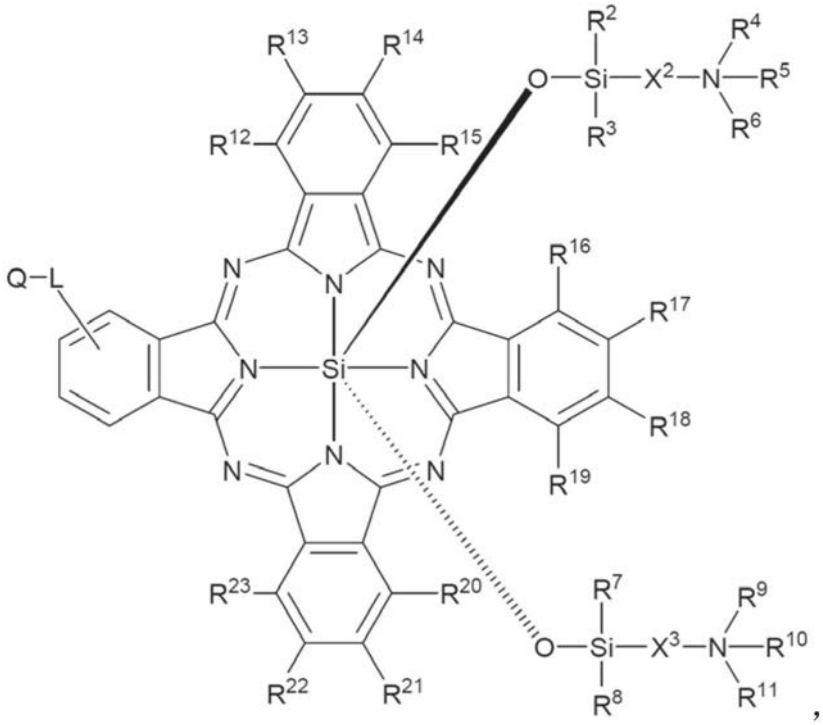
[0174] 在一些实施方式中，靶向分子可为抗CD25抗体，诸如巴利昔单抗(Simulect®)、达利珠单抗、PC61或诸如巴利昔单抗(Simulect®)、达利珠单抗或PC61的抗CD25抗体的抗原结合片段。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CD25抗体为达利珠单抗。在一些实施方式中，抗CD25抗体为包含Fc区的巴利昔单抗。

[0175] 在任何实施方式中的一些实施方式中，靶向分子为抗体或其抗原结合片段或包括抗原结合片段。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗体为抗CD25抗体。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CD25抗体包括功能性Fc区。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CD25抗体包括全长Fc区。在一些实施方式中，抗CD25抗体为抗体片段。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CD25抗体为巴利昔单抗或达利珠单抗，或其生物类似物、可互换物、

生物改良剂、生物复制物或生物仿制物。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CD25抗体为巴利昔单抗。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CD25抗体为包含Fc区的巴利昔单抗。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CD25抗体为包含经工程改造以展现抗体依赖性细胞毒(ADCC)活性或展现增强的ADCC活性的Fc区的巴利昔单抗。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CD25抗体为包含全长Fc区的巴利昔单抗。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CD25抗体为包含经工程改造以展现ADCC活性或展现增强的ADCC活性的Fc区的巴利昔单抗。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CD25抗体为包含不展现ADCC活性或展现减小的ADCC活性的Fc区的巴利昔单抗。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CD25抗体为达利珠单抗。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CD25抗体为包含Fc区的达利珠单抗。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CD25抗体为包含功能性Fc区的达利珠单抗。在任何实施方式中的一些实施方式中，抗CD25抗体为包含全长Fc区的达利珠单抗。在一些实施方式中，靶向分子可为包括抗CD25抗体的“互补决定区”或“CDR”的抗体或抗体片段，诸如任一所述抗体或其抗原结合片段。CDR通常负责结合于抗原的表位。自N端起依序编号，各链的CDR通常称为CDR1、CDR2及CDR3，且一般还由其中定位有特定CDR的链鉴别。因此，重链可变区(VH)CDR3位于发现其的抗体的重链的可变域中，而轻链可变区(VL)CDR1为来自发现其的抗体的轻链的可变域的CDR1。具有不同特异性，诸如不同抗原的不同组合位点的抗体具有不同CDR。尽管抗体与抗体的CDR不同，但仅CDR内有限数量的氨基酸位置直接参与抗原结合。CDR内的此等位置称为特异性决定残基(SDR)。在一些实施方式中，靶向分子包括来自巴利昔单抗(Simulect®)、达利珠单抗或PC61的CDR。在一些实施方式中，靶向分子为巴利昔单抗(Simulect®)。在一些实施方式中，偶联物的抗体为本文所述的任一抗CD25抗体、例如巴利昔单抗(Simulect®)的生物类似物、可互换物或生物改良剂，或其抗原结合片段。此类抗体还包括本文所述的任一抗CD25抗体、例如巴利昔单抗(Simulect®)的生物复制物或生物仿制物，或其抗原结合片段。

[0176] 在本文所提供的方法及用途的一些实施方式中，抗CD25抗体包含功能性Fc区。在本文所提供的方法及用途的一些实施方式中，抗CD25抗体包含全长Fc区。

[0177] 本文所提供的方法及用途中所用的偶联物包括酞菁染料。在本文所提供的方法及用途的一些实施方式中，酞菁染料为具有硅配位金属的酞菁染料(Si-酞菁染料)。在一些实施方式中，酞菁染料包含下式：

[0178]  其中：

[0179] L为接头；

[0180] Q为用于将染料附接于靶向分子的反应性基团；

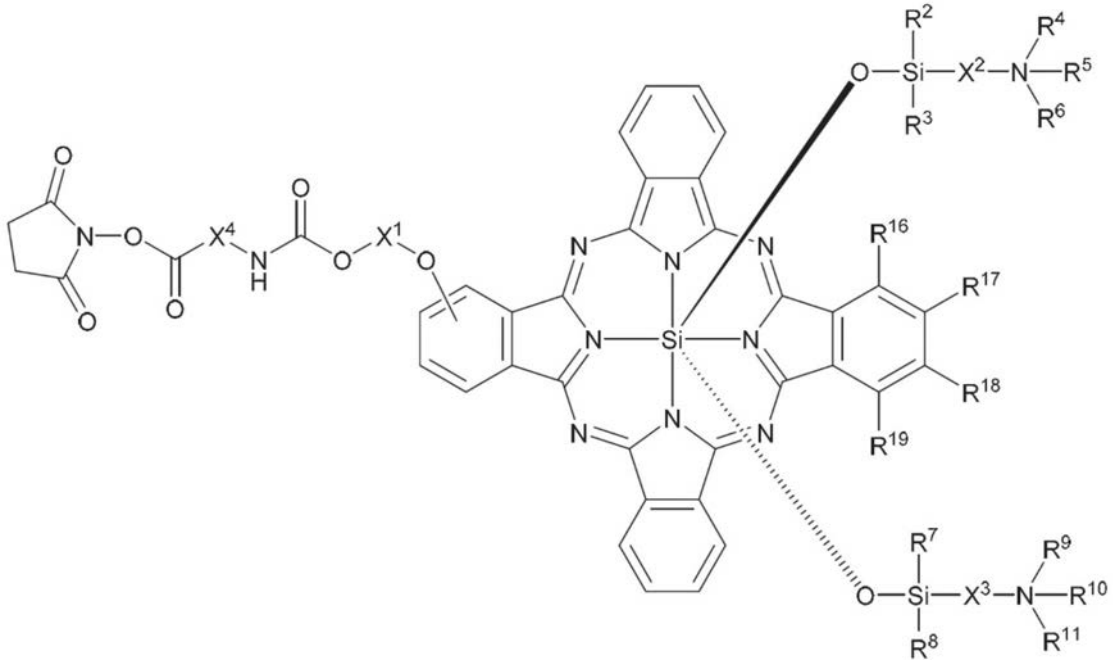
[0181] R^2、R^3、R^7及R^8各自独立地选自任选地经取代的烷基及任选地经取代的芳基；

[0182] R^4、R^5、R^6、R^9、R^{10}及R^{11}各自独立地选自氢、任选地经取代的烷基、任选地经取代的烷酰基、任选地经取代的烷氧羰基、任选地经取代的烷基氨甲酰基及螯合配体，其中R^4、R^5、R^6、R^9、R^{10}及R^{11}中的至少一种包含水溶性基团；

[0183] R^{12}、R^{13}、R^{14}、R^{15}、R^{16}、R^{17}、R^{18}、R^{19}、R^{20}、R^{21}、R^{22}及R^{23}各自独立地选自氢、卤素、任选地经取代的烷硫基、任选地经取代的烷氨基及任选地经取代的烷氧基；以及

[0184] X^2及X^3各自独立地为任选地间插杂原子的C_1-C_{10}亚烷基。

[0185] 在一些实施方式中，酞菁染料包含下式：

[0186] 

,其中：

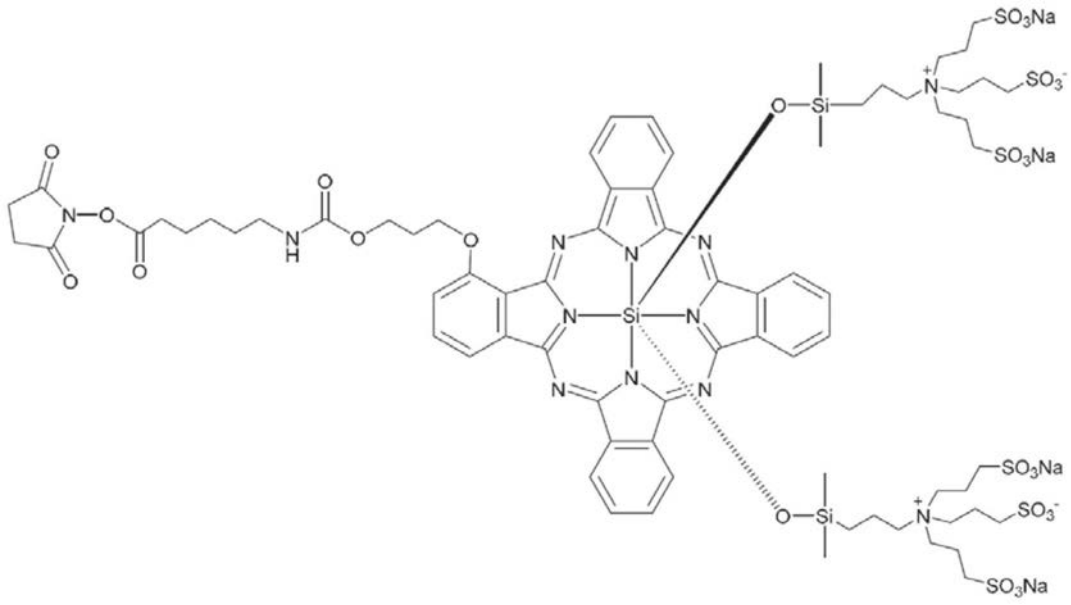
[0187] X^1及X^4各自独立地为任选地间插杂原子的C_1-C_{10}亚烷基；及

[0188] R^2、R^3、R^7及R^8各自独立地选自任选地经取代的烷基及任选地经取代的芳基；

[0189] R^4、R^5、R^6、R^9、R^{10}及R^{11}各自独立地选自氢、任选地经取代的烷基、任选地经取代的烷酰基、任选地经取代的烷氧羰基、任选地经取代的烷基氨甲酰基及螯合配体，其中R^4、R^5、R^6、R^9、R^{10}及R^{11}中的至少一种包含水溶性基团；以及

[0190] R^{16}、R^{17}、R^{18}及R^{19}各自独立地选自氢、卤素、任选地经取代的烷硫基、任选地经取代的烷氨基及任选地经取代的烷氧基。

[0191] 在本文所提供的方法及用途的一些实施方式中，Si-酞菁染料为IRDye 700DX(IR700)。在一些实施方式中，含有反应性基团的酞菁染料为IR700 NHS酯，诸如IRDye 700DX NHS酯(LiC或929-70010、929-70011)。在一些实施方式中，染料为具有下式的化合物：

[0192] 

[0193] 化学式:$C_{74}H_{96}N_{12}Na_4O_{27}S_6Si_3$

[0194] 精确质量:1952.37

[0195] 分子量:1954.22

[0196] IRDye 700DX NHS酯

[0197] 出于本文的目的,当染料例如经由反应性基团诸如与抗体偶联时,术语“IR700”、“IRDye 700”或“IRDye 700DX”包括上式。

[0198] 在一些实施方式中,用于本文所提供的方法及用途的组合物包括包含连接至靶向分子的Si-酞菁染料的偶联物,其中靶向分子结合于CD25。在一些实施方式中,组合物为抗CD25-Si-酞菁染料偶联物。在一些实施方式中,组合物为抗CD25-IR700偶联物。在一些实施方式中,组合物为抗CD25-IR700偶联物,其中抗CD25抗体为巴利昔单抗。在一些实施方式中,组合物为抗CD25-IR700偶联物,其中抗CD25部分为含有功能性Fc区的巴利昔单抗。在一些实施方式中,组合物为抗CD25-IR700偶联物,其中抗CD25部分为含有Fc区,诸如全长Fc区的巴利昔单抗。在一些实施方式中,组合物为抗CD25-IR700偶联物,其中抗CD25抗体为包含Fc区,诸如经工程改造以展现抗体依赖性细胞毒(ADCC)活性或展现增强的ADCC活性的Fc区的巴利昔单抗。在一些实施方式中,组合物为抗CD25-IR700偶联物,其中抗CD25部分为达利珠单抗。

[0199] IV.检查点抑制剂组合疗法

[0200] 本文所提供的方法及用途可包括在给予偶联物之前、同时或之后给予免疫检查点抑制剂。举例而言,方法可包括给予一或多个剂量的免疫检查点抑制剂,给予包含连接至靶向分子的酞菁染料的偶联物,其中靶向分子结合于CD25,且在给予偶联物之后,照射第一肿瘤及任选的一或多个其他肿瘤。方法可包括首先给予包含连接至靶向分子的酞菁染料的偶联物,其中靶向分子结合于CD25,且在给予偶联物之后,照射第一肿瘤及任选的一或多个其他肿瘤,且接着在给予偶联物之后或在照射(例如辐照)步骤之后给予免疫检查点抑制剂。方法还可包括与偶联物给予同时给予免疫检查点抑制剂。

[0201] 在一些实施方式中,免疫检查点抑制剂是选自PD-1抑制剂、PD-L1抑制剂、CTLA-4抑制剂或其组合。在一些实施方式中,免疫检查点抑制剂是选自结合于PD-1的抗体或抗原结合片段、结合于PD-L1的抗体或抗原结合片段或结合于CTLA-4的抗体或抗原结合片段或其组合。

[0202] 在本文所提供的方法及用途的一些实施方式中,免疫检查点抑制剂是抗PD-1抗体。在一些实施方式中,用于方法的抗PD-1抗体包括(但不限于):派姆单抗(MK-3475、KEYTRUDA;拉立珠单抗)、纳武单抗(OPDIVO)、赛咪单抗(LIBTAYO)、特瑞普利单抗(JS001)、HX008、SG001、GLS-010、多斯利单抗(TSR-042)、缇勒珠单抗(BGB-A317)、西利单抗(JNJ-63723283)、皮立珠单抗(CT-011)、杰诺珠单抗(APL-501、GB226)、BCD-100、赛咪单抗(REGN2810)、F520、斯迪利单抗(IBI308)、CS1003、LZM009、坎立珠单抗(SHR-1210)、SCT-I10A、MGA012、AK105、PF-06801591、AMP-224、AB122、AMG 404、BI 754091、HLX10、JTX-4014、AMP-514(MEDI0680)、Sym021、MGD019、MGD013、AK104、XmAb20717、RO7121661、CX-188、斯巴达珠单抗、BCD-217、HX009、IBI308、PDR001、REGN2810、TSR-042(ANB011)及其任何组合。

[0203] 在本文所提供的方法及用途的一些实施方式中,免疫检查点抑制剂为抗PD-L1抗体。可用于本文所提供的方法及用途中的抗PD-L1抗体包括(但不限于)阿特珠单抗

(MPDL3280A、Tecentriq、RG7446)、阿维鲁单抗(BAVENCIO、MSB0010718C;M7824)、德瓦鲁单抗(MEDI4736、IMFINZI)、LDP、NM-01、STI-3031(IMC-001;STI-A1015)、KN035、LY3300054、M7824(MSB0011359C)、BMS-936559、MSB2311、BCD-135、BGB-A333、CBT-502(TQB-2450)、科西贝利单抗(CK-301)、CS1001(WPB3155)、FAZ053、MDX-1105、SHR-1316(HTI-1088)、TG-1501、ZKAB001(STI-A1014)、INBRX-105、MCLA-145、KN046、LY3415244、REGN3504、HLX20及其任何组合。

[0204] 在本文所提供的方法及用途的一些实施方式中,免疫检查点抑制剂为抗CTLA-4抗体。示例性抗CTLA-4抗体为伊派利单抗(YERVOY)、曲美木单抗(替西单抗、CP-675,206)、AGEN1181、AGEN1884、ADU-1064、BCD-145、BCD-217、ADG116、AK104、ATOR-1015、BMS-986218、KN046、MGD019、MK-1308、REGN4659、XmAb20717、XmAb22841及其任何组合。

[0205] 在本文所提供的方法及用途的一些实施方式中,免疫检查点抑制剂是选自结合于PD-1、PD-L1或CTLA-4的抗体或抗原结合片段,且偶联物为抗CD25-IR700偶联物。在本文所提供的方法及用途的一些实施方式中,免疫检查点抑制剂为结合于PD-1的抗体或抗原结合片段,且偶联物为抗CD25-IR700偶联物,其中偶联物的抗CD25部分为或衍生自巴利昔单抗。在本文所提供的方法及用途的一些实施方式中,免疫检查点抑制剂为结合于PD-1的抗体或抗原结合片段且偶联物为抗CD25-IR700偶联物,其中偶联物的抗CD25部分为或衍生自巴利昔单抗,且偶联物的抗体部分包括功能性Fc区。在方法的一些实施方式中,偶联物为抗CD25-IR700偶联物,其中偶联物的抗CD25部分为巴利昔单抗,包括功能性Fc区。在方法的一些实施方式中,偶联物为抗CD25-IR700偶联物,其中偶联物的抗CD25部分为巴利昔单抗,包括功能性Fc区,且抗PD-1抗体为派姆单抗(MK-3475、KEYTRUDA)、纳武单抗(OPDIVO)或赛咪单抗(LIBTAYO)。

[0206] 在本文所提供的方法及用途的一些实施方式中,可在给予抗CD25-IR700偶联物之前、与给予抗CD25-IR700偶联物同时、在给予抗CD25-IR700偶联物之后或其任何组合,向患有癌症的对象给予免疫检查点抑制剂。

[0207] 在本文所提供的方法及用途的一些实施方式中,向对象给予免疫检查点抑制剂一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

[0208] 在一些实施方式中,在给予偶联物之前向对象给予免疫检查点抑制剂一次、两次、三次、四次、五次或超过五次。在一些实施方式中,在给予偶联物之前12小时、24小时、48小时、96小时、一周、两周、三周或四周或约12小时、24小时、48小时、96小时、一周、两周、三周或四周向对象给予免疫检查点抑制剂。在一些实施方式中,在给予偶联物之前不到1-4周或不到1-3周或1-2周向对象给予免疫检查点抑制剂。

[0209] 在一些实施方式中,在给予偶联物之后向对象给予免疫检查点抑制剂一次、两次、三次、四次、五次或超过五次。在一些实施方式中,在给予偶联物之前及在给予偶联物之后向对象给予免疫检查点抑制剂。

[0210] 在本文所提供的方法及用途的一些实施方式中,向对象给予抗CD25偶联物一次或超过一次。在一些实施方式中,向对象给予偶联物一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。在一些实施方式中,在每次给予偶联物之后,诸如在每次给予偶联物之后24小时±4小时内照射第一肿瘤。在一些实施方式中,若残余病灶残留在对象中,诸如第一肿瘤或一或多个其他肿瘤、来自原发性肿瘤、侵袭性癌细胞或转移性肿瘤细胞

的残余细胞或块，则给予偶联物超过一次。在一些实施方式中，若在先前给予偶联物之后超过2周、3周、4周、1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、1年或超过1年的时间残余病灶残留，则重复给与偶联物。

[0211] 在本文所提供的方法及用途的一些实施方式中，给予抗CD25偶联物，诸如抗CD25-IR700偶联物，且方法还包括给予免疫检查点抑制剂，其中双重给予产生增强的效应，诸如额外、累加或协同效应。额外、累加或协同效应是指超过单独单一疗法(还即，向对象仅给予偶联物、仅给予偶联物接着照射或仅给予检查点抑制剂)的效应的效应。举例而言，抗CD25-IR700偶联物的给予及检查点抑制剂，诸如抗PD-1抗体的给予产生的效应大于仅给予抗CD25-IR700偶联物或仅给予检查点抑制剂时或仅给予抗CD25 IR700偶联物接着照射时的效应。在一些方面中，所提供的方法及用途产生额外、累加或协同抗肿瘤反应；举例而言，与仅给予偶联物、仅给予偶联物接着照射和/或仅给予抗PD-1抗体相比，对象中第一肿瘤中的一或两种的生长和/或体积、尺寸或质量增加及继发性群体中的细胞数目在更大程度或范围上得到抑制。在所提供的方法或用途的一些方面中，与仅给予偶联物接着照射相比及与仅给予抗PD-1抗体相比，对象中第一肿瘤中的一或两种的生长和/或体积、尺寸或质量增加及继发性群体的体积、尺寸或细胞数目受到更大程度抑制。在一些实施方式中，抑制包括以下各项中的一种或多种：肿瘤体积、肿瘤尺寸或肿瘤块增加小于20％；肿瘤体积、尺寸或块未变化(还即，肿瘤生长或进展停止)；或肿瘤体积、肿瘤尺寸或肿瘤块减小，或肿瘤细胞数目减少。在一些实施方式中，抑制包括以下各项中的一种或多种：肿瘤细胞数目增加小于20％。在一些实施方式中，方法产生增强的反应，诸如更完全的反应、更持久的反应或更持续的反应。

[0212] 在一些实施方式中，方法对第一肿瘤产生增强的效应，诸如额外效应、累加效应或协同效应，包括以下各项中的一种或多种：抑制、减少或消除肿瘤生长，减小肿瘤体积、尺寸或块，或具有完全反应的对象数目增加，及其任何组合。在一些实施方式中，方法对侵袭性肿瘤细胞产生增强的效应，诸如额外效应、累加效应或协同效应，包括以下各项中的一种或多种：抑制、减少或消除肿瘤细胞生长，减少侵袭性肿瘤细胞的数目或体积、尺寸或块，及其任何组合，包括与对一或多个照射肿瘤，诸如第一肿瘤的效应组合。在一些实施方式中，方法对转移性肿瘤细胞产生增强的效应，诸如额外效应、累加效应或协同效应，包括以下各项中的一种或多种：抑制、减少或消除转移性肿瘤细胞生长，减少转移性肿瘤细胞的数目或体积、尺寸或块，及其任何组合，包括与对一或多个照射肿瘤的效应组合。在一些实施方式中，在直接暴露于照射(还即，用所选光波长照射或辐照)的肿瘤上实现协同效应。在一些实施方式中，诸如在照射第一肿瘤的情况下，在未照射的肿瘤细胞上实现增强的效应，且在未照射的转移性肿瘤细胞或侵袭性肿瘤细胞，诸如未照射的定位在照射肿瘤远端的转移性肿瘤细胞或侵袭性肿瘤细胞上实现协同效应。

