



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I679976 B

(45)公告日：中華民國 108 (2019) 年 12 月 21 日

(21)申請案號：103139447

(22)申請日：中華民國 103 (2014) 年 11 月 13 日

(51)Int. Cl. : *A61K31/436 (2006.01)**A61K31/4745(2006.01)**A61K31/5377(2006.01)**A61P37/04 (2006.01)*

(30)優先權：2013/11/13 美國

61/903,636

2014/07/21 美國

62/027,121

2014/09/19 美國

62/052,629

2014/11/06 美國

62/076,142

(71)申請人：瑞士商諾華公司 (瑞士) NOVARTIS AG (CH)

瑞士

(72)發明人：曼尼克 瓊安 MANNICK, JOAN (US)；葛萊斯 大衛 GLASS, DAVID (US)；墨

菲 里昂 MURPHY, LEON (US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

US 2011/0129496A1

審查人員：傅玉妃

申請專利範圍項數：17 項 圖式數：8 共 143 頁

(54)名稱

低及免疫增強劑量之MTOR抑制劑及其用途

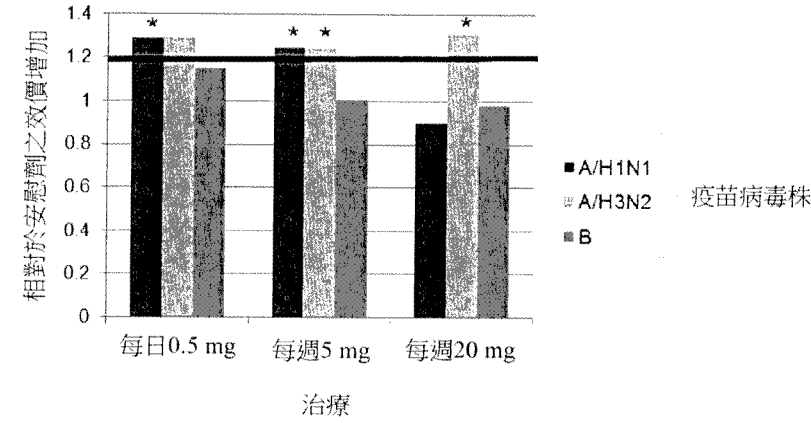
(57)摘要

本發明部分關於藉由部分 mTOR 抑制，例如使用低及免疫增強劑量之 mTOR 抑制劑(諸如 RAD001)，來增強免疫反應的組合物及方法。

The present invention relates, in part, to compositions and methods for enhancement of an immune response by partial mTOR inhibition, e.g., with low, immune enhancing, doses of an mTOR inhibitor, such as RAD001.

指定代表圖：

A.



B.

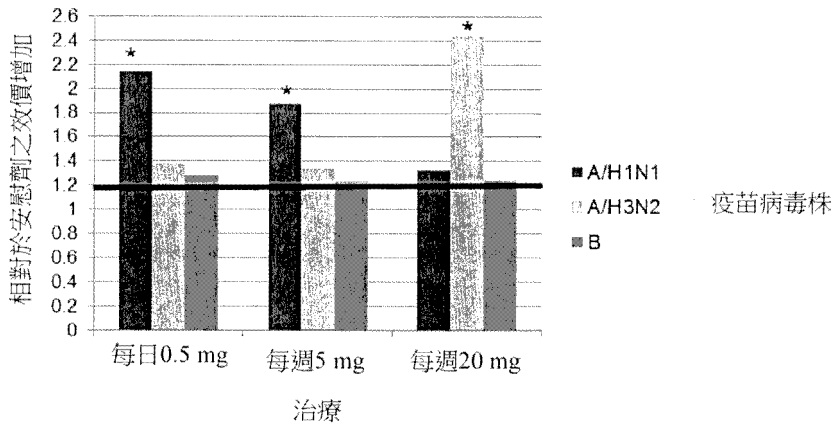


圖1

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】

低及免疫增強劑量之MTOR抑制劑及其用途

LOW, IMMUNE ENHANCING, DOSE MTOR INHIBITORS AND
USES THEREOF

[相關申請案]

本申請案主張於2013年11月13日申請之美國序號61/903,636、於2014年7月21日申請之美國序號62/027,121、於2014年9月19日申請之美國序號62/052,629及於2014年11月6日申請之美國序號62/076,142的優先權，此等申請案中之每一者之全部內容以引用的方式併入本文中。

【先前技術】

功能性及有效的T細胞反應在抗例如傳染性疾病(infectious disease)及癌症之有效免疫反應中起重要作用。然而，在某些條件下，諸如慢性感染或癌症，效應T細胞可能受各種免疫抑制性機制抑制，該等機制包括漸進式死亡配位體-1 (PD-L1)/漸進式死亡-1 (PD-1)相互作用，導致T細胞衰竭(Pen等人 Gene Therapy 21, 262-271, 2014)。據認為通常大部分細胞類型表現PD-L1，而其受體PD-1僅存在於特定免疫細胞上，諸如活化T細胞及調節T (Treg)細胞。亦據認為PD-L1/PD-1結合對維持外周T細胞耐受性，防止自動免疫反應而言至關重要。另一方面，較高水準之PD-1表現一般與T細胞功能損失有關，其在病毒感染之情況下導致病毒負荷增加(Pen等人 Gene Therapy 21, 262-271, 2014)。

【發明內容】

本文所揭示之方法及組合物至少部分基於以下發現：使用例如低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑之部分mTOR抑制對改良個體中之免疫功能有效，該mTOR抑制劑例如異位mTOR抑制劑，諸如RAD001。雖然不希望受理論束縛，但咸信使用低及免疫增強劑量(例如不足以完全抑制免疫系統但足以改良免疫功能之劑量)之mTOR抑制劑之治療伴隨著PD-1陽性免疫效應細胞(例如T細胞)減少，PD-1陰性免疫效應細胞(例如T細胞)增加或PD-1陰性免疫效應細胞(例如T細胞)/PD-1陽性免疫效應細胞(例如T細胞)之比率升高。PD-1陽性T細胞(而非PD-1陰性T細胞)可能因與表現例如PD-L1或PD-L2之PD-1配位體的細胞接合(engagement)而衰竭。因此，本發明之實施例至少部分基於以下認知：例如使用低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑之部分mTOR抑制與漸進式死亡(PD)-1陽性CD4及CD8 T淋巴細胞之百分比下降有關。

因此，在一個態樣中，本發明係關於促進例如人類個體之個體免疫反應的方法，其包含：

向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑，例如RAD001或雷帕黴素(rapamycin)，

從而增強或促進個體免疫反應。

在一實施例中，以疫苗形式投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑(例如RAD001或雷帕黴素)及抗原。

在一實施例中，以佐劑組合物或化合物形式投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑，例如RAD001或雷帕黴素。

例示性mTOR抑制劑在本文中描述於例如以下標題為「**mTOR抑制劑**」之部分中。

在一實施例中，mTOR抑制劑為異位mTOR抑制劑。在一實施例中，mTOR抑制劑為RAD001。在一實施例中，mTOR抑制劑為雷帕黴

素。

在一實施例中，mTOR抑制劑為催化抑制劑，例如激酶抑制劑。
在一實施例中，激酶抑制劑對mTOR具有選擇性。在一實施例中，激酶抑制劑係選自BEZ235及CCG168。

在一實施例中，低及免疫增強劑量包含複數種mTOR抑制劑。在一實施例中，低及免疫增強劑量包含異位及催化mTOR抑制劑。

在一實施例中，投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑持續足以使以下一或多者發生的時間量：

- i) PD-1陽性免疫效應細胞之數目減少；
 - ii) PD-1陰性免疫效應細胞之數目增加；
 - iii) PD-1陰性免疫效應細胞/PD-1陽性免疫效應細胞之比率升高；
 - iv) 原始T細胞之數目增加；
 - v) 例如在記憶T細胞(例如記憶T細胞前驅體)上以下標識物中之一或多者之表現增加：CD62L^高、CD127^高、CD27⁺及BCL2；
 - vi) 例如在記憶T細胞(例如記憶T細胞前驅體)上KLRG1表現減少；或
 - vii) 記憶T細胞前驅體、例如具有以下特徵之任一者或組合之細胞之數目增加：CD62L^高增加、CD127^高增加、CD27⁺增加、KLRG1降低及BCL2增加；
- 且其中例如相較於未經治療之個體，i)、ii)、iii)、iv)、v)、vi)或vii)例如至少暫時發生。

在一實施例中，例如促進例如人類個體之個體免疫反應的治療方法包含：抑制由PD-1與PD-L1或PD-L2之接合介導之陰性免疫反應。

在一實施例中，例如促進例如人類個體之個體免疫反應的治療

方法包含：增加能夠增殖之T細胞數目。

在一實施例中，例如促進例如人類個體之個體免疫反應的治療方法包含：提高具有細胞毒性功能、能夠分泌細胞因子或活化之T細胞數目。

在一實施例中，例如促進例如人類個體之個體免疫反應的治療方法包含：增加能夠向B細胞提供T細胞幫助之T細胞數目。

在一實施例中，投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑使得部分而非完全抑制mTOR至少1、5、10、20、30或60天。

在一實施例中，投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑使得mTOR部分而非完全抑制，只要需要增強免疫反應。

在一實施例中，低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑與至少5%但不超過90%之mTOR抑制有關，如例如藉由p70 S6K抑制所測量。在一實施例中，mTOR抑制劑包含RAD001。(用於評估mTOR抑制水準之方法在本文中描述於例如以下標題為「**mTOR抑制評估**」之部分中。)

在一實施例中，低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑與至少10%但不超過80%之mTOR抑制有關，如例如藉由p70 S6K抑制所測量。在一實施例中，mTOR抑制劑包含RAD001。

在一實施例中，低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑與至少10%但不超過40%之mTOR抑制有關，如例如藉由p70 S6K抑制所測量。在一實施例中，mTOR抑制劑包含RAD001。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑包含例如每週一次，例如以立即釋放劑型投與0.1 mg至20 mg，0.5 mg至10 mg，2.5 mg至7.5 mg，3 mg至6 mg，或約5 mg之RAD001。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑包含每週一次以立即釋放劑型投與約5 mg之RAD001。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑包

含例如每週一次，例如以立即釋放劑型投與除RAD001外之mTOR抑制劑之量，其生物等效於每週一次立即釋放劑型之0.1 mg至20 mg，0.5 mg至10 mg，2.5 mg至7.5 mg，3 mg至6 mg，或約5 mg之RAD001。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑包含每週一次以立即釋放劑型投與除RAD001外之mTOR抑制劑之量，其生物等效於每週一次立即釋放劑型之約5 mg之RAD001。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑包含例如每週一次，例如以持續釋放劑型投與0.3 mg至60 mg，1.5 mg至30 mg，7.5 mg至22.5 mg，9 mg至18 mg，或約15 mg之RAD001。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑包含每週一次以持續釋放劑型投與約15 mg之RAD001。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑包含例如每週一次，例如以持續釋放劑型投與除RAD001外之mTOR抑制劑之量，其生物等效於每週一次持續釋放劑型之0.3 mg至60 mg，1.5 mg至30 mg，7.5 mg至22.5 mg，9 mg至18 mg，或約15 mg之RAD001。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑包含每週一次以持續釋放劑型投與除RAD001外之mTOR抑制劑之量，其生物等效於每週一次持續釋放劑型之約15 mg之RAD001。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑包含例如每日一次，例如以立即釋放劑型投與0.005 mg至1.5 mg，0.01 mg至1.5 mg，0.1 mg至1.5 mg，0.2 mg至1.5 mg，0.3 mg至1.5 mg，0.4 mg至1.5 mg，0.5 mg至1.5 mg，0.6 mg至1.5 mg，0.7 mg至1.5 mg，0.8 mg至1.5 mg，1.0 mg至1.5 mg，0.3 mg至0.6 mg，或約0.5 mg之RAD001。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑包含每日一次以立即釋放劑型投與約0.5 mg之RAD001。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑包含例如每日一次，例如以立即釋放劑型投與除RAD001外之mTOR抑制劑之量，其生物等效於每日一次立即釋放劑型之0.005 mg至1.5 mg，0.01 mg至1.5 mg，0.1 mg至1.5 mg，0.2 mg至1.5 mg，0.3 mg至1.5 mg，0.4 mg至1.5 mg，0.5 mg至1.5 mg，0.6 mg至1.5 mg，0.7 mg至1.5 mg，0.8 mg至1.5 mg，1.0 mg至1.5 mg，0.3 mg至0.6 mg，或約0.5 mg之RAD001。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑包含每日一次以立即釋放劑型投與除RAD001外之mTOR抑制劑之量，其生物等效於每日一次立即釋放劑型之約0.5 mg之RAD001。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑包含例如每日一次，例如以持續釋放劑型投與0.015 mg至4.5 mg，0.03 mg至4.5 mg，0.3 mg至4.5 mg，0.6 mg至4.5 mg，0.9 mg至4.5 mg，1.2 mg至4.5 mg，1.5 mg至4.5 mg，1.8 mg至4.5 mg，2.1 mg至4.5 mg，2.4 mg至4.5 mg，3.0 mg至4.5 mg，0.9 mg至1.8 mg，或約1.5 mg之RAD001。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑包含例如每日一次，例如以持續釋放劑型投與除RAD001外之mTOR抑制劑之量，其生物等效於每日一次持續釋放劑型之0.015 mg至4.5 mg，0.03 mg至4.5 mg，0.3 mg至4.5 mg，0.6 mg至4.5 mg，0.9 mg至4.5 mg，1.2 mg至4.5 mg，1.5 mg至4.5 mg，1.8 mg至4.5 mg，2.1 mg至4.5 mg，2.4 mg至4.5 mg，3.0 mg至4.5 mg，0.9 mg至1.8 mg，或約1.5 mg之RAD001。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑包



含例如每週一次，例如以持續釋放劑型投與0.1 mg至30 mg，0.2 mg至30 mg，2 mg至30 mg，4 mg至30 mg，6 mg至30 mg，8 mg至30 mg，10 mg至30 mg，1.2 mg至30 mg，14 mg至30 mg，16 mg至30 mg，20 mg至30 mg，6 mg至12 mg，或約10 mg之RAD001。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑包含例如每週一次，例如以持續釋放劑型投與除RAD001外之mTOR抑制劑之量，其生物等效於每週一次持續釋放劑型之0.1 mg至30 mg，0.2 mg至30 mg，2 mg至30 mg，4 mg至30 mg，6 mg至30 mg，8 mg至30 mg，10 mg至30 mg，1.2 mg至30 mg，14 mg至30 mg，16 mg至30 mg，20 mg至30 mg，6 mg至12 mg，或約10 mg之RAD001。

在一實施例中，mTOR抑制劑為RAD001且劑量提供約0.1 ng/ml與3 ng/ml之間，0.3 ng/ml或低於0.3 ng/ml與3 ng/ml之間或0.3 ng/ml或低於0.3 ng/ml與1 ng/ml之間的範圍內之最低含量(trough level)的RAD001。

在一實施例中，mTOR抑制劑不為RAD001且劑量生物等效於提供約0.1 ng/ml與3 ng/ml之間，0.3 ng/ml或低於0.3 ng/ml與3 ng/ml之間或0.3 ng/ml或低於0.3 ng/ml與1 ng/ml之間的範圍內之RAD001最低含量的RAD001劑量。

在一實施例中，個體患有癌症。例示性癌症在本文中描述於例如以下標題為「病症 癌症」之部分中。在一實施例中，個體患有癌症，但另外無免疫功能低下(immunocompromised)，例如，無HIV+，並不患有AIDS或未免疫衰老(immunosenescent)。在一實施例中，個體患有癌症，但除了歸因於任何抗癌治療另外無免疫功能低下，例如，無HIV+，並不患有AIDS或未免疫衰老。

在一實施例中，個體患有癌症且該方法包含促進個體對癌症之免疫反應。在一實施例中，基於患有癌症選擇個體。在一實施例中，

基於需要促進免疫反應或可能受益於免疫反應之促進選擇個體。在一實施例中，癌症細胞表現PD-L1或PD-L2。在一實施例中，癌症微環境中之細胞表現PD-L1或PD-L2。

在一實施例中，癌症包含實體腫瘤。在一實施例中，癌症為血液癌症。在一實施例中，癌症為白血病。在一實施例中，癌症為黑素瘤。

在一實施例中，促進個體免疫反應包含使個體(例如患有癌症之個體)對抑制免疫系統或殺死T細胞之額外治療有所準備，該額外治療例如投與藥物，例如化學治療或輻射。在一實施例中，低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑(例如RAD001)減少與額外治療相關之免疫抑制。

在一實施例中，該方法進一步包含向個體施以額外治療，例如化學治療、輻射、細胞療法、骨髓移植。在一實施例中，額外治療包含如本文所描述之藥物或治療之組合，參見例如以下標題為「**組合治療**」之部分。在一實施例中，該方法進一步包含施以殺死T細胞之額外治療，例如輻射或細胞毒性化學療法。在一實施例中，在額外治療開始之前、與額外治療一起或在額外治療開始之後投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑。在一實施例中，該方法進一步包含施以癌症之額外治療。

在一實施例中，該方法進一步包含施以抑制免疫系統之額外治療，例如投與藥物，例如化學治療或輻射。在一實施例中，在抑制免疫系統之額外治療開始之前、與抑制免疫系統之額外治療一起或在抑制免疫系統之額外治療開始之後投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑，例如RAD001。雖然不希望受理論束縛，但咸信低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑允許較廣範圍之治療選項。在不希望受理論束縛之情況下，咸信此歸因於個體之免疫反應性得到改善。在一實施例中，低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑可允許更加積極地施以額外治療。



因此，在一實施例中，投與之單位劑量、總劑量、頻率或投與次數增加。在一實施例中，該增加係相對於參考投與而言，例如在不存在低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑下提供之護理標準。在一實施例中，該增加係相對於在不存在低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑下將產生最大可耐受或可接受水準之免疫抑制的投與而言。在另一實施例中，免疫增強劑量之mTOR抑制劑可允許較不積極地施以額外治療。因此，在一實施例中，投與之單位劑量、總劑量、頻率或投與次數減少。在一實施例中，該減少係相對於參考投與而言，例如在不存在低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑下提供之護理標準。在一實施例中，該減少係相對於在不存在低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑下將產生最大可耐受或可接受水準之免疫抑制的投與而言。

在一實施例中，個體免疫功能低下。在一實施例中，個體為HIV+或患有AIDs。

因此，在一實施例中，促進個體免疫反應包含促進免疫功能低下之個體之免疫反應，該免疫功能低下之個體例如患有例如遺傳性或後天性免疫缺乏，例如病毒介導性免疫缺乏之免疫缺乏的個體，例如HIV+之個體或患有AIDS之個體。在一實施例中，該方法進一步包含施以免疫缺乏之額外治療，例如抗病毒劑。在一實施例中，個體為HIV+或患有AIDS且額外治療包含投與抗病毒劑，例如核苷逆轉錄酶抑制劑，例如阿巴卡韋(abacavir)、地達諾新(didanosine)、安卓西他濱(emtricitabine)、拉米夫定(lamivudine)、司他夫定(stavudine)、田諾弗(tenofovir)、紮西他濱(zalcitabine)或齊多夫定(zidovudine)或其組合，例如可比韋(combivir) (齊多夫定及拉米夫定)、曲利志韋(trizivir) (齊多夫定、拉米夫定及阿巴卡韋)、艾普茨康(epzicom) (阿巴卡韋及拉米夫定)及特魯瓦達(田諾弗及拉米夫定)。在一實施例中，額外治療包含投與蛋白酶抑制劑，例如安普那韋(amprenavir)、阿格尼瑞斯

(agenerase)、阿紮那韋(atazanavir)、夫沙那韋(fosamprenavir)、茆地那韋(indinavir)、洛匹那韋(lopinavir)、利托那韋(ritonavir)或沙奎那韋(saquinavir)或其組合。在一實施例中，在額外治療開始之前、與額外治療一起或在額外治療開始之後投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑，例如RAD001。雖然不希望受理論束縛，但咸信低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑允許較廣範圍之治療選項。在不希望受理論束縛之情況下，咸信此歸因於個體之免疫反應性得到改善。在一實施例中，低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑可允許更加積極地施以額外治療。因此，在一實施例中，投與之單位劑量、總劑量、頻率或投與次數增加。在一實施例中，該增加係相對於參考投與而言，例如在不存在低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑下提供之護理標準。在一實施例中，該增加係相對於不存在低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑下將產生最大可耐受或可接受水準之副作用的投與而言。在另一實施例中，免疫增強劑量之mTOR抑制劑可允許較不積極地施以額外治療。因此，在一實施例中，投與之單位劑量、總劑量、頻率或投與次數減少。在一實施例中，該減少係相對於參考投與而言，例如在不存在低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑下提供之護理標準。在一實施例中，該減少係相對於不存在低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑下將產生最大可耐受或可接受水準之副作用的投與而言。

在一實施例中，個體患有傳染性疾病，例如肝炎，例如A型、B型或C型肝炎或其他病原性感染。例示性病原性感染在本文中描述於例如以下標題為「病症 病原性感染」之部分中。在一實施例中，個體患有傳染性疾病或患有病原性感染，但另外無免疫功能低下，例如未免疫衰老。

在一實施例中，個體免疫反應受損。在一實施例中，個體免疫衰老。

基線或免疫前效價可用於為例如與接種疫苗組合之低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑或投與抗原以刺激免疫反應選擇患者。在一實施例中，對於抗體之測定水準或效價反應，將個體歸類為可能受益於投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑，該投與例如在疫苗或抗原投與之前或與疫苗或抗原投與一起進行。在一實施例中，對於抗體之測定水準或效價反應，例如處於或低於參考值之水準或效價，為低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑選擇個體，或在疫苗或抗原投與之前或與疫苗或抗原投與一起向個體投與較低的、免疫增強劑量之mTOR抑制劑。在一實施例中，對於抗體之測定水準或效價反應，例如高於參考值之水準或效價，為替代性療法選擇個體，或向個體施以替代性療法，例如在未投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑之情況下投與疫苗或抗原。

在一實施例中，個體感染流感病毒或處於感染流感病毒之風險下，該流感病毒例如A型流感或B型流感病毒。

在一實施例中，該方法包含增強對例如A型流感或B型流感病毒之流感病毒之免疫反應。A型流感病毒之特徵在於在病毒表面上顯示之血球凝集素(HA)多肽及神經氨酸苷酶(鈉)多肽兩種醣蛋白中之一者或兩者。存在表示為H1-17之17種HA抗原及表示為N1-9之九種不同的NA抗原。

在此等實施例中，抗原或疫苗包含流感抗原，例如A型或B型流感抗原。在一實施例中，抗原包含HA抗原，例如H1-17中之任一者。在一實施例中，抗原係選自H1N1、H2N2、H3N2、H5N1、H7N7、H1N2、H9N2、H7N2、H7N3、H10N7或H7N9。

在一實施例中，抗原係選自H1N1、H2N3及B流感亞型。在一實施例中，抗原為肺炎球菌抗原。

在一實施例中，共同投與抗原及mTOR抑制劑。在一實施例中，



依次投與抗原及mTOR抑制劑。在一實施例中，個體小於65歲。

在一實施例中，流感抗體之相對較低的基線或免疫前水準或效價預計與例如RAD001之mTOR抑制劑相關的流感病毒(例如A型流感病毒)抗體效價增加更大。在一實施例中，評估個體在投與抗原或疫苗之前的抗流感抗體效價。在一實施例中，評估包含採集(例如直接採集或間接採集)抗流感抗體效價之量測值。抗體之效價可與參考值進行比較。相對較低的效價，例如處於或低於參考值之效價，例如小於或等於1:40之效價(例如如本文中所量測)指示與例如RAD001之mTOR抑制劑相關的抗體效價增加更大。因此，基線或免疫前效價可用於為例如與接種疫苗組合之低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑或投與抗原以保護免患例如A型流感之流感選擇患者。在一實施例中，對於所測定之抗體效價反應，將個體歸類為可能受益於投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑，該投與例如在疫苗或抗原投與之前或與疫苗或抗原投與一起進行。在一實施例中，對於所測定之抗體效價反應，例如處於或低於參考值之效價，為較低的、免疫增強劑量之mTOR抑制劑選擇個體，或在疫苗或抗原投與之前或與疫苗或抗原投與一起向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑。在一實施例中，對於所測定之抗體效價反應，例如高於參考值之效價，為替代性療法選擇個體，或向個體施以替代性療法，例如在未投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑之情況下投與疫苗或抗原。

在一實施例中，個體並未接受疫苗，例如並未得到疫苗，而mTOR抑制劑以促進免疫反應之含量存在。在一實施例中，疫苗為抗癌疫苗或抗感染物疫苗。在一實施例中，疫苗為例如阿茲海默病(Alzheimers)之神經病症的治療疫苗。

在一實施例中，個體在低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑開始之前的10、20、30、40、50、60、70、80或90天內並未接受例如癌症疫

苗之疫苗。

在一實施例中，個體並未在低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑開始之後10、20、30、40、50、60、70、80或90天內接受例如癌症疫苗之疫苗。

在一實施例中，在疫苗接種時或在疫苗接種之後投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑。在一實施例中，在疫苗接種之前、在疫苗接種時或在疫苗接種之後的24、10、5、4、3、2或1小時內投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑。

在另一態樣中，本發明提供評估經低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑治療例如以促進或增強對流感疫苗或抗原之免疫反應之個體的方法，其包含：

測定個體之抗流感抗體之基線或免疫前效價是否等於或低於1:40；及

對於該測定反應，將個體歸類為例如可能受益於低及免疫增強劑量之RAD001或為該個體選擇治療過程。

在一實施例中，測定包含直接採集抗體效價。

在一實施例中，測定包含間接採集抗體效價。

在一實施例中，抗體效價等於或低於1:40且個體被歸類為有可能受益於低及免疫增強劑量之RAD001。

在一實施例中，抗體效價等於或低於1:40且向該個體投與低及免疫增強劑量之RAD001。

在一實施例中，向個體投與流感疫苗或抗原。

在一實施例中，抗體效價大於1:40且個體被歸類為不太可能受益於低及免疫增強劑量之RAD001。

在另一態樣中，本發明提供疫苗或疫苗組合物，其包含本文所描述之低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑(例如RAD001或雷帕黴素)及

抗原。

在一實施例中，疫苗或疫苗組合物包含疫苗抗原及約0.005 mg至1.5 mg之mTOR抑制劑RAD001或生物等效劑量之不同mTOR抑制劑。

在一實施例中，疫苗或疫苗組合物包含約0.01 mg至1 mg，約0.01 mg至0.7 mg，約0.01 mg至0.5 mg，或約0.1 mg至0.5 mg之RAD001或生物等效劑量之不同mTOR抑制劑。

在一實施例中，組合物包含約0.5 mg之RAD001或生物等效劑量之不同mTOR抑制劑。

在一實施例中，組合物包含足以在接受投與該組合物之個體中將P70 S6激酶活性抑制不超過80%之量的mTOR抑制劑。

在一實施例中，組合物包含足以在接受投與該組合物之個體中將P70 S6激酶活性抑制不超過38%之量的mTOR抑制劑。

在一實施例中，相比於安慰劑，組合物在接受投與該組合物之個體中使免疫反應提高至少1.2倍。

在一實施例中，mTOR抑制劑為雷帕黴素。

在一實施例中，mTOR抑制劑為雷帕黴素類似物(rapalog)。

在一實施例中，疫苗抗原來源於流感。

在一實施例中，疫苗抗原係選自由以下組成之群：H1N1、H2N3及B流感亞型。

在一實施例中，疫苗抗原來源於肺炎球菌。

在另一態樣中，本發明提供佐劑或佐劑組合物或化合物，其包含本文所描述之低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑，例如RAD001或雷帕黴素。

在一實施例中，疫苗佐劑包含約0.005 mg至1.5 mg之mTOR抑制劑RAD001或生物等效劑量之不同mTOR抑制劑。

在一實施例中，疫苗佐劑包含足以將細胞中之P70 S6激酶活性抑

制不超過80%之量的mTOR抑制劑。在另一實施例中，疫苗佐劑包含足以將細胞中之P70 S6激酶活性抑制不超過38%之量的mTOR抑制劑。

在一實施例中，疫苗佐劑包含mTOR抑制劑，其中該mTOR抑制劑為雷帕黴素。

在一實施例中，疫苗佐劑包含mTOR抑制劑，其中該mTOR抑制劑為雷帕黴素類似物。

在一實施例中，疫苗佐劑包含約0.01 mg至1 mg，0.01 mg至0.7 mg，0.01 mg至0.5 mg，或0.1 mg至0.5 mg之RAD001或生物等效劑量之不同mTOR抑制劑。

在一實施例中，疫苗佐劑包含約0.5 mg之RAD001或生物等效劑量之不同mTOR抑制劑。

在一態樣中，本發明提供收集例如T細胞之免疫效應細胞或使例如靈長類(例如人類)之哺乳動物對T細胞之收集有所準備以形成T細胞之免疫效應細胞製劑的方法，其中該方法包含：向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑(例如RAD001或雷帕黴素)持續足以使以下情況發生之時間量：在哺乳動物中或在自哺乳動物收集之免疫效應細胞(例如T細胞)製劑中PD-1陽性免疫效應細胞(例如T細胞)之比例下降或PD-1陰性免疫效應細胞(例如T細胞)之比例升高。

在一實施例中，該方法包含收集免疫效應細胞，例如T細胞。在一實施例中，該方法包含形成免疫效應細胞製劑，例如T細胞製劑。

在一實施例中，免疫效應細胞為T細胞。在一實施例中，T細胞為表現CD4 (CD4⁺或CD4)之T細胞。在一實施例中，T細胞為表現CD8 (CD8⁺或CD8)之T細胞。在一實施例中，T細胞包含複數個CD4⁺ T細胞及CD8⁺ T細胞。

在一實施例中，收集免疫效應細胞之方法進一步包含評估個體

中或取自於個體之T細胞中之PD1陰性或PD1陽性免疫效應細胞(例如T細胞)水準。

在一實施例中，收集免疫效應細胞之方法進一步包含收集T細胞以形成T細胞製劑。

在一實施例中，收集免疫效應細胞之方法進一步包含提供T細胞製劑。

在一實施例中，在收集T細胞之前至少1、2、3、4、5、10、15、20、25或30天開始向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑。

在一實施例中，在收集T細胞之前至少30、60、90或120天開始向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑。

在一實施例中，在末次投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑之後1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、60或90天內進行T細胞之收集。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑使得在收集T細胞之前mTOR部分(而非完全)抑制至少1、2、3、4、5、10、15、20、25或30天以形成來自哺乳動物之T細胞製劑。

在一實施例中，在已測定出在個體中存在mTOR之部分抑制之後1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、60或90天內進行T細胞之收集。

在一實施例中，在個體中部分mTOR抑制開始之後1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、60或90天內進行T細胞之收集。

在一實施例中，T細胞製劑包含PD-1陰性T細胞。

在一實施例中，至少80%至90%所收集之T細胞為PD-1陰性。

在一實施例中，不超過10%至20%所收集之T細胞為PD-1陽性。

在一實施例中，mTOR抑制劑為異位mTOR抑制劑。在一實施例

中，mTOR抑制劑為RAD001。在一實施例中，mTOR抑制劑為雷帕黴素。

在一實施例中，mTOR抑制劑為催化抑制劑，例如激酶抑制劑。在一實施例中，激酶抑制劑對mTOR具有選擇性。在一實施例中，激酶抑制劑係選自BEZ235及CCG168。

在一實施例中，低及免疫增強劑量包含複數種mTOR抑制劑。在一實施例中，劑量包含異位及催化mTOR抑制劑。

在一實施例中，投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑持續足以使以下一或多者發生的時間量：

- i) PD-1陽性免疫效應細胞之數目減少；
- ii) PD-1陰性免疫效應細胞之數目增加；
- iii) PD-1陰性免疫效應細胞/PD-1陽性免疫效應細胞之比率升高；
- iv) 原始T細胞之數目增加；
- v) 例如在記憶T細胞(例如記憶T細胞前驅體)上以下標識物中之一或多者之表現增加：CD62L^高、CD127^高、CD27⁺及BCL2；
- vi) 例如在記憶T細胞(例如記憶T細胞前驅體)上KLRG1表現減少；或
- vii) 記憶T細胞前驅體、例如具有以下特徵之任一者或組合之細胞之數目增加：CD62L^高增加、CD127^高增加、CD27⁺增加、KLRG1降低及BCL2增加；

且其中例如相較於未經治療之個體，i)、ii)、iii)、iv)、v)、vi)或vii)例如至少暫時發生。

在一實施例中，例如促進例如人類個體之個體免疫反應的治療方法包含：抑制由PD-1與PD-L1或PD-L2接合所介導之陰性免疫反應。

在一實施例中，例如促進例如人類個體之個體免疫反應的治療方法包含：增加能夠增殖之T細胞數目。

在一實施例中，例如促進例如人類個體之個體免疫反應的治療方法包含：提高具有細胞毒性功能、能夠分泌細胞因子或活化之T細胞數目。

在一實施例中，例如促進例如人類個體之個體免疫反應的治療方法包含：增加能夠向B細胞提供T細胞幫助之T細胞數目。

在一實施例中，投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑使得部分而非完全抑制mTOR至少1、5、10、20、30或60天。

在一實施例中，投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑使得mTOR部分而非完全抑制，只要需要增強免疫反應。

在一實施例中，低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑與至少5%但不超過90%之mTOR抑制有關，如例如藉由p70 S6K抑制所測量。在一實施例中，mTOR抑制劑包含RAD001。

在一實施例中，低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑與至少10%但不超過80%之mTOR抑制有關，如例如藉由p70 S6K抑制所測量。在一實施例中，mTOR抑制劑包含RAD001。

在一實施例中，低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑與至少10%但不超過40%之mTOR抑制有關，如例如藉由p70 S6K抑制所測量。在一實施例中，mTOR抑制劑包含RAD001。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑包含例如每週一次，例如以立即釋放劑型投與0.1 mg至20 mg，0.5 mg至10 mg，2.5 mg至7.5 mg，3 mg至6 mg，或約5 mg之RAD001。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑包含每週一次以立即釋放劑型投與約5 mg之RAD001。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑包

含例如每週一次，例如以立即釋放劑型投與除RAD001外之mTOR抑制劑之量，其生物等效於每週一次立即釋放劑型之0.1 mg至20 mg，0.5 mg至10 mg，2.5 mg至7.5 mg，3 mg至6 mg，或約5 mg之RAD001。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑包含每週一次以立即釋放劑型投與除RAD001外之mTOR抑制劑之量，其生物等效於每週一次立即釋放劑型之約5 mg之RAD001。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑包含例如每週一次，例如以持續釋放劑型投與0.3 mg至60 mg，1.5 mg至30 mg，7.5 mg至22.5 mg，9 mg至18 mg，或約15 mg之RAD001。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑包含每週一次以持續釋放劑型投與約15 mg之RAD001。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑包含例如每週一次，例如以持續釋放劑型投與除RAD001外之mTOR抑制劑之量，其生物等效於每週一次持續釋放劑型之0.3 mg至60 mg，1.5 mg至30 mg，7.5 mg至22.5 mg，9 mg至18 mg，或約15 mg之RAD001。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑包含每週一次以持續釋放劑型投與除RAD001外之mTOR抑制劑之量，其生物等效於每週一次持續釋放劑型之約15 mg之RAD001。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑包含例如每日一次，例如以立即釋放劑型投與0.005 mg至1.5 mg，0.01 mg至1.5 mg，0.1 mg至1.5 mg，0.2 mg至1.5 mg，0.3 mg至1.5 mg，0.4 mg至1.5 mg，0.5 mg至1.5 mg，0.6 mg至1.5 mg，0.7 mg至1.5 mg，0.8 mg至1.5 mg，1.0 mg至1.5 mg，0.3 mg至0.6 mg，或約0.5 mg之RAD001。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑包含每日一次以立即釋放劑型投與約0.5 mg之RAD001。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑包含例如每日一次，例如以立即釋放劑型投與除RAD001外之mTOR抑制劑之量，其生物等效於每日一次立即釋放劑型之0.005 mg至1.5 mg，0.01 mg至1.5 mg，0.1 mg至1.5 mg，0.2 mg至1.5 mg，0.3 mg至1.5 mg，0.4 mg至1.5 mg，0.5 mg至1.5 mg，0.6 mg至1.5 mg，0.7 mg至1.5 mg，0.8 mg至1.5 mg，1.0 mg至1.5 mg，0.3 mg至0.6 mg，或約0.5 mg之RAD001。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑包含每日一次以立即釋放劑型投與除RAD001外之mTOR抑制劑之量，其生物等效於每日一次立即釋放劑型之約0.5 mg之RAD001。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑包含例如每日一次，例如以持續釋放劑型投與0.015 mg至4.5 mg，0.03 mg至4.5 mg，0.3 mg至4.5 mg，0.6 mg至4.5 mg，0.9 mg至4.5 mg，1.2 mg至4.5 mg，1.5 mg至4.5 mg，1.8 mg至4.5 mg，2.1 mg至4.5 mg，2.4 mg至4.5 mg，3.0 mg至4.5 mg，0.9 mg至1.8 mg，或約1.5 mg之RAD001。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑包含例如每日一次，例如以持續釋放劑型投與除RAD001外之mTOR抑制劑之量，其生物等效於每日一次持續釋放劑型之0.015 mg至4.5 mg，0.03 mg至4.5 mg，0.3 mg至4.5 mg，0.6 mg至4.5 mg，0.9 mg至4.5 mg，1.2 mg至4.5 mg，1.5 mg至4.5 mg，1.8 mg至4.5 mg，2.1 mg至4.5 mg，2.4 mg至4.5 mg，3.0 mg至4.5 mg，0.9 mg至1.8 mg，或約1.5 mg之RAD001。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑包

含例如每週一次，例如以持續釋放劑型投與0.1 mg至30 mg，0.2 mg至30 mg，2 mg至30 mg，4 mg至30 mg，6 mg至30 mg，8 mg至30 mg，10 mg至30 mg，1.2 mg至30 mg，14 mg至30 mg，16 mg至30 mg，20 mg至30 mg，6 mg至12 mg，或約10 mg之RAD001。

在一實施例中，向個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑包含例如每週一次，例如以持續釋放劑型投與除RAD001外之mTOR抑制劑之量，其生物等效於每週一次持續釋放劑型之0.1 mg至30 mg，0.2 mg至30 mg，2 mg至30 mg，4 mg至30 mg，6 mg至30 mg，8 mg至30 mg，10 mg至30 mg，1.2 mg至30 mg，14 mg至30 mg，16 mg至30 mg，20 mg至30 mg，6 mg至12 mg，或約10 mg之RAD001。

