



(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 I873079 B

(45)公告日：中華民國 114 (2025) 年 02 月 21 日

(21)申請案號：105116729

(22)申請日：中華民國 105 (2016) 年 05 月 27 日

(51)Int. Cl. : A61K39/00 (2006.01)

B82Y5/00 (2011.01)

(30)優先權：2015/05/28 歐洲專利局

15305810.2

(71)申請人：法商奈諾生技公司 (法國) NANOBIOTIX (FR)

法國

(72)發明人：瑪瑞爾 茱麗 MARILL, JULIE (FR)；波提爾 安妮斯 (FR)；拉維 洛倫特 LEVY, LAURENT (FR)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

EP 2130553A1

審查人員：吳祖漢

申請專利範圍項數：18 項 圖式數：6 共 50 頁

(54)名稱

作為治療疫苗之奈米顆粒

(57)摘要

本發明係關於人類健康領域，並且更特定言之涉及在對患癌症(特別為轉移癌或者液體癌)的個體進行放射療法的情況下作為治療疫苗之奈米顆粒。

The present invention relates to the field of human health and more particularly concerns nanoparticles for use as a therapeutic vaccine in the context of radiotherapy in a subject suffering of a cancer, in particular of a metastatic cancer or of a liquid cancer.

指定代表圖：

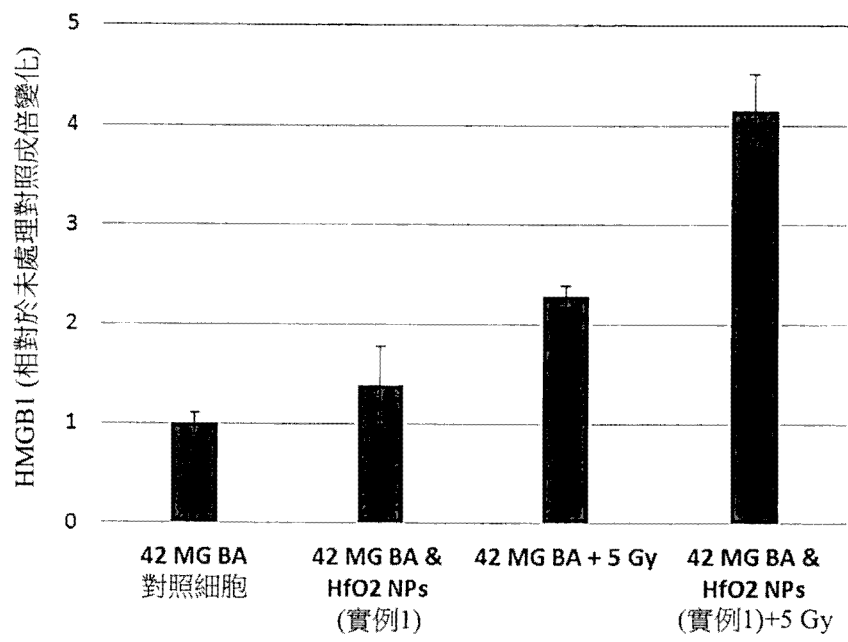


圖1

I873079

發明摘要

※ 申請案號：105116729

※ 申請日：105年5月27日

※IPC 分類：

【發明名稱】

作為治療疫苗之奈米顆粒

NANOPARTICLES FOR USE AS A THERAPEUTIC VACCINE

【中文】

本發明係關於人類健康領域，並且更特定言之涉及在對患癌症(特別為轉移癌或者液體癌)的個體進行放射療法的情況下作為治療疫苗之奈米顆粒。

【英文】

The present invention relates to the field of human health and more particularly concerns nanoparticles for use as a therapeutic vaccine in the context of radiotherapy in a subject suffering of a cancer, in particular of a metastatic cancer or of a liquid cancer.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（1）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）

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】

作為治療疫苗之奈米顆粒

NANOPARTICLES FOR USE AS A THERAPEUTIC VACCINE

【技術領域】

本發明係關於人體健康領域，並且更特定言之涉及在對患癌症(特別為轉移癌或者液體癌)的個體進行放射療法的情況下作為治療疫苗，治療疫苗組合物或者包括在組合物中的奈米顆粒。其用途在本文中描述的奈米顆粒由密度為至少 7 g/cm^3 並且原子序數(Z)為至少25之材料組成。每一奈米顆粒覆蓋有生物相容塗層，以提供其在生理流體中於pH 6.5與pH 7.5之間的穩定性。相較於僅使用放射療法獲得的癌細胞破壞，該等奈米顆粒當被照射時，由於對個體自身免疫系統的最佳化刺激而能夠促進對癌細胞的破壞，特別係對於患轉移癌的個體，較佳地對於患轉移癌並且經受姑息性放射療法的個體，對於(治癒性)放射療法已被放棄的患轉移癌的個體，對於患(習知上)並非藉由放射療法治療的癌症的個體，以及對於患液體癌的個體。由於本發明，向放射療法情況下，較佳地分次放射療法情況下的個體投與的照射劑量在癌細胞破壞方面為顯著更有效的，而不會更不利地影響周圍的健康組織。本發明此外亦揭示了新的組合物及套組，以及其用途。

【先前技術】

癌症為全世界的死亡主要原因，其在2012年導致820萬人死亡。預計每年癌症病例將在接下來的二十年內從2012年的1400萬上升至2200萬(WHO)。癌症可經由淋巴途徑或者血原性途徑局部生長及/或全身擴散。

手術、放射療法及醫藥品，特別係化學治療藥物，在癌症治療中為至關重要的，其中之每一者可單獨或組合使用，以取決於所治療癌症的類型來解決有染上疾病風險的所有位點。為了治療惡性腫瘤，必須在局部及全身性兩個層級進行控制。

雖然近年來在一些惡性腫瘤的偵測及治療方面取得了進展，但是轉移性腫瘤仍然係常見的並且占癌症死亡之大約80-90%。用於大部分癌症患者之轉移性疾病的標準療法為全身性細胞毒性化療及激素剝奪(hormonal deprivation) (Dhara M. MacDermed等人，《外科腫瘤學雜誌(Journal of Surgical Oncology)》，2008)。存在對用於治療患轉移癌之患者的新穎治癒性療法的迫切需要。

一些特定的腫瘤/癌症具有擴散至所選器官中的親和力。最常見的轉移性腫瘤位點為肺(例如，當原發性癌為肉瘤時)、肝(例如，當原發性癌為胃腸癌時)、骨(例如，當原發性癌為乳腺癌或者前列腺癌時)以及腦(例如，當原發性癌為肺癌、腎癌或者黑素瘤時)。

放射療法為第二大最常用的癌症療法，優於醫藥品，估計所有初診癌症患者中一半的患者在其疾病進程中的一些時點處接受放射療法。放射療法使用高能粒子或波，諸如X射線、 γ 射線、電子束或者質子，來破壞或者損傷癌細胞。

局部電離輻射之治療用途已經很大程度上受設計用來實現有效清除癌細胞之目標的策略引導。放射療法作為單獨的治療方法可提供器官功能保存的可能性，諸如在膀胱癌及喉癌的情況下。作為輔助療法，放射療法當在手術前給予時可促進切除，或者當在手術後給予時治療微小殘留疾病，諸如在乳房腫瘤切除保乳術(breast-conserving lumpectomy)後的治療。新發展為使用身體立體定位放射治療(SBRT)來切除寡轉移性疾病位點。SBRT使得能夠使用單次或者很少次數的高劑量放射(一般在5 Gy與25 Gy之間)進行對癌症的高度局部性治

療。寡轉移狀態的存在係基於純局部病變與彼等廣泛轉移瘤之間的中間體。一般在1直至5之間，例如1、2、3、4或者5處轉移性病灶或者轉移性病變考慮使用SBRT (Dhara M. MacDermed等人，《外科腫瘤學雜誌(Journal of Surgical Oncology)》，2008；Ralph R. Weichselbaum，《自然評論:臨床腫瘤學(Nat. Rev. Clin. Oncol.)》，2011)。

然而，具有多個遠處轉移性病灶(一般多於5個，較佳地多於6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20個)的轉移性惡性腫瘤與不良預後有關(Ralph R. Weichselbaum，《自然評論:臨床腫瘤學(Nat. Rev. Clin. Oncol.)》，2011)。

腫瘤學家通常不認為患有廣泛性全身性疾病的患者(表現出多個轉移性病灶的患者亦被標識為「多轉移性」患者)可藉由當前的區域性治療如放射療法來治癒。另一方面，姑息性放射療法用於減輕症狀並且與作為治癒性治療遞送的放射療法不同(Sonam Sharma等人，《腫瘤學研討(Seminars in Oncology)》，2014)。姑息性放射療法為一種用於源於局部進展性或轉移性腫瘤的多種症狀，甚至用於具有短預期壽命的患者的有效療法(Sonam Sharma等人，《腫瘤學研討(Seminars in Oncology)》，2014)。在此，放射療法可為一種用於疼痛、神經系統症狀、緩減梗阻症狀(諸如，膽管梗阻或者尿路梗阻)以及緩減出血或潰瘍性病變的有效療法。姑息性放射療法亦可用於幫助維持可能受到影響並且變得有症狀的區域中的局部腫瘤控制。姑息性放射療法中的典型劑量分次方案如下：

-1×8 Gy，5-6×4 Gy，10×3 Gy，用於不複雜的骨轉移癌並且持續1天至2週；

-5×4 Gy；10×3 Gy，15×2.5 Gy，用於全腦放射療法並且持續1至3週；

-2×7.5-8.5 Gy，10×3 Gy，15×2.5 Gy，用於引起氣道梗阻、上腔

靜脈綜合征的進展性肺癌並且持續1至3週；

-1×8-10 Gy，5×4 Gy，10×3 Gy，15-30×2-3 Gy，用於引起疼痛、梗阻、出血症狀的髒轉移性癌並且持續1天至6週；

-1-5×6-24 Gy，通常為具有良好體力狀態的患者保留的立體定向放射療法，具有預期的長期預後及/或具有較少的轉移性病灶並且持續1至5天(Sonam Sharma等人，《腫瘤學研討(Seminars in Oncology)》，2014，表3)。

此外，可獲得的證據表明，臨床治療劑量的局部輻射引起對先天免疫系統及適應性免疫系統的一定活化。輻射已經表現為誘導免疫原性細胞死亡(ICD)，從而潛在地將腫瘤轉化成原位疫苗，特別表徵為促進樹突狀細胞對垂死細胞的攝取，來源於腫瘤的抗原至T細胞的交叉呈遞以及對抗腫瘤T細胞之活化的三種分子信號，對抗腫瘤T細胞的活化包括活化細胞毒素CD8⁺ T細胞：使腫瘤細胞表面上的鈣網伴護蛋白暴露，釋放高遷移率族蛋白B1 (HMGB1)，以及釋放ATP (Oliver Kepp等人，《腫瘤免疫學(Oncoimmunology)》，2014)。

亦已知，腫瘤對輻射的反應包括DNA損傷並且感測到來源於腫瘤的DNA可觸發IFN產生並且產生抗腫瘤T細胞對免疫原性腫瘤的應答(參見例如Theresa L. Whiteside等人，2016)。

輻射為腫瘤微環境的複合調節劑並且其本身遠不足以誘導治療上有意義的抗腫瘤免疫應答，因為其亦可不利地活化免疫抑制路徑。經歷ICD的腫瘤細胞比例及輻射後腫瘤微環境的改變為可變的。此平衡之結果最終確定了輻射將垂死癌細胞轉變成有效原位疫苗之能力 (Sandra Demaria及Silvia C. Formenti，2012)。

輻射與免疫治療劑之組合已經報導為刺激免疫應答。細胞因子[白細胞介素-2 (IL2)及干擾素- α (IFN α)]已經用作治療途徑達數十年。現在，許多用於克服腫瘤免疫逃避的策略尚有待評估。處於臨床評估

中的免疫治療途徑的實例包括：(1)用於T細胞活化路徑的T細胞調定點阻滯劑或促效劑，(2)新穎的細胞因子如IL12及IL15，(3)治療疫苗，(4)清除免疫抑制細胞，以及(5)設計用來增強免疫細胞功能的其他試劑及途徑(Scott J. Antonia等人，2014；Theresa L. Whiteside等人，2016)。

然而，產生有效治療疫苗仍然係困難及具挑戰性的。為了為有效的，癌症治療疫苗必須實現兩個目標。第一，其必須刺激對正確靶細胞(亦即，癌細胞)之特定免疫應答。第二，免疫應答必須強到足以克服該等細胞用來保護自身免受宿主免疫系統(一般為B細胞及天然殺傷T細胞)攻擊的阻擋。

【發明內容】

本發明人現在本文中描述了奈米顆粒及/或奈米顆粒聚集體作為治療疫苗、治療疫苗組合物或者包括在組合物(其一般為治療組合物，特別為疫苗組合物)中對患癌症並且暴露於放射療法的個體的有利用途。奈米顆粒及/或奈米顆粒聚集體以及包含奈米顆粒及/或奈米顆粒聚集體的組合物一般用於治療癌症。此類奈米顆粒與放射療法之組合顯著地增強宿主的抗癌症免疫應答並且最佳化整體治療，特別係在包含至少一次照射步驟的分次放射療法情況下，其中電離輻射劑量在1.8至30戈瑞(Gy)，較佳地1.8至20戈瑞(Gy)，典型地2至15戈瑞(Gy)的範圍內。本發明由於技術所允許的遠位效應而特別有效地針對當癌症已經進化成廣泛性全身疾病(如上文所定義)時的轉移性癌，並且針對液體癌，並且促成完全及持久的抗腫瘤活性。

