



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114984062 A

(43) 申请公布日 2022.09.02

(21) 申请号 202210427262.0

A61K 39/395 (2006.01)

(22) 申请日 2013.08.30

A61K 38/19 (2006.01)

(30) 优先权数据

C12N 7/01 (2006.01)

61/694963 2012.08.30 US

C12N 15/38 (2006.01)

61/846147 2013.07.15 US

C12N 15/27 (2006.01)

(62) 分案原申请数据

A61P 17/00 (2006.01)

201380045105.2 2013.08.30

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

(71) 申请人 安姆根有限公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 A.范德瓦尔德 M.沙布蒂

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

专利代理人 罗文锋 彭昶

(51) Int.Cl.

A61K 35/763 (2015.01)

权利要求书1页 说明书17页

(54) 发明名称

使用单纯疱疹病毒和免疫检查点抑制剂治疗黑色素瘤的方法

(57) 摘要

本发明涉及使用单纯疱疹病毒和免疫检查点抑制剂的组合来治疗黑色素瘤的方法。

1. 一种用于在治疗黑色素瘤的方法中使用的包含免疫检查点抑制剂和单纯疱疹病毒的药物组合,其中所述方法包括向IIIb期到IV期黑色素瘤患者施用有效量的所述药物组合,其中所述单纯疱疹病毒缺乏功能性ICP34.5基因、缺乏功能性ICP47基因并且包含编码人GM-CSF的基因。

2. 一种试剂盒,其包括:单纯疱疹病毒,该单纯疱疹病毒缺乏功能性ICP34.5基因、缺乏功能性ICP47基因并且包含编码人GM-CSF的基因;以及附有通过使用所述单纯疱疹病毒和免疫检查点抑制剂的组合来治疗IIIb期到IV期黑色素瘤的指导的包装说明书或标签。

3. 一种用于在治疗黑色素瘤的方法中使用的包含单纯疱疹病毒和抗CTLA-4抗体的药物组合,其中所述方法包括向IIIb期到IV期黑色素瘤患者施用单纯疱疹病毒和抗CTLA-4抗体,所述单纯疱疹病毒在第1周第1天以达4.0 ml的 $10^6$  PFU/mL剂量,随后在第4周第1天以及之后每2周以达4.0 ml的 $10^8$  PFU/mL剂量通过瘤内注射施用到可注射的皮肤、皮下和结节肿瘤中,直到完全反应,并且所述抗CTLA-4抗体在第三剂所述单纯疱疹病毒之后开始每3周以3 mg/kg剂量静脉内施用,输注4次,并且其中所述单纯疱疹病毒缺乏功能性ICP34.5基因、缺乏功能性ICP47基因并且包含编码人GM-CSF的基因。

4. 根据权利要求1所述的药物组合,其中所述单纯疱疹病毒的施用在所述免疫检查点抑制剂的施用之前。

5. 根据权利要求1所述的药物组合,其中所述检查点抑制剂是抗CTLA-4抗体。

6. 根据权利要求3或5所述的药物组合,其中抗CTLA-4抗体是伊匹单抗。

7. 根据权利要求1或3-5中任一项所述的药物组合,其中所述单纯疱疹病毒是拉他莫基。

8. 根据权利要求1所述的药物组合,其中所述检查点抑制剂是PD1阻断剂。

9. 根据权利要求1所述的药物组合,其中所述检查点抑制剂是PD-L1阻断剂。

10. 根据权利要求1所述的药物组合,其中所述检查点抑制剂是抗PD-L1抗体。

11. 根据权利要求1所述的药物组合,其中所述检查点抑制剂是抗PD-1抗体。

12. 根据权利要求8所述的药物组合,其中所述PD1阻断剂选自尼沃鲁单抗、兰伯丽珠单抗、CT-011及AMP-224。

13. 根据权利要求9所述的药物组合,其中所述PD-L1阻断剂是BMS-936559。

14. 根据权利要求2所述的试剂盒,其中所述治疗IIIb期到IV期黑色素瘤的指导包括向IIIb期到IV期黑色素瘤患者施用单纯疱疹病毒和抗CTLA-4抗体的教导,所述单纯疱疹病毒在第1周第1天以达4.0 ml的 $10^6$  PFU/mL剂量,随后在第4周第1天以及之后每2周以达4.0 ml的 $10^8$  PFU/mL剂量通过瘤内注射施用到可注射的皮肤、皮下和结节肿瘤中,直到完全反应,并且所述抗CTLA-4抗体在第三剂所述单纯疱疹病毒之后开始每3周以3 mg/kg剂量静脉内施用,输注4次。

15. 一种制造根据权利要求2或14所述的试剂盒的方法。

## 使用单纯疱疹病毒和免疫检查点抑制剂治疗黑色素瘤的方法

[0001] 本申请为分案申请,原申请的申请日为2013年8月30日,申请号为201380045105.2 (PCT/US2013/057542),发明名称为“使用单纯疱疹病毒和免疫检查点抑制剂治疗黑色素瘤的方法”。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本申请依据35U.S.C.119(e)要求2012年8月30日提交的美国专利申请号61/694,963以及2013年7月15日提交的美国专利申请号61/846,147的权益,其通过引用并入本文中。

### 背景技术

[0004] 黑色素瘤是黑素细胞(源自于神经嵴的细胞)的肿瘤。尽管大多数黑色素瘤是在皮肤中发生,但它们也可能起源于粘膜表面或神经嵴细胞迁移的其它部位。黑色素瘤主要见于成人,并且超过半数的病例是在皮肤表面上正常的区域发生。提示恶变的痣的早期体征包括加深或变化的变色、瘙痒、大小增加或卫星的发展。后期体征有溃疡或出血。女性患黑色素瘤较常见于四肢,而男性较常见于躯干或头颈部,但黑色素瘤可以起源于皮肤表面上的任何部位。

[0005] 预后受临床因素和组织学因素以及病变解剖位置的影响。黑色素瘤侵袭的厚度和/或水平、有丝分裂指数、肿瘤浸润性淋巴细胞以及在原发部位处的溃疡或出血都会影响预后。I期黑色素瘤中显微镜可见的卫星可能是一种预后不良的组织因素,但这一点存在争议(Leon等人,Archives of Surgery 126 (2):1461-1468,1991)。在四肢上或在女性中发生的黑色素瘤似乎具有较佳预后(Blois等人,Cancer 52 (7):1330-1341,1983;Clark等人,J.National Cancer Inst.81 (24):1893-1904,1989;Slinguff等人,Cancer 70 (7):1917-1927,1992;Koh,NEJM 325 (3):171-182,1991;Shumate等人,Am J Surgery 162 (4):315-319,1991)。临床分期基于肿瘤是否已经扩散到局部淋巴结或远端部位。对于在临幊上局限于原发部位的疾病,黑色素瘤局部侵袭的厚度和深度越大,则淋巴结转移的几率越高,并且预后越差。黑色素瘤可以通过局部扩张(经由淋巴系统)和/或通过血液途径扩散到远端部位。转移可能涉及到任何器官,但肺和肝是常见的部位。复发的风险可能大致上随时间而降低,不过晚期复发并不少见。

[0006] 未扩散超过初始部位的黑色素瘤是完全可治愈的。这些病例中大部分是尚未侵袭超过乳突真皮层的那些肿瘤(II期;厚度1.0mm或更小)。已经扩散到局部淋巴结的黑色素瘤(III期)可以通过广泛(2到4cm)切除原发肿瘤并清扫所涉及的局部淋巴结来治愈(Karakousis等人,Ann Surg Oncol 13:533-541,2006;Batch等人,J Clin Oncol.27 (36):6199-6206,2009)。已经扩散到远端部位的黑色素瘤(IV期)很少能通过标准疗法治愈,不过伊匹单抗(ipilimumab)和威罗菲尼(vemurafenib)都提供了生存益处,并且通过切除转移偶尔能实现长期存活(Overett和Shiu,Cancer 56:1222-1230,1985)。