在一實施例中，mTOR抑制劑為RAD001且劑量提供約0.3 ng/ml或低於0.3 ng/ml與3 ng/ml之間或0.3 ng/ml或低於0.3 ng/ml與1 ng/ml之間的範圍內之最低含量的RAD001。

在一實施例中，mTOR抑制劑不為RAD001且劑量生物等效於提供約0.3 ng/ml或低於0.3 ng/ml與3 ng/ml之間或0.3 ng/ml或低於0.3 ng/ml與1 ng/ml之間的範圍內之RAD001最低含量的RAD001劑量。

在一實施例中，個體患有癌症且該方法包含促進個體對癌症之免疫反應。在一實施例中，基於患有癌症選擇個體。在一實施例中，癌症細胞表現PD-L1或PD-L2。在一實施例中，癌症微環境中之細胞表現PD-L1或PD-L2。

在一實施例中，癌症包含實體腫瘤。在一實施例中，癌症為血液癌症。在一實施例中，癌症為白血病。在一實施例中，癌症為黑素瘤。在一實施例中，癌症係選自表1。

在一實施例中，個體免疫功能低下。在一實施例中，個體為HIV+或患有AIDs。在一實施例中，個體患有傳染性疾病。

在一實施例中，個體患有傳染性疾病，例如肝炎，例如A型、B

型或C型肝炎。在一實施例中，個體患有傳染性疾病，但另外無免疫功能低下，例如未免疫衰老。

在一實施例中，個體免疫反應受損。在一實施例中，個體免疫衰老。

在一實施例中，個體感染病毒、細菌、原蟲、微生物、病原體或寄生蟲。

在一實施例中，個體患有年齡相關之病狀。

在一實施例中，個體小於65歲。

在一實施例中，個體並未接受疫苗，例如並未得到疫苗，而mTOR抑制劑以促進免疫反應之含量存在。在一實施例中，疫苗為抗癌疫苗或抗感染物疫苗。在一實施例中，疫苗為例如阿茲海默氏症之神經病症的治療疫苗。

在一實施例中，個體在低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑開始之前的10、20、30、40、50、60、70、80或90天內並未接受例如癌症疫苗之疫苗。

在一實施例中，個體並未在低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑開始之後10、20、30、40、50、60、70、80或90天內接受例如癌症疫苗之疫苗。

在一實施例中，在疫苗接種時或在疫苗接種之後投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑。

在一態樣中，本文提供為獲取PD-1陰性T細胞而濃縮之人類T細胞製劑，其如例如藉由本文所描述之方法製得。在一實施例中，個體患有癌症或免疫功能低下。

在另一態樣中，本發明提供藉由實踐本文所描述之方法可獲得或可製得之例如人類T細胞之T細胞製劑。

在另一態樣中，本發明提供例如RAD001之mTOR抑制劑之單位

劑型、組合物或調配物，例如適合於經口投與之劑型。實施例在本文中描述於例如以下標題為「**較低劑量mTOR抑制劑**」之部分中。單位劑型或組合物可以立即或持續釋放調配物形式提供，參見例如以下標題為「**醫藥組合物**」及「**持續釋放**」之部分。

【圖式簡單說明】

圖1A及圖1B為展示相比於安慰劑對流感疫苗病毒株的效價增加之圖表。在圖1A中，在疫苗接種之後4週，相對於安慰劑群組中之增加，在治療意願群體中之RAD001給藥群組中之每一者展示，3種流感疫苗病毒株(H1N1 A/California/ 07/2009、H3N2 A/Victoria/210/2009、B/Brisbane/60/ 2008)中之每一者之流感幾何平均效價增加至基線以上。粗黑直線指示相對於安慰劑效價增加1.2倍，3種流感疫苗病毒株中之2者需要滿足此效價以滿足研究之主要終點。星形「*」指示相對於安慰劑GMT效價增加超過1，後驗機率為至少80%。圖1B為與圖1A具有相同資料之圖像，其係針對基線流感效價 $\leq 1:40$ 之個體子集。

圖2展示RAD001濃度與疫苗接種之後4週對各流感疫苗病毒株之幾何平均效價之倍數增加的散佈圖。在個體給藥4週持續之後量測RAD001濃度(給藥後1小時)。具有藥物動力學量測值之所有個體均包括在分析組中。在疫苗接種後4週，相對於基線之幾何平均效價倍數增加展示於y軸上。

圖3為展示相比於安慰劑對異源流感病毒株之效價增加的圖示。在疫苗接種之後4週，相對於安慰劑群組中之增加，在治療意願群體中之RAD001給藥群組中之每一者展示，流感疫苗中未含有之2種異源流感病毒株(A/H1N1病毒株 A/New Jersey/8/76及A/H3N2病毒株 A/Victoria/361/11)中之每一者之流感幾何平均效價增加至基線以上。
*指示相對於安慰劑效價增加超過1，後驗機率為至少80%。

圖4A及圖4B為在流感疫苗接種之前及之後的IgG及IgM含量之圖

示。在流感疫苗接種之前及流感疫苗接種之後4週自個體獲得之血清中量測抗A/H1N1/California/07/2009流感IgG及IgM的含量。自基線至疫苗接種後4週抗H1N1流感IgG及IgM含量變化在RAD001群組與安慰劑群組之間未檢測到顯著差異(藉由Kruskal-Wallis等級和檢驗， p 值均 >0.05)。

圖5A、圖5B及圖5C為RAD001治療之後PD-1陽性CD4及CD8下降百分比及PD-1陰性CD4 T細胞增加百分比的圖示。藉由FACS分析基線、研究藥物治療之後6週(第6週)及研究藥物停止6週之後及流感疫苗接種4週之後(第12週)的PBMC樣品來測定PD-1陽性CD4、CD8及PD-1陰性CD4 T細胞百分比。圖5A展示相比於安慰劑群組($n=25$)，在以0.5毫克/天($n=25$)、5毫克/週($n=29$)及20毫克/週($n=30$)之劑量水準接受RAD001之群組中，在第12週，PD-1陽性CD4 T細胞明顯下降(-37.1%至-28.5%)，其中分別地 $p=0.002$ (0.02)、 $p=0.003$ ($q=0.03$)且 $p=0.01$ ($q=0.05$)。圖5B展示相比於安慰劑群組($n=25$)，在以0.5毫克/天($n=25$)、5毫克/週($n=29$)及20毫克/週($n=30$)之劑量水準接受RAD001($n=109$)之群組中，在第12週，PD-1陽性CD8 T細胞明顯下降(-43.3%至-38.5%)，其中分別地 $p=0.01$ (0.05)、 $p=0.007$ ($q=0.04$)且 $p=0.01$ ($q=0.05$)。圖5C展示相比於安慰劑群組($n=25$)，在以0.5毫克/天($n=25$)、5毫克/週($n=29$)及20毫克/週($n=30$)之劑量水準接受RAD001($n=109$)之群組中，在第12週，PD-1陰性CD4 T細胞明顯增加(3.0%至4.9%)，其中分別地 $p=0.0007$ (0.02)、 $p=0.03$ ($q=0.07$)且 $p=0.03$ ($q=0.08$)。

圖6A及圖6B為在針對基線PD-1表現差異經調整之RAD001治療之後PD-1陽性CD4及CD8之下降百分比及PD-1陰性CD4 T細胞增加百分比的圖示。藉由FACS分析基線、研究藥物治療之後6週(第6週)及研究藥物停止6週之後及流感疫苗接種4週之後(第12週)的PBMC樣品來測

定PD-1陽性CD4、CD8及PD-1陰性CD4 T細胞百分比。圖6A展示在第6週，相比於安慰劑群組(n=25)，合併RAD群組(n=84)中之PD-1+CD4 T細胞明顯下降30.2%，其中 $p=0.03$ ($q=0.13$)。在第12週，相比於安慰劑群組，合併RAD群組中之PD-1陽性CD4 T細胞下降32.7%，其中 $p=0.05$ ($q=0.19$)。圖6B展示在第6週，相比於安慰劑群組(n=25)，合併RAD001群組(n=84)中之PD-1陽性CD8T細胞明顯下降37.4%，其中 $p=0.008$ ($q=0.07$)。在第12週，相比於安慰劑群體，合併RAD001群組中之PD-1陽性CD8 T細胞下降41.4%，其中 $p=0.066$ ($q=0.21$)。圖6A及圖6B表示圖5A、圖5B及圖5C中之資料，但圖5A、圖5B及圖5C中之不同RAD001劑量組在圖6A及圖6B中合併成單個RAD001處理組。

圖7描繪對於RAD001反應，老年個體之運動及能量提高。

圖8A及圖8B描繪RAD001對細胞中之P70 S6K活性之預計作用。圖8A描繪每週及每日使用較高劑量之RAD001的P70 S6激酶抑制；圖8B描繪每週使用較低劑量之RAD001的P70 S6激酶抑制。

【實施方式】

定義

除非另作定義，否則本文所使用之所有技術及科學術語均具有與由一般熟習本發明所屬之技術者通常所理解相同的含義。

術語「一(a)」及「一(an)」係指冠詞之一個或一個以上(亦即至少一個)語法賓語。舉例而言，「一要素」意謂一個要素或一個以上要素。

當涉及諸如量、暫態持續時間及其類似物之可量測值時，術語「約」係指相較於指定值 $\pm 20\%$ ，或在一些情況下 $\pm 10\%$ ，或在一些情況下 $\pm 5\%$ ，或在一些情況下 $\pm 1\%$ ，或在一些情況下 $\pm 0.1\%$ 之變化，因為此等變化適合於進行所揭示之方法。

術語「佐劑」係指當與例如調配物中之疫苗免疫原之特異性免

疫原組合使用時加強或以其他方式改變、修改或增強合成免疫反應之化合物。

術語「抗腫瘤作用」係指可藉由各種手段體現之生物作用，其包括(但不限於)例如腫瘤體積減小，腫瘤細胞數目減少，癌轉移數目減少，預期壽命增加，腫瘤細胞增殖減少，腫瘤細胞存活率降低，或與癌性病狀相關之各種生理症狀改善。「抗腫瘤作用」亦可藉由本發明之化合物(例如mTOR抑制劑)、肽、聚核苷酸、細胞及抗體對首先預防腫瘤發生之能力來體現。

術語「抗體」係指來源於與抗原特異結合之免疫球蛋白分子的蛋白質或多肽序列。抗體可為多株或單株、多鏈或單鏈或完整的免疫球蛋白且可來源於天然來源或重組來源。抗體可為免疫球蛋白分子之四聚體。

術語「抗體片段」係指完整抗體或其重組變異體之至少一個部分且係指抗原結合域，例如足以使抗體片段識別且特異結合諸如抗原之標靶的完整抗體之抗原測定可變區。抗體片段之實例包括(但不限於)Fab、Fab'、F(ab')₂及Fv片段、scFv抗體片段、直鏈抗體、諸如sdAb(VL或VH)之單域抗體、駱駝VHH域及由抗體片段形成之多特異性抗體。術語「scFv」係指包含至少一個包含輕鏈可變區之抗體片段及至少一個包含重鏈可變區之抗體片段的融合蛋白，其中輕鏈及重鏈可變區經由較短的可撓性多肽連接子連續連接且能夠表現為單鏈多肽，且其中scFv保留其所來源之完整抗體的特異性。除非指定，否則如本文所使用之scFv可具有呈例如相對於多肽之N末端及C末端之任一順序之VL及VH可變區，scFv可包含VL-連接子-VH或可包含VH-連接子-VL。

術語「抗體重鏈」係指以其天然存在之構形存在於抗體分子中之兩種類型多肽鏈中之較大者且其通常決定抗體所屬類別。

術語「抗體輕鏈」係指以其天然存在之構形存在於抗體分子中之兩種類型多肽鏈中之較小者。卡帕(κ)及拉姆達(λ)輕鏈係指兩種主要抗體輕鏈同型。

術語「抗原」或「Ag」係指引起免疫反應之分子。此免疫反應可能涉及抗體產生或特異免疫勝任細胞之活化或兩者。熟習此項技術者應理解包括幾乎所有蛋白質或肽之任何大分子可充當抗原。此外，抗原可來源於重組或基因組DNA。熟習此項技術者應理解，當在本文中使用彼術語時，包含編碼引發免疫反應之蛋白質的核苷酸序列或部分核苷酸序列之任何DNA因此編碼「抗原」。此外，熟習此項技術者應理解抗原無需僅藉由基因之核苷酸序列全長編碼。顯而易見，本發明包括(但不限於)一種以上基因之部分核苷酸序列之用途且此等核苷酸序列以各種組合排列以編碼引發所需免疫反應之多肽。此外，熟習此項技術者應理解抗原根本無需藉由「基因」編碼。顯而易見，抗原可合成產生或可來源於生物樣品或可為除多肽外之大分子。此類生物樣品可包括(但不限於)組織樣品、腫瘤樣品、具有其他生物組分之細胞或液體。

術語「抗原呈現細胞」或「APC」係指諸如輔助細胞(例如B細胞、樹突狀細胞(DC)及其類似物)之免疫系統細胞，其顯示在其表面上與主要組織相容複合體(MHC's)複合之外來抗原。T細胞可使用其T細胞受體(TCR)識別此等複合體。APC處理抗原且將其呈現給T細胞。

術語「生物等效」係指除參考化合物(例如RAD001)外之藥劑產生等效於參考劑量或參考量之參考化合物(例如RAD001)所產生作用之作用的所需量。在一實施例中，該作用為mTOR抑制水準或藉由西方墨點法之磷酸化S6含量之量測值，該mTOR抑制水準如例如藉由P70 S6激酶抑制所量測，如例如在活體內或活體外分析中所評估，如例如本文所描述之分析法(例如Boulay分析法)所量測。在一實施例

中，該作用為如細胞分選所量測之PD-1陽性/PD-1陰性T細胞之比率改變。在一實施例中，mTOR抑制劑之生物等效量或劑量為實現與參考化合物之參考劑量或參考量相同水準之P70 S6激酶抑制的量或劑量。在一實施例中，mTOR抑制劑之生物等效量或劑量為實現與參考化合物之參考劑量或參考量相同水準之PD-1陽性/PD-1陰性T細胞之比率改變的量或劑量。

術語「癌症」係指藉由異常細胞之快速且不受控制的生長表徵之疾病。癌細胞可局部擴散或經由血流及淋巴系統擴散至身體其他部分。本文描述各種癌症之實例且其包括(但不限於)乳癌、前列腺癌、卵巢癌、宮頸癌、皮膚癌、胰臟癌、結腸直腸癌、腎癌、肝癌、腦癌、淋巴瘤、白血病、肺癌及其類似癌症。在一實施例中，癌症之特徵在於在癌細胞上或在腫瘤微環境中例如PD-L1或PD-L2之PD-1配位體的表現。術語「癌症」係指所有類型之癌性生長或致癌過程、轉移性組織或惡性轉化細胞、組織或器官，無關於侵襲之組織病理學類型或階段。

如本文所用之術語「共同投與」或「組合投與」或其類似術語意謂包涵向單個患者投與所選擇之治療劑，且意欲包括治療方案，其中不必藉由相同投與途徑或在相同時間投與該等藥劑。在本文所描述之方法之一個態樣中，mTOR抑制劑及抗原可共同投與。

術語「有效量」或「治療有效量」在本文中可互換使用且其係指如本文所描述能有效地獲得特定生物結果之化合物、調配物、材料或組合物之量。

術語「編碼」係指諸如基因、cDNA或mRNA之聚核苷酸中之核苷酸之特異性序列在生物過程中充當合成其他聚合物及大分子之模板的固有特性，該等聚合物及大分子具有已確定之核苷酸序列(例如rRNA、tRNA及mRNA)或已確定之胺基酸序列及由其獲得之生物特

性。因此，若與基因相對應之 mRNA 之轉錄及轉譯在細胞或其他生物系統中產生蛋白質，則基因、cDNA 或 RNA 編碼蛋白質。核苷酸序列與 mRNA 序列一致且通常提供於序列表中的編碼鏈與用作基因或 cDNA 轉錄之模板的非編碼鏈均可稱為編碼基因或 cDNA 之蛋白質或其他產物。

術語「內因性」係指來自生物體、細胞、組織或系統內部或在生物體、細胞、組織或系統內部產生之任何物質。

術語「外生性」係指自生物體、細胞、組織或系統外部引入或產生之任何物質。

術語「表現」係指啟動子驅動之特定核苷酸序列之轉錄及/或轉譯。

術語「完全人類」係指諸如抗體或抗體片段之免疫球蛋白，其中完全分子具有人類來源或由與抗體或免疫球蛋白之人類形式一致的胺基酸序列組成。

術語「同源性」或「一致性」係指在兩個聚合分子之間，例如在諸如兩個 DNA 分子或兩個 RNA 分子之兩個核酸分子之間，或在兩個多肽分子之間的次單位序列一致性。當所比較之兩個分子中之次單位位置被相同的單體次單位佔據時；例如若兩個 DNA 分子中之每一者中之位置均被腺嘌呤佔據，則其在彼位置處為同源或一致的。兩個序列之間的同源性為匹配或同源位置數目之直接函數；例如若兩個序列中之位置有一半(例如長度為十個次單元之聚合物中之五個位置)同源，則該兩個序列為 50% 同源；若 90% 之位置(例如 10 個中之 9 個)匹配或同源，則該兩個序列為 90% 同源。

非人類(例如鼠類)抗體之「人類化」形式為含有來源於非人類免疫球蛋白之極少序列的嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白鏈或其片段(諸如 Fv、Fab、Fab'、F(ab')₂ 或抗體之其他抗原結合子序列)。大多數情

況下，人類化抗體及其抗體片段為人類免疫球蛋白(接受者抗體或抗體片段)，其中來自接受者之互補決定區(CDR)之殘基經來自諸如具有所需特異性、親和性及能力之小鼠、大鼠或兔子之非人類物種(供體抗體)之CDR的殘基置換。在一些情況下，人類免疫球蛋白之Fv構架區(FR)殘基經對應非人類殘基置換。此外，人類化抗體/抗體片段可包含既不存在於接受者抗體中亦不存在於所導入之CDR或構架序列中之殘基。此等修飾可進一步使抗體或抗體片段效能得到改進及最佳化。一般而言，人類化抗體或其抗體片段將包含實質上所有至少一個及典型地兩個可變域，其中所有或實質上所有CDR區域與非人類免疫球蛋白之彼等區域相對應且所有或絕大部分FR區域為人類免疫球蛋白序列之彼等區域。人類化抗體或抗體片段亦可包含免疫球蛋白恆定區(Fc)之至少一部分，該恆定區典型地為人類免疫球蛋白之恆定區。關於其他細節參見Jones等人, *Nature*, 321: 522-525, 1986；Reichmann等人, *Nature*, 332: 323-329, 1988；Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.*, 2: 593-596, 1992。

術語「免疫衰老(immunosenescence或immunosenescent)」係指導致例如尤其對癌症、疫苗接種、感染性病原體之免疫反應受損之免疫功能下降。其涉及尤其藉由疫苗接種之宿主對感染之反應能力及長期免疫記憶之發展兩者。此免疫缺陷普遍存在且在長壽命及短壽命物種中均可見，其隨其相對於預期壽命之年齡而非隨物理時間變化。其被認為是老年人中之罹病及死亡頻率提高之主要因素。免疫衰老並非隨機的惡化現象，相反地，其似乎反向重複進化模式且大多數受免疫衰老影響之參數似乎受基因控制。免疫衰老有時亦可設想為不可避免地暴露於諸如病毒及細菌之多種抗原下的連續性攻擊之結果。免疫衰老為例如在老齡群體中導致多種病理顯著的健康問題之多因素病狀。諸如造血幹細胞損耗、PD1+淋巴細胞增加、吞噬細胞及NK細胞總數目

減退及體液免疫性減退之年齡相關之生物變化促使免疫衰老發作。在一個態樣中，可藉由量測免疫細胞中之端粒長度來量測個體中之免疫衰老(參見例如US5741677)。免疫衰老亦可藉由在個體中記錄低於正常數目之原始CD4及/或CD8 T細胞、T細胞抗體庫(PD1表現T細胞之數目，例如低於正常數目之PD-1陰性T細胞)或大於或等於65歲之個體對疫苗接種之反應來測定。

術語「免疫反應受損」係指個體不具有例如尤其對癌症、疫苗接種、病原體感染之適當的免疫反應之狀態。在一些實施例中，預計免疫反應受損之個體在預防性疫苗接種之後無法獲得保護性抗體效價水準或其中個體在治療疫苗接種之後疾病負荷並未減輕。若個體為已知免疫功能較低或具有較低免疫功能病史之群體中之一員，諸如老年人、經受化學療法治療之個體、無脾的個體、免疫功能低下之個體或患有HIV/AIDS之個體，則個體亦可能免疫反應受損。本文所描述之方法允許藉由投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑(例如異位mTOR抑制劑，諸如RAD001)來治療免疫反應受損。

術語「經分離的」係指相較於天然狀態改變或移去。舉例而言，天然存在於活的動物中之核酸或肽並非「經分離的」，但自其天然狀態之共存材料部分或完全分離之相同核酸或肽為「經分離的」。經分離之核酸或蛋白質可以實質上經純化之形式存在或可存在於諸如宿主細胞之非原生環境中。

當與例如異位mTOR抑制劑(例如RAD001或雷帕黴素)或催化mTOR抑制劑之mTOR抑制劑一起使用時，術語「低及免疫增強劑量」係指如例如P70 S6激酶活性抑制所量測之部分(而非完全)抑制mTOR活性之mTOR抑制劑的劑量。本文論述例如藉由P70 S6激酶之抑制來評估mTOR活性之方法。該劑量不足以導致完全的免疫抑制但足以增強免疫反應。在一實施例中，低及免疫增強劑量之mTOR抑制

劑導致PD-1陽性T細胞之數目減少及/或PD-1陰性T細胞之數目增加或PD-1陰性T細胞/PD-1陽性T細胞之比率升高。在一實施例中，低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑導致原始T細胞之數目增加。在一實施例中，低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑導致以下中之一或多者：

例如在記憶T細胞(例如記憶T細胞前驅體)上以下標識物中之一或多者之表現增加：CD62L^高、CD127^高、CD27⁺及BCL2；

例如在例如記憶T細胞前驅體之記憶T細胞上KLRG1表現減少；
及

記憶T細胞前驅體、例如具有以下特徵之任一者或組合之細胞之數目增加：CD62L^高增加、CD127^高增加、CD27⁺增加、KLRG1降低及BCL2增加；

其中例如相較於未經治療之個體，上文所描述之變化中之任一者例如至少暫時發生。

在一實施例中，mTOR抑制劑之劑量與至少5%但不超過90%，至少10%但不超過90%，至少15%但不超過90%，至少20%但不超過90%，至少30%但不超過90%，至少40%但不超過90%，至少50%但不超過90%，至少60%但不超過90%，或至少70%但不超過90%之mTOR抑制有關，或提供以上各者。

在一實施例中，mTOR抑制劑之劑量與至少5%但不超過80%，至少10%但不超過80%，至少15%但不超過80%，至少20%但不超過80%，至少30%但不超過80%，至少40%但不超過80%，至少50%但不超過80%，或至少60%但不超過80%之mTOR抑制有關，或提供以上各者。

在一實施例中，mTOR抑制劑之劑量與至少5%但不超過70%，至少10%但不超過70%，至少15%但不超過70%，至少20%但不超過70%，至少30%但不超過70%，至少40%但不超過70%，或至少50%但

不超過70%之mTOR抑制有關，或提供以上各者。

在一實施例中，mTOR抑制劑之劑量與至少5%但不超過60%，至少10%但不超過60%，至少15%但不超過60%，至少20%但不超過60%，至少30%但不超過60%，或至少40%但不超過60%之mTOR抑制有關，或提供以上各者。

在一實施例中，mTOR抑制劑之劑量與至少5%但不超過50%，至少10%但不超過50%，至少15%但不超過50%，至少20%但不超過50%，至少30%但不超過50%，或至少40%但不超過50%之mTOR抑制有關，或提供以上各者。

在一實施例中，mTOR抑制劑之劑量與至少5%但不超過40%，至少10%但不超過40%，至少15%但不超過40%，至少20%但不超過40%，至少30%但不超過40%，或至少35%但不超過40%之mTOR抑制有關，或提供以上各者。

在一實施例中，mTOR抑制劑之劑量與至少5%但不超過30%，至少10%但不超過30%，至少15%但不超過30%，至少20%但不超過30%，或至少25%但不超過30%之mTOR抑制有關，或提供以上各者。

在一實施例中，mTOR抑制劑之劑量與至少1%、2%、3%、4%或5%但不超過20%，至少1%、2%、3%、4%或5%但不超過30%，至少1%、2%、3%、4%或5%但不超過35%，至少1%、2%、3%、4%或5%但不超過40%，或至少1%、2%、3%、4%或5%但不超過45%之mTOR抑制有關，或提供以上各者。

在一實施例中，mTOR抑制劑之劑量與至少1%、2%、3%、4%或5%但不超過90%之mTOR抑制有關，或提供以上各者。

如本文所論述，mTOR抑制程度可表現為P70 S6K抑制程度，例如mTOR抑制程度可藉由P70 S6K活性降低水準來測定，例如藉由P70 S6K受質磷酸化減少來測定。mTOR抑制水準可藉由本文所描述之方

法來評估，例如Boulay分析法。

除非另外說明，否則「編碼胺基酸序列之核苷酸序列」包括為彼此之簡併型式且編碼相同胺基酸序列之所有核苷酸序列。短語編碼蛋白質或RNA之核苷酸序列亦可包括內含子，其達到編碼蛋白質之核苷酸序列可在一些型式中含有內含子之程度。

在本發明之上下文中，使用以下通常存在之核酸鹼基之縮寫。「A」係指腺苷，「C」係指胞嘧啶，「G」係指鳥苷，「T」係指胸苷且「U」係指尿苷。

如本文中所使用之術語「採集(acquire)」或「採集(acquiring)」係指藉由「直接採集」或「間接採集」物理實體或值來獲得物理實體(例如樣品)或例如數值之值或圖像的所有權。「直接採集」意謂進行一製程(例如進行合成或分析方法，使樣品與檢測試劑接觸或捕獲來自樣品之信號)以獲得物理實體或值。「間接採集」係指自另一方或來源接收物理實體或值(例如直接採集物理實體或值之第三方實驗室)。直接採集物理實體包括進行包括物理物質之物理變化的製程。例示性變化包括自兩種或兩種以上起始物質製得物理實體，剪切或分割物質，分離或純化物質，將兩個或兩個以上單獨實體組合成混合物，進行包括斷裂或形成共價或非共價鍵之化學反應。直接採集值包括進行包括樣品或另一種物質之物理變化的製程，例如進行包括物質(例如樣品、被分析物或試劑)物理變化之分析製程(有時在本文中係指「物理分析」)；進行分析方法，例如包括以下中之一或多者之方法：自另一種物質分離或純化物質，例如被分析物或其片段或其他衍生物；將被分析物或其片段或其他衍生物與例如緩衝劑、溶劑或反應物之另一種物質組合；或例如藉由斷裂或形成被分析物之第一與第二原子之間的共價或非共價鍵來改變被分析物或其片段或其他衍生物之結構；誘發或收集信號，例如光基信號，例如螢光信號，或藉由改變試劑或

其片段或其他衍生物之結構，例如藉由斷裂或形成在試劑之第一與第二原子之間的共價或非共價鍵來誘發或收集信號。直接採集值包括例如當響應於檢測器上之光子衝擊電子能態變化時使用計算機或例如掃描儀之檢測裝置的方法。直接採集值包括捕獲來自樣品之信號。

術語「核酸」或「聚核苷酸」係指脫氧核糖核酸(DNA)或核糖核酸(RNA)及其呈單鏈或雙鏈形式之聚合物。除非明確限制，否則該術語包涵含有天然核苷酸之已知類似物的核酸，該等已知類似物具有與參考核酸類似的結合特性且以與天然存在之核苷酸類似的方式代謝。除非另外指示，否則特定核酸序列亦隱含地包涵其經保守修飾之變異體(例如簡併密碼子取代)、對偶基因、直系同源物、SNP及互補序列以及明確指示之序列。特定言之，簡併密碼子取代可藉由產生一或多個(或所有)所選擇之密碼子之第三位置經混合鹼基及/或脫氧肌苷殘基取代之序列實現(Batzer等人, *Nucleic Acid Res.* 19:5081 (1991); Ohtsuka等人, *J. Biol. Chem.* 260:2605-2608 (1985); 及Rossolini等人, *Mol. Cell. Probes* 8:91-98 (1994))。

術語「非經腸」投與免疫原性組合物包括例如皮下(s.c.)、靜脈內(i.v.)、肌肉內(i.m.)或胸骨內注射、瘤內或輸注技術。

術語「肽」、「多肽」及「蛋白質」可互換使用，且其係指包括藉由肽鍵共價連接之胺基酸殘基的化合物。蛋白質或肽必須含有至少兩個胺基酸且對可包含蛋白質或肽序列之胺基酸最大數目無限制。多肽包括包含藉由肽鍵彼此接合之兩個或兩個以上胺基酸之任何肽或蛋白質。如本文所使用之術語係指短鏈(其在此項技術中亦通常稱作例如肽、寡肽及寡聚物)及長鏈(其在此項技術中一般稱作蛋白質，其存在多種類型)。「多肽」尤其包括例如生物活性片段、實質上同源多肽、寡肽、均二聚體、雜二聚體、多肽變異體、修飾多肽、衍生物、類似物、融合蛋白。多肽包括天然肽、重組肽或其組合。

「前藥(prodrug)」或「前藥(pro-drug)」係指在個體體內經處理成藥物之化合物。在一實施例中，處理包含例如共價鍵之鍵之斷裂或形成。典型地，共價鍵斷裂釋放藥物。

術語「促進」或「增強」在免疫反應之上下文中係指免疫反應提高，尤其諸如免疫細胞靶向及/或殺死癌細胞、靶向及/或殺死病原體及感染病原體之細胞的能力及疫苗接種之後的保護性免疫力提高。在一些實施例中，保護性免疫力係指存在足夠的免疫反應(諸如抗體效價)來保護免遭表現相同抗原之病原體後續感染。

術語「預防」係指疾病或疾病病況之預防治療或保護性治療。預防可為澈底的，例如疾病或疾病病況完全不存在。預防亦可為部分的以使得在個體中發生疾病或疾病病況之似然性與未接受預防性治療之個體相比較不可能發生。

如本文所使用，術語「雷帕黴素類似物」係指雷帕黴素之小分子類似物。

術語「重組抗體」係指使用重組DNA技術產生之抗體，諸如由噬菌體或酵母菌表現系統所表現之抗體。術語亦應理解為意謂已藉由合成編碼抗體之DNA分子(且該DNA分子表現抗體蛋白質)或指定抗體之胺基酸序列產生之抗體，其中該DNA或胺基酸序列已使用在此項技術中可獲得且熟知的重組DNA或胺基酸序列技術獲得。

術語「信號轉導路徑」係指在將信號自細胞之一個部分傳輸至細胞之另一部分中起作用的多種信號轉導分子之間的生物化學關係。短語「細胞表面受體」包括能夠跨越細胞膜接收信號及傳輸信號之分子及分子複合體。

術語「特異結合」係指抗體或配位體，其識別且結合存在於樣品中之同源結合搭配物(例如存在於T細胞上之分子)蛋白質，但該抗體或配位體並未實質上識別或結合樣品中之其他分子。

術語「個體」係指可引起免疫反應之任何活的生物體(例如哺乳動物、人類)。在一實施例中，個體為人類。個體可為任何年齡。在一實施例中，個體為老年人類個體，例如年齡為65歲或65歲以上。在一實施例中，個體為並非老年人之人類個體，例如年齡小於65歲。在一實施例中，個體為人類兒童個體，例如年齡為18歲或18歲以下。在一實施例中，個體為成人個體，例如年齡大於18歲。

術語「治療性」係指治療。藉由減輕、抑制、緩解或根除疾病病況來獲得治療作用。

術語「腫瘤抗原」或「過度增殖病症抗原」或「與過度增殖病症相關之抗原」係指特異性過度增殖病症所共有之抗原。在某些態樣中，本發明之過度增殖病症抗原來源於以下癌症，其包括(但不限於)原發性或轉移性黑素瘤、胸腺瘤、淋巴瘤、肉瘤、肺癌、肝癌、非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma)、非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkins lymphoma)、白血病、子宮癌、宮頸癌、膀胱癌、腎癌及腺癌，諸如乳癌、前列腺癌、卵巢癌、胰臟癌及其類似癌症。

當本文使用術語「單位劑型」時，其係指適合於一次投與之劑量。舉例而言，單位劑型可為錠劑、膠囊或安置於例如針筒或靜脈內滴袋之輸送裝置中之治療量。在一實施例中，以單一投與形式投與單位劑型。在一實施例中，一種以上單位劑型，例如兩種錠劑，可同時投與。術語「疫苗」係指諸如抗原或抗原部分之懸浮液或溶液之組合物，其通常含有被注射或以其他方式引入身體中以產生活性免疫力之抗原(例如滅活感染物或感染物之一部分，尤其腫瘤抗原)。構成疫苗之抗原或抗原部分可為存活的或被殺死的微生物或自微生物或其他細胞純化之天然產物，其包括(但不限於)腫瘤細胞、合成產物、基因工程改造蛋白質、肽多醣或類似產物或過敏原。抗原或抗原部分亦可為蛋白質、肽、多醣或類似產物之次單位。

範圍：在本發明通篇中，本發明之各種態樣可以範圍格式呈現。應理解，範圍格式中之描述僅為了方便及簡潔起見且不應理解為對本發明範疇的固定限制。因此，範圍之描述應視為已特定揭示所有可能的子範圍以及該範圍內之個別數字值。舉例而言，諸如1至6之範圍描述應視為已特定揭示諸如1至3、1至4、1至5、2至4、2至6、3至6等之子範圍以及該範圍內之個別數字，例如1、2、2.7、3、4、5、5.3及6。作為另一實例，諸如95%至99%之一致性範圍包括95%、96%、97%、98%或99%之一致性，且包括子範圍，諸如96%至99%、96%至98%、96%至97%、97%至99%、97%至98%及98%至99%之一致性。不管範圍之寬度此均適用。

術語「T細胞製劑」係指包含至少一種T細胞之製劑。在一實施例中，相比於周邊血液其經濃縮以獲取T細胞。

術語「實質上經純化之」細胞係指基本上不含其他細胞類型之細胞。實質上經純化之細胞亦指已與在其天然存在之狀態中通常與其相關聯之其他細胞類型分離之細胞。在一些情況下，實質上經純化之細胞群體係指細胞之同源群體。在其他情況下，此術語僅指已與在其天然狀態下與其天然相關聯之細胞分離的細胞。在一些態樣中，該等細胞在活體外培養。在其他態樣中，該等細胞不在活體外培養。

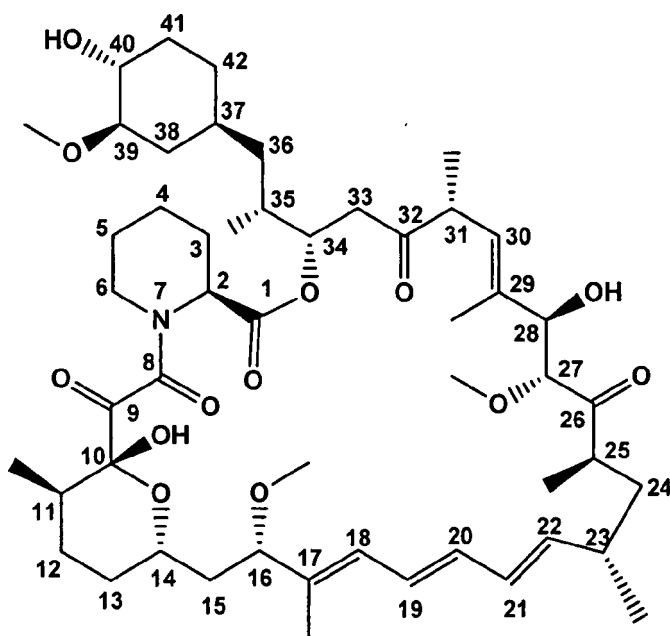
mTOR抑制劑

如本文所使用，術語「mTOR抑制劑」係指化合物或配位體或其醫藥學上可接受之鹽，其抑制細胞中之mTOR激酶。在一實施例中，mTOR抑制劑為異位抑制劑。在一實施例中，mTOR抑制劑為催化抑制劑。

異位 mTOR 抑制劑包括中性三環化合物雷帕黴素(西羅莫司(sirrolimus))；與雷帕黴素相關之化合物，亦即具有與雷帕黴素類似的結構及功能之化合物，其包括例如雷帕黴素衍生物、雷帕黴素類似物

(亦稱作雷帕黴素類似物)；及抑制mTOR活性之其他巨環內酯化合物。

雷帕黴素為藉由具有展示於式A中之結構的吸水鏈黴菌產生之已知巨環內酯抗生素。



(A)

參見例如McAlpine, J.B.,等人, J. Antibiotics (1991) 44: 688 ; Schreiber, S.L.,等人, J. Am. Chem. Soc. (1991) 113: 7433 ; 美國專利第 3,929,992號。雷帕黴素存在已提出之各種編號方案。為避免混淆，當在本文中舉出特異性雷帕黴素類似物時，該等名稱參考使用式A之編號方案的雷帕黴素。

適用於本發明之雷帕黴素類似物為例如經O取代之類似物，其中雷帕黴素之環己基環上之羥基經OR₁置換，其中R₁為羥基烷基、羥基烷氧基烷基、醯基胺基烷基或胺基烷基；例如RAD001，如US 5,665,772及WO94/09010中所描述，亦稱為依維莫司(everolimus)，其內容以引用的方式併入。其他適合的雷帕黴素類似物包括在26或28位置處經取代之彼等類似物。雷帕黴素類似物可為上文所提及之類似物之差向異構體，尤其在位置40、28或26經取代之類似物之差向異構

體，且可視情況進一步經氫化，其如例如US 6,015,815、WO95/14023及WO99/15530中所描述，其內容以引用的方式併入；例如US 7,091,213、WO98/02441及WO01/14387中所描述之ABT578，亦稱為佐他莫司(zotarolimus)或雷帕黴素類似物，其內容以引用的方式併入；例如AP23573，亦稱為地磷莫司(ridaforolimus)。