遠位效應為在轉移性癌治療中觀測到的現象，其中對特定腫瘤位點的局部化照射引起遠離照射區(irradiated volume)的位點處的反應。放射療法可幫助逆轉對弱免疫原性腫瘤相關抗原的耐受性，從而引起抗癌免疫應答。然而，當僅使用放射療法時，遠位效應已經保留

為稀少的臨床事件。Kobe Reynders等人報導了1973年與2013年之間的23起放射療法後遠位效應臨床病例(Kobe Reynders等人,《癌症治療評論(Cancer Treatment Review)》, 2015)。

由於本發明, 局部照射能夠引起相較於單獨的放射療法持久的抗腫瘤應答的發展, 從而增強對腫瘤的局部及全身性控制。

本文中由本發明人首次提供的實例表明, 當使用奈米顆粒及/或奈米顆粒聚集體作為治療疫苗時由垂死癌細胞[在本文中測試的癌細胞株包括放射敏感性細胞株(諸如人結直腸HCT 116癌細胞株)及抗輻射細胞株(諸如人膠質母細胞瘤42 MG BA細胞株或者人胰腺PANC-1癌細胞株)]誘導的損傷關聯的分子模式(DAMP)之體外擴增。

最受關注的是, 相較於單獨的放射療法, 用以本發明之奈米顆粒及/或奈米顆粒聚集體處理過並且經體外照射的小鼠結直腸CT-26癌細胞對免疫活性小鼠進行疫苗接種顯著地預防當動物用健康/活CT-26癌細胞激發7天後的腫瘤形成。此類結果驚人地表明, 本發明之奈米顆粒與放射療法的組合放大免疫應答並且將垂死癌細胞轉變成針對癌細胞的有效疫苗。

在較佳態樣中, 本文描述的本發明產品(奈米顆粒及/或奈米顆粒聚集體, 以及包含此類奈米顆粒及/或奈米顆粒聚集體的組合物)較佳地用於選自以下的個體: 患轉移癌並且經受姑息性放射療法的個體, (治癒性)放射療法已被放棄的患轉移癌的個體, 患(習知上)並非藉由放射療法治療的癌症的個體, 以及患液體癌的個體, 並且較佳地用於選自以下的個體: 患轉移癌並且經受姑息性放射療法的個體, (治癒性)放射療法已被放棄的患轉移癌的個體, 以及患液體癌的個體。

患轉移癌的個體一般為如本文所定義的具有許多遠端轉移病灶的患癌症的個體, 該癌症一般已經進化成廣泛性全身疾病。具有許多遠端轉移病灶的個體在本文中亦被辨識為「多轉移性」個體或患者。

因此在本文中描述了作為治療疫苗之奈米顆粒及/或奈米顆粒聚集體，或者用於製備在包含至少一次照射步驟的分次放射療法情況下用於(一般用於治療癌症)患癌症(一般為轉移癌[轉移癌在本文中被典型地定義為涉及許多/眾多遠端轉移病灶並且一般視為與廣泛性全身疾病相關聯]，(習知)並非藉由放射療法治療的癌症，或者液體癌)的個體的治療組合物(一般為疫苗組合物)的奈米顆粒及/或奈米顆粒聚集體，其中電離輻射量在1.8至30戈瑞(Gy)，較佳地1.8至20戈瑞(Gy)，典型地2至15戈瑞(Gy)的範圍內，並且其中各奈米顆粒由密度為至少7 g/cm³並且原子序數(Z)為至少25的材料組成，並且各奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體覆蓋有生物相容塗層，以提供奈米顆粒在生理流體中於pH 6.5與7.5之間的穩定性。

奈米顆粒及/或奈米顆粒聚集體典型地用於治療癌症，較佳地用於所選個體/患者的群體，典型地用於患轉移癌並且經受姑息性放射療法的個體，(治癒性)放射療法已被放棄的患轉移癌的個體，患(習知上)並非藉由放射療法治療的癌症的個體，以及患液體癌的個體。

本文亦揭示了用於在放射療法的情況下，較佳地在分次放射療法的情況下，治療患癌症(典型地為轉移癌(特定言之為其中癌症已經進化成廣泛性全身疾病的轉移癌)或者液體癌)個體的癌症之疫苗組合物。

典型的組合物為包含奈米顆粒及/或奈米顆粒聚集體的疫苗組合物，該疫苗組合物較佳地用於治療患轉移癌並且經受姑息性放射療法的個體，(治癒性)放射療法已被放棄的患轉移癌的個體，患(習知上)並非藉由放射療法治療的癌症的個體，以及患液體癌的個體的癌症，其中治療包含使個體暴露於包含至少一次照射步驟的分次放射療法，其中電離輻射劑量在1.8至30戈瑞(Gy)，較佳地1.8至20戈瑞(Gy)的範圍內，並且其中各奈米顆粒由密度為至少7 g/cm³並且原子序數(Z)為

至少25的材料組成，並且各奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體覆蓋有生物相容塗層，以提供奈米顆粒在生理流體中於pH 6.5與7.5之間的穩定性。

疫苗組合物包含如本文所描述的較佳地與醫藥學上可接受的載體或媒劑一起使用的奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體。特定的疫苗組合物進一步包含至少一種免疫治療劑及視情況用於治療癌症的治療劑。

本文亦描述了奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體或者如本文所定義的治療組合物在治療個體，較佳地所選個體/患者群體，典型地患轉移癌並且經受姑息性放射療法的個體，(治癒性)放射療法已被放棄的患轉移癌的個體，患(習知上)並非藉由放射療法治療的癌症的個體，以及患液體癌的個體的癌症方面的用途，以及用於治療需要治療的個體之癌症的對應方法，該方法包含向該個體投與奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體或者如本文所定義的治療組合物之步驟。

本文亦提供了套組，典型地為疫苗套組，該套組包含：(i)如本文所描述的奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體，或者包含此類奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體的組合物，以及較佳地(ii)至少一種用於治療癌症的免疫治療劑及/或治療劑。

【圖式簡單說明】

圖1：用來源於實例1的HfO₂奈米顆粒(NP)懸浮液處理或者未處理過並且暴露於或者未暴露於放射療法(單次遞送5 Gy)的細胞的濃縮細胞上清液中釋放的HMGB1報導為相較於未經處理的對照的倍數變化。

圖2：用來源於實例1的HfO₂奈米顆粒(NP)懸浮液處理或者未處理過並且暴露於或者未暴露於放射療法(單次遞送10 Gy)的細胞的濃縮細胞上清液中釋放的HMGB1報導為相較於未經處理的對照的倍數變化。

圖3：用來源於實例1的HfO₂奈米顆粒(NP)懸浮液處理或者未處理過並且暴露於或者未暴露於單次遞送的放射療法的細胞的細胞上清液中釋放的HMGB1報導為相較於未經處理的對照的倍數變化。A)癌細胞株為HCT 116人結直腸細胞株並且照射劑量對應於4 Gy及6 Gy；B)癌細胞株為42 MG BA人膠質母細胞瘤細胞株並且照射劑量對應於10 Gy及15 Gy；C)癌細胞株為PANC-1人胰腺細胞株並且照射劑量對應於8 Gy。

眾所周知為體外地調節劑量(以單次遞送)以適應癌細胞之放射敏感性。放射敏感的癌細胞株如HCT 116細胞株相較於更抗放射的癌細胞株(諸如42 MG BA及PANC-1細胞株)可接受更低的輻射劑量。在體外觀測到的DAMP產生之增長預期增強的體內免疫應答。

圖4：用來源於實例1的HfO₂奈米顆粒(NP)懸浮液處理或者未處理過並且暴露於或者未暴露於放射療法(單次遞送6 Gy)的HCT 116癌細胞的ATP分泌報導為相較於未經處理的對照的倍數變化。

圖5：用小鼠結直腸CT-26細胞株在免疫活性小鼠體內執行的疫苗接種測定方案之圖式，呈現了三個群組，群組1 (對照群組)，群組2 (照射群組：單次遞送6 Gy)及群組3 (來自實例1暴露於照射的HfO₂ NP：單次遞送6 Gy)的注射時間表。

圖6：疫苗接種測定方案，其中群組1 (對照)、群組2 (RTx，6 Gy)及群組3 (HfO₂ NP實例1 + RTx，6 Gy)的無腫瘤小鼠百分比被表示為疫苗接種後天數的函數。

【實施方式】

放射療法

奈米顆粒及/或奈米顆粒聚集體以及包含此類奈米顆粒及/或奈米顆粒聚集體的任何組合物在本文中被描述為作為用於放射療法情況下患癌症，特別為轉移癌，較佳地其中癌症已經進化成廣泛性全身疾病

的轉移癌，或者液體癌的個體，亦即已經向其投與奈米顆粒並且其隨後暴露於放射療法的個體的治療組合物或者疫苗(組合物)。換言之為了變得可用作治療疫苗，將奈米顆粒暴露於電離輻射，此意謂其與放射療法組合使用。

已經進化成廣泛性全身疾病的癌症典型地涉及多個遠端轉移病灶，典型地多於5個，較佳地多於6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20個轉移病灶，並且時常與不良預後相關聯(參看Ralph R. Weichselbaum, 《自然評論：臨床腫瘤學(Nat. Rev. Clin. Oncol.)》，2011)。除了與該癌症相關聯的轉移性病變/位點以外，患此類癌症的個體亦可包含其他癌細胞位點/病變，該等其他癌細胞位點/病變為與不同的原發癌/腫瘤相關聯的原發及/或轉移癌病變。

本文描述的特定組合物為包含奈米顆粒及/或奈米顆粒聚集體的疫苗組合物，該疫苗組合物用於治療患轉移癌並且經受姑息性放射療法的個體，放射療法已被放棄(典型地已經作為(全身性)治癒性治療被放棄)的患轉移癌的個體，患(習知上/傳統上)並非藉由放射療法治療的癌症的個體，以及患液體癌的個體的癌症，其中治療包含使個體暴露於包含至少一次照射步驟的分次放射療法，其中電離輻射劑量在1.8至30戈瑞(Gy)，較佳地1.8至20戈瑞(Gy)的範圍內，並且其中各奈米顆粒由密度為至少7 g/cm³並且原子序數(Z)為至少25的材料組成，並且各奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體覆蓋有生物相容塗層，以提供奈米顆粒在生理流體中於pH 6.5與7.5之間的穩定性。

在本發明的情況中，個體或者患者為哺乳動物。在特定實施例中，哺乳動物為人類，而不論其年齡或性別如何。個體患有癌症。

可能受益於本發明的較佳個體典型地患有固體癌或者液體癌。

在特定態樣中，個體患傳統上用放射療法治療或者其中放射療

法為傳統治療或者為最適用於特定個體的治療，或者其中放射療法可被指示的癌症。

在另一特定及較佳態樣中，將受益於本發明的個體為患其中放射療法不被視為治療選項(或者換言之不被視為該所認為個體的習知治療或可能的治癒治療，或者僅用於一個或者一些，典型地少於五個癌細胞位點/病變，該等病變為個體體內存在的眾多癌細胞位點/病變之中的轉移性或者原發癌病變)或者不再被視為(治癒性)治療選項，典型地當個體處於姑息療法下或者當放射療法被放棄時的癌症的個體。當處於姑息療法下時，個體仍然暴露於放射療法，但是該放射療法不再能被視為治癒性放射療法。

在此情況下，個體較佳地為患具有許多/眾多及遠端轉移病灶(亦即，廣泛轉移病灶)，典型地多於5個，較佳地多於6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20個轉移性病灶之轉移癌的個體，如先前所述。

換言之，本發明之奈米顆粒及/或奈米顆粒聚集體，當暴露於電離輻射時，能夠向對於其放射療法不被腫瘤學家視為治癒性治療的患者群體提供解決方案。

本發明現向此類特定個體提供治癒性癌症治療選項。

可能受益於本發明之患癌症的典型個體選自：患轉移癌並且經受姑息性放射療法的個體，(治癒性)放射療法已被放棄的患轉移癌的個體，患(習知上/傳統上)並非藉由放射療法治療的癌症的個體，以及患液體癌的個體。較佳地，該個體選自：患轉移癌並且經受姑息性放射療法的個體，(治癒性)放射療法已被放棄的患轉移癌的個體，以及患液體癌的個體。

在本領域中並且在本發明的上下文中，術語「治癒性治療」或「治癒性療法」係指向待治療的受試者提供用於治療其受影響的癌

症，亦即用於全身性地治療該個體[原發腫瘤以及相應轉移性病變]的治癒性解決方案的治療或者療法，特別為「放射療法」。

亦如熟習此項技術者已知，姑息性放射療法用於減輕症狀並且與放射療法(亦即，作為治癒性治療(在本文中亦被標識為「治癒性放射療法」)遞送的放射療法)不同。實際上，姑息性放射療法被熟習此項技術者視為用於治療由局部進展或者轉移性腫瘤誘導的許多症狀，甚至用於具有短壽命預期的患者的有效治療。