[0007] 在美国(USA),黑色素瘤对于男性是第五大常见癌症,并且对于女性是第六大常见癌症,并且预计在2012年估计有76,250例新病例和9,180例死亡(Siegel等人,CACancer J

Clin.62(1):10-29,2102)。在欧洲,黑色素瘤的年发病率略低于美国,每100,000人中有约7例,相较而言在美国每100,000人中有18例(Ries等人,2000)。在欧洲,在2008年诊断出约83,729例新病例,并且预计在2010年有约85,086例新病例(GLOBOCAN 2008,2010)。黑色素瘤的发病率在全世界范围内正迅速增加,其中在1973到2002年间,美国增加270%。这是除女性肺癌外的任何癌症中增加最迅速的(Jemal等人,CA Cancer J Clin.56:106-130,2006;Ries等人,Cancer 88:2398-2424,2000)。

[0008] 针对无法切除或晚期成人黑色素瘤的传统非手术疗法包括化学疗法(单独或组合的达卡巴嗪(Dacarbazine)、替莫唑胺(temozolo mide)或其它药剂)或白细胞介素-2。尽管一些方案产生了客观反应,但这些反应通常时间短。针对有限百分比的治疗患者,新疗法例如B RAF抑制(威罗菲尼)和免疫刺激剂(伊匹单抗)已经在总体存活方面显示出相较于对照治疗的显著改善,不过毒性仍是个问题。

[0009] 尽管取得了这些成就,但黑色素瘤在全世界范围内仍迅速地增加。需要另外的黑色素瘤治疗。本发明满足了这一需求和其它需求。

## 发明内容

[0010] 本发明提供了一种用于治疗黑色素瘤的方法,该方法包括向IIIb期到IV期黑色素瘤患者施用有效量的免疫检查点抑制剂和单纯疱疹病毒,其中单纯疱疹病毒缺乏功能性ICP34.5基因、缺乏功能性ICP47基因并且包含编码人GM-CSF的基因。在一个实施方案中,所述单纯疱疹病毒的施用在施用所述免疫检查点抑制剂施用之前。在另一个实施方案中,所述检查点抑制剂是抗CTLA-4抗体。在一个相关实施方案中,所述抗CTLA-4抗体是伊匹单抗。在另一个实施方案中,所述抗CTLA-4抗体是曲美木单抗(tremelimumab)。在另一个实施方案中,所述检查点抑制剂是PD1阻断剂。在另一个实施方案中,所述检查点抑制剂是PD-L1阻断剂。在另一个实施方案中,所述检查点抑制剂是抗PD1抗体。在另一个实施方案中,所述检查点抑制剂是抗PD-L1抗体。在另一个实施方案中,所述PD1阻断剂是尼沃鲁单抗(nivolumab)。在另一个实施方案中,所述PD1阻断剂是兰伯丽珠单抗(lambrolizumab)。在另一个实施方案中,所述PD1阻断剂是尼沃鲁单抗。在另一个实施方案中,所述PD1阻断剂是CT-011。在另一个实施方案中,所述PD1阻断剂是AMP-224。在另一个实施方案中,所述PD-L1阻断剂是BMS-936559。在另一个实施方案中,所述检查点抑制剂是LAG-3抑制剂。在另一个实施方案中,所述LAG-3抑制剂是IMP321。在另一个实施方案中,所述检查点抑制剂是B7-H3抑制剂。在另一个实施方案中,所述B7-H3抑制剂是MGA271。在另一个实施方案中,所述检查点抑制剂是B7-H4抑制剂。在另一个实施方案中,所述检查点抑制剂是TIM3抑制剂。在另一个实施方案中,所述单纯疱疹病毒是拉他莫基(talimogene laherparepvec)。

[0011] 本发明提供一种用于治疗黑色素瘤的方法,该方法包括向IIIb期到IV期黑色素瘤患者施用单纯疱疹病毒和抗CTLA-4抗体,所述单纯疱疹病毒是在第1周第1天以达4.0ml的 $10^6$ PFU/mL剂量,随后在第4周第1天以及之后每2周以达4.0ml的 $10^8$ PFU/mL剂量通过瘤内注射施用到可注射的皮肤、皮下和结节肿瘤中,直到完全反应,并且所述抗CTLA-4抗体是在第三剂单纯疱疹病毒之后开始每3周以3mg/kg剂量静脉内施用,输注4次,并且其中所述单纯疱疹病毒缺乏功能性ICP34.5基因、缺乏功能性ICP47基因并包含编码人GM-CSF的基因。在一个实施方案中,所述单纯疱疹病毒的施用在所述抗CTLA-4抗体施用之前。在一个实施方

案中，所述抗CTLA-4抗体是伊匹单抗。在另一个实施方案中，所述单纯疱疹病毒是拉他莫基。

[0012] 本发明提供一种推广用于治疗IIIb期到IV期黑色素瘤患者的组合治疗方法，所述组合治疗包含单纯疱疹病毒和免疫检查点抑制剂，所述单纯疱疹病毒缺乏功能性ICP34.5基因、缺乏功能性ICP47基因并包含编码人GM-CSF的基因。在一个实施方案中，所述免疫检查点抑制剂是抗CTLA-4抗体。在一个相关实施方案中，所述抗CTLA-4抗体是伊匹单抗。在另一个实施方案中，所述抗CTLA-4抗体是曲美木单抗。在另一个实施方案中，所述检查点抑制剂是PD1阻断剂。在另一个实施方案中，所述检查点抑制剂是PD-L1阻断剂。在另一个实施方案中，所述检查点抑制剂是抗PD1抗体。在另一个实施方案中，所述PD1阻断剂是尼沃鲁单抗。在另一个实施方案中，所述PD1阻断剂是兰伯丽珠单抗。在另一个实施方案中，所述PD1阻断剂是尼沃鲁单抗。在另一个实施方案中，所述PD1阻断剂是CT-011。在另一个实施方案中，所述PD1阻断剂是AMP-224。在另一个实施方案中，所述PD-L1阻断剂是BMS-936559。在另一个实施方案中，所述检查点抑制剂是LAG-3抑制剂。在另一个实施方案中，所述LAG-3抑制剂是IMP321。在另一个实施方案中，所述检查点抑制剂是B7-H3抑制剂。在另一个实施方案中，所述B7-H3抑制剂是MGA271。在另一个实施方案中，所述检查点抑制剂是B7-H4抑制剂。在另一个实施方案中，所述检查点抑制剂是TIM3抑制剂。在另一个实施方案中，所述治疗包括向IIIb期到IV期黑色素瘤患者施用单纯疱疹病毒和抗CTLA-4抗体，所述单纯疱疹病毒是在第1周第1天以达4.0ml的 $10^6$ PFU/mL剂量，随后在第4周第1天以及之后每2周以达4.0ml的 $10^8$ PFU/mL剂量通过瘤内注射施用到可注射的皮肤、皮下和结节肿瘤中，直到完全反应，并且所述抗CTLA-4抗体是在第三剂单纯疱疹病毒之后开始每3周以3mg/kg剂量静脉内施用，输注4次。在另一个实施方案中，所述单纯疱疹病毒是拉他莫基。在又另一个实施方案中，所述推广是通过包装说明书，其中所述包装说明书提供了接受单纯疱疹病毒与免疫检查点抑制剂的组合的癌症治疗的教导。在另一个实施方案中，所述推广是通过附有含单纯疱疹病毒的制剂的包装说明书。在又另一个实施方案中，所述推广是通过与医师或健康护理提供者的书面沟通。在另一个实施方案中，所述推广是通过与医师或健康护理提供者的口头沟通。在另一个实施方案中，在所述推广之后是用单纯疱疹病毒治疗患者。