適用於本發明來自US 5,665,772之雷帕黴素類似物的實例包括(但不限於)40-O-苄基-雷帕黴素、40-O-(4'-羥甲基)苄基-雷帕黴素、40-O-[4'-(1,2-二羥基乙基)]苄基-雷帕黴素、40-O-烯丙基-雷帕黴素、40-O-[3'-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊環-4(S)-基)-丙-2'-烯-1'-基]-雷帕黴素、(2'E,4'S)-40-O-(4',5'-二羥基戊-2'-烯-1'-基)-雷帕黴素、40-O-(2-羥基)乙氧基羰基甲基-雷帕黴素、40-O-(2-羥基)乙基-雷帕黴素、40-O-(3-羥基)丙基-雷帕黴素、40-O-(6-羥基)己基-雷帕黴素、40-O-[2-(2-羥基)乙氧基]乙基-雷帕黴素、40-O-[(3S)-2,2-二甲基二氧戊環-3-基]甲基-雷帕黴素、40-O-[(2S)-2,3-二羥基丙-1-基]-雷帕黴素、40-O-(2-乙醯氧基)乙基-雷帕黴素、40-O-(2-菸鹼醯基氧基)乙基-雷帕黴素、40-O-[2-(N-嗎啉基)乙醯氧基]乙基-雷帕黴素、40-O-(2-N-咪唑基乙醯氧基)乙基-雷帕黴素、40-O-[2-(N-甲基-N'-哌嗪基)乙醯氧基]乙基-雷帕黴素、39-O-去甲基-39,40-O,O-伸乙基-雷帕黴素、(26R)-26-二氫-40-O-(2-羥基)乙基-雷帕黴素、40-O-(2-胺基乙基)-雷帕黴素、40-O-(2-乙醯胺基乙基)-雷帕黴素、40-O-(2-菸鹼醯胺基乙基)-雷帕黴素、40-O-(2-(N-甲基-咪唑并-2'-基乙氧羰胺基)乙基)-雷帕黴素、40-O-(2-乙氧基甲醯基胺基乙基)-雷帕黴素、40-O-(2-甲苯基磺醯胺基乙基)-雷帕黴素及40-O-[2-(4',5'-二乙氧羰基-1',2',3'-三唑-1'-基)-乙基]-雷帕黴素。

已知適用於本發明之其他雷帕黴素類似物為雷帕黴素之環己基環上之羥基及/或在28位置處之羥基經羥基酯基置換的類似物，例如見於US RE44,768中之雷帕黴素類似物，例如替西羅莫司

(temsirolimus)。

適用於本發明之其他雷帕黴素類似物包括彼等類似物：其中在16位置處之甲氧基經較佳為(視情況經羥基取代)炔基氧基、苄基、鄰甲氧基苄基或氯苄基之另一取代基置換，及/或其中39位置處之甲氧基連同39碳一起缺失使得雷帕黴素之環己基環變為缺少39位置甲基氧基之環戊基環；該等類似物如例如WO95/16691及WO96/41807中所描述，其內容以引用的方式併入。類似物可進一步經修飾以使得雷帕黴素40位置處之羥基經烷基化及/或32-羧基減少。

來自WO95/16691之雷帕黴素類似物包括(但不限於)16-去甲氧基-16-(戊-2-炔基)氧基-雷帕黴素、16-去甲氧基-16-(丁-2-炔基)氧基-雷帕黴素、16-去甲氧基-16-(炔丙基)氧基-雷帕黴素、16-去甲氧基-16-(4-羥基-丁-2-炔基)氧基-雷帕黴素、16-去甲氧基-16-苯甲氧基-40-O-(2-羥乙基)-雷帕黴素、16-去甲氧基-16-苯甲氧基-雷帕黴素、16-去甲氧基-16-鄰-甲氧基苯甲基-雷帕黴素、16-去甲氧基-40-O-(2-甲氧基乙基)-16-戊-2-炔基)氧基-雷帕黴素、39-去甲氧基-40-去氧基-39-甲醯基-42-去甲基-雷帕黴素、39-去甲氧基-40-去氧基-39-羥基甲基-42-去甲基-雷帕黴素、39-去甲氧基-40-去氧基-39-羧基-42-去甲基-雷帕黴素、39-去甲氧基-40-去氧基-39-(4-甲基-哌嗪-1-基)羧基-42-去甲基-雷帕黴素、39-去甲氧基-40-去氧基-39-(嗎啉-4-基)羧基-42-去甲基-雷帕黴素、39-去甲氧基-40-去氧基-39-[N-甲基,N-(2-吡啶-2-基-乙基)]胺甲醯基-42-去甲基-雷帕黴素及39-去甲氧基-40-去氧基-39-(對甲苯磺醯基亞胍基甲基)-42-去甲基-雷帕黴素。

來自WO96/41807之雷帕黴素類似物包括(但不限於)32-脫氧-雷帕黴素、16-O-戊-2-炔基-32-脫氧-雷帕黴素、16-O-戊-2-炔基-32-脫氧-40-O-(2-羥基-乙基)-雷帕黴素、16-O-戊-2-炔基-32-(S)-二氫-40-O-(2-羥乙基)-雷帕黴素、32(S)-二氫-40-O-(2-甲氧基)乙基-雷帕黴素及

32(S)-二氫-40-O-(2-羥基乙基)-雷帕黴素。

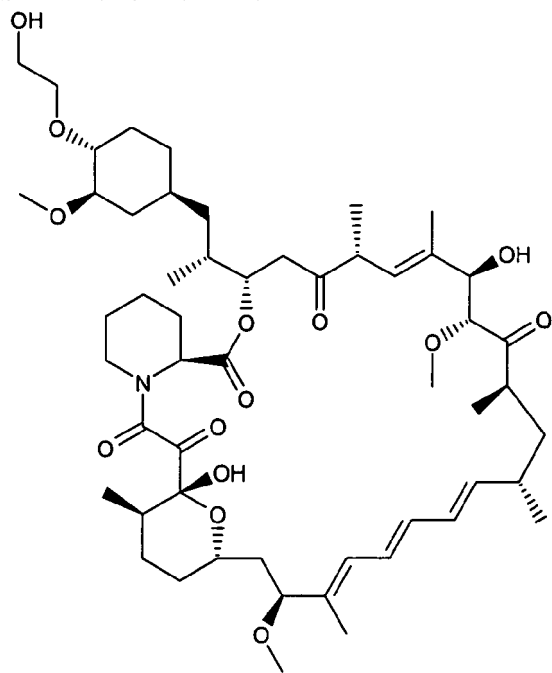
另一種適合的雷帕黴素類似物為如US2005/0101624中所描述之烏米莫司(umirolimus)，其內容以引用的方式併入。

在哺乳動物細胞中，雷帕黴素(mTOR)激酶之標靶以描述為mTORC1複合體或mTORC2複合體之多蛋白複合體存在，其感測養分及能量之可用性且整合來自生長因子及壓力信號之輸入。mTORC1複合體對諸如雷帕黴素之異位mTOR抑制劑敏感，其係由mTOR、GβL及mTOR之調節相關蛋白質(raptor)構成且與肽基-脯胺醯基異構酶FKBP12蛋白(FK506-結合蛋白1A，12 kDa)結合。相對地，mTORC2複合體由mTOR、GβL及對雷帕黴素不敏感的mTOR伴侶蛋白(rictor)構成且活體外不與FKBP12蛋白結合。

mTORC1複合體已顯示參與蛋白質轉譯控制，作為生長因子及養分敏感性裝置操作用於生長及增殖調節。mTORC1經由兩個關鍵的下游受質調節蛋白質轉譯：P70 S6激酶，其隨後使核糖體蛋白質P70 S6磷酸化；及真核轉譯啟動因子4E結合蛋白1 (4EBP1)，其在調變eIF4E調節之帽(cap)依賴轉譯中起關鍵作用。mTORC1複合體對於細胞之能量及養分穩態反應而調節細胞生長，且mTORC1之失去調節作用(deregulation)在廣泛多種人類癌症中常見。mTORC2之功能涉及經由Akt磷酸化調節細胞存活及調變肌動蛋白細胞骨架動態。

mTORC1複合體對諸如雷帕黴素及衍生物之異位mTOR抑制劑敏感，在很大程度上歸因於雷帕黴素之作用模式，該作用模式涉及與FKBP12形成胞內複合體及與mTOR之FKBP12-雷帕黴素結合(FRB)域結合。此使得mTORC1構形變化，其被認為改變且減弱與其骨架蛋白raptor之相互作用，之後阻礙諸如P70 S6K1之受質進入mTOR及磷酸化。雷帕黴素及雷帕黴素類似物(諸如RAD001)已藉由抑制與良性及惡性增殖病症兩者相關之mTOR過度活化獲得臨床相關性。

RAD001另外稱為依維莫司(Afinitor®)，具有化學名稱(1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28E,30S,32S,35R)-1,18-二羥基-12-[(1R)-2-[(1S,3R,4R)-4-(2-羥基乙氧基)-3-甲氧基環己基]-1-甲基乙基]-19,30-二甲氧基-15,17,21,23,29,35-六甲基-11,36-二氧雜-4-氮雜-三環[30.3.1.04,9]三十六烷(hexatriaconta)-16,24,26,28-四烯-2,3,10,14,20-五酮及以下化學結構

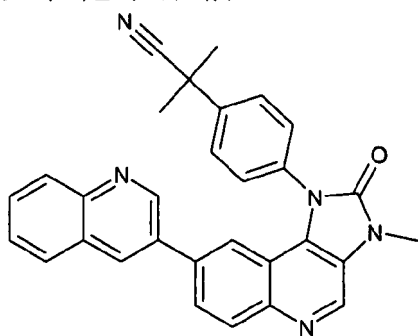


依維莫司為經FDA批准用於治療晚期腎癌之藥物且在腫瘤學中正在數種其他階段III臨床試驗中研究依維莫司。臨床前研究展示大概經由抑制雷帕黴素敏感性mTORC1功能，依維莫司能夠在活體外及活體內抑制廣泛多種腫瘤細胞株之增殖。作為雷帕黴素之衍生物，依維莫司為對抑制mTORC1部分功能(亦即P70 S6激酶(P70 S6K)及下游P70 S6K受質P70 S6)極其有效之異位mTOR抑制劑。如依維莫司(及其他雷帕黴素類似物)之異位mTOR抑制劑對抑制mTORC2路徑或其所產生之Akt信號激活的作用極小或無作用。異位mTOR抑制劑之其他實例包括西羅莫司(雷帕黴素，AY-22989)、40-[3-羥基-2-(羥甲基)-2-甲基丙酸酯]-雷帕黴素(亦稱為替西羅莫司或CCI-779)及地磷莫司(AP-

23573/MK-8669)。異位 mTOR 抑制劑之其他實例包括佐他莫司 (ABT578) 及烏米莫司。

或者或另外，已發現催化 ATP-競爭性 mTOR 抑制劑直接靶向 mTOR 激酶域且靶向 mTORC1 及 mTORC2 兩者。與諸如雷帕黴素之此類異位 mTOR 抑制劑相比，此等 mTOR 抑制劑亦為更加完全的 mTORC1 抑制劑，因為其調變雷帕黴素抵抗型 mTORC1 輸出，諸如 4EBP1-T37/46 磷酸化及帽依賴性轉譯。

BEZ235 為催化 mTOR 抑制劑，其具有化學名稱 2-甲基-2-[4-(3-甲基-2-側氧基-8-喹啉-3-基-2,3-二氫-咪唑并[4,5-c]喹啉-1-基)-苯基]-丙腈及以下化學結構

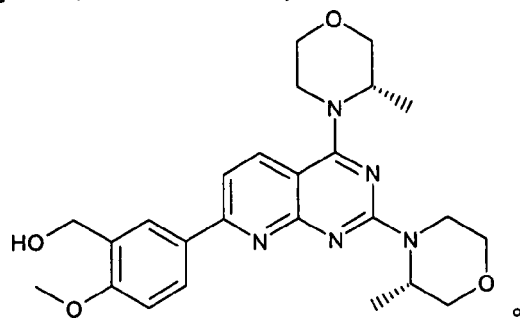


BEZ235 亦可以其單甲苯磺酸鹽形式使用。BEZ235 之合成描述於 WO2006/122806 中。

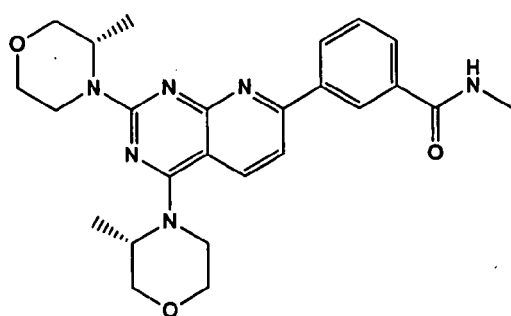
作為催化 mTOR 抑制劑，BEZ235 能夠關閉 mTORC1 複合體之完整功能，包括雷帕黴素敏感性 (P70 S6K 之磷酸化及隨後 P70 S6 之磷酸化) 及雷帕黴素不敏感性 (4EBP1 之磷酸化) 功能兩者。根據所使用之藥物濃度，BEZ235 具有分化作用，其中，mTOR 抑制在低濃度 (低於 100 nmol/L) 處占主導而雙重 PI3K/mTOR 抑制在相對更高濃度 (大約 500 nmol/L) 處占主導，Serra 等人, 2008。

文獻中所描述之另一種催化 mTOR 抑制劑為 CCG168 (另外被稱為 AZD-8055, Chresta, C.M., 等人, Cancer Res, 2010, 70(1), 288-298)，其具有化學名稱 {5-[2,4-雙-((S)-3-甲基-嗎啉-4-基)-吡啶并[2,3d]嘧啶-

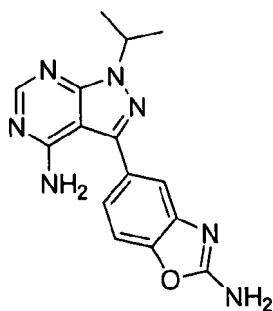
7-基]-2-甲氧基-苯基}-甲醇及以下化學結構



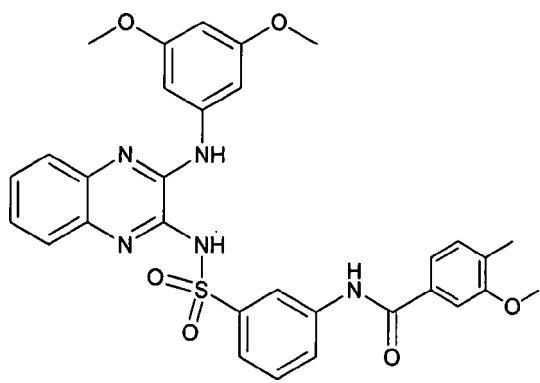
文獻中所描述之另一種催化mTOR抑制劑為3-[2,4-雙[(3S)-3-甲基嗎啉-4-基]吡啶并[2,3-d]嘧啶-7-基]-N-甲基苯甲醯胺(WO09104019)，其具有以下化學結構：



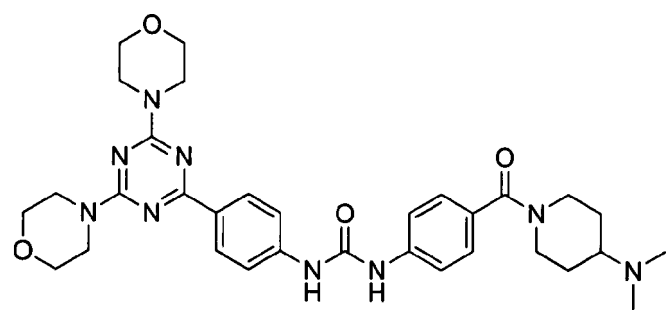
文獻中所描述之另一種催化mTOR抑制劑為3-(2-胺基苯并[d]噁唑-5-基)-1-異丙基-1H-吡啶并[3,4-d]嘧啶-4-胺(WO10051043及WO2013023184)，其具有以下化學結構：



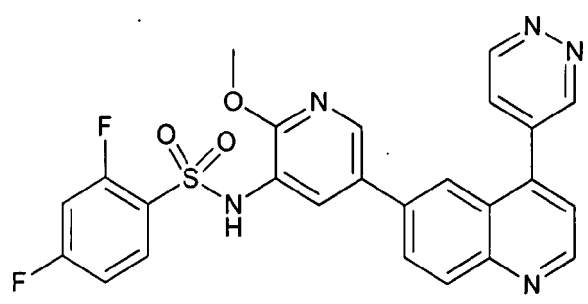
文獻中所描述之另一種催化mTOR抑制劑為N-(3-(N-(3-((3,5-二甲氧基苯基)胺基)喹啉-2-基)胺磺醯基)苯基)-3-甲氧基-4-甲基苯甲醯胺(WO07044729及WO12006552)，其具有以下化學結構：



文獻中所描述之另一種催化mTOR抑制劑為PKI-587 (Venkatesan, A.M., J. Med.Chem., 2010, 53, 2636-2645)，其具有化學名稱1-[4-[4-(二甲胺基)哌啶-1-羰基]苯基]-3-[4-(4,6-二嗎啉基-1,3,5-三嗪-2-基)苯基]脲且具有以下化學結構：

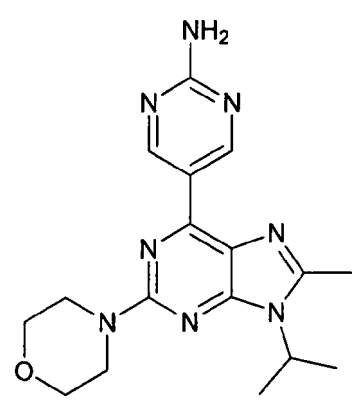


文獻中所描述之另一種催化mTOR抑制劑為GSK-2126458 (ACS Med. Chem. Lett., 2010, 1, 39-43)，其具有化學名稱2,4-二氟-N-{2-甲氧基-5-[4-(4-噻嗪基)-6-喹啉基]-3-吡啶基}苯磺醯胺且具有以下化學結構：

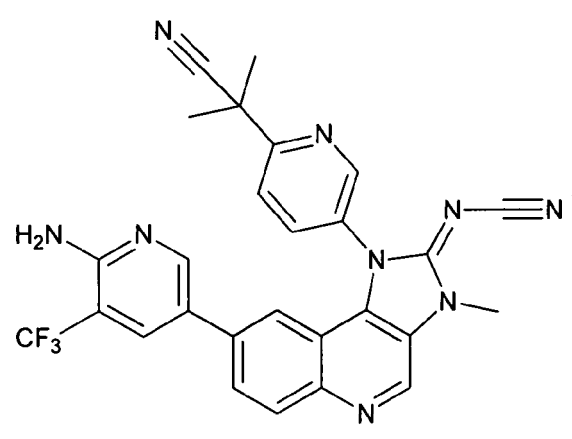


文獻中所描述之另一種催化mTOR抑制劑為5-(9-異丙基-8-甲基-

2-嗎啉基-9H-嘌呤-6-基)嘧啶-2-胺(WO10114484)，其具有以下化學結構：



文獻中所描述之另一種催化mTOR抑制劑為(E)-N-(8-(6-胺基-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-1-(6-(2-氰丙-2-基)吡啶-3-基)-3-甲基-1*H*-咪唑并[4,5-*c*]喹啉-2(3*H*)-亞基)氰胺(WO12007926)，其具有以下化學結構：



Rapamycin. Cancer Res. 69(15): 6232-6240)。

根據本發明適用的mTOR抑制劑亦包括其前藥、衍生物、醫藥學上可接受之鹽或前述中之任一者之類似物。

基於此項技術中公認的方法，基於本文所描述之特定劑量，諸如RAD001之mTOR抑制劑可經調配以便於輸送。特定而言，美國專利6,004,973 (以引用的方式併入本文中)提供可與本文所描述之mTOR抑制劑一起使用的調配物之實例。

下游抑制劑

本文所描述之多種方法依賴於使用低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑，從而例如提高PD1陰性免疫效應細胞(例如T細胞)水準，降低PD1陽性免疫效應細胞(例如T細胞)水準，提高PD1陰性免疫效應細胞(例如T細胞)/PD1陽性免疫效應細胞(例如T細胞)之比率，提高原始T細胞水準或增加記憶T細胞前體細胞之數目或記憶T細胞前體細胞標識物之表現水準。此等方法中之任一者亦可用以下步驟替代低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑來實踐：投與路徑中之下游元件(例如P70 S6K或mTORC1)之抑制劑。P70 S6K抑制劑之實例包括PF-4708671 (Pfizer)或LY2584702甲苯磺酸鹽(Eli Lilly)。mTORC1抑制劑之實例包括特異性抑制mTORC1而不抑制mTORC2之異位mTOR抑制劑。在一實施例中，以有效提高PD1陰性免疫效應細胞(例如T細胞)水準，降低PD1陽性免疫效應細胞(例如T細胞)水準，提高PD1陰性免疫效應細胞(例如T細胞)/PD1陽性免疫效應細胞(例如T細胞)之比率，提高原始T細胞水準或增加記憶T細胞前體細胞之數目或記憶T細胞前體細胞標識物之表現水準的劑量投與下游抑制劑。

評估mTOR抑制

mTOR使激酶P70 S6磷酸化，從而活化P70 S6K且允許其使其受質磷酸化。mTOR抑制程度可表現為P70 S6K抑制程度，例如，mTOR

抑制程度可藉由P70 S6K活性降低水準來測定，例如藉由P70 S6K受質磷酸化減少來測定。可藉由量測在不存在抑制劑下(例如在投與抑制劑之前)及在抑制劑存在下(或在投與抑制劑之後)P70 S6K活性(P70 S6K使受質磷酸化之能力)來測定mTOR抑制水準。P70 S6K抑制水準提供mTOR抑制水準。因此，若P70 S6K受到40%抑制，則mTOR活性受到40%抑制，如藉由P70 S6K活性所測量。本文所提及之抑制程度或水準為在給藥間隔期間之平均抑制水準。舉例而言，若抑制劑每週給予一次，則抑制水準由在間隔(亦即一週)期間之平均抑制水準給出。

以引用的方式併入本文中之Boulay等人，*Cancer Res*, 2004, 64:252-61教示可用於評定mTOR抑制水準之分析法(在本文中稱為Boulay分析法)。在一實施例中，分析依賴於在投與例如RAD001之mTOR抑制劑之前及之後自生物樣品量測P70 S6激酶活性。可在用mTOR抑制劑處理之後的預選時間(例如在處理之後24、48及72小時)獲取樣品。可使用例如來自皮膚或周邊血液單核細胞(PBMC)之生物樣品。自樣品製備總蛋白質萃取物。使用特異性識別P70 S6激酶之抗體，藉由免疫沈澱自蛋白質萃取物分離P70 S6激酶。經分離之P70 S6激酶之活性可以活體外激酶分析法量測。可用40S核糖體次單位受質(其為P70 S6K之內因性受質)及 $\gamma^{32}\text{P}$ 在允許受質磷酸化之條件下培育經分離之激酶。隨後可使反應混合物在SDS-PAGE凝膠上解析且使用磷光成像儀(PhosphorImager)分析 ^{32}P 信號。與40S核糖體次單位尺寸相對應之 ^{32}P 信號指示磷酸化受質及P70 S6K活性。可藉由定量磷酸化受質之 ^{32}P 信號之面積及強度(例如使用ImageQuant, Molecular Dynamics)，對經定量信號指定任意單位值及將投與之後的值與投與之前的值或參考值進行比較來計算激酶活性之增加量及降低量。舉例而言，激酶活性抑制百分比可用以下公式計算：1-(投與之後所獲得

的值/投與之前所獲得的值) $\times 100$ 。如上文所描述，本文所提及之抑制程度或水準為在給藥間隔期間之平均抑制水準。

用於評估例如P70 S6激酶活性之激酶活性的方法亦提供於US 7,727,950中，其以引用的方式併入本文中。

mTOR抑制水準亦可藉由PD1陰性T細胞與PD1陽性T細胞之比率變化來評估。可藉由技術已知之方法鑑別來自周邊血液之T細胞為PD1陰性或陽性。

較低劑量mTOR抑制劑

本文所描述之方法使用低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑，劑量之mTOR抑制劑，例如異位mTOR抑制劑，包括雷帕黴素類似物，諸如RAD001。相對地，完全或幾乎完全抑制mTOR路徑之抑制劑水準為免疫抑制且其用於例如預防器官移植排斥反應。另外，完全抑制mTOR之較高劑量雷帕黴素類似物亦抑制腫瘤細胞生長且用於治療多種癌症(參見例如 Antineoplastic effects of mammalian target of rapamycin inhibitors. Salvadori M. World J Transplant. 2012年10月24日; 2(5):74-83; Current and Future Treatment Strategies for Patients with Advanced Hepatocellular Carcinoma: Role of mTOR Inhibition. Finn RS. Liver Cancer. 2012年11月; 1(3-4):247-256; Emerging Signaling Pathways in Hepatocellular Carcinoma. Moeini A, Cornella H, Villanueva A. Liver Cancer. 2012年9月; 1(2):83-93; Targeted cancer therapy - Are the days of systemic chemotherapy numbered? Joo WD, Visintin I, Mor G. Maturitas. 2013年9月20日; Role of natural and adaptive immunity in renal cell carcinoma response to VEGFR-TKIs and mTOR inhibitor. Santoni M, Berardi R, Amantini C, Burattini L, Santini D, Santoni G, Cascinu S. Int J Cancer. 2013年10月2日)。

本發明至少部分基於以下出人意料的發現：遠低於當前臨床環

境中所使用劑量之mTOR抑制劑劑量對於提高個體免疫反應及提高PD-1陰性T細胞/PD-1陽性T細胞之比率具有優良的作用。出人意料地，僅產生mTOR活性部分抑制之較低劑量之mTOR抑制劑能夠有效地改良人類個體免疫反應且提高PD-1陰性T細胞/PD-1陽性T細胞之比率。

或者或另外，在不希望受任何理論束縛之情況下，咸信例如相較於未經治療之個體，較低的低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑可例如至少暫時地提高原始T細胞數量。或者或另外，再次雖然不希望受理論束縛，但咸信在用mTOR抑制劑治療足夠時間量或足夠給藥之後產生以下中之一或多者：

例如在記憶T細胞(例如記憶T細胞前驅體)上以下標識物中之一或多者之表現增加：CD62L^高、CD127^高、CD27⁺及BCL2；

例如在例如記憶T細胞前驅體之記憶T細胞上KLRG1表現減少；
及

記憶T細胞前驅體、例如具有以下特徵之任一者或組合之細胞之數目增加：CD62L^高增加、CD127^高增加、CD27⁺增加、KLRG1降低及BCL2增加；

且其中例如相較於未經治療之個體，上文所描述之變化中之任一者例如至少暫時發生(Araki, K等人(2009) *Nature* 460:108-112)。記憶T細胞前驅體為分化程序早期之記憶T細胞。舉例而言，記憶T細胞具有以下特徵中之一或多者：CD62L^高增加、CD127^高增加、CD27⁺增加、KLRG1降低及/或BCL2增加。

因此，在一個態樣中，本發明提供包含例如異位mTOR抑制劑(例如RAD001)之mTOR抑制劑的組合物，例如以單位劑型提供，抑制劑濃度為約0.005 mg至1.5 mg，約0.005 mg至1.5 mg，約0.01 mg至1 mg，約0.01 mg至0.7 mg，約0.01 mg至0.5 mg，或約0.1 mg至0.5 mg。

在另一態樣中，本發明提供包含例如RAD001之mTOR抑制劑的組合物，抑制劑濃度為0.005 mg至1.5 mg，0.005 mg至1.5 mg，0.01 mg至1 mg，0.01 mg至0.7 mg 0.01 mg至0.5 mg，或0.1 mg至0.5 mg。更特定而言，在一個態樣中，本發明提供包含例如RAD001之mTOR抑制劑的組合物，抑制劑之劑量為約0.005 mg、0.006 mg、0.007 mg、0.008 mg、0.009 mg、0.01 mg、0.02 mg、0.03 mg、0.04 mg、0.05 mg、0.06 mg、0.07 mg、0.08 mg、0.09 mg、0.1 mg、0.2 mg、0.3 mg、0.4 mg、0.5 mg、0.6 mg、0.7 mg、0.8 mg、0.9 mg或1.0 mg。在一個態樣中，例如RAD001之mTOR抑制劑之劑量為0.5 mg或低於0.5 mg。在另一態樣中，例如RAD001之mTOR抑制劑之劑量為約0.5 mg。在另一態樣中，本發明提供包含例如RAD001之mTOR抑制劑的組合物，抑制劑之劑量為0.005 mg、0.006 mg、0.007 mg、0.008 mg、0.009 mg、0.01 mg、0.02 mg、0.03 mg、0.04 mg、0.05 mg、0.06 mg、0.07 mg、0.08 mg、0.09 mg、0.1 mg、0.2 mg、0.3 mg、0.4 mg、0.5 mg、0.6 mg、0.7 mg、0.8 mg、0.9 mg或1.0 mg。在一個態樣中，例如RAD001之mTOR抑制劑之劑量為0.5 mg或低於0.5 mg。在另一態樣中，例如RAD001之mTOR抑制劑之劑量為0.5 mg。

在另一態樣中，本發明係關於包含一定量之並非RAD001之mTOR抑制劑的組合物，該量生物等效於針對RAD001所指定之特定量或劑量。

在另一態樣中，本發明係關於包含量足以將P70 S6激酶抑制不超過80%之mTOR抑制劑的組合物。在另一態樣中，本文所描述之組合物包含量足以將P70 S6激酶抑制不超過38%之mTOR抑制劑。

在一實施例中，本發明係關於具有mTOR抑制劑之組合物或劑型，該mTOR抑制劑為例如異位mTOR抑制劑(例如雷帕黴素類似物、雷帕黴素或RAD001)或催化mTOR抑制劑，當該組合物或劑型按所選

給藥方案例如每日一次或每週一次投與時，其與以下有關：與完全或顯著免疫抑制無關但與免疫反應增強有關之mTOR抑制水準。

在另一態樣中，本發明提供增強免疫反應(例如治療免疫衰老)的方法，其包含向個體投與mTOR抑制劑之步驟。在一些實施例中，mTOR抑制劑，例如異位mTOR抑制劑，例如RAD001，可以每日約0.005 mg至1.5 mg，每日約0.01 mg至1 mg，每日約0.01 mg至0.7 mg，每日約0.01 mg至0.5 mg，或每日約0.1 mg至0.5 mg之劑量投與。在另一態樣中，mTOR抑制劑，例如RAD001，可以每週約0.1 mg至20 mg，每週約0.5 mg至15 mg，每週約1 mg至10 mg，或每週約3 mg至7 mg之劑量投與。在一些實施例中，mTOR抑制劑，例如RAD001，可以每日0.005 mg至1.5 mg，每日0.01 mg至1 mg，每日0.01 mg至0.7 mg，每日0.01 mg至0.5 mg，或每日0.1 mg至0.5 mg之劑量投與。在一些實施例中，mTOR抑制劑，例如RAD001，可以約每週0.1 mg至20 mg，每週0.5 mg至15 mg，每週1 mg至10 mg，每週3 mg至7 mg，或每週5 mg之劑量投與。

在另一態樣中，本發明係關於增強免疫反應(例如治療免疫衰老)的方法，其包含投與一定量之並非RAD001之mTOR抑制劑之步驟，該量生物等效於本文針對RAD001所描述之特定量或劑量之量。

在一些實施例中，mTOR抑制劑，例如異位mTOR抑制劑，例如RAD001，可以約每日0.005 mg、每日0.006 mg、每日0.007 mg、每日0.008 mg、每日0.009 mg、每日0.01 mg、每日0.02 mg、每日0.03 mg、每日0.04 mg、每日0.05 mg、每日0.06 mg、每日0.07 mg、每日0.08 mg、每日0.09 mg、每日0.1 mg、每日0.2 mg、每日0.3 mg、每日0.4 mg、每日0.5 mg、每日0.6 mg、每日0.7 mg、每日0.8 mg、每日0.9 mg或每日1.0 mg之劑量投與。在一些實施例中，RAD001可以在24小時時段內不超過約0.7 mg之劑量投與。在一些實施例中，mTOR

抑制劑，例如異位mTOR抑制劑，例如RAD001，可以在24小時時段內不超過約0.5 mg之劑量投與。在一些實施例中，RAD001可以每日0.5 mg或低於0.5 mg之劑量投與。在一些實施例中，RAD001可以每日0.5 mg之劑量投與。

在另一態樣中，本發明可利用除RAD001外之mTOR抑制劑，其呈生物等效於針對RAD001所指定之特定量或劑量之量。

在一些實施例中，mTOR抑制劑，例如異位mTOR抑制劑，例如RAD001，可以每週0.1 mg、每週0.2 mg、每週0.3 mg、每週0.4 mg、每週0.5 mg、每週0.6 mg、每週0.7 mg、每週0.8 mg、每週0.9 mg、每週1 mg、每週2 mg、每週3 mg、每週4 mg、每週5 mg、每週6 mg、每週7 mg、每週8 mg、每週9 mg、每週10 mg、每週11 mg、每週12 mg、每週13 mg、每週14 mg、每週15 mg、每週16 mg、每週17 mg、每週18 mg、每週19 mg或每週20 mg之劑量投與。在一些實施例中，mTOR抑制劑，例如異位mTOR抑制劑，例如RAD001，以每週5 mg或低於5 mg之劑量投與。在一些實施例中，mTOR抑制劑，例如異位mTOR抑制劑，例如RAD001，以每週5 mg之劑量投與。

在一些實施例中，本發明可利用除RAD001外之mTOR抑制劑，其呈生物等效於針對RAD001所指定之特定量或劑量之量。

例如異位mTOR抑制劑(例如雷帕黴素類似物、雷帕黴素或RAD001)或催化mTOR抑制劑之mTOR抑制劑可提供於持續釋放調配物中。本文所描述之組合物或單位劑型中之任一者可提供於持續釋放調配物中。在一些實施例中，與立即釋放調配物相比，持續釋放調配物將具有較低的生物可用性。例如，在實施例中，為實現與立即釋放調配物類似的治療作用，持續釋放調配物中抑制劑之量將是立即釋放調配物中所提供之量的約2倍至約5倍、約2.5倍至約3.5倍或約3倍。

在一實施例中，提供典型地用於每週一次投與之例如RAD001之

立即釋放形式，每單位劑型具有0.1 mg至20 mg，0.5 mg至10 mg，2.5 mg至7.5 mg，3 mg至6 mg，或約5 mg。就每週一次投與而言，此等立即釋放調配物對應於分別具有0.3 mg至60 mg，1.5 mg至30 mg，7.5 mg至22.5 mg，9 mg至18 mg，或約15 mg之mTOR抑制劑(例如異位mTOR抑制劑，例如雷帕黴素或RAD001)的持續釋放形式。在實施例中，兩種形式均在一次/週之基礎上投與。

在一實施例中，提供典型地用於每週一次投與之例如RAD001之立即釋放形式，每單位劑型具有0.005 mg至1.5 mg，0.01 mg至1.5 mg，0.1 mg至1.5 mg，0.2 mg至1.5 mg，0.3 mg至1.5 mg，0.4 mg至1.5 mg，0.5 mg至1.5 mg，0.6 mg至1.5 mg，0.7 mg至1.5 mg，0.8 mg至1.5 mg，1.0 mg至1.5 mg，0.3 mg至0.6 mg，或約0.5 mg。就每日一次投與而言，此等立即釋放形式對應於分別具有0.015 mg至4.5 mg，0.03 mg至4.5 mg，0.3 mg至4.5 mg，0.6 mg至4.5 mg，0.9 mg至4.5 mg，1.2 mg至4.5 mg，1.5 mg至4.5 mg，1.8 mg至4.5 mg，2.1 mg至4.5 mg，2.4 mg至4.5 mg，3.0 mg至4.5 mg，0.9 mg至1.8 mg，或約1.5 mg之mTOR抑制劑(例如異位mTOR抑制劑，例如雷帕黴素或RAD001)的持續釋放形式。就每週一次投與而言，此等立即釋放形式對應於分別具有0.1 mg至30 mg，0.2 mg至30 mg，2 mg至30 mg，4 mg至30 mg，6 mg至30 mg，8 mg至30 mg，10 mg至30 mg，1.2 mg至30 mg，14 mg至30 mg，16 mg至30 mg，20 mg至30 mg，6 mg至12 mg，或約10 mg之mTOR抑制劑(例如異位mTOR抑制劑，例如雷帕黴素或RAD001)的持續釋放形式。

在一實施例中，提供典型地用於每日一次投與之例如RAD001之立即釋放形式，每單位劑型具有0.01 mg至1.0 mg。就每日一次投與而言，此等立即釋放形式對應於分別具有0.03 mg至3 mg之mTOR抑制劑(例如異位mTOR抑制劑，例如雷帕黴素或RAD001)的持續釋放形式。

就每週一次投與而言，此等立即釋放形式對應於分別具有0.2 mg至20 mg之mTOR抑制劑(例如異位mTOR抑制劑，例如雷帕黴素或RAD001)的持續釋放形式。

在一實施例中，提供典型地用於每週一次投與之例如RAD001之立即釋放形式，每單位劑型具有0.5 mg至5.0 mg。就每週一次投與而言，此等立即釋放形式對應於分別具有1.5 mg至15 mg之mTOR抑制劑(例如異位mTOR抑制劑，例如雷帕黴素或RAD001)的持續釋放形式。

如上文所描述，mTOR路徑之一個標靶為P70 S6激酶。因此，如例如藉由例如Boulay分析法之本文所描述之分析法所量測，適用於本文所描述之方法及組合物之mTOR抑制劑之劑量為足以實現相對於mTOR抑制劑不存在下之P70 S6激酶活性，不超過80%之P70 S6激酶活性抑制之彼等劑量。在另一態樣中，如例如藉由例如Boulay分析法之本文所描述之分析法所量測，本發明提供足以實現相對於mTOR抑制劑不存在下之P70 S6激酶活性，不超過38%之P70 S6激酶活性抑制之量的mTOR抑制劑。在一個態樣中，如例如藉由例如Boulay分析法之本文所描述之分析法所量測，例如當向人類個體投與時，適用於本發明之方法及組合物之mTOR抑制劑之劑量足以實現90%、89%、88%、87%、86%、85%、84%、83%、82%、81%、80%、79%、78%、77%、76%、75%、74%、73%、72%、71%、70%、69%、68%、67%、66%、65%、64%、63%、62%、61%、60%、59%、58%、57%、56%、55%、54%、54%、53%、52%、51%、50%、49%、48%、47%、46%、45%、44%、43%、42%、41%、40%、39%、38%、37%、36%、35%、34%、33%、32%、31%、30%、29%、28%、27%、26%、25%、24%、23%、22%、21%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%或10%或低於10%之P70 S6激酶活性抑制。