典型地，轉移癌影響(i)結締組織並且較佳地選自纖維肉瘤、黏液肉瘤、脂肪肉瘤、軟骨肉瘤、骨肉瘤、脊索瘤、惡性纖維組織細胞瘤；(ii)內皮或者間皮組織並且較佳地選自血管內皮瘤、血管肉瘤、淋巴管肉瘤以及間皮細胞瘤；(iii)肌肉組織並且較佳地選自平滑肌肉瘤及橫紋肌肉瘤；(iv)上皮組織並且較佳地選自腺癌、鱗狀細胞癌及表皮樣癌；(v)神經組織並且較佳地選自多形神經膠母細胞瘤、神經膠質瘤、神經母細胞瘤、髓母細胞瘤、腦膜瘤、神經纖維肉瘤及神經鞘瘤；以及(vi) APUD系統並且較佳地選自甲狀腺癌、胰腺癌、胃癌以及腸癌。在另一較佳實施例中，轉移癌為黑素瘤。

轉移癌可為或者可來源於選自例如以下的癌症：皮膚癌、中樞神經系統癌、頭頸癌、肺癌、腎癌、乳癌、胃腸癌(GIST)、前列腺癌、肝癌、結腸癌、直腸癌、肛門癌、食道癌、男性泌尿生殖系統癌、婦科癌症、腎上腺及腹膜後癌、骨及軟組織之肉瘤、兒科癌症、神經母細胞瘤、中樞神經系統癌症以及尤文氏肉瘤(Ewing's sarcoma)。

通常，液體癌影響血液或者淋巴細胞組織。其一般選自白血病、骨髓瘤以及淋巴瘤。

個體可具有腫瘤。在本揭示案中除非另作說明，否則該腫瘤為惡性腫瘤。

在另一個實施例中，個體患有其中由腫瘤學家指示放射療法的液體癌(例如淋巴瘤)。

較佳地，個體將暴露於的放射療法為分次放射療法，有利地為包含至少一次照射步驟(在本文中亦被標識為「分次治療」)，通常若干照射步驟的分次放射療法，其中每次照射步驟中電離輻射劑量在1.8至30戈瑞(Gy)，較佳地1.8至20戈瑞(Gy)，較佳地1.8至15戈瑞(Gy)的範圍內。

在分次放射療法之情況下，電離輻射總劑量被劃分成持續若干天的時段的若干更小劑量。此最大化放射對癌症的影響並且最小化放射對健康細胞的不良副作用。典型的分次方案將總劑量劃分成在6週期間每個工作日遞送的30個單元/部分，但是當前的研究正考慮加速分次之益處(每天2次遞送及/或亦在週末遞送)。

術語「電離輻射」係指能夠使原子或分子離子化的高能顆粒或波。離子化能力取決於個別顆粒或者波之能量，而非取決於其數目。在大部分情形中，若個別顆粒或者波不夠高能，則大量顆粒或者波將無法引起電離。典型的電離輻射為其能量為至少1.8 KeV的輻射。

在一個較佳實施例中，每一照射步驟中的電離輻射劑量選自每次治療1.8、2、2.2、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5、10、11、12、13、14、15、20、25以及30 Gy。該電離輻射劑量較佳地選自每次治療1.8、2、2.4、2.5、3、3.2、3.6、4、4.5、5、5.5、6、7、8、10、15、20、25以及30 Gy，甚至更較佳地選自2、3、5、6、7、8、10、15、20、25以及30 Gy。

較佳的分次放射療法可選自：25次，每次2 Gy (總計：50 Gy)；30次，每次2 Gy (總計：60 Gy)；35次，每次2 Gy (總計：70 Gy)；40

次，每次2 Gy (總計：80 Gy)；5次，每次3 Gy (總計：15 Gy)；10次，每次3 Gy (總計：30 Gy)；15次，每次3 Gy (總計：45 Gy)；20次，每次3 Gy (總計：60 Gy)；25次，每次3 Gy (總計：75 Gy)；3次，每次4 Gy (總計：12 Gy)；5次，每次4 Gy (總計：20 Gy)；8次，每次4 Gy (總計：32 Gy)；10次，每次4 Gy (總計：40 Gy)；15次，每次4 Gy (總計：60 Gy)；20次，每次4 Gy (總計：80 Gy)；2次，每次5 Gy (總計：10 Gy)；3次，每次5 Gy (總計：15 Gy)；4次，每次5 Gy (總計：20 Gy)；5次，每次5 Gy (總計：25 Gy)；6次，每次5 Gy (總計：30 Gy)；8次，每次5 Gy (總計：40 Gy)；10次，每次5 Gy (總計：50 Gy)；1次，每次6 Gy (總計：6 Gy)；2次，每次6 Gy (總計：12 Gy)；3次，每次6 Gy (總計：18 Gy)；4次，每次6 Gy (總計：24 Gy)；5次，每次6 Gy (總計：30 Gy)；6次，每次6 Gy (總計：36 Gy)；10次，每次6 Gy (總計：60 Gy)；1次，每次7 Gy (總計：7 Gy)；2次，每次7 Gy (總計：14 Gy)；3次，每次7 Gy (總計：21 Gy)；4次，每次7 Gy (總計：28 Gy)；5次，每次7 Gy (總計：35 Gy)；1次，每次8 Gy (總計：8 Gy)；2次，每次8 Gy (總計：16 Gy)；3次，每次8 Gy (總計：24 Gy)；4次，每次8 Gy (總計：32 Gy)；5次，每次8 Gy (總計：40 Gy)；1次，每次9 Gy (總計：9 Gy)；2次，每次9 Gy (總計：18 Gy)；3次，每次9 Gy (總計：27 Gy)；4次，每次9 Gy (總計：36 Gy)；5次，每次9 Gy (總計：45 Gy)；1次，每次10 Gy (總計：10 Gy)；2次，每次10 Gy (總計：20 Gy)；3次，每次10 Gy (總計：30 Gy)；4次，每次10 Gy (總計：40 Gy)；1次，每次15 Gy (總計：15 Gy)；2次，每次15 Gy (總計：30 Gy)；3次，每次15 Gy (總計：45 Gy)；4次，每次15 Gy (總計：60 Gy)；1次，每次20 Gy (總計：20 Gy)；2次，每次20 Gy (總計：40 Gy)；3次，每次20 Gy (總計：60 Gy)；1次，每次25 Gy (總計：25 Gy)；2次，每次25 Gy

(總計：50 Gy)；3次，每次25 Gy (總計：75 Gy)；1次，每次30 Gy (總計：30 Gy)；以及2次，每次30 Gy (總計：60 Gy)。

在特別較佳的態樣中，個體為患轉移癌並且經受姑息性放射療法的個體，放射療法已被放棄的患轉移癌的個體，或者患並非藉由放射療法治療的癌症的個體，並且該分次放射療法選自：1次，每次6 Gy (總計：6 Gy)；2次，每次6 Gy (總計：12 Gy)；3次，每次6 Gy (總計：18 Gy)；4次，每次6 Gy (總計：24 Gy)；5次，每次6 Gy (總計：30 Gy)；1次，每次7 Gy (總計：7 Gy)；2次，每次7 Gy (總計：14 Gy)；3次，每次7 Gy (總計：21 Gy)；4次，每次7 Gy (總計：28 Gy)；1次，每次8 Gy (總計：8 Gy)；2次，每次8 Gy (總計：16 Gy)；3次，每次8 Gy (總計：24 Gy)；4次，每次8 Gy (總計：32 Gy)；1次，每次9 Gy (總計：9 Gy)；2次，每次9 Gy (總計：18 Gy)；3次，每次9 Gy (總計：27 Gy)；1次，每次10 Gy (總計：10 Gy)；2次，每次10 Gy (總計：20 Gy)；3次，每次10 Gy (總計：30 Gy)；1次，每次15 Gy (總計：15 Gy)；2次，每次15 Gy (總計：30 Gy)；1次，每次20 Gy (總計：20 Gy)；2次，每次20 Gy (總計：40 Gy)；1次，每次25 Gy (總計：25 Gy)；以及1次，每次30 Gy (總計：30 Gy)。

奈米顆粒

在本發明之上下文中使用的奈米顆粒有利地由密度為至少7 g/cm³並且原子序數(Z)為至少25之材料組成。奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體覆蓋有生物相容塗層，以提供該奈米顆粒在生理流體中於pH 6.5與pH 7.5之間的穩定性。

在本發明之精神內，術語「奈米顆粒」係指粒徑在奈米範圍內，典型地在1 nm與500 nm之間的产品，特別為合成產物。

術語「奈米顆粒團聚體」係指奈米顆粒強有力地，典型地共價結合至彼此之聚集體。

穿透電子顯微術(TEM)可用於量測奈米顆粒之粒徑。又，動態光散射(DLS)可用於量測溶液中之奈米顆粒之流體動力學直徑。該兩種方法亦可相繼使用以比較粒徑量測值並且確定該粒徑。較佳的方法為DLS (參看國際標準ISO22412粒徑分析-動態光散射，國際標準化組織(ISO) 2008)。如本文所定義的奈米顆粒之最大尺寸典型地在約4 nm與約250 nm之間，較佳地在約4 nm或者10 nm與約100 nm或者約200 nm之間，甚至更較佳地在約20 nm與約150 nm之間。

因為顆粒之形狀可影響其「生物相容性」，具有非常均勻形狀的顆粒為較佳的。出於藥物動力學原因，基本上球形、圓形或者卵形的奈米顆粒由此為較佳的。此類形狀亦促成奈米顆粒與細胞之相互作用或細胞對奈米顆粒之攝取。球形的或者圓形為特別較佳的。

典型地，最大尺寸為圓形或者球形之奈米顆粒的直徑，或者卵形或者橢圓形奈米顆粒之最長長度。

組合物中存在的奈米顆粒之無機材料較佳地具有至少7之理論密度(體積密度)並且可選自表現出此性質的任何材料，並且在《物理化學手冊(Handbook of Chemistry and Physics)》中第4-43頁上出現的無機化合物物理常數表格中標記(David R. Lide主編，第88版，2007-2008)。

構成該奈米顆粒的無機材料較佳地為有效原子序數(Z_{eff})為至少25，較佳地至少40或41，更較佳地至少50或51，更較佳地至少60、61、62或者甚至63的材料。

有效原子序數為類似於原子序數但是用於不同材料(諸如，組織及骨)之化合物(例如，水)及混合物而非原子的術語。有效原子序數計算多種材料之化合物或者混合物之平均原子序數。其被縮寫為 Z_{eff} 。

有效原子序數係藉由獲取化合物中每一原子之分數比例並且將彼分數比例乘以該原子之原子序數來計算的。有效原子序數 Z_{eff} 之方

程式如下：

$$Z_{eff} = \sqrt[2.94]{f_1 \times (Z_1)^{2.94} + f_2 \times (Z_2)^{2.94} + f_3 \times (Z_3)^{2.94} + \dots}$$

其中

f_n 為與每一元素相關聯之電子總數的分數，並且

Z_n 為每一元素之原子序數。

原子序數(亦稱為質子數)為原子之原子核中存在的質子數。其傳統上由符號 Z 表示。原子序數唯一地標識化學元素。在中性電荷之原子中，原子序數等於電子數。

一個實例為由兩個氫原子($Z=1$)及一個氧原子($Z=8$)組成的水(H_2O)之原子序數。電子總數為 $1+1+8=10$ 。對應於兩個氫之電子分數為 $2/10$ 並且對應於唯一的氧之電子分數為 $(8/10)$ 。水之 Z_{eff} 因此為：

$$Z_{eff} = \sqrt[2.94]{0.2 \times 1^{2.94} + 0.8 \times 8^{2.94}} = 7.42$$

Z_{eff} 與奈米顆粒之入射輻射吸收能力有關。

構成奈米顆粒的無機材料典型地選自氧化物、金屬、硫化物，及其任意混合物。

當構成奈米顆粒之無機材料為氧化物時，此氧化物有利地選自氧化鈾(IV)(CeO_2)、氧化釹合金(III)(Nd_2O_3)、氧化釷(III)(Sm_2O_3)、氧化鎔(III)(Eu_2O_3)、氧化釷(III)(Gd_2O_3)、氧化錒(III)(Tb_2O_3)、氧化鐿(III)(Dy_2O_3)、氧化釹(Ho_2O_3)、氧化鉕(Er_2O_3)、氧化鐳(III)(Tm_2O_3)、氧化鐿(Yb_2O_3)、氧化鐳(Lu_2O_3)、氧化鈪(IV)(HfO_2)、氧化鉭(V)(Ta_2O_5)、氧化錒(IV)(ReO_2)、氧化鉍(III)(Bi_2O_3)。在本發明之上下文中，無機氧化物之混合物亦可用於製備本發明之奈米顆粒。