[0013] 本发明提供一种向IIIb期到IV期黑色素瘤患者进行教导的方法，所述方法是通过提供接受单纯疱疹病毒和免疫检查点抑制剂的组合治疗以延长患者的存活的教导来进行，所述单纯疱疹病毒缺乏功能性ICP34.5基因、缺乏功能性ICP47基因并且包含编码人GM-CSF的基因。在一个实施方案中，所述免疫检查点抑制剂是抗CTLA-4抗体。在另一个实施方案中，所述抗CTLA-4抗体是曲美木单抗。在另一个实施方案中，所述检查点抑制剂是PD1阻断剂。在另一个实施方案中，所述检查点抑制剂是PD-L1阻断剂。在另一个实施方案中，所述检查点抑制剂是抗PD1抗体。在另一个实施方案中，所述检查点抑制剂是抗PD-L1抗体。在另一个实施方案中，所述PD1阻断剂是尼沃鲁单抗。在另一个实施方案中，所述PD1阻断剂是兰伯丽珠单抗。在另一个实施方案中，所述PD1阻断剂是尼沃鲁单抗。在另一个实施方案中，所述PD1阻断剂是CT-011。在另一个实施方案中，所述PD1阻断剂是AMP-224。在另一个实施方案中，所述PD-L1阻断剂是BMS-936559。在另一个实施方案中，所述检查点抑制剂是LAG-3抑制剂。在另一个实施方案中，所述LAG-3抑制剂是IMP321。在另一个实施方案中，所述检查点抑

制剂是B7-H3抑制剂。在另一个实施方案中，所述B7-H3抑制剂是MGA271。在另一个实施方案中，所述检查点抑制剂是B7-H4抑制剂。在另一个实施方案中，所述检查点抑制剂是TIM3抑制剂。在一个实施方案中，所述治疗包括向IIIB期到IV期黑色素瘤患者施用单纯疱疹病毒和抗CTLA-4抗体，所述单纯疱疹病毒是在第1周第1天以达4.0mL的 $10^6$ PFU/mL剂量，随后在第4周第1天以及之后每2周以达4.0mL的 $10^8$ PFU/mL剂量通过瘤内注射施用到可注射的皮肤、皮下和结节肿瘤中，直到完全反应，并且所述抗CTLA-4抗体是在第三剂单纯疱疹病毒之后开始每3周以3mg/kg剂量静脉内施用，输注4次。在一个相关实施方案中，所述抗CTLA-4抗体是伊匹单抗。在另一个实施方案中，所述单纯疱疹病毒是拉他莫基。

[0014] 本发明提供一种试剂盒，所述试剂盒包括了缺乏功能性ICP34.5基因、缺乏功能性ICP47基因并且包含编码人GM-CSF的基因的单纯疱疹病毒，以及附有通过使用单纯疱疹病毒和免疫检查点抑制剂的组合来治疗IIIB期到IV期黑色素瘤的指导的包装说明书或标签。在一个实施方案中，所述免疫检查点抑制剂是抗CTLA-4抗体。在另一个实施方案中，所述抗CTLA-4抗体是曲美木单抗。在另一个实施方案中，所述检查点抑制剂是PD1阻断剂。在另一个实施方案中，所述检查点抑制剂是PD-L1阻断剂。在另一个实施方案中，所述检查点抑制剂是抗PD-L1抗体。在另一个实施方案中，所述检查点抑制剂是抗PD1抗体。在另一个实施方案中，所述PD1阻断剂是尼沃鲁单抗。在另一个实施方案中，所述PD1阻断剂是兰伯丽珠单抗。在另一个实施方案中，所述PD1阻断剂是尼沃鲁单抗。在另一个实施方案中，所述PD1阻断剂是CT-011。在另一个实施方案中，所述PD-L1阻断剂是AMP-224。在另一个实施方案中，所述PD-L1阻断剂是BMS-936559。在另一个实施方案中，所述检查点抑制剂是LAG-3抑制剂。在另一个实施方案中，所述LAG-3抑制剂是IMP321。在另一个实施方案中，所述检查点抑制剂是B7-H3抑制剂。在另一个实施方案中，所述B7-H3抑制剂是MGA271。在另一个实施方案中，所述检查点抑制剂是B7-H4抑制剂。在另一个实施方案中，所述检查点抑制剂是TIM3抑制剂。在另一个实施方案中，所述治疗IIIB期到IV期黑色素瘤的指导包括有关向IIIB期到IV期黑色素瘤患者施用单纯疱疹病毒和抗CTLA-4抗体的说明，所述单纯疱疹病毒是在第1周第1天以达4.0mL的 $10^6$ PFU/mL剂量，随后在第4周第1天以及之后每2周以达4.0mL的 $10^8$ PFU/mL剂量通过瘤内注射施用到可注射的皮肤、皮下和结节肿瘤中，直到完全反应，并且所述抗CTLA-4抗体是在第三剂单纯疱疹病毒之后开始每3周以3mg/kg剂量静脉内施用，输注4次。在一个相关实施方案中，所述抗CTLA-4抗体是伊匹单抗。在另一个实施方案中，所述单纯疱疹病毒是拉他莫基。在一个相关实施方案中是一种制造如以上所描述的试剂盒的方法。

## 具体实施方式

[0015] 本发明提供了一种用于治疗黑色素瘤的方法，所述方法包括向IIIB期到IV期黑色素瘤患者施用有效量的免疫检查点抑制剂和单纯疱疹病毒，其中所述单纯疱疹病毒缺乏功能性ICP34.5基因、缺乏功能性ICP47基因并且包含编码人粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)的基因。通过将所述病毒直接注射到可及的肿瘤病变中来转染肿瘤细胞，其中所述病毒在肿瘤细胞中复制，引起肿瘤细胞坏死以及肿瘤抗原的释放。人GM-CSF的局部表达诱导针对经过注射和远端肿瘤种植处肿瘤抗原的局部和远端免疫反应。

[0016] CTLA-4是一种下调T细胞活化路径的免疫检查点分子。CTLA-4是T细胞活化的负调

控因子。经显示,阻断CTLA-4可增进T细胞活化和增殖。预计单纯疱疹病毒和抗CTLA-4抗体的组合可通过两种不同机制增进T细胞活化,以便增大针对所述病毒在肿瘤中裂解性复制之后释放的肿瘤抗原的抗肿瘤免疫反应。因此,单纯疱疹病毒和抗CTLA-4抗体的组合可以增进经过注射的肿瘤和未注射/远端肿瘤的破坏,改善总体肿瘤反应,并且延长总体存活,特别是使总体存活相较于仅使用抗CTLA-4抗体所获得的总体存活延长。

[0017] 如本文所使用,术语“免疫检查点抑制剂”是指整体或部分减少、抑制、干扰或调节一种或多种检查点蛋白质的分子。检查点蛋白质调控T细胞活化或功能。已知多种检查点蛋白质,如CTLA-4以及其配体CD80和CD86;以及PD1及其配体PDL1和PDL2 (Pardoll, Nature Reviews Cancer 12:252-264, 2012)。这些蛋白质负责T细胞反应的共刺激或抑制相互作用。免疫检查点蛋白调控并维持自身耐受性以及生理免疫反应的持续时间和幅度。免疫检查点抑制剂包括抗体或源自于抗体。