在一個態樣中，如例如藉由例如Boulay分析法之本文所描述之分析法所量測，例如當向人類個體投與時，適用於本發明之方法及組合物之mTOR抑制劑之劑量足以實現90 \pm 5 % (亦即85-95%)、89 \pm 5 %、88 \pm 5 %、87 \pm 5 %、86 \pm 5 %、85 \pm 5 %、84 \pm 5 %、83 \pm 5 %、82 \pm 5 %、81 \pm 5 %、80 \pm 5 %、79 \pm 5 %、78 \pm 5 %、77 \pm 5 %、76 \pm 5 %、75 \pm 5 %、74 \pm 5 %、73 \pm 5 %、72 \pm 5%、71 \pm 5%、70 \pm 5%、69 \pm 5%、68 \pm 5%、67 \pm 5%、66 \pm 5%、65 \pm 5%、64 \pm 5%、63 \pm 5%、62 \pm 5%、61 \pm 5%、60 \pm 5%、59 \pm 5%、58 \pm 5%、57 \pm 5%、56 \pm 5%、55 \pm 5%、54 \pm 5%、53 \pm 5%、52 \pm 5%、51 \pm 5%、50 \pm 5%、49 \pm 5%、48 \pm 5%、47 \pm 5%、46 \pm 5%、45 \pm 5%、44 \pm 5%、43 \pm 5%、42 \pm 5%、41 \pm 5%、40 \pm 5%、39 \pm 5%、38 \pm 5%、37 \pm 5%、36 \pm 5%、35 \pm 5%、34 \pm 5%、33 \pm 5%、32 \pm 5%、31 \pm 5%、30 \pm 5%、29 \pm 5%、28 \pm 5%、27 \pm 5%、26 \pm 5%、25 \pm 5%、24 \pm 5%、23 \pm 5%、22 \pm 5%、21 \pm 5%、20 \pm 5%、19 \pm 5%、18 \pm 5%、17 \pm 5%、16 \pm 5%、15 \pm 5%、14 \pm 5%、13 \pm 5%、12 \pm 5%、11 \pm 5%或10 \pm 5%之P70 S6激酶活性抑制。

個體中之P70 S6激酶活性可使用此項技術中已知之方法量測，諸如根據美國專利7,727,950中所描述之方法，藉由磷酸P70 S6K水準及/或磷酸P70 S6水準之免疫墨點分析或藉由活體外激酶活性分析來量測。

在另一態樣中，本發明係關於包含mTOR抑制劑之組合物，該抑制劑諸如mTOR抑制劑，例如異位mTOR抑制劑，例如RAD001。此類組合物中之mTOR抑制劑(例如異位mTOR抑制劑，例如RAD001)之劑量可在約30 pM至4 nM範圍內。在一個態樣中，mTOR抑制劑(例如異位mTOR抑制劑，例如RAD001)之劑量在約50 pM至2 nM，約100 pM

至1.5 nM，約200 pM至1 nM，或約300 pM至500 pM範圍內。在一個態樣中，RAD001之劑量在50 pM至2 nM，100 pM至1.5 nM，200 pM至1 nM，或300 pM至500 pM範圍內。在另一態樣中，RAD001之劑量為約30 pM、40 pM、50 pM、60 pM、70 pM、80 pM、90 pM、100 pM、150 pM、200 pM、250 pM、300 pM、350 pM、400 pM、450 pM、500 pM、550 pM、600 pM、650 pM、700 pM、750 pM、800 pM、850 pM、900 pM、950 pM、1 nM、1.5 nM、2 nM、2.5 nM、3 nM、3.5 nM或4 nM。

在另一態樣中，本發明可利用除RAD001外之mTOR抑制劑，其呈生物等效於針對RAD001所指定之特定量或劑量之量。

本發明進一步關於包含向個體投與mTOR抑制劑之方法。此類方法可採用約30 pM至4 nM範圍內之mTOR抑制劑RAD001之劑量。在另一態樣中，RAD001之劑量可在約50 pM至2 nM，約100 pM至1.5 nM，約200 pM至1 nM，或約300 pM至500 pM範圍內。在一個態樣中，RAD001之劑量在50 pM至2 nM，100 pM至1.5 nM，200 pM至1 nM，或300 pM至500 pM範圍內。在另一態樣中，RAD001之劑量為約30 pM、40 pM、50 pM、60 pM、70 pM、80 pM、90 pM、100 pM、150 pM、200 pM、250 pM、300 pM、350 pM、400 pM、450 pM、500 pM、550 pM、600 pM、650 pM、700 pM、750 pM、800 pM、850 pM、900 pM、950 pM、1 nM、1.5 nM、2 nM、2.5 nM、3 nM、3.5 nM或4 nM。

在另一態樣中，本發明之方法可利用除RAD001外之mTOR抑制劑，其呈生物等效於針對RAD001所指定之特定量或劑量之量。

如本文所使用，關於mTOR抑制劑之劑量，術語「約」係指高達 $\pm 10\%$ 之mTOR抑制劑之量的變化，但不可包括圍繞所陳述之劑量的變化。

在一些實施例中，本發明提供包含向個體投與呈目標最低含量內之劑量之mTOR抑制劑的方法，該mTOR抑制劑例如異位抑制劑，例如RAD001。在一些實施例中，最低含量明顯低於與用於器官移植及癌症患者之給藥方案有關的最低含量。在一實施例中，投與例如RAD001或雷帕黴素之mTOR抑制劑以產生一最低含量，該最低含量低於產生免疫抑制或抗癌作用之最低含量的 $\frac{1}{2}$ 、 $\frac{1}{4}$ 、 $\frac{1}{10}$ 或 $\frac{1}{20}$ 。在一實施例中，投與例如RAD001或雷帕黴素之mTOR抑制劑以產生一最低含量，該最低含量低於用於免疫抑制或抗癌指示之FDA批准封裝插頁上所提供之最低含量的 $\frac{1}{2}$ 、 $\frac{1}{4}$ 、 $\frac{1}{10}$ 或 $\frac{1}{20}$ 。

在一實施例中，本文所揭示之方法包含向個體投與mTOR抑制劑，例如異位抑制劑，例如RAD001，其呈提供0.1 ng/ml至3 ng/ml，0.1 ng/ml至2 ng/ml，或0.1 ng/ml至1 ng/ml之目標最低含量之劑量。

在一實施例中，本文所揭示之方法包含向個體投與mTOR抑制劑，例如異位抑制劑，例如RAD001，其呈提供0.2 ng/ml至3 ng/ml，0.2 ng/ml至2 ng/ml，或0.2 ng/ml至1 ng/ml之目標最低含量之劑量。

在一實施例中，本文所揭示之方法包含向個體投與mTOR抑制劑，例如異位抑制劑，例如RAD001，其呈提供0.3 ng/ml至3 ng/ml，0.3 ng/ml至2 ng/ml，或0.3 ng/ml至1 ng/ml之目標最低含量之劑量。

在一實施例中，本文所揭示之方法包含向個體投與mTOR抑制劑，例如異位抑制劑，例如RAD001，其呈提供0.4 ng/ml至3 ng/ml，0.4 ng/ml至2 ng/ml，或0.4 ng/ml至1 ng/ml之目標最低含量之劑量。

在一實施例中，本文所揭示之方法包含向個體投與mTOR抑制劑，例如異位抑制劑，例如RAD001，其呈提供0.5 ng/ml至3 ng/ml，0.5 ng/ml至2 ng/ml，或0.5 ng/ml至1 ng/ml之目標最低含量之劑量。

在一實施例中，本文所揭示之方法包含向個體投與mTOR抑制劑，例如異位抑制劑，例如RAD001，其呈提供1 ng/ml至3 ng/ml，或

1 ng/ml至2 ng/ml之目標最低含量之劑量。

如本文所使用，術語「含量」係指就在下一次給藥之前血漿中之藥物濃度或兩次給藥之間的最小藥物濃度。

在一些實施例中，RAD001之目標最低含量在約0.1 ng/ml與3 ng/ml之間的範圍內。在一實施例中，目標最低含量低於3 ng/ml，例如在0.3 ng/ml或低於0.3 ng/ml與3 ng/ml之間。在一實施例中，目標最低含量低於3 ng/ml，例如在0.3 ng/ml或低於0.3 ng/ml與1 ng/ml之間。在一些實施例中，RAD001之目標最低含量在約2.4與3之間的範圍內。在一些實施例中，RAD001之目標最低含量在約0.1 ng/ml與2.4 ng/ml之間的範圍內。在一些實施例中，RAD001之目標最低含量在約0.1 ng/ml與1.5 ng/ml之間的範圍內。在一些實施例中，RAD001之目標最低含量在0.1 ng/ml與3 ng/ml之間的範圍內。在一些實施例中，RAD001之目標最低含量在2.4 ng/ml與3 ng/ml之間的範圍內。在一些實施例中，RAD001之目標最低含量在0.1 ng/ml與2.4 ng/ml之間的範圍內。在一些實施例中，RAD001之目標最低含量在0.1 ng/ml與1.5 ng/ml之間的範圍內。在一些實施例中，RAD001之目標最低含量為0.1 ng/ml。在一些實施例中，RAD001之目標最低含量為0.2 ng/ml。在一些實施例中，RAD001之目標最低含量為0.3 ng/ml。在一些實施例中，RAD001之目標最低含量為0.4 ng/ml。在一些實施例中，RAD001之目標最低含量為0.5 ng/ml。在一些實施例中，RAD001之目標最低含量為0.6 ng/ml。在一些實施例中，RAD001之目標最低含量為0.7 ng/ml。在一些實施例中，RAD001之目標最低含量為0.8 ng/ml。在一些實施例中，RAD001之目標最低含量為0.9 ng/ml。在一些實施例中，RAD001之目標最低含量為1.0 ng/ml。在一些實施例中，RAD001之目標最低含量為1.1 ng/ml。在一些實施例中，RAD001之目標最低含量為1.2 ng/ml。在一些實施例中，RAD001之目標最低

含量為 1.3 ng/ml。在一些實施例中，RAD001之目標最低含量為 1.4 ng/ml。在一些實施例中，RAD001之目標最低含量為 1.5 ng/ml。在一些實施例中，RAD001之目標最低含量低於 3 ng/ml。在一些實施例中，RAD001之目標最低含量低於 2.5 ng/ml。在一些實施例中，RAD001之目標最低含量低於 3 ng/ml、2 ng/ml、1.9 ng/ml、1.8 ng/ml、1.7 ng/ml、1.6 ng/ml、1.5 ng/ml、1.4 ng/ml、1.3 ng/ml、1.2 ng/ml、1.1 ng/ml、1.0 ng/ml、0.9 ng/ml、0.8 ng/ml、0.7 ng/ml、0.6 ng/ml、0.5 ng/ml、0.4 ng/ml、0.3 ng/ml、0.2 ng/ml或0.1 ng/ml。

在另一態樣中，本發明可利用除RAD001外之mTOR抑制劑，其呈與生物等效於針對RAD001所指定之目標最低含量之目標最低含量有關的量。在一實施例中，除RAD001外之mTOR抑制劑之目標最低含量為與本文所描述之RAD001之最低含量提供相同水準之mTOR抑制(如例如藉由本文所描述之方法所量測，例如P70 S6K抑制)的含量。

病症

癌症

本文所描述之方法可用於任何癌症。在一實施例中，癌症包含實體腫瘤。在一實施例中，癌症為血液癌症。癌症可為癌瘤、肉瘤、骨髓瘤、白血病、淋巴瘤或混合類型。

在一些實施例中，癌症與個體中PD1+T細胞百分比升高有關。在某些實施例中，癌症為一般對PD-1靶向藥物有反應之癌症，諸如黑素瘤。在某些實施例中，癌症為一般對T細胞導向免疫療法有反應之癌症，諸如腎細胞癌。在一實施例中，癌症為可藉由提高PD-1陰性T細胞與PD-1陽性T細胞之比率來治療之癌症。

可用本文所揭示之方法治療之癌症之實例包括骨癌；胰臟癌；皮膚癌；頭部或頸部之癌症；皮膚或眼內惡性黑素瘤；子宮癌；卵巢

癌；直腸癌；肛門區癌；胃癌；睪丸癌；子宮癌；輸卵管癌；子宮內膜癌；子宮頸癌；陰道癌；外陰癌；霍奇金氏疾病(Hodgkin's Disease)；非霍奇金氏淋巴瘤；食道癌；小腸癌；內分泌系統癌；甲狀腺癌；副甲狀腺癌；腎上腺癌；軟組織肉瘤；尿道癌；陰莖癌；慢性或急性白血病，包括急性骨髓白血病、慢性骨髓白血病、急性淋巴母細胞白血病、慢性淋巴球性白血病；兒童實體腫瘤；淋巴細胞淋巴瘤；膀胱癌；腎癌或輸尿管癌；腎盂癌；中樞神經系統(CNS)贅瘤；原發性CNS淋巴瘤；腫瘤血管生成；脊軸腫瘤；腦幹神經膠瘤；垂體腺瘤；卡波西氏肉瘤(Kaposi's sarcoma)；表皮樣癌；鱗狀細胞癌；T細胞淋巴瘤；環境誘發癌，包括由石棉誘發之彼等癌症；及該等癌症之組合。

可用本文所揭示之方法治療之實體腫瘤之實例包括惡性病，例如各種器官系統之肉瘤、腺癌及癌瘤，該等器官系統諸如影響肝臟、肺、乳房、淋巴、胃腸(例如結腸)、泌尿生殖道(例如腎、尿道上皮細胞)、前列腺及咽之彼等器官系統。腺癌包括惡性病，諸如大多數結腸癌、直腸癌、腎細胞癌、肝癌、非小細胞肺癌、小腸癌及食道癌。在一個實施例中，癌症為黑素瘤，例如晚期黑素瘤。亦可使用本發明之方法及組合物治療或預防前述癌症之轉移性病變。

本文所描述之方法可用於治療以下癌症中之任一者：

消化/胃腸癌症，諸如肛門癌；膽管癌；肝外膽管癌；闌尾癌；類癌；胃腸癌；結腸癌；結腸直腸癌，包括兒童結腸直腸癌；食道癌，包括兒童食道癌；膽囊癌；胃(腹)癌，包括兒童胃(腹)癌；肝細胞(肝)癌，包括成人(原發性)肝細胞(肝)癌及兒童(原發性)肝細胞(肝)癌；胰臟癌，包括兒童胰臟癌；肉瘤，橫紋肌肉瘤；胰島細胞胰臟癌；直腸癌；及小腸癌；

內分泌癌，諸如胰島細胞癌(內分泌胰臟)；腎上腺皮質癌，包括

兒童腎上腺皮質癌；胃腸類癌；副甲狀腺癌；嗜鉻細胞瘤；垂體腫瘤；甲狀腺癌，包括兒童甲狀腺癌；兒童多發性內分泌瘤症候群；及兒童類癌；

眼癌，諸如眼內黑素瘤及視網膜胚細胞瘤；

肌肉骨骼癌，諸如尤文氏(Ewing's)家族腫瘤；骨骼之骨肉瘤/惡性纖維組織細胞瘤；兒童橫紋肌肉瘤；軟組織肉瘤，包括成人及兒童軟組織肉瘤；腱鞘之透明細胞肉瘤；及子宮肉瘤；

乳癌，諸如乳癌，包括兒童及男性乳癌及妊娠；

神經癌，諸如兒童腦幹神經膠瘤；腦腫瘤；兒童小腦星形細胞瘤；兒童大腦星形細胞瘤/惡性神經膠瘤；兒童室管膜瘤；兒童神經管胚細胞瘤；兒童松果體及小腦幕上原始神經外胚層腫瘤；兒童視覺路徑及下丘腦神經膠瘤；其他兒童腦癌；腎上腺皮質癌；原發性中樞神經系統淋巴瘤；兒童小腦星形細胞瘤；神經母細胞瘤；顱咽管瘤；脊髓腫瘤；中樞神經系統非常型類畸胎/橫紋腫瘤；中樞神經系統胚胎腫瘤；及兒童小腦幕上原始神經外胚層腫瘤及垂體腫瘤；

泌尿生殖癌，諸如膀胱癌，包括兒童膀胱癌；腎細胞(腎)癌；卵巢癌，包括兒童卵巢癌；卵巢上皮癌；卵巢低度惡性潛能腫瘤；陰莖癌；前列腺癌；腎細胞癌，包括兒童腎細胞癌；腎盂及輸尿管移行細胞癌；睪丸癌；尿道癌；陰道癌；外陰癌；宮頸癌；威爾姆斯腫瘤(Wilms tumor)及其他兒童腎腫瘤；子宮內膜癌；及妊娠滋養細胞腫瘤；

生殖細胞癌，諸如兒童顱外生殖細胞腫瘤；性腺外生殖細胞腫瘤；卵巢生殖細胞腫瘤；及睪丸癌；

頭頸癌，諸如唇及口腔癌；口腔癌，包括兒童口腔癌；下咽癌；喉癌，包括兒童喉癌；原發灶隱匿的轉移性頸部鱗狀癌；口癌；鼻腔癌及副鼻竇癌；鼻咽癌，包括兒童鼻咽癌；口咽癌；副甲狀腺

癌；咽癌；唾液腺癌，包括兒童唾液腺癌；咽喉癌；及甲狀腺癌；

肺癌，諸如非小細胞肺癌及小細胞肺癌；

呼吸道癌，諸如成人惡性間皮瘤；兒童惡性間皮瘤；惡性胸腺瘤；兒童胸腺瘤；胸腺癌；支氣管腺瘤/類癌，包括兒童支氣管腺瘤/類癌；胸膜肺母細胞瘤；非小細胞肺癌；及小細胞肺癌；

皮膚癌，諸如卡波西氏肉瘤；梅克爾細胞癌(Merkel cell carcinoma)；黑素瘤；及兒童皮膚癌；

AIDS相關之惡性病；

其他兒童癌症，兒童非常見癌症及原發部位未知之癌症；

且亦可根據本文所描述之方法治療或預防前述癌症之轉移。

本文所描述之方法可用於治療血液癌症或惡性病或癌變前病狀，例如白血病或淋巴瘤。癌症可為與如本文所描述之癌症相關抗原之表現有關的癌症。血液癌症及惡性病包括一或多種急性白血病，包括例如B細胞急性淋巴白血病(「BALL」)、T細胞急性淋巴白血病(「TALL」)、急性淋巴白血病(或急性淋巴母細胞白血病)(ALL)，包括成人及兒童急性淋巴白血病；急性骨髓白血病，包括成人及兒童急性骨髓白血病；一或多種慢性白血病，例如慢性骨髓性白血病(CML)、慢性淋巴白血病(或慢性淋巴球性白血病)(CLL)。可用本文所揭示之方法治療之其他癌症或血液科病狀包括例如AIDS相關之淋巴瘤；B細胞前淋巴細胞性白血病；母細胞漿細胞樣樹突狀細胞贅瘤；伯基特氏淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)；慢性骨髓增生病症；皮膚T細胞淋巴瘤；瀰漫性大B細胞淋巴瘤；濾泡性淋巴瘤；毛細胞白血病；霍奇金氏淋巴瘤(包括成人及兒童霍奇金氏淋巴瘤及妊娠期間之霍奇金氏淋巴瘤)；小細胞或大細胞濾泡性淋巴瘤；惡性淋巴組織增生病狀；MALT淋巴瘤；套細胞淋巴瘤；邊緣區淋巴瘤；多發性骨髓瘤；多發性骨髓瘤/漿細胞贅瘤；骨髓發育不良及骨髓發育不良症候

群；骨髓發育不良/骨髓增生病症；蕈樣真菌病；非霍奇金氏淋巴瘤(包括成人及兒童非霍奇金氏淋巴瘤及妊娠期間之非霍奇金氏淋巴瘤)；漿母細胞淋巴瘤；漿細胞樣樹突狀細胞贅瘤；塞紮里(Sezary)症候群；瓦爾登斯特倫(Waldenstrom)巨球蛋白血症；原發性中心系統淋巴瘤；及「白血病前驅症」(其為由骨髓血細胞之無效生產(或發育不良)及其類似病狀聯合之血液病狀的多樣集合)。另外，與如本文所描述之癌症相關抗原表現有關的疾病包括(但不限於)例如與如本文所描述之癌症相關抗原之表現有關的非常型及/或非典型癌症、惡性病、癌變前病狀或增生性疾病。

病原性感染

在另一態樣中，本文所提供之方法可用於治療個體中之病原體感染。在一些實施例中，病原體為病毒病原體，例如，例如HIV、腦膜炎致病病毒、腦炎致病病毒、A型肝炎病毒、B型肝炎病毒、C型肝炎病毒、狂犬病病毒、脊髓灰質炎病毒、流感病毒、副流感病毒、腺病毒、鼻病毒、麻疹病毒、腮腺炎病毒、風疹、百日咳、乳頭狀瘤病毒、黃熱病病毒、呼吸道融合病毒、小病毒、諾沃克(Norwalk)病毒、基孔肯雅(chikungunya)病毒、出血熱病毒、登革熱病毒及疱疹病毒(例如水痘、細胞巨大病毒及艾伯斯坦-巴爾病毒(Epstein-Barr virus))之病毒病原體。在一些實施例中，感染為病毒感染，諸如慢性病毒感染。在一些實施例中，慢性病毒感染係選自A型肝炎、B型肝炎、C型肝炎、艾伯斯坦巴爾病毒、HIV、細胞巨大病毒、1型單純疱疹病毒、2型單純疱疹病毒、人類乳突狀瘤病毒、腺病毒及與卡波西氏肉瘤相關之疱疹病毒。在一些實施例中，慢性病毒感染包含HIV。

舉例而言，Lichterfeld及同事觀測到HIV特異性CD8⁺ T細胞展示較短的端粒長度且在PD-1抑制之後端粒長度增加且端粒酶活性提高(參見例如Lichterfeld, M等人(2008) Blood 112(9):3679-3687)。在另一

實例中，在C型肝炎(HVC)特異性CD8+細胞毒性T淋巴細胞中PD-1明顯上調(參見例如 Golden-Mason, L (2007) J. Virol. 81(17): 9249-9258)。

在一些實施例中，病毒感染包含病毒急性下呼吸道感染。在一些實施例中，病毒急性下呼吸道感染係由鼻病毒、冠形病毒、流感病毒、呼吸道融合病毒(RSV)、腺病毒及/或副流感造成的。在一些實施例中，病毒急性下呼吸道感染為肺炎。在一些實施例中，病毒急性下呼吸道感染包括肺膿腫。在一些實施例中，病毒急性下呼吸道感染包括支氣管炎。

在一些實施例中，病原體為細菌病原體，例如尤其選自腦膜炎雙球菌、嗜血桿菌、肺炎球菌、葡萄球菌、鏈球菌、奈瑟氏菌(Neisseria)、莫拉菌(Moraxella)、大腸桿菌、克雷伯氏菌(Klebsiella)、假單胞菌、腸桿菌、變形桿菌、沙雷菌(Serratia)、軍團菌(Legionella)、沙門氏菌(Salmonella)、志賀桿菌(Shigella)、不動桿菌、李氏菌(Listeria)、衣原體、分支桿菌之細菌病原體。

在一些實施例中，病原體為寄生蟲病原體，例如弓蟲、利什曼原蟲(Leishmania)及瘧疾、T.克魯茲(T. cruzii)、蠕蟲，例如住血吸蟲。

在一些實施例中，病原體為酵母菌或真菌病原體，例如假絲酵母、隱球酵母或粗球菌。

老化及其他病症

在另一態樣中，本文所提供之方法可用於治療個體中之老化。如本文所使用，術語「老化」意謂包括所有類型之老化。在一些實施例中，老化包含免疫衰老。免疫衰老包括隨著年齡增長及在T細胞譜系中之胸腺退化造成的對感染之免疫反應下降，導致降低的T細胞產量及輸出(參見例如 Shimatani, K等人(2009) PNAS 106 (37):15807-

次單位或片段。藉由與mTOR抑制劑一起投與可增強之病毒抗原之實例包括(但不限於)衍生自以下各者及/或適用於治療或預防以下各者之彼等病毒：HIV、腦膜炎致病病毒及腦炎致病病毒、A型肝炎病毒、B型肝炎病毒、C型肝炎病毒、狂犬病病毒、脊髓灰質炎病毒、流感病毒、麻疹病毒、腮腺炎病毒、風疹病毒、百日咳病毒、乳頭狀瘤病毒、黃熱病病毒、呼吸道融合病毒、小病毒、基孔肯雅病毒、出血熱病毒及疱疹病毒，疱疹病毒尤其是水痘、細胞巨大病毒及艾伯斯坦-巴爾病毒。細菌及分支桿菌抗原之實例尤其包括衍生自以下各者及/或抗以下各者適用的彼等者：腦膜炎雙球菌、嗜血桿菌、肺炎球菌、葡萄球菌、麻風及肺結核。寄生蟲抗原之實例包括衍生自以下各者及/或抗以下各者感染適用的彼等寄生蟲抗原：諸如弓蟲病、利什曼體病(leishmaniasis)及瘧疾。又其他組合物抗原包括衍生自例如T.克魯茲之原蟲或抗例如住血吸蟲之蠕蟲的彼等抗原。適用於本文所描述之方法之又其他抗原包括衍生自諸如隱球酵母或粗球菌之酵母菌或真菌的彼等抗原。適用於本文所描述之方法之又其他抗原包括衍生自諸如腫瘤之病理組織的彼等抗原。

特定而言，諸如RAD001之mTOR抑制劑可與抗病毒或病原體之疫苗組合使用，該疫苗諸如流感疫苗、肺炎球菌疫苗或HIV疫苗。更特定言之，如本文所描述，可使用mTOR抑制劑以增強對以下疫苗之免疫反應或輔助以下疫苗：諸如H1N1、H2N3及B流感亞型之任何流感病毒株之疫苗。

進一步預期mTOR抑制劑可用作某些癌症及實體腫瘤及包括(但不限於)瘧疾、HIV及流感之傳染性疾病的治療疫苗中之佐劑。以類似於上文針對其用作含有病原性微生物或病毒之抗原之疫苗的佐劑所揭示之方式使用此類治療疫苗。特定言之，在腫瘤抗原本身已無法激活對特定癌症之反應之情況下，本發明包涵在癌症疫苗或治療劑中使用

mTOR抑制劑作為佐劑。癌症疫苗典型地包括在癌細胞上表現且與癌細胞分離之抗原或經所選抗原轉染且能夠表現所選抗原之癌細胞。舉例而言，任何經純化之腫瘤抗原均可與如上文針對病原性疫苗所描述諸如RAD001之mTOR抑制劑共同投與。相關癌症抗原之鑑別將准許研發此類疫苗。或者，使用通常不在癌細胞上表現之抗原設計其他癌症療法。舉例而言，所選抗原可轉染至癌細胞中且表現抗原之被轉染細胞自身用作疫苗或治療劑。

可使用此項技術中熟知之方法量測mTOR抑制劑在疫苗中提供輔助作用或增強對諸如疫苗抗原(例如流感)之抗原的免疫反應之能力，該等方法諸如(但不限於)ELISA分析法及血球凝集抑制分析法(參見例如Lee等人 *Pediatr Infect Dis J.* 2004年9月; 23(9):852-6)。典型地，可藉由在個體中量測抗抗原之抗體效價來測定mTOR抑制劑增強抗原免疫反應，其中針對特定抗原之抗體之效價提高指示mTOR抑制劑已增強抗原免疫反應。

當用作所選抗原之疫苗佐劑時，或當根據本文所描述之方法使用mTOR抑制劑時，可混合mTOR抑制劑作為含抗原組合物自身之部分。此類組合物為合乎需要的疫苗組合物，其含有適合的載劑且視情況含有其他所需組分。例如磷酸鹽緩衝鹽水及其類似物之適當的載劑之選擇恰好在此項技術之技術內。類似地，熟習此項技術者可容易地選擇適當的穩定劑、防腐劑及其類似物以將其包括在組合物中。可採用此項技術中已知之任何投與途徑以投與抗原或疫苗，例如，皮下、腹膜內、經口、肌肉內、鼻內及其類似途徑。

或者，藉由與疫苗組合物分開投與mTOR抑制劑，可獲得mTOR抑制劑之免疫刺激作用。當分開投與時，mTOR抑制劑可在如上文所描述之調配物中投與。mTOR抑制劑可與疫苗組合物同期投與，與疫苗抗原投與同時進行或在其之前或之後。若在疫苗組合物之前投與

mTOR抑制劑，則其需要在疫苗投與一天或多天前投與。在一個態樣中，mTOR抑制劑可在抗原投與之前一段時間投與。舉例而言，mTOR抑制劑可在疫苗投與1天至7天前，抗原投與一週、兩週、三週、四週、五週或六週或六週以上之前投與。在一個態樣中，在投與mTOR抑制劑之後立即投與抗原。在另一態樣中，在mTOR抑制劑投與與抗原投與之間可存在一段時間。舉例而言，抗原可在mTOR抑制劑投與1天至7天之後投與，或可在mTOR抑制劑投與一週、兩週、三週或三週以上之後投與。在一個態樣中，向個體投與mTOR抑制劑持續六週，繼而在兩週期間，個體既不接受mTOR抑制劑亦不接受抗原，繼而投與抗原。當mTOR抑制劑以與疫苗分開的組分形式投與時，其可藉由與疫苗抗原相同的投與途徑投與，或其可藉由不同的途徑或如醫師所選之任何其他途徑投與。在前述給藥時程之另一態樣中，mTOR抑制劑之投與可在投與抗原之後繼續。舉例而言，不論是在抗原之前投與還是與抗原在相同時間投與，mTOR抑制劑可在抗原投與之後繼續按如本文所描述之每週或每日給藥時程投與1、2、3、4、5、6或7天或7天以上。mTOR抑制劑可在抗原投與之後繼續投與1、2、3、4、5或6週或6週以上。

利用mTOR抑制劑之其他方法

在一個態樣中，本發明係關於在增強個體中之抗原免疫反應之方法中使用較低劑量之mTOR抑制劑。在一個態樣中，當抗原暴露與較低劑量之mTOR抑制劑組合時，抗原免疫反應增強1.2倍。在另一態樣中，當抗原暴露與如本文所描述之低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑組合時，抗原免疫反應增強0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4或1.5或大於1.5倍。在另一態樣中，mTOR抑制劑為本文所描述之mTOR抑制劑，例如RAD001，且其係以本文所描述之劑量投與，例如每日0.005 mg至每日1.5 mg，每日0.01 mg至每日1 mg，每

日0.01 mg至每日0.7 mg，每日0.01 mg至每日0.5 mg，或每日0.1 mg至每日0.5 mg，或每週0.1 mg至每週20 mg，每週0.5 mg至每週15 mg，每週1 mg至每週10 mg，或每週3 mg至每週7 mg之劑量。在一個態樣中，以每日0.5 mg或每週5 mg之劑量投與mTOR抑制劑RAD001。在前述態樣中之每一者中，可以生物等效劑量之投與除RAD001外之mTOR抑制劑。

在另一態樣中，本發明係關於藉由投與足以將P70 S6激酶抑制為本文所描述之量(例如不超過80%)之量的mTOR抑制劑來增強抗原免疫反應的方法。在另一態樣中，mTOR抑制劑足以將P70 S6激酶抑制不超過38%。在一個態樣中，mTOR抑制劑為RAD001、雷帕黴素、雷帕黴素類似物或此項技術中已知之其他mTOR抑制劑，諸如地磷莫司、替西羅莫司。在另一態樣中，mTOR抑制劑可為兩種或兩種以上mTOR抑制劑之組合。該方法包括向個體投與諸如疫苗(例如流感疫苗)之抗原及諸如RAD001之mTOR抑制劑的步驟。

在一個態樣中，抗原為疫苗抗原且可包括例如流感、肺炎球菌、HIV或其他疫苗抗原。特定而言，疫苗抗原可為流感抗原，諸如H1N1、H2N3及B流感亞型。

增強抗原免疫反應之本發明方法包涵提高個體中之抗原免疫反應的方法。亦即，由於包括與抗原一起投與之mTOR抑制劑，在暴露於抗原之後，保護性免疫力得到提高，其中保護性免疫力係指存在足夠的抗體效價以保護免遭相同抗原之後續感染。另外，響應於mTOR抑制劑治療之增強的抗原免疫反應可意謂在暴露於諸如疫苗之抗原之後群體中具有保護性免疫力之個體的百分比得到提高。

在一個態樣中，免疫功能/反應受抑制或受損之指示為淋巴細胞數目減少或淋巴細胞功能下降，諸如對促進細胞分裂之刺激的反應下降。(1)當Th/Ts之比率低於約1.0時；(2)當ConA之刺激指數為大約

50%，低於「標準」時；或(2)當PHA刺激指數為大約50%，低於「標準」時；人類免疫系統亦可視為受損(參見例如EP0507872)。當巨噬細胞及樹突狀細胞之抗原呈現及/或淋巴細胞活化低於源自年齡小於40歲的健康個體細胞中所見時；當淋巴細胞對活化信號之反應低於源自年齡小於40歲的健康個體淋巴細胞中所見時；當炎症細胞因子分泌高於年齡小於40歲的健康個體中所見時；當造血幹細胞之淋巴細胞生成低於來自年齡小於40歲的個體之造血幹細胞之淋巴細胞生成時；或當PD1+CD4+及/或CD8+ T細胞百分比高於年齡小於40歲的個體中之PD1+CD4+及/或CD8+ T細胞百分比時；人類免疫系統亦可視為受損。

人類免疫反應受損常常觀測為諸如損傷之病狀的副效應，該損傷來自事故或所經受之外科大手術、諸如癌症或HIV病毒感染(AIDS)之衰竭性疾病或營養不良或老年。由於免疫反應受損，患者無法作出反應及自其身體消除諸如細菌、病毒及真菌之感染物。

在一個態樣中，增強個體免疫反應之方法亦包括首先鑑別個體是否免疫反應受損之步驟。免疫反應受損之個體係指預計在預防性疫苗接種之後無法獲得保護性抗體效價水準的個體，或其中個體在治療疫苗接種之後疾病負荷並未減輕。用於測定疫苗接種之後的抗體效價及/或量測疾病負荷之方法在此項技術中為吾人所熟知且可由醫師或其他醫學專業人員按常規進行。

舉例而言，抗流感病毒抗體之效價可藉由血球凝集抑制(HI)分析法量測。HI分析法可按 Kendal, AP 等人(1982) *Concenpts and procedures for laboratory-based influenza surveillance. Atlanta: 疾病控制及預防中心(Centers for Disease Control and Prevention) B17-B35* 中所描述及下文進行。將恆定量之血球凝集抗原(HA)添加至微量滴定盤之各孔中。將例如患者血清之測試樣品添加至第一孔且連續稀釋例

如兩倍以達到所需稀釋度或孔數。將RBC添加至各孔中。該盤持續培育足以發生血球凝集之時間量，例如1小時。隨後觀測到該盤具有凝集的RBC（指示存在不足以阻止血球凝集之抗體）或未凝集的RBC（指示存在足以阻止血球凝集之抗體）之孔。阻止血球凝集之測試樣品之所需最高稀釋度指示HI效價。

若個體為已知免疫功能較低之群體中之一員，諸如老年人、經受免疫抑制或化學療法治療之個體、無脾的個體、免疫功能低下個體或患有HIV/AIDS之個體，則個體亦可稱為免疫反應受損。亦即，可基於其是否包括在典型地與免疫功能受損有關之一類個體中來斷定個體免疫反應受損。可在無特異性測試之情況下或使用此項技術中之常規方法確認免疫反應受損之後認為此類個體免疫反應受損。另外，若個體具有較低免疫功能病史，諸如在疫苗接種或暴露於抗原之後無法建立保護性免疫力之病史，則可認為該個體免疫反應受損。

一旦個體被鑑別為免疫反應受損，該個體即可在如本文所描述之疫苗接種及/或暴露於抗原之情形下用mTOR抑制劑治療。

另外，在另一態樣中，本發明係關於用於治療個體中之免疫衰老之方法，其係藉由向個體投與能有效地提高抗原（例如疫苗抗原）免疫反應之量的mTOR抑制劑以實現針對抗原之保護性抗體效價或T細胞反應。在一個態樣中，本發明提供藉由投與較低劑量諸如RAD001之mTOR抑制劑來治療個體中之免疫衰老的方法。mTOR抑制劑RAD001可以本文所描述之劑量投與，例如每日約0.005 mg至1.5 mg，每日約0.01 mg至1 mg，每日約0.01 mg至0.7 mg，每日約0.01 mg至0.5 mg，或每日約0.1 mg至0.5 mg，或每週約0.1 mg至20 mg，每週約0.5 mg至15 mg，每週約1 mg至10 mg，或每週約3 mg至7 mg之劑量。在一個態樣中，RAD001以每日0.5 mg或每週5 mg之劑量投與。在前述之另一實施例中，mTOR抑制劑可為以生物等效於上文所指示

之RAD001劑量的劑量投與之除RAD001外的抑制劑。在另一態樣中，本發明係關於藉由投與足以將P70 S6激酶抑制不超過80%之量的mTOR抑制劑來治療個體中之免疫衰老的方法。在另一態樣中，mTOR抑制劑足以將P70 S6激酶抑制不超過38%。在一個態樣中，mTOR抑制劑為RAD001、雷帕黴素、雷帕黴素類似物或此項技術中已知之其他mTOR抑制劑。在另一態樣中，mTOR抑制劑可為兩種或兩種以上mTOR抑制劑之組合。

免疫衰老係指與年齡相關的、導致對疫苗接種及感染性病原體之反應受損的免疫功能下降。其涉及尤其藉由疫苗接種之宿主對感染之反應能力及長期免疫記憶之發展兩者。此年齡相關之免疫缺陷普遍存在且在長壽命及短壽命物種中均可見，其隨其相對於預期壽命之年齡而非隨物理時間變化。其被認為是老年人中之罹病及死亡頻率提高之主要因素。免疫衰老並非隨機的惡化現象，相反地，其似乎反向重複進化模式且大多數受免疫衰老影響之參數似乎受基因控制。免疫衰老有時亦可設想為不可避免地暴露於諸如病毒及細菌之多種抗原下的連續性攻擊之結果。免疫衰老為在老齡群體中導致多種病理顯著的健康問題之多因素病狀。諸如造血幹細胞損耗、吞噬細胞及NK細胞總數目減退及體液免疫性減退之年齡相關之生物變化促使免疫衰老發作且其可用作免疫衰老發作或存在之指示。在一個態樣中，可藉由量測免疫細胞中之端粒長度來量測個體中之免疫衰老(參見例如US5741677)。免疫衰老亦可藉由在個體中量測原始CD4及/或CD8 T細胞數目，量測T細胞抗體庫，量測PD1+CD4與CD8 T細胞之百分比，或量測年齡為65歲之個體對疫苗接種之反應來量測。在另一態樣中，本發明係關於藉由向個體投與mTOR抑制劑RAD001來治療個體之年齡相關之病狀的方法，抑制劑呈每日約0.005 mg至每日1.5 mg，每日約0.01 mg至每日1 mg，每日約0.01 mg至每日0.7 mg，每日約0.01 mg