當構成奈米顆粒的無機材料為金屬時，此金屬有利地選自金(Au)、銀(Ag)、鉑(Pt)、鈀(Pd)、錫(Sn)、鉭(Ta)、鐿(Yb)、鋯(Zr)、鈪(Hf)、錒(Tb)、鐳(Tm)、鈾(Ce)、鐿(Dy)、鉕(Er)、鎔(Eu)、釹(Ho)、鐵(Fe)、鐳(La)、釹(Nd)、鐳(Pr)、鐳(Lu)。在本發明之上下文

中，金屬之混合物亦為可能的。在本發明之上下文中，無機氧化物及金屬之混合物亦可用於製備本發明之奈米顆粒。

當構成奈米顆粒的無機材料為硫化物時，此硫化物較佳地為硫化銀(Ag_2S)。

在一個較佳實施例中，在本發明之上下文中用於製備所關注之組合物的奈米顆粒可塗覆有選自表現出隱形特性(*stealth property*)的試劑之生物相容性材料。實際上，當本發明之奈米顆粒經由靜脈(IV)途徑投與至個體時，具有選自表現出隱形特性的試劑之材料的生物相容性塗層特別有利於最佳化奈米顆粒之生物分佈。該塗層負責奈米顆粒之所謂的「隱形特性」。

表現出隱形特性的試劑可為表現出立體障礙基(*steric group*)的試劑。此類群組可選自例如：聚乙二醇(PEG)；聚氧乙烯；聚乙烯醇；聚丙烯酸酯；聚丙烯醯胺(聚(N-異丙基丙烯醯胺))；聚脲；生物聚合物；多醣，諸如右旋糖酐、木聚糖及纖維素；膠原；兩性離子(*switterionic*)化合物，諸如聚甜菜鹼(*polysulfobetain*)；等等。

在另一較佳實施例中，奈米顆粒可塗覆有選自允許與生物靶相互作用之試劑的生物相容性材料。此類試劑可通常在奈米顆粒之表面上引入正電荷或者負電荷。此電荷可藉由一般對濃度在0.2與10 g/L之間變化的奈米顆粒懸浮液執行的電動電勢量測來確定，該等奈米顆粒懸浮在pH在6與8之間的水性介質中。

在奈米顆粒表面上形成正電荷的試劑可為例如胺丙基三乙氧基矽烷或者聚離胺酸。在奈米顆粒表面上形成負電荷的試劑可為例如磷酸鹽(例如，多磷酸鹽、偏磷酸鹽、焦磷酸鹽等等)，羧酸鹽(例如檸檬酸鹽或者二羧酸，特別地為丁二酸)或者硫酸鹽。

奈米顆粒或奈米顆粒聚集體之全生物相容性塗層可為有利的，特別在靜脈內(IV)情況下，以便避免顆粒表面與任何識別元件(巨噬細胞)

胞、調理素等等)之相互作用。「全塗層」暗示存在能夠在顆粒表面上產生至少完整的單層的極高緊密度之生物相容性分子。

生物相容性塗層特別地允許奈米顆粒在流體，諸如生理流體(血液、血漿、血清等等)或者醫藥投與所需的任何等滲介質或生理介質中的穩定性。

穩定性可藉由使用乾燥烘箱進行乾提取物量化來確認並且對典型地於0.22或0.45 μm 過濾器上過濾前後的奈米顆粒懸浮液量測。

有利地，該塗層保持顆粒在體內之完整性，確保或者改良其生物適應性，並且促進其視情況之功能化(例如，使用間隔分子、生物相容聚合物、靶向劑、蛋白質等等)。

根據本發明的特定奈米顆粒可進一步包含靶向劑，以允許該奈米顆粒與靶細胞上存在的識別元件相互作用。一旦奈米顆粒在靶位點上積聚，此類靶向劑就典型地作用。靶向劑可為表現出對人類或者動物體內存在的分子之親和力的任何生物或者化學結構。舉例而言，其可為胜肽，寡肽或多肽，蛋白質，核酸(DNA、RNA、SiRNA、tRNA、miRNA等等)，激素，維生素，酶，由病理性細胞表現之分子的配體，特別地為腫瘤抗原、激素受體、細胞因子受體或者生長因子受體之配體。該等靶向劑可選自由例如以下項組成的群組：LHRH、EGF、葉酸、抗B-FN抗體、E-選擇素/P-選擇素、抗-IL-2Ra抗體、GHRH等等。

組合物

本發明人亦在本文中描述了一種治療組合物，典型地為疫苗組合物，該組合物用於患如本文所定義的癌症，較佳地為轉移癌或者液體癌，處於放射療法之情況下，典型地為如本文所定義的分次放射療法的個體，其中該組合物包含：(i)奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體，每一奈米顆粒由密度為至少7 g/cm^3 並且原子序數(Z)為至少25的材料組

成，並且每一奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體覆蓋有生物相容性塗層，以提供奈米顆粒在生理流體中於pH 6.5與7.5之間的穩定性，以及較佳地(ii)醫藥學上可接受的載體或媒劑。

在一個特定實施例中，疫苗組合物在本文中被描述為包含用於治療以下個體之癌症的奈米顆粒及/或奈米顆粒聚集體：患轉移癌並且經受姑息性放射療法的個體，(治癒性)放射療法已被放棄的患轉移癌的個體，患並非藉由放射療法治療的癌症的個體，或者患液體癌的個體，其中該治療包含使該個體暴露於包含至少一次照射步驟的分次放射療法，其中該電離輻射劑量在1.8至30戈瑞(Gy)，較佳地1.8至20戈瑞(Gy)的範圍內，並且其中每一奈米顆粒由密度為至少7 g/cm³並且原子序數(Z)為至少25的材料組成，並且每一奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體覆蓋有生物相容性塗層，以提供奈米顆粒在生理流體中於pH 6.5與7.5之間的穩定性。除了奈米顆粒及/或奈米顆粒聚集體之外，該組合物亦可包含醫藥學上可接受的載體或媒劑。

醫藥學上可接受的載體或媒劑可為熟習此項技術者已知的任何傳統支撐物，諸如鹽水溶液、等滲溶液、無菌溶液、緩衝溶液、無水媒劑溶液及其類似物。典型的載體為包含NaCl、PBS及/或葡萄糖的等滲介質或者生理性介質。該載體可例如包含葡萄糖(5%)或右旋糖(5%)及/或NaCl (0.9%)。

該組合物亦可包含穩定劑、甜味劑、表面活性劑、聚合物及其類似物。

該組合物可為固體、液體(懸浮顆粒)、氣溶膠、凝膠、漿糊及其類似形式。較佳組合物為液體或者凝膠形式。特別較佳的組合物為液體形式。

其可藉由使用熟習此項技術者已知的醫藥製劑技術來配製為例如安瓿劑、注射劑、氣霧劑、瓶劑、管瓶劑、錠劑、膠囊劑。

通常，液體或者凝膠形式的組合物包含在約0.05 g/L與約450 g/L之間的奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體，在約0.05 g/L與約250 g/L之間的奈米顆粒，較佳地至少約10 g/L、11 g/L、12 g/L、13 g/L、14 g/L、15 g/L、16 g/L、17 g/L、18 g/L、19 g/L、20 g/L、21 g/L、22 g/L、23 g/L、24 g/L、25 g/L、26 g/L、27 g/L、28 g/L、29 g/L、30 g/L、31 g/L、32 g/L、33 g/L、34 g/L、35 g/L、36 g/L、37 g/L、38 g/L、39 g/L、40 g/L、41 g/L、42 g/L、43 g/L、44 g/L、45 g/L、46 g/L、47 g/L、48 g/L、49 g/L、50 g/L、51 g/L、52 g/L、53 g/L、54 g/L、55 g/L、56 g/L、57 g/L、58 g/L、59 g/L、60 g/L、61 g/L、62 g/L、63 g/L、64 g/L、65 g/L、66 g/L、67 g/L、68 g/L、69 g/L、70 g/L、71 g/L、72 g/L、73 g/L、74 g/L、75 g/L、76 g/L、77 g/L、78 g/L、79 g/L、80 g/L、85 g/L、90 g/L、95 g/L、100 g/L、150 g/L、200 g/L、250 g/L、300 g/L、350 g/L或者400 g/L之奈米顆粒。

組合物中的奈米顆粒之濃度可藉由乾提取物來量測。在乾燥烘箱中對包含奈米顆粒之懸浮液之乾燥步驟後理想地量測乾提取物。

在一個特定實施例中，該組合物進一步包含至少一種免疫治療劑及視情況用於治療癌症的額外治療劑。

術語「免疫治療劑」在本文中典型地表示任何分子、藥物、細胞或者基於細胞的疫苗、溶瘤病毒、基於DNA的疫苗、基於胜肽的疫苗、Toll樣受體促效劑、來源於細胞之囊泡，以及其之能夠促進個體之免疫系統並且被熟習此項技術者如此辨別出之任何組合。

該分子或藥物可例如選自單株抗體、細胞因子，及其組合。

該藥物可典型地為吡啶胺2,3-二氧酶(IDO)抑制劑，諸如1-甲基-D-色胺酸。

在一個較佳實施例中，該單株抗體抑制CTLA-4分子或者PD-1與其配體之間的相互作用。該單株抗體有利地選自抗-CTLA-4，抗-PD-

1，抗 -PD-L1，抗 -PD-L2。單株抗體可例如選自易普利姆瑪(ipilimumab)、曲美木單抗(tremelimumab)、納武單抗(nivolumab)、派姆單抗(prembolizumab)、伊匹單抗(pidilizumab)以及拉姆布羅力珠單抗(lambrolizumab)。

在另一個較佳實施例中，單株抗體增強CD27傳訊、CD137傳訊、OX-40傳訊、GITR傳訊及/或MHCII傳訊及/或活化CD40。單株抗體可例如選自達西珠單抗(dacetuzumab)、魯卡木單抗(Lucatumumab)以及烏瑞蘆單抗(urelumab)。

在又一實施例中，單株抗體抑制TGF- β 傳訊或者KIR傳訊。單株抗體可例如選自夫蘇木單抗(fresolimumab)及立魯單抗(lirilumab)。

細胞因子可有利地選自顆粒細胞-巨噬細胞株落刺激因子(GM-CSF)、fms相關的酪胺酸激酶3配體(FLT3L)、IFN- α 、IFN- α 2b、IFN γ 、IL2、IL-7、IL-10及IL-15。

在另一個較佳實施例中，免疫治療劑為免疫細胞因子，例如免疫細胞因子L19-IL2 (Nicolle H. Rekers, 《放射療法及腫瘤學(Radiotherapy and Oncology)》，2015)。

用作免疫治療劑的細胞典型地為腫瘤抗原(較佳為特異於待治療之癌症的腫瘤抗原)呈遞或者致敏的免疫細胞，諸如樹突狀細胞或者T細胞；分泌免疫原性分子的細胞；或者經歷免疫原性細胞死亡的死亡腫瘤細胞或者垂死腫瘤細胞，亦即以ICD典型量表現CRT及/或產生HMGB1及/或產生ATP之細胞，例如已經暴露於放射療法的垂死或者死亡腫瘤細胞。該細胞可為自體細胞或者異源細胞。該細胞較佳為從待治療的個體分離出的自體細胞。死亡或者垂死腫瘤細胞可為腫瘤成熟細胞或者腫瘤幹細胞。

toll樣受體促效劑有利地選自TLR 2/4促效劑、TRL 7促效劑、TRL 7/8促效劑及TRL 9促效劑。toll樣受體促效劑可例如選自咪喹莫

特(imiquimod)、卡介苗(bacillus Calmette-Guérin)及單磷醯基脂質A。

免疫治療劑之較佳組合可例如選自細胞因子、單株抗體、Toll樣受體促效劑及基於胜肽的疫苗。

術語「用於治療癌症的治療劑」在本文中典型地表示在癌症之習知治療中使用的試劑，諸如生物化合物、小分子靶向治療劑或者細胞毒素化合物。

生物化合物為例如抗體，較佳地單株抗體(「mAb」)，諸如阿侖單抗(Alemtuzumab)、布妥昔單抗(Brentuximab Vedotin)、卡圖瑪素單抗(Catumaxoma)、地諾單抗(Denosumab)、吉妥單抗(Gemtuzumab ozogamicin)、替伊莫單抗(Ibritumomab tiuxetan)、帕妥珠單抗(Pertuzumab)、奧法木單抗(Ofatumumab)、貝伐單抗(bevacizumab)、利妥昔單抗(rituximab)、曲妥單抗(trastuzumab)、西妥昔單抗(cetuximab)、帕尼單抗(panatimumab)或者托西莫單抗(tositumomab)。

小分子靶向治療劑一般抑制惡性細胞內的突變、過表達或者另外的關鍵蛋白(癌症治療情況下的潛在靶)上的酶結構域。一些治療劑包括靶向於細胞分裂的彼等(例如，極光激酶抑制劑或者週期蛋白依賴性激酶抑制劑)，以及其他生物機制，諸如蛋白質轉換及染色質修飾(例如組蛋白脫乙酰酶抑制劑)。小分子靶向治療劑可例如選自伊馬替尼(imatinib)、雷帕黴素(rapamycin)、吉非替尼(gefitinib)、埃羅替尼(erlotinib)、索拉非尼(sorafenib)、舒尼替尼(sunitinib)、尼羅替尼(nilotinib)、達沙替尼(dasatinib)、拉帕替尼(lapatinib)、硼替佐米(bortezomib)及阿托伐他汀(atorvastatin)等等。