[0018] 除非另作具体说明,否则如本文所使用,术语“抗体”包括提到的任何同型或子类的糖基化和非糖基化免疫球蛋白,或其与完整抗体竞争特异性结合的抗原结合区,包括单克隆抗体、双特异性抗体、微型抗体、结构域抗体、合成抗体、抗体模拟物、嵌合抗体、人源化抗体、人类抗体、抗体融合物、抗体偶联物、单链抗体、抗体衍生物、抗体类似物及其对应的片段。还包括抗体的免疫片段(例如,Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>或scFv),不管此类抗体是经由免疫法,通过重组技术,借助于体外合成手段还是其它方法整体或部分产生的。因此,如本文中所使用,术语“抗体”包括那些通过重组手段制备、表达、产生或分离的抗体在内,如(a)从关于人免疫球蛋白基因的转基因动物(例如小鼠)或由人免疫球蛋白基因制备的杂交瘤分离的抗体;(b)从被转染以表达抗体的宿主细胞(例如由转染瘤(transfoma))分离的抗体;(c)从重组的组合抗体库分离的抗体;及(d)通过涉及将免疫球蛋白基因序列剪接到其它DNA序列上的任何其它手段制备、表达、产生或分离的抗体。这些抗体具有源自于两个不同动物种类的生殖系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区。然而,在某些实施方案中,这些抗体可以经历体外诱变(或,当使用关于人免疫球蛋白序列的转基因动物时,体内体细胞诱变),并因此,这些抗体的V<sub>H</sub>区和V<sub>L</sub>区的氨基酸序列是尽管源自于特定物种(例如人类)的生殖系V<sub>H</sub>和V<sub>L</sub>序列并且与之相关,但可能并非在体内天然存在于所述物种的抗体生殖系谱系内的序列。除非另作指示,否则术语“抗体”除包含两个全长重链和两个全长轻链的抗体外,还包括其衍生物、变体、片段及突变蛋白。在一些情形中,“抗体”可包括较少链,如在骆驼中天然存在的可能仅包含重链的抗体。

[0019] 如本文所使用,术语“患者”或“受试者”可互换使用,并且意思指哺乳动物,包括但不限于,人类或非人类哺乳动物,如牛、马、犬、绵羊或猫。优选地,患者是人类。

[0020] 如本文所使用,“客观反应率”是遵照修订的免疫相关反应标准(Immune-Related Response Criteria, irRC) (Wolchok等人,Clin Cancer Res, 15 (23) :7412-7420, 2009; 整体并入本文中)确定的完全反应或部分反应的发生率。

[0021] 如本文所使用,“反应时间”是指遵照修订的irRC,从治疗开始到第一次确定的客观反应的日期的时间。

[0022] 如本文所使用,“反应持续时间”是指从第一次确定的客观反应到无论哪个先发生的确定的疾病进展(遵照修订的irRC)或死亡时。

[0023] 如本文所使用,“无进展存活”是遵照修订的irRC标准,从治疗开始到第一次确定

的疾病进展的日期的时间。

[0024] 如本文所使用，“存活”是指患者保持生存状态，并且包括总体存活以及无进展存活。1年存活率和2两年存活率是指在12个月或24个月存活的受试者的比例的K-M估值。

[0025] “延长存活”意思指使治疗的患者的总体存活和/或无进展存活相对于对照治疗方案(如仅用伊匹单抗进行的治疗)增加。存活的监测是在起始治疗之后或初始诊断之后持续至少约一个月、两个月、四个月、六个月、九个月或至少约1年，或至少约2年，或至少约3年，或至少约4年，或至少约5年，或至少约10年等。

[0026] “减少或抑制”意思指能够引起20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高百分比的总体降低。减少或抑制可以涉及所治疗的病症的症状、转移的存在或大小，或原发肿瘤的大小。

[0027] 对于本发明的方法，术语向患者“教导”意思指通过任何手段，但优选通过书面手段提供有关适用疗法、药物、治疗、治疗方案等的指导。教导可以是规定治疗过程的形式，或者可以是包装说明书或其它书面推广材料的形式。

[0028] 对于本发明的方法，术语“推广”意思指通过任何手段，包括书面形式(如以包装说明书形式)来提供、广告、销售或描述特定药物、药物组合或治疗模式。推广在本文中是指如单纯疱疹病毒等治疗剂的推广，其中对于如黑色素瘤治疗等适应症，所述单纯疱疹病毒缺乏功能性ICP34.5基因，缺乏功能性ICP47基因并包含了编码人GM-CSF的基因，其中此类推广由于已证实在受试者群中引起统计学显著的治疗功效和可接受的安全性而获得了食品药品监督管理局(FDA)批准。推广还包括了用于如黑色素瘤治疗等适应症的单纯疱疹病毒与免疫检查点抑制剂的组合，其中所述单纯疱疹病毒缺乏功能性ICP34.5基因，缺乏功能性ICP47基因并包含了编码人GM-CSF的基因。

[0029] 术语“营销”在本文中用于描述产品(例如药物)的推广、销售或分配。营销特定地包括出于使一种产品商业化的目的而进行的包装、推广和任何商业活动。

[0030] 本发明提供一种单纯疱疹病毒(HSV)，所述病毒缺乏功能性ICP34.5基因，缺乏功能性ICP47基因并包含了编码人GM-CSF的基因。在一个实施方案中，所述单纯疱疹病毒是HSV-1。ICP34.5基因位于HSV的较长区域的末端重复序列中并因此每个基因组存在两个拷贝。先前的研究已经显示，神经毒力基因ICP34.5的功能性缺失使所述病毒无毒力。ICP47基因是位于HSV特有的较短区域中。ICP47基因产物与抗原处理相关转运蛋白(TAP1和TAP2)相互作用并经由I类MHC分子阻断抗原处理。ICP47基因的缺失使受感染细胞内的抗原处理更强，并且预期会引起针对受感染细胞的免疫反应的伴随增加。GM-CSF是已知涉及到免疫反应刺激的一种细胞激素。使用质粒DNA进行同源重组，可以将异源基因(如编码人GM-CSF的异源基因)插入HSV病毒基因组中，并且病毒基因，如ICP34.5和ICP47可以功能性缺失。在一个实施方案中，所述单纯疱疹病毒是拉他莫基。

[0031] 拉他莫基，HSV-1[JS1病毒株]ICP34.5-/ICP47-/hGM-CSF(先前称为OncovEX<sup>GM-CSF</sup>)是包含在实体肿瘤内选择性复制的免疫增强型HSV-1的一种瘤内递送的溶瘤免疫疗法。(Lui等人, Gene Therapy, 10:292-303, 2003; 美国专利号7,223,593和美国专利号7,537,924)。HSV-1源自于JS1病毒株，在欧洲细胞培养物保藏中心(European collection of cell cultures, ECAAC)以登记号01010209保藏。在拉他莫基中，编码ICP34.5的HSV-1病毒基因已经功能性缺失。在HSV感染期间充当毒力因子的ICP34.5的功能性缺失限制了不分裂细胞的

复制并且使所述病毒不具致病性。已经在多项临床研究中显示ICP34.5功能性缺失的HSV的安全性(MacKie等人,Lancet 357:525-526,2001;Markert等人,Gene Ther 7:867-874,2000;Rampling等人,Gene Ther 7:859-866,2000;Sundaresan等人,J.Virol 74:3822-3841,2000;Hunter等人,J.Virol Aug;73 (8) :6319-6326,1999)。此外,拉他莫基中的ICP47(它阻止病毒抗原呈递到主要组织相容性复合体I类和II类分子)已经功能性缺失。ICP47的功能性缺失还导致US11(一种促进肿瘤细胞中病毒生长,而不降低肿瘤选择性的基因)的早期表达。人GM-CSF(一种涉及免疫反应刺激的细胞激素)的编码序列已经被插入拉他莫基的病毒基因组中。编码人GM-CSF的基因的插入使得它替代几乎所有的ICP34.5基因,从而确保在拉他莫基与野生型病毒之间的任何潜在重组事件只能产生失能、不具致病性的病毒,而不会产生带有人GM-CSF的基因的野生型病毒。HSV胸苷激酶(TK)基因在拉他莫基中保持完整,这使所述病毒对如阿昔洛韦(acyclovir)等抗病毒剂敏感。因此,必要时,可以使用阿昔洛韦来阻断拉他莫基复制。