發明之mTOR抑制劑之個體相比較不可能發生。用於量測mTOR抑制劑對本文所描述之年齡相關之病狀的治療效果之方法為此項技術中已知且此類方法之實例可見於美國專利8,420,088中。

組合治療

在一些實施例中，以低及免疫增強劑量與一或多種治療劑一起投與mTOR抑制劑(例如本文所描述之mTOR抑制劑)(醫藥組合)可能是有利的。舉例而言，可與其他免疫刺激、抗感染、抗腫瘤或抗增殖藥劑發生協同效應，該等藥劑例如有絲分裂抑制劑、烷化劑、抗代謝物、嵌入抗生素、生長因子抑制劑(例如曲妥珠單抗(trastuzumab)、帕尼單抗(panitumumab)、西妥昔單抗(cetuximab)、吉非替尼(gefitinib)、埃羅替尼(erlotinib)、拉帕替尼(lapatinib)、索拉非尼(sorafenib)等)、細胞週期抑制劑、酶製劑、拓撲異構酶抑制劑、生物反應調節劑、抗體、細胞毒劑、支氣管擴張劑、抗激素、抗雄激素、抗血管生成劑、激酶抑制劑、泛激酶抑制劑(pan kinase inhibitor)或生長因子抑制劑。其他適合的治療劑列於醫師案頭參考文獻中。在本發明化合物與其他治療劑一起投與之情況下，共同投與化合物之劑量理所當然將視所採用之共同藥物類型、所採用之特定藥物、待治療之病狀等而變化。

因此，mTOR抑制劑(例如本文所描述之mTOR抑制劑)可以低及免疫增強劑量與其他已知藥劑及治療劑組合使用。如本文中所使用，「組合」投與意謂在個體受病症折磨之病程期間向個體傳遞兩種(或兩種以上)不同治療，例如，在個體已被確診患有病症之後及在病症治癒或消除或出於其他原因治療停止之前傳遞兩種或兩種以上治療。在一些實施例中，一種治療之傳遞在第二治療傳遞開始時仍存在以使得就投與而言存在重疊。此在本文中有時係指「同步」或「同時傳遞」。在其他實施例中，一種治療之傳遞在另一治療傳遞開始之前結

束。在任一情況之一些實施例中，治療由於組合投與而更有效。舉例而言，相較於在無第一治療存在下投與第二治療可見，第二治療更有效，例如使用較少第二治療即可見同等效果，或第二治療減輕症狀達更大程度，或使用第一治療可見相似情形。在一些實施例中，傳遞使得症狀減輕或與病症有關之其他參數大於在無另一治療存在下用一種治療傳遞所觀測到的參數。兩種治療之作用可部分加合，完全加合或大於加合。傳遞可使得所傳遞之第一治療之作用在傳遞第二治療時仍可檢測到。

呈低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑(例如本文所描述之mTOR抑制劑)及至少一種額外治療劑可以相同或分開的組合物形式同時投與或依次投與。就依次投與而言，可首先投與mTOR抑制劑且可其次投與額外藥劑或投與次序可為顛倒的。在一些實施例中，在至少一種額外治療劑之治療之前例如1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週、9週、10週、11週、12週或12週以上投與mTOR抑制劑作為預治療。

在一些實施例中，向患有癌症(例如本文所描述之癌症)之個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑，例如本文所描述之mTOR抑制劑。個體可接受與mTOR抑制劑組合之額外治療劑的治療，該額外治療劑諸如就彼類型癌症而言經批准之藥物。舉例而言，以下表1提供各種癌症及其經批准之治療的清單。

表1.癌症及經批准之治療

| 癌症 | 治療 |
|------------|--|
| 急性淋巴母細胞白血病 | 艾比西特(Abitrexate) (甲胺喋呤)；阿德力黴素(Adriamycin) PFS (鹽酸阿黴素(Doxorubicin Hydrochloride))；阿德力黴素RDF(鹽酸阿黴素)；阿拉儂(Arranon) (奈拉濱(Nelarabine))；天冬醯胺酶菊歐文氏菌(Asparaginase Erwinia chrysanthemi)；柔紅黴素(Cerubidine) (鹽酸道諾黴素(Daunorubicin Hydrochloride))；克拉芬(Clafen) (環磷醯胺)；氯法拉濱(Clofarabine)；氯法克斯(Clofarex) (氯法拉濱)；氯拉(Clolar) (氯法拉濱)；環磷醯胺；阿糖胞苷(Cytarabine)；賽特薩-U(Cytosar-U) (阿糖胞 |

| | |
|---------------|---|
| | <p>苷)；賽特杉(Cytosan) (環磷醯胺(Cyclophosphamide))；達沙替尼(Dasatinib)；鹽酸道諾黴素；鹽酸阿黴素；門冬醯胺酶(Erwinaze) (天冬醯胺酶菊歐文氏菌)；氟萊克斯(Folex) (甲胺喋呤)；氟萊克斯PFS (甲胺喋呤)；格列衛(Gleevec) (甲磺酸伊馬替尼 (Imatinib Mesylate))；依克魯西格(Iclusig) (鹽酸普納替尼(Ponatinib Hydrochloride))；甲磺酸伊馬替尼；瑪奇博(Marqibo) (硫酸長春新鹼脂質體(Vincristine Sulfate Liposome))；巯基嘌呤(Mercaptopurine)；甲胺喋呤；甲胺喋呤LPF (胺甲葉酸(Methorexate))；美西特(Mexate) (甲胺喋呤)；美西特-AQ (甲胺喋呤)；奈拉濱；尼歐薩(Neosar) (環磷醯胺)；昂卡司帕(Oncaspar) (培門冬酶(Pegaspargase))；培門冬酶；嘌呤托(Purinethol) (巯基嘌呤)；普利坦(Purixan) (巯基嘌呤)；紅比黴素(Rubidomycin) (鹽酸道諾黴素)；施達塞(Sprycel) (達沙替尼)；塔拉濱(Tarabine) PFS (阿糖胞苷)；文卡薩(Vincasar) PFS (硫酸長春新鹼)；硫酸長春新鹼；或硫酸長春新鹼脂質體。</p> <p>藥物組合</p> <p>超CVAD(hyper-CVAD)：環磷醯胺；硫酸長春新鹼；鹽酸阿黴素(阿德力黴素)；地塞米松(Dexamethasone)。</p> |
| 急性骨髓白血病 | <p>阿德力黴素PFS(鹽酸阿黴素)；阿德力黴素RDF(鹽酸阿黴素)；三氧化二砷；柔紅黴素(鹽酸道諾黴素)；克拉芬(環磷醯胺)；環磷醯胺；阿糖胞苷；賽德薩-U(阿糖胞苷)；賽特杉(環磷醯胺)；鹽酸道諾黴素；鹽酸阿黴素；尼歐薩(環磷醯胺)；紅比黴素(鹽酸道諾黴素)；塔拉濱PFS(阿糖胞苷)；三氧化砷(Trisenox) (三氧化二砷)；文卡薩PFS(硫酸長春新鹼)；或硫酸長春新鹼。</p> <p>藥物組合</p> <p>ADE：阿糖胞苷、鹽酸道諾黴素及依託泊苷(Etoposide)。</p> |
| AIDS相關之卡波西氏肉瘤 | <p>Dox-SL(鹽酸阿黴素脂質體)；多希(Doxil) (鹽酸阿黴素脂質體)；鹽酸阿黴素脂質體；艾瓦西特(Evacet) (鹽酸阿黴素脂質體)；內含子A(重組干擾素α-2b)；LipoDox(鹽酸阿黴素脂質體)；太平洋紫杉醇(Paclitaxel)；重組干擾素α-2b；紫杉醇(Taxol) (太平洋紫杉醇)；長春鹼(Velban) (硫酸長春鹼(Vinblastine Sulfate))；維爾薩(Velsar) (硫酸長春鹼)；或硫酸長春鹼。</p> |
| 基底細胞癌 | <p>阿德希爾(Adrucil) (氟尿嘧啶)；阿爾達拉(Aldara) (咪喹莫特(Imiquimod))；艾弗得士(Efudex) (氟尿嘧啶(Fluorouracil))；艾瑞維吉(Erivedge) (維莫德吉(Vismodegib))；氟普克斯(Fluoroplex) (氟尿嘧啶)；氟尿嘧啶；咪喹莫特；或維莫德吉。</p> |
| 膀胱癌 | <p>阿德力黴素PFS(鹽酸阿黴素)；阿德力黴素RDF(鹽酸阿黴素)；順鉑(Cisplatin)；鹽酸阿黴素；普拉迪諾(Platinol) (順鉑)；或普拉迪諾-AQ(順鉑)。</p> |
| 骨癌 | <p>艾比西特(甲胺喋呤)；阿德力黴素PFS(鹽酸阿黴素)；阿德力黴素RDF(鹽酸阿黴素)；鹽酸阿黴素；氟萊克斯(甲胺喋呤)；氟萊克斯PFS(甲胺喋呤)；甲胺喋呤；甲胺喋呤LPF(甲胺喋呤)；美西特(甲胺喋呤)；或美西特-AQ(甲胺喋呤)。</p> |
| 腦腫瘤 | <p>飛尼妥(Afinitor) (依維莫司)；飛尼妥迪斯伯(Disperz) (依維莫司)；阿瓦斯汀(Avastin) (貝伐單抗(Bevacizumab))；貝伐單抗；CeeNu(洛莫司汀(Lomustine))；依維莫司；洛莫司汀；梅塞唑拉斯通(Methazolastone) (替莫唑胺(Temozolomide))；替莫達(Temodar) (替莫唑胺)；或替莫唑胺。</p> |
| 乳癌 | <p>艾比西特(甲胺喋呤)；白蛋白結合型紫杉醇(Abraxane) (經太平洋紫杉醇</p> |

| | |
|-----------|---|
| | <p>白蛋白穩定之奈米粒子調配物)；Ado-曲妥珠單抗(Trastuzumab)恩他新(Emtansine)；阿德力黴素PFS (鹽酸阿黴素)；阿德力黴素RDF (鹽酸阿黴素)；阿德希爾(氟尿嘧啶)；飛尼妥(依維莫司)；阿那曲唑(Anastrozole)；阿可達(Aredia) (帕米膦酸二鈉(Pamidronate Disodium))；阿瑞米克斯(Arimidex) (阿那曲唑)；阿諾新(Aromasin) (依西美坦(Exemestane))；卡培他濱(Capecitabine)；克拉芬(環磷醯胺)；環磷醯胺；賽特杉(環磷醯胺)；多烯紫杉醇(Docetaxel)；鹽酸阿黴素；艾弗得士(氟尿嘧啶)；艾倫斯(Ellence) (鹽酸表柔比星(Epirubicin Hydrochloride))；鹽酸表柔比星；依維莫司；依西美坦；法樂通(Fareston) (托瑞米芬(Toremifene))；法洛得士(Faslodex) (氟 維 司 群 (Fulvestrant))；弗隆(Femara) (來 曲 唑 (Letrozole))；氟普克斯(氟尿嘧啶)；氟尿嘧啶；氟萊克斯(甲胺喋呤)；氟萊克斯PFS (甲胺喋呤)；氟維司群；鹽酸吉西他濱(Gemcitabine Hydrochloride)；健擇(Gemzar) (鹽酸吉西他濱)；乙酸戈舍瑞林(Goserelin Acetate)；赫賽汀(Herceptin) (曲妥珠單抗)；伊沙匹隆(Ixabepilone)；艾克斯普拉(Ixempra) (伊沙匹隆)；卡德克拉(Kadcyla) (Ado-曲妥珠單抗恩他新)；二甲苯磺酸拉帕替尼；來曲唑；美加西(Megace) (乙酸甲地孕酮(Megestrol Acetate))；乙酸甲地孕酮；甲胺喋呤；甲胺喋呤LPF(甲胺喋呤)；美西特(Mexate) (甲胺喋呤)；美西特-AQ (甲胺喋呤)；尼歐薩(環磷醯胺)；諾瓦得士(Nolvadex) (檸檬酸他莫昔芬(Tamoxifen Citrate))；諾瓦爾得士(Novaldex) (檸檬酸他莫昔芬)；太平洋紫杉醇；經太平洋紫杉醇白蛋白穩定之奈米粒子調配物；帕米膦酸二鈉；帕傑它(Perjeta) (帕妥珠單抗(Pertuzumab))；帕妥珠單抗；檸檬酸他莫昔芬；紫杉醇(太平洋紫杉醇)；紫杉德(Taxotere) (多烯紫杉醇)；曲妥珠單抗；托瑞米芬；泰克泊(Tykerb) (二甲苯磺酸拉帕替尼)；希羅達(Xeloda) (卡培他濱)；或諾雷德(乙酸戈舍瑞林)。</p> <p>藥物組合</p> <p>AC:鹽酸阿黴素(阿德力黴素)及環磷醯胺。</p> <p>AC-T: 鹽酸阿黴素(阿德力黴素)、環磷醯胺及太平洋紫杉醇(紫杉醇)。</p> <p>CAF: 環磷醯胺、鹽酸阿黴素(阿德力黴素)及氟尿嘧啶。</p> <p>CMF: 環磷醯胺、甲胺喋呤及氟尿嘧啶。</p> <p>FEC: 氟尿嘧啶、鹽酸表柔比星及環磷醯胺。</p> <p>TAC: 多烯紫杉醇(紫杉德)、鹽酸阿黴素(阿德力黴素)及環磷醯胺。</p> |
| 宮頸癌 | <p>博萊杉(Blenoxane) (博萊黴素(Bleomycin))；博萊黴素；順鉑；和美新(Hycamtin) (鹽酸拓朴替康(Topotecan Hydrochloride))；普拉迪諾(順鉑)；普拉迪諾-AQ(順鉑)；或鹽酸拓朴替康。</p> <p>藥物組合</p> <p>吉西他濱-順鉑：鹽酸吉西他濱及順鉑。</p> |
| 慢性淋巴球性白血病 | <p>阿侖妥珠單抗(Alemtuzumab)；安伯氯林(Ambochlorin) (苯丁酸氮芥(Chlorambucil))；安伯洛林(Amboclorin) (苯丁酸氮芥)；阿瑞拉(Arzerra) (奧 法 木 單 抗 (Ofatumumab))；鹽 酸 苯 達 莫 司 汀 (Bendamustine Hydrochloride)；坎帕斯(Campath) (阿侖妥珠單抗)；苯丁酸氮芥；克拉芬(環磷醯胺)；環磷醯胺；賽特杉(環磷醯胺)；氟達拉(Fludara) (磷酸氟達拉濱(Fludarabine Phosphate))；磷酸氟達拉濱；加澤瓦(Gazyva) (歐比托珠單抗(Obinutuzumab))；依魯替尼(Ibrutinib)；依魯維卡(Imbruvica) (依魯替尼)；瘤可寧(Leukeran) (苯丁酸氮芥)；林福利嗉(Linfolizin) (苯丁酸氮芥)；尼歐薩(環磷醯胺)；歐比托珠單抗；奧法木單抗；或特瑞達</p> |

| | |
|----------|---|
| | <p>(Treanda) (鹽酸苯達莫司汀)。</p> <p>藥物組合</p> <p>苯丁酸氮芥-潑尼松(CHLORAMBUCIL-PREDNISONE)：苯丁酸氮芥及潑尼松。</p> <p>CVP：環磷醯胺、硫酸長春新鹼及潑尼松。</p> |
| 慢性骨髓性白血病 | <p>伯舒立夫(Bosulif) (伯舒替尼(伯舒替尼))；伯舒替尼；白消安(Busulfan)；白舒非(Busulfex) (白消安)；克拉芬(環磷醯胺)；環磷醯胺；阿糖胞苷；賽德薩-U(阿糖胞苷)；賽特杉(環磷醯胺)；達沙替尼；格列衛(甲磺酸伊馬替尼)；依克魯西格(鹽酸普納替尼)；甲磺酸伊馬替尼；馬利蘭(Myleran) (白消安)；尼歐薩(環磷醯胺)；尼羅替尼(Nilotinib)；高三尖杉酯鹼(Omacetaxine Mepesuccinate)；鹽酸普納替尼；施達塞(達沙替尼)；西瑞博(Synribo) (高三尖杉酯鹼)；塔拉濱PFS(阿糖胞苷)；或塔希納(Tasigna) (尼羅替尼)。</p> |
| 結腸癌 | <p>阿德希爾(氟尿嘧啶)；阿瓦斯汀(貝伐單抗)；貝伐單抗；坎普托沙(Camptosar) (鹽酸伊立替康)；卡培他濱；西妥昔單抗；艾弗得士(氟尿嘧啶)；艾洛汀(Eloxatin) (奧沙利鉑(Oxaliplatin))；艾必妥(Erbitux) (西妥昔單抗)；氟普克斯(氟尿嘧啶)；氟尿嘧啶；鹽酸伊立替康；甲醯四氫葉酸鈣；奧沙利鉑；帕尼單抗；瑞戈非尼(Regorafenib)；斯蒂瓦加(Stivarga) (瑞戈非尼)；維克替比(Vectibix) (帕尼單抗)；韋康瑞林(Wellcovorin) (甲醯四氫葉酸鈣)；希羅達(卡培他濱)；紫爾拉普(Zaltrap) (Ziv-阿柏西普(Ziv-Aflibercept))；或Ziv-阿柏西普。</p> <p>藥物組合</p> <p>CAPOX：卡培他濱及奧沙利鉑。</p> <p>FOLFIRI：甲醯四氫葉酸鈣(醛葉酸)、氟尿嘧啶及鹽酸伊立替康。</p> <p>FOLFIRI-貝伐單抗(FOLFIRI-BEVACIZUMAB)：甲醯四氫葉酸鈣(醛葉酸)；氟尿嘧啶；鹽酸伊立替康；及貝伐單抗。</p> <p>FOLFIRI-西妥昔單抗(FOLFIRI-CETUXIMAB)：甲醯四氫葉酸鈣(醛葉酸)；氟尿嘧啶；鹽酸伊立替康；及西妥昔單抗。</p> <p>FOLFOX：甲醯四氫葉酸鈣(醛葉酸)、氟尿嘧啶及奧沙利鉑。</p> <p>XELOX：卡培他濱(希羅達)及奧沙利鉑。</p> |
| 子宮內膜癌 | <p>美加西(乙酸甲地孕酮)或乙酸甲地孕酮。</p> |
| 胃(腹)癌 | <p>阿德力黴素PFS(鹽酸阿黴素)；阿德力黴素RDF(鹽酸阿黴素)；阿德希爾(氟尿嘧啶)；賽拉雜(Cyamza) (雷莫蘆單抗(Ramucirumab))；多烯紫杉醇；鹽酸阿黴素；艾弗得士(氟尿嘧啶)；氟普克斯(氟尿嘧啶)；氟尿嘧啶；赫賽汀(曲妥珠單抗)；絲裂黴素C；米托曲士(Mitozytrex) (絲裂黴素C)；突變黴素(Mutamycin) (絲裂黴素C)；雷莫蘆單抗；紫杉德(多烯紫杉醇)；或曲妥珠單抗。</p> |
| 胃腸基質腫瘤 | <p>格列衛(甲磺酸伊馬替尼)；甲磺酸伊馬替尼；瑞戈非尼；斯蒂瓦加(瑞戈非尼)；蘋果酸舒尼替尼(Sunitinib Malate)；舒癌特(Sutent) (蘋果酸舒尼替尼)</p> |
| 頭頸癌 | <p>艾比西特(甲胺喋呤)；阿德希爾(氟尿嘧啶)；博萊杉(博萊黴素)；博萊黴素；西妥昔單抗；順鉑；多烯紫杉醇；艾弗得士(氟尿嘧啶)；艾必妥(西妥昔單抗)；氟普克斯(氟尿嘧啶)；氟尿嘧啶；氟萊克斯(甲胺喋呤)；氟萊克斯PFS(甲胺喋呤)；甲胺喋呤；甲胺喋呤LPF(甲胺喋呤)；美西特(甲胺喋呤)；美西特-AQ(甲胺喋呤)；普拉迪諾(順鉑)；普拉迪諾-AQ(順鉑)；或紫杉德(多烯紫杉醇)。</p> |

| | |
|---------|--|
| 霍奇金氏淋巴瘤 | <p>阿德曲斯(Adcetris) (貝倫妥單抗維多汀(Brentuximab Vedotin)); 阿德力黴素PFS (鹽酸阿黴素); 阿德力黴素RDF (鹽酸阿黴素); 安伯氯林(苯丁酸氮芥); 安伯洛林(苯丁酸氮芥); 博萊杉(博萊黴素); 博萊黴素; 貝倫妥單抗維多汀; 苯丁酸氮芥; 克拉芬(環磷醯胺); 環磷醯胺; 賽特杉(環磷醯胺); 達卡巴嗪(Dacarbazine); 鹽酸阿黴素; DTIC-多姆(Dome) (達卡巴嗪); 瘤可寧(苯丁酸氮芥); 林福利嗪(苯丁酸氮芥); 洛莫司汀; 甲基苄肼(Matulane) (鹽酸丙卡巴肼(Procarbazine Hydrochloride)); 尼歐薩(環磷醯胺); 鹽酸丙卡巴肼; 長春鹼(硫酸長春鹼); 維爾薩(硫酸長春鹼); 硫酸長春鹼; 文卡薩PFS(硫酸長春新鹼); 或硫酸長春新鹼。</p> <p>藥物組合:</p> <p>ABVD: 鹽酸阿黴素(阿德力黴素); 博萊黴素; 硫酸長春鹼; 及達卡巴嗪</p> <p>ABVE: 鹽酸阿黴素(阿德力黴素); 博萊黴素; 硫酸長春鹼; 及依託泊苷。</p> <p>ABVE-PC: 鹽酸阿黴素(阿德力黴素); 博萊黴素; 硫酸長春鹼; 依託泊苷潑尼松; 及環磷醯胺。</p> <p>BEACOPP: 博萊黴素; 依託泊苷; 鹽酸阿黴素(阿德力黴素); 環磷醯胺硫酸長春新鹼(安可平(Oncovin)); 鹽酸丙卡巴肼; 及潑尼松。</p> <p>COPP: 環磷醯胺; 硫酸長春新鹼(安可平); 鹽酸丙卡巴肼; 及潑尼松。</p> <p>COPP-ABV: 環磷醯胺; 硫酸長春新鹼(安可平); 鹽酸丙卡巴肼; 潑尼松; 鹽酸阿黴素(阿德力黴素); 博萊黴素; 及硫酸長春鹼。</p> <p>ICE: 異環磷醯胺、卡鉑(Carboplatin)及依託泊苷。</p> <p>MOPP: 鹽酸氮芥; 硫酸長春新鹼(安可平); 鹽酸丙卡巴肼; 及潑尼松。</p> <p>OEPA: 硫酸長春新鹼(安可平)。依託泊苷。潑尼松; 及鹽酸阿黴素(阿德力黴素)。</p> <p>OPPA: 硫酸長春新鹼(安可平); 鹽酸丙卡巴肼; 潑尼松; 及鹽酸阿黴素(阿德力黴素)。</p> <p>STANFORD V: 鹽酸氮芥; 鹽酸阿黴素; 硫酸長春鹼; 硫酸長春新鹼; 博萊黴素; 依託泊苷; 及潑尼松。</p> <p>VAMP: 硫酸長春新鹼; 鹽酸阿黴素(阿德力黴素); 及甲胺喋呤; 及潑尼松。</p> |
| 腎(腎細胞)癌 | <p>飛尼妥(依維莫司); 阿地白介素(Aldesleukin); 阿瓦斯汀(貝伐單抗); 阿西替尼(Axitinib); 貝伐單抗; 依維莫司; 因塔(Inlyta) (阿西替尼); 雷沙瓦(Nexavar) (甲 苯 磺 酸 索 拉 非 尼); 鹽 酸 帕 唑 帕 尼 (Pazopanib Hydrochloride); 普羅金(Proleukin) (阿地白介素); 甲苯磺酸索拉非尼; 蘋果酸舒尼替尼; 舒癌特(蘋果酸舒尼替尼); 替西羅莫司; 托瑞索(Torisel) (替西羅莫司); 或維曲特(Votrient) (鹽酸帕唑帕尼)。</p> |
| 肝癌 | <p>雷沙瓦(甲苯磺酸索拉非尼)或甲苯磺酸索拉非尼。</p> |
| 黑素瘤 | <p>阿地白介素; 達拉菲尼(Dabrafenib); 達卡巴嗪; DTIC-多姆(達卡巴嗪); 內含子A(重組干擾素α-2b); 伊派利單抗; 美尼斯特(Mekinist) (曲美替尼(Trametinib)); 聚乙二醇化干擾素α-2b; PEG-內含子(聚乙二醇化干擾素α-2b); 普羅金(阿地白介素); 重組干擾素α-2b; 塞拉曲(Sylatron) (聚乙二醇化干擾素α-2b); 塔芬拉(Tafinlar) (達拉菲尼); 曲美替尼; 維羅非尼(維羅非尼); 易沃伊(Yervoy) (伊派利單抗); 或澤波拉夫(Zelboraf) (維羅非尼)。</p> |
| 惡性間皮瘤 | <p>愛甯達(Alimta) (培美曲塞二鈉(Pemetrexed Disodium)); 順鉑; 培美曲塞</p> |

| | |
|----------|---|
| | 二鈉；普拉迪諾(順鉑)；或普拉迪諾-AQ(順鉑)。 |
| 多發性骨髓瘤 | 阿可達(帕米膦酸二鈉)；硼替佐米(Bortezomib)；卡非唑米(Carfilzomib)；克拉芬(環磷醯胺)；環磷醯胺；賽特杉(環磷醯胺)；多希(鹽酸阿黴素脂質體)；鹽酸阿黴素脂質體；Dox-SL(鹽酸阿黴素脂質體)；艾瓦西特(鹽酸阿黴素脂質體)；凱普羅里斯(Kyprolis)(卡非唑米)；來那度胺(Lenalidomide)；LipoDox(鹽酸阿黴素脂質體)；莫唑比(Mozobil)(普樂沙福(Plerixafor))；尼歐薩(環磷醯胺)；帕米膦酸二鈉；普樂沙福；泊馬度胺(Pomalidomide)(泊馬斯特(Pomalyst))；泊馬斯特；雷利米得(Revlimid)(來那度胺)；昔諾韋(Synovir)(沙立度胺(Thalidomide))；沙立度胺；沙洛米得(Thalomid)(沙立度胺)；萬珂(Velcade)(硼替佐米(Bortezomib))；唑來膦酸(Zoledronic Acid)；唑美塔(Zometa)(唑來膦酸) |
| 骨髓增生病症 | 阿德力黴素PFS(鹽酸阿黴素)；阿德力黴素RDF(鹽酸阿黴素)；三氧化二砷；阿紫胞苷(Azacitidine)；柔紅黴素(鹽酸道諾黴素)；克拉芬(環磷醯胺)；環磷醯胺；阿糖胞苷；賽德薩-U(阿糖胞苷)；阿糖胞苷；賽特杉(環磷醯胺)；達克金(Dacogen)(地西他濱(Decitabine))；達沙替尼；鹽酸道諾黴素；地西他濱；鹽酸阿黴素；格列衛(甲磺酸伊馬替尼)；甲磺酸伊馬替尼；賈卡(Jakafi)(磷酸蘆可替尼(Ruxolitinib Phosphate))；來那度胺；麥洛薩(Mylosar)(阿紫胞苷)；尼歐薩(環磷醯胺)；尼羅替尼；雷利米得(來那度胺)；紅比黴素(鹽酸道諾黴素)；磷酸蘆可替尼；施達塞(達沙替尼)；塔拉濱PFS(阿糖胞苷)；塔希納(尼羅替尼)；三氧化砷(三氧化二砷)；維達紫(Vidaza)(阿紫胞苷)；文卡薩PFS(硫酸長春新鹼)；或硫酸長春新鹼。 藥物組合 ADE：阿糖胞苷、鹽酸道諾黴素及依託泊苷。 |
| 神經母細胞瘤 | 阿德力黴素PFS(鹽酸阿黴素)；阿德力黴素RDF(鹽酸阿黴素)；克拉芬(環磷醯胺)；環磷醯胺；賽特杉(環磷醯胺)；鹽酸阿黴素；尼歐薩(環磷醯胺)；文卡薩PFS(硫酸長春新鹼)；或硫酸長春新鹼。 |
| 非霍奇金氏淋巴瘤 | 艾比西特(甲胺喋呤)；阿德曲斯(貝倫妥單抗維多汀)；阿德力黴素PFS(鹽酸阿黴素)；阿德力黴素RDF(鹽酸阿黴素)；安伯氯林(苯丁酸氮芥)；安伯洛林(苯丁酸氮芥)；阿拉儂(奈拉濱)；鹽酸苯達莫司汀；百克沙(Bexxar)(托西妥莫單抗(Tositumomab)及碘I 131托西妥莫單抗)；博萊杉(博萊黴素)；博萊黴素；硼替佐米；貝倫妥單抗維多汀；苯丁酸氮芥；克拉芬(環磷醯胺)；環磷醯胺；賽特杉(環磷醯胺)；地尼介白素迪夫托斯(Diftitox)；德泊嚙(DepoCyt)(脂質阿糖胞苷)；鹽酸阿黴素；DTIC-多姆(達卡巴嗪)；氟萊克斯(甲胺喋呤)；氟萊克斯PFS(甲胺喋呤)；弗洛汀(Folotyn)(普拉曲沙(Pralatrexate))；替伊莫單抗泰澤坦(Ibritumomab Tiuxetan)；依魯替尼；依布魯維卡(依魯替尼)；內含子A(重組干擾素α-2b)；伊斯達斯(Istodax)(羅米地辛(Romidepsin))；來那度胺；瘤可寧(苯丁酸氮芥)；林福利嗪(苯丁酸氮芥)；脂質阿糖胞苷；甲基苄肼(鹽酸丙卡巴肼)；甲胺喋呤；甲胺喋呤LPF(甲胺喋呤)；美西特(甲胺喋呤)；美西特-AQ(甲胺喋呤)；莫唑比(普樂沙福)；奈拉濱；尼歐薩(環磷醯胺)；恩塔克(Ontak)(地尼介白素迪夫托斯)；普樂沙福；普拉曲沙；重組干擾素α-2b；雷利米得(來那度胺)；美羅華(Rituxan)(利妥昔單抗(Rituximab))；利妥昔單抗；羅米地辛；托西妥莫單抗及碘I 131托西妥莫單抗；特瑞達(鹽酸苯達莫司汀)；長春鹼(硫酸長春鹼)；萬珂(硼替佐米)；維爾薩(硫酸長 |

| | |
|--------|--|
| | <p>春鹼)；硫酸長春鹼；文卡薩PFS(硫酸長春新鹼)；硫酸長春新鹼；伏立諾他(Vorinostat)；澤瓦靈(澤瓦林)(替伊莫單抗泰澤坦)；或佐林紫(Zolanza)(伏立諾他)。</p> <p>藥物組合</p> <p>CHOP：環磷醯胺；鹽酸阿黴素(羥基道諾黴素)；硫酸長春新鹼(安可平)；及潑尼松。</p> <p>COPP：環磷醯胺；硫酸長春新鹼(安可平)；鹽酸丙卡巴肼；及潑尼松。</p> <p>CVP：環磷醯胺、硫酸長春新鹼及潑尼松。</p> <p>EPOCH：依託泊苷；潑尼松；硫酸長春新鹼(安可平)；環磷醯胺；及鹽酸阿黴素(羥基道諾黴素)。</p> <p>超-CVAD：環磷醯胺；硫酸長春新鹼；鹽酸阿黴素(阿德力黴素)；及地塞米松。</p> <p>ICE：異環磷醯胺、卡鉑及依託泊苷。</p> <p>R-CHOP：利妥昔單抗；環磷醯胺；鹽酸阿黴素(羥基道諾黴素)；硫酸長春新鹼(安可平)；及潑尼松。</p> |
| 非小細胞肺癌 | <p>艾比西特(甲胺喋呤)；白蛋白結合型紫杉醇(經太平洋紫杉醇白蛋白穩定之奈米粒子調配物)；二順丁烯二酸阿法替尼(Afatinib Dimaleate)；愛甯達(培美曲塞二鈉)；阿瓦斯汀(貝伐單抗)；貝伐單抗；卡鉑；色瑞替尼(Ceritinib)；順鉑；克卓替尼(Crizotinib)；多烯紫杉醇；鹽酸埃羅替尼；氟萊克斯(甲胺喋呤)；氟萊克斯PFS(甲胺喋呤)；吉非替尼；吉諾特夫(Gilotrif)(二順丁烯二酸阿法替尼)；鹽酸吉西他濱；健擇(鹽酸吉西他濱)；易瑞沙(Iressa)(吉非替尼)；甲胺喋呤；甲胺喋呤LPF(甲胺喋呤)；美西特(甲胺喋呤)；美西特-AQ(甲胺喋呤)；太平洋紫杉醇；經太平洋紫杉醇白蛋白穩定之奈米粒子調配物；帕拉普特(Paraplat)(卡鉑)；帕拉汀(Paraplatin)(卡鉑)；培美曲塞二鈉；普拉迪諾(順鉑)；普拉迪諾-AQ(順鉑)；特羅凱(Tarceva)(鹽酸埃羅替尼)；紫杉醇(太平洋紫杉醇)；紫杉德(多烯紫杉醇)；夏克瑞(Xalkori)(克卓替尼)；或載卡迪(色瑞替尼)。</p> <p>藥物組合</p> <p>卡鉑-紫杉醇(CARBOPLATIN-TAXOL)：卡鉑及太平洋紫杉醇(紫杉醇)。</p> <p>吉西他濱-順鉑：鹽酸吉西他濱及順鉑。</p> |
| 卵巢癌 | <p>阿德力黴素PFS(鹽酸阿黴素)；阿德力黴素RDF(鹽酸阿黴素)；卡鉑；克拉芬(環磷醯胺)；順鉑；環磷醯胺；賽特杉(環磷醯胺)；鹽酸阿黴素；Dox-SL(鹽酸阿黴素脂質體)；多希(鹽酸阿黴素脂質體)；鹽酸阿黴素脂質體；艾瓦西特(鹽酸阿黴素脂質體)；鹽酸吉西他濱；健擇(鹽酸吉西他濱)；和美新(鹽酸拓朴替康)；LipoDox(鹽酸阿黴素脂質體)；尼歐薩(環磷醯胺)；太平洋紫杉醇；帕拉普特(卡鉑)；帕拉汀(卡鉑)；普拉迪諾(順鉑)；普拉迪諾-AQ(順鉑)；紫杉醇(太平洋紫杉醇)；或鹽酸拓朴替康。</p> <p>藥物組合</p> <p>BEP：博萊黴素、依託泊苷及順鉑(普拉迪諾)。</p> <p>卡鉑-紫杉醇(CARBOPLATIN-TAXOL)：卡鉑及太平洋紫杉醇(紫杉醇)。</p> <p>吉西他濱-順鉑：鹽酸吉西他濱及順鉑。</p> |
| 胰臟癌 | <p>阿德希爾(氟尿嘧啶)；飛尼妥(依維莫司)；艾弗得士(氟尿嘧啶)；鹽酸埃羅替尼；依維莫司；氟普克斯(氟尿嘧啶)；氟尿嘧啶；鹽酸吉西他濱；健擇(鹽酸吉西他濱)；絲裂黴素C；米托曲士(絲裂黴素C)；突變黴素(絲裂黴素C)；蘋果酸舒尼替尼；舒癌特(蘋果酸舒尼替尼)；或特羅凱(鹽酸埃羅替尼)。</p> |

| | |
|------------|--|
| | 藥物組合 吉西他濱-奧沙利鉑(GEMCITABINE-OXALIPLATIN)：鹽酸吉西他濱及奧沙利鉑。 |
| 陰莖癌 | 博萊杉(博萊黴素)；博萊黴素 |
| 直腸癌 | 阿德希爾(氟尿嘧啶)；阿瓦斯汀(貝伐單抗)；貝伐單抗；坎普托沙(鹽酸伊立替康)；西妥昔單抗；艾弗得士(氟尿嘧啶)；艾必妥(西妥昔單抗)；氟普克斯(氟尿嘧啶)；氟尿嘧啶；鹽酸伊立替康；帕尼單抗；瑞戈非尼；斯蒂瓦加(瑞戈非尼)；維克替比(帕尼單抗)；紮爾拉普(Ziv-阿柏西普)；或Ziv-阿柏西普。 藥物組合 CAPOX：卡培他濱及奧沙利鉑。 FOLFIRI：甲醯四氫葉酸鈣(醛葉酸)；氟尿嘧啶；鹽酸伊立替康。 FOLFIRI-貝伐單抗(FOLFIRI-BEVACIZUMAB)：甲醯四氫葉酸鈣(醛葉酸)；氟尿嘧啶；鹽酸伊立替康；及貝伐單抗。 FOLFIRI-西妥昔單抗(FOLFIRI-CETUXIMAB)：甲醯四氫葉酸鈣(醛葉酸)；氟尿嘧啶；鹽酸伊立替康；及西妥昔單抗。 FOLFOX：甲醯四氫葉酸鈣(醛葉酸)、氟尿嘧啶及奧沙利鉑。 XELOX：卡培他濱(希羅達)及奧沙利鉑。 |
| 腎細胞癌 | 飛尼妥(依維莫司)；阿地白介素；阿瓦斯汀(貝伐單抗)；阿西替尼；貝伐單抗；依維莫司；因塔(阿西替尼)；雷沙瓦(甲苯磺酸索拉非尼)；蘋果酸舒尼替尼；舒癌特(蘋果酸舒尼替尼)；替西羅莫司；托瑞索(替西羅莫司)；維曲特(鹽酸帕唑帕尼) |
| 視網膜胚細胞瘤 | 克拉芬(環磷醯胺)；環磷醯胺；賽特杉(環磷醯胺)；或尼歐薩(環磷醯胺)。 |
| 橫紋肌肉瘤 | 可美淨(Cosmegen) (放線菌素D)；放線菌素D；文卡薩PFS(硫酸長春新鹼)；或硫酸長春新鹼。 |
| 皮膚癌(基底細胞癌) | 阿德希爾(氟尿嘧啶)；阿爾達拉(咪喹莫特(Imiquimod))；艾弗得士(氟尿嘧啶)；艾瑞維吉(維莫德吉(維莫德吉))；氟普克斯(氟尿嘧啶)；氟尿嘧啶；咪喹莫特；或維莫德吉。 |
| 皮膚癌(黑素瘤) | 阿地白介素；達卡巴嗪；DTIC-多姆(達卡巴嗪)；伊派利單抗；普羅金(阿地白介素)；維羅非尼；易沃伊(伊派利單抗)；或澤波拉夫(維羅非尼)。 |
| 小細胞肺癌 | 艾比西特(甲胺喋呤)；凡畢複(Etopophos) (磷酸依託泊苷)；依託泊苷；磷酸依託泊苷；氟萊克斯(甲胺喋呤)；氟萊克斯PFS(甲胺喋呤)；和美新(鹽酸拓朴替康)；甲胺喋呤；甲胺喋呤LPF(甲胺喋呤)；美西特(甲胺喋呤)；美西特-AQ(甲胺喋呤)；托泊沙(Toposar) (依託泊苷)；鹽酸拓朴替康；或維派德(VePesid) (依託泊苷)。 |
| 軟組織肉瘤 | 阿德力黴素PFS(鹽酸阿黴素)；阿德力黴素RDF(鹽酸阿黴素)；可美淨(放線菌素D)；放線菌素D；或鹽酸阿黴素。 |
| 睪丸癌 | 博萊杉(博萊黴素)；博萊黴素；順鉑；可美淨(放線菌素D)；塞夫斯(Cyfos) (異環磷醯胺)；放線菌素D；凡畢複(磷酸依託泊苷)；依託泊苷；磷酸依託泊苷；艾菲克斯(Ifex) (異環磷醯胺)；異環磷醯胺；異環磷醯胺(Ifosfamidum) (異環磷醯胺)；普拉迪諾(順鉑)；普拉迪諾-AQ(順鉑)；托泊沙(依託泊苷)；長春鹼(硫酸長春鹼)；維爾薩(硫酸長春鹼)；或維派德(依託泊苷)；硫酸長春鹼。 |
| 甲狀腺癌 | 阿德力黴素PFS(鹽酸阿黴素)；阿德力黴素RDF(鹽酸阿黴素)；卡博替尼 |

| | |
|---------------|--|
| | (Cabozantinib)-S- 蘋果酸鹽；卡普瑞沙 (Caprelsa) (凡德他尼 (Vandetanib))；克美曲(Cometriq) (卡博替尼-S-蘋果酸鹽)；鹽酸阿黴素；雷沙瓦(甲苯磺酸索拉非尼)；或甲苯磺酸索拉非尼；凡德他尼。 |
| 陰道癌 | 加德西(Gardasil) (重組HPV四價疫苗)；或重組人類乳突狀瘤病毒(HPV)四價疫苗。 |
| 外陰癌 | 博萊杉(博萊黴素)；博萊黴素；加德西(重組HPV四價疫苗)；或重組人類乳突狀瘤病毒(HPV)四價疫苗。 |
| 威爾姆斯腫瘤或其他兒童腎癌 | 阿德力黴素PFS(鹽酸阿黴素)；阿德力黴素RDF(鹽酸阿黴素)；可美淨(放線菌素D)；放線菌素D；鹽酸阿黴素；文卡薩PFS(硫酸長春新鹼)；或硫酸長春新鹼。 |