細胞毒素化合物為例如DNA修飾劑，諸如安血定製劑(諸如地塞米松、道諾黴素、去甲氧基柔紅黴素或者胺甲喋呤)或者抗有絲分裂劑(紡錘體抑制劑，諸如長春新鹼或者長春鹼)；紫杉烷，諸如多西他賽、拉洛他賽(larotaxel)、卡巴他賽、紫杉醇(PG-紫杉醇及DHA-紫杉

醇)、奧他賽、替司他賽(tesetaxel)或者塔索普辛(taxoprexin); 吉西他濱; 依託泊苷; 絲裂黴素C; 烷基化劑(例如美法侖或者替莫唑胺); 基於鉑的組分, 諸如奧沙利鉑或者卡鉑; TLR (Toll樣受體)-3配體; 以及前體藥物。

該前體藥物(例如卡培他濱或者伊立替康以其活性形式在體內代謝, 以產生其預期治療效應。

其他典型的細胞毒素化合物典型地選自如本文所描述或者習知此項技術者已知的化學治療劑。

本文描述的包含可能與至少一種用於治療癌症的治療劑組合的至少一種免疫治療劑的疫苗組合物可被與如本文所描述的奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體同時或者分開地投與至待治療的個體。

套組

本發明人亦在本文中描述了一種疫苗套組, 該疫苗套組包含(i)由密度為至少7 g/cm³並且原子序數(Z)為至少25的材料組成的奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體, 每一奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體覆蓋有生物相容性塗層, 以提供奈米顆粒在生理流體中於pH 6.5與7.5之間的穩定性, 或者如本文所描述的疫苗組合物, 以及較佳地(ii)如本文所描述用於治療癌症的至少一種免疫治療劑及/或治療劑, 以及視情況地(iii)提供關於在放射療法的情況下執行疫苗接種的指示的說明書(leaflet)。

方案

在施加放射療法(典型地分次放射療法)之前, 使如本文所描述的奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體或者包含此類奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體之組合物有利地與癌細胞接觸。奈米顆粒及癌細胞之間的接觸可在活組織檢查或者血液取樣後離體執行, 或者經由投與至待治療的個體而體內地全身或者直接地執行至腫瘤、腫瘤床(在藉由手術進行腫

瘤切除術後)或者腫瘤轉移病灶。

當體內投與時，可使用不同的可能途徑來將本發明之奈米顆粒投與至個體，該等可能途徑為諸如局部[瘤內(IT)、動脈內(IA)]、皮下、靜脈內(IV)、皮內、氣道(吸入劑)、腹腔內、肌內、關節內、鞘內、眼內或者口服途徑(經由口腔)，較佳地使用IT。

當合適時，可執行奈米顆粒之重複注射或投與。

在一個特定實施例中，將奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體與至少一種免疫治療劑一起有利地投與至待治療之個體。奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體，或者包含此類奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體及至少一種免疫治療劑之組合物，可被同時或者分開投與至個體。

在一個特定實施例中，當該癌症為轉移癌及/或(習知)並非藉由放射療法治療的癌症時，將至少一次照射步驟典型地體內施加到包含該等奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體的轉移癌之一個、至多兩個腫瘤位點上。由於作為疫苗之奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體，可在照射區域或者位點外部觀測到放射療法之抗癌效應，此係由於個體之免疫系統的有效移動。

典型地，本發明人在本文中表明，在使用單次劑量輻射的放射敏感HCT 116 (人結直腸癌細胞株)及抗輻射42 MG BA (人成膠質細胞瘤細胞株)以及PANC-1 (人胰腺癌細胞株)中的相較於單獨輻射，使本發明之奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體暴露於電離輻射時觀測到從垂死癌細胞釋放的HMGB1明顯增加。此外，在HCT 116癌細胞株中，相較於單獨輻射，當本發明之奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體暴露於電離輻射時觀測到自垂死癌細胞之ATP分泌明顯增長。

該等DAMP為癌細胞之免疫原性細胞死亡之指標，並且本發明之奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體當暴露於放射療法時能夠放大其分泌及釋放。

此外，對免疫活性小鼠執行的疫苗接種測定結果顯示，本發明之奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體使動物之免疫系統有效移動，從而預防當動物首先接種經照射的癌細胞隨後用活癌細胞攻擊7天後出現腫瘤之能力：在接種用奈米顆粒及6 Gy處理過的癌細胞之群組中66%之動物沒有腫瘤，而當接種僅用6 Gy照射之癌細胞時僅33%之動物沒有腫瘤。

該等資料強力支持使用該等奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體作為疫苗，來在照射區域或者位點外部產生放射療法之抗癌效應，此係由於個體之免疫系統的有效移動。

在一個較佳實施例中，本發明之奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體，或者本發明之包含此類奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體的組合物允許改造或者破壞以下器官中存在的轉移癌細胞：肺(例如，當原發癌為例如肉瘤、膀胱癌、乳腺癌、結腸癌、腎癌或者前列腺癌時)，肝臟(例如，當原發癌為例如胃腸癌、乳腺癌、結腸癌、肺癌或者皮膚癌時)，骨(例如，當原發癌為例如乳腺癌、前列腺癌或者肺癌時)及/或腦(例如，當原發癌為例如肺癌、腎癌、黑素瘤或者乳腺癌時)。

在另一特定實施例中，將至少一次照射步驟離體施加至個體之包含奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體的癌症樣品上，並且將體外致死照射的癌細胞與來自癌症樣品的關聯細胞上清液的至少一部分一起至少部分地再投與至個體，隨後對該個體進行任何視情況後續的癌症體內治療。

來自經照射癌症樣品的細胞上清液一般包含免疫原性分子，諸如HMGB1、ATP；熱休克蛋白(HSP)家族之各種伴護蛋白，特別為熱休克70 kDa蛋白(HSP70)及熱休克90 kDa蛋白(HSP90)；免疫刺激細胞因子，如干擾素 α (IFN α)，鞘磷脂代謝物、來源於細胞外基質破裂的產物等等。在本發明之上下文中，相較於沒有奈米顆粒或者奈米顆粒

聚集體的經照射癌症樣品，來源於包含奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體之經輻射癌症樣品的細胞上清液中的免疫原性分子的釋放增強(參見實例4)，此能夠進一步加強抗癌症治療。

再投與至待治療的個體一般係經由皮下或者皮內注射執行的。

當癌症為液體癌時，一般將至少一次照射步驟離體施加至個體之包含奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體的液體癌樣品上，並且將經照射的液體癌樣品至少部分地再投與至個體，隨後對該個體進行進行任何視情況後續的液體癌體內治療。

再投與至待治療的個體可經由皮下或者皮內注射執行的。其亦可經由動脈內(IA)、靜脈內(IV)或者腹膜內(IP)注射來執行。

該液體癌樣品一般為待治療之個體的血液樣品或者全血量。當將對該個體之全血量照射時，可在體外循環方案期間離體執行照射，將該經照射的全血量完全再投與給個體。

令人感興趣地，Y. Suzuki等人(2012)報道說，觀測到38%之食道鱗狀細胞癌(ESCC)患者在進行化學放射療法後具有腫瘤抗原特異性T細胞應答並且該等應答與該等患者之血清中升高的HMGB1濃度共存。進行手術前化學放射療法的ESCC患者體內處於腫瘤微環境中的HMGB1顯著上調，而彼等不進行化學放射療法的患者體內則無上調，並且HMGB1程度與患者存活率正相關。

在一個較佳實施例中，將經離體致死照射的癌細胞或者經照射的液體癌樣品與如本文所描述的用於治療癌症的至少一種額外的免疫治療劑及/或治療劑一起至少部分地再投與給個體。

可將該等經離體致死照射的癌細胞或者經照射的液體癌樣品與用於治療癌症的至少一種額外的免疫治療劑及/或至少治療劑同時或者分開地投與給個體。

本發明之其他態樣及優點將在以下實例中變得顯而易見，以下

實例係出於說明目的給出，而非作為限制。

實驗部分

實例1：功能化二氧化鈺(HfO_2)奈米顆粒的合成及表徵

將氫氧化四甲銨(TMAOH)溶液添加至40 g HfCl_4 溶液中。執行TMAOH溶液之添加，直至最終懸浮液之pH達到包含在7與13之間的pH。獲得白色沈澱物。

將該沈澱物進一步轉移到高壓釜中並且在包含在120℃與300℃之間的溫度下加熱以進行結晶。冷卻後，用去離子水洗滌該懸浮液。

執行膠溶步驟以便獲得奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體之穩定懸浮液。

隨後將六偏磷酸鈉懸浮液添加至該膠溶溶液中(所添加的六偏磷酸鈉的量低於LD50/5)並且將懸浮液之pH調節至包含在6.5與7.5之間的pH。對於體外實驗，在此階段例如使用0.22 μm 過濾器執行滅菌步驟。

對於體內實驗，可在滅菌步驟前後執行使用5%葡萄糖的配製步驟。

以下表格呈現了由此獲得的生物相容奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體之懸浮液的主要特徵。

密度	形態	比表面積(SS)，單位為 m^2/g	平均流體動力學直徑(Φ)，單位為nm
8.3	球形	$20 < \text{SS} < 60$	$15 < \Phi < 200$

實例2：金奈米顆粒合成以及具有不同粒徑之金奈米顆粒的物理化學表徵。

金奈米顆粒係藉由在水溶液中用檸檬酸鈉還原氯化金獲得。方案改編自G. Frens，《自然物理科學(Nature Physical Science)》，241 (1973) 21。

在典型的實驗中，將 HAuCl_4 溶液加熱至沸騰。隨後，添加檸檬

酸鈉溶液。將所得溶液維持沸騰達5分鐘之延長時段。

藉由小心地調節檸檬酸鹽比金前驅物的比率(參看表1)在15直至105 nm之範圍內調節奈米顆粒粒徑。

隨後使用具有30 kDa纖維素膜的超過濾設備(購自Millipore公司的Amicon攪拌池型號8400)濃縮製備好的金奈米顆粒懸浮液。

將所得懸浮液最終在層流通風櫥(laminar hood)中濾過0.22 μm截留膜過濾器(購自Millipore公司的PES膜)並且儲存在4℃下。

使用穿透電子顯微術(TEM)，藉由計數多於200個顆粒，取最長的奈米顆粒尺寸用於粒徑量測來測定粒徑。

表1：

樣品	粒徑(nm)	合成	
		檸檬酸鹽	HAuCl ₄
金-15	15±2 (1σ)	20 mL 30 mM	500 mL 0.25 mM
金-30	32±10 (1σ)	7.5 mL 40 mM	500 mL 0.25 mM
金-60	60±10 (1σ)	2 mL 85 mM	500 mL 0.25 mM
金-80	80±10 (1σ)	1.2 mL 43 mM	200 mL 0.30 mM
金-105	105±25 (1σ)	1.2 mL 39 mM	200 mL 0.33 mM

實例3：包含至少部分地覆蓋有氧化鉛材料的金材料的奈米顆粒懸浮液。

將氫氧化四甲銨(TMAOH)溶液添加至氯化鉛(HfCl₄)溶液中。執行TMAOH溶液之添加，直至最終懸浮液之pH達到包含在7與13之間的pH。獲得白色沈澱物。

在劇烈混合下將來源於實例2的金顆粒懸浮液緩慢加入白色沈澱物中。

將所得沈澱物進一步轉移到高壓釜中並且在包含於100℃與300℃之間的溫度下加熱。冷卻後，用水洗滌該懸浮液。

執行膠溶步驟以便獲得包含至少部分地嵌入氧化鉛材料中的金材料之奈米顆粒的穩定懸浮液。

隨後將六偏磷酸鈉懸浮液添加到該膠溶溶液中並且將該懸浮液之pH調節至包含在6與8之間的pH。

實例4：自垂死癌細胞之HMGB1釋放。

使用42 MG BA人膠質母細胞瘤細胞株來研究自垂死癌細胞之HMGB1釋放。細胞株42-MG-BA購自德國微生物菌種保藏中心(Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH German Collection of Microorganism and Cell Cultures) (Braunschweig, Germany)。

在 1.5×10^6 至 2×10^6 個細胞/燒瓶的範圍內將細胞分散於T25燒瓶中。當細胞附著於平皿時，將來源於實例1的HfO₂奈米顆粒懸浮液以等於400 μ M的濃度添加至細胞中隔夜(12 h-15 h)，隨後遞送輻射劑量。使用抗生素(Penistrepto)培養細胞。

使用X射線發生器(200 kV，15 mA，0.2 mm銅過濾)，以1.26 Gy min⁻¹之劑量速率遞送5 Gy或者10 Gy之單次X射線照射劑量。

將細胞在5% CO₂濕潤環境中於37°C下培養96小時。96小時後，收集細胞上清液並且使用centricon濃縮。

使用對人HMGB1具特異性的酶聯結免疫吸附劑分析法(ELISA)套組定量濃縮細胞上清液中的HMGB1。

圖1呈現從垂死癌細胞釋放的HMGB1。來自用或者未用來源於實例1的HfO₂奈米顆粒懸浮液處理並且暴露於或者未暴露於放射療法(遞送1次，5 Gy)的細胞的濃縮細胞上清液中釋放的HMGB1報導為相較於未處理的對照(亦即，未經照射的42 MG BA細胞株)成倍變化。