[0213] 在一些实施方式中，方法对增加或强化全身免疫性产生协同效应。在一些实施方式中，方法对如本文所述或已知的全身免疫性的量度中的任一种，诸如本文中第II部分中所述的那些量度产生协同效应，所述量度例如瘤内$CD8^+$T淋巴细胞的数目、$CD8^+$T淋巴细胞与调节T细胞(Treg)的比率、瘤内T淋巴细胞耗竭(例如表达PD-1和/或CTLA4标记物的$CD3^+CD8^+$细胞的百分比)、瘤内活化$CD8^+$T淋巴细胞的数目或百分比(例如作为$CD45^+$细胞的百分比的Ki67+或$CD69^+$CD8细胞)、细胞毒性瘤内T淋巴细胞的扩增(例如不表达PD-1和/或CTLA4标记

物的$CD3^+CD8^+$细胞的百分比)，基于脾细胞针对肿瘤细胞的细胞毒性或其任何或所有组合。在一些方面中，瘤内$CD8^+$T淋巴细胞包括$CD3^+CD8^+$细胞，瘤内耗竭T淋巴细胞包括$PD\text{-}1^+CTLA\text{-}4^+CD3^+CD8^+$细胞，活化瘤内CD8+T淋巴细胞包括$CD3^+CD8^+Ki67^+$和/或$CD3^+CD8^+CD69^+$细胞，细胞毒性T淋巴细胞的扩增包括$PD\text{-}1^-CTLA\text{-}4^-CD3^+CD8^+$细胞。

[0214] 在一些实施方式中，方法包括给予抗CD25-IR700偶联物及免疫检查点抑制剂以实现协同效应。在一些实施方式中，方法包括给予抗CD25-IR700偶联物及抗PD-1抗体以实现增强的效应，诸如协同效应或累加效应。在一些实施方式中，抗CD25-IR700偶联物包含具有功能Fc区的巴利昔单抗且免疫检查点抑制剂为抗PD-1抗体，诸如纳武单抗，且增强的效应，诸如额外、累加或协同效应体现在照射肿瘤中肿瘤生长减少、肿瘤体积减小、肿瘤尺寸减小、肿瘤块减小或完全反应，和/或肿瘤细胞的继发性群体(诸如侵袭性肿瘤细胞或转移性肿瘤细胞)中未照射肿瘤细胞的生长、数目、体积、尺寸或块减小。在一些实施方式中，给予抗CD25-IR700偶联物及照射减少瘤内Treg的数目和/或增加瘤内CD8+与Treg比率或瘤内CD4+与Treg比率。在一些实施方式中，与抗PD-1抗体组合治疗可产生减少瘤内Treg的数目和/或增加瘤内CD8+与Treg比率或瘤内CD4+与Treg比率的协同效应。

[0215] V.额外治疗剂

[0216] 在一些方面中，所提供的方法及用途涉及给予另一种治疗剂或抗癌治疗。在一些方面中，额外治疗剂为免疫调节剂。在一些方面中，额外治疗剂为抗癌治疗。

[0217] 在一些实施方式中，免疫调节剂为细胞因子。在一些实施方式中，免疫调节剂为细胞因子或为诱导肿瘤微环境中细胞因子的表达增加的药剂。在一些方面中，“细胞因子”是指由一种细胞群体释放而作为细胞间介体作用于另一细胞的蛋白质的通用术语。此类细胞激素的实例为淋巴激素、单核球激素及传统多肽激素。细胞因子当中包括生长激素，诸如人类生长激素、N-甲硫氨酰基人类生长激素及牛生长激素；副甲状腺激素；甲状腺素；胰岛素；胰岛素原；松弛素；松弛素原(prorelaxin)；糖蛋白激素，诸如激滤泡素(FSH)、促甲状腺激素(TSH)及促黄体素(LH)；肝生长因子(HGF)；纤维母细胞生长因子(FGF)；促乳素；胎盘催乳激素；肿瘤坏死因子-α及肿瘤坏死因子-β；苗勒氏管抑制性物质(mullerian-inhibiting substance)；小鼠促性腺激素相关肽；抑制素；活化素；血管内皮生长因子；整合素；血小板生成素(TPO)；神经生长因子，诸如NGF-β；血小板生长因子；转型生长因子(TGF)，诸如TGF-α及TGF-β；胰岛素样生长因子-I及胰岛素样生长因子-II；红血球生成素(EPO)；骨性诱导因子；干扰素，诸如干扰素-α、干扰素-β及干扰素-γ；群落刺激因子(CSF)，诸如巨噬细胞-CSF(M-CSF)；颗粒球-巨噬细胞-CSF(GM-CSF)；及颗粒球-CSF(G-CSF)；白介素(IL)，诸如IL-1、IL-1α、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12；IL-15，肿瘤坏死因子，诸如TNF-α或TNF-β；及其他多肽因子，包括LIF及kit配体(KL)。如本文中所用，术语细胞因子包括来自天然源或来自重组细胞培养的蛋白质及天然序列细胞因子的生物学上活性等效物。举例而言，免疫调节剂为细胞因子且细胞因子为IL-4、TNF-α、GM-CSF或IL-2。

[0218] 在一些实施方式中，免疫调节剂选自以下：GM-CSF、CpG寡脱氧核苷酸(CpG-ODN)、脂多糖(LPS)、单磷酰基脂质A(MPL)、矾、重组利什曼原虫聚合蛋白质、咪喹莫特、MF59、聚I:C、聚A:U、1型IFN、Pam3Cys、Pam2Cys、完全弗氏佐剂(CFA)、α-半乳糖苷基神经酰胺、RC-529、MDF2P、洛索立宾(Loxoribine)、抗CD40激动剂、SIRPa拮抗剂、AS04、AS03、鞭毛蛋白、雷西莫特、二胺庚二酸(DAP)、胞壁酰二肽(MDP)及阳离子佐剂调配物-01(CAF01)。在一些实施方式

中，免疫调节剂为Toll样受体(TLR)激动剂、佐剂或细胞因子。在一些实施方式中，免疫调节剂为TLR激动剂且TLR激动剂为TLR激动剂，为TLR4激动剂、TLR7激动剂、TLR8激动剂或TLR9激动剂。在一些实施方式中，TLR激动剂选自以下：三酰化脂蛋白、二酰化脂肽、脂磷壁酸、肽聚糖、酵母聚糖、Pam3CSK4、dsRNA、聚LC、聚G10、聚G3、CpG、3M003、鞭毛蛋白、脂多糖(LPS)真核核糖体延伸及起始因子4a的利什曼原虫同源物(LeIF)、MED 19197、SD-101及咪唑并喹啉TLR激动剂。

[0219] 在一些实施方式中，免疫调节剂可含有一或多种白介素或其他细胞因子。举例而言，白介素可包括白细胞介素注射剂(Multikine)，其为天然细胞因子的组合。

[0220] 在一些实施方式中，免疫调节剂为Toll样受体(TLR)激动剂。在一些实施方式中，此类激动剂可包括TLR4激动剂、TLR8激动剂或TLR9激动剂。此类激动剂可选自肽聚糖、聚LC、CpG、3M003、鞭毛蛋白及真核核糖体伸长及起始因子4a的利什曼原虫同源物(LeIF)。

[0221] 在一些实施方式中，免疫调节剂可为增强肿瘤细胞的免疫原性的药剂，所述药剂诸如帕土匹龙(patupilone)(埃坡霉素B(epothilone B))、靶向表皮生长因子受体(EGFR)的单克隆抗体7A7.27、组蛋白去乙酰基酶抑制剂(例如伏立诺他(vorinostat)、罗米地辛(romidepsin)、帕比司他(panobinostat)、贝林诺他(belinostat)及恩替诺特(entinostat))、n3-多不饱和脂肪酸二十二碳六烯酸、蛋白酶体抑制剂(例如硼替佐米(bortezomib))、紫草醌(shikonin)(紫草(Lithospermum erythrorhizon)根部主要成分)及溶瘤病毒，诸如TVec(塔利拉帕(talimogene laherparepvec))。在一些实施方式中，免疫调节剂活化癌症或肿瘤的免疫原性细胞死亡，诸如蒽环霉素(antrhacyclin)(阿霉素(阿霉素)、米托蒽醌(mitoxantron))、BK通道激动剂、硼替佐米(bortezomib)、硼替佐米加丝裂霉素C(mitocycin C)加hTERT-Ad、强心苷加非ICD诱导剂、环磷酰胺(cyclophosphamide)、GADD34/PP1抑制剂加丝裂霉素、LV-tSMAC及奥沙利铂(oxaliplatin)。在一些实施方式中，免疫调节剂可为表观遗传疗法，诸如DNA甲基转移酶抑制剂(例如地西他滨(Decitabine)，5-氮杂-2′-脱氧胞苷)。

[0222] 举例而言，在一些实施方式中，免疫调节剂可为DNA甲基转移酶抑制剂，其可调节肿瘤相关抗原(TAA)的表达。TAA为触发免疫反应的在肿瘤细胞中产生的抗原物质。TAA通常由肿瘤中的DNA甲基化下调以逃脱免疫系统。DNA甲基化的逆转恢复TAA表达，增加肿瘤细胞的免疫原性。举例而言，诸如地西他滨(5-氮杂-2′-脱氧胞苷)的去甲基化剂可上调肿瘤细胞中的TAA的表达且增加癌细胞的免疫识别。光免疫疗法将通过破坏细胞而进一步使TAA暴露于免疫系统。

[0223] 在一些实施方式中，额外治疗剂为抗癌治疗中使用的药剂或化合物，诸如抗癌剂。此等治疗剂包括可缓解、减少、改善、预防与肿瘤及癌症相关的临床症状或诊断标记物或处于或维持缓和状态的任何药剂，且可用于本文所提供的组合及组合物中。在一些实施方式中，抗癌剂为治疗作用一般与抗癌剂穿透或递送至肿瘤微环境或肿瘤空间中相关的一种抗癌剂。在一些实施方式中，抗癌剂为烷基化剂、铂药物、抗代谢物、抗肿瘤抗生素、拓朴异构酶抑制剂、有丝分裂抑制剂、皮质类固醇、蛋白酶体抑制剂、激酶抑制剂、组蛋白-脱乙酰基酶抑制剂或抗体或其抗原结合抗体片段。在一些实施方式中，抗癌剂为肽、蛋白质或小分子药物。

[0224] 在一些实施方式中，抗癌剂为5-氟尿嘧啶(5-Fluorouracil)/亚叶酸、奥沙利铂、

伊立替康(irinotecan)、瑞戈非尼(regorafenib)、兹弗-阿柏西普(ziv-afibercept)、卡培他滨(capecitabine)、顺铂、太平洋紫杉醇(paclitaxel)、拓朴替康(toptecan)、卡铂、吉西他滨(gemcitabine)、多烯紫杉醇(docetaxel)、5-FU、异环磷酰胺、丝裂霉素、培美曲塞(pemetrexed)、长春瑞滨(vinorelbine)、卡莫司汀药片(carmustine wager)、替莫唑胺(temozolomide)、甲胺喋呤、卡培他滨(capacitabine)、拉帕替尼(lapatinib)、依托泊苷(etoposide)、达拉非尼(dabrafenib)、维罗非尼(vemurafenib)、脂质体阿糖胞苷、阿糖胞苷、干扰素α、埃罗替尼(erlotinib)、长春新碱(vincristine)、环磷酰胺、洛莫司汀(lomusine)、丙卡巴肼(procarbazine)、舒尼替尼(sunitinib)、生长抑素(somastostatin)、阿霉素(doxorubicin)、聚乙二醇化脂质体囊封阿霉素、表柔比星(epirubicin)、艾日布尔(eribulin)、白蛋白结合太平洋紫杉醇、伊沙匹隆(ixabepilone)、可曲恶唑(cotrimoxazole)、紫杉烷(taxane)、长春碱(vinblastine)、坦罗莫司(temsirolimus)、替莫唑胺、苯达莫司汀(bendamustine)、口服依托泊苷、依维莫司(everolimus)、奥曲肽(octreotide)、兰瑞肽(lanredtide)、达卡巴嗪(dacarbazine)、美司钠(mesna)、帕佐泮尼(pazopanib)、艾日布尔(eribulin)、伊马替尼(imatinib)、瑞戈非尼、索拉非尼(sorafenib)、尼罗替尼(nilotinib)、达沙替尼(dasantinib)、塞内昔布(celecoxib)、他莫昔芬(tamoxifen)、托瑞米芬(toremifene)、放线菌素D(dactinomycin)、西罗莫司(sirolimus)、克唑替尼(crizotinib)、赛尔替尼(certinib)、恩杂鲁胺(enzalutamide)、乙酸阿比特龙(abiraterone acetate)、米托蒽醌、卡巴他赛(cabazitaxel)、氟嘧啶(fluoropyrimidine)、奥沙利铂、甲酰四氢叶酸、阿法替尼(afatinib)、色瑞替尼(ceritinib)、吉非替尼(gefitinib)、卡博替尼(cabozantinib)、奥沙利铂(oxoliplatin)或奥洛拉嘧啶(auroropyrimidine)。

[0225] 在一些实施方式中,抗癌剂为烷基化剂。烷基化剂为通过与核酸形成共价键且抑制DNA合成而直接破坏DNA的化合物。示例性烷基化剂包括(但不限于)甲氮芥、环磷酰胺、异环磷酰胺、美法仑(melphalan)、苯丁酸氮芥、白消安(busulfan)及噻替派(thiotepa)以及亚硝基脲烷基化剂,诸如卡莫司汀及洛莫司汀。

[0226] 在一些实施方式中,抗癌剂为抗体或抗原结合抗体片段。

[0227] 在一些实施方式中,抗癌剂为铂药物。铂药物结合至DNA且引起DNA的交联,最终触发细胞凋亡。例示性铂药物包括但不限于顺铂、卡铂、奥沙利铂、赛特铂(satraplatin)、吡铂(picoplatin)、奈达铂(nedaplatin)、特瑞铂(triplatin)及利普铂(lipoplatin)。

[0228] 在一些实施方式中,抗癌剂为抗代谢物。抗代谢物通过取代RNA及DNA的正常构筑嵌段而干扰DNA及RNA生长。当细胞的染色体被复制时,此等试剂在S期期间损伤细胞。在一些情况下,抗代谢物可用于治疗白血病、乳癌、卵巢癌及肠道癌以及其他类型的癌症。示例性抗代谢物包括但不限于5-氟尿嘧啶(5-FU)、6-巯基嘌呤(6-MP)、卡培他滨(Xeloda®)、阿糖胞苷(Ara-C®)、氟尿苷、氟达拉宾(fludarabine)、吉西他滨(Gemzar®)、羟基脲、甲胺喋呤及培美曲塞(Alimta®)。

[0229] 在一些实施方式中,抗癌剂为抗肿瘤抗生素。抗肿瘤抗生素通过改变癌细胞内部的DNA以阻止其生长及倍增来起作用。蒽环霉素为干扰涉及DNA复制的酶的抗肿瘤抗生素。此等药物一般在细胞周期的所有阶段中起作用。其可广泛用于多种癌症。示例性蒽环霉素

包括但不限于道诺霉素(daunorubicin)、阿霉素、表柔比星及埃达霉素(idarubicin)。其他抗肿瘤抗生素包括放线菌素D、博莱霉素(bleomycin)、丝裂霉素C及米托蒽醌。

[0230] 在一些实施方式中,抗癌剂为拓朴异构酶抑制剂。此等药物干扰称为拓朴异构酶的酶,所述酶帮助分离DNA的链,使得DNA的链可在S期期间复制。拓朴异构酶抑制剂可用于治疗某些白血病,以及肺癌、卵巢癌、胃肠癌及其他癌症。示例性拓朴异构酶抑制剂包括但不限于阿霉素、拓朴替康、伊立替康(CPT-11)、依托泊苷(VP-16)、替尼泊苷(teniposide)及米托蒽醌。

[0231] 在一些实施方式中,抗癌剂为有丝分裂抑制剂。有丝分裂抑制剂通常为植物碱及源自天然植物产物的其他化合物。其通过停止细胞周期的M期中的有丝分裂而起作用,但在一些情况下,可通过阻止酶产生细胞繁殖所需的蛋白质而损伤所有阶段中的细胞。示例性有丝分裂抑制剂包括但不限于太平洋紫杉醇(Taxol®)、多烯紫杉醇(Taxotere®)、伊沙匹隆(Ixempra®)、长春碱(Velban®)、长春新碱(Oncovin®)、长春瑞宾(vinorelbine,Navelbine®)及雌莫司汀(estramustine,Emcyt®)。

[0232] 在一些实施方式中,抗癌剂为皮质类固醇。通常简称为类固醇的皮质类固醇为适用于治疗许多类型癌症的天然激素及激素样药物。皮质类固醇还可在化学疗法之前用于帮助预防过敏性反应以及在化学疗法期间及之后用于帮助预防恶心及呕吐。示例性皮质类固醇包括但不限于泼尼松(prednisone)、甲基泼尼松龙(methylprednisolone)(Solumedrol®)及地塞米松(dexamethasone)(Decadron®)。

[0233] 在一些实施方式中,抗癌剂为另一种类型的化学疗法药物,诸如蛋白酶体抑制剂、激酶抑制剂或组蛋白-脱乙酰基酶抑制剂。在其他实施方式中,抗癌剂为生物制剂,诸如用于癌症疗法的抗体。

[0234] VI.与方法及组合物一起使用的装置

[0235] 在一些方面中,可与本文中的方法及组合物一起使用的装置包括提供在适用于染料偶联物组合物,诸如酞菁染料偶联物(例如抗CD25-IR700偶联物,诸如本文所述的偶联物)的光波长的波长下照射的光漫射装置。照射装置可包括光源(例如激光),及传送光至所关注区域的构件(例如,照射对象的分离区域或分离病灶或肿瘤的一或多个纤维)。

[0236] 在本文所提供的方法及用途的一些实施方式中,照射使用包括0.5cm至10cm的漫射器长度且相隔1.8±0.2cm的圆柱形漫射纤维进行。在一些实施方式中,光照射剂量为20J/cm纤维长度或约20J/cm纤维长度至约500J/cm纤维长度。在一些实施方式中,病灶为间质性肿瘤的肿瘤且使用圆柱形漫射纤维进行照射。在一些实施方式中,肿瘤深度大于10mm或为皮下肿瘤。

[0237] 在一些实施方式中,所提供的方法包括用包括0.5cm至10cm的漫射器长度且相隔1.8±0.2cm的圆柱形漫射纤维以100J/cm纤维长度或约100J/cm纤维长度的光剂量或以400mW/cm或约400mW/cm的通量率照射对象中之间质性肿瘤。在一些实施方式中,肿瘤深度大于10mm或为皮下肿瘤。在一些实施方式中,圆柱形漫射纤维置于位于肿瘤中的导管中,相隔1.8±0.2cm。在一些实施方式中,导管为光学透明的。

[0238] 在一些实施方式中,病灶为浅表性肿瘤的肿瘤。在一些实施方式中,肿瘤的厚度小于10mm。在一些实施方式中,使用用于表面照射的顶端为微透镜的纤维进行照射。在一些实

施方式中，光照射剂量为或约为5J/cm^{2}至约200J/cm^2。

[0239] 在一些实施方式中，所提供的方法包括用用于表面照射的顶端为微透镜的纤维以为或约为5J/cm^{2}至约200J/cm^{2}的光剂量照射对象中浅表性肿瘤。在一些实施方式中，光照射剂量为或为约50J/cm^2。

[0240] 在一些实施方式中，照射(在本文中还称为照射)采用具有“顶帽”辐照分布概况的装置，诸如WO2018/080952及US20180239074中所述的装置。

[0241] VII.定义

[0242] 除非另有定义，否则本文所用的所有技术术语、表示法及其他技术及科学术语具有与本领域普通技术人员通常所理解相同的含义。在一些情况下，出于清楚起见和/或方便参考，在本文中定义具有通常所理解含义的术语，且本文中包括此类定义不应必然解释为表示与此项技术中通常所理解存在实质性差异。

[0243] 如本文所用，除非上下文以另外方式明确指明，否则单数形式“一种(a/an)”及“该”包括复数个参考物。举例而言，“一(a/an)”表示“至少一个/种”或“一或多个/种”。应理解，本文所述的方面及变化形式包括“由方面及变化形式组成”和/或“基本上由方面及变化形式组成”。

[0244] 在通篇本发明中，所要求的主题的各种方面均以范围形式呈现。应理解，范围形式的描述仅为方便及简洁起见，且不应理解为对所要求的主题的范围的僵硬限制。因此，范围的描述应视为特定地公开的所有可能子范围以及该范围内的个别数值。举例而言，在提供值范围的情况下，应理解，该范围的上限与下限之间的各中间值及该所陈述范围内的任何其他所陈述值或中间值均涵盖于所要求的主题内。此等较小范围的上限及下限可独立地包括于较小范围内且还涵盖于所要求的主题内，在所陈述范围内受到任何特定排他性限制。在所陈述的范围包括一个或两个限制的情况下，排除那些所包括的限值中的任一种或两种的范围还包括于所要求的主题中。不管范围的宽度如何，此均适用。

[0245] 如本文所用，术语“约”是指本领域技术人员易于知晓的各别值的常见误差范围。本文中提及“约”某一值或参数包括(且描述)针对该值或参数本身的实施方式。举例而言，涉及“约X”的描述包括“X”的描述。

[0246] 如本文所用，“偶联物”是指直接或间接地连接至光活化染料的靶向分子，诸如通过化学偶联物产生的偶联物及通过任何其他方法产生的偶联物。举例而言，偶联物可指直接或间接地连接至一或多个靶向分子，诸如结合于或靶向细胞表面蛋白的多肽的酞菁染料，诸如IR700分子。靶向分子可为多肽、超过一种多肽、抗体或化学部分。

[0247] 如本文所用，“抗CD25偶联物”是指具有结合于CD25的靶向分子的偶联物。抗CD25偶联物具有的靶向分子为抗体、抗原结合片段或结合于CD25的其他部分。

[0248] “单克隆抗体”为通过B淋巴细胞的单一克隆或通过其中已转染单一抗体的轻链及重链基因的细胞产生的抗体。单克隆抗体通过本领域技术人员已知的方法产生，例如通过自骨髓瘤细胞与免疫脾细胞的融合物制造形成杂交抗体的细胞。单克隆抗体包括人源化单克隆抗体。

[0249] “特异性结合”是指相对于结合于不相关蛋白质，诸如非肿瘤蛋白质，例如β-肌动蛋白，个别抗体能够与抗原，诸如肿瘤特异性抗原特异性免疫反应。举例而言，CD25特异性结合剂实质上在体外或体内仅结合CD25蛋白。如本文所用，术语“肿瘤特异性结合剂”包括

肿瘤特异性抗体及实质上仅结合至该制剂中的肿瘤特异性蛋白的其他药剂。

[0250] “抗体-IR700分子”或“抗体-IR700偶联物”是指包括偶联至IR700的抗体，诸如肿瘤特异性抗体的分子。在一些实施方式中，抗体为特异性结合于癌细胞上的表面蛋白质的人源化抗体(诸如人源化单克隆抗体)。

[0251] “抗原”是指可刺激动物中抗体或T细胞反应产生的化合物、组合物或物质，包括经注射或吸收至动物中的组合物(诸如包括肿瘤特异性蛋白质的组合物)。抗原与特定体液或细胞免疫性的产物反应，包括通过异源抗原，诸如所公开的抗原诱发的产物。“表位”或“抗原决定子”是指B细胞和/或T细胞起反应的抗原区域。在一个实施方式中，当表位结合MHC分子呈递时T细胞对表位起反应。表位可由邻接氨基酸或因蛋白质的三级折叠而毗邻的非邻接氨基酸形成。由邻接氨基酸形成的表位通常在暴露于变性溶剂后保留，而通过三级折叠形成的表位在变性溶剂处理后通常消失。在独特空间构形中，表位通常包括至少3个且更通常至少5个、约9个或约8-10个氨基酸。测定表位的空间构象的方法包括例如x射线结晶学及核磁共振。