在其他態樣中，mTOR抑制劑(例如本文所描述之mTOR抑制劑)可用於與以下組合之治療方案中：手術；化學療法；輻射；免疫抑制劑，諸如環孢素、硫唑嘌呤(azathioprine)、甲胺喋呤、黴酚酸酯(mycophenolate)及FK506；抗體；或其他免疫削減劑(immunoablative)，諸如CAMPATH；抗CD3抗體；或其他抗體療法；細胞毒劑；氟達拉濱；環孢素；FK506；雷帕黴素；黴酚酸；類固醇、FR901228、細胞因子；及照射；肽疫苗(諸如Izumoto等人 2008 J Neurosurg 108:963-971中所述者)。

在一個實施例中，本文所描述之mTOR抑制劑可與化學治療劑組合使用。例示性化學治療劑包括蒽環黴素(anthracycline) (例如阿黴素(例如脂質體阿黴素))、長春花生物鹼(例如長春鹼、長春新鹼、長春地辛(vindesine)、長春瑞濱(vinorelbine))、烷化劑(例如環磷醯胺、達卡巴嗪、美法侖(melphalan)、異環磷醯胺、替莫唑胺)、免疫細胞抗體(例如阿倫妥單抗(alemtuzamab)、吉妥珠單抗(gemtuzumab)、利妥昔單抗、托西妥莫單抗)、抗代謝物(包括例如葉酸拮抗劑、嘧啶類似物、嘌呤類似物及腺苷脫胺酶抑制劑(例如氟達拉濱))、mTOR抑制劑、TNFR糖皮質激素誘發TNFR相關蛋白(GITR)促效劑、蛋白酶體抑制劑(例如阿克拉黴素(aclacinomycin) A、黴膠毒素(gliotoxin)或硼替佐米)，免疫調節劑，諸如沙立度胺或沙立度胺衍生物(例如來那度胺)。

考慮用於組合療法之一般化學治療劑包括阿那曲唑 (Arimidex®)、比卡魯胺 (bicalutamide) (Casodex®)、硫酸博萊黴素 (Blenoxane®)、白消安 (Myleran®)、白消安注射劑 (Busulfex®)、卡培他濱 (Xeloda®)、N4-戊氧基羰基-5-去氧-5-氟胞嘧啶核苷、卡鉑 (Paraplatin®)、卡莫司汀 (BiCNU®)、苯丁酸氮芥 (Leukeran®)、順鉑 (Platinol®)、克拉屈濱 (cladribine) (Leustatin®)、環磷醯胺 (Cytosan® 或 Neosar®)、阿糖胞苷、胞嘧啶阿拉伯糖苷 (arabinoside) (Cytosar-U®)、阿糖胞苷脂質體注射劑 (DepoCyt®)、達卡巴嗪 (DTIC-Dome®)、放線菌素 (放線菌素 D, Cosmegen)、鹽酸道諾黴素 (Cerubidine®)、檸檬酸道諾黴素脂質體注射劑 (DaunoXome®)、地塞米松、多烯紫杉醇 (Taxotere®)、鹽酸阿黴素 (Adriamycin®、Rubex®)、依託泊苷 (Vepesid®)、磷酸氟達拉濱 (Fludara®)、5-氟尿嘧啶 (Adrucil®、Efudex®)、氟他胺 (flutamide) (Eulexin®)、替紫他濱 (tezacitibine)、吉西他濱 (二氟去氧胞苷 (difluorodeoxycytidine))、羥基尿素 (hydroxyurea) (Hydrea®)、艾達黴素 (Idarubicin) (Idamycin®)、異環磷醯胺 (IFEX®)、伊立替康 (Camptosar®)、L-天冬醯胺酸酶 (ELSPAR®)、甲醯四氫葉酸鈣、美法侖 (Alkeran®)、6-巯基嘌呤 (Purinethol®)、甲胺喋呤 (Folex®)、米托蒽醌 (mitoxantrone) (Novantrone®)、麥羅塔 (mylotarg)、太平洋紫杉醇 (Taxol®)、菲尼克斯 (phoenix) (Yttrium90/MX-DTPA)、噴司他丁、具有卡莫司汀 (carmustine) 植入物之聚苯丙生 (polifeprosan) 20 (Gliadel®)、檸檬酸他莫昔芬 (Nolvadex®)、替尼泊甙 (teniposide) (Vumon®)、6-硫鳥嘌呤、噻替派 (thiotepa)、替拉紫明 (tirapazamine) (Tirazone®)、注射用鹽酸拓朴替康 (Hycamptin®)、長春鹼 (Velban®)、長春新鹼 (Oncovin®) 及長春瑞濱 (Navelbine®)。

例示性烷基化劑包括 (但不限於) 氮芥、乙烯亞胺衍生物、磺酸烷

酯、亞硝基脲及三氮烯)：尿嘧啶芥(AminouracilMustard®、Chlorethaminacil®、Demethyldopan®、Desmethyldopan®、Haemanthamine®、Nordopan®、Uracil nitrogenmustard®、Uracillost®、Uracilmostaza®、Uramustin®、Uramustine®)、雙氯乙基甲胺(Mustargen®)、環磷醯胺(Cytosan®、Neosar®、Clafen®、Endoxan®、Procytox®、Revimmune™)、異環磷醯胺(Mitoxana®)、美法侖(Alkeran®)、苯丁酸氮芥(Leukeran®)、哌泊溴烷(pipobroman)(Amedel®、Vercyte®)、曲他胺(triethylenemelamine)(Hemel®、Hexalen®、Hexastat®)、三伸乙基硫代磷胺、替莫唑胺(Temodar®)、噻替派(Thioplex®)、白消安(Busilvex®、Myleran®)、卡莫司汀(BiCNU®)、洛莫司汀(CeeNU®)、鏈脲菌素(streptozocin)(Zanosar®)及達卡巴嗪(DTIC-Dome®)。其他例示性烷基化劑包括(但不限於)奧沙利鉑(Eloxatin®)；替莫唑胺(Temodar®及Temodal®)；放線菌素D(亦稱為放射菌素-D，Cosmegen®)；美法侖(亦稱為L-PAM、L-沙可來新(L-sarcolysin)及苯丙胺酸芥，Alkeran®)；六甲蜜胺(Altretamine)(亦稱為六甲嘧胺(hexamethylmelamine，HMM)，Hexalen®)；卡莫司汀(BiCNU®)；苯達莫司汀(Treanda®)；白消安(Busulfex®及Myleran®)；卡鉑(Paraplatin®)；洛莫司汀(亦稱為CCNU，CeeNU®)；順鉑(亦稱為CDDP、Platinol®及Platinol®-AQ)；苯丁酸氮芥(Leukeran®)；環磷醯胺(Cytosan®及Neosar®)；達卡巴嗪(亦稱為DTIC、DIC及甲醯胺咪唑，DTIC-Dome®)；六甲蜜胺(亦稱為六甲嘧胺(HMM)，Hexalen®)；異環磷醯胺(Ifex®)；普萊德莫司汀(Prednumustine)；丙卡巴肼(Matulane®)；氮芥(亦稱為氮芥(nitrogen mustard)、氮芥(mustine)及鹽酸甲氯乙胺(mechloroethamine hydrochloride)，Mustargen®)；鏈脲菌素(Zanosar®)；噻替派(亦稱為硫代磷醯胺(thiophosphoamide)、TESPA及TSPA，Thioplex®)；環磷

醯胺 (Endoxan®、Cytosan®、Neosar®、Procytox®、Revimmune®)；及苯達莫司汀 HCl (Treanda®)。

例示性免疫調節劑包括例如阿夫妥珠單抗 (afutuzumab) (獲自 Roche®)；派非格司亭 (pegfilgrastim) (Neulasta®)；來那度胺 (CC-5013, Revlimid®)；沙立度胺 (Thalomid®)；艾可米得 (actimid) (CC4047)；及 IRX-2 (包括介白素 1、介白素 2 及干擾素 γ 之人類細胞因子之混合物，CAS 951209-71-5，獲自 IRX 治療劑)。

例示性蒽環黴素包括例如阿黴素 (Adriamycin® 及 Rubex®)；博萊黴素 (lenoxane®)；道諾黴素 (鹽酸道諾黴素、柔紅黴素及鹽酸紅比黴素，Cerubidine®)；道諾黴素脂質體 (檸檬酸道諾黴素脂質體，DaunoXome®)；米托蒽醌 (DHAD, Novantrone®)；表柔比星 (Ellence™)；艾達黴素 (Idamycin®、Idamycin PFS®)；絲裂黴素 C (Mutamycin®)；格爾德黴素 (geldanamycin)；除莠黴素 (herbimycin)；拉維黴素 (ravidomycin)；及去乙酰基拉維黴素 (desacetyl ravidomycin)。

例示性長春花生物鹼包括例如酒石酸長春瑞濱 (Navelbine®)、長春新鹼 (Oncovin®) 及長春地辛 (Eldisine®)；長春鹼 (亦稱為硫酸長春鹼、長春花鹼 (vincaleukoblastine) 及 VLB, Alkaban-AQ® 及 Velban®)；及長春瑞濱 (Navelbine®)。

例示性蛋白酶體抑制劑包括硼替佐米 (Velcade®)；卡非唑米 (PX-171-007, (S)-4-甲基-N-(((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-氧代戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-嗎啉基乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)-戊醯胺)；馬瑞唑米 (marizomib) (NPI-0052)；檸檬酸依薩唑米 (ixazomib) (MLN-9708)；迪蘭唑米 (delanzomib) (CEP-18770)；及 O-甲基-N-[(2-甲基-5-噻唑基)羰基]-L-絲胺醯基-O-甲基-N-[(1S)-2-[(2R)-2-甲基-2-環氧乙烷基]-2-側氧基-1-

(苯基甲基)乙基]-L-絲胺鹽胺(ONX-0912)。

例示性GITR促效劑包括例如GITR融合蛋白及抗GITR抗體(例如二價抗GITR抗體)，諸如美國專利第6,111,090號、歐洲專利第090505B1號、美國專利第8,586,023號、PCT公開案第WO 2010/003118號及2011/090754號中所描述之GITR融合蛋白，或例如美國專利第7,025,962號、歐洲專利第1947183B1號、美國專利第7,812,135號、美國專利第8,388,967號、美國專利第8,591,886號、歐洲專利第EP 1866339號、PCT公開案第WO 2011/028683號、PCT公開案第WO 2013/039954號、PCT公開案第WO2005/007190號、PCT公開案第WO 2007/133822號、PCT公開案第WO2005/055808號、PCT公開案第WO 99/40196號、PCT公開案第WO 2001/03720號、PCT公開案第WO99/20758號、PCT公開案第WO2006/083289號、PCT公開案第WO 2005/115451號、美國專利第7,618,632號及PCT公開案第WO 2011/051726號中所描述之抗GITR抗體。

在一個實施例中，與蛋白酪胺酸磷酸酶抑制劑(例如本文所描述之蛋白酪胺酸磷酸酶抑制劑)組合，向個體投與低及免疫增強劑量之本文所描述之mTOR抑制劑。在一個實施例中，蛋白酪胺酸磷酸酶抑制劑為SHP-1抑制劑，例如本文所描述之SHP-1抑制劑，諸如葡萄糖酸銻鈉。在一個實施例中，蛋白酪胺酸磷酸酶抑制劑為SHP-2抑制劑，例如本文所描述之SHP-2抑制劑。

在一個實施例中，低及免疫增強劑量之例如異位抑制劑(例如RAD001)或催化抑制劑之mTOR抑制劑與激酶抑制劑組合投與。

在一個實施例中，激酶抑制劑為MNK抑制劑，例如選自CGP052088、4-胺基-3-(對氟苯胺基)-吡啶并[3,4-d]嘧啶(CGP57380)、尾孢醯胺(cercosporamide)、ETC-1780445-2及4-胺基-5-(4-氟苯胺基)-吡啶并[3,4-d]嘧啶之MNK抑制劑。MNK抑制劑可為例如MNK1a、

MNK1b、MNK2a及/或MNK2b抑制劑。在一個實施例中，激酶抑制劑為4-胺基-5-(4-氟苯胺基)-吡啶并[3,4-d]嘧啶。

在一個實施例中，激酶抑制劑為CDK4抑制劑，其係選自7-環戊基-*N,N*-二甲基-2-((5-(哌嗪-1-基)吡啶-2-基)胺基)-7*H*-吡咯并[2,3-*d*]嘧啶-6-甲醯胺(亦稱作LEE011)；阿洛新(aloisine) A；夫拉平度(flavopiridol)或HMR-1275；2-(2-氯苯基)-5,7-二羥基-8-[(3*S*, 4*R*)-3-羥基-1-甲基-4-哌啶基]-4-苯并吡喃酮；克卓替尼(PF-02341066)；2-(2-氯苯基)-5,7-二羥基-8-[(2*R*,3*S*)-2-(羥甲基)-1-甲基-3-吡咯啶基]-4*H*-1-苯并吡喃-4-酮，鹽酸鹽(P276-00)；1-甲基-5-[[2-[5-(三氟甲基)-1*H*-咪唑-2-基]-4-吡啶基]氧基]-*N*-[4-(三氟甲基)苯基]-1*H*-苯并咪唑-2-胺(RAF265)；依地蘇蘭(indisulam) (E7070)；羅斯維汀(roscovitine) (CYC202)；帕博西里(palbociclib) (PD0332991)；戴那西里(dinaciclib) (SCH727965)；*N*-[5-[[5-(第三丁基噁唑-2-基)甲基]硫基]噁唑-2-基]哌啶-4-甲醯胺(BMS 387032)；4-[[9-氯-7-(2,6-二氟苯基)-5*H*-嘧啶并[5,4-*d*][2]苯并氮呋-2-基]胺基]-苯甲酸(MLN8054)；5-[3-(4,6-二氟-1*H*-苯并咪唑-2-基)-1*H*-吡啶-5-基]-*N*-乙基-4-甲基-3-吡啶甲胺(AG-024322)；4-(2,6-二氯苯甲醯胺基)-1*H*-吡啶-3-羧酸*N*-(哌啶-4-基)醯胺(AT7519)；4-[2-甲基-1-(1-甲基乙基)-1*H*-咪唑-5-基]-*N*-[4-(甲磺醯基)苯基]-2-胺基嘧啶(AZD5438)；及XL281 (BMS908662)。

在一個實施例中，激酶抑制劑為CDK4抑制劑，例如本文所描述之CDK4抑制劑，例如CDK4/6抑制劑，諸如7-環戊基-*N,N*-二甲基-2-((5-(哌嗪-1-基)吡啶-2-基)胺基)-7*H*-吡咯并[2,3-*d*]嘧啶-6-甲醯胺(亦稱作LEE011)或6-乙醯基-8-環戊基-5-甲基-2-(5-哌嗪-1-基-吡啶-2-基胺基)-8*H*-吡啶并[2,3-*d*]嘧啶-7-酮，鹽酸鹽(亦稱作帕博西里或PD0332991)。

在一個實施例中，激酶抑制劑為CDK4抑制劑，例如帕博西里

(PD0332991)，且帕博西里以約每日50 mg、60 mg、70 mg、75 mg、80 mg、90 mg、100 mg、105 mg、110 mg、115 mg、120 mg、125 mg、130 mg、135 mg (例如75 mg、100 mg或125 mg)之劑量投與一段時間，例如每日以上述劑量持續28天週期中之14天至21天或每日以上述劑量持續21天週期中之7天至12天。在一個實施例中，投與1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12個或12個以上週期的帕博西里。

在一個實施例中，激酶抑制劑為BTK抑制劑，例如選自依魯替尼 (PCI-32765)；GDC-0834；RN-486；CGI-560；CGI-1764；HM-71224；CC-292；ONO-4059；CNX-774；及LFM-A13。

在一個實施例中，激酶抑制劑為BTK抑制劑，例如依魯替尼 (PCI-32765)，且依魯替尼以約每日250 mg、300 mg、350 mg、400 mg、420 mg、440 mg、460 mg、480 mg、500 mg、520 mg、540 mg、560 mg、580 mg、600 mg (例如250 mg、420 mg或560 mg)之劑量投與一段時間，例如每日以上述劑量持續21天的週期或每日以上述劑量持續28天的週期。在一個實施例中，投與1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12個或12個以上週期的依魯替尼。

在一個實施例中，激酶抑制劑為mTOR抑制劑。mTOR抑制劑可選自標題為mTOR抑制劑之本文中之其他部分。此處所提及之劑量並非mTOR抑制劑之較低的、免疫增強劑量，而是例如足以產生抗癌作用之劑量且高於本文所描述之低及免疫增強劑量的劑量。因此，在一個實施例中，考慮mTOR抑制劑之兩種不同投與：低及免疫增強劑量以例如使免疫效應細胞功能最佳化及考慮到抗癌作用之更高劑量。

在一個實施例中，激酶抑制劑為mTOR抑制劑，例如雷帕黴素，且雷帕黴素以足以產生抗癌作用且高於本文所描述之低及免疫增強劑量的劑量投與一段時間，例如約每日3 mg、4 mg、5 mg、6 mg、7 mg、8 mg、9 mg、10 mg (例如6 mg)之劑量，例如每日以上述劑量持

續21天的週期或每日以上述劑量持續28天的週期。在一個實施例中，投與1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12個或12個以上週期的雷帕黴素。

在一個實施例中，激酶抑制劑為mTOR抑制劑，例如依維莫司，且依維莫司以足以產生抗癌作用且高於本文所描述之低及免疫增強劑量的劑量投與一段時間，例如約每日2 mg、2.5 mg、3 mg、4 mg、5 mg、6 mg、7 mg、8 mg、9 mg、10 mg、11 mg、12 mg、13 mg、14 mg、15 mg(例如10 mg)之劑量，例如每日以上述劑量持續28天的週期。在一個實施例中，投與1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12個或12個以上週期的依維莫司。

在另一態樣中，mTOR抑制劑(例如本文所描述之mTOR抑制劑)可以低及免疫增強劑量與抑制一或多種抑制性分子之額外藥劑組合投與，該等抑制性分子例如PD1、PD-L1、CTLA4、TIM3、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4及TGFR β 。抑制性分子之抑制，例如在DNA、RNA或蛋白質水準上之抑制，可使如本文所描述之免疫功能得到提高。在實施例中，抑制性核酸，例如抑制性核酸，例如dsRNA，例如siRNA或shRNA，可用於抑制抑制性分子之表現。在一實施例中，抑制劑為shRNA。在一個實施例中，抑制性信號之抑制劑可為例如與抑制性分子結合之抗體或抗體片段。舉例而言，該藥劑可為與PD1、PD-L1、PD-L2或CTLA4結合之抗體或抗體片段(例如伊派利單抗(亦稱作MDX-010及MDX-101，且市售為Yervoy®、Bristol-Myers Squibb、曲美單抗(Tremelimumab) (購自Pfizer之IgG2單株抗體，以前被稱為替西單抗(ticilimumab)，CP-675,206))。在一實施例中，該藥劑為與TIM3結合之抗體或抗體片段。在一實施例中，該藥劑為與LAG3結合之抗體或抗體片段。

在一實施例中，mTOR抑制劑可以低及免疫增強劑量與例如PD1

及其天然配位體中之一者的相互作用抑制劑的PD1抑制劑組合使用。在一實施例中，首先投與mTOR抑制劑，例如直至PD1陽性T細胞水準降低才投與PD1抑制劑。在一實施例中，mTOR抑制劑投與與PD1抑制劑投與同時進行或在其之後。

PD1為CD28受體家族之抑制性成員，該受體家族亦包括CD28、CTLA-4、ICOS及BTLA。PD1在經活化之B細胞、T細胞及骨髓細胞上表現(Agata等人 1996 *Int. Immunol* 8:765-75)。PD1之兩個配位體PD-L1及PD-L2已展示在與PD1結合後抑制T細胞活化(Freeman等人 2000 *J Exp Med* 192:1027-34；Latchman等人 2001 *Nat Immunol* 2:261-8；Carter等人 2002 *Eur J Immunol* 32:634-43)。人類癌症中PD-L1極豐富(Dong等人 2003 *J Mol Med* 81:281-7；Blank等人 2005 *Cancer Immunol. Immunother* 54:307-314；Konishi等人 2004 *Clin Cancer Res* 10:5094)。免疫抑制可藉由抑制PD1與PD-L1之局部相互作用來逆轉。抗體、抗體片段及其他PD1、PD-L1及PD-L2之抑制劑為此項技術中可獲得的且可與本文所描述之mTOR抑制劑組合使用。舉例而言，尼沃單抗(nivolumab) (亦稱作BMS-936558或MDX1106；Bristol-Myers Squibb)為完全人類IgG4單株抗體，其特異地阻斷PD1。與PD1特異結合之尼沃單抗(純系5C4)及其他人類單株抗體揭示於US 8,008,449及WO2006/121168中。皮立珠單抗(Pidilizumab) (CT-011；Cure Tech)為與PD1皮立珠單抗結合之人類化IgG1k單株抗體且其他人類化抗PD1單株抗體揭示於WO2009/101611中。拉立珠單抗(Lambrolizumab) (亦稱作MK03475；Merck)為與PD1結合之人類化IgG4單株抗體。拉立珠單抗及其他人類化抗PD1抗體揭示於US 8,354,509及WO2009/114335中。MDPL3280A(Genentech/Roche)為與PD-L1結合之人類Fc最佳化IgG1單株抗體。MDPL3280A及其他針對PD-L1之人類單株抗體揭示於美國專利第7,943,743號及美國公開案第

20120039906號中。其他抗PD-L1結合劑包括YW243.55.S70 (重鏈及輕鏈可變區展示於WO2010/077634中之SEQ ID NO 20及21中)及MDX-1105 (亦稱作BMS-936559及例如WO2007/005874中所揭示之抗PD-L1結合劑)。AMP-224 (B7-DCIg ; Amplimmune ; 例如WO2010/027827及WO2011/066342中所揭示)為阻斷PD1與B7-H1之間的相互作用之PD-L2 Fc融合可溶性受體。其他抗PD1抗體包括AMP 514 (Amplimmune)，尤其例如US 8,609,089、US 2010028330及/或US 20120114649中所揭示之抗PD1抗體。

在一些實施例中，向患有例如本文所描述之病毒感染之病毒感染的個體投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑，例如本文所描述之mTOR抑制劑。個體可接受與mTOR抑制劑組合之額外治療劑的治療，該額外治療劑諸如就彼類型病毒感染而言經批准之藥物。可用於本發明之組合物及方法中之例示性抗病毒劑包括(但不限於)阿巴卡韋、阿昔洛韋 (Acyclovir)、阿德福韋 (Adefovir)、金剛胺 (Amantadine)、安普那韋 (Amprenavir)、阿普林津 (Ampligen)、阿比朵爾 (Arbidol)、阿紮那韋、立普妥 (Atripla)、巴拉福韋 (Balavir)、波普瑞韋爾特 (Boceprevirertet)、西多福韋 (Cidofovir)、可比韋 (Combivir)、都魯拉韋 (Dolutegravir)、地瑞那韋 (Darunavir)、地拉韋啉 (Delavirdine)、地達諾新 (Didanosine)、多可沙諾 (Docosanol)、依度尿苷 (Edoxudine)、依法韋侖 (Efavirenz)、安卓西他濱、恩夫韋地 (Enfuvirtide)、恩替卡韋 (Entecavir)、依可立維 (Ecoliever)、泛昔洛韋 (Famciclovir)、福米韋生 (Fomivirsen)、夫沙那韋 (Fosamprenavir)、麟甲酸 (Foscarnet)、麟乙醇 (Fosfonet)、更昔洛韋 (Ganciclovir)、伊巴他濱 (Ibacinabine)、異丙肌苷 (Imunovir)、碘苷 (Idoxuridine)、咪喹莫特 (Imiquimod)、茚地那韋 (Indinavir)、肌苷 (Inosine)、干擾素、I型干擾素、II型干擾素、III型干擾素、拉米夫定、洛匹那韋、洛韋胺

(Loviride)、馬拉維若(Maraviroc)、嗎啉脒胍(Moroxydine)、美替沙脒(Methisazone)、奈非那韋(Nelfinavir)、奈韋拉平(Nevirapine)、雷沙韋(Nexavir)、核苷類似物、奧司他韋(Oseltamivir) (特敏福(Tamiflu))、聚乙二醇化干擾素 α -2a、噴昔洛韋(Penciclovir)、帕拉米韋(Peramivir)、普可那利(Pleconaril)、鬼臼毒素(Podophyllotoxin)、雷特格韋(Raltegravir)、病毒唑(Ribavirin)、金剛乙胺(Rimantadine)、利托那韋(Ritonavir)、普拉咪定(Pyrimidine)、沙奎那韋、索非布韋(Sofosbuvir)、司他夫定(Stavudine)、特拉匹韋(Telaprevir)、替諾福韋(Tenofovir)、替諾福韋酯(Tenofovir disoproxil)、替拉那韋(Tipranavir)、曲氟尿苷(Trifluridine)、曲利志韋(Trizivir)、曲金剛胺(Tromantadine)、特魯瓦達(Truvada)、曲普維德(traporved)、伐昔洛韋(Valaciclovir)、纈更昔洛韋(Valganciclovir)、維克利諾(Vicriviroc)、阿糖腺苷(Vidarabine)、偉拉咪定(Viramidine)、紮西他濱(Zalcitabine)、紮那米韋(Zanamivir)及齊多夫定。

在一實施例中，該方法進一步包含與抗細菌劑、抗分支桿菌劑、抗真菌劑或抗寄生蟲劑或抗原蟲劑組合投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑。

醫藥組合物

在一個態樣中，本發明係關於包含mTOR抑制劑(例如如本文所描述之mTOR抑制劑)之醫藥組合物。在一些實施例中，mTOR抑制劑經調配以便與如例如本文所描述之另一藥劑組合投與。

在一個態樣中，本發明係關於包含可能與諸如疫苗或疫苗抗原之抗原組合之如本文所描述之mTOR抑制劑的醫藥組合物。

一般而言，將經由此項技術中已知之常用及可接受模式中之任一者，單獨地或與一或多種治療劑(例如疫苗或其他抗原)組合，以如上文所描述之治療有效量投與本發明之化合物。

可使用習知的溶解及混合程序來製備醫藥調配物。舉例而言，在本文所描述之賦形劑中之一或多者存在下，將主體原料藥(例如mTOR抑制劑或化合物之穩定形式(例如與環糊精衍生物或其他已知複合劑之複合物))溶解於適合的溶劑中。mTOR抑制劑典型地調配成醫藥劑型以提供可容易控制劑量之藥物且為患者提供優雅且可容易操作的結果。

本發明之化合物可作為醫藥組合物藉由任何習知途徑投與：尤其是經腸，例如，經口，例如以錠劑或膠囊之形式；或非經腸，例如以可注射溶液或懸浮液之形式；局部地，例如以洗劑、凝膠、軟膏或乳膏之形式或以經鼻或栓劑之形式投與。在mTOR抑制劑與如本文所描述之另一藥劑組合投與(同時或分開)的情況下，在一個態樣中，兩種組分可藉由相同途徑(例如非經腸)投與。或者，可藉由與mTOR抑制劑不同的途徑投與另一藥劑。舉例而言，可經口投與mTOR抑制劑且可非經腸投與另一藥劑。可以習知方式藉由混合、成粒或塗佈方法製造包含呈自由形式或醫藥學上可接受之鹽形式之mTOR抑制劑的醫藥組合物，該mTOR抑制劑與至少一種醫藥學上可接受之載劑或稀釋劑結合。舉例而言，口服組合物可為錠劑或明膠膠囊，其包含活性成份以及a)稀釋劑，例如乳糖、葡萄糖、蔗糖、甘露糖醇、山梨糖醇、纖維素及/或甘胺酸；b)潤滑劑，例如矽石、滑石、硬脂酸、其鎂鹽或鈣鹽及/或聚乙二醇；就錠劑而言亦包含c)黏合劑，例如矽酸鎂鋁、澱粉糊、明膠、黃耆膠、甲基纖維素、羧甲基纖維素鈉及/或聚乙烯吡咯啉酮；若需要d)崩解劑，例如澱粉、瓊脂、褐藻酸或其鈉鹽、或泡騰混合物；及/或e)吸附劑、著色劑、調味劑及甜味劑。口服調配物亦可包含活性成份以及20%至60%之尤特奇(Eudragit) EPO、羥丙基纖維素EF、羥丙基甲基纖維素或科利當(Kollidon) VA64及高達5%之普洛尼克(pluronic) F68、十六醇聚氧乙烯醚(Cremophor) EL或甘油酯

(Gelucire) 44/14。可注射組合物可為水性等張溶液或懸浮液且栓劑可自脂肪乳液或懸浮液製備得到。該等組合物可經滅菌及/或含有佐劑，諸如保藏劑、穩定劑、濕潤劑或乳化劑、溶解促進劑、用於調節滲透壓之鹽及/或緩衝劑。此外，其亦可含有其他治療學上有價值之物質。用於經皮施用之適合的調配物包括有效量的本發明之化合物及載劑。載劑可包括藥理學上可接受之可吸收溶劑以幫助穿過主體皮膚。舉例而言，經皮裝置呈繃帶之形式，其包含襯底部件、含有化合物及視情況存在之載劑的儲集層、視情況存在之在延長時間段內以控制及預定速率將化合物輸送至主體皮膚之速率控制阻障層及使裝置緊固於皮膚之構件。亦可使用基質經皮調配物。在另一態樣中，本文所描述之mTOR抑制劑可經由微針貼片投與。基於微針之藥物輸送在此項技術中為熟知的(參見例如美國專利8,162,901)且熟習此項技術者可調適此等技術及方法以便投與如本文所描述mTOR抑制劑。用於局部施用至例如皮膚及眼睛之適合的調配物較佳為此項技術中熟知的水性溶液、軟膏、乳膏或凝膠。此類調配物可含有增溶劑、穩定劑、張力增強劑、緩衝劑及防腐劑。

可視所使用之藥物投與方法而定，以多種方法封裝醫藥組合物(或調配物)以供施用。一般而言，供分配用之物品包括其中存放有適當形式之醫藥調配物之容器。適合的容器為熟習此項技術者所熟知且包括諸如瓶子(塑膠及玻璃)、藥囊、安瓿、塑膠袋、金屬筒及其類似物之材料。容器亦可包括防干擾裝配以防止輕易獲取封裝之內含物。另外，容器上附有描述容器內含物之標籤。標籤亦可包括適當的警告。本發明亦提供例如套組之醫藥組合，其包含a)第一藥劑，其為呈自由形式或醫藥學上可接受之鹽形式的如本文所揭示之mTOR抑制劑，及b)至少一種額外藥劑。該套組可包含其投與說明書。

如本文所使用之術語「醫藥組合」意謂由混合或組合一種以上

活性成份產生之產物且包括活性成份之固定與不固定組合兩者。術語「固定組合」意謂以單一實體或劑量形式向患者同時投與例如mTOR抑制劑之活性成份及其他藥劑。術語「不固定組合」意謂在無特定時間限制之情況下，以獨立實體形式同時、並行或依次向患者投與例如mTOR抑制劑之活性成份及其他藥劑，其中此類投與在患者體內提供2種化合物之治療有效水準。後者亦適用於混合液療法，例如投與3種或3種以上活性成份。

持續釋放

本文所揭示之mTOR抑制劑(例如異位mTOR抑制劑或催化mTOR抑制劑)可作為呈包含本文所揭示之mTOR抑制劑(例如雷帕黴素或RAD001)之經口固體劑型之形式的醫藥調配物提供，其符合產物穩定性需求及/或遍及立即釋放(IR)錠劑具有有利的藥物動力學特性，諸如平均血漿峰濃度較低、藥物吸收程度及血漿峰濃度之患者間及患者內變化較小、 $C_{\text{最大}}/C_{\text{最小}}$ 比率較低及/或食物作用較小。所提供之醫藥調配物可允許更精確的劑量調整及/或降低不良事件頻率，因此使用例如雷帕黴素或RAD001之本文所揭示之mTOR抑制劑為患者提供安全的治療。

在一些實施例中，本發明提供例如雷帕黴素或RAD001之本文所揭示之mTOR抑制劑的穩定延長釋放調配物，其為多微粒系統且可具有功能層及塗層。

如本文所使用之術語「延長釋放多微粒調配物」係指能夠在例如至少1、2、3、4、5或6小時之延長的時間段期間釋放例如雷帕黴素或RAD001之本文所揭示之mTOR抑制劑的調配物。延長釋放調配物可含有基質及由例如如本文所描述之特殊賦形劑製成的塗層，其以一方式調配以使得在攝取之後的延長時間段期間可獲得活性成份。

術語「延長釋放(extended release)」可與術語「持續釋放」(SR)

或「延長釋放(prolonged release)」互換使用。根據藥典Ph. Eur. (第7版)錠劑及膠囊專題著作及USP綜述第<1151>章醫藥劑型中之定義，術語「延長釋放」係關於在經口給藥之後並未立即而是在延長期間釋放活性原料藥的醫藥調配物。根據「行業指南：立即釋放固體經口劑型之溶解測試 (Guidance for Industry: “Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms”)」(FDA CDER, 1997)之定義，如本文所使用之術語「立即釋放」(IR)係指在低於60分鐘內釋放85%之活性原料藥的醫藥調配物。在一些實施例中，術語「立即釋放」意謂例如如本文所描述之溶解分析法中所量測，在30分鐘之時間內依維莫司自錠劑釋放出來。

例如雷帕黴素或RAD001之本文所揭示之mTOR抑制劑的穩定延長釋放調配物可使用此項技術中已知之分析法藉由活體外釋放曲線表徵，該等分析法諸如如本文所描述之溶解分析法：根據USP，分別根據USP測試專題著作711及Ph.Eur.測試專題著作2.9.3.，填充有900 mL pH為6.8之磷酸鹽緩衝劑之溶解容器在37°C下含有0.2%十二烷基硫酸鈉且在75 rpm下使用攪拌槳法進行溶解。

在一些實施例中，例如雷帕黴素或RAD001之本文所揭示之mTOR抑制劑的穩定延長釋放調配物根據以下釋放規格在活體外釋放分析中釋放mTOR抑制劑：

0.5h：<45%或<40%，例如<30%

1h：20-80%，例如30-60%

2h：>50%或>70%，例如>75%

3h：>60%或>65%，例如>85%，例如>90%。

在一些實施例中，例如雷帕黴素或RAD001之本文所揭示之mTOR抑制劑的穩定延長釋放調配物在活體外溶解分析中不早於45 min、60 min、75 min、90 min、105 min或120 min釋放50%之mTOR

抑制劑。

在一個實施例中，例如雷帕黴素或RAD001之本文所揭示之mTOR抑制劑的穩定延長釋放調配物在與塗層組合之快速溶解或崩解載劑基質中包含mTOR抑制劑，其中塗層中之至少一者為延長釋放塗層。在另一實施例中，例如雷帕黴素或RAD001之本文所揭示之mTOR抑制劑的穩定延長釋放調配物在具有延長釋放特性之非崩解載劑基質中包含mTOR抑制劑，該非崩解載劑可視情況與額外的塗層組合。

在一些實施例中，載劑基質包含基質形成劑，典型地為基質形成聚合物，且可含有額外賦形劑，諸如填充劑，例如乳糖、甘露醇、麥芽糖糊精、預糊化澱粉、磷酸鈣或微晶纖維素；及崩解劑，例如玉米澱粉、交聯纖維素、羥基乙酸澱粉鈉或交聯聚維酮；抗氧化劑，例如丁基羥基苯甲醚、丁基羥基甲苯、抗壞血酸棕櫚酸酯、生育酚、維生素E聚乙二醇丁二酸酯；及處理增強劑，諸如潤滑劑及滑動劑，例如膠態二氧化矽、滑石、單硬脂酸甘油酯、硬脂酸鎂、硬脂酸鈣或硬脂醯反丁烯二酸鈉。術語「基質形成劑」典型地關於醫藥學上惰性的材料，其提供物理穩定性，諸如機械或結合穩定性。