圖2呈現從垂死癌細胞釋放的HMGB1。來自用或者未用來源於實例1的HfO₂奈米顆粒懸浮液處理並且暴露於或者未暴露於放射療法(遞送1次，10 Gy)的細胞的濃縮細胞上清液中釋放的HMGB1報導為相較於未處理的對照(亦即，未經照射的42 MG BA細胞株)成倍變化。

結論

觀測到，相較於單獨的輻射，用來源於實例1的氧化鉛奈米顆粒處理的細胞當暴露於5 Gy或者10 Gy之單次照射劑量時，從來源於其的濃縮細胞上清液中的垂死癌細胞釋放的HMGB1明顯增多。該等結果支持在放射療法的情況下使用該等奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體作為治療疫苗的合理性。

實例5：自多個細胞株的垂死癌細胞之HMGB1釋放

使用HCT 116人結直腸細胞株、42 MG BA人膠質母細胞瘤細胞株及PANC-1人胰腺細胞株來研究自垂死癌細胞之HMGB1釋放。該等細胞株購自「美國菌種保存中心(American Type Culture Collection)」(ATCC)(HCT 116，目錄號CCL-247及PANC-1，目錄號CRL-1469)或者購自「德國微生物菌種保藏中心(Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen)」(DSMZ) (42 MG BA，目錄號ACC 431)。

將細胞以1.10⁶個細胞/燒瓶分散於T25燒瓶中。當細胞附著於平皿時，將來源於實例1的HfO₂奈米顆粒懸浮液以等於800 μM (對於HCT 116)或者400 μM (對於PANC-1及42 MG)的濃度添加至細胞中隔夜(12 h-15 h)，隨後遞送輻射劑量。用抗生素(含有1%青黴素-鏈黴素的培養基)培養細胞。

使用X射線發生器(320 kV，X-RAD 320)，以1 Gy.min⁻¹之劑量速率遞送X-射線照射劑量。每一細胞株的輻射劑量於表3中給出。

表3：每一細胞株的照射劑量

細胞株	HCT 116	42 MG BA	PANC-1
照射劑量	4 Gy 6 Gy	10 Gy 15 Gy	8 Gy

HCT 116細胞株：將細胞在5% CO₂濕潤環境中於37℃下培養72小時。72小時後，收集細胞上清液。

42 MG BA及PANC-1細胞株：將細胞在5% CO₂濕潤環境中於37℃下培養96小時。96小時後，收集細胞上清液並且使用Centricon濃縮。

使用特異於人HMGB1的酶聯結免疫吸附劑分析法(ELISA)套組(諸如，購自IBL international公司，目錄號ST51011的「HMGB1 ELISA套組」)定量細胞上清液中的HMGB1。

圖3呈現從垂死癌細胞釋放的HMGB1。來自用或者未用來源於實例1的HfO₂奈米顆粒懸浮液處理並且暴露於或者未暴露於放射療法(1次遞送)的細胞的細胞上清液中釋放的HMGB1報導為相較於未處理的對照成倍變化。

圖3A表示從垂死HCT 116癌細胞釋放的HMGB1。照射劑量等於4 Gy及6 Gy。實驗為重複三次並且混合執行的2個獨立實驗的平均。

圖3B表示從垂死42 MG BA癌細胞釋放的HMGB1。照射劑量等於10 Gy及15 Gy。實驗為重複三次並且混合執行的2個獨立實驗的平均。

圖3C表示從垂死PANC-1癌細胞釋放的HMGB1。照射劑量等於8 Gy。實驗為重複三次並且混合執行的2個獨立實驗的平均。

結論

觀測到，相較於單獨的輻射，當用來源於實例1的氧化鉛奈米顆粒處理的細胞暴露於單次照射劑量時，從來源於其的上清液中的垂死癌細胞釋放的HMGB1明顯增多。該等結果支持對多種癌症，在放射療法的情況下使用該等奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體作為治療疫苗的理由。

實例6：自垂死癌細胞之ATP分泌

使用HCT 116人結直腸癌細胞株來研究自垂死癌細胞之ATP分泌。細胞株HCT 116購自「美國菌種保存中心」(ATCC)(HCT 116，目錄號CCL-247)。

將細胞以等於 2×10^6 個細胞/燒瓶的濃度分散於T25燒瓶中。當細胞附著於平皿時，將來源於實例1的HfO₂奈米顆粒以等於800 μ M的濃度添加至細胞中隔夜(12 h-15 h)，隨後遞送輻射劑量。使用抗生素(含有1%青黴素-鏈黴素的培養基)來培養細胞。

使用X射線發生器(320 kV, X-RAD 320)，以1 Gy.min⁻¹之劑量速率遞送6 Gy之單次X射線照射劑量。

將細胞在5% CO₂濕潤環境中於37°C下培養9小時。9小時後，收集細胞上清液。

使用用於ATP量測的生物發光偵測套組(諸如購自Promega公司，目錄號FF2000的「ENLITEN® ATP分析系統」)定量細胞上清液中的ATP分泌。

圖4呈現自HCT 116垂死癌細胞之ATP分泌。來自用或者未用來源於實例1的HfO₂奈米顆粒懸浮液處理並且暴露於或者未暴露於放射療法(遞送1次，6 Gy)的細胞的細胞上清液中的ATP分泌報導為相較於未處理的對照(亦即，未經照射的HCT 116細胞株)成倍變化。實驗為重複三次並且混合執行的3個獨立實驗的平均。

結論

觀測到，相較於單獨的輻射，當用來源於實例1的氧化鉛奈米顆粒處理的細胞暴露於單次照射劑量時，自來源於其的上清液中的垂死癌細胞的ATP分泌明顯增多。該等結果支持在放射療法的情況下使用該等奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體作為治療疫苗的理由。

實例7：疫苗接種分析

如在標題為「用於免疫原性細胞死亡之偵測的共識指南(Consensus guidelines for the detection of immunogenic cell death)」(Oliver Kepp等人，《腫瘤免疫學(Oncology)》，2014)的文章中所呈現，用於評估特異性刺激物引起真實ICD之能力的金本位途徑依

賴於疫苗接種分析。在此背景下，將所選的小鼠癌細胞體外暴露於免疫原性的細胞死亡(ICD)之誘導劑，並且最終將其皮下(s.c.)注射到免疫活性同系小鼠(理想地每群組5-10隻)的一個側腹(疫苗接種位點)中。一週以後，用相同類型之活癌細胞攻擊小鼠，該等相同類型之活癌細胞被皮下接種到對側側腹(攻擊位點)中。在1-2個月的時段中定期觀測該兩個注射位點處的腫瘤發病率及生長。疫苗接種位點處腫瘤之進展指示研究中的該刺激物不能使細胞死亡(在測試條件下)達到與對適應性免疫之誘導相容的程度。相反地，在疫苗接種位點處不存在腫瘤的情況下，檢查中的刺激物促進真實ICD的能力與攻擊位點處進展的腫瘤病變數負相關。

在本文中選擇小鼠CT 26結直腸癌細胞進行疫苗接種分析。該細胞株購自「美國菌種保存中心」(ATCC) (CT26，目錄號CRL2638)。

將細胞以 10×10^6 個細胞/燒瓶分散於T300燒瓶中。當細胞附著於平皿時，將來源於實例1的HfO₂奈米顆粒以等於400 μ M的濃度添加至細胞中隔夜(12 h-15 h)，隨後遞送輻射劑量。使用抗生素(含有1%青黴素-鏈黴素的培養基)來培養細胞。

使用X射線發生器(320 kV，X-RAD 320)，以1 Gy.min⁻¹之劑量速率遞送X射線照射劑量。單次遞送6 Gy至用或者未用來源於實例1的HfO₂ NP處理過的細胞。

將細胞在5% CO₂濕潤環境中於37°C下培養48小時。48小時後，收集細胞，用PBS洗滌，然後進行胰蛋白酶消化，並且將 $1 \cdot 10^6$ 個活細胞皮下注射到免疫活性Balb/c小鼠的左側腹中。對於對照群組，將100 μ L之PBS皮下注射到小鼠之左側腹中。

七天後，用未處理的活CT 26細胞攻擊小鼠：將 $3 \cdot 10^5$ 個細胞皮下注射到小鼠的右側腹中(圖5)。在47天中每週監測該兩個注射位點處的腫瘤發病率及生長兩次(圖6)。

結論

疫苗接種四十七(47)天後，用來源於實例1的HfO₂ NP及6 Gy照射處理過的群組中66%之小鼠無腫瘤，而僅用6 Gy照射處理過的群組中33%的小鼠無腫瘤。觀測到，相較於單獨的輻射，當用以來源於實例1的氧化鈺奈米顆粒處理並且暴露於單次照射劑量的細胞執行疫苗接種時，無腫瘤小鼠明顯增多。該等結果支持在放射療法的情況下使用該等奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體作為治療疫苗的理由。

該等資料證明了相較於單獨的放射療法，本發明之奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體當暴露於放射療法時，產生個體之免疫系統的有效移動的能力。

藉由利用暴露於放射療法時的本發明之奈米顆粒或者奈米顆粒聚集體而觸發的此類有效免疫反應特別有利於所選患者群體，典型地用於患轉移癌及/或經受姑息性放射療法的個體，放射療法已被放棄的患轉移癌的個體，用於患(習知上)並非藉由放射療法治療的癌症的個體，或者用於患液體癌的個體。

參考文獻

- Dhara M. MacDermid et al. A rationale for the targeted treatment of oligometastases with radiotherapy. *Journal of Surgical Oncology* 2008. 98 202-206.
- Ralph R. Weichselbaum et al. Oligometastases revisited. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2011. 8, 378-382.
- Sonam Sharma et al. Palliative radiotherapy: current status and future directions. *Seminars on Oncology* 2014. 41 (6) 751-763.
- Sandra Demaria and Silvia C. Formenti. Radiation as an immunological adjuvant: current evidence on dose and fractionation. *Frontiers in Oncology*. October 2012 Volume 2 Article 153 1-7.

- Oliver Kepp. Consensus guidelines for the detection of immunogenic cell death. Oncoimmunology 2014 3(9) e955691.

- Kobe Reynders et al. The abscopal effect of local radiotherapy: using immunotherapy to make a rare event clinically relevant. Cancer Treatment Review 2015 41(6), 503-510.

- Scott J. Antonia et al. Immuno-oncology combinations: a review of clinical experience and future prospects. Clinical Cancer Research; 20(24) 2014 6258-6268.

- Theresa L. Whiteside et al. Emerging opportunities and challenges in cancer immunotherapy. Clin Cancer Res 2016. 22(8) 1845-1855.

- Nicolle H. Rekers et al. Combination of radiotherapy with the immunocytokine L19-IL2 : additive effect in a NK cell dependent tumour model. Radiotherapy and Oncology 2015, 116 438-442.

- Y. Suzuki et al. Immunogenic Tumor cell death induced by chemoradiotherapy in patients with esophageal squamous cell carcinoma (ESCC). Cancer Res. 2012.72(16) 3967-76.

【符號說明】

無

申請專利範圍

1. 一種包含HfO₂奈米顆粒及/或HfO₂奈米顆粒聚集體的疫苗組合物用於製造藥劑之用途，其中該藥劑係用於治療以下個體之癌症：患多轉移性(polymetastatic)癌並且經受姑息性放射療法的個體、放射療法已被放棄的患多轉移性癌的個體、或患並非習知上(conventionally)藉由放射療法治療的癌症的個體，其中該治療包含：
 - 使用瘤內(IT)途徑向該個體投與包含HfO₂奈米顆粒及/或HfO₂奈米顆粒聚集體之組合物，
 - 自該個體獲得癌症樣品，其中該癌症樣品與包含HfO₂奈米顆粒及/或HfO₂奈米顆粒聚集體之該組合物組合，
 - 使包含來自該個體之該癌症樣品及該HfO₂奈米顆粒或HfO₂奈米顆粒聚集體之組合物離體暴露於包含至少一次照射步驟的分次放射療法，以及
 - 在對該個體進行任何視情況選用的後續活體內癌症治療前，將該等經離體致死照射的癌細胞與來自該癌症樣品的相關細胞上清液的至少一部分至少部分地再投與至該個體，其中該照射步驟包含電離輻射劑量在1.8至30戈瑞(Gy)的範圍內，並且其中每一HfO₂奈米顆粒或者HfO₂奈米顆粒聚集體覆蓋有生物相容性塗層，以提供奈米顆粒在生理流體中於pH 6.5與7.5之間的穩定性。
2. 如請求項1之用途，其中該電離輻射劑量在1.8至20戈瑞(Gy)的範圍內。
3. 一種包含HfO₂奈米顆粒及/或HfO₂奈米顆粒聚集體的疫苗組合物