[0252] 抗原的实例包括(但不限于)含有抗原决定子的肽、脂质、多糖及核酸，诸如由免疫细胞识别的那些肽、脂质、多糖及核酸。在一些实施方式中，抗原包括肿瘤特异性肽(诸如癌细胞表面上所发现的肽)或其免疫原性片段。

[0253] “免疫检查点抑制剂”是指阻断由一些类型免疫系统细胞，诸如T细胞及一些癌细胞制造的某些蛋白质的一种类型药物。此等蛋白质帮助保持检查免疫反应且可保持T细胞杀死癌细胞。当此等蛋白质封闭时，免疫系统上的“制动器(brake)”释放且T细胞能够更佳地杀死癌细胞。在T细胞或癌细胞上发现的检查点蛋白质的实例包括PD-1/PD-L1及CTLA-4/B7-1/B7-2。一些免疫检查点抑制剂用于治疗癌症。

[0254] 如本文所用，组合是指两个或更多个项目之间或当中的任何结合。组合可为两个或更多个分开的项目，诸如两个组合物或两个集合，可为其混合物，诸如两个或更多个项目的单一混合物或其任何变化形式。组合的要素一般在功能上相关联或有关。

[0255] 如本文所用，“组合疗法”是指其中给与对象两种或更多种治疗剂(诸如至少两种或至少三种治疗剂)以治疗单一疾病的治疗。在一些实施方式中，各疗法可产生独立的医药作用，且在一起可产生累加或协同的医药作用。

[0256] 如本文所用，“治疗”患有疾病或病状的对象表示在治疗之后对象的症状部分或完全缓解或保持静态。因此治疗涵盖预防、疗法和/或治愈。预防是指预防可能疾病和/或防止症状恶化或疾病进展。

[0257] 如本文所用，“治疗”表示改善或以其他方式有益地改变病状、病症或疾病或其他适应症的症状的任何方式。

[0258] 如本文所用，“治疗作用”表示由对象治疗产生的改变、通常改进或改善疾病或病状的症状或治愈疾病或病状的作用。

[0259] 如本文所用，“治疗有效量”或“治疗有效剂量”是指药剂、化合物、材料或含有化合物的组合物至少足以产生治疗作用时的量。因此，其为预防、治愈、改善、阻止或部分阻止疾病或病症的症状时所需的量。

[0260] 如本文所用，通过治疗，诸如通过给予医药组合物或其他治疗剂改善特定疾病或病症的症状是指可归因于组合物或治疗剂的给予或与其相关的任何症状减轻，不论永久性

或暂时性、持续或短暂。

[0261] 如本文所用，术语“对象”是指动物，包括哺乳动物，诸如人类。

[0262] 如本文所用，“任选的(optional)”或“任选地(optionally)”表示随后描述的事件或情形可能发生或不发生，且该描述包括该事件或情形发生的情况及事件或情形未发生的情况。举例而言，任选地经取代的基团表示该基团未经取代或经取代。

[0263] 本申请中所提及的所有公开文本，包括专利文件、科学论文及数据库，出于所有目的均以全文引用的方式纳入本文中，其引用的程度如同各个别公开文本以引用的方式个别地纳入一般。若本文所阐述的定义与以引用方式纳入本文中的专利、申请、公开申请及其他公开文本中所述的定义相反或另外不一致，则以本文所阐述的定义为准，而非以以引用方式纳入本文中的定义为准。

[0264] 本文所使用的部分标题仅出于组织目的，且不应理解为限制所描述的主题。

[0265] VIII.示例性实施方式

[0266] 本文所提供的实施方式为：

[0267] 1.一种用于治疗癌症的方法，其包含：

[0268] (a)向患有包含原发性肿瘤及转移性肿瘤细胞的癌症的对象给予包含连接至靶向分子的酞菁染料的偶联物，其中该靶向分子结合于CD25，

[0269] (b)向该对象给予免疫检查点抑制剂，及

[0270] (c)在给予该偶联物之后，在600nm或约600nm至850nm或约850nm的波长下，及以25J/cm^2或约25J/cm^2至400J/cm^2或约400J/cm^2或2J/cm纤维长度或约2J/cm纤维长度至500J/cm纤维长度或约500J/cm纤维长度的剂量照射该原发性肿瘤，

[0271] 其中该对象中的该原发性肿瘤及转移性肿瘤细胞中的一或两种的生长和/或体积增加受到抑制。

[0272] 2.实施方式1的方法，其中不直接照射所述转移性肿瘤细胞。

[0273] 3.实施方式1或2的方法，其中所述转移性肿瘤细胞包含于实体肿瘤中。

[0274] 4.实施方式1至3中任一项的方法，其中与仅给予该偶联物及该免疫检查点抑制剂中的一种相比，该原发性肿瘤、所述转移性肿瘤细胞或两者的生长抑制是协同的。

[0275] 5.实施方式1至4中任一项的方法，其中该对象展现完全反应。

[0276] 6.实施方式1至5中任一项的方法，其中该靶向分子为抗体或其抗原结合片段或包含抗原结合片段。

[0277] 7.实施方式6的方法，其中抗体为抗CD25抗体。

[0278] 8.实施方式7的方法，其中该抗CD25抗体包含功能性Fc区。

[0279] 9.实施方式7或8的方法，其中该抗CD25抗体为巴利昔单抗或达利珠单抗，或其生物类似物、可互换物、生物改良剂、生物复制物或生物仿制物。

[0280] 10.实施方式7至9中任一项的方法，其中该抗CD25抗体为巴利昔单抗。

[0281] 11.实施方式1至10中任一项的方法，其中该免疫检查点抑制剂是选自由以下组成的组：PD-1抑制剂、PD-L1抑制剂或CTLA-4抑制剂。

[0282] 12.实施方式1至11中任一项的方法，其中该免疫检查点抑制剂为或包含抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或抗CTLA-4抗体或其抗原结合片段。

[0283] 13.实施方式12的方法，其中该免疫检查点抑制剂为或包含抗PD-1抗体或其抗原

结合片段。

[0284] 14.实施方式12或13的方法，其中该抗PD-1抗体是选自由以下组成的组：派姆单抗(MK-3475、KEYTRUDA)、纳武单抗(OPDIVO)、赛咪单抗(LIBTAYO)、特瑞普利单抗(JS001)、HX008、SG001、GLS-010、多斯利单抗(TSR-042)、缇勒珠单抗(BGB-A317)、西利单抗(JNJ-63723283)、皮立珠单抗(CT-011)、杰诺珠单抗(APL-501、GB226)、BCD-100、赛咪单抗(REGN2810)、F520、斯迪利单抗(IBI308)、GLS-010、CS1003、LZM009、坎立珠单抗(SHR-1210)、SCT-I10A、MGA012、AK105、PF-06801591、AMP-224、AB122、AMG 404、BI 754091、HLX10、JTX-4014、MEDI0680、Sym021、MGD019、MGD013、AK 104、XmAb20717、RO7121661、CX-188及斯巴达珠单抗。

[0285] 15.实施方式12的方法，其中该抗PD-L1抗体是选自由以下组成的组：阿特珠单抗(MPDL3280A，Tecentriq)、阿维鲁单抗(BAVENCIO)、德瓦鲁单抗(MEDI4736、IMFINZI)、LDP、NM-01、STI-3031、KN035、LY3300054、M7824(MSB0011359C)、BMS-936559、MSB2311、BCD-135、BGB-A333、CBT-502、科西贝利单抗(CK-301)、CS1001、FAZ053、MDX-1105、SHR-1316、TG-1501、ZKAB001、INBRX-105、MCLA-145、KN046、LY3415244、REGN3504及HLX20。

[0286] 16.实施方式12的方法，其中该抗CTLA-4抗体是选自由以下组成的组：伊派利单抗(YERVOY)、曲美木单抗、AGEN1181、AGEN1884、ADU-1064、BCD-145及BCD-217。

[0287] 17.实施方式1至16中任一项的方法，其中在给予该免疫检查点抑制剂之前、与给予该免疫检查点抑制剂同时或在给予该免疫检查点抑制剂之后向该对象给予该偶联物。

[0288] 18.实施方式1至17中任一项的方法，其中向该对象给予该免疫检查点抑制剂一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

[0289] 19.实施方式1至18中任一项的方法，其中在给予该偶联物之前给予该免疫检查点抑制剂一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次或10次，随后，接着在给予该偶联物之后向该对象给予该免疫检查点抑制剂零次、一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

[0290] 20.实施方式1至18中任一项的方法，其中该免疫检查点抑制剂与给予该偶联物同时给予，随后，接着在给予该偶联物之后向该对象给予该免疫检查点抑制剂零次、一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

[0291] 21.实施方式1至18中任一项的方法，其中在向该对象给予偶联物之后给予该免疫检查点抑制剂一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

[0292] 22.实施方式1至21中任一项的方法，其中酞菁染料为Si-酞菁染料。

[0293] 23.实施方式22的方法，其中Si-酞菁染料为IR700。

[0294] 24.实施方式1至23中任一项的方法，其中照射是在给予该偶联物之后30分钟与96小时之间进行。

[0295] 25.实施方式1至24中任一项的方法，其中照射是在给予该偶联物之后24小时±4小时进行。

[0296] 26.实施方式1至25中任一项的方法，其中在690±40nm的波长下照射该原发性肿瘤。

[0297] 27.实施方式1至26中任一项的方法，其中以50J/cm^2或100J/cm纤维长度或约50J/cm^2或100J/cm纤维长度的剂量照射该原发性肿瘤。

[0298] 28.实施方式1至27中任一项的方法，其中重复步骤(a)、(b)或(c)中的一或多个。

[0299] 29.实施方式1至28中任一项的方法，其进一步包含(d)给予额外治疗剂或抗癌治疗。

[0300] 30.实施方式1至29中任一项的方法，其中该癌症是选自由以下组成的组：结肠癌、结直肠癌、胰腺癌、乳癌、皮肤癌、肺癌、非小细胞肺癌、肾细胞癌、甲状腺癌、前列腺癌、头颈癌、胃肠癌、胃癌、小肠癌、梭状细胞赘瘤、肝癌瘤、肝癌、周边神经癌、脑癌、骨胳肌癌、平滑肌癌、骨癌、脂肪组织癌、子宫颈癌、子宫癌、生殖器癌、淋巴瘤及多发性骨髓瘤。

[0301] 31.实施方式1至30中任一项的方法，其中该转移性肿瘤细胞位于一个、两个、三个或超过三个与该原发性肿瘤所位于的组织或器官不同的组织或器官。

[0302] 32.一种用于治疗癌症的方法，其包括：

[0303] (1)向患有包含原发性肿瘤及侵袭性肿瘤细胞的癌症的对象给予包含连接至靶向分子的酞菁染料的偶联物，其中该靶向分子结合于CD25，

[0304] (2)向该对象给予免疫检查点抑制剂，及

[0305] (3)在给予该偶联物之后，在600nm或约600nm至850nm或约850nm的波长下及以25J/cm^2或约25J/cm^2至400J/cm^2或约400J/cm^2或2J/cm纤维长度或约2J/cm纤维长度至500J/cm纤维长度或约500J/cm纤维长度的剂量照射该原发性肿瘤，

[0306] 其中该对象中的该原发性肿瘤及侵袭性肿瘤细胞中的一或两种的生长和/或体积增加得到抑制。

[0307] 33.实施方式32的方法，其中不直接照射该侵袭性肿瘤细胞。

[0308] 34.实施方式32或33的方法，其中该侵袭性肿瘤细胞包含于实体肿瘤中。

[0309] 35.实施方式32至34中任一项的方法，其中与仅给予该偶联物及该免疫检查点抑制剂中的一种相比，该原发性肿瘤、该侵袭性肿瘤细胞或两者的生长抑制是协同的。

[0310] 36.实施方式32至35中任一项的方法，其中该对象展现完全反应。

[0311] 37.实施方式32至36中任一项的方法，其中该靶向分子为抗体或其抗原结合片段或包含抗原结合片段。

[0312] 38.实施方式37的方法，其中该抗体为抗CD25抗体。

[0313] 39.实施方式38的方法，其中该抗CD25抗体包含功能性Fc区。

[0314] 40.实施方式38或39的方法，其中该抗CD25抗体为巴利昔单抗或达利珠单抗，或其生物类似物、可互换物、生物改良剂、生物复制物或生物仿制物。

[0315] 41.实施方式38至40中任一项的方法，其中该抗CD25抗体为巴利昔单抗。

[0316] 42.实施方式32至41中任一项的方法，其中该免疫检查点抑制剂是选自由以下组成的组：PD-1抑制剂、PD-L1抑制剂或CTLA-4抑制剂。

[0317] 43.实施方式32至42中任一项的方法，其中该免疫检查点抑制剂为或包含抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或抗CTLA-4抗体或其抗原结合片段。

[0318] 44.实施方式43的方法，其中该免疫检查点抑制剂为或包含抗PD-1抗体或其抗原结合片段。

[0319] 45.实施方式43或44的方法，其中该抗PD-1抗体是选自由以下组成的组：派姆单抗(MK-3475、KEYTRUDA)、纳武单抗(OPDIVO)、赛咪单抗(LIBTAYO)、特瑞普利单抗(JS001)、HX008、SG001、GLS-010、多斯利单抗(TSR-042)、缇勒珠单抗(BGB-A317)、西利单抗(JNJ-

63723283)、皮立珠单抗(CT-011)、杰诺珠单抗(APL-501、GB226)、BCD-100、赛咪单抗(REGN2810)、F520、斯迪利单抗(IBI308)、GLS-010、CS1003、LZM009、坎立珠单抗(SHR-1210)、SCT-I10A、MGA012、AK105、PF-06801591、AMP-224、AB122、AMG 404、BI 754091、HLX10、JTX-4014、MEDI0680、Sym021、MGD019、MGD013、AK104、XmAb20717、RO7121661、CX-188及斯巴达珠单抗。

[0320] 46.实施方式43的方法,其中该抗PD-L1抗体是选自由以下组成的组:阿特珠单抗(MPDL3280A,Tecentriq)、阿维鲁单抗(BAVENCIO)、德瓦鲁单抗(MEDI4736、IMFINZI)、LDP、NM-01、STI-3031、KN035、LY3300054、M7824(MSB0011359C)、BMS-936559、MSB2311、BCD-135、BGB-A333、CBT-502、科西贝利单抗(CK-301)、CS1001、FAZ053、MDX-1105、SHR-1316、TG-1501、ZKAB001、INRRX-105、MCLA-145、KN046、LY3415244、REGN3504及HLX20。

[0321] 47.实施方式43的方法,其中该抗CTLA-4抗体是选自由以下组成的组:伊派利单抗(YERVOY)、曲美木单抗、AGEN1181、AGEN1884、ADU-1064、BCD-145及BCD-217。

[0322] 48.实施方式32至47中任一项的方法,其中在给予该免疫检查点抑制剂之前、与给予该免疫检查点抑制剂同时或在给予该免疫检查点抑制剂之后向该对象给予该偶联物。

[0323] 49.实施方式32至48中任一项的方法,其中向该对象给予该免疫检查点抑制剂一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

[0324] 50.实施方式32至49中任一项的方法,其中在给予该偶联物之前给予该免疫检查点抑制剂一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次或10次,随后,接着在给予该偶联物之后向该对象给予该免疫检查点抑制剂零次、一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

[0325] 51.实施方式32至49中任一项的方法,其中该免疫检查点抑制剂与给予该偶联物同时给予,随后,接着在给予该偶联物之后向该对象给予该免疫检查点抑制剂零次、一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

[0326] 52.实施方式32至49中任一项的方法,其中在向该对象给予该偶联物之后给予该免疫检查点抑制剂一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

[0327] 53.实施方式32至52中任一项的方法,其中酞菁染料为Si-酞菁染料。

[0328] 54.实施方式53的方法,其中Si-酞菁染料为IR700。

[0329] 55.实施方式32至54中任一项的方法,其中照射是在给予该偶联物之后30分钟与96小时之间进行。

[0330] 56.实施方式32至55中任一项的方法,其中照射是在给予该偶联物之后24小时±4小时进行。

[0331] 57.实施方式32至56中任一项的方法,其中在690±40nm的波长下照射该原发性肿瘤。

[0332] 58.实施方式32至57中任一项的方法,其中以50J/cm^2或100J/cm纤维长度或约50J/cm^2或100J/cm纤维长度的剂量照射该原发性肿瘤。

[0333] 59.实施方式32至58中任一项的方法,其中重复步骤(1)、(2)或(3)中的一或多个。

[0334] 60.实施方式32至59中任一项的方法,其中其进一步包含(4)给予额外治疗剂或抗癌治疗。

[0335] 61.实施方式32至60中任一项的方法,其中该癌症是选自由以下组成的组:结肠

癌、结直肠癌、胰腺癌、乳癌、皮肤癌、肺癌、非小细胞肺癌、肾细胞癌、甲状腺癌、前列腺癌、头颈癌、胃肠癌、胃癌、小肠癌、梭状细胞赘瘤、肝癌瘤、肝癌、周边神经癌、脑癌、骨胳肌癌、平滑肌癌、骨癌、脂肪组织癌、子宫颈癌、子宫癌、生殖器癌、淋巴瘤及多发性骨髓瘤。

[0336] 62.一种用于增强具有肿瘤的对象中的全身免疫性的方法,该方法包括:

[0337] (a)向具有肿瘤的对象给予包含连接至抗CD25抗体的酞菁染料的偶联物,

[0338] (b)向该对象给予免疫检查点抑制剂,及

[0339] (c)在给予该偶联物之后,在600nm或约600nm至850nm或约850nm的波长下及以25J/cm^2或约25J/cm^2至400J/cm^2或约400J/cm^2或2J/cm纤维长度或约2J/cm纤维长度至500J/cm纤维长度或约500J/cm纤维长度的剂量照射该肿瘤,

[0340] 其中与给予该偶联物及该免疫检查点抑制剂之前该对象的全身免疫性相比该对象的全身免疫性得到增强。

[0341] 63.实施方式62的方法,其中全身免疫性通过以下中的一种或多种测量:细胞毒性T淋巴细胞(CTL)活性分析、瘤内T细胞耗竭分析、瘤内效应T细胞扩增分析或T细胞受体多样性分析。

[0342] 64.实施方式62或63的方法,其中:

[0343] 该肿瘤包含原发性肿瘤及转移性肿瘤细胞,且其中照射该原发性肿瘤且不直接照射该转移性肿瘤细胞;或

[0344] 该肿瘤包含原发性肿瘤及侵袭性肿瘤细胞,且其中照射该原发性肿瘤且不直接照射该侵袭性肿瘤细胞。

[0345] 65.实施方式62至64中任一项的方法,其中全身免疫性通过CTL活性分析,使用任选地在照射该对象中的该原发性肿瘤之后第4天与第28天之间自该对象收集的脾细胞或外周血细胞或骨髓细胞或淋巴结细胞测量。

[0346] 66.实施方式62至64中任一项的方法,其中全身免疫性通过瘤内T细胞耗竭分析,使用自该原发性肿瘤或转移性肿瘤细胞块或侵袭性肿瘤细胞块收集的T细胞,任选地在照射该对象中的该原发性肿瘤之后第4天与第28天之间自该对象收集的T细胞测量。

[0347] 67.实施方式62至64中任一项的方法,其中全身免疫性通过瘤内效应T细胞扩增分析,使用自该原发性肿瘤或转移性肿瘤细胞块或侵袭性肿瘤细胞块收集的T细胞,任选地在照射该对象中的该原发性肿瘤之后第4天与第28天之间自该对象收集的T细胞测量。

[0348] 68.实施方式62至64中任一项的方法,其中全身免疫性通过T细胞受体多样性分析,使用自该原发性肿瘤或转移性肿瘤细胞块或侵袭性肿瘤细胞块或周边循环收集的T细胞,任选地在照射该对象中的该原发性肿瘤之后第4天与第28天之间自该对象收集的T细胞测量。

[0349] 69.实施方式62至64中任一项的方法,其中全身免疫性是任选地在照射该对象中的该原发性肿瘤之后第4天与第28天之间自该对象收集的原发性肿瘤或转移性肿瘤细胞块或侵袭性肿瘤细胞块,通过确定该肿瘤中调节T细胞(Treg)的存在、数目或频率和/或瘤内Treg细胞与瘤内CD8+T细胞或瘤内CD4+T细胞的比率来测量。

[0350] 70.实施方式62至69中任一项的方法,其中该抗CD25抗体包含功能性Fc区。

[0351] 71.实施方式62至70中任一项的方法,其中该抗CD25抗体为巴利昔单抗或达利珠单抗,或其生物类似物、可互换物、生物改良剂、生物复制物或生物仿制物。

[0352] 72.实施方式62至71中任一项的方法，其中该抗CD25抗体为巴利昔单抗。

[0353] 73.实施方式62至72中任一项的方法，其中该免疫检查点抑制剂为或包含抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或抗CTLA-4抗体或其抗原结合片段。

[0354] 74.实施方式73的方法，其中该免疫检查点抑制剂为或包含抗PD-1抗体或其抗原结合片段。

[0355] 75.实施方式73或74的方法，其中该抗PD-1抗体是选自由以下组成的组：派姆单抗(MK-3475、KEYTRUDA)、纳武单抗(OPDIVO)、赛咪单抗(LIBTAYO)、特瑞普利单抗(JS001)、HX008、SG001、GLS-010、多斯利单抗(TSR-042)、缇勒珠单抗(BGB-A317)、西利单抗(JNJ-63723283)、皮立珠单抗(CT-011)、杰诺珠单抗(APL-501、GB226)、BCD-100、赛咪单抗(REGN2810)、F520、斯迪利单抗(IBI308)、GLS-010、CS1003、LZM009、坎立珠单抗(SHR-1210)、SCT-I10A、MGA012、AK105、PF-06801591、AMP-224、AB122、AMG 404、BI 754091、HLX10、JTX-4014、MEDI0680、Sym021、MGD019、MGD013、AK104、XmAb20717、RO7121661、CX-188及斯巴达珠单抗。

[0356] 76.实施方式73的方法，其中该抗PD-L1抗体是选自由以下组成的组：阿特珠单抗(MPDL3280A，Tecentriq)、阿维鲁单抗(BAVENCIO)、德瓦鲁单抗(MEDI4736、IMFINZI)、LDP、NM-01、STI-3031、KN035、LY3300054、M7824(MSB0011359C)、BMS-936559、MSB2311、B CD-135、BGB-A333、CBT-502、科西贝利单抗(CK-301)、CS1001、FAZ053、MDX-1105、SHR-1316、TG-1501、ZKAB001、INBRX-105、MCLA-145、KN046、LY3415244、REGN3504及HLX20。

[0357] 77.实施方式73的方法，其中该抗CTLA-4抗体是选自由以下组成的组：伊派利单抗(YERVOY)、曲美木单抗、AGEN1181、AGEN1884、ADU-1064、BCD-145及BCD-217。

[0358] 78.实施方式62至77中任一项的方法，其中在给予该免疫检查点抑制剂之前、与给予该免疫检查点抑制剂同时或在给予该免疫检查点抑制剂之后向对象给予偶联物。

[0359] 79.实施方式62至78中任一项的方法，其中向该对象给予该免疫检查点抑制剂一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

[0360] 80.实施方式62至79中任一项的方法，其中酞菁染料为Si-酞菁染料。

[0361] 81.实施方式80的方法，其中Si-酞菁染料为IR700。

[0362] 82.实施方式62至81中任一项的方法，其中照射是在给予该偶联物及该免疫检查点抑制剂之后30分钟与96小时之间进行。

[0363] 83.实施方式62至82中任一项的方法，其中照射是在给予该偶联物及该免疫检查点抑制剂之后24小时±4小时进行。

[0364] 84.实施方式62至83中任一项的方法，其中在690±40nm的波长下照射该肿瘤。

[0365] 85.实施方式62至84中任一项的方法，其中以50J/cm^2或100J/cm纤维长度或约50J/cm^2或100J/cm纤维长度的剂量照射该肿瘤。