[0032] 拉他莫基通过使病毒在肿瘤中复制并且通过GM-CSF的局部表达增强对抗肿瘤免疫反应的诱导作用来产生直接溶瘤作用。由于黑色素瘤是一种播散性疾病,故这种双重活性对于治疗性治疗是有益的。预期的临床作用包括破坏经过注射的肿瘤;破坏局部、限于局部和远端的未注射的肿瘤;减少新转移的发生;在治疗初始存在的疾病之后,降低总体进展率和复发率;及延长总体存活。

[0033] 已经在多种体外(细胞系)和体内鼠类肿瘤模型中测试拉他莫基的功效,并且已显示,在与用于临床研究的剂量相当的剂量下,拉他莫基可根除肿瘤或大致上抑制其生长。非临床评价也已经确定,GM-CSF增强所产生的免疫反应,从而增强经过注射和未注射的肿瘤的反应,并且ICP47缺失引起I类MHC分子的表面含量增加。已经将拉他莫基注射到正常小鼠和带有肿瘤的小鼠中以评估其安全性。一般来说,所述病毒具有良好耐受性,并且高达每剂 $1 \times 10^8$  PFU的剂量未引起任何安全性相关问题。(参见例如,Liu等人,Gene Ther 10:292-303,2003)

[0034] 已经或正在对若干晚期肿瘤类型(晚期实体肿瘤、黑色素瘤、头颈鳞状细胞癌及胰腺癌)进行临床研究,其中超过400位受试者用拉他莫基进行了治疗(参见例如,Hu等人,Clin Can Res 12:6737-6747,2006;Harrington等人,J Clin Oncol.27 (15a) :摘要6018,2009;Kaufman等人,Ann Surgic Oncol.17:718-730,2010;Kaufman和Bines,Future Oncol.6 (6) :941-949,2010)。临床数据显示,拉他莫基有可能对晚期黑色素瘤患者提供总体临床效益。确切地说,在IIIc期到IV期黑色素瘤中实现了较高的完全反应率(Scenzer等人,J.Clin.Oncol.27 (12) :907-913,2009)。此外,还在经过注射和未注射的部位观察到反应,包括内脏部位。

[0035] 免疫系统具有多种抑制性路径,这些路径对于维持自身耐受性和调节免疫反应至关重要。在T细胞中,反应的幅度和质量是通过T细胞受体识别抗原起始,并且受免疫检查点蛋白调控,这些免疫检查点蛋白平衡了共刺激信号与抑制信号。

[0036] 细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4(CTLA-4)是一种下调T细胞活化路径的免疫检查点蛋白(Fong等人,Cancer Res.69 (2) :609-615,2009;Weber Cancer Immunol.Immunother,58:823-830,2009)。经显示,阻断CTLA-4可增进T细胞活化和增殖。CTLA-4抑制剂包括抗CTLA-4抗体。抗CTLA-4抗体结合到CTLA-4并且阻断CTLA-4与它在抗原呈递细胞上表达的配

体CD80/CD86的相互作用，并由此阻断由这些分子相互作用引起的免疫反应的负面下调。抗CTLA-4抗体的实例描述于美国专利号：5,811,097、5,811,097、5,855,887、6,051,227、6,207,157、6,682,736、6,984,720及7,605,238中。一种抗CDLA-4抗体是曲美木单抗(替西木单抗(ticilimumab),CP-675,206)。在一个实施方案中，抗CTLA-4抗体是伊匹单抗(又称10D1,MDX-D010)，一种结合到CTLA-4的完全人类单克隆IgG抗体。伊匹单抗是以Yervoy<sup>TM</sup>的名称销售并且已经被批准用于治疗无法切除或转移性黑色素瘤。

[0037] 另一种免疫检查点蛋白是程序性细胞死亡蛋白1(PD-1)。PD1在针对感染的发炎性反应时限制周围组织中的T细胞活性，并且为了限制自体免疫性，体外PD1阻断响应于特异性抗原靶或混合淋巴细胞反应中的异体细胞的攻击而增进T细胞增殖和细胞激素产生。在PD1阻断情况下，PD1表达与反应之间显示出强相关性(Pardoll,Nature Reviews Cancer,12:252-264,2012)。PD1阻断可以通过多种机制实现，包括了结合PD1或其配体PDL1的抗体。PD1和PDL1阻断剂的实例描述于以下各案中：美国专利号7,488,802、7,943,743、8,008,449、8,168,757、8,217,149；以及PCT公开的专利申请号W003042402、W02008156712、W02010089411、W02010036959、W02011066342、W02011159877、W02011082400及W02011161699。在某些实施方案中，PD1阻断剂包括抗PD-L1抗体。在某些其它实施方案中，PD1阻断剂包括抗PD1抗体及类似结合蛋白，如尼沃鲁单抗(MDX 1106、BMS 936558、ONO 4538)，一种结合PD-1并通过其配体PD-L1和PD-L2阻断PD-1活化的完全人IgG4抗体；兰伯丽珠单抗(MK-3475或SCH 900475)，一种针对PD-1的人源化单克隆IgG4抗体；CT-011，一种结合PD1的人源化抗体；AMP-224，一种B7-DC的融合蛋白；抗体Fc部分；用于阻断PD-L1(B7-H1)的BMS-936559(MDX-1105-01)。

[0038] 其它免疫检查点抑制剂包括淋巴细胞活化基因-3(LAG-3)抑制剂，如IMP321，一种可溶性Ig融合蛋白(Brignone等人，2007,J. Immunol. 179:4202-4211)。其它免疫检查点抑制剂包括B7抑制剂，如B7-H3和B7-H4抑制剂。确切地说，抗B7-H3抗体MGA271(Loo等人，2012,Clin.Cancer Res. 7月15日(18) 3834)。还包括TIM3(T细胞免疫球蛋白结构域和粘蛋白结构域3)抑制剂(Fourcade等人，2010,J.Exp.Med. 207:2175-86；及Sakuishi等人，2010,J.Exp.Med. 207:2187-94)。

[0039] 不希望受本发明的任何理论束缚，在一个实施方案中，与单独伊匹单抗相比较，单纯疱疹病毒和免疫检查点抑制剂的组合可以增加患者体内肿瘤特异性T细胞反应的量值，这一效应特别是在先前未治疗、无法切除的稳定IIIb-IV期黑色素瘤中可以观察到，其中所述单纯疱疹病毒缺乏功能性ICP34.5基因，缺乏功能性ICP47基因并且包含了编码人GM-CSF的基因。预期在拉他莫基于肿瘤中进行裂解性复制之后，所述组合可增强针对肿瘤抗原的全身抗肿瘤反应。因此，所述组合疗法可以增进经过注射的肿瘤以及未注射/远端肿瘤(包括微转移疾病)的破坏，从而改善总体肿瘤反应率及反应持续时间。总体而言，这些作用可以促成总体存活的改善，特别是当与仅使用伊匹单抗的治疗相比较时。