用於製造藥劑之用途，其中該藥劑係用於治療患有液體癌之個體之癌症，其中該治療包含向來自該個體之液體癌樣品投與包含HfO₂奈米顆粒及/或HfO₂奈米顆粒聚集體之疫苗組合物的步驟，以及使已經投與包含HfO₂奈米顆粒及/或HfO₂奈米顆粒聚集體之該疫苗組合物的該液體癌樣品離體暴露於包含至少一次照射步驟的分次放射療法的步驟，其中該照射步驟包含電離輻射劑量在1.8至30戈瑞(Gy)的範圍內，以及其中在對該個體進行任何視情況選用的後續活體內癌症治療前，將該經離體照射的液體癌樣品至少部分地再投與至該個體。

4. 如請求項3之用途，其中該液體癌樣品為該個體之血樣或者全血量。
5. 如請求項1之用途，其中該等經離體致死照射的癌細胞至少部分地與至少一種額外的免疫治療劑一起再投與至該個體，該等經離體致死照射的癌細胞與該至少一種額外的免疫治療劑係同時或者分開地投與至該個體。
6. 如請求項3之用途，其中該經離體照射的液體癌樣品至少部分地與至少一種額外的免疫治療劑一起再投與至該個體，該經照射的液體癌樣品與該至少一種額外的免疫治療劑係同時或者分開地投與至該個體。
7. 如請求項1或3之用途，其中該電離輻射劑量選自每次治療1.8、2、2.4、2.5、3、3.2、3.6、4、4.5、5、5.5、6、7、8、10、15及20 Gy。
8. 如請求項1或2之用途，其中該轉移癌影響：(i)結締組織並且選自纖維肉瘤、黏液肉瘤、脂肪肉瘤、軟骨肉瘤、骨肉瘤、脊索瘤、惡性纖維組織細胞瘤；(ii)內皮或者間皮組織並且選自血管

內皮瘤、血管肉瘤、淋巴管肉瘤以及間皮細胞瘤；(iii)肌肉組織並且選自平滑肌肉瘤及橫紋肌肉瘤；(iv)上皮組織並且選自腺癌、鱗狀細胞癌及表皮樣癌；(v)神經組織並且選自多形神經膠母細胞瘤、神經膠質瘤、神經母細胞瘤、髓母細胞瘤、腦膜瘤、神經纖維肉瘤及神經鞘瘤；以及(vi)APUD系統並且選自甲狀腺癌、胰腺癌、胃癌以及腸癌；或者其中該轉移癌為黑素瘤。

9. 如請求項8之用途，其中該轉移癌為或來源於選自以下的癌症：皮膚癌、中樞神經系統癌、頭頸癌、肺癌、腎癌、乳癌、胃腸癌(GIST)、前列腺癌、肝癌、結腸癌、直腸癌、肛門癌、食道癌、男性泌尿生殖系統癌、婦科癌症、腎上腺及腹膜後癌、骨及軟組織之肉瘤、兒科癌症、神經母細胞瘤以及尤文氏肉瘤。
10. 如請求項3之用途，其中該液體癌影響血液或淋巴樣細胞組織並且選自白血病、骨髓瘤及淋巴瘤。
11. 如請求項1或2之用途，其中該藥劑將與至少一種免疫治療劑一起投與至待治療之個體，該藥劑與該至少一種免疫治療劑係同時或者分開地投與至該個體。
12. 如請求項1或2之用途，其中該組合物進一步包含醫藥學上可接受的載體或媒劑。
13. 如請求項1之用途，其中該組合物進一步包含至少一種免疫治療劑。
14. 如請求項13之用途，其中該至少一種免疫治療劑選自單株抗體、細胞因子及其組合。
15. 如請求項13之用途，其中該免疫治療劑為：選自抗-CTLA-4 抗體、抗-PD-1 抗體、抗-PD-L1 抗體、抗-PD-L2 抗體之抗體；增

強 CD27 傳訊、CD137 傳訊、OX-40 傳訊、GITR 傳訊及/或 MHCII 傳訊及/或活化 CD40 之單株抗體；抑制 TGF- β 傳訊或者 KIR 傳訊之單株抗體；選自顆粒細胞-巨噬細胞株落刺激因子 (GM-CSF)、fms 相關的酪胺酸激酶 3 配體 (FLT3L)、IFN- α 、IFN- α 2b、IFNg、IL2、IL-7、IL-10 及 IL-15 之細胞因子；免疫細胞因子；腫瘤抗原呈遞或者致敏的免疫細胞；分泌免疫原性分子的細胞；以 ICD 典型量表現 CRT 及/或產生 HMGB1 及/或產生 ATP 之死亡腫瘤細胞或者垂死腫瘤細胞；或 Toll 樣受體促效劑，其選自 TLR 2/4 促效劑、TRL 7 促效劑、TRL 7/8 促效劑及 TRL 9 促效劑。

16. 如請求項 15 之用途，其中該單株抗體係選自易普利姆瑪 (ipilimumab)、曲美木單抗 (tremelimumab)、納武單抗 (nivolumab)、派姆單抗 (prembolizumab)、伊匹單抗 (pidilizumab)、拉姆布羅力珠單抗 (lambrolizumab)、達西珠單抗 (dacetuzumab)、魯卡木單抗 (lucatumumab)、烏瑞蘆單抗 (urelumab)、夫蘇木單抗 (fresolimumab) 及立魯單抗 (lirilumab)。
17. 如請求項 15 之用途，其中該免疫細胞因子為 L19-IL2。
18. 如請求項 15 之用途，其中該 Toll 樣受體促效劑係選自咪喹莫特 (imiquimod)、卡介苗 (bacillus Calmette-Guérin) 及單磷醯基脂質 A。