[0366] 86.实施方式62至85中任一项的方法，其中重复步骤(a)、(b)、(c)或(d)中的一或多个。

[0367] 87.实施方式62至86中任一项的方法，其中该肿瘤是选自由以下组成的组：结肠癌、结直肠癌、胰腺癌、乳癌、皮肤癌、肺癌、非小细胞肺癌、肾细胞癌、甲状腺癌、前列腺癌、头颈癌、胃肠癌、胃癌、小肠癌、梭状细胞赘瘤、肝癌瘤、肝癌、周边神经癌、脑癌、骨胳肌癌、平滑肌癌、骨癌、脂肪组织癌、子宫颈癌、子宫癌、生殖器癌、淋巴瘤及多发性骨髓瘤。

[0368] 88.一种用于在对象中产生协同反应的方法,其包括:

[0369] (1)向患有包含原发性肿瘤的癌症的对象给予包含连接至靶向分子的酞菁染料的偶联物,其中该靶向分子结合于CD25,

[0370] (2)向该对象给予免疫检查点抑制剂,及

[0371] (3)在给予该偶联物之后,在600nm或约600nm至850nm或约850nm的波长下及以25J/cm^2或约25J/cm^2至400J/cm^2或约400J/cm^2或2J/cm纤维长度或约2J/cm纤维长度至500J/cm纤维长度或约500J/cm纤维长度的剂量照射该原发性肿瘤,

[0372] 其中与仅给予该偶联物或仅给予该免疫检查点抑制剂相比,该原发性肿瘤的生长和/或体积增加协同减少。

[0373] 89.实施方式88的方法,其中该癌症进一步包含转移性肿瘤细胞,且其中与仅给予该偶联物或仅给予该免疫检查点抑制剂相比,该转移性肿瘤细胞的生长和/或体积增加减少。

[0374] 90.实施方式89的方法,其中该转移性肿瘤细胞的生长或体积增加的减少是协同的。

[0375] 91.实施方式88的方法,其中该癌症进一步包含侵袭性肿瘤细胞,且其中与仅给予该偶联物或仅给予该免疫检查点抑制剂相比,该侵袭性肿瘤细胞的生长和/或体积增加减少。

[0376] 92.实施方式91的方法,其中该侵袭性肿瘤细胞的生长或体积增加的减少是协同的。

[0377] 93.实施方式88至84中任一项的方法,其中该靶向分子为抗体或其抗原结合片段或包含抗原结合片段。

[0378] 94.实施方式88至93中任一项的方法,其中抗体为抗CD25抗体。

[0379] 95.实施方式94的方法,其中该抗CD25抗体包含功能性Fc区。

[0380] 96.实施方式88至95中任一项的方法,其中该抗CD25抗体为巴利昔单抗或达利珠单抗,或其生物类似物、可互换物、生物改良剂、生物复制物或生物仿制物。

[0381] 97.实施方式88至96中任一项的方法,其中该抗CD25抗体为巴利昔单抗。

[0382] 98.实施方式88至97中任一项的方法,其中该免疫检查点抑制剂是选自由以下组成的组:PD-1抑制剂、PD-L1抑制剂或CTLA-4抑制剂。

[0383] 99.实施方式88至98中任一项的方法,其中该免疫检查点抑制剂为或包含抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或抗CTLA-4抗体或其抗原结合片段。

[0384] 100.实施方式99的方法,其中该免疫检查点抑制剂为或包含抗PD-1抗体或其抗原结合片段。

[0385] 101.实施方式99或100的方法,其中该抗PD-1抗体是选自由以下组成的组:派姆单抗(MK-3475、KEYTRUDA)、纳武单抗(OPDIVO)、赛咪单抗(LIBTAYO)、特瑞普利单抗(JS001)、HX008、SG001、GLS-010、多斯利单抗(TSR-042)、缇勒珠单抗(BGB-A317)、西利单抗(JNJ-63723283)、皮立珠单抗(CT-011)、杰诺珠单抗(APL-501、GB226)、BCD-100、赛咪单抗(REGN2810)、F520、斯迪利单抗(IBI308)、GLS-010、CS1003、LZM009、坎立珠单抗(SHR-1210)、SCT-I10A、MGA012、AK105、PF-06801591、AMP-224、AB122、AMG 404、BI 754091、HLX10、JTX-4014、MEDI0680、Sym021、MGD019、MGD013、AK104、XmAb20717、RO7121661、CX-188

及斯巴达珠单抗。

[0386] 102.实施方式99的方法，其中该抗PD-L1抗体是选自由以下组成的组：阿特珠单抗(MPDL3280A，Tecentriq)、阿维鲁单抗(BAVENCIO)、德瓦鲁单抗(MEDI4736、IMFINZI)、LDP、NM-01、STI-3031、KN035、LY3300054、M7824(MSB0011359C)、BMS-936559、MSB2311、BCD-135、BGB-A333、CBT-502、科西贝利单抗(CK-301)、CS1001、FAZ053、MDX-1105、SHR-1316、TG-1501、ZKAB001、INBRX-105、MCLA-145、KN046、LY3415244、REGN3504及HLX20。

[0387] 103.实施方式99的方法，其中该抗CTLA-4抗体是选自由以下组成的组：伊派利单抗(YERVOY)、曲美木单抗、AGEN1181、AGEN1884、ADU-1064、BCD-145及BCD-217。

[0388] 104.实施方式90的方法，其中在给予免疫检查点抑制剂之前、与给予免疫检查点抑制剂同时或在给予免疫检查点抑制剂之后向对象给予偶联物。

[0389] 105.实施方式88至104中任一项的方法，其中向对象给予免疫检查点抑制剂一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

[0390] 106.实施方式88至105中任一项的方法，其中在给予该偶联物之前给予该免疫检查点抑制剂一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次或10次，随后，接着在给予该偶联物之后向该对象给予该免疫检查点抑制剂零次、一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

[0391] 107.实施方式88至105中任一项的方法，其中该免疫检查点抑制剂与给予该偶联物同时给予，随后，接着在给予该偶联物之后向该对象给予该免疫检查点抑制剂零次、一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

[0392] 108.实施方式88至105中任一项的方法，其中在向对象给予偶联物之后给予免疫检查点抑制剂一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

[0393] 109.实施方式88至108中任一项的方法，其中酞菁染料为Si-酞菁染料。

[0394] 110.实施方式109的方法，其中Si-酞菁染料为IR700。

[0395] 111.实施方式88至110中任一项的方法，其中照射是在给予偶联物之后30分钟与96小时之间进行。

[0396] 112.实施方式88至111中任一项的方法，其中照射是在给予偶联物之后24小时±4小时进行。

[0397] 113.实施方式88至112中任一项的方法，其中在690±40nm的波长下照射该原发性肿瘤。

[0398] 114.实施方式88至113中任一项的方法，其中以50J/cm^2或100J/cm纤维长度或约50J/cm^2或100J/cm纤维长度的剂量照射该原发性肿瘤。

[0399] 115.实施方式88至114中任一项的方法，其中重复步骤(1)、(2)及(3)中的一或多个。

[0400] 116.实施方式88至115中任一项的方法，其进一步包含(4)给予额外治疗剂或抗癌治疗。

[0401] 117.实施方式88至116中任一项的方法，其中该癌症是选自由以下组成的组：结肠癌、结直肠癌、胰腺癌、乳癌、皮肤癌、肺癌、非小细胞肺癌、肾细胞癌、甲状腺癌、前列腺癌、头颈癌、胃肠癌、胃癌、小肠癌、梭状细胞赘瘤、肝癌瘤、肝癌、周边神经癌、脑癌、骨胳肌癌、平滑肌癌、骨癌、脂肪组织癌、子宫颈癌、子宫癌、生殖器癌、淋巴瘤及多发性骨髓瘤。

[0402] 118.实施方式89至117中任一项的方法，其中该转移性肿瘤细胞位于一个、两个、三个或超过三个与该原发性肿瘤所位于的组织或器官不同的组织或器官。

[0403] 119.一种用于治疗癌症的方法，其包含：

[0404] (a)向患有包含第一肿瘤及肿瘤细胞的继发性群体的癌症的对象给予免疫检查点抑制剂；

[0405] (b)向该对象给予包含连接至抗CD25抗体的酞菁染料的偶联物；以及

[0406] (c)在给予该偶联物之后，在600nm或约600nm至850nm或约850nm的波长下及以25J/cm^2或约25J/cm^2至400J/cm^2或约400J/cm^2或2J/cm纤维长度或约2J/cm纤维长度至500J/cm纤维长度或约500J/cm纤维长度的剂量照射该第一肿瘤。

[0407] 120.实施方式119的方法，其中与仅给予偶联物、仅给予偶联物接着照射或仅给予免疫检查点抑制剂相比，该第一肿瘤和/或该继发性群体受到更大程度抑制。

[0408] 121.实施方式119或120的方法，其中该免疫检查点抑制剂是选自由以下组成的组：PD-1抑制剂、PD-L1抑制剂或CTLA-4抑制剂。

[0409] 122.实施方式119至121中任一项的方法，其中该免疫检查点抑制剂为或包含抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或抗CTLA-4抗体或其抗原结合片段。

[0410] 123.实施方式122的方法，其中该免疫检查点抑制剂为或包含抗PD-1抗体或其抗原结合片段。

[0411] 124.一种用于治疗癌症的方法，其包含：

[0412] (a)向患有包含第一肿瘤及肿瘤细胞的继发性群体的癌症的对象给予抗PD-1抗体；

[0413] (b)向该对象给予包含连接至抗CD25抗体的酞菁染料的偶联物；以及

[0414] (c)在给予该偶联物之后，在600nm或约600nm至850nm或约850nm的波长下及以25J/cm^2或约25J/cm^2至400J/cm^2或约400J/cm^2或2J/cm纤维长度或约2J/cm纤维长度至500J/cm纤维长度或约500J/cm纤维长度的剂量照射该第一肿瘤，其中不直接照射该继发性群体；

[0415] 其中与仅给予该偶联物、仅给予该偶联物接着照射或仅给予该抗PD-1抗体相比，该第一肿瘤和/或该继发性群体受到更大程度抑制。

[0416] 125.实施方式119至124中任一项的方法，其中抑制包含以下各项中的一种或多种：肿瘤体积、肿瘤尺寸或肿瘤块的增加小于20％或小于约20％，或肿瘤体积、肿瘤尺寸或肿瘤块减小，或肿瘤细胞数目减小。

[0417] 126.实施方式125的方法，其中肿瘤体积、肿瘤尺寸或肿瘤块或者肿瘤细胞数目的减小包含减小30％或约30％或更多。

[0418] 127.实施方式119至126中任一项的方法，其中该继发性群体包含转移性肿瘤细胞。

[0419] 128.实施方式119至126中任一项的方法，其中该继发性群体包含侵袭性肿瘤细胞。

[0420] 129.实施方式119至128中任一项的方法，其中该继发性群体包含转移性肿瘤细胞及侵袭性肿瘤细胞。

[0421] 130.实施方式119至129中任一项的方法，其中该免疫检查点抑制剂与该偶联物同

时给予该对象。

[0422] 131.实施方式119至130中任一项的方法，其中该免疫检查点抑制剂在给予该偶联物24至48小时内向该对象给予。

[0423] 132.实施方式119至131中任一项的方法，其中该免疫检查点抑制剂在给予该偶联物24小时±4小时内向该对象给予。

[0424] 133.实施方式119至132中任一项的方法，其中在给予该偶联物之前给予第一剂量的该免疫检查点抑制剂。

[0425] 134.实施方式133的方法，其中在给予该偶联物之前至少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、1周、2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周或10周给予该第一剂量的该免疫检查点抑制剂。

[0426] 135.实施方式119至134中任一项的方法，其中向对象给予该免疫检查点抑制剂一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

[0427] 136.实施方式119至135中任一项的方法，其中在给予该偶联物之前给予免疫检查点抑制剂一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次或10次，随后，接着在给予该偶联物之后向该对象给予该免疫检查点抑制剂零次、一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

[0428] 137.实施方式119至135中任一项的方法，其中该免疫检查点抑制剂与给予该偶联物同时给予，随后，接着在给予该偶联物之后向该对象给予该免疫检查点抑制剂零次、一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

[0429] 138.实施方式119至135中任一项的方法，其中在向对象给予该偶联物之后给予该免疫检查点抑制剂一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

[0430] 139.实施方式122至129中任一项的方法，其中该抗PD-1抗体与该偶联物同时向该对象给予。

[0431] 140.实施方式122至130中任一项的方法，其中该抗PD-1抗体在给予该偶联物24至48小时内向该对象给予。

[0432] 141.实施方式122至131中任一项的方法，其中该抗PD-1抗体在给予该偶联物24小时±4小时内向该对象给予。

[0433] 142.实施方式122至132中任一项的方法，其中在给予该偶联物之前给予第一剂量的该抗PD-1抗体。

[0434] 143.实施方式142的方法，其中在给予该偶联物之前至少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、1周、2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周或10周给予该第一剂量的该抗PD-1抗体。

[0435] 144.实施方式122至143中任一项的方法，其中向该对象给予该抗PD-1抗体一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

[0436] 145.实施方式122至144中任一项的方法，其中在给予偶联物之前给予抗PD-1抗体一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次或10次，随后，接着在给予该偶联物之后向对象给予该抗PD-1抗体零次、一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

[0437] 146.实施方式122至144中任一项的方法，其中该抗PD-1抗体与给予该偶联物同时

给予，随后，接着在给予该偶联物之后向该对象给予该抗PD-1抗体零次、一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

[0438] 147.实施方式122至144中任一项的方法，其中在向该对象给予该偶联物之后给予该抗PD-1抗体一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

[0439] 148.实施方式119至147中任一项的方法，其中该继发性群体包含于实体肿瘤中。

[0440] 149.实施方式119至148中任一项的方法，其中该对象展现完全反应。

[0441] 150.实施方式119至149中任一项的方法，其中该抗CD25抗体包含功能性Fc区。

[0442] 151.实施方式119至150中任一项的方法，其中该抗CD25抗体为巴利昔单抗或达利珠单抗，或其生物类似物、可互换物、生物改良剂、生物复制物或生物仿制物。

[0443] 152.实施方式151的方法，其中该抗CD25抗体为巴利昔单抗。

[0444] 153.实施方式122至152中任一项的方法，其中该抗PD-1抗体是选自由以下组成的组：派姆单抗(MK-3475、KEYTRUDA；拉立珠单抗)、纳武单抗(OPDIVO)、赛咪单抗(LIBTAYO)、特瑞普利单抗(JS001)、HX008、SG001、GLS-010、多斯利单抗(TSR-042)、缇勒珠单抗(BGB-A317)、西利单抗(JNJ-63723283)、皮立珠单抗(CT-011)、杰诺珠单抗(APL-501、GB226)、BCD-100、赛咪单抗(REGN2810)、F520、斯迪利单抗(IBI308)、CS1003、LZM009、坎立珠单抗(SHR-1210)、SCT-I10A、MGA012、AK105、PF-06801591、AMP-224、AB122、AMG 404、BI 754091、HLX10、JTX-4014、AMP-514(MEDI0680)、Sym021、MGD019、MGD013、AK104、XmAb20717、RO7121661、CX-188、斯巴达珠单抗、BCD-217、HX009、IBI308、PDR001、REGN2810及TSR-042(ANB011)。

[0445] 154.实施方式119至153中任一项的方法，其中酞菁染料为Si-酞菁染料。

[0446] 155.实施方式154的方法，其中Si-酞菁染料为IR700。

[0447] 156.实施方式119至155中任一项的方法，其中照射是在给予该偶联物之后30分钟与96小时之间进行。

[0448] 157.实施方式156的方法，其中照射是在给予该偶联物之后24小时±4小时进行。

[0449] 158.实施方式119至157中任一项的方法，其中在690±40nm的波长下照射该第一肿瘤。

[0450] 159.实施方式119至158中任一项的方法，其中以50J cm^{-2}或100J/cm纤维长度或约50J cm^{-2}或100J/cm纤维长度的剂量照射该第一肿瘤。

[0451] 160.实施方式119至159中任一项的方法，其进一步包含(d)给予额外治疗剂或抗癌治疗。

[0452] 161.实施方式119至160中任一项的方法，其中重复步骤(a)、(b)、(c)或(d)中的一或多个。

[0453] 162.实施方式119至161中任一项的方法，其中该癌症是选自由以下组成的组：结肠癌、结直肠癌、胰腺癌、乳癌、皮肤癌、肺癌、非小细胞肺癌、肾细胞癌、甲状腺癌、前列腺癌、头颈癌、胃肠癌、胃癌、小肠癌、梭状细胞赘瘤、肝癌瘤、肝癌、周边神经癌、脑癌、骨胳肌癌、平滑肌癌、骨癌、脂肪组织癌、子宫颈癌、子宫癌、生殖器癌、淋巴瘤及多发性骨髓瘤。

[0454] 163.实施方式119至162中任一项的方法，其中该继发性群体位于一个、两个、三个或超过三个与该第一肿瘤所位于的组织或器官不同的组织或器官。

[0455] 164.实施方式119至163中任一项的方法，其中与仅给予该偶联物接着照射相比及

与仅给予该免疫检查点抑制剂相比，该第一肿瘤和/或该继发性群体受到更大程度抑制。

[0456] 165.实施方式122至164中任一项的方法，其中与仅给予该偶联物接着照射相比及与仅给予该抗PD-1抗体相比，该第一肿瘤和/或该继发性群体受到更大程度抑制。

[0457] 166.一种用于在患有癌症的对象中产生增强的反应的方法，其包含：

[0458] (a)向患有包含肿瘤的癌症的对象给予免疫检查点抑制剂；

[0459] (b)向该对象给予包含连接至抗CD25抗体的酞菁染料的偶联物，其中在该偶联物之前或同时给予该免疫检查点抑制剂；以及

[0460] (c)在给予该偶联物之后，在600nm或约600nm至850nm或约850nm的波长下及以25J/cm^2或约25J/cm^2至400J/cm^2或约400J/cm^2或2J/cm纤维长度或约2J/cm纤维长度至500J/cm纤维长度或约500J/cm纤维长度的剂量照射该肿瘤。

[0461] 167.实施方式166的方法，其中：

[0462] 该增强的反应包含与给予该偶联物接着照射及给予该免疫检查点抑制剂之前该对象的全身免疫性相比，该对象的全身免疫性增强；和/或

[0463] 该增强的反应包含与仅给予该偶联物、仅给予该偶联物接着照射或仅给予该免疫检查点抑制剂相比，该肿瘤的抑制增强。

[0464] 168.实施方式166或167的方法，其中该免疫检查点抑制剂是选自由以下组成的组：PD-1抑制剂、PD-L1抑制剂或CTLA-4抑制剂。

[0465] 169.实施方式166至168中任一项的方法，其中该免疫检查点抑制剂为或包含抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或抗CTLA-4抗体或其抗原结合片段。

[0466] 170.实施方式169的方法，其中该免疫检查点抑制剂为或包含抗PD-1抗体或其抗原结合片段。

[0467] 171.一种用于在患有癌症的对象中产生增强的反应的方法，其包含：

[0468] (a)向患有包含肿瘤的癌症的该对象给予抗PD-1抗体；

[0469] (b)向该对象给予包含连接至抗CD25抗体的酞菁染料的偶联物，其中在该偶联物之前或同时给予该抗PD-1抗体；以及

[0470] (c)在给予该偶联物之后，在600nm或约600nm至850nm或约850nm的波长下及以25J/cm^2或约25J/cm^2至400J/cm^2或约400J/cm^2或2J/cm纤维长度或约2J/cm纤维长度至500J/cm纤维长度或约500J/cm纤维长度的剂量照射该肿瘤；

[0471] 其中：

[0472] 该增强的反应包含与给予该偶联物接着照射及给予该抗PD-1抗体之前该对象的全身免疫性相比，该对象的全身免疫性增强；和/或

[0473] 该增强的反应包含与仅给予该偶联物、仅给予该偶联物接着照射或仅给予该抗PD-1抗体相比，该肿瘤的抑制增强。

[0474] 172.实施方式166至171中任一项的方法，其中该增强的反应为累加或协同的。

[0475] 173.实施方式166至172中任一项的方法，其中抑制包含以下各项中的一种或多种：肿瘤体积、肿瘤尺寸或肿瘤块的增加小于20％或小于约20％，或肿瘤体积、肿瘤尺寸或肿瘤块减小，或肿瘤细胞数目减小。

[0476] 174.实施方式173的方法，其中肿瘤体积、肿瘤尺寸或肿瘤块或者肿瘤细胞数目的减小包含减小30％或约30％或更多。

[0477] 175.实施方式166至174中任一项的方法，其中：

[0478] 该肿瘤包含第一肿瘤及肿瘤细胞的继发性群体，且其中照射该第一肿瘤且不直接照射该继发性群体；

[0479] 该肿瘤包含第一肿瘤及转移性肿瘤细胞，且其中照射该第一肿瘤且不直接照射该转移性肿瘤细胞；和/或

[0480] 该肿瘤包含第一肿瘤及侵袭性肿瘤细胞，且其中照射该第一肿瘤且不直接照射该侵袭性肿瘤细胞。

[0481] 176.实施方式167至175中任一项的方法，其中该增强的反应为协同反应，其中该协同反应包含第一肿瘤的生长、肿瘤体积、肿瘤尺寸或肿瘤块协同减小，该对象中的该继发性群体中的细胞数目协同减小，转移性或侵袭性肿瘤细胞的生长、肿瘤体积、肿瘤尺寸、肿瘤块或数目减小，或其任何组合。

[0482] 177.实施方式166至176中任一项的方法，其中该免疫检查点抑制剂在给予该偶联物24小时至48小时内向该对象给予。

[0483] 178.实施方式166至177中任一项的方法，其中该免疫检查点抑制剂在给予该偶联物24小时±4小时内向该对象给予。

[0484] 179.实施方式166至178中任一项的方法，其中在给予该偶联物之前给予第一剂量的该免疫检查点抑制剂。

[0485] 180.实施方式179的方法，其中在给予该偶联物之前至少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、1周、2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周或10周给予该第一剂量的该免疫检查点抑制剂。

[0486] 181.实施方式169至180中任一项的方法，其中该抗PD-1抗体在给予该偶联物24小时至48小时内向该对象给予。

[0487] 182.实施方式169至181中任一项的方法，其中该抗PD-1抗体在给予该偶联物24小时±4小时内向该对象给予。

[0488] 183.实施方式169至182中任一项的方法，其中在给予该偶联物之前给予第一剂量的该抗PD-1抗体。

[0489] 184.实施方式183的方法，其中在给予该偶联物之前至少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、1周、2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周或10周给予该第一剂量的该抗PD-1抗体。

[0490] 185.实施方式166至184中任一项的方法，其中全身免疫性通过以下中的一种或多种测量：细胞毒性T淋巴细胞(CTL)活性分析、瘤内T细胞耗竭分析、瘤内效应T细胞扩增分析、T细胞受体多样性分析、活化CD8+T细胞分析、循环调节T细胞(Treg)分析、瘤内Treg分析或CD8+T细胞:Treg分析。

[0491] 186.实施方式166至185中任一项的方法，其中全身免疫性通过CTL活性分析，使用任选地在照射该对象中的该第一肿瘤之后第4天与第28天之间自该对象收集的脾细胞或外周血细胞或骨髓细胞或淋巴结细胞测量。

[0492] 187.实施方式166至185中任一项的方法，其中全身免疫性通过瘤内T细胞耗竭分析，使用自该第一肿瘤或转移性肿瘤细胞块或侵袭性肿瘤细胞块收集的T细胞，任选地在照射该对象中的该第一肿瘤之后第4天与第28天之间自该对象收集的T细胞测量。