[0040] 预期使用拉他莫基与免疫检查点抑制剂的组合分别通过在局部表达GM-CSF增强裂解性病毒复制而释放肿瘤抗原之后，增进树突状细胞介导的肿瘤抗原呈递(Kaufman等人，Ann Surg Oncol., 17(3):718-730,2010)，以及通过阻断T淋巴细胞上由免疫检查点抑制剂(如CTLA-4)介导的抑制性信号来拮抗免疫耐受性(Kapadia和Fong, J Clin Oncol., 23:8926-8928,2005)，以不同机制增进T细胞活化。

[0041] 经显示,用拉他莫基进行的单药疗法在2期试验中展现出相当大比例的反应和双重反应,并且预期所述单药疗法将在总体存活方面展现临床上有意义的改善(Senzer等人,J Clin Oncol.27 (34) :5763-5771,2009)。已知伊匹单抗单药疗法引起总体存活的临床上有意义但相对适度的增加(与达卡巴嗪或肽疫苗相比较,增加约2到3个月),并且仅在少数受试者(约10.9%)中提供完全反应和部分反应。另外,利用伊匹单抗引起的反应通常较晚发生,其中10%的患者在初始进展之后才对疗法具有反应(Hodi等人,N Eng J Med.,363:711-723,2010;Robert等人,N Eng J Med.,364:2517-2526,2011)。这限制了所述药剂在患有侵袭性相对较高的疾病的患者中的效用。相较于仅使用伊匹单抗,利用拉他莫基的组合可以改善反应时间。

[0042] 将单纯疱疹病毒与免疫检查点抑制剂的组合施用给IIIb期到IV期黑色素瘤患者,其中所述单纯疱疹病毒缺乏功能性ICP34.5基因,缺乏功能性ICP47基因并包含了编码人GM-CSF的基因。黑色素瘤的分期是基于美国癌症联合委员会(American Joint Commission on Cancer)(AJCC Cancer Staging Manual,Edge等人编,Springer,第7版,2010;整体并入本文中)所开发的TNM系统进行。单纯疱疹病毒和免疫检查点抑制剂是以符合良好医学实践的方式进行配制、定剂量和施用。在一个实施方案中,拉他莫基是在包含2%山梨糖醇、4%肌醇的磷酸盐缓冲生理盐水(pH 7.2)的缓冲液中配制。

[0043] 拉他莫基是通过瘤内注射施用到可注射的皮肤、皮下和结节肿瘤中,其剂量在第1周第1天是达4.0ml的 $10^6$ 个空斑形成单位/毫升(PFU/mL),随后在第4周第1天及之后每2周( $\pm$ 3天)剂量是达4.0ml的 $10^8$ PFU/mL。拟注射到肿瘤中的拉他莫基的推荐体积取决于肿瘤的大小并且应当根据表1中的注射体积准则确定。

[0044] 表1基于肿瘤大小的拉他莫基注射体积准则。

肿瘤大小(最长尺寸)	最大注射体积
$\geq 5.0$ cm	4.0 ml
> 2.5 cm 到 5.0 cm	2.0 ml
> 1.5 cm 到 2.5 cm	1.0 ml
> 0.5 cm 到 1.5 cm	0.5 ml
$\leq 0.5$ cm	0.1 ml

[0045] [0046] 所有适度的可注射病变(可以利用或不利用超声波引导进行注射的皮肤、皮下及结节疾病)都应当以在个别给药情况下可用的最大给药体积注射。在每一治疗日,推荐的注射优先次序如下:自最近的一次注射以后出现的任何新的可注射肿瘤;依据肿瘤大小,以最大的肿瘤开始;任何先前无法注射但现在可注射的肿瘤。

[0047] 免疫检查点抑制剂是以包含一种或多种其它组分(如生理上可接受的载剂、赋形剂或稀释剂)的组合物形式施用。这些组合物可以包含一种或多种物质,这些物质选自由以下各物组成的组:缓冲剂;抗氧化剂,如抗坏血酸;低分子量多肽(如具有少于10个氨基酸的那些);蛋白质;氨基酸;碳水化合物,如葡萄糖、蔗糖或糊精;螯合剂,如EDTA;谷胱甘肽;稳定剂;及赋形剂。中性缓冲生理盐水或混有特定血清白蛋白的生理盐水是适当稀释剂的实例。根据适当工业标准,还可以添加防腐剂,如苯甲醇。所述组合物可以使用适当赋形剂溶液(例如蔗糖)作为稀释剂配制成冻干产物形式。适合的组分在所采用的剂量和浓度下对接

受者无毒。在一个实施方案中，免疫检查点抑制剂是抗CTLA-4抗体。在另一个实施方案中，抗CTLA-4抗体是在20mM Tris HC1、0.1M氯化钠、0.1%w/v的甘露糖醇、0.1mM三胺五乙酸、0.01%w/v的聚山梨醇酯80 (pH 7.0) 中以5mg/ml配制的伊匹单抗。可以用于药物制剂中的组分的其它实例见于包括第21版(2005)在内的任何Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company, Easton, PA) 中。

[0048] 伊匹单抗是在第三剂拉他莫基之后开始每3周(±3天)以3mg/kg剂量经90(±15)分钟静脉内施用，输注4次。当在同一天施用拉他莫基和伊匹单抗时，必须首先施用拉他莫基。

[0049] 疗法的持续时间将持续医嘱的时间，或持续直到达到希望的治疗作用(例如本文所描述的那些)。举例来说，遵照修订的免疫相关反应标准(irRC)，患者可以用拉他莫基治疗直到完全反应，所有可注射的肿瘤都已经消失，疾病进展。归因于作用机制，患者可能在获得拉他莫基的最大临床益处之前，经历现有肿瘤的生长或新肿瘤的出现。因此，预期从提供初始剂量时起，只要受试者没有需要中断治疗的临幊上显著的健康状况恶化迹象并且能够耐受所述治疗，给药应当持续至少6个月。然而，在临幊实践中，可以改变任何个别患者的治疗过程。

[0050] 本发明提供一种用于治疗黑色素瘤的方法，所述方法包括向IIIb期到IV期黑色素瘤患者施用有效量的免疫检查点抑制剂和拉他莫基。本发明提供一种用于治疗黑色素瘤的方法，所述方法包括向IIIb期到IV期黑色素瘤患者施用有效量的抗CDLA4抗体和拉他莫基。本发明提供一种用于治疗黑色素瘤的方法，所述方法包括向IIIb期到IV期黑色素瘤患者施用有效量的PD1阻断剂和拉他莫基。本发明提供一种用于治疗黑色素瘤的方法，所述方法包括向IIIb期到IV期黑色素瘤患者施用有效量的PD-L1阻断剂和拉他莫基。本发明提供一种用于治疗黑色素瘤的方法，所述方法包括向IIIb期到IV期黑色素瘤患者施用有效量的抗PD1抗体和拉他莫基。本发明提供一种用于治疗黑色素瘤的方法，所述方法包括向IIIb期到IV期黑色素瘤患者施用有效量的抗PD-L1抗体和拉他莫基。本发明提供一种用于治疗黑色素瘤的方法，所述方法包括向IIIb期到IV期黑色素瘤患者施用有效量的TIM3抑制剂和拉他莫基。本发明提供一种用于治疗黑色素瘤的方法，所述方法包括向IIIb期到IV期黑色素瘤患者施用有效量的LAG-3抑制剂和拉他莫基。本发明提供一种用于治疗黑色素瘤的方法，所述方法包括向IIIb期到IV期黑色素瘤患者施用有效量的B7-H3抑制剂和拉他莫基。本发明提供一种用于治疗黑色素瘤的方法，所述方法包括向IIIb期到IV期黑色素瘤患者施用有效量的B7-H4抑制剂和拉他莫基。本发明提供一种用于治疗黑色素瘤的方法，所述方法包括向IIIb期到IV期黑色素瘤患者施用有效量的免疫检查点抑制剂尼沃鲁单抗和拉他莫基。本发明提供一种用于治疗黑色素瘤的方法，所述方法包括向IIIb期到IV期黑色素瘤患者施用有效量的免疫检查点抑制剂伊匹单抗和拉他莫基。本发明提供一种用于治疗黑色素瘤的方法，所述方法包括向IIIb期到IV期黑色素瘤患者施用有效量的免疫检查点抑制剂曲美木单抗和拉他莫基。本发明提供一种用于治疗黑色素瘤的方法，所述方法包括向IIIb期到IV期黑色素瘤患者施用有效量的免疫检查点抑制剂兰伯丽珠单抗和拉他莫基。本发明提供一种用于治疗黑色素瘤的方法，所述方法包括向IIIb期到IV期黑色素瘤患者施用有效量的免疫检查点抑制剂CT-011和拉他莫基。本发明提供一种用于治疗黑色素瘤的方法，所述方法包括向IIIb期到IV期黑色素瘤患者施用有效量的免疫检查点抑制剂BMS-936559和拉他莫基。