用於快速溶解或崩解載劑基質之適合的基質形成聚合物在此項技術中已知包括例如纖維素或澱粉，例如微晶纖維素(「MCC」)，例如艾維素(Avicel) PH 101 (FMC BioPolymer)、阿拉伯膠(acacia)、海藻酸鈉、明膠、澱粉、預凝膠澱粉、甲基纖維素、羥丙基甲基纖維素(「HPMC」)、羥丙基纖維素、羥乙基纖維素、聚乙二醇或聚乙烯吡咯啶酮(「PVP」)、角叉菜膠(carrageenan)，諸如Gelcarin GP 812或其組合。

用於具有延長釋放特性之非崩解載劑基質之適合的基質形成賦形劑在此項技術中已知包括例如阿拉伯膠；海藻酸鈉；明膠；羧甲基

纖維素鈉(或「CMC鈉」)；甲基纖維素；乙基纖維素及乙酸纖維素或聚丙烯酸酯，例如鉍基甲基丙烯酸酯共聚物(尤特奇RS/RL)；羥丙基甲基纖維素(「HPMC」)；羥丙基纖維素；羥乙基纖維素；聚乙酸乙烯酯；聚乙二醇或聚乙烯吡咯啉酮(「PVP」)；例如角叉菜膠，諸如Gelcarin GP 812；單硬脂酸甘油酯；硬脂醇；硬脂酸；二十二酸甘油酯；維生素E聚乙二醇丁二酸酯或其組合。

在一個實施例中，延長釋放塗層為用不可溶於水之非崩解聚合物形成之層，藉由經由此層之藥物穿透來控制釋放。

延長釋放塗層亦可含有成孔劑、塑化劑及處理增強劑中之一或多者，處理增強劑諸如潤滑劑及抗黏著劑。能夠實現擴散控制型釋放之適合的延長釋放塗層形成聚合物在此項技術中已知包括例如乙基纖維素及乙酸纖維素或聚丙烯酸酯，例如鉍基甲基丙烯酸酯共聚物(尤特奇RS/RL)、聚乙酸乙烯酯或其組合。在一特定實施例中，延長釋放塗層形成聚合物為乙基纖維素或乙酸纖維素或聚丙烯酸酯，例如A型鉍基甲基丙烯酸酯共聚物(尤特奇RS)或B型鉍基甲基丙烯酸酯共聚物(尤特奇RL)或其組合。此外，延長釋放塗層可包括塑化劑，諸如三乙酸甘油酯、檸檬酸三乙酯、癸二酸二丁酯、癸二酸二乙酯、聚乙二醇3000、4000或6000、乙醯檸檬酸三乙酯、乙醯檸檬酸三丁酯或鄰苯二甲酸二乙酯；及/或抗黏著劑，諸如Syloid 244 FP、滑石、單硬脂酸甘油酯或二氧化鈦。在一些實施例中，塑化劑之量可為相對於持續釋放聚合物之量5%至40%，較佳10%至25%之間。

在一實施例中，延長釋放塗層為成孔系統，其包含不可溶於水之塗層形成聚合物及成孔劑。術語「成孔劑」係關於易溶賦形劑，其引入細孔或提高塗層之滲透率且允許活性成份之擴散控制型釋放。適合的成孔劑在此項技術中已知包括例如羥丙基纖維素(HPC (例如Klucel™ EF、EXF、LF)或羥丙基甲基纖維素(HPMC，例如

Methocel™ E3/E5、Pharmacoat 603™)；聚乙二醇(例如 Macrogol 1500、3500、4000、6000)；泊洛沙姆(poloxamer) 188 (普洛尼克 F68™)或聚維酮(PVP，例如科利當K25/K30)；醣類，例如單醣，諸如葡萄糖、甘露糖、果糖，雙醣，諸如蔗糖或葡萄糖二果糖或其組合。成孔劑較佳為羥丙基纖維素(HPC (Klucel™ EF、EXF、LF)或羥丙基甲基纖維素(HPMC，Methocel™ E3/E5、Pharmacoat 603™)、聚乙二醇(Macrogol 1500、3500、4000、6000)、泊洛沙姆188 (普洛尼克F68™)或聚維酮(PVP，科利當K25/K30)或其組合。在一些實施例中，相對於塗層形成聚合物之量，塗層中所包括之成孔劑之適量等於塗層聚合物與成孔劑之比率，例如100:20至100:50，或100:20至100:100，比率較佳為100:35至100:45，比率尤其為100:35至100:50。在一些實施例中，所包括之塗層形成聚合物之適量等於聚合物重量增加百分比，該聚合物重量增加百分比為例如醫藥調配物總重量之4重量%至15重量%，5重量%至15重量%，較佳5重量%至12重量%，更佳6重量%至12重量%。

在另一實施例中，非崩解延長釋放載劑基質包含基質形成聚合物，其能夠藉由聚合物之水合作用實現活性成份之擴散控制型釋放。延長載劑基質可含有其他賦形劑，諸如黏合劑及或填充劑及處理增強劑，諸如潤滑劑及滑動劑等。

可使用以下例示性基質形成聚合物來實現擴散控制型釋放：海藻酸鈉；聚丙烯酸(或「卡波姆(carbomer)」)；羧甲基纖維素鈉(或「CMC鈉」)；甲基纖維素；乙基纖維素及乙酸纖維素或聚丙烯酸酯，例如鉍基甲基丙烯酸酯共聚物(尤特奇RS/RL)；不同黏度等級(亦即平均聚合物鏈長度)之羥丙基甲基纖維素(「HPMC」)及其組合，例如Methocel™ CR等級；羥丙基纖維素，例如Klucel™ HF/MF；聚氧化乙烯，例如Polyox™；或聚乙烯吡咯啉酮(「PVP」)，例如PVP

K60、K90；角叉菜膠，諸如Viscarin™ GP-209/GP-379或其組合。基質形成聚合物之組合允許根據需求調整活性成份之溶解速率。

在一些實施例中，非崩解延長釋放基質形成有賦形劑，其使得能夠藉由受控制的消蝕釋放活性成份。消蝕受控制的基質可含有親脂性基質形成劑以及其他賦形劑，諸如填充劑、崩解劑及處理增強劑，諸如潤滑劑及滑動劑。與此基質類型相關之例示性親脂性基質形成賦形劑包括親脂性賦形劑，諸如單硬脂酸甘油酯，例如Cutina GMS；二十二酸甘油酯，例如Compritol 888 ATO；硬脂醇；硬脂酸；哈特(hart)脂肪，例如Gelucire™；或維生素E聚乙二醇丁二酸酯，例如Speziol TPGS或其組合。

適合的黏合劑、填充劑或其他賦形劑實例包括(但不限於)甘露醇、預糊化澱粉、微晶纖維素、乳糖、磷酸鈣、滑石、二氧化鈦、檸檬酸三乙酯、Aerosil、諸如BHT之抗氧化劑、乾燥劑及崩解劑(諸如例如：交聯聚維酮或羥基乙酸澱粉鈉)、澱粉或交聯羧甲基纖維素。

在一實施例中，穩定延長釋放調配物包含例如雷帕黴素或RAD001之本文所揭示之mTOR抑制劑，其係含在快速溶解/崩解基質中，例如呈如本文所描述之固態分散體形式，與功能層或塗層組合，其中功能層或塗層中之至少一者具有能夠延長釋放活性成份之控制釋放能力。在另一實施例中，穩定延長釋放調配物包含例如雷帕黴素或RAD001之本文所揭示之mTOR抑制劑，其係含在延長釋放基質中，該基質視情況可進一步含有功能層或塗層，諸如保護性或持續釋放層或塗層。在一些實施例中，例如延長釋放塗層之塗層可具有在10 μm 至 100 μm ，例如 10 μm 至 50 μm (由共焦拉曼光譜法(RAMAN spectroscopy)分析)範圍內之厚度。

在一些實施例中，例如雷帕黴素或RAD001之本文所揭示之mTOR抑制劑的調配物係呈多微粒輸送系統形式。在一些實施例中，

多微粒藥物輸送系統為由多重小離散劑量單元組成之口服劑型。在此類系統中，諸如膠囊、錠劑、藥囊或封包之原料藥劑型可含有複數個次單元，典型地由數十至數百或甚至高達數千個直徑0.05 mm至2.00 mm之球形粒子組成。例如微型錠劑之尺寸1.5 mm至3 mm的調配物即提供另一種替代方案。劑型可經設計以在胃中快速崩解釋放多個微粒。在不希望受特定理論束縛之情況下，據認為多個微粒會於胃腸腔中擴散，且將以控制方式逐漸自胃部清空，釋放原料藥。

在一個實施例中，例如雷帕黴素或RAD001本文所揭示之mTOR抑制劑的調配物(例如呈多微粒輸送系統形式)包含mTOR抑制劑作為活性成份，活性成份例如溶解或分散於顆粒(例如珠粒、集結粒、顆粒或微型錠劑)核心中或於環繞顆粒惰性核心之層中。活性成份可例如包埋在較佳包含親水性或親脂性基質形成性賦形劑之延長釋放基質中或包埋在與功能層及表塗層組合之快速崩解及/或溶解基質中，其中功能層或表塗層中之至少一者包含能夠控制擴散而延長釋放活性成份之塗層形成性聚合物。視情況可選用改善活性成份穩定性之保護層來分隔含有活性物質之基質與功能層或表塗層，以確保藥品之穩定性。

在另一實施例中，例如雷帕黴素或RAD001之本文所揭示之mTOR抑制劑的調配物(例如呈多微粒輸送系統)包含mTOR抑制劑作為活性成份且包含不可溶聚合物及可溶性組分之外塗層作為成孔劑，且視情況進一步包含功能層。出於本發明之目的，術語「外層」為位於朝向顆粒外部之層且可塗佈有另一層或可為表塗層。術語「外層」、「塗層」或「表塗層」可視術語所使用之上下文互換使用。

在一個實施例中，顆粒包含能夠實現活性成份之延長釋放的一個或數個表塗層。表塗層典型地為具有釋放控制狀態之最終層，其分別包圍多微粒之各顆粒。

在一實施例中，例如雷帕黴素或RAD001之本文所揭示之mTOR抑制劑的調配物包含外層或表塗層，該層藉由使藥物經由其可滲透之塗層擴散，視情況藉由在不可溶聚合物層中形成細孔或替代地僅藉由不可溶聚合物之水合作用來控制釋放，或藉由成孔劑之組合及不可溶聚合物之水合作用來控制釋放。該聚合物與pH無關為不可溶的且視情況含有水溶性成孔劑。在成孔劑溶解之後，釋放速率受細孔形成程度影響。不可溶的塗層聚合物可為纖維素醚，諸如乙基纖維素及乙酸纖維素或聚丙烯酸酯，例如鉅基甲基丙烯酸酯共聚物(尤特奇RS/RL)。適合的成孔劑包括水溶性纖維素醚，例如羥丙基纖維素(HPC(Klucel™ EF、EXF、LF)或羥丙基甲基纖維素(HPMC，Methocel™ E3/E5、Pharmacoat 603™)、聚乙二醇(Macrogol 1500、3500、4000、6000)、泊洛沙姆188 (普洛尼克 F68™)或聚維酮(PVP，科利當K12、K25、K30)。舉例而言，水溶性成孔劑可與不可溶聚合物以2:1至1:10，例如1:1至1:5，1:3或1:5之比率混合。在一實施例中，成孔劑與不可溶聚合物之比率為1:1至1:4，例如約1:1、1:1.2、1:1.5或1:2，該成孔劑為HPC，例如Klucel™ EF、EXF、LF或HMPC 3cP，例如Methocel™ E3。例示性不可溶聚合物包括與成孔劑組合之(但不限於)乙基纖維素(EC，Aqualon EC N10™)。在一些實施例中，在未使用成孔劑之情況下，不可溶聚合物A型鉅基甲基丙烯酸酯共聚物(尤特奇RS)與B型鉅基甲基丙烯酸酯共聚物(尤特奇RL)之組合可呈1:2至9:1，較佳1:1至4:1之比率。

持續釋放表塗層可將大部分活性物質釋放至小腸中且保護活性物質免於胃液且使活性物質於口腔、食道及胃中之暴露最小化。

在一個實施例中，例如雷帕黴素或RAD001之本文所揭示之mTOR抑制劑的調配物包含含有原料藥之基質，其例如快速崩解及/或溶解基質層或在延長釋放基質層中，例如在可由一或多種組分組成之

諸如珠粒、集結粒或顆粒之起始核心上且活性成份分散或溶解於其中。舉例而言，非晶形或結晶 mTOR 抑制劑，例如雷帕黴素或 RAD001，可在基質中以按重量計 1:100 至 100:1，例如 1:50 至 5:1；或 1:50 至 1:1，或按重量計 1:5 至 2:3，或 1:10 至 1:5 之比率分散或溶解於基質中(關於基質形成劑)。

在一實施例中，含有原料藥之基質於起始核心之表面上成層。在流化床製程中，可藉由將基質組分之分散液或溶液及原料藥噴射至具有均勻常規尺寸及形狀之粒子上來建構該層。或者，基質組分之粉末混合物可使用旋轉盤處理器成層。起始核心具有 0.1 mm 至 2.5 mm 之平均粒徑。其可為單晶體，例如蔗糖或流化床造粒、轉子造粒、擠製及滾圓或壓製製程所製造之粒狀黏聚物。在一些實施例中，微型錠劑可用作起始核心。在一特定實施例中，起始核心具有球形形狀且由諸如蔗糖及澱粉(糖球，Suglets™，Non-pareils)、甘露醇(例如 MCells™)、乳糖(例如經噴霧乾燥之乳糖)或微晶纖維素(例如 Cellets™)之惰性材料組成。

在另一實施例中，含有原料藥之基質併入粒子核心中。用於增強處理之形成基質之賦形劑、填充劑及其他成分連同原料藥一起混合。藉由使用濕式擠製或熔融擠製及後續滾圓或藉由將混合物壓製為微型錠劑可將所獲得之粉末混合物調配成粒子。所形成之基質可為快速崩解/溶解基質或具有用親水性或親脂性基質形成賦形劑建構的延長釋放特性之非崩解基質。

在一實施例中，藉由混合活性成份、例如乳糖之填充劑以及不同黏度之親水性水凝膠形成聚合物、滑動劑及潤滑劑來製備由含有原料藥之親水性、非崩解基質或其固態分散體組成的多微粒。在一些實施例中，親水性水凝膠形成聚合物可為例如與羥丙基甲基纖維素(具有就例如 2 重量%美多秀(Methocel) E5 之水性溶液而言低於 20 mPas 之

低黏度等級)組合之羥丙基甲基纖維素(具有就例如2重量% Methocel K100之水性溶液而言超過100 mPas之高黏度等級)。隨後在製錠機器上壓縮粉末混合物以獲得微型錠劑。或者，粉末混合物可經例如乙醇之有機溶劑潤濕，且隨後擠壓及滾圓以獲得多微粒。

在另一實施例中，藉由混合活性成份、親脂性可熔融基質形成賦形劑及填充劑來製備由含有原料藥之親脂性非崩解基質或其固態分散體組成的多微粒。藉由在擠壓機中熔融及混合處理混合物。將所獲得之流出物股切割成粒子且視情況滾圓。所使用之親脂性賦形劑僅為例如維生素E聚乙二醇丁二酸酯(Vit E TPGS，例如來自BASF之Kolliphor TPGS Pharma)或以9:1至1:9之比率與單硬脂酸甘油酯(GMS，例如來自BASF之Kolliwax GMS)組合。

在一些實施例中，相比於患者可獲得之例如雷帕黴素或RAD001立即釋放錠劑之立即釋放錠劑(Final Market Image或「FMI」錠劑)，例如雷帕黴素或RAD001之本文所揭示之mTOR抑制劑的延長釋放調配物在24個健康個體中單劑量投與之後降低峰值濃度($C_{\text{最大}}$)與給藥後24小時之濃度($C_{24\text{h}}$)之比率。在一些實施例中，如例如藥物動力學模型模擬所量測， $C_{\text{最大}}/C_{24\text{h}}$ 比率降低。 $C_{\text{最大}}/C_{\text{最小}}$ 比率降低之優勢為：使用根據相對於FMI調配物之mTOR抑制劑之生物可用性的適當劑量，mTOR抑制劑之濃度可維持在藥物治療下限(就足夠的療效而言)之上且同時遠離藥物治療上限(毒性濃度區域)。因此，在一些實施例中，例如雷帕黴素或RAD001之本文所揭示之mTOR抑制劑的延長釋放調配物能夠在不影響其療效的情況下提高mTOR抑制劑之安全概況。在一實施例中，在已投與例如雷帕黴素或RAD001之本文所揭示之mTOR抑制劑的延長釋放調配物的患者中， $C_{\text{最大}}/C_{24\text{h}}$ (因此 $C_{\text{最大}}/C_{\text{最小}}$)比率為 < 5 或 < 4 ，例如 3.5 ± 1 或 3 ± 0.5 。

在一實施例中，在與控制調配物之延長釋放特性的功能層或表

塗層分離的層中含有例如雷帕黴素或RAD001之本文所揭示之mTOR抑制劑。此類層可由適合於分散或溶解mTOR抑制劑之任何物質製成。在一實施例中，包含mTOR抑制劑之層由親水性載劑基質製成。載劑基質可包埋活性成份且保護其不被降解。適合的基質形成劑包括(但不限於)親水性聚合物，例如類型2910或類型2280之HPMC、HPC、HEC、MEC、MHEC、聚維酮，其可溶解或快速分散於水中。在一個實施例中，如例如WO97/03654或WO03/028705中所描述，基質層呈固態分散體之形式，其中之每一者之全部內容以引用的方式併入本文中。

在一實施例中，例如雷帕黴素或RAD001之本文所揭示之mTOR抑制劑的快速溶解/崩解載劑基質呈固態分散體形式。在一些實施例中，固態分散體包含載劑，例如水溶性聚合物，例如可使用以下聚合物中之一者或混合物：

- 羥基丙基甲基纖維素(HPMC)，例如類型2910羥丙甲纖維素，其可作為來自Dow Chemicals之Methocel™ E或來自Shin Etsu之Pharmacoat™獲得。使用較低視黏度之HPMC可獲得良好結果，該視黏度為如例如在20℃下針對2重量%水性溶液所量測低於100 cp，例如低於50 cp，較佳低於20 cp，例如3 cp HPMC；

- 聚乙烯吡咯啉酮(聚維酮，PVP)，例如PVP K25、K30或PVP K12。PVP為例如購自BASF公司之Kollidon®或購自ISP公司之Plasdone®。平均分子量在約8,000與約50,000道爾頓(Dalton)之間的PVP為較佳，例如PVP K30；

- 羥丙基纖維素(HPC)，例如Klucel EF/LF/JF或其衍生物。HPC衍生物之實例包括在例如水之水性介質中動態黏度較低的彼等者，該動態黏度例如如在25℃下5%水性溶液中量測低於約400 cp。較佳的HPC衍生物具有低於約200,000道爾頓，例如80,000道爾頓與140,000

道爾頓之間的平均分子量。市售HPC之實例包括購自Hercules Aqualon公司之Klucel® LF、Klucel® EF及Klucel® JF；及購自Nippon Soda Ltd之Nisso® HPC-L；

- 聚乙二醇(PEG)。實例包括平均分子量在1000道爾頓與9000道爾頓之間，例如約1800道爾頓與7000道爾頓之間的PEG，例如PEG 2000、PEG 4000或PEG 6000 (Handbook of Pharmaceutical Excipients, 第355至361頁)；

- 飽和聚二醇化甘油酯，例如Gelucire®，其為例如可購自Gattefossé公司之Gelucire® 44/14、53/10、50/13、42/12或35/10；或

- 環糊精，例如 β -環糊精或 α -環糊精。適合的 β -環糊精之實例包括(但不限於)甲基- β -環糊精；二甲基- β -環糊精；羟丙基- β -環糊精；糖基- β -環糊精；麥芽糖基- β -環糊精；磺酸基- β -環糊精； β -環糊精之磺酸基-烷基醚，例如磺酸基-C₁₋₄-烷基醚。 α -環糊精之實例包括(但不限於)葡糖基- α -環糊精及麥芽糖基- α -環糊精。

在一個實施例中，含有mTOR抑制劑之層以相對於原料藥量1:1000至1:1之比率含有抗氧化劑。抗氧化劑亦可例如以0.1%至10%，較佳0.1%至1%之濃度存在於其他功能層中。適合的抗氧化劑包括(但不限於)丁基羥基甲苯、丁基羥基苯甲醚、抗壞血酸棕櫚酸酯、生育酚、維生素E聚乙二醇丁二酸酯。在一特定實施例中，抗氧化劑為丁基羥基甲苯。

在一個實施例中，保護層將含有活性物質之層與諸如表塗層之其他功能層分離以增強藥品之穩定性。藉由排除與表塗層之任何直接接觸來使原料藥保持穩定。保護層亦充當擴散障壁，其防止例如可經由該等層遷移之聚合物副產物或塑化劑之表塗層中之任何組分與活性劑直接接觸。除亦用作基質形成劑(例如上文所描述之基質形成劑)之聚合物外，相對於聚合物之施加量，例如10%至100%，例如20%至

50%之高含量無機顏料或諸如滑石及/或二氧化鈦之抗黏著劑有助於阻障層功能。可調整保護層厚度以使藥品穩定性最佳化。

在另一實施例中，例如雷帕黴素或RAD001之mTOR抑制劑直接包埋入延長釋放載劑基質中。

在一些實施例中，包含例如雷帕黴素或RAD001之本文所揭示之mTOR抑制劑的調配物含有強力吸濕賦形劑，其能夠結合調配物中包圍之水濕氣，作為內部乾燥劑起作用。可使用吸附劑，諸如交聯聚維酮、交聯羧甲纖維素鈉、羥基乙酸澱粉鈉或澱粉。舉例而言，在一些實施例中，交聯聚維酮用作錠劑崩解劑，例如2%至25%之交聯聚維酮。例如交聯聚維酮之吸附劑可為用於濕式擠製及熔融擠製之粉末混合物的部分，用於壓縮微型錠劑之粉末摻合物之部分，用於製錠多微粒之粉末摻合物之部分，及/或在藥囊或膠囊填充製程中直接將其添加至多微粒中。

在一個態樣中，例如雷帕黴素或RAD001之本文所揭示之mTOR抑制劑以粒子(例如0.1 mm至0.5 mm)、珠粒、集結粒(例如0.2 mm至2 mm)或微型錠劑(例如1.5 mm至3 mm)形式存在，其具有總計低於5%，例如總計低於3%或低於2.5%之較低的水分含量。

在一些實施例中，例如本文所揭示之mTOR抑制劑(例如雷帕黴素或RAD001)之多微粒輸送系統的醫藥組合物可調配成諸如膠囊(例如HPMC或哈特明膠膠囊)之藥品或填充至藥囊或黏著封裝中或調配成在崩解後釋放粒子之錠劑。

在一些實施例中，諸如藥囊、黏著封裝、泡殼或瓶子之初始封裝可包括吸水成分，例如矽膠，其在存放期間及/或使用時間期間減少藥品之水分含量或使水分含量保持穩定。

所提供之調配物可包含及/或釋放多個集結粒、顆粒或微型錠劑。

在一些實施例中，例如多微粒調配物之所提供之調配物可藉由以下步驟製備：憑藉加熱或濕潤液體，擠壓及滾圓基質形成賦形劑與原料藥之混合物，或藉由用含有藥物之混合物壓製微型錠劑，或在流化床或轉子造粒製程中藉由使含有藥物之基質層於核心上成層。

在一些實施例中，含有活性物質之層可藉由噴射具有有機溶劑之噴霧分散液來製備，其中親水性組分及活性物質分散或溶解於核心材料上，同時並行地藉由經加熱之乾燥空氣之輔助持續移除溶劑。藉由此製程形成環繞核心之基質層，例如所形成之層為諸如HPMC、HPC、HEC之聚合物中之活性劑的固態分散體。

在一個態樣中，所提供之醫藥調配物可製備如下：分散或溶解親水性聚合物以膠態方式分散於其中之用於噴射之有機饋料混合物及例如雷帕黴素或RAD001之本文所揭示之mTOR抑制劑(在移除溶劑後一起沈澱為固態分散體之均勻光滑層)，其方式為使得其可塗佈有修飾釋放塗層。在一些實施例中，含有多微粒之所獲得之藥物可塗佈有額外功能層及表塗層。將溶解、分散及懸浮於有機溶劑及其混合物中、含有塗層聚合物、潤滑劑、抗黏著劑、成孔劑及塑化劑的噴霧分散液噴射於含有多微粒之藥物上。在處理期間，使多微粒持續保持受控制的運動或流化，同時將經加熱之乾燥處理氣體施加於產物床以便自多微粒表面蒸發溶劑，其中在所定義溫度下形成薄膜層。可藉由所噴射之塗層分散液之量控制薄膜層厚度。施加最終乾燥以使成層且經塗佈的多微粒中之殘餘溶劑含量最小化。

在另一態樣中，例如雷帕黴素或RAD001之本文所揭示之mTOR抑制劑可調配成延長釋放調配物之高藥物負荷部分的部分。在一些實施例中，調配物進一步包含界面活性劑。術語「界面活性劑」可與「濕潤劑」或「清潔劑」互換使用且係指非離子、離子、陰離子、陽離子或兩性界面活性劑，例如非離子、離子、陰離子或兩性界面活性

劑。適合的表面活性劑/濕潤劑之實例包括(但不限於)已知例如商標為普洛尼克或泊洛沙姆(例如泊洛沙姆188 (普洛尼克F68))之聚氧化乙烯-聚氧化丙烯共聚物及嵌段共聚物；聚氧化乙烯；脫水山梨糖醇脂肪酸酯，包括已知商品名為Tween之類型的單及三月桂基、棕櫚基、硬脂基及油基酯；聚氧化乙烯脂肪酸酯，包括已知商品名為Myrj之類型的聚氧化乙烯硬脂酸酯；已知商標為Brij之聚氧化乙烯烷基醚；烷基硫酸鈉，如月桂基硫酸鈉(SDS)及月桂基磺酸鈉及烷基芳基磺酸鈉；水溶性生育酚聚乙二醇丁二酸酯(TPGS)；聚甘油脂肪酸酯；伸烷基聚醇醚或酯；聚乙二醇甘油基脂肪酸酯；固醇及其衍生物；轉酯聚氧乙基化辛酸-癸酸甘油酯；糖脂肪酸酯；PEG固醇醚；磷脂；脂肪酸鹽；脂肪酸硫酸鹽及磺酸鹽；脂肪酸鹽；脂肪酸硫酸鹽及磺酸鹽；中鏈或長鏈烷基，例如C₆-C₁₈；銨鹽；膽酸或其鹽，例如膽酸、乙醇酸或其鹽，例如膽酸鈉；及飽和C₁₀至C₂₂脂肪酸之聚氧化乙烯單酯。在一特定實施例中，界面活性劑為聚氧化乙烯-聚氧化丙烯共聚物或嵌段共聚物或水溶性生育酚聚乙二醇丁二酸酯，例如水溶性生育酚聚乙二醇丁二酸酯，例如維生素E聚乙二醇1000丁二酸酯(TPGS)。在另一實施例中，本發明醫藥調配物中之界面活性劑為聚氧化乙烯-聚氧化丙烯共聚物，例如泊洛沙姆188。在又一實施例中，醫藥調配物包含界面活性劑烷基硫酸鈉，例如月桂基硫酸鈉。

界面活性劑或濕潤劑可以與例如雷帕黴素或RAD001之mTOR抑制劑按重量計10:1至1:200，例如按重量計1:1至1:100，按重量計1:2至1:8，按重量計1:4至1:6之比率存在調配物於中。

在一些實施例中，例如雷帕黴素或RAD001之mTOR抑制劑在含有高藥物負荷之第一層中且界面活性劑在第二層中，其中第二層在第一層下方，視情況具有額外的延長釋放塗層。在一些此類實施例中，界面活性劑不為泊洛沙姆188及TPGS。在一些實施例中，第二層中之

界面活性劑或濕潤劑可形成保護層，該保護層將含有活性成份之層與涵蓋調配物之塗層分離。涵蓋調配物之塗層可為延長釋放塗層。

其他實施例

本發明進一步提供具有經如本文所描述之低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑處理之T細胞的T細胞製劑，從而用於例如治療患有例如淋巴組織增生疾病之疾病的個體。在一些實施例中，T細胞自己投與如本文所描述之低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑的個體復原。自個體復原T細胞之適合的方法為此項技術中已知且包括藉由過濾、親和性層析法或磁性標記及分離來與周邊血液或骨髓分離。在其他實施例中，在活體外，例如在細胞培養物中，自個體復原之T細胞經如本文所描述之低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑處理。在一個實施例中，在個體接受骨髓或幹細胞移植之前自患有淋巴組織增生疾病之個體獲取T細胞製劑，且在骨髓或幹細胞移植之後向個體輸送該T細胞製劑。T細胞製劑可提高或改良骨髓或幹細胞移植效果，例如提高抗癌細胞免疫功能及恢復免疫系統。淋巴組織增生疾病可為白血病或淋巴瘤，例如慢性骨髓性白血病(CML)、急性骨髓白血病(AML)、伯基特氏淋巴瘤、瀰漫性大細胞淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、毛狀細胞淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、骨髓發育不良症候群及非霍奇金氏淋巴瘤。

實例

參考以下實驗性實例，進一步詳細描述本發明。除非另外說明，否則提供此等實例僅出於說明的目的，且並不意欲限制。因此，本發明決不應理解為限於以下實例，但確切而言應理解為包涵由於本文所提供之教示而變得明顯的任何及所有變化。

無需進一步描述，咸信一般熟習此項技術者可使用前述描述及以下說明性實例製造及利用本發明之組合物且實踐所主張的方法。以下實施例特定指出本發明之各種態樣且不應理解為以任何方式限制本

發明之剩餘部分。

實例1：mTOR抑制對老年人中之免疫衰老之作用

與老化最明確相關之路徑中之一者為mTOR路徑。已展示，mTOR抑制劑雷帕黴素延長小鼠壽命且改善老齡小鼠之多種老化相關之病狀(Harrison, DE等人 (2009) *Nature* 460:392-395；Wilkinson JE等人 (2012) *Aging Cell* 11:675-682；及Flynn, JM等人 (2013) *Aging Cell* 12:851-862)。因此，此等發現指示mTOR抑制劑對人類老化及老化相關之病狀可具有有利作用。

可在短期臨床試驗時間框中研究的年齡相關之表型為免疫衰老。免疫衰老為老年人中出現的免疫功能減退，導致易感染性增加且對包括流感疫苗接種之疫苗接種的反應降低。免疫功能隨著年齡而減退係歸因於免疫缺陷之累積，該等缺陷包括造血幹細胞(HSC)產生原始淋巴細胞之能力下降及對抗原刺激具有缺陷性反應之衰竭PD-1陽性淋巴細胞數量增加(Boraschi, D等人 (2013) *Sci. Transl. Med.* 5:185ps8；Lages, CS等人 (2010) *Aging Cell* 9:785-798；及Shimatani, K等人 (2009) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106:15807-15812)。老年小鼠中之研究展示使用mTOR抑制劑雷帕黴素治療6週可使提高原始淋巴細胞產量之HSC功能復原，使對流感疫苗接種之反應提高且使壽命延長(Chen, C等人 (2009) *Sci. Signal.* 2:ra75)。

為了評定mTOR抑制對人類老化相關之表型之作用及mTOR抑制劑RAD001是否改善免疫衰老，評估接受RAD001或安慰劑之老年志願者對流感疫苗之反應。本文所呈現之研究結果表明良好耐受的劑量之RAD001會增強老年志願者對流感疫苗之反應。RAD001亦降低隨著年齡增長累積的漸進式死亡(PD)-1陽性CD4及CD8 T淋巴細胞之百分比。此等結果展示mTOR抑制對老年志願者中之免疫衰老具有有利作用。

如本文所描述，使用mTOR抑制劑RAD001（雷帕黴素類似物）治療6週改良老年人類志願者對流感疫苗接種之反應。

方法

研究群體

在新西蘭及澳大利亞的9個地點征選無不穩定潛在醫學疾病、年齡> = 65歲的老年志願者。篩選時的淘汰準則包括血紅蛋白< 9.0 g/dL；白血球計數< 3,500/mm³；嗜中性白血球計數< 2,000/mm³；或血小板計數< 125,000/mm³；不受控制的糖尿病；不穩定的局部缺血性心臟病；臨床上顯著的潛在肺部疾病；免疫缺乏或接受免疫抑制療法之病史；凝血病或需要長期抗凝之醫學病狀的病史；估計腎小球濾過率<30 ml/min；存在嚴重不受控制的高膽固醇血症(> 350 mg/dL，9.1 mmol/L)或高三酸甘油酯血症(> 500 mg/dL，5.6 mmol/L)。

治療組之間的基線人口統計資料類似(表2)。在218名人選個體中，211名完成了研究。七名個體退出研究。五名個體歸因於不良事件(AE)而退出，一名個體退出同意且一名個體由於違背協定而離開研究。

表2：研究患者之人口統計及基線特徵

| 群體 | | RAD001 每日0.5 mg N=53 | RAD001 每週5 mg N=53 | RAD001 每週20 mg N=53 | 合併安慰 劑 N=59 | 總計 N=218 |
|--------------|-----------|-------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-------------------|-------------|
| 年齡(歲) | 平均值(SD) | 70.8 (5.0) | 72.0 (5.3) | 71.4 (5.2) | 71.1 (5.1) | 71.3 (5.2) |
| 性別 | 男性- n (%) | 34 (64%) | 27 (51%) | 32 (60%) | 31 (53%) | 124 (57%) |
| BMI* (kg/m2) | 平均值(SD) | 27.4 (4.2) | 28.8 (5.0) | 28.0 (4.1) | 28.0 (4.2) | 28.0 (4.4) |
| 人種 - n (%) | 白種人 | 48 (91%) | 50 (94%) | 46 (87%) | 54 (92%) | 198 (91%) |
| | 其他 | 5 (9%) | 3 (6%) | 7 (13%) | 5 (8%) | 20 (9%) |

*身體-質量指數為以千克計之重量除以以公尺計之身高平方

研究設計及執行

自2011年12月至2012年4月，218個老年志願者入選隨機化、觀測者設盲、安慰劑控制的試驗。使用經驗證之自動化隨機取樣系統，以各治療組中5:2之RAD001與安慰劑之比率將個體隨機分入治療組。治療組為：

RAD001每日0.5 mg或安慰劑

RAD001每週5 mg或安慰劑

RAD001每週20 mg或安慰劑

試驗為觀測者設盲的，因為RAD001每日0.5 mg及每週20 mg之群組中之安慰劑略微不同於彼等群組中之RAD001錠劑。評估個體之研究人員未看見研究藥療且因此完全不知情。所有群組之治療持續時間均為6週，在此期間個體在診所中每2週經受一次安全性評估。在個體已持續給藥4週之後，量測給藥前及給藥後一小時之RAD001穩態水準。在完成研究藥物之6週療程之後，向個體提供2週無藥物間歇以逆轉任何可能的RAD001誘發之免疫抑制，隨後給予含有病毒株H1N1 A/California/ 07/2009、H3N2 A/Victoria/210/2009、B/Brisbane/60/2008的2012年季節性流感疫苗接種(Agrippal®, Novartis Vaccines and Diagnostics, Siena, Italy)。在流感疫苗接種之後四週，收集個體血清以用於流感效價量測。藉由標準血球凝集抑制分析法量測針對3種流感疫苗病毒株以及針對2種異源病毒株(A/H1N1病毒株 A/New Jersey/8/76及A/H3N2病毒株 A/Victoria/361/11)之抗體效價(Kendal, AP 等人 (1982) *Concepts and procedures for laboratory-based influenza surveillance. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention* B17-B35)。在如先前所描述之流感疫苗接種之前及流感疫苗接種之後4週獲取的血清樣品中量測對A/H1N1/California/07/2009具有特異性之IgG及IgM含量(Spensieri, F. 等人 (2013) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110:14330-14335)。結果表示為螢光強度。

所有個體均提供書面知情同意書。根據優良臨床實驗規範(Good Clinical Practice)之原則進行研究且研究經適當的倫理委員會及管理機構批准。

安全性

不良事件評定及用於血液學及生物化學安全性評估之血液收集在研究問診期間進行。亦在個體接受研究藥物之6週期間在家填寫的日誌中收集不良事件資訊。自知情同意時刻起直至末次研究問診之後30天收集所有不良事件資料。研究者將事件歸類為輕度、中度或重度。

統計分析

在無資訊先驗之情況下，使用貝氏(Bayesian)回歸模型進行幾何平均效價比率之初始分析。在對數標度上針對各抗體效價擬合此模型。各模型中之初始結果為第84天量測值。第63天量測值包括在結果向量中。使用與先前聲明混合之SAS 9.2 proc擬合模型。矩陣之協方差結構被認為是非結構化的(選項類型= UN)。使用平直先驗。就血清轉化率之二次分析而言，使用邏輯回歸。

治療意願群體定義為接受至少一個完全劑量之研究藥物且無影響療效資料之主要方案偏差的所有個體。入選研究之總計218名個體中有199名在治療意願群體中。

免疫表型分型

在以下3個時間點收集自全血分離之周邊血液單核細胞：基線；在研究藥物治療6週之後；及在個體已停止接受研究藥物6週且在流感疫苗接種4週之後的研究結束時。如先前所描述，在美國加州斯坦福大學人類免疫監測中心(Human Immune Monitoring Center at Stanford University, CA, USA)藉由流動式細胞量測術，使用8色免疫表型分型圖來分析七十六個PBMC子集(Maecker, HT等人 (2012) *Nat Rev*

Immunol. 12:191-200)。藉由流動式細胞量測術，使用8色凍乾免疫表型分型圖來分析七十六個PBMC子集(BD Lyoplate, BD Biosciences, San Diego, CA)。分析中包括存活率> 80%且產量為 2×10^6 個細胞或大於 2×10^6 個細胞之PBMC樣品。