[0493] 188.实施方式166至185中任一项的方法，其中全身免疫性通过瘤内效应T细胞扩增分析，使用自该第一肿瘤或转移性肿瘤细胞块或侵袭性肿瘤细胞块收集的T细胞，任选地在照射该对象中的该第一肿瘤之后第4天与第28天之间自该对象收集的T细胞测量。

[0494] 189.实施方式166至185中任一项的方法，其中全身免疫性通过T细胞受体多样性分析，使用自该第一肿瘤或转移性肿瘤细胞块或侵袭性肿瘤细胞块或周边循环收集的T细胞，任选地在照射该对象中的该第一肿瘤之后第4天与第28天之间自该对象收集的T细胞测量。

[0495] 190.实施方式166至185中任一项的方法，其中全身免疫性通过确定该肿瘤中调节T细胞(Treg)的存在、数目或频率和/或来自该第一肿瘤或转移性肿瘤细胞块或侵袭性肿瘤细胞块，任选地在照射该对象中的该第一肿瘤之后第4天与第28天之间自该对象收集的瘤内Treg细胞与瘤内CD8+T细胞或瘤内CD4+T细胞的比率来测量。

[0496] 191.实施方式166至190中任一项的方法，其中该抗CD25抗体包含功能性Fc区。

[0497] 192.实施方式166至191中任一项的方法，其中该抗CD25抗体为巴利昔单抗或达利珠单抗，或其生物类似物、可互换物、生物改良剂、生物复制物或生物仿制物。

[0498] 193.实施方式192的方法，其中该抗CD25抗体为巴利昔单抗。

[0499] 194.实施方式169至193中任一项的方法，其中该抗PD-1抗体是选自由以下组成的组：派姆单抗(MK-3475、KEYTRUDA；拉立珠单抗)、纳武单抗(OPDIVO)、赛咪单抗(LIBTAYO)、特瑞普利单抗(JS001)、HX008、SG001、GLS-010、多斯利单抗(TSR-042)、缇勒珠单抗(BGB-A317)、西利单抗(JNJ-63723283)、皮立珠单抗(CT-011)、杰诺珠单抗(APL-501、GB226)、BCD-100、赛咪单抗(REGN2810)、F520、斯迪利单抗(IBI308)、CS1003、LZM009、坎立珠单抗(SHR-1210)、SCT-I10A、MGA012、AK105、PF-06801591、AMP-224、AB122、AMG 404、BI 754091、HLX10、JTX-4014、AMP-514(MEDI0680)、Sym021、MGD019、MGD013、AK104、XmAb20717、RO7121661、CX-188、斯巴达珠单抗、BCD-217、HX009、IBI308、PDR001、REGN2810及TSR-042(ANB011)。

[0500] 195.实施方式166至194中任一项的方法，其中向对象给予免疫检查点抑制剂一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

[0501] 196.实施方式169至195中任一项的方法，其中向该对象给予该抗PD-1抗体一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、10次或超过10次。

[0502] 197.实施方式166至196中任一项的方法，其中酞菁染料为Si-酞菁染料。

[0503] 198.实施方式197的方法，其中Si-酞菁染料为IR700。

[0504] 199.实施方式166至198中任一项的方法，其中照射是在给予该偶联物之后30分钟与96小时之间进行。

[0505] 200.实施方式199的方法，其中照射是在给予该偶联物之后24小时±4小时进行。

[0506] 201.实施方式166至200中任一项的方法，其中在690±40nm的波长下照射该肿瘤。

[0507] 202.实施方式166至201中任一项的方法，其中以50J/cm^2或100J/cm纤维长度或约50J/cm^2或100J/cm纤维长度的剂量照射该肿瘤。

[0508] 203.实施方式166至202中任一项的方法，其进一步包括(d)给予额外治疗剂或抗癌治疗。

[0509] 204.实施方式166至203中任一项的方法，其中重复步骤(a)、(b)、(c)或(d)中的一

或多个。

[0510] 205.实施方式166至204中任一项的方法，其中该癌症是选自由以下组成的组：结肠癌、结直肠癌、胰腺癌、乳癌、皮肤癌、肺癌、非小细胞肺癌、肾细胞癌、甲状腺癌、前列腺癌、头颈癌、胃肠癌、胃癌、小肠癌、梭状细胞赘瘤、肝癌瘤、肝癌、周边神经癌、脑癌、骨胳肌癌、平滑肌癌、骨癌、脂肪组织癌、子宫颈癌、子宫癌、生殖器癌、淋巴瘤及多发性骨髓瘤。

[0511] 206.实施方式166至205中任一项的方法，其中该增强的反应包含与仅给予该偶联物接着照射相比及与仅给予该免疫检查点抑制剂相比的累加反应或协同反应。

[0512] 207.实施方式166至206中任一项的方法，其中该增强的反应包含与仅给予该偶联物接着照射相比及与仅给予该抗PD-1抗体相比的累加反应或协同反应。

[0513] IX.实施例

[0514] 以下实施例仅出于说明的目的而包括在内且不旨在限制本发明的范围。

[0515] 实施例1抗CD25抗体-IRDye 700偶联物的产生

[0516] 本实施例描述一种用于制备含有连接至示例性抗CD25抗体PC61的IRDye 700DX(IR700)的偶联物，因此产生PC61-IRDye700DX(PC61-IR700偶联物)的方法。

[0517] 将PC61(一种针对小鼠CD25的大鼠单克隆抗体(mAb))(1mg，6.8nmol)与IRDye 700DX NHS酯(IR700;LI-COR Bioscience，Lincoln，NE)(66.8μg，34.2nmol，DMSO中5mmol/L)一起在0.1mol/L Na_2HPO_4(pH 8.5)中在室温下孵育30至120分钟。将混合物使用Sephadex G50管柱(PD-10;GE Healthcare，Piscataway，NJ)纯化。通过用UV-Vis系统(8453Value System;Agilent Technologies，Palo Alto，CA)测量595nm下的吸收，用Coomassie Plus蛋白质分析试剂盒(Pierce Biotechnology，Rockford，IL)确定蛋白浓度。通过用UV-Vis系统测得的吸收测量IR700浓度以证实与各PC61分子偶联的荧光团分子的数目。每个PC61的IR700数目为约3。

[0518] 通过分析型尺寸排阻HPLC(SE-HPLC)证实PC61-IR700偶联物的纯度。使用装备有由Chemstation软件控制的PDA检测器的Agilent 1100 HPLC系统(Santa Clara，CA)进行SE-HPLC。在Shodex KW-803管柱(New Yok，NY)上进行SE层析，使用磷酸盐缓冲盐水(PBS)在1.0mL/min下洗脱20分钟。如通过SE-HPLC所测定，PC61-IR700制剂显示强烈缔合且不含可检测的mAb聚集体。

[0519] 为测定IR700偶联物的体外结合特征，使用Indo-Gen程序进行偶联物的^{125}I标记。观测到mAb最低程度的IR700偶联丧失。如先前所描述进行免疫反应性分析。简言之，在胰蛋白酶消化之后，使2×10^6个肿瘤细胞再悬浮于含有1％牛血清白蛋白(BSA)的PBS中。添加^{125}I-PC61-IR700(1mCi，0.2μg)且在冰上孵育1小时。将细胞洗涤、粒化，倾析上清液，且在2470Wizard γ-计数器(Perkin Elmer，Shelton，CT)中将细胞计数。在过量未标记抗体(200μg未标记PC61)的条件下检查与细胞的非特异性结合。

[0520] 实施例2抗CD25-IR700 PIT及抗PD-1抗体在体内协同抑制肿瘤生长及存活

[0521] 本实施例描述示例性抗CD25抗体-IR700 PIT与示例性抗PD-1抗体组合在体内对肿瘤生长的协同抑制效应。

[0522] 将6-8周龄的免疫活性BALB/c小鼠用3×10^6个CT26-EphA2克隆c4D10鼠类结肠癌细胞/小鼠在右侧后腰窝上皮下接种。当同种异体移植肿瘤生长至约150mm^3时，向小鼠给予生理盐水(100μL)、基本上如以上实施例1中所述产生的PC61-IR700偶联物(100μg)、抗PD-1

抗体克隆RMP1-14(100μg)或PC61-IR700偶联物(100μg)与RMP1-14(100μg)的组合。在第4天给予PC61-IR700偶联物且在第4、6、8及11天给予RMP1-14。在给予PC61-IR700偶联物之后二十四小时,在690nm下以100J/cm^2的剂量照射PIT组中的肿瘤。在22天内观测肿瘤生长及存活。可使用等式:肿瘤体积=(宽度×长度)×高度/2计算肿瘤体积。

[0523] 与接受生理盐水或单独PC61-IR700偶联物而无PIT的对照小鼠中的肿瘤生长相比,在接受PC61-IR700-PIT或抗PD-1(RMP1-14)单一疗法的小鼠中,肿瘤生长实质上受到抑制(图1A;与空心及圆相比分别实心及空心三角形)。惊人地,在用PC61-IR700-PIT与抗PD-1抗体的组合处理的小鼠中,以协同方式进一步抑制肿瘤生长(图1A,实心正方形)。除检查总肿瘤生长之外,还在处理组当中比较完全反应(CR)率。在治疗25天之后,7/20(35%)用PC61-IR700 PIT处理的小鼠及1/12(8.3%)用抗PD-1(RMP1-14)单一疗法处理的小鼠实现CR,而单独生理盐水或单独PC61-IR700偶联物而无PIT对照组中的1/16(6.25%)或0/12(0%)动物实现CR。意外地,PC61-IR700偶联物与抗PD-1治疗的组合在(17/23)73.9%小鼠中产生CR(图1A)。组合疗法的CR率实质上比PC61-IR700-PIT或抗PD-1单一疗法大,且此两种治疗的效应是协同的。确证此等结果,与接受生理盐水或单独PC61-IR700偶联物而无PIT的对照小鼠相比,接受PC61-IR700-PIT或抗PD-1(RMP1-14)单一疗法(分别为实心三角形及实心圆形)的小鼠显示存活率增加(图1B,实心及空心三角形分别与空心及圆相比),且用PC61-IR700 PIT与PD-1抗体的组合处理的小鼠显示更佳(100%)存活率(图1B,实心正方形)。此等结果支持抗CD25 PIT与抗PD-1疗法之间的协同效应。

[0524] 实施例3抗CD25-IR700 PIT及抗PD-1在体内协同抑制未照射远端肿瘤的生长

[0525] 本实施例描述示例性抗CD25抗体-IR700 PIT与示例性抗PD-1抗体RMP1-14组合对未照射的远端肿瘤的生长的协同抑制效应。

[0526] 将6-8周龄的BALB/c小鼠用3×10^6个CT26-EphA2克隆c4D10细胞/小鼠在右侧与左侧两侧后腰窝上接种。当小鼠两侧上的同种异体移植肿瘤生长至约150mm^3的尺寸时,向小鼠给予生理盐水(100μL)、抗CD25抗体PC61-IR700偶联物(100μg)、RMP1-14(100μg)或PC61-IR700偶联物(100μg)与RMP1-14(100μg)的组合。在第4天给予PC61-IR700偶联物且在第4、6、8及11天给予RMP1-14。在给予PC61-IR700偶联物之后二十四小时,在690nm下在100J/cm^2下照射PC61-IR700 PIT组的小鼠中右侧腰窝上的肿瘤,而左侧腰窝上的肿瘤不照射。因此,右方腰窝肿瘤充当原发性肿瘤,且左侧腰窝肿瘤充当远端或转移性肿瘤。

[0527] 如图2A-2B中所示,与用PC61-IR700偶联物处理而无照射的小鼠(实心圆)相比,在用PC61-IR700偶联物且照射(PC61-IR700 PIT;实心三角形)或RMP1-14单一疗法(空心三角形)处理的小鼠中,经照射的原发性肿瘤(图2A)及远端未照射肿瘤(图2B)的生长实质上受到抑制。在用PC61-IR700偶联物且照射(PC61-IR700 PIT)与抗PD-1(RMP1-14)的组合处理的小鼠中,经照射的原发性肿瘤(图2A)及远端未照射肿瘤(图2B)的生长进一步受到抑制,且此抑制效应是协同的(实心正方形)。

[0528] 实施例4抗CD25抗体对循环调节T细胞水平的影响

[0529] 本实施例描述示例性抗CD25抗体对循环调节T细胞(Treg)的影响。

[0530] 向BALB/c小鼠给予100μg抗CD25抗体PC61抗体(PC61WT;n=8),或大鼠Fc区经野生型小鼠Fc区(PC61小鼠WT;n=8)或缺乏效应功能/ADCC活性的N297Q突变小鼠Fc区(PC61小鼠N297Q;n=8)置换的PC61抗体。向对照小鼠给予100μl生理盐水以供比较(n=6)。在给予

抗体之后第1天及第8天收集血液样品，且针对包括CD25、FoxP3、CD3及CD4的细胞标记物对分离的淋巴细胞进行染色。还使用同型对照进行染色。使用流式细胞术分析染色细胞，且确定每种情况的$CD3^+CD4^+$T细胞的$CD25^+FoxP3^+$百分比。

[0531] 在给予后当天，与生理盐水对照相比，给予具有野生型大鼠或小鼠Fc域的PC61的小鼠中$CD25^+FoxP3^+$T细胞的百分比减少(图3A)，且在第8天减少持续(图3B)。与具有野生型Fc域的抗体相比，在给予具有突变Fc的PC61后当天$CD25^+FoxP3^+$T细胞的百分比减少至更少程度(PC61小鼠N297Q;图3A)。不同于用具有野生型Fc域的抗体处理的小鼠，PC61小鼠N297Q给予后的减少是短暂的，因为至第8天，$CD25^+FoxP3^+$T细胞的百分比恢复，类似于对照水平(图3B)。

[0532] 实施例5抗CD25-IR700 PIT及抗PD-1对未照射远端肿瘤的协同效应

[0533] 本实施例描述循环调节T细胞(Treg)耗尽在示例性抗CD25抗体-IR700 PIT与示例性抗PD-1抗体(RMP1-14)组合对远端未照射肿瘤的生长的协同抗癌效应中的作用。

[0534] 将6-8周龄的BALB/c小鼠用3×10^6个CT26-EphA2克隆c4D 10细胞/小鼠在右侧与左侧两侧后腰窝上接种。当小鼠两侧上的同种异体移植肿瘤生长至约130mm^3-140mm^3的尺寸(植入后第6天)时，向小鼠给予生理盐水(100μL)、含有小鼠野生型(mWT)Fc区(mWT PC61-IR700)或缺乏效应功能的N297Q突变Fc区(N297Q)(N297Q PC61-IR700)的抗CD25抗体PC61-IR700偶联物(100μg)、抗PD-1(RMP1-14;100μg)、含有WT或N297Q Fc区(100μg)及抗PD-1(100μg)的PC61-IR700偶联物的组合。在第6天给予mWT PC61-IR700及N297Q偶联物且在第6、8、10及12天给予RMP1-14。在给予PC61-IR700偶联物之后二十四小时，在690nm下在100J/cm^2下照射PC61-IR700 PIT组的小鼠中右侧腰窝上的肿瘤，而左侧腰窝上的肿瘤用黑色箔纸遮蔽以防照射。因此，右侧腰窝肿瘤充当原发性肿瘤，且左侧腰窝肿瘤充当远端未照射肿瘤。每2-3天测量肿瘤体积，直至植入后18天。涉及具有mWT Fc域的偶联物的小鼠给予治疗的结果显示于图4A中。涉及具有ADCC功能不全的突变N297QFc域的偶联物的小鼠给予治疗的结果显示于图4B中。

[0535] 在研究过程期间，给予单独生理盐水(空心圆;图4A及图4B)的小鼠显示进展性肿瘤生长。给予单独偶联物(mWT或N297Q)(空心三角形，分别图4A及图4B)的小鼠还显示进展性肿瘤生长。与生理盐水对照相比，偶联物(mWT或N297Q)与抗PD-1的组合给予且无照射(空心正方形，分别图4A及图4B)引起肿瘤生长一定程度减少。与生理盐水对照相比，具有mWT偶联物的PIT(实心三角形，图4A)引起减少的肿瘤生长，而具有ADCC功能不全的N297Q偶联物的PIT(实心三角形，图4B)对肿瘤生长未作用。具有mWT偶联物的PIT与抗PD-1治疗的组合(实心正方形，图4A)实质上使肿瘤生长停滞。当给予N297Q偶联物(实心正方形，图4B)时，PIT-抗PD-1组合处理的功效实质上降低。此等结果与来自实施例4的结果一起指示呈单一疗法形式或与抗PD-1治疗组合的抗CD25-IR700 PIT的抗癌活性在循环Treg同时持续耗尽下显著增强。

[0536] 实施例6抗CD25-IR700 PIT对瘤内调节T细胞的效应

[0537] 本实施例描述体内响应于示例性抗CD25抗体-IR700 PIT的调节T细胞(Treg)耗尽。

[0538] 将BALB/c小鼠用1×10^6个4T1-EpCAM肿瘤细胞在右侧后腰窝上皮下接种。一旦肿瘤达到大约180mm^3的平均体积，就用生理盐水、单独抗CD25抗体PC61-IR700偶联物或PC61-

IR700偶联物且照射(PC61-IR700 PIT)处理小鼠。在给予偶联物之后二十四小时,以100J/cm^2,照射(PIT)组的小鼠中的肿瘤暴露于690nm光。照射后两小时,自所有组切除肿瘤且加工成单细胞悬浮液。接着针对Treg标记物CD3、CD4、CD45及FoxP3将悬浮细胞染色。使用流动式细胞测量术分析染色细胞,且确定$CD3^+CD4^+$淋巴细胞的FoxP3细胞百分比。

[0539] 如图5中所示,与用生理盐水(正方形)或单独PC61-IR700偶联物(菱形)(分别P＜0.01及P＜0.0001)处理的荷瘤小鼠相比,在用PC61-IR700 PIT处理的荷瘤小鼠(圆)中,肿瘤中$FoxP3^+CD3^+CD4^+$T细胞的数目显著减少,这表明在抗CD25 PIT之后肿瘤中Treg立即减少(图5)。未观测到$CD8^+$T细胞减少(数据未示出)。结果显示抗CD25PIT引起瘤内调节T细胞(Treg)急剧耗尽。

[0540] 实施例7抗CD25-IR700 PIT在体内缓解瘤内$CD8^+$T细胞耗竭

[0541] 本实施例描述示例性抗CD25抗体-IR700 PIT在体内对瘤内$CD8^+$T细胞耗竭的缓解效应。

[0542] 将BALB/c小鼠用CT26-EphA2克隆c4D10肿瘤细胞接种。一旦肿瘤达到150mm^3的平均体积,就用生理盐水、单独抗CD25抗体PC61-IR700偶联物或PC61-IR700偶联物且照射(PC61-IR700 PIT)处理小鼠。在给予偶联物之后二十四小时,在690nm下,以100J/cm^2照射照射(PIT)组的小鼠中的肿瘤。照射后两天,自所有组切除肿瘤且加工成单细胞悬浮液。接着针对包括CD3、CD45、CD8a、PD-1及CTLA4的细胞标记物,将悬浮细胞染色。还使用同型对照进行染色。使用流式细胞术分析染色细胞。

[0543] 如图6A-6B中所示,与接受生理盐水或单独PC61-IR700偶联物(Conj;无照射)相比,在用PC61-IR700 PIT处理的小鼠中,瘤内$CD8^+$T细胞($CD3^+CD8^+$)的比例显著增加(P＜0.01)(图6A)。与生理盐水或单独偶联物对照相比,在PC61-IR700 PIT之后耗竭$CD8^+$细胞($PD1^+CTLA\text{-}4^+$)的比例显著减少(P＜0.0001)(图6B)。

[0544] 实施例8抗CD25-IR700 PIT在体内增加未耗竭瘤内效应$CD8^+$T淋巴细胞

[0545] 本实施例描述示例性抗CD25抗体-IR700 PIT在体内对瘤内效应CD8+T淋巴细胞扩增的刺激效应。

[0546] 将BALB/c小鼠用CT26-EphA2克隆c4D10肿瘤细胞接种。一旦肿瘤达到150mm^3的大致平均体积,就用生理盐水、单独PC61-IR700偶联物或PC61-IR700偶联物且照射(PC61-IR700 PIT)处理小鼠。在给予偶联物之后二十四小时,以100J/cm^2,照射(PIT)组的小鼠中的肿瘤暴露于690nm光。照射后八天,自所有组切除肿瘤且加工成单细胞悬浮液。接着针对包括CD3、CD45、CD8a、PD-1及CTLA4的细胞标记物,将悬浮细胞染色。还使用同型对照进行染色。使用流式细胞术分析染色细胞。

[0547] 如图6C中所示,与仅给予生理盐水或单独PC61-IR700偶联物(偶联物;无照射)的荷瘤小鼠相比,在用PC61-IR700 PIT处理的荷瘤小鼠中,肿瘤中未耗竭$PD\text{-}1^-CTLA\text{-}4^-CD3^+CD8^+$T细胞的数目显著增加(P＜0.001),这表明PC61-IR700 PIT诱发肿瘤微环境中效应$CD8^+$T细胞的扩增(图6C)。

[0548] 实施例9抗CD25-IR700 PIT增加活化$CD8^+$T细胞

[0549] 本实施例描述示例性抗CD25抗体-IR700 PIT在体内对瘤内$CD8^+$T细胞活化的效应。

[0550] 将BALB/c小鼠用4T1-EpCAM肿瘤细胞接种。一旦肿瘤达到150mm^3的大致平均体积,

就用生理盐水、单独抗CD25抗体PC61-IR700偶联物或PC61-IR700偶联物且照射(PC61-IR700 PIT)处理小鼠。在给予偶联物之后二十四小时，在690nm下，以100J/cm^2照射照射(PIT)组的小鼠中的肿瘤。照射后七天，自所有组切除肿瘤且加工成单细胞悬浮液。接着针对包括CD3、CD69、CD45、CD8a、Ki67的细胞标记物，将悬浮细胞染色。还使用同型对照进行染色。使用流式细胞术分析染色细胞。

[0551] 如图7中所示，与接受生理盐水(正方形)或单独PC61-IR700偶联物(Conj;无照射)(菱形)的小鼠相比，在用PC61-IR700 PIT处理的小鼠(圆)中，活化$CD8^+$T细胞($CD3^+CD8^+Ki67^+$，左图;及$CD3^+CD8^+CD69^+$，右图)的数目显著增加(P＜0.001)。此等结果指示抗CD25 PIT增加照射肿瘤中的活化CD8 T细胞。

[0552] 实施例10抗CD25-IR700 PIT引起瘤内$CD8^+/T_{reg}$比率持续增加

[0553] 本实施例描述抗CD25 PIT在体内对瘤内CD8+T细胞与调节T细胞(T_{reg})的比率的效应，此比率为治疗临床反应的预测标记物。

[0554] 将BALB/c小鼠用1×10^6个CT26-EphA2克隆c4D10肿瘤细胞在右侧后腰窝上皮下接种。一旦肿瘤达到150mm^3的大致平均体积，就用生理盐水、单独PC61-IR700偶联物(100μg)(Conj)或PC61-IR700偶联物(100μg)且照射(PC61-IR700 PIT)处理小鼠。在给予偶联物之后二十四小时，在690nm下，以100J/cm^2照射照射(PIT)组的小鼠中的肿瘤。照射后两小时或八天，自所有组切除肿瘤且加工成单细胞悬浮液。接着针对包括CD3、CD45、CD8a、CD4及FoxP3的细胞标记物，将悬浮细胞染色。还使用同型对照进行染色。使用流式细胞术分析染色细胞，且确定瘤内$CD8^+$T细胞与T_{reg}的比率(图8A-8B)。