圖式

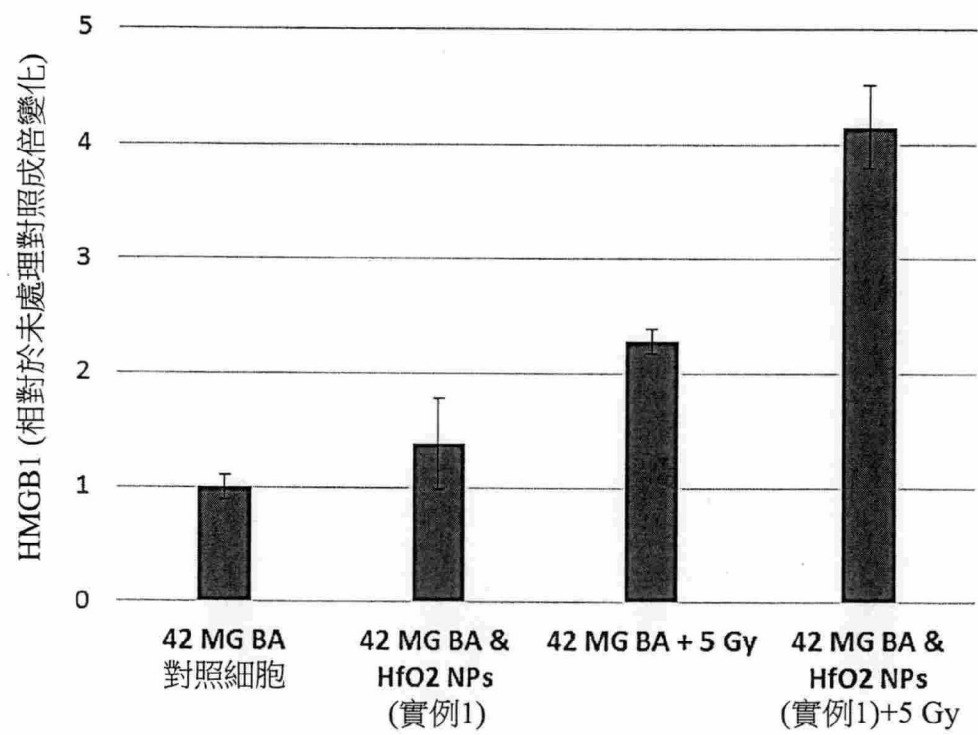


圖1

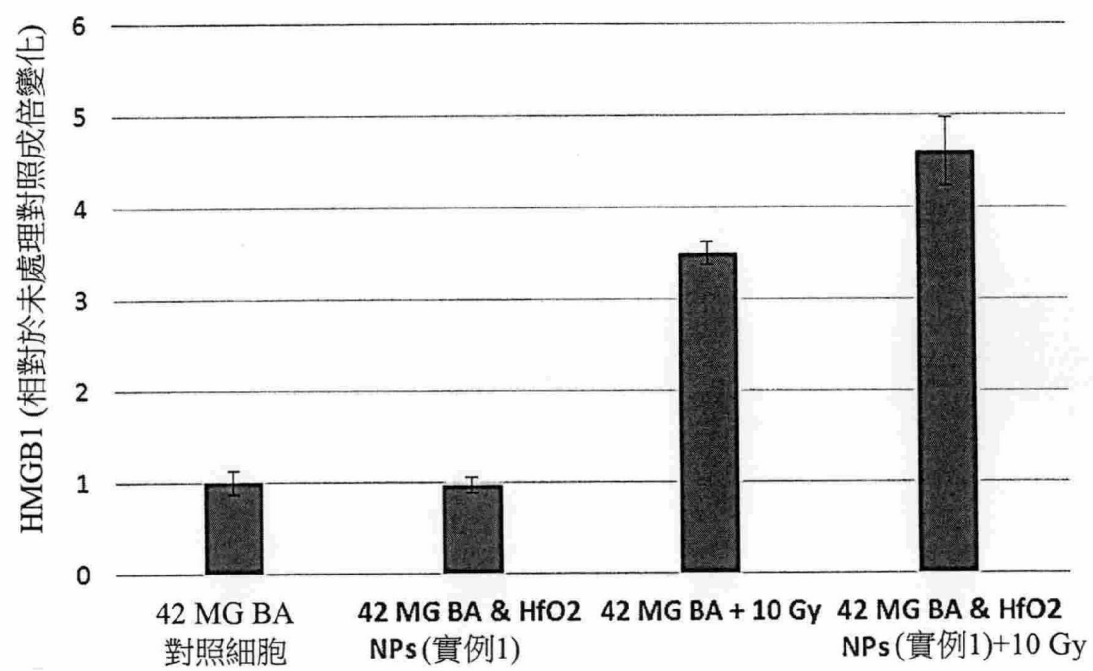


圖2

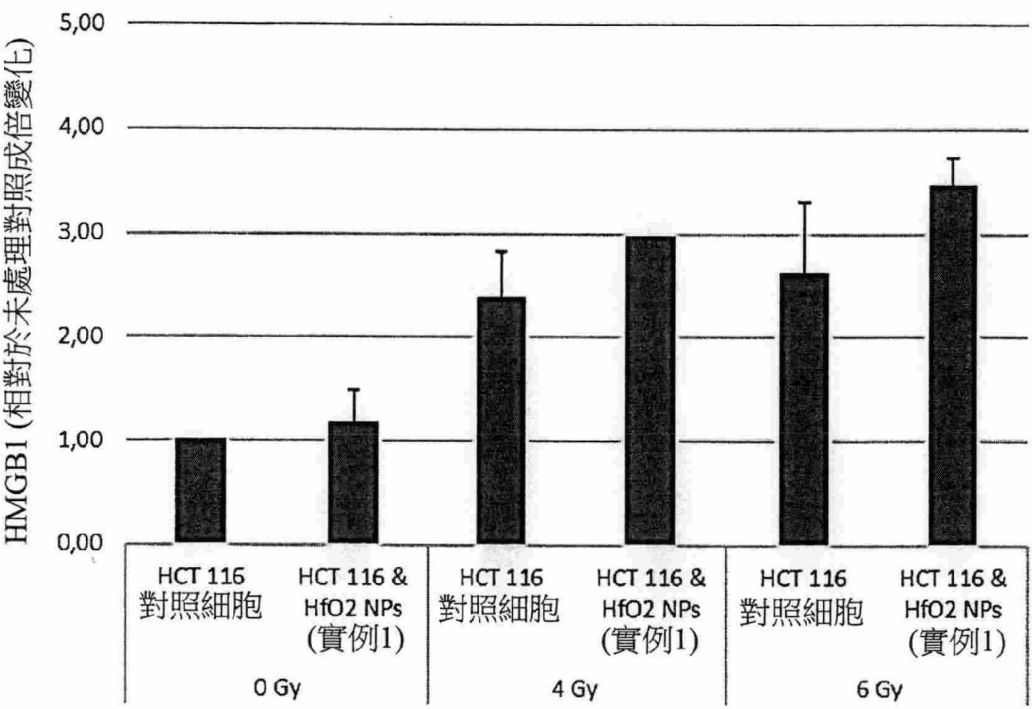


圖3A

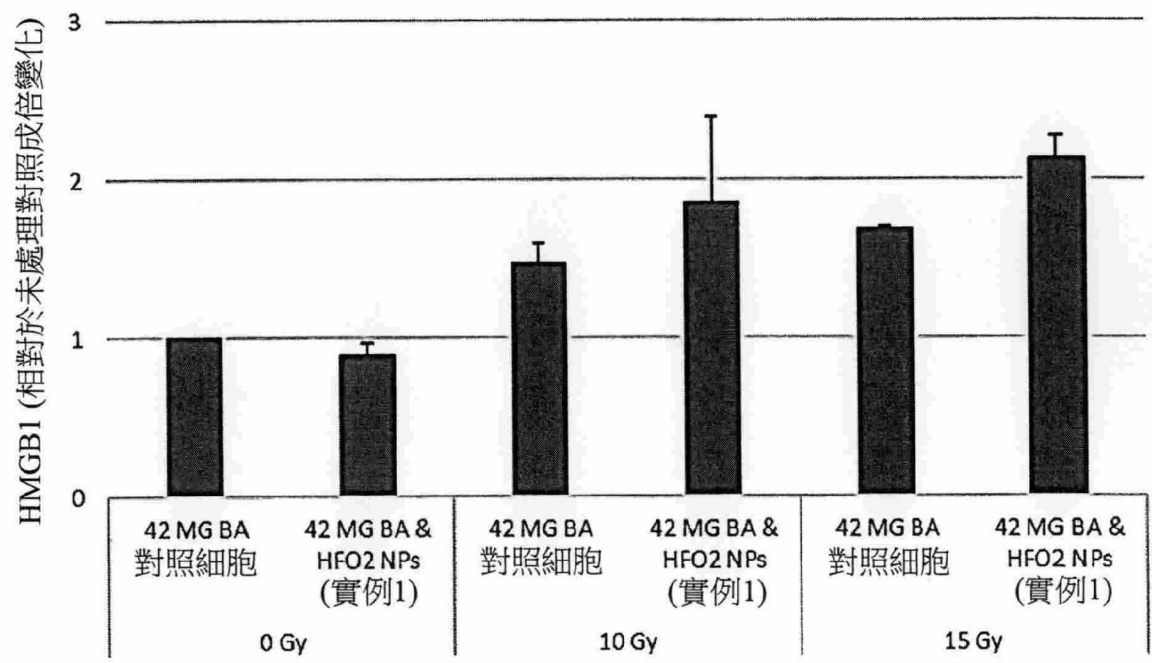


圖3B

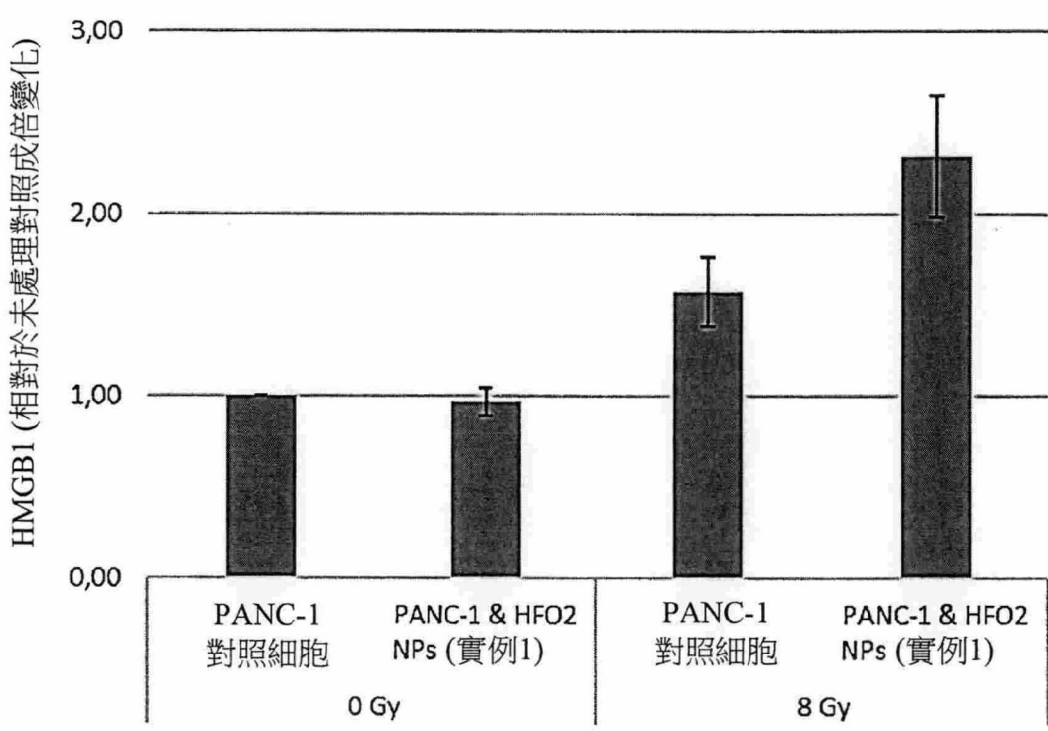


圖3C

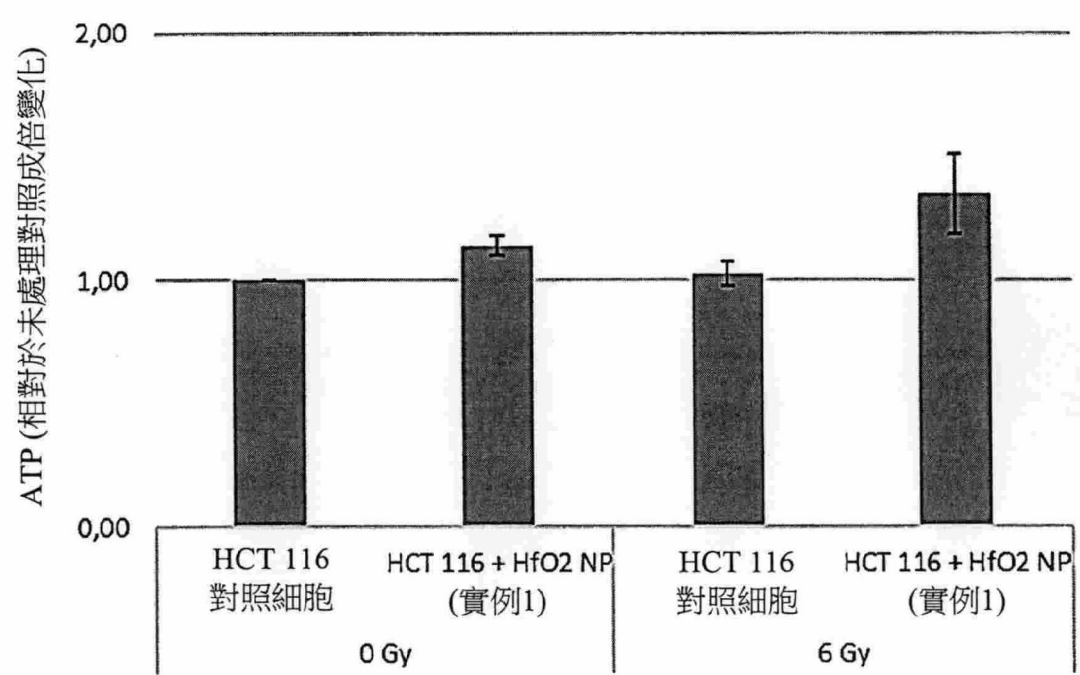


圖4

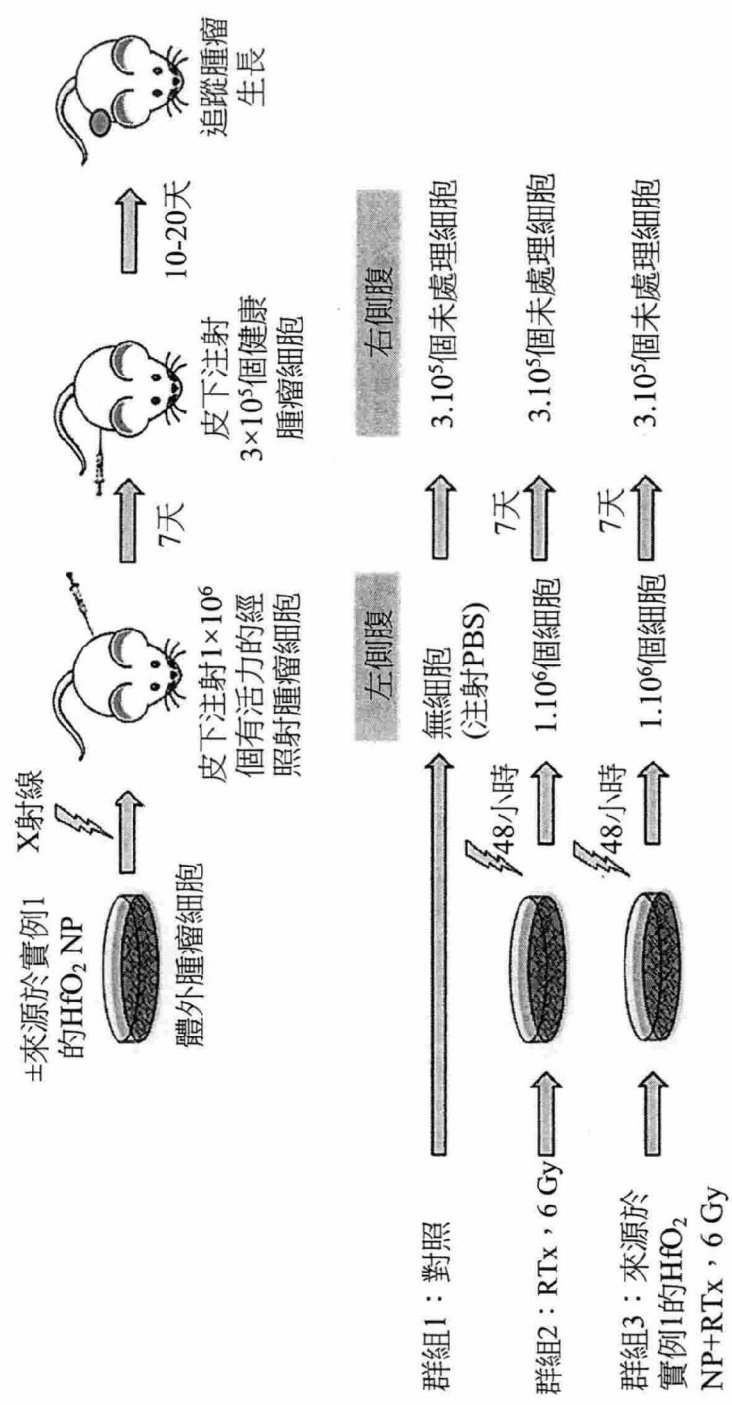


圖5

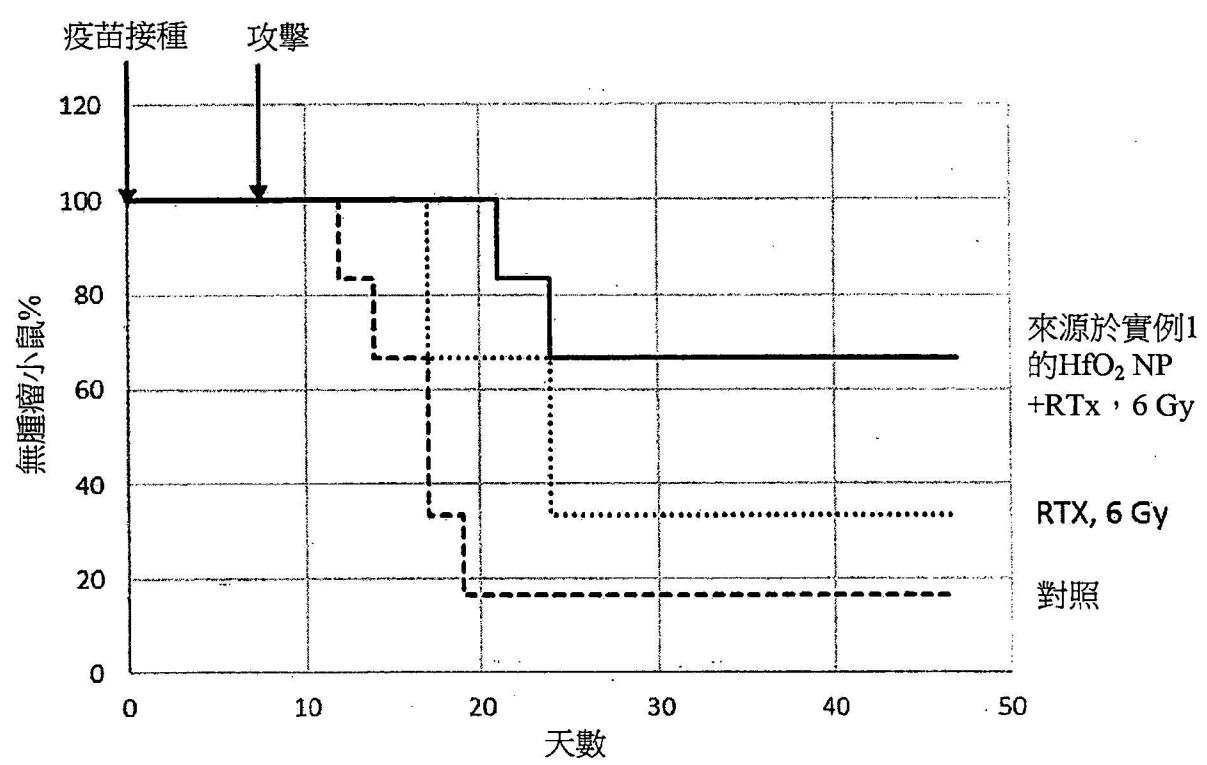


圖6