針對RAD001給藥群組中之每一者計算基線至研究藥物治療第6週及基線至研究結束(第12週)之免疫表型相對變化。進行斯圖登(Student) T檢驗以檢查在針對安慰劑作用調整之後各給藥群組內基線至兩個血液取樣時間點之免疫表型相對變化是否分別明顯不等於零。在治療作用分析中未作遺漏資料插補。因此若患者在基線時具有遺漏表型資料，則此患者不包括在此表型分析中。若患者在6週或12週具有遺漏表型資料，則隨後此患者不參與針對受影響時間點之此表型分析。

在3個給藥組中進行76個表型之608個測試以將治療作用與安慰劑作用進行比較。實施分層錯誤發現率(FDR)控制方法以控制與多重檢驗相關之假陽性之發生率又提供顯著較佳的效力。細胞類型群組視為分層因子且分別在各層內進行FDR (q值)計算。以0.05顯著性水準及對應q值 ≤ 0.1 拒絕所有虛無假設。以0.05顯著性水準及對應的q < 0.1拒絕之多重檢驗調整策略確保低於10%之發現為錯誤的。

在第二分析中，在合併治療組及安慰劑組之間免疫表型變化，其中所有三個RAD001給藥組均合併。為確定哪些免疫表型變化在治療組與安慰劑組之間不同，在基線與研究藥物治療第6週之間及在基線與研究結束(第12週)之間計算各量測表型之患者自身細胞計數比率。比率轉換為對數，且藉由分析各時間點之協方差來分析比率從而偵測合併治療組與安慰劑組之間的差異。進行76個表型之152個測試以將合併治療作用與安慰劑作用進行比較。實施分層錯誤發現率(FDR)控制方法以控制與多重檢驗相關之假陽性之發生率又提供顯著

較佳的效力(Benjamini, Y.等人 (1995) *J. Roy. Statist.* 57:289-300；及 Sun, L.等人 (2006) *Genet. Epidemiol.* 30:519-530)。細胞類型群組被視為分層因子且分別在各層內進行FDR(q值)計算。拒絕0.05顯著性水準及q值低於20%之所有虛無假設。此可解釋為僅拒絕P值低於0.05且概率低於20%之彼等假設，即各觀測顯著結果係歸因於多重檢驗。

結果

一般而言，RAD001為良好耐受的，尤其每日0.5 mg及每週5 mg之給藥方案。在研究期間未出現死亡。三名個體所經歷的四個嚴重不良事件(SAE)經評定為與RAD001無關。4個SAE為先前完成每週5 mg RAD001持續6週之6週療程的具有標準血小板計數之個體左眼視網膜出血伴隨後續失明；經安慰劑治療之個體嚴重的背部疼痛及經安慰劑治療之個體之重度胃腸炎。在任何治療組中之發生率均>2%之治療相關不良事件(AE)清單提供於表3中。RAD001相關之最常見AE為口腔潰瘍，其在大部分情況下嚴重程度為輕度。總體而言，接受RAD001之個體與經安慰劑治療之彼等個體具有類似的嚴重AE之發生率。僅一個嚴重AE被評定為與用每週20 mg RAD001治療之個體之RAD001相關之口腔潰瘍。

表3：按首選術語在任何治療組中>2%之治療相關之AE的發生率

| | RAD001 0.5 mg 每日 N=53 n (%) | RAD001 5 mg 每週 N=53 n (%) | RAD001 20 mg 每週 N=53 n (%) | 安慰劑，合併 N=59 n (%) | 總計 N=218 n (%) |
|----------|--|--|---|----------------------------------|-------------------------------|
| AE總計 | 35 | 46 | 109 | 21 | 211 |
| 具有AE之患者 | 22 (41.5%) | 20 (37.7%) | 27 (50.9%) | 12 (20.3%) | 81 (37.2%) |
| 口腔潰瘍 | 6 (11.3%) | 2 (3.8%) | 9 (17.0%) | 3 (5.1%) | 20 (9.2%) |
| 頭痛 | 0 | 2 (3.8%) | 9 (17.0%) | 1 (1.7%) | 12 (5.5%) |
| 血液膽固醇升高 | 2 (3.8%) | 2 (3.8%) | 2 (3.8%) | 0 | 6 (2.8%) |
| 腹瀉 | 1 (1.9%) | 4 (7.5%) | 1 (1.9%) | 0 | 6 (2.8%) |
| 消化不良 | 0 | 3 (5.7%) | 2 (3.8%) | 1 (1.7%) | 6 (2.8%) |
| 疲勞 | 0 | 2 (3.8%) | 4 (7.5%) | 0 | 6 (2.8%) |
| 低密度脂蛋白升高 | 2 (3.8%) | 1 (1.9%) | 2 (3.8%) | 0 | 5 (2.3%) |

| | RAD001 0.5 mg 每日 N=53 n (%) | RAD001 5 mg 每週 N=53 n (%) | RAD001 20 mg 每週 N=53 n (%) | 安慰劑，合併 N=59 n (%) | 總計 N=218 n (%) |
|-----------|--|--|---|----------------------------------|-------------------------------|
| 舌部潰瘍 | 3 (5.7%) | 1 (1.9%) | 0 | 1 (1.7%) | 5 (2.3%) |
| 失眠 | 1 (1.9%) | 2 (3.8%) | 1 (1.9%) | 0 | 4 (1.8%) |
| 口乾 | 0 | 0 | 2 (3.8%) | 1 (1.7%) | 3 (1.4%) |
| 嗜中性白細胞減少症 | 0 | 0 | 3 (5.7%) | 0 | 3 (1.4%) |
| 口腔痛 | 0 | 2 (3.8%) | 1 (1.9%) | 0 | 3 (1.4%) |
| 搔癢病 | 0 | 2 (3.8%) | 1 (1.9%) | 0 | 3 (1.4%) |
| 結膜炎 | 0 | 2 (3.8%) | 0 | 0 | 2 (0.9%) |
| 紅斑 | 0 | 2 (3.8%) | 0 | 0 | 2 (0.9%) |
| 肢體不適 | 0 | 2 (3.8%) | 0 | 0 | 2 (0.9%) |
| 黏膜發炎 | 0 | 0 | 2 (3.8%) | 0 | 2 (0.9%) |
| 口腔異感 | 2 (3.8%) | 0 | 0 | 0 | 2 (0.9%) |
| 口腔炎 | 0 | 0 | 2 (3.8%) | 0 | 2 (0.9%) |
| 血小板減少 | 0 | 0 | 2 (3.8%) | 0 | 2 (0.9%) |
| 尿道感染 | 0 | 0 | 2 (3.8%) | 0 | 2 (0.9%) |

藉由量測2012年季節性流感疫苗之血清反應來評估RAD001提高老年志願者中之免疫功能的能力。在基線時及流感疫苗接種之後4週的3種流感疫苗病毒株中之每一者之血球凝集抑制(HI)幾何平均效價(GMT)提供於表4中。初始分析變量為HI GMT比率(疫苗接種/基線後4週)。發動研究以能夠表明在3種流感疫苗病毒株中之至少2者中存在1)相對於安慰劑GMT增加 ≥ 1.2 倍；及2)經安慰劑校正之GMT比率超過1的後驗機率不低於80%。選擇此終點是因為由MF-59疫苗佐劑誘發的流感GMT比率增加1.2倍與流感疾病減少有關(Iob, A等人 (2005) *Epidemiol Infect* 133:687-693)。

表4.在基線時及流感疫苗接種之後4週各流感疫苗病毒株之HI GMT

| 流 感 疫 苗 病 毒 株 | | 時間 | RAD001 每 日0.5 mg N=50 | RAD001 每週 5 mg N=49 | RAD001 每 週20 mg N=49 | 安慰劑 N=55 |
|---------------------|--------------------------|------------|--------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|---------------------|
| A/H1N1 | GMT (CV%) | 基線 | 102.8 (186.9) | 84.2 (236.4) | 90.1 (188.4) | 103.2 (219.7) |
| | | 第4週 | 190.2 (236.9) | 198.73 (195.6) | 129.7 (175.9) | 169.4 (259.8) |
| | GMT 比 率 (CV%) | | 2.6 (302.5) | 2.5 (214.3) | 1.8 (201.5) | 2.0 (132.7) |
| A/H3N2 | GMT (CV%) | 基線 | 106.8 (168.2) | 126.04 (162.6) | 137.1 (211.5) | 131.7 (162.3) |
| | | 第4週 | 194.4 (129.1) | 223.0 (118.8) | 223.0 (163.6) | 184.3 (153.2) |

| | | | | | | |
|---|------------------|-----|-------------|--------------|--------------|---------------|
| | GMT 比 率 (CV%) | | 2.1 (152.6) | 2.0 (189.2) | 2.1 (277.3) | 1.6 (153.6) |
| B | GMT (CV%) | 基線 | 44.2 (96.6) | 64.8 (87.3) | 58.0 (156.0) | 57.0 (112.6) |
| | | 第4週 | 98.4 (94.8) | 117.3 (99.9) | 99.2 (124.1) | 114.6 (136.7) |
| | GMT 比 率 (CV%) | | 2.5 (111.2) | 2.2 (112.8) | 2.1 (126.5) | 2.2 (109.2) |

基線指示流感疫苗接種2週之前

第4週指示流感疫苗接種之後4週

N為每一群組之個體數目

GMT為幾何平均效價

GMT比率為疫苗接種後4週與GMT/在基線時的GMT

CV%指示變化係數

在治療意願(ITT)群組中，低及免疫增強劑量RAD001（每日0.5 mg或每週5 mg)群組而非較高劑量(每週20 mg)群組符合研究之主要終點(圖1A)。此表明較低劑量之RAD001存在獨特的免疫調節機制及在較高劑量下mTOR抑制之已知免疫抑制作用可開始發揮。此外，結果表明在低及免疫增強劑量RAD001治療之後在老年人中提高免疫功能之趨勢。

在亞群分析中，具有較低的基線流感效價($\leq 1:40$)之個體子集與ITT群體相比，RAD001相關之效價增加更大(圖1B)。此等資料展示RAD001對增強基線不具有保護性($> 1:40$)效價且因此患有流感疾病之風險最高之個體的流感疫苗反應尤其有效。

RAD001濃度與各流感疫苗病毒株效價增加之散佈圖展示反向的暴露/反應關係(圖2)。基於S6激酶(S6K)之mTOR介導性磷酸化之建模及模擬預計在給藥間隔期間每週20 mg給藥方案幾乎完全抑制mTOR介導性S6K活性，每週5 mg給藥方案抑制S6K活性超過50%且每日0.5 mg給藥方案抑制S6K磷酸化大約38% (Tanaka, C等人 (2008) *J. Clin. Oncol* 26:1596-1602)。因此，使用低及免疫增強劑量RAD001之部分

mTOR抑制(例如mTOR介導性S6K磷酸化)可即使不比使用較高劑量RAD001之幾乎完全mTOR抑制對增強老年人之免疫反應更加有效，也與其同樣有效。

亦評估流感疫苗接種之後4週的血清轉化率。血清轉化定義為陰性疫苗接種前效價(亦即HI效價 $< 1:10$)至疫苗接種後HI效價 $\geq 1:40$ 或相比於非陰性($\geq 1:10$)疫苗接種前HI效價增加至少4倍的變化。在治療意願群體中，相比於安慰劑群組，RAD001群組之H3N2及B型病毒株之血清轉化率升高，雖然該升高不符合統計顯著性(表5)。在基線時流感效價 $\leq 1:40$ 之子群體個體中，RAD001治療亦提高H3N2及B型病毒株之血清轉化率且在每日0.5 mg給藥群組中，就B型病毒株而言此等結果達到統計顯著性。此等資料進一步展示RAD001增強老年人對流感疫苗接種之血清反應。

表5：疫苗接種之後4週具有流感之血清轉化的個體百分比

| | 安慰劑 N=54 | 0.5 mg N=48 | 5 mg N=49 | 20 mg N=48 |
|--------------------|-------------|----------------|--------------|---------------|
| 治療意願群體 | | | | |
| H1N1 | 24 | 27 | 27 | 17 |
| H3N2 | 17 | 27 | 24 | 25 |
| B | 17 | 27 | 22 | 19 |
| 基線效價 ≤ 40 之個體 | | | | |
| H1N1 | 40 | 42 | 45 | 36 |
| H3N2 | 42 | 64 | 53 | 71 |
| B | 16 | 40* | 33 | 28 |

*RAD001與安慰劑之間的血清轉化幾率比明顯不等於1 (藉由治療作為固定作用之邏輯回歸獲得之雙側p值 < 0.05)

當前季節性流感疫苗通常無法提供抗以先前流行病毒變異體形式呈現之不斷出現的流感病毒株之足夠的保護。然而，相比於安慰劑，在mTOR抑制劑雷帕黴素存在下接受抗流感疫苗接種之小鼠產生較廣泛的流感血清反應。較廣泛的血清反應包括由多種流感亞型表現之保守性抗原決定基之抗體，其提供抗疫苗中未含有之流感異源病毒

株感染的保護(Keating, R等人 (2013) *Nat Immunology* 14:2166-2178)。為了測定RAD001是否增強老年志願者對流感之血清反應，量測流感疫苗中未含有之2種流感異源病毒株(A/H1N1病毒株A/New Jersey/8/76及A/H3N2病毒株A/Victoria/361/11)的HI效價。相比於安慰劑群組，RAD001群組中之異源病毒株之HI GMT比率增加更大(圖3)。另外，相比於安慰劑群組，RAD001群組中之異源病毒株之血清轉化率更高。就H3N2異源病毒株而言，每週5 mg及20 mg RAD001給藥群組中之血清轉化率之增加為統計顯著的(表6)。合併RAD001群組及安慰劑群組之H3N2血清轉化率為39%與20% (p=0.007)。本文所呈現之結果表明mTOR抑制增強老年志願者對流感疫苗接種之血清反應且提高季節性流感疫苗中未含有之流感異源病毒株之抗體效價。

用雷帕黴素處理之小鼠中之流感異源病毒株血清反應的增強與B細胞類別轉換抑制及抗流感IgM含量增加有關(Keating, R.等人 (2013) *Nat Immunol* 14:2166-2178)。然而，類別轉換抑制可能並未參與用RAD001治療之人類之增強的血清反應，因為RAD001治療群組與安慰劑治療群組之間的疫苗接種後抗流感IgM及IgG含量並無不同(圖4)。

表6：季節性流感疫苗接種之後4週產生對流感異源病毒株之血清轉化的個體百分比

| | 安慰劑， 合併 | RAD001 每日 0.5 mg | RAD001 每週 5 mg | RAD001 每週 20 mg |
|----------------------------------|------------|---------------------|-------------------|--------------------|
| A/H1N1 病毒株： A/NewJersey/8/76 | 7% | 17% | 16% | 8% |
| A/H3N2 病毒株： A/Victoria/361/11 | 20% | 38% | 39%* | 40% * |

*RAD001與安慰劑之間的血清轉化幾率比明顯不等於1 (藉由治療作為固定作用之邏輯回歸獲得之雙側p值< 0.05)

為了探尋RAD001增強老年志願者中之免疫功能之機制，在基線時、在研究藥物治療之後6週及流感疫苗接種之後4週(在研究藥物停



止6週之後)自個體獲得之PBMC樣品上進行免疫表型分析。雖然大多數PBMC子集百分比在RAD001群組與安慰劑群組之間並無不同，但相比於安慰劑群組，RAD001群組中之PD-1陽性CD4及CD8細胞百分比更低(圖5)。PD-1陽性CD4及CD8細胞隨著年齡增長而累積且對抗原刺激具有缺陷性反應，因為PD-1抑制T細胞受體誘發之T細胞增殖、細胞因子產生及溶細胞功能(Lages, CS等人 (2010) *Aging Cell* 9:785-798)。隨時間推移安慰劑群組中之PD-1陽性T細胞百分比增加。在第12週(疫苗接種後4週)此增加可歸因於流感疫苗接種，因為已展示流感病毒增加PD-1陽性T細胞(Erikson, JJ等人 (2012) *JCI* 122:2967-2982)。然而，在所有RAD001群組中，相比於基線，在第6週及第12週之CD4 PD-1陽性T細胞百分比下降(圖5A)。在兩個較低劑量RAD001群組中，相比於基線，在第6週及第12週之CD8 PD-1陽性T細胞百分比亦下降(圖5B)。評估PD-1陰性CD4 T細胞百分比，且相比於安慰劑群組，RAD001群組中之PD-1陰性CD4 T細胞百分比升高(圖5C)。

在更嚴格的統計分析下，其中針對基線PD-1表現差異合併且調整RAD001群組之結果，相比於安慰劑群組(n=25)，在第6週合併的RAD群組(n=84)中之PD-1陽性CD4 T細胞存在統計顯著的30.2%之下降，其中 $p=0.03$ ($q=0.13$) (圖6A)。相比於安慰劑群組，在第12週合併的RAD群組中之PD-1陽性CD4 T細胞下降32.7%，其中 $p=0.05$ ($q=0.19$)。圖6B展示相比於安慰劑群組(n=25)，在第6週合併RAD001群組(n=84)中之PD-1陽性CD8 T細胞下降統計顯著的37.4%，其中 $p=0.008$ ($q=0.07$)。在第12週，相比於安慰劑群組，合併RAD001群組中之PD-1陽性CD8 T細胞下降41.4%，其中 $p=0.066$ ($q=0.21$)。因此，圖5及圖6之結果共同表明RAD001相關之PD-1陽性CD4及CD8 T細胞百分比下降可有助於增強免疫功能。

結論

總之，本文所呈現之資料展示如藉由流感疫苗接種反應所評定，mTOR抑制劑RAD001改善人類老年人年齡相關之免疫功能減退，且此改善係藉由可接受之風險/效益平衡獲得。在老年小鼠之研究中，使用mTOR抑制劑雷帕黴素處理6週不僅增強流感疫苗接種反應而且延長壽命，表明免疫衰老之改善可能是對老化相關之表型更廣泛作用的標誌。

因為RAD001給藥在疫苗接種2週之前停止，RAD001之免疫增強作用可藉由在藥物處理停止之後持續的相關細胞群體之變化介導。本文所呈現之結果展示相比於安慰劑，RAD001降低衰竭PD-1陽性CD4及CD8 T細胞百分比。PD-1表現由TCR信號傳導誘發且在包括慢性病毒感染之持續性抗原刺激之環境中保持高量。雖然不希望受理論束縛，但RAD001可能降低老年志願者中之慢性免疫活化且從而導致PD-1表現減少。如針對免疫親和素環孢靈A已報導，RAD001亦可直接抑制PD-1表現(Oestreich, KJ等人 (2008) *J Immunol.* 181:4832-4839)。RAD001誘發之PD-1陽性T細胞百分比下降可能提高T細胞反應品質。此與展示在小鼠及靈長類動物中mTOR抑制提高記憶CD8 T細胞疫苗接種反應品質的先前研究(Araki, K等人 (2009) *Nature* 460:108-112)一致。在老齡小鼠中，亦展示mTOR抑制增加造血幹細胞數目，導致原始淋巴細胞產量提高(Chen, C等人 (2009) *Sci Signal* 2:ra75)。雖然在此實例中未檢測到RAD001群組與安慰劑群組中之原始淋巴細胞百分比的顯著差異，但可進一步研究此可能機制。

可進一步研究RAD001增強流感異源病毒株血清反應的機制。亦展示流感疫苗接種之後雷帕黴素抑制B細胞類別轉換。其結果是，產生抗流感抗體之唯一抗體庫，其促進抗流感疫苗中未含有之流感病毒亞型致死性感染之交叉病毒株保護(Keating, R等人 (2013) *Nat*

Immunol. 14:2166-2178)。本文所描述之結果未展示RAD001改變流感疫苗接種2週之前停止RAD001之老年個體中之B細胞類別轉換。雖然需要進一步闡明潛在機制，但本文所描述之提高的異源流感病毒株血清反應可在季節性疫苗與團體中之流行流感病毒株之間存在不佳匹配時增強數年內之流感疾病保護。

RAD001對流感抗體效價之作用與經批准增強老年人流感疫苗接種反應之MF59疫苗佐劑的作用相當(Podda, A (2001) *Vaccine* 19:2673-2680)。因此，如老年人中有MF59佐劑之流感疫苗所表明，RAD001推動之流感疫苗接種抗體反應的增強可轉變為臨床效益(Iob, A等人 (2005) *Epidemiol Infect.* 133:687-693)。然而，RAD001亦用於抑制器官移植患者之免疫反應。此等看起來反常的發現提高mTOR抑制劑之免疫調節作用可為劑量及/或抗原依賴性的可能性(Ferrer, IR等人 (2010) *J Immunol.* 185:2004-2008)。本文中可見反向RAD001暴露/疫苗接種反應關係的趨勢。完全mTOR抑制有可能經由標準親環蛋白-雷帕黴素機制抑制免疫功能，而歸因於獨特的老化相關之表型抑制，部分mTOR抑制至少在老年人中增強免疫功能。相關地，在包括老化動物模型中之造血幹細胞的多種組織中mTOR活性得到提高(Chen C.等人 (2009) *Sci Signal* 2:ra75 and Barns, M.等人 (2014) *Int J Biochem Cell Biol.* 53:174-185)。因此，與mTOR活性之更完全抑制相反，將mTOR活性調低至年輕組織中可見之水準，對於老化指示可具有臨床效益。

諸如RAD001之mTOR抑制劑在治療老化相關之病症時的安全概況一直備受關注。呈腫瘤學或器官移植病症中所使用之劑量之RAD001的毒副作用包括口腔炎、腹瀉、噁心、血球減少症、高脂質血症及高血糖症之發病率，其對多種老化相關之病症而言將為不可接受的。然而，此等AE與血液中之RAD001之最低含量相關。因此，選

擇此研究中所使用之RAD001給藥方案以使最低含量最小化。每日0.5 mg、每週5 mg及每週20 mg給藥群組之平均RAD001最低含量分別為0.9 ng/ml、低於0.3 ng/ml(定量下限)及0.7 ng/ml。此等最低含量明顯低於與用於器官移植及癌症患者之給藥方案有關的最低含量。另外，限制為6週之治療療程降低了不良事件之風險。此等發現表明用於此研究中之給藥方案可具有就老年人之一些病狀而言可接受之風險/效益。儘管如此，在本文所描述之實驗中，即使當給藥低至每日0.5 mg時，顯著數量之個體罹患口腔潰瘍。因此，低及免疫增強劑量之RAD001的安全概況保證了進一步研究。與當前可獲得的雷帕黴素類似物相比，具有更清楚的安全概況之mTOR抑制劑的發展可在將來為老化相關之病狀提供更好的治療選項。

實例2：增強老年人個體中之疫苗免疫反應

老年人免疫功能降低導致感染之發生率提高且疫苗接種反應降低。作為測定mTOR抑制是否在人類中具有抗老化作用之第一步驟，如藉由老年志願者對疫苗接種之反應所評定，進行隨機化安慰劑對照試驗來測定mTOR抑制劑RAD001是否逆轉老化相關之免疫功能減退。在所有情況下，獲得適當的專利同意書且研究經國家衛生管理局批准。

在研究中使用以下3種RAD001給藥方案：

每週20 mg (最低含量：0.7 ng/ml)

每週5 mg(最低含量低於偵測極限)

每日0.5 mg(最低含量：0.9 ng/ml)

選擇此等給藥方案是因為其具有與經批准用於移植及腫瘤學病症之RAD001劑量相比更低的最低含量。最低含量為體內藥物之最低含量。與每日10 mg腫瘤學給藥方案有關之RAD001最低含量為大約20 ng/ml。與每日兩次0.75 mg至1.5 mg移植給藥方案有關之最低含量為

大約3 ng/ml。相對地，與吾人之免疫研究中所使用之給藥方案有關的最低含量低3至20倍。

因為RAD001相關之AE與最低含量有關，預計3種給藥方案就標準志願者而言具有足夠的安全性。另外，預計3種劑量產生一系列mTOR抑制。P70 S6激酶(P70 S6K)為被mTOR磷酸化之下游目標。P70 S6K磷酸化水準用作mTOR活性之量度。基於在RAD001之臨床前及臨床研究中所獲得之P70 S6K磷酸化資料之建模及模擬，預計每週20 mg幾乎完全抑制mTOR活性持續一整週，而預計每週5 mg及每日0.5 mg部分抑制mTOR活性。

將年齡 \geq 65歲之老年志願者隨機分成3個RAD001治療組(每組50名個體)或安慰劑組(每組20名個體)中之一者。用研究藥物治療個體6週，提供2週間歇，且隨後接受流感(Agrippal, Novartis)及肺炎球菌(Pneumovax 23, Merck)疫苗接種。在疫苗接種4週之後，藉由流感疫苗中之3種流感病毒株(H1N1、H3N2及B流感亞型)之血球凝集抑制分析，藉由量測幾何平均效價(GMT)來評定流感疫苗接種反應。研究之主要終點為(1)安全性及耐受性及(2)相比於安慰劑，在疫苗接種之後4週2/3之流感疫苗病毒株流感效價增加1.2倍。選擇此終點是因為流感效價增加1.2倍與疫苗接種後流感疾病減少有關，且因此臨床上相關。每週5 mg及每日0.5 mg之劑量為良好耐受的且不同於每週20 mg之劑量，其符合GMT主要終點(圖1A)。在老年志願者中，相比於安慰劑，RAD001不僅提高流感疫苗接種反應，其亦提高肺炎球菌疫苗接種反應。肺炎球菌疫苗含有來自23肺炎球菌血清型之抗原。在吾人之個體中量測7種血清型之抗體效價。相比於安慰劑，在所有3個RAD群組中，6/7種血清型之抗體效價提高。

經組合之流感及肺炎球菌效價資料表明部分(低於80%至100%)mTOR抑制與更完全mTOR抑制相比，對逆轉老化相關之免疫功

能減退更有效。

實例3：較低劑量mTOR抑制提高能量及運動

在臨床前模型中，使用雷帕黴素類似物之mTOR抑制提高老年小鼠中之自發物理活性(Wilkinson等人 Rapamycin slows aging in mice. (2012) Aging Cell; 11:675-82)。相關地，亦報導，在給藥一年之後進行的問卷調查中，相比於安慰劑，在實例2中所描述之每日0.5 mg給藥群組中的個體能量及運動能力提高(圖7)。此等資料表明使用雷帕黴素類似物之部分mTOR抑制除免疫功能外還對老化相關之罹病可具有有利作用。

實例4：使用RAD001之P70 S6激酶抑制

進行建模及模擬以預測預計部分抑制mTOR活性之RAD001之每日及每週劑量範圍。如上文所提到，mTOR使P70 S6K磷酸化且P70 S6K為與老化最緊密相關之mTOR之下游目標，因為基因剔除P70 S6K延長壽命。因此，對部分抑制P70 S6K活性之RAD001之劑量進行建模。預計在 ≥ 0.1 mg且 < 20 mg範圍內之每週給藥實現P70 S6K活性之部分抑制(圖8)。

就每日給藥而言，30 pM至4 nM之RAD001濃度部分抑制細胞株中之P70 S6K活性(表7)。預計用RAD001每日 ≥ 0.005 mg至 <1.5 mg之劑量實現此等血清濃度。

表7：活體外海拉(HeLa)細胞中之P70 S6K活性之抑制百分比

| | | | | | | | |
|------------|---|------|-------|--------|--------|------|-------|
| RAD001濃度 | 0 | 6 pM | 32 pM | 160 pM | 800 pM | 4 nM | 20 nM |
| P70 S6K抑制% | 0 | 0 | 18 | 16 | 62 | 90 | 95 |

結論

使用mTOR抑制劑劑量治療老化相關之罹病或一般增強免疫反應的方法僅僅部分抑制P70 S6K。使用較低劑量之RAD001之部分mTOR抑制在老化病症中之療效為出人意料的發現。在每週 ≥ 0.1 mg至 <20

mg與每日 ≥ 0.005 mg至 < 1.5 mg之間的RAD001劑量範圍將實現部分mTOR抑制且因此預期對老化相關之罹病或增強免疫反應具有療效。

等效物

本文所引用之每一專利、專利申請案及公開案之揭示內容皆以全文引用的方式併入本文中。雖然已參考特定態樣揭示本發明，但顯而易見熟習此項技術者可在不背離本發明之真實精神及範疇的情況下設計本發明之其他態樣及變化。所附申請專利範圍意欲理解為包括所有此類態樣及等效變化。

其他實施例在以下申請專利範圍內。

【符號說明】

無

※ 申請案號：103139447

※ 申請日：103年11月13日

※IPC 分類：A61K 31/436 (2006.01)

A61K 31/4745 (2006.01)

A61K 31/5377 (2006.01)

A61P 37/04 (2006.01)

【發明名稱】

低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑及其用途

LOW, IMMUNE ENHANCING, DOSE mTOR INHIBITORS AND
USES THEREOF

【中文】

本發明部分關於藉由部分mTOR抑制，例如使用低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑(諸如RAD001)，來增強免疫反應的組合物及方法。

【英文】

The present invention relates, in part, to compositions and methods for enhancement of an immune response by partial mTOR inhibition, e.g., with low, immune enhancing, doses of an mTOR inhibitor, such as RAD001.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（1A及1B）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

（無）

在一實施例中，個體患有年齡相關之病狀。在一實施例中，年齡相關之病狀係選自由以下組成之群：肌肉減少症、皮膚萎縮、肌肉萎縮(muscle wasting)、腦萎縮、動脈粥樣硬化、動脈硬化、肺氣腫、骨質疏鬆症、骨關節炎、高血壓、勃起功能障礙、癡呆症、亨廷頓氏病(Huntington's disease)、阿茲海默氏症(Alzheimer's disease)、白內障、年齡相關之黃斑變性、前列腺癌、中風、預期壽命減少、腎功能受損及年齡相關之聽覺損失、年齡相關之行動不便(例如衰弱症)、認知減退、年齡相關之癡呆、記憶障礙、肌腱僵硬、諸如心肥大及收縮及舒張功能障礙之心臟功能障礙、免疫衰老、癌症、肥胖症及糖尿病。

在一實施例中，該方法包含在個體中增強抗原免疫反應。在一實施例中，該方法包含以佐劑組合物或化合物形式向個體提供或投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑，例如RAD001或雷帕黴素。在一實施例中，該方法包含以疫苗形式或與疫苗組合之形式向個體提供或投與低及免疫增強劑量之mTOR抑制劑(例如RAD001或雷帕黴素)及抗原。在一實施例中，抗原為癌症抗原。在一實施例中，抗原為傳染性疾病抗原、病毒性抗原、細菌性抗原、原蟲抗原、微生物抗原、病原性抗原或寄生蟲抗原。在一實施例中，該方法進一步包含向個體投與抗原或疫苗。在一實施例中，在投與步驟之前，該方法包含鑑別抗原免疫反應受損之個體的步驟。

在一實施例中，針對抗原之抗體之相對較低的基線或免疫前水準或效價預計與例如RAD001之mTOR抑制劑相關的針對抗原之抗體效價增加更大。在一實施例中，評估個體在投與抗原或疫苗之前針對抗原之抗體之水準或效價。在一實施例中，評估包含採集(例如直接採集或間接採集)抗體效價或水準之量測值。抗體之效價或水準可與參考值進行比較。相對較低的效價，例如低於或等於參考值之效價指示與例如RAD001之mTOR抑制劑相關的抗體效價增加更大。因此，

15812)。在一些實施例中，由PD-1組成性表現所定義之真實年齡相關之CD4⁺ T細胞群體之群體得到提高，其僅暫時誘發正則T細胞之活化且因此對感染之免疫反應下降(參見例如Shimatani, K等人(2009) PNAS 106 (37):15807-15812)。在一些實施例中，由受體介導性CD8⁺ T細胞活化後提高的PD-1表現所定義之CD8⁺ T細胞群體之群體得到提高(參見例如Nunes, C等人(2012) Clinical Cancer Research 18(3):678-687)。在一些實施例中，老化包含細胞老化，其中細胞不再分裂。在一些實施例中，年齡相關之免疫衰老包含造血幹細胞之原始淋巴細胞產量降低(Chen, Science Signaling, ra75, 2009)。細胞老化與與各細胞分裂一起出現之端粒進行性縮短相關。

術語「年齡相關之病狀」係指在群體中之發生率或在個體中之嚴重程度與年齡進展相關之任何疾病、病症或病理。更特定言之，年齡相關之病狀為在年齡大於60歲的人類個體中之發生率比年齡在30與40之間的人類個體及大於100,000名個體之所選群體中之發病率高至少1.5倍的疾病、病症或病理。在一個態樣中，本發明係關於包括(但不限於)以下病狀之治療：肌肉減少症、皮膚萎縮、肌肉萎縮、腦萎縮、動脈粥樣硬化、動脈硬化、肺氣腫、骨質疏鬆症、骨關節炎、高血壓、勃起功能障礙、癡呆症、亨廷頓氏病、阿茲海默氏症、白內障、年齡相關之黃斑變性、前列腺癌、中風、預期壽命減少、腎功能受損及年齡相關之聽覺損失、年齡相關之行動不便(例如衰弱症)、認知減退、年齡相關之癡呆、記憶障礙、肌腱僵硬、諸如心肥大及收縮及舒張功能障礙之心臟功能障礙、免疫衰老、癌症、肥胖症及糖尿病。

抗原及疫苗

本文所描述之諸如RAD001之mTOR抑制劑可與抗原組合使用以增強個體中之抗原免疫反應。針對本發明之方法及組合物選擇之抗原不限於本發明。抗原可為(但不限於)全細胞、病毒、蛋白質、蛋白質

至每日0.5 mg，或每日約0.1 mg至每日0.5 mg，或每週約0.1 mg至每週20 mg，每週約0.5 mg至每週15 mg，每週約1 mg至每週10 mg，或每週約3 mg至每週7 mg之劑量。在一個態樣中，以每日約0.5 mg或每週約5 mg之劑量投與mTOR抑制劑。在一個態樣中，mTOR抑制劑可為以生物等效於RAD001指定劑量之劑量投與的除RAD001外之mTOR抑制劑。在另一態樣中，本發明係關於藉由投與足以將P70 S6激酶抑制不超過80%之量的mTOR抑制劑來治療個體中之年齡相關之病狀的方法。在另一態樣中，mTOR抑制劑足以將P70 S6激酶抑制不超過38%。在一個態樣中，mTOR抑制劑為RAD001、雷帕黴素、雷帕黴素類似物或此項技術中已知之其他mTOR抑制劑。在另一態樣中，mTOR抑制劑可為兩種或兩種以上mTOR抑制劑之組合。

年齡相關之病狀可為在群體中之發生率或在個體中之嚴重程度與年齡進展相關之任何疾病、病症或病理。更特定言之，年齡相關之病狀為在年齡大於60歲的人類個體中之發生率比年齡在30與40之間的人類個體及大於100,000名個體之所選群體中之發病率高至少1.5倍的疾病、病症或病理。與本發明相關之年齡相關之病狀包括(但不限於)肌肉減少症、皮膚萎縮、肌肉萎縮、腦萎縮、動脈粥樣硬化、動脈硬化、肺氣腫、骨質疏鬆症、骨關節炎、高血壓、勃起功能障礙、癡呆症、亨廷頓氏病、阿茲海默氏症、白內障、年齡相關之黃斑變性、前列腺癌、中風、預期壽命減少、腎功能受損及年齡相關之聽覺損失、年齡相關之行動不便(例如衰弱症)、認知減退、年齡相關之癡呆、記憶障礙、肌腱僵硬、諸如心肥大及收縮及舒張功能障礙之心臟功能障礙、免疫衰老、癌症及糖尿病。

使用本文所描述之mTOR抑制劑治療年齡相關之病狀可為徹底的，例如年齡相關之病狀或代謝病症完全不存在。預防亦可為部分的以使得在個體中發生年齡相關之病狀或代謝病症之似然性與未接受本

申請專利範圍

1. 一種口服且每日一次、約0.1 mg之低及免疫增強劑量之RAD001的用途，其係用於製備促進個體免疫反應的藥物，從而增強或促進免疫反應。
2. 如請求項1之用途，其中該劑量另包含催化mTOR抑制劑。
3. 如請求項1之用途，其中投與該RAD001持續足以使以下一或多者發生之時間量：
 - i) PD-1陽性免疫效應細胞之數目減少；
 - ii) PD-1陰性免疫效應細胞之數目增加；
 - iii) PD-1陰性免疫效應細胞/PD-1陽性免疫效應細胞之比率升高；
 - iv) 原始T細胞之數目增加；
 - v) 以下標識物中之一或多者之表現增加：CD62L^高、CD127^高、CD27⁺及BCL2；
 - vi) KLRG1表現減少；或
 - vii) 記憶T細胞前驅體之數目增加；且其中相較於未經治療之個體，i)、ii)、iii)、iv)、v)、vi)或vii)至少暫時發生。
4. 如請求項1之用途，其中該用途包含抑制由PD-1與PD-L1或PD-L2接合(engagement)所介導之陰性免疫反應。
5. 如請求項1之用途，其中該用途包含增加能夠增殖、具有細胞毒性功能、能夠分泌細胞因子或活化之T細胞之數目。
6. 如請求項1之用途，其中該藥劑之投與使得部分抑制而非完全抑制mTOR至少1、5、10、20、30或60天。
7. 如請求項1之用途，其中RAD001之劑量與至少5%但不超過90%

之mTOR抑制有關，其按p70 S6K抑制所量測出。

8. 如請求項1之用途，其中該藥物係投與至免疫反應受損之個體。
9. 如請求項1之用途，其中該藥物係投與至免疫衰老(immunosenescent)之個體。
10. 如請求項1之用途，其中該藥物之投與包含治療該個體之年齡相關病狀。
11. 如請求項10之用途，其中該年齡相關病狀係選自由以下組成之群：肌肉減少症、皮膚萎縮、肌肉萎縮(muscle wasting)、腦萎縮、動脈粥樣硬化、動脈硬化、肺氣腫、骨質疏鬆症、骨關節炎、高血壓、勃起功能障礙、癡呆症、亨廷頓氏病(Huntington's disease)、阿茲海默氏症(Alzheimer's disease)、白內障、年齡相關之黃斑變性、前列腺癌、中風、預期壽命減少、腎功能受損及年齡相關之聽覺損失、年齡相關之行動不便、認知減退、記憶障礙、肌腱僵硬、心臟功能障礙、免疫衰老、癌症、肥胖症及糖尿病。
12. 如請求項1之用途，其中該藥物係投與至患有傳染性疾病(infectious disease)之個體。
13. 一種組合物，其包含：
 - (a) 疫苗抗原；及
 - (b) 約0.1 mg之RAD001。
14. 如請求項11之用途，其中該年齡相關之行動不便係衰弱症。
15. 如請求項11之用途，其中該癡呆症係年齡相關之癡呆。
16. 如請求項11之用途，其中該心臟功能障礙係心肥大或收縮或舒張功能障礙。
17. 如請求項1之用途，其中該藥物係投與至65歲或更老的個體。