[0555] 如图8A中所示，在照射后2小时，与接受生理盐水(圆;P≤0.05)或单独PC61-IR700偶联物(无照射)(正方形;P≤0.05)的小鼠相比，用PC61-IR700 PIT处理的小鼠(三角形)的肿瘤具有增加的瘤内$CD8^+/T_{reg}$比率。此等结果指示抗CD25 PIT引起瘤内CD8T细胞活化。接受PIT的动物的肿瘤中增加的$CD8^+/T_{reg}$比率持续至照射后八天(图8B;P≤0.0001)。此等结果指示抗CD25 PIT单一处理引起所处理肿瘤内$CD8^+/T_{reg}$比率持久增加。

[0556] 实施例11在抗CD25-PIT700 PIT及抗PD-1处理之后具有完全反应的小鼠中再攻击肿瘤的生长的抑制

[0557] 本实施例描述在用单独或与示例性抗PD-1抗体(RMP1-14)处理组合的示例性抗CD25抗体-IR700 PIT初始处理之后实现完全反应的小鼠中最新接种的肿瘤的生长抑制。

[0558] 将6-8周龄的BALB/c小鼠用3×10^6个CT26-EphA2克隆c4D10细胞/小鼠在右侧后腰窝上皮下接种。当同种异体移植肿瘤生长至约150mm^3的尺寸时，向小鼠给予生理盐水(100μL)、抗CD25抗体PC61-IR700偶联物(100μg)、抗PD-1抗体RMP1-14(100μg)或PC61-IR700偶联物(100μg)与RMP1-14(100μg)的组合。在第4天给予PC61-IR700偶联物且在第4、6、8及11天给予RMP1-14。在给予PC61-IR700之后二十四小时，在690nm下，以100J/cm^2照射肿瘤。在初始肿瘤接种之后第42天(处理后第38天)，在左侧后腰窝上用CT26-EphA2细胞再攻击实现完全反应(肿瘤消失)的小鼠(CR小鼠)及未处理小鼠。对于在用CT26-EphA2细胞再攻击之后显示肿瘤未生长的动物，在初始肿瘤接种后第78天(处理后第74天)在右腋窝中接种4T1肿瘤，这是来自不同于CT26的来源的同基因型小鼠肿瘤系。

[0559] 在用相同类型肿瘤细胞CT26-EphA2再攻击的CR小鼠中，在最初用单独PC61-IR700 PIT(5/5,100％)及PC61-IR700 PIT与RMP1-14的组合(17/17,100％)处理的组中完全抑制

肿瘤细胞且未观测到肿瘤生长，而在事先未暴露于处理的未处理小鼠中肿瘤体积增加(图9)。在4T1肿瘤细胞(不同于最初接种的肿瘤细胞的肿瘤细胞类型)在右腋窝中接种之后，在处理小鼠与事先未暴露于处理的未处理小鼠之间4T1肿瘤的生长类似地增加(图10)。这些数据表明再攻击的肿瘤细胞生长的抑制是肿瘤特异性的。

[0560] 实施例12抗CD25-IR700 PIT及抗PD-1增强全身免疫性

[0561] 本实施例描述示例性抗CD25抗体-IR700 PIT与示例性抗PD-1抗体组合对体内全身免疫性的刺激效应。

[0562] A.细胞毒性T淋巴细胞(CTL)分析

[0563] CTL分析经设计以评估来自用CT26-EphA2克隆c4D10肿瘤接种的小鼠的脾细胞的肿瘤特异性细胞毒活性。使用CytoTox™ 96非放射性细胞毒性分析(Promega;目录号G1780)评估细胞毒性。该试剂盒测量孔中在细胞死亡时自细胞释放的乳酸脱氢酶(LDH)的含量。自在用抗CD25抗体PC61-IR700 PIT单一疗法或用PC61-IR700 PIT及抗PD-1(RMP1-14)组合疗法处理之后实现完全反应的荷瘤小鼠(CR小鼠)或未处理的荷瘤小鼠收获脾脏。通过在70μm孔径细胞过滤器上机械解离脾脏来制备单细胞悬浮液。收集所得流过物，且使红细胞溶解。在体外用CT26抗原AH1肽将悬浮脾细胞预致敏四天。随后，通过将脾细胞(效应细胞)及CT26-ephA2克隆c4D10靶标细胞在多种效应细胞与靶标细胞比率(E:T比率)下共同孵育四小时来进行细胞毒性分析。随后，移除脾细胞，且测量自靶标细胞释放的LDH水平。人类胰腺癌细胞系BxPC3细胞用作不相关对照靶标细胞。

[0564] B.结果

[0565] 在用单独或与RMP1-14组合的PC61-IR700 PIT处理的CR小鼠中，脾细胞显示离体针对靶标肿瘤细胞的肿瘤特异性免疫反应(图11)。对于由用单独PC61-IR700 PIT处理的CR小鼠获得的脾细胞，结果显示对靶标肿瘤细胞的清晰E:T比率依赖性细胞毒性效应，在31:1的E:T比率下能够杀死100％靶标细胞，且在7.8:1的E:T比率下杀死92％靶标细胞(图11)。对于由事先用PC61-IR700 PIT与RMP1-14处理的CR小鼠获得的脾细胞，结果显示对靶标肿瘤细胞的清晰E:T比率依赖性细胞毒性效应，在31:1的E:T比率下能够杀死91％靶标细胞，且在7.8:1的E:T比率下杀死75％靶标细胞。对于由未接受处理的未处理小鼠获得的脾细胞，结果显示对靶标肿瘤细胞的最低程度细胞毒性效应，在任何E:T比率下能够杀死不超过11％靶标细胞(图11)。此外，在高达250:1的E:T比率下，针对BxPC3细胞(充当靶标肿瘤细胞对照的不相关肿瘤细胞类型)的细胞毒性效应小于15％。这些结果清楚显示用单独或与抗PD-1组合的抗CD25-IR700 PIT处理引起脾脏中肿瘤特异性细胞毒性T细胞增加。

[0566] 实施例13 $CD8^+$T细胞活性及抗CD25-偶联物及抗PD-1处理的功效

[0567] 本实施例证明示例性抗CD25抗体-IR700 PIT与示例性抗PD-1抗体组合对体内肿瘤生长的效应依赖于功能性$CD8^+$T细胞群体。

[0568] 将BALB/c小鼠用每只小鼠3×10^6个CT26-EphA2克隆c4D10细胞在右侧与左侧两侧后腰窝上皮下接种。通过在肿瘤细胞接种后第4天及第7天，腹膜内注射抗CD8a抗体(BioXCell，克隆2.43，目录号BP0061)(每只小鼠100μg)来产生$CD8^+$T细胞耗尽的小鼠。当小鼠两侧上的同种异体移植肿瘤生长至约150mm^3的尺寸时，向小鼠给予生理盐水、抗CD25抗体PC61-IR700偶联物(100μg)、抗PD-1抗体RMP1-14(100μg)或PC61-IR700偶联物(100μg)与RMP1-14(100μg)的组合。在第4天给予PC61-IR700偶联物且在第4、6、8及11天给予RMP1-14。

在给予PC61-IR700偶联物之后二十四小时，在690nm下在100J/cm^2下照射PIT组的小鼠中右侧腰窝上的肿瘤，而左侧腰窝上的肿瘤不照射。因此，右侧腰窝肿瘤充当原发性肿瘤，且左侧腰窝肿瘤充当远端肿瘤。

[0569] 如图12A-12B中所示，与个别PC61-IR700 PIT(实心三角形)或抗PD-1(空心三角形)单一疗法相比，在免疫活性BALB/c小鼠中PC61-IR700偶联物且照射(PC61-IR700 PIT)与抗PD-1(RMP1-14)的组合处理实质上且协同抑制照射肿瘤(右侧腰窝;图12A)与未照射远端肿瘤(左侧腰窝;图12B)的肿瘤生长(实心正方形)。照射肿瘤(右侧腰窝)与未照射远端肿瘤(左侧腰窝)的生长与对照生理盐水或单独PC61-IR700偶联物(未照射)组(资料未示出)相比实质上受到抑制。意外地，在$CD8^+$T细胞耗尽小鼠中，PC61-IR700 PIT与抗PD-1的组合对肿瘤生长的抑制效应完全消除(图12A及12B;实心菱形)，此指示组合处理的效应由$CD8^+$T细胞介导。

[0570] 实施例14 CD25 PIT及抗PD-1处理减少免疫抑制性瘤内调节T细胞(Treg)

[0571] 本实施例描述示例性抗CD25偶联物PIT处理与抗PD-1抗体组合对瘤内CD8T细胞:Treg比率的效应。

[0572] 将BALB/c小鼠用1×10^6个CT26-EphA2克隆c4D10细胞在右侧后腰窝上皮下接种。当同种异体移植肿瘤生长至约150mm^3的尺寸时，向小鼠给予生理盐水对照、抗CD25抗体PC61-IR700偶联物(100μg)或PC61-IR700偶联物(100μg)与抗PD-1抗体(克隆RMP1-14，100μg)的组合。在第7天给予PC61-IR700偶联物且在第7、9、11及13天给予抗PD-1抗体。在给予PC61-IR700偶联物之后二十四小时，在690nm下在100J/cm^2的剂量下照射PIT组的小鼠中右侧腰窝上的肿瘤。

[0573] 在照射后八天，自分别来自各处理组的小鼠第一子集及第二子集切除肿瘤。将切除的肿瘤加工成单细胞悬浮液。接着针对包括CD3、CD45、CD4及FoxP3的细胞标记物，将悬浮细胞染色。还使用同型对照进行染色。使用流式细胞术分析染色细胞。

[0574] 流式细胞术分析证明抗CD25偶联物PIT处理与抗PD-1抗体的组合(CD25 PIT+PD1)提供$FoxP3^+$Treg的持久减少(图13A)。与偶联物与抗PD-1抗体的组合处理且无照射(CD25 Conj+PD1)相比($P\leq0.01$)及与无抗PD-1抗体的单独抗CD25偶联物PIT处理(CD25PIT)相比($P\leq0.05$)，组合处理下$FoxP3^+$Treg显著减少。

[0575] 组合处理(CD25 PIT+PD1)还提供$CD4^+$辅助T细胞($CD4^+FoxP3^-$)与Treg细胞($CD4^+FoxP3^+$)的比率的显著增加(图13B)。与偶联物与抗PD-1抗体的组合且无照射(CD25 Conj+PD1)相比($P\leq0.05$)及与无抗PD-1抗体的单独抗CD25偶联物PIT处理(CD25 PIT)相比($P\leq0.05$)，此增加显著。抗CD25偶联物PIT与抗PD-1抗体的效应提供瘤内$CD4^+$:Treg比率的协同增强。

[0576] 单独(CD25 PIT)或与抗PD-1抗体组合(CD25 PIT+PD1)的抗CD25偶联物PIT处理引起瘤内CD8 T细胞:FoxP3 Treg比率与对照组相比显著增加(图13C)。

[0577] 此等结果指示抗CD25偶联物PIT与抗PD-1抗体处理的组合处理引发瘤内Treg持久减少。图14中描绘所提出的作用机制。

[0578] 本发明的范围不限于本文所公开的实施例，所述实施例旨在单一说明本发明的个别方面，且在功能上等效的任何实施例均在本发明的范围内。本领域技术人员根据前述说明及启示内容将显而易见除本文所述内容之外的对本发明的组合物及方法的各种修改，且

类似地希望这些修改属于本发明的范围内。可在不偏离本发明的真实范围及精神下实施这些修改或其他实施方式。

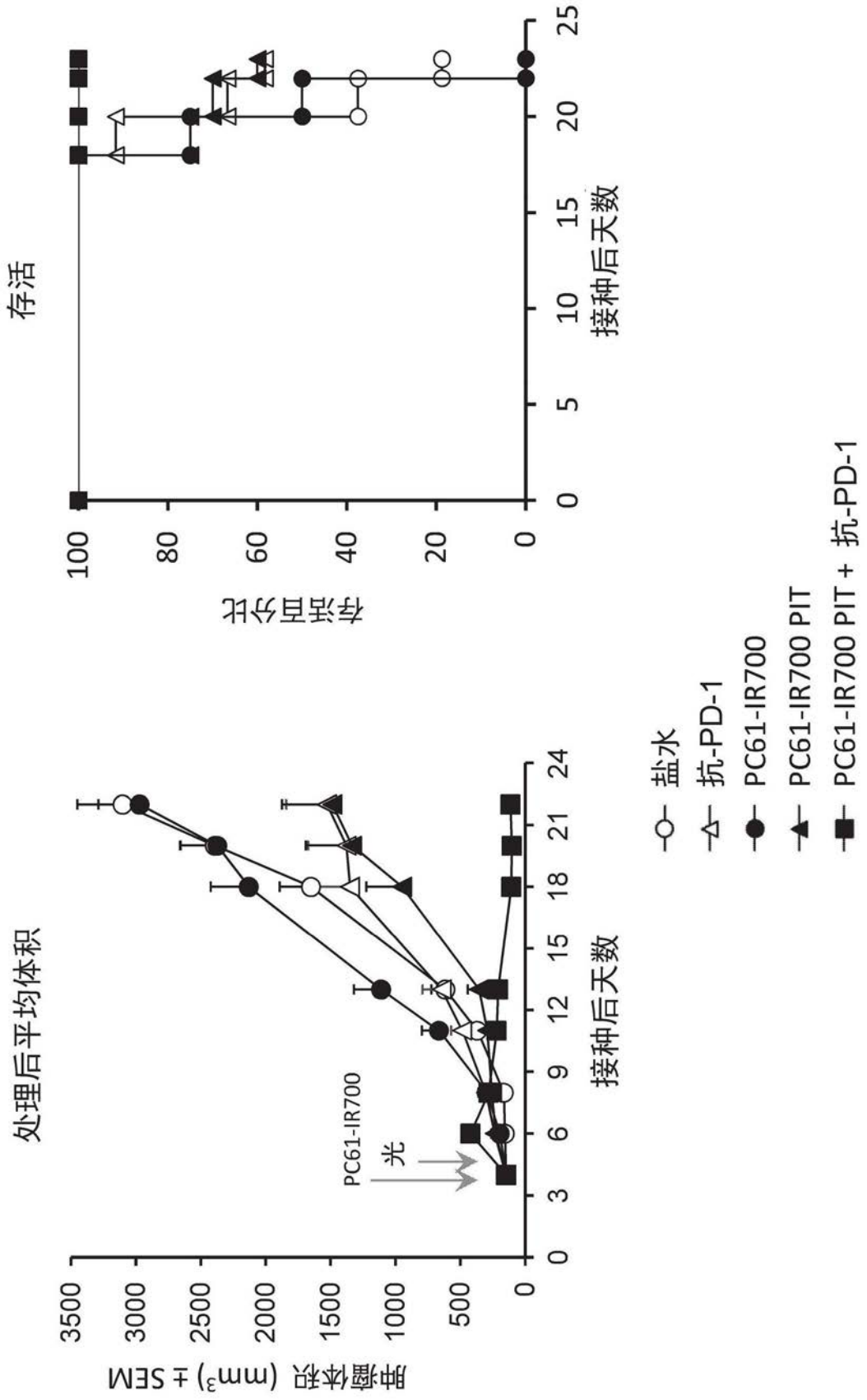

处理后平均体积
肿瘤体积 (mm³) ± SEM
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
0 3 6 9 12 15 18 21 24
接种后天数
PC61-IR700
光
盐水
抗-PD-1
PC61-IR700
PC61-IR700 PIT
PC61-IR700 PIT + 抗-PD-1
存活
存活百分比
100
80
60
40
20
0
0 5 10 15 20 25
接种后天数

图 1A

图 1B

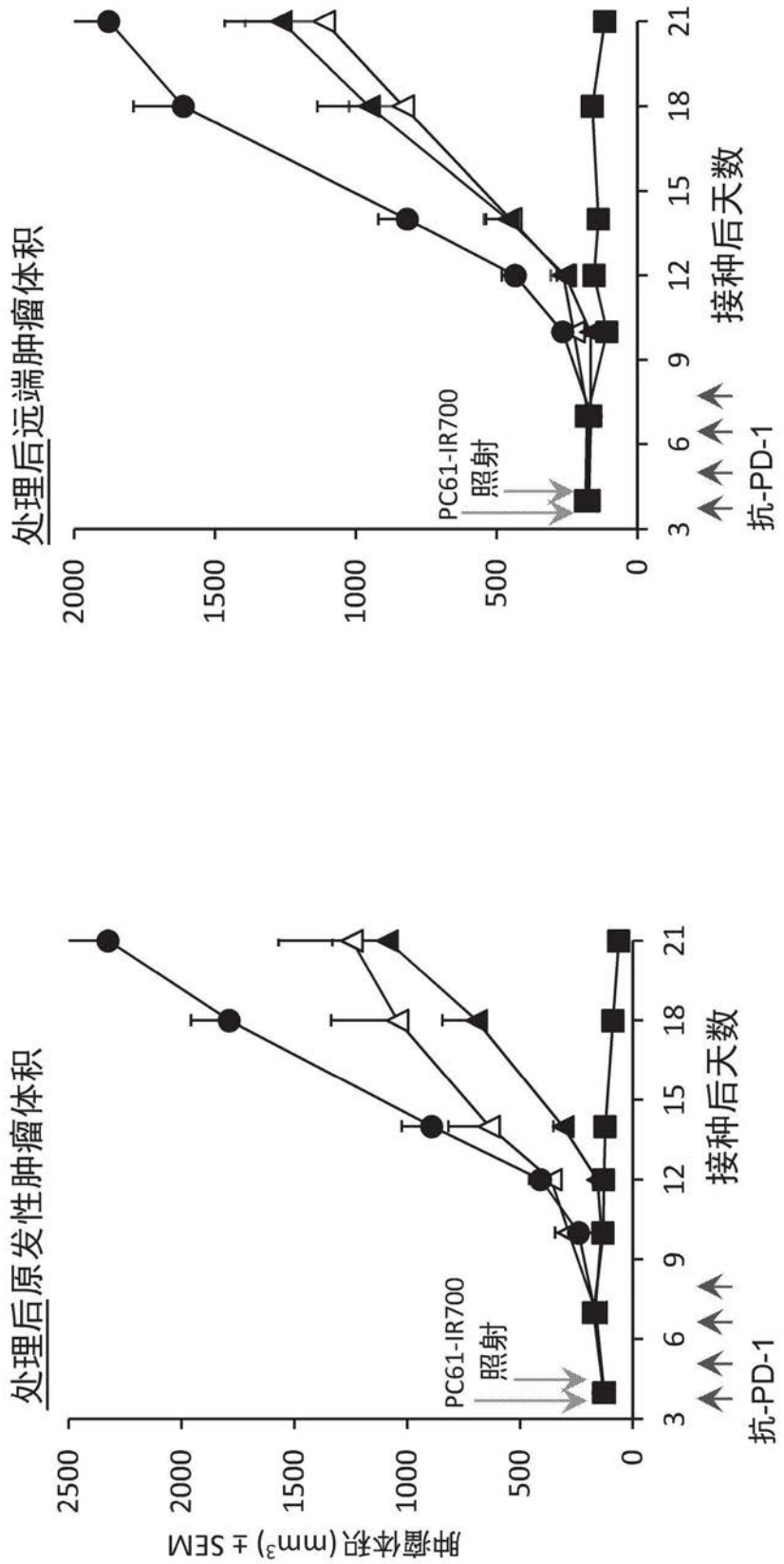

处理后原发性肿瘤体积
处理后远端肿瘤体积
肿瘤体积(mm³) ± SEM
2500
2000
1500
1000
500
0
PC61-IR700
照射
抗-PD-1
3
6
9
12
15
18
21
接种后天数
抗-PD-1
PC61-IR700
PC61-IR700 PIT
PC61-IR700 PIT + 抗-PD-1

图 2A

图 2B

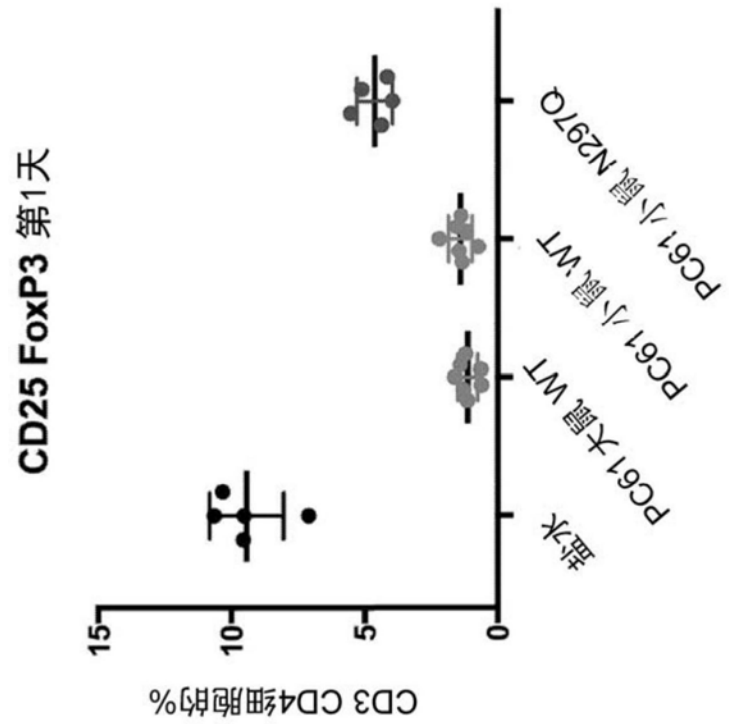

CD25 FoxP3 第1天
CD3 CD4细胞的%
15
10
5
0
盐水
PC61大鼠 WT
PC61小鼠 WT
PC61小鼠 N297Q

图3A

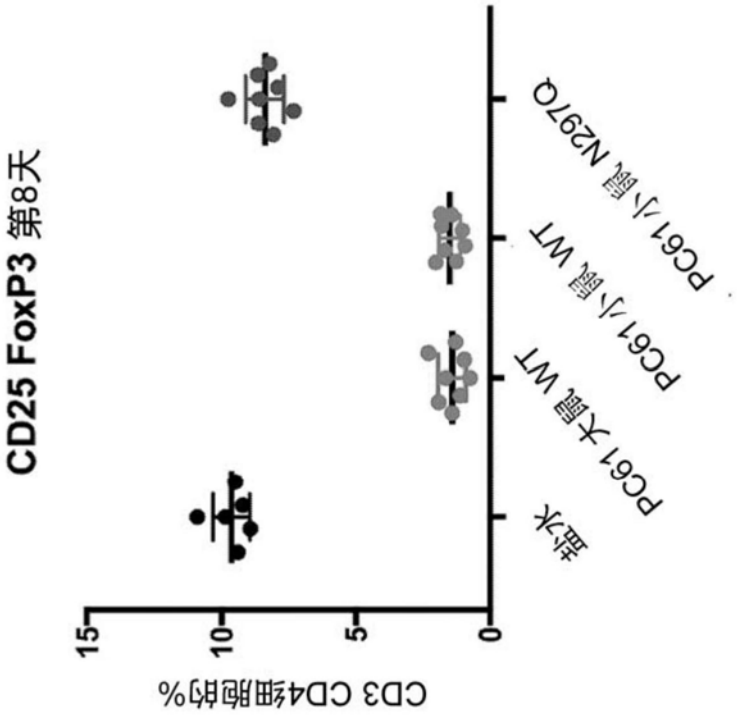

CD25 FoxP3 第8天
CD3 CD4细胞的%
15
10
5
0
盐水
PC61大鼠 WT
PC61小鼠 WT
PC61小鼠 N297Q

图3B

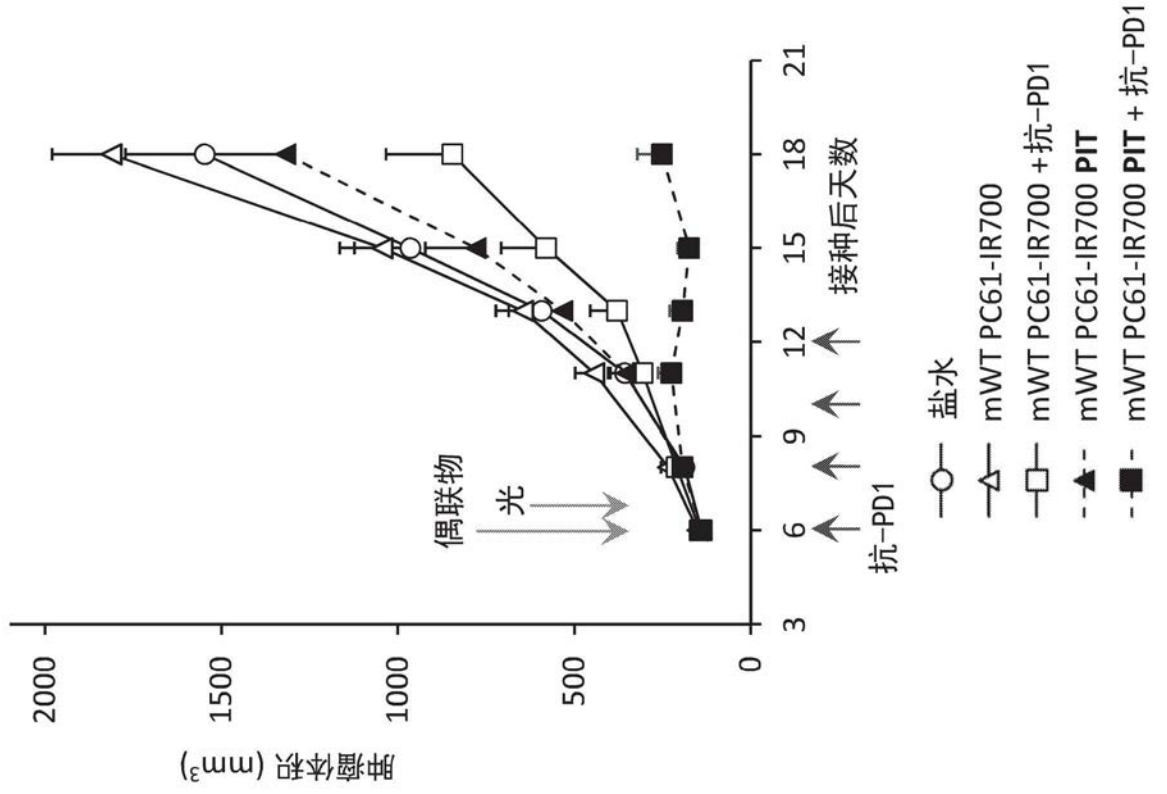

异源体积 (mm³)
2000
1500
1000
500
0
3
6
9
12
15
18
21
接种后天数
抗-PD1
光
偶联物
盐水
mWT PC61-IR700
mWT PC61-IR700 +抗-PD1
mWT PC61-IR700 PIT
mWT PC61-IR700 PIT + 抗-PD1