本发明提供一种用于治疗黑色素瘤的方法,所述方法包括向IIIb期到IV期黑色素瘤患者施用有效量的免疫检查点抑制剂AMP-224和拉他莫基。本发明提供一种用于治疗黑色素瘤的方法,所述方法包括向IIIb期到IV期黑色素瘤患者施用有效量的免疫检查点抑制剂IMP321和拉他莫基。本发明提供一种用于治疗黑色素瘤的方法,所述方法包括向IIIb期到IV期黑色素瘤患者施用有效量的免疫检查点抑制剂MGA271和拉他莫基。

[0051] 医疗从业人员所使用的试剂盒包括单纯疱疹病毒以及附有以单纯疱疹病毒与免疫检查点抑制剂(如抗CTLA-4抗体)的组合来治疗IIIb期到IV期黑色素瘤的指导的包装说明书或标签,其中所述单纯疱疹病毒缺乏功能性ICP34.5基因,缺乏功能性ICP47基因并且包含了编码人GM-CSF的基因。在一个实施方案中,所述治疗包括向IIIb期到IV期黑色素瘤患者施用单纯疱疹病毒和抗CTLA-4抗体,所述单纯疱疹病毒是在第1周第1天以达4.0ml的 $10^6$ PFU/mL剂量,随后在第4周第1天以及之后每2周以达4.0ml的 $10^8$ PFU/mL剂量通过瘤内注射施用到可注射的皮肤、皮下和结节肿瘤中,直到完全反应,并且所述抗CTLA-4抗体是在第三剂单纯疱疹病毒之后开始每3周以3mg/kg剂量静脉内施用,输注4次。在一个实施方案中,所述抗CTLA-4抗体是伊匹单抗。在另一个实施方案中,所述单纯疱疹病毒是拉他莫基。在另一个实施方案中,所述患者患有先前未经过治疗、无法切除的IIIb期到IV期黑色素瘤。在另一个实施方案中提供了一种制造所述试剂盒的方法。

[0052] 本发明提供一种试剂盒,所述试剂盒包括拉他莫基以及附有通过使用拉他莫基和免疫检查点抑制剂的组合来治疗IIIb期到IV期黑色素瘤的指导的包装说明书或标签。本发明提供一种试剂盒,所述试剂盒包括拉他莫基以及附有通过使用拉他莫基和抗CTLA-4抗体的组合来治疗IIIb期到IV期黑色素瘤的指导的包装说明书或标签。本发明提供一种试剂盒,所述试剂盒包括拉他莫基以及附有通过使用拉他莫基和PD1阻断剂的组合来治疗IIIb期到IV期黑色素瘤的指导的包装说明书或标签。本发明提供一种试剂盒,所述试剂盒包括拉他莫基以及附有通过使用拉他莫基和PD-L1阻断剂的组合治疗IIIb期到IV期黑色素瘤的指导的包装说明书或标签。本发明提供一种试剂盒,所述试剂盒包括拉他莫基以及附有通过使用拉他莫基和抗PD-L1抗体的组合来治疗IIIb期到IV期黑色素瘤的指导的包装说明书或标签。本发明提供一种试剂盒,所述试剂盒包括拉他莫基以及附有通过使用拉他莫基和抗PD1抗体的组合来治疗IIIb期到IV期黑色素瘤的指导的包装说明书或标签。本发明提供一种试剂盒,所述试剂盒包括拉他莫基以及附有通过使用拉他莫基和TIM3抑制剂的组合来治疗IIIb期到IV期黑色素瘤的指导的包装说明书或标签。本发明提供一种试剂盒,所述试剂盒包括拉他莫基以及附有通过使用拉他莫基和LAG-3抑制剂的组合来治疗IIIb期到IV期黑色素瘤的指导的包装说明书或标签。本发明提供一种试剂盒,所述试剂盒包括拉他莫基以及附有通过使用拉他莫基和B7-H3抑制剂的组合来治疗IIIb期到IV期黑色素瘤的指导的包装说明书或标签。本发明提供一种试剂盒,所述试剂盒包括拉他莫基以及附有通过使用拉他莫基和B7-H4抑制剂的组合来治疗IIIb期到IV期黑色素瘤的指导的包装说明书或标签。本发明提供一种试剂盒,所述试剂盒包括拉他莫基以及附有通过使用拉他莫基和免疫检查点抑制剂伊匹单抗的组合来治疗IIIb期到IV期黑色素瘤的指导的包装说明书或标签。本发明提供一种试剂盒,所述试剂盒包括拉他莫基以及附有通过使用拉他莫基和免疫检查点抑制剂曲美木单抗的组合来治疗IIIb期到IV期黑色素瘤的指导的包装说明书或标签。本发明提供一种试剂盒,所述试剂盒包括拉他莫基以及附有通过使用拉他莫基和免疫检查点

抑制剂尼沃鲁单抗的组合来治疗IIIb期到IV期黑色素瘤的指导的包装说明书或标签。本发明提供一种试剂盒，所述试剂盒包括拉他莫基以及附有通过使用拉他莫基和免疫检查点抑制剂兰伯丽珠单抗的组合来治疗IIIb期到IV期黑色素瘤的指导的包装说明书或标签。本发明提供一种试剂盒，所述试剂盒包括拉他莫基以及附有通过使用拉他莫基和免疫检查点抑制剂CT-011的组合来治疗IIIb期到IV期黑色素瘤的指导的包装说明书或标签。本发明提供一种试剂盒，所述试剂盒包括拉他莫基以及附有通过使用拉他莫基和免疫检查点抑制剂AMP-224的组合来治疗IIIb期到IV期黑色素瘤的指导的包装说明书或标签。本发明提供一种试剂盒，所述试剂盒包括拉他莫基以及附有通过使用拉他莫基和免疫检查点抑制剂BMS-936559的组合来治疗IIIb期到IV期黑色素瘤的指导的包装说明书或标签。本发明提供一种试剂盒，所述试剂盒包括拉他莫基以及附有通过使用拉他莫基和免疫检查点抑制剂IMP321的组合来治疗IIIb期到IV期黑色素瘤的指导的包装说明书或标签。本发明提供一种试剂盒，所述试剂盒包括拉他莫基以及附有通过使用拉他莫基和免疫检查点抑制剂MGA271的组合来治疗IIIb期到IV期黑色素瘤的指导的包装说明书或标签。