图4A

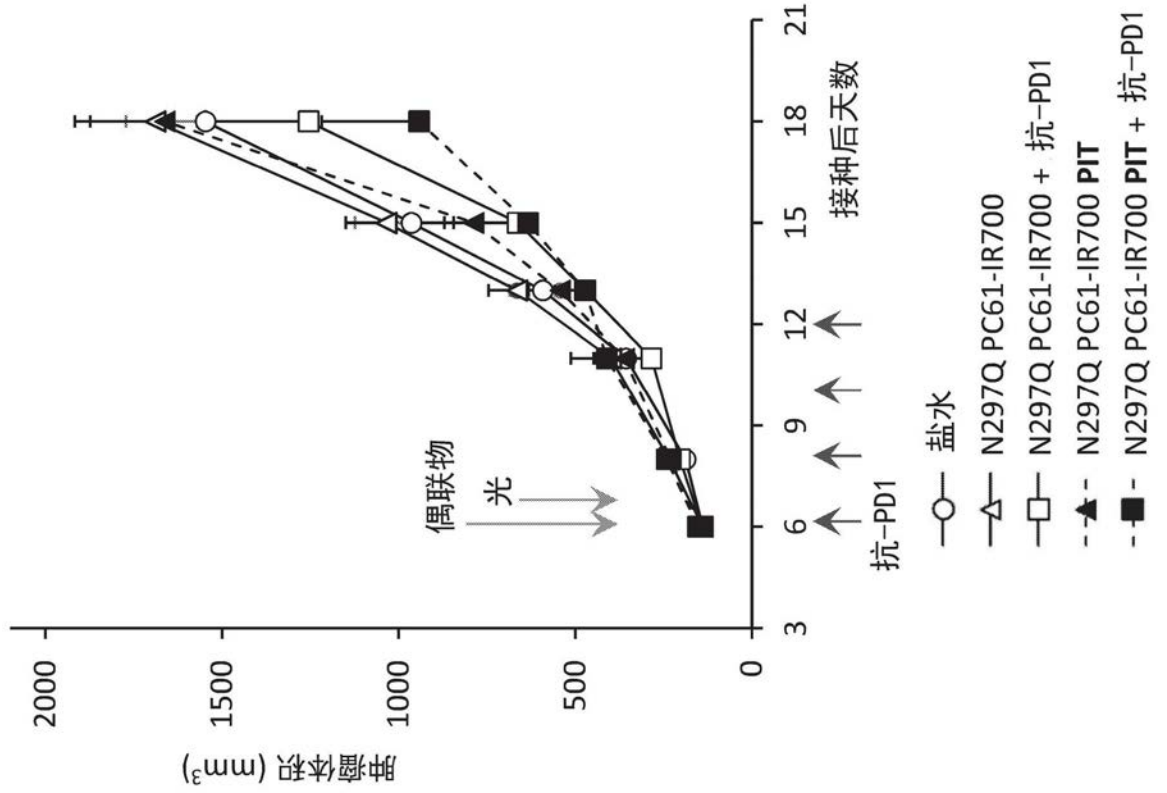

异源体积 (mm³)
2000
1500
1000
500
0
3
6
9
12
15
18
21
接种后天数
抗-PD1
光
偶联物
盐水
N297Q PC61-IR700
N297Q PC61-IR700 + 抗-PD1
N297Q PC61-IR700 PIT
N297Q PC61-IR700 PIT + 抗-PD1

图4B

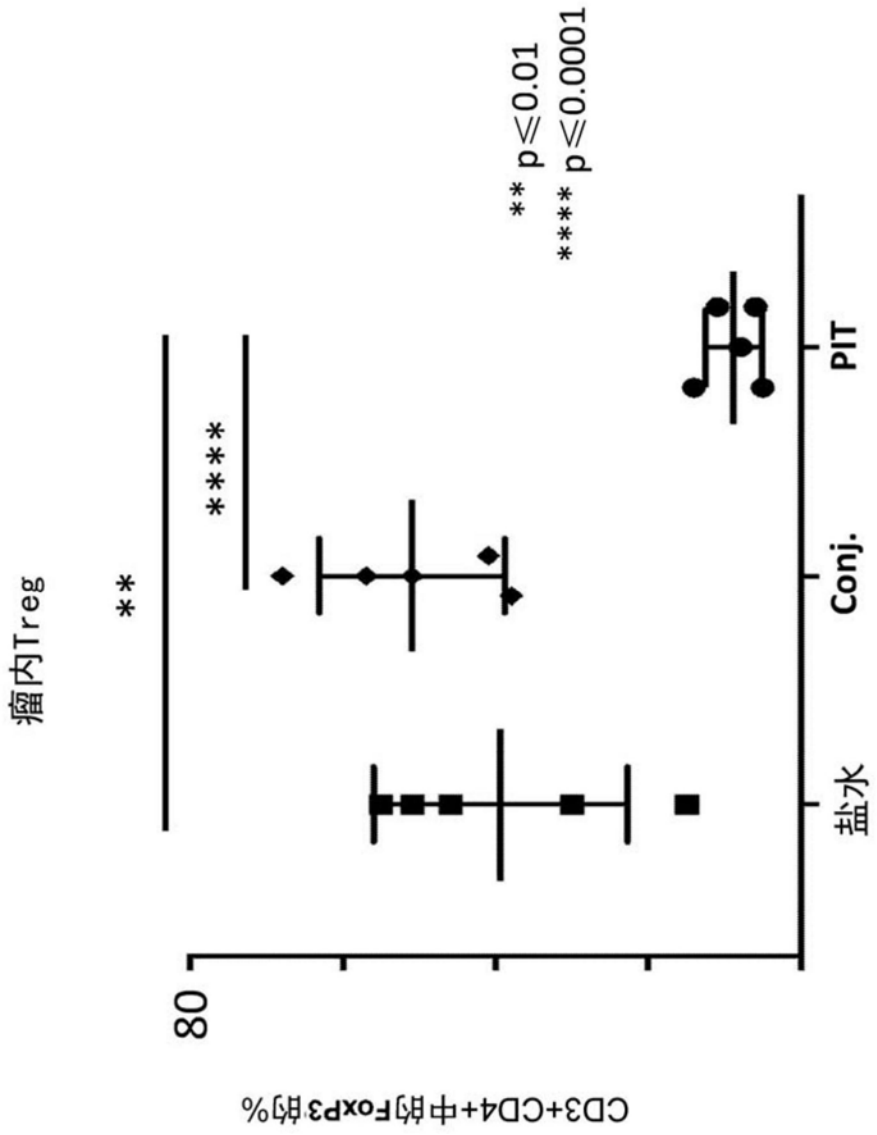


图5

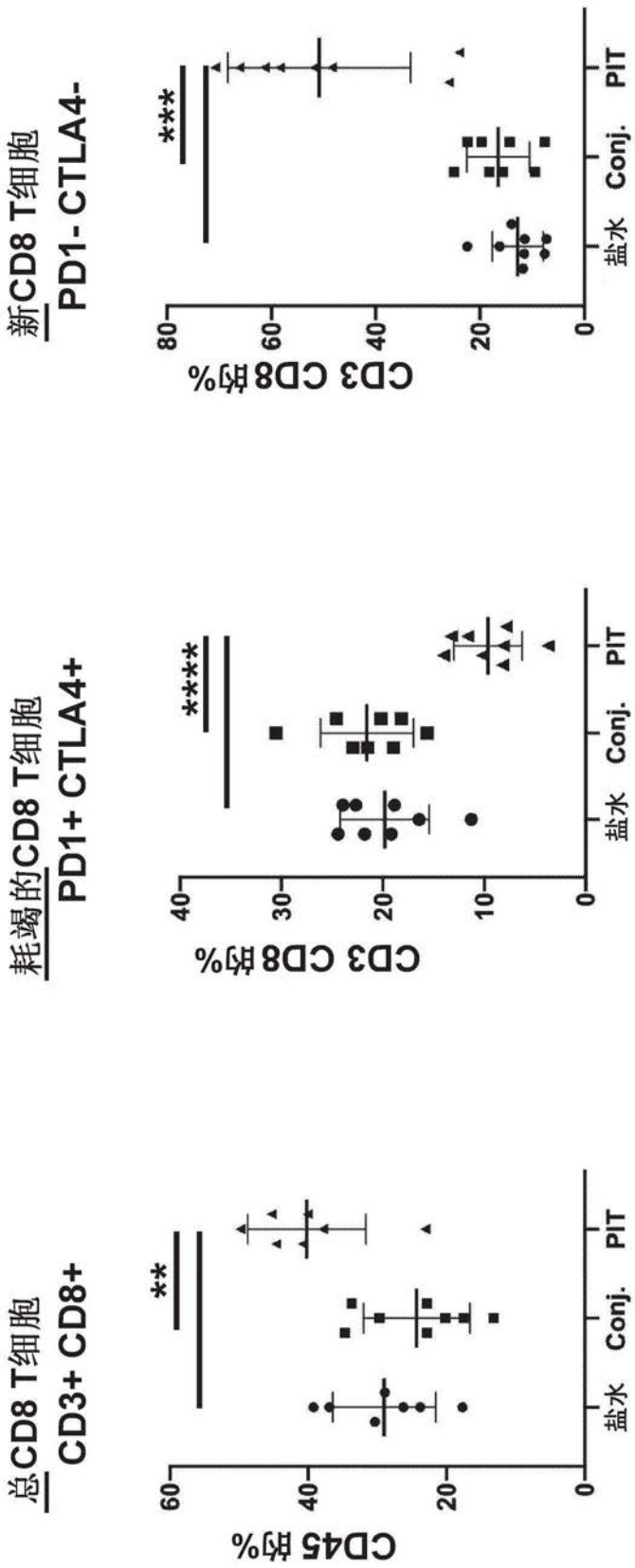


图 6A

**P ≤0.01
***P ≤0.001
****P ≤0.0001

图 6B

图 6C

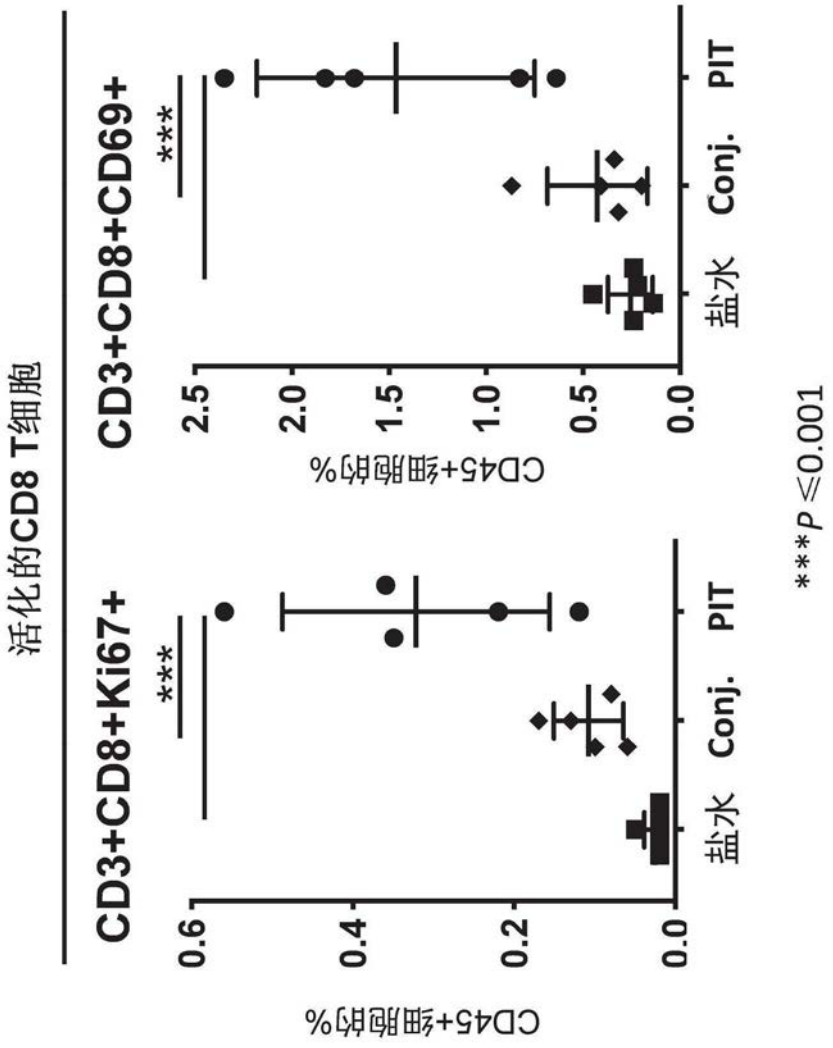

活化的CD8 T细胞
CD3+CD8+Ki67+
CD3+CD8+CD69+
CD45+细胞的%
0.0
0.2
0.4
0.6
0.5
1.0
1.5
2.0
2.5
***
盐水
Conj.
PIT
***P≤0.001

图7

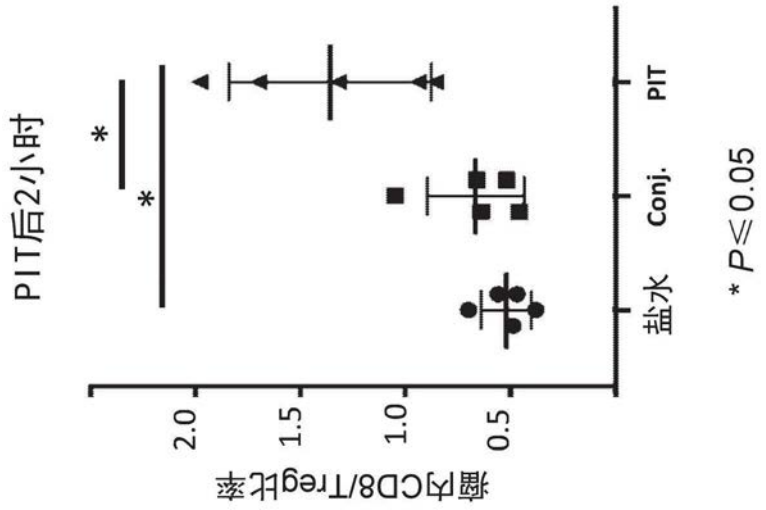

PIT后2小时
瘤内CD8/Treg比率
0.5
1.0
1.5
2.0
*
盐水
Conj.
PIT
* P≤0.05

图8A

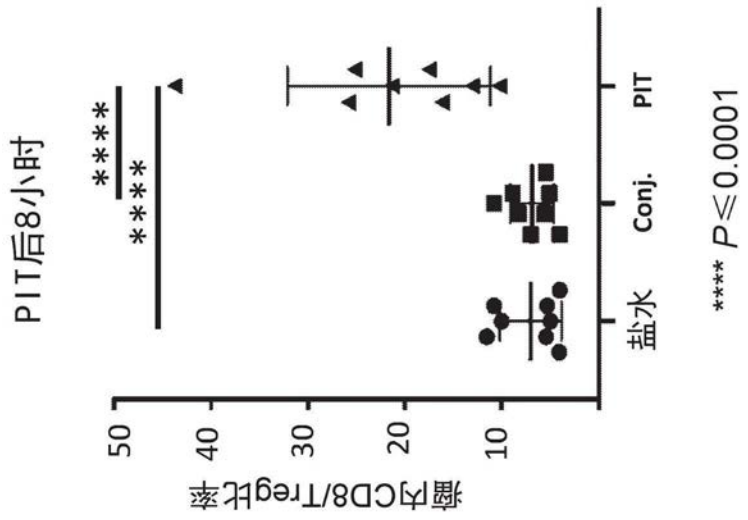


图8B

处理	拒绝肿瘤再攻击的动物
PC61 PIT	5/5 (100%)
PC61 PIT + 抗-PD1	17/17 (100%)

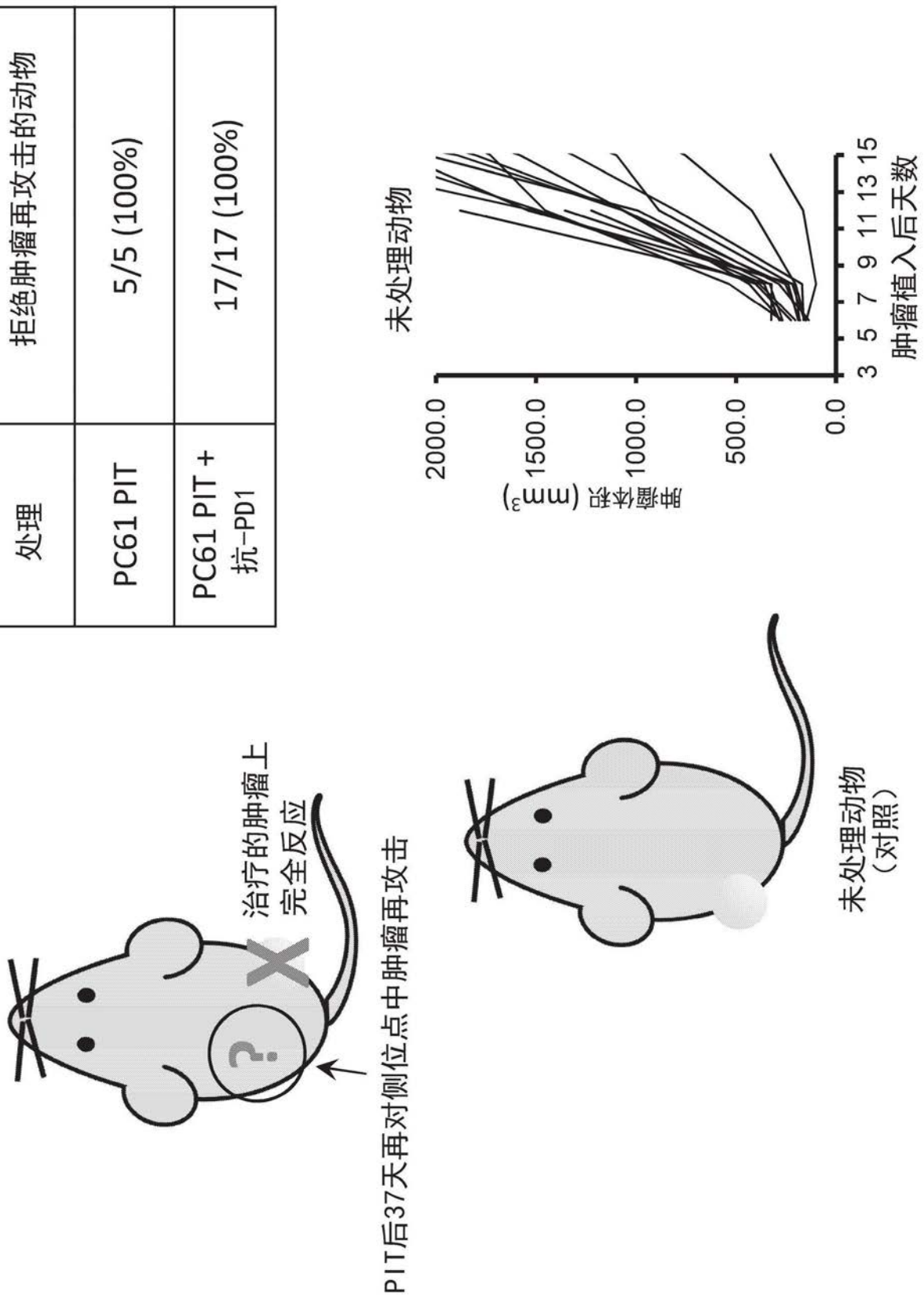


图9

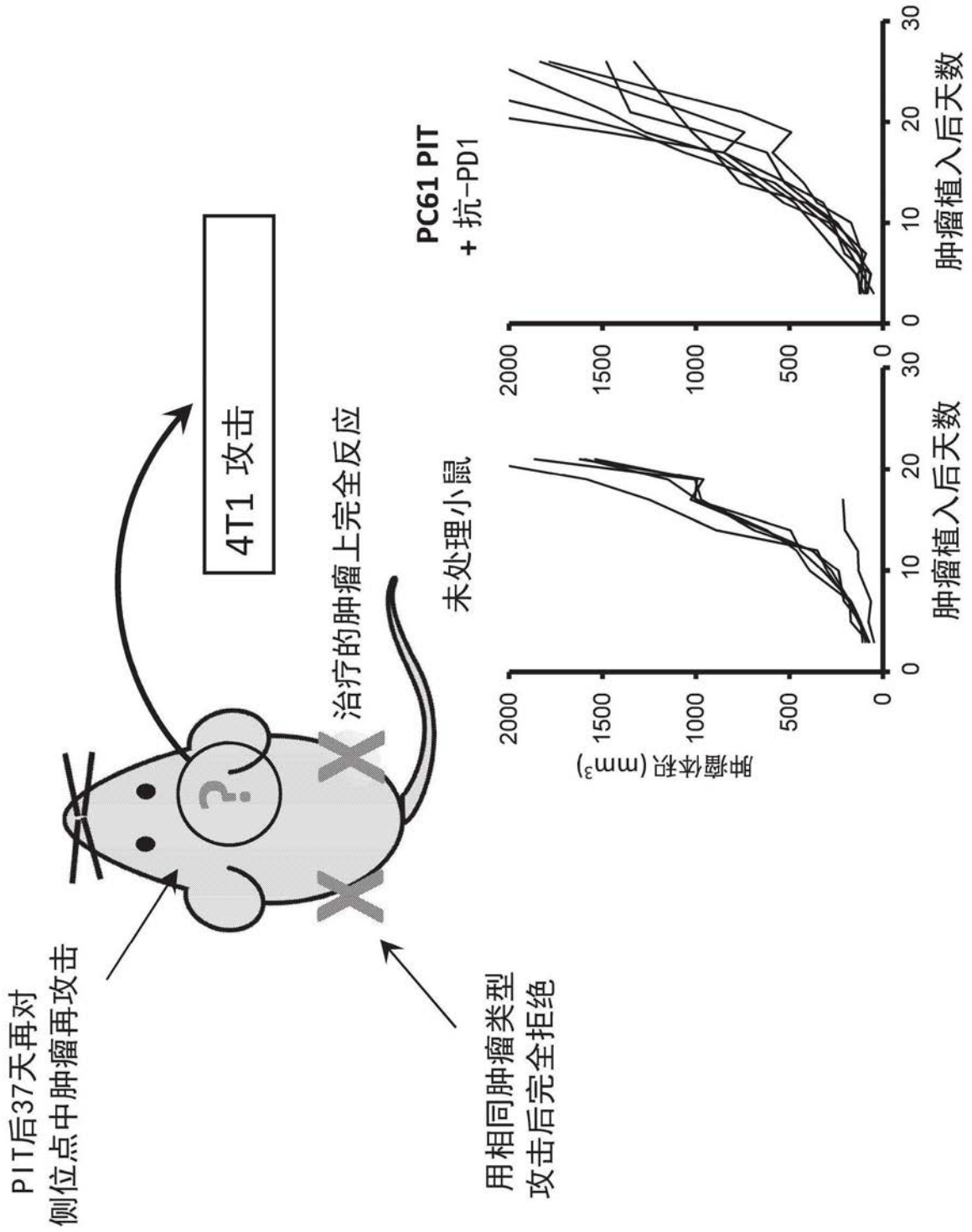

PIT后37天再对
侧位点中肿瘤再攻击
4T1 攻击
治疗的肿瘤上完全反应
用相同肿瘤类型
攻击后完全拒绝
未处理小鼠
PC61 PIT
+ 抗-PD1
肿瘤体积 (mm3)
肿瘤植入后天数
肿瘤植入后天数
0
500
1000
1500
2000
0
10
20
30

图10

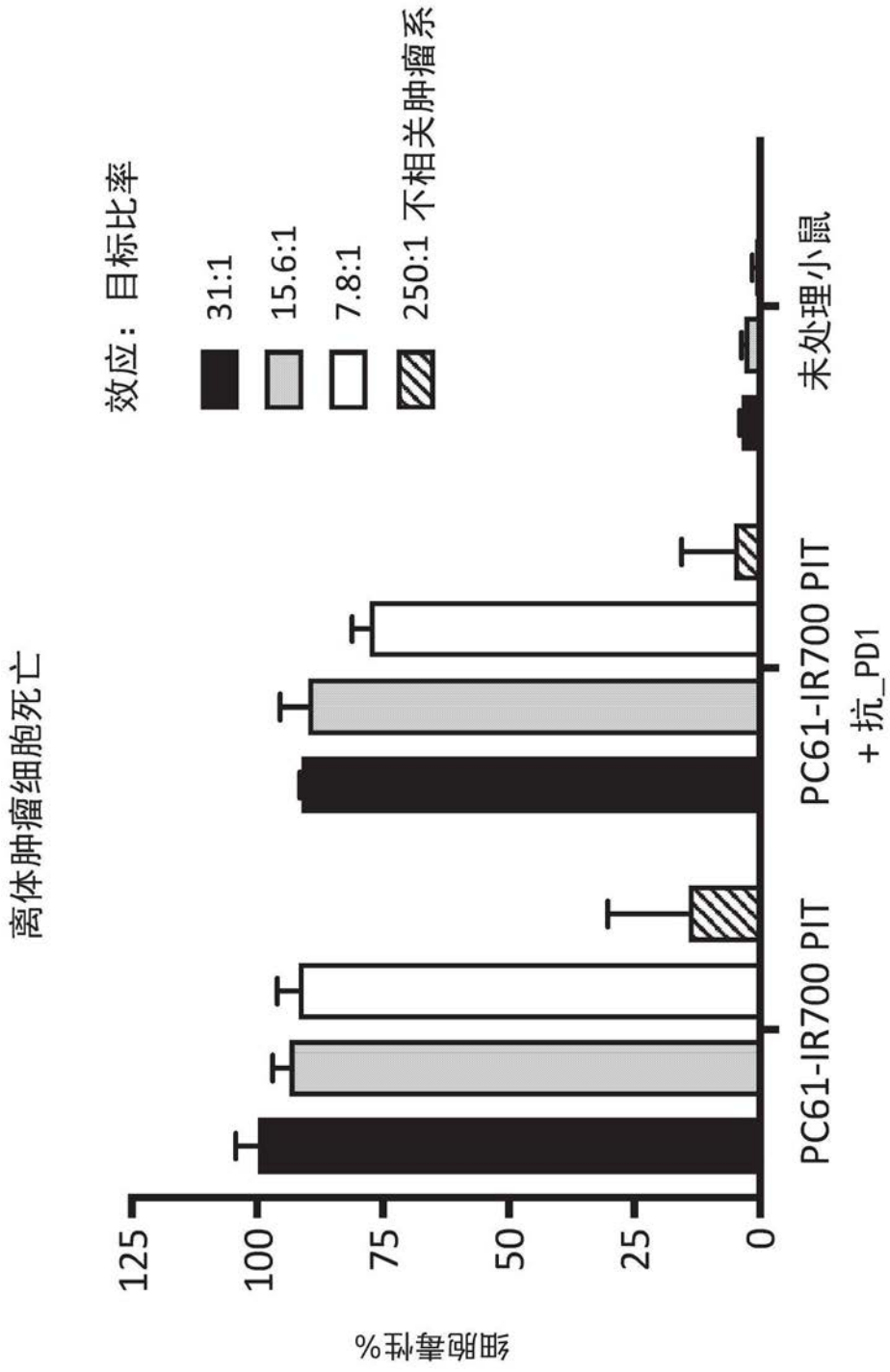

离体肿瘤细胞死亡
效应：目标比率
31:1
15.6:1
7.8:1
250:1 不相关肿瘤系
细胞毒性%
125
100
75
50
25
0
PC61-IR700 PIT
PC61-IR700 PIT
+ 抗_PD1
未处理小鼠

图11

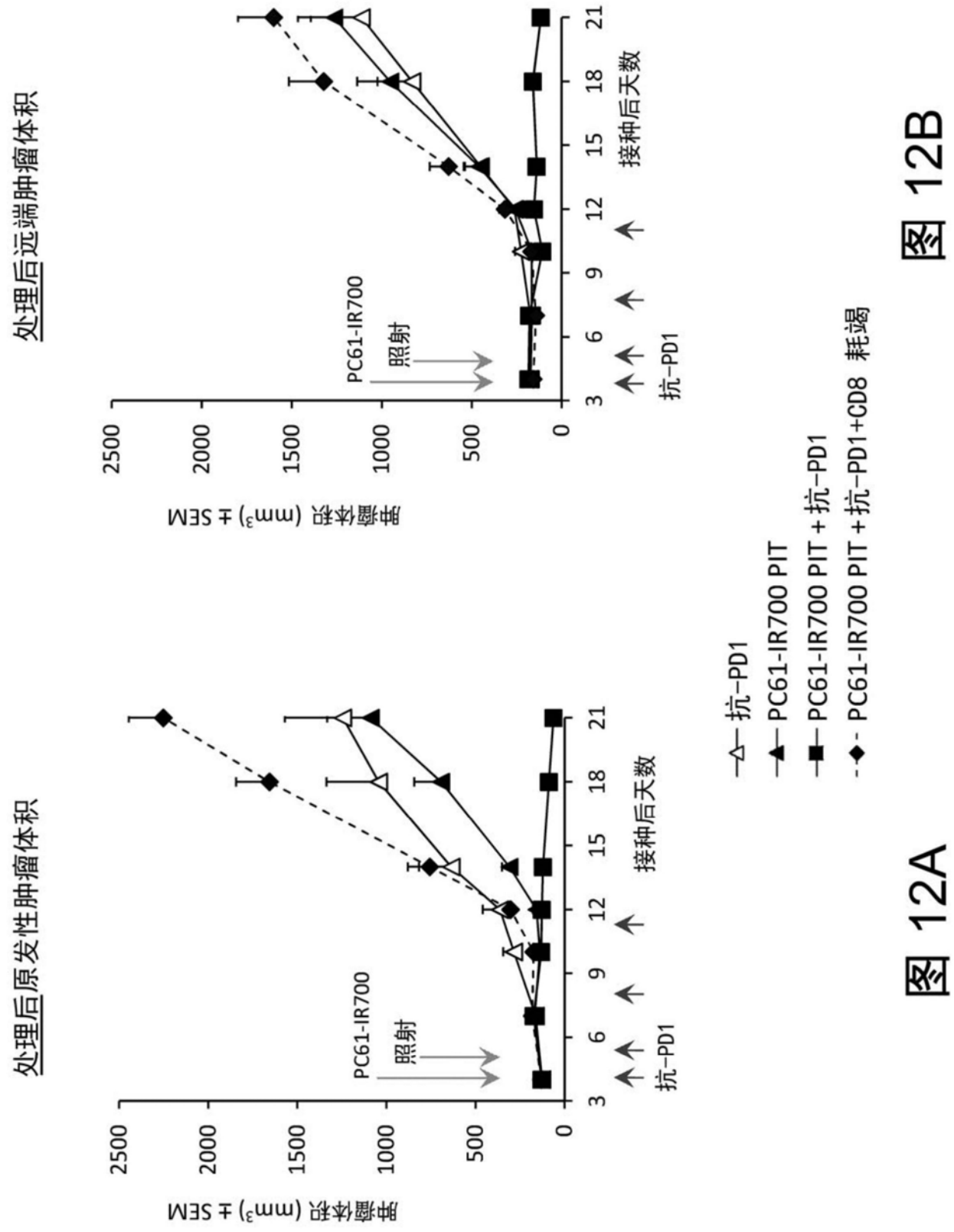

处理后原发性肿瘤体积
处理后远端肿瘤体积
平均体积 (mm³) ± SEM
2500
2000
1500
1000
500
0
PC61-IR700
照射
3
6
9
12
15
18
21
抗-PD1
接种后天数
抗-PD1
PC61-IR700 PIT
PC61-IR700 PIT + 抗-PD1
PC61-IR700 PIT + 抗-PD1+CD8 耗竭

图 12A

图 12B

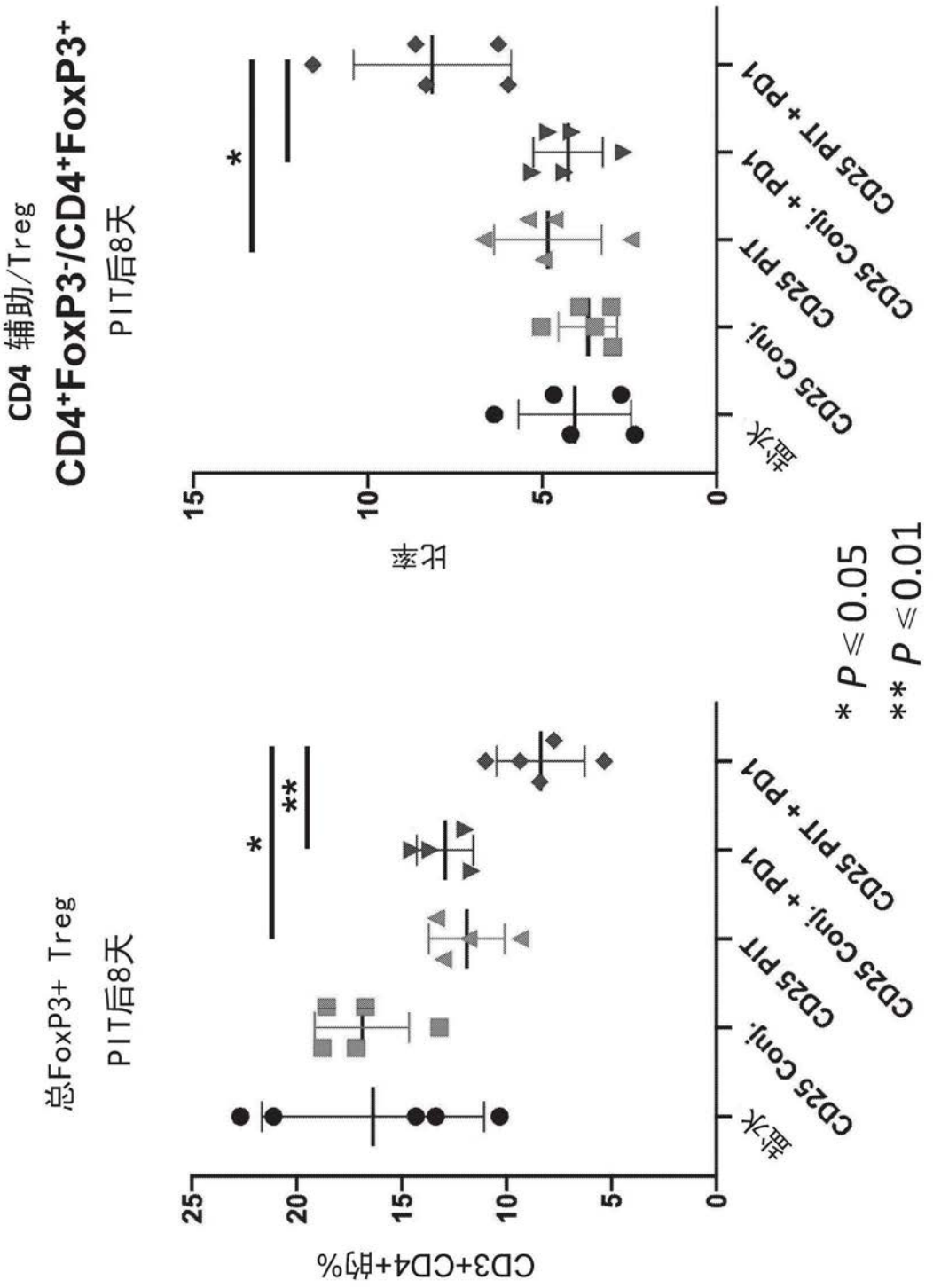

CD4 辅助/Treg
CD4+FoxP3-/CD4+FoxP3+
PIT后8天
比率
盐水
CD25 Conj.
CD25 PIT
CD25 Conj. + PD1
CD25 PIT + PD1
总FoxP3+ Treg
PIT后8天
CD3+CD4+的%
* P ≤ 0.05
** P ≤ 0.01

图 13B

图 13A

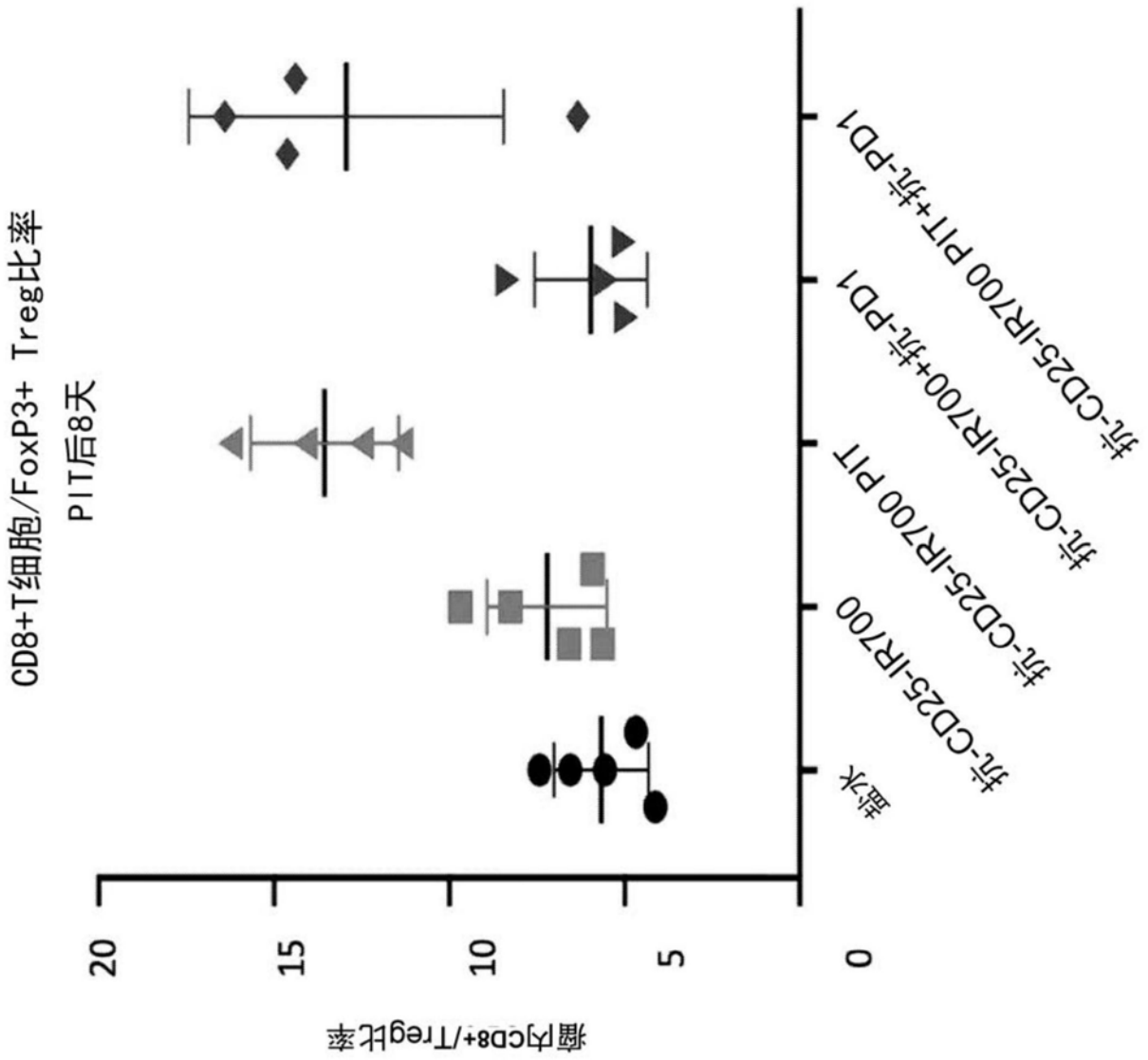

CD8+T细胞/FoxP3+ Treg比率
PIT后8天
瘤内CD8+/Treg比率
20
15
10
5
0
盐水
抗-CD25-IR700
抗-CD25-IR700 PIT
抗-CD25-IR700+抗-PD1
抗-CD25-IR700 PIT+抗-PD1

图13C

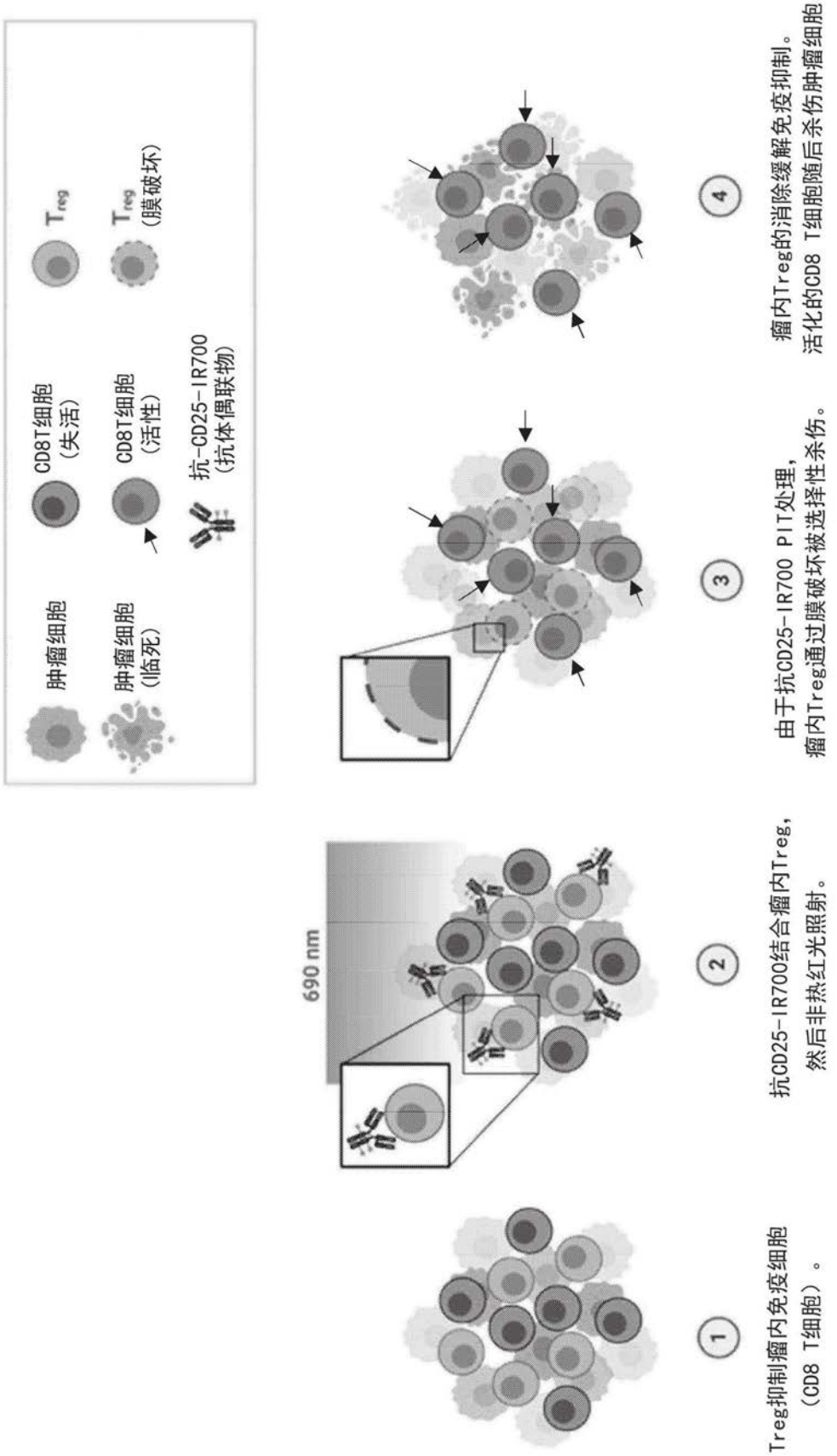

肿瘤细胞
肿瘤细胞
(临死)
CD8T细胞
(失活)
CD8T细胞
(活性)
抗-CD25-IR700
(抗体偶联物)
Treg
Treg
(膜破坏)
690 nm
1
Treg抑制瘤内免疫细胞
(CD8 T细胞)。
2
抗CD25-IR700结合瘤内Treg,
然后非热红光照射。
3
由于抗CD25-IR700 PIT处理,
瘤内Treg通过膜破坏被选择性杀伤。
4
瘤内Treg的消除缓解免疫抑制。
活化的CD8 T细胞随后杀伤肿瘤细胞。

图14