[0053] 还提供一种推广用于治疗IIIb期到IV期黑色素瘤患者的组合治疗方法，所述组合治疗包含单纯疱疹病毒和免疫检查点抑制剂，所述单纯疱疹病毒缺乏功能性ICP34.5基因，缺乏功能性ICP47基因并包含了编码人GM-CSF的基因。在一个实施方案中，所述免疫检查点抑制剂是抗CTLA-4抗体。在一个实施方案中，所述治疗包括向IIIb期到IV期黑色素瘤患者施用单纯疱疹病毒和抗CTLA-4抗体，所述单纯疱疹病毒是在第1周第1天以达4.0ml的 $10^6$ PFU/mL剂量，随后在第4周第1天以及之后每2周以达4.0ml的 $10^8$ PFU/mL剂量通过瘤内注射施用到可注射的皮肤、皮下和结节肿瘤中，直到完全反应，并且所述抗CTLA-4抗体是在第三剂单纯疱疹病毒之后开始每3周以3mg/kg剂量静脉内施用，输注4次。推广可以通过包装说明书，所述包装说明书提供了有关接受用单纯疱疹病毒和免疫检查点抑制剂的组合进行癌症治疗的说明，所述单纯疱疹病毒缺乏功能性ICP34.5基因，缺乏ICP47基因并包含了编码人GM-CSF的基因。在一个实施方案中，所述免疫检查点抑制剂是抗CTLA-4抗体。在另一个实施方案中，所述抗CTLA-4抗体是伊匹单抗。在另一个实施方案中，所述单纯疱疹病毒是拉他莫基。推广可以通过与医师或健康护理提供者的书面或口头沟通进行。在一个实施方案中，所述包装说明书附有单纯疱疹病毒和/或免疫检查点抑制剂的实用制剂，所述单纯疱疹病毒缺乏功能性ICP34.5基因，缺乏功能性ICP47基因并包含了编码人GM-CSF的基因。在另一个实施方案中，在推广之后是用单纯疱疹病毒和免疫检查点抑制剂的组合对患者进行治疗，所述单纯疱疹病毒缺乏功能性ICP34.5基因，缺乏ICP47基因并包含了编码人GM-CSF的基因。在另一个实施方案中，所述患者患有先前未经过治疗、无法切除的IIIb期到IV期黑色素瘤。

[0054] 本发明提供了一种推广用于治疗IIIb期到IV期黑色素瘤患者的组合治疗方法，所述组合治疗包含拉他莫基和免疫检查点抑制剂。本发明提供了一种推广用于治疗IIIb期到IV期黑色素瘤患者的组合治疗方法，所述组合治疗包含拉他莫基和抗CTLA-4抗体。本发明提供了一种推广用于治疗IIIb期到IV期黑色素瘤患者的组合治疗方法，所述组合治疗包含拉他莫基和PD1阻断剂。本发明提供了一种推广用于治疗IIIb期到IV期黑色素瘤患者的组合治疗方法，所述组合治疗包含拉他莫基和PD-L1阻断剂。本发明提供了一种推广用于治疗IIIb期到IV期黑色素瘤患者的组合治疗方法，所述组合治疗包含拉他莫基和抗

PD-L1抗体。本发明提供了一种推广用于治疗IIIb期到IV期黑色素瘤患者的组合治疗方法，所述组合治疗包含拉他莫基和抗PD1抗体。本发明提供了一种推广用于治疗IIIb期到IV期黑色素瘤患者的组合治疗方法，所述组合治疗包含拉他莫基和TIM3抑制剂。本发明提供了一种推广用于治疗IIIb期到IV期黑色素瘤患者的组合治疗方法，所述组合治疗包含拉他莫基和LAG-3抑制剂。本发明提供了一种推广用于治疗IIIb期到IV期黑色素瘤患者的组合治疗方法，所述组合治疗包含拉他莫基和B7-H3抑制剂。本发明提供了一种推广用于治疗IIIb期到IV期黑色素瘤患者的组合治疗方法，所述组合治疗包含拉他莫基和B7-H4抑制剂。本发明提供了一种推广用于治疗IIIb期到IV期黑色素瘤的患者的组合治疗方法，所述组合治疗包含拉他莫基和免疫检查点抑制剂伊匹单抗。本发明提供了一种推广用于治疗IIIb期到IV期黑色素瘤患者的组合治疗方法，所述组合治疗包含拉他莫基和免疫检查点抑制剂尼沃鲁单抗。本发明提供了一种推广用于治疗IIIb期到IV期黑色素瘤患者的组合治疗方法，所述组合治疗包含拉他莫基和免疫检查点抑制剂兰伯丽珠单抗。本发明提供了一种推广用于治疗IIIb期到IV期黑色素瘤患者的组合治疗方法，所述组合治疗包含拉他莫基和免疫检查点抑制剂CT-011。本发明提供了一种推广用于治疗IIIb期到IV期黑色素瘤患者的组合治疗方法，所述组合治疗包含拉他莫基和免疫检查点抑制剂曲美木单抗。本发明提供了一种推广用于治疗IIIb期到IV期黑色素瘤患者的组合治疗方法，所述组合治疗包含拉他莫基和免疫检查点抑制剂AMP-224。本发明提供了一种推广用于治疗IIIb期到IV期黑色素瘤患者的组合治疗方法，所述组合治疗包含拉他莫基和免疫检查点抑制剂BMS-936559。本发明提供了一种推广用于治疗IIIb期到IV期黑色素瘤患者的组合治疗方法，所述组合治疗包含拉他莫基和免疫检查点抑制剂MDX-1105。本发明提供了一种推广用于治疗IIIb期到IV期黑色素瘤患者的组合治疗方法，所述组合治疗包含拉他莫基和免疫检查点抑制剂IMP321。本发明提供了一种推广用于治疗IIIb期到IV期黑色素瘤患者的组合治疗方法，所述组合治疗包含拉他莫基和免疫检查点抑制剂MGA271。

[0055] 本发明还提供了一种向IIIb期到IV期黑色素瘤患者进行教导的方法，所述方法是通过提供接受单纯疱疹病毒和免疫检查点抑制剂的组合治疗以延长患者的存活的教导来进行，所述单纯疱疹病毒缺乏功能性ICP34.5基因、缺乏功能性ICP47基因并包含了编码人GM-CSF的基因。在一个实施方案中，所述患者患有先前未经过治疗、无法切除的IIIb期到IV期黑色素瘤。在一个实施方案中，所述治疗包括向IIIb期到IV期黑色素瘤患者施用单纯疱疹病毒和抗CTLA-4抗体，所述单纯疱疹病毒是在第1周第1天以达4.0ml的 $10^6$ PFU/mL剂量，随后在第4周第1天以及之后每2周以达4.0ml的 $10^8$ PFU/mL剂量通过瘤内注射施用到可注射的皮肤、皮下和结节肿瘤中，直到完全反应，并且所述抗CTLA-4抗体是在第三剂单纯疱疹病毒之后开始每3周以3mg/kg剂量静脉内施用，输注4次。在一个实施方案中，所述免疫检查点抑制剂是抗CTLA-4抗体。在一个实施方案中，所述抗CTLA-4抗体是伊匹单抗。在另一个实施方案中，所述单纯疱疹病毒是拉他莫基。

[0056] 本发明提供了一种向IIIb期到IV期黑色素瘤患者进行教导的方法，所述方法是通过提供接受拉他莫基和免疫检查点抑制剂的组合治疗以延长患者存活的教导。本发明提供了一种向IIIb期到IV期黑色素瘤患者进行教导的方法，所述方法是通过提供接受拉他莫基和抗CDLA-4抗体的组合治疗以延长患者存活的教导。本发明提供了一种向IIIb期到IV期黑色素瘤患者进行教导的方法，所述方法是通过提供接受拉他莫基和PD1阻断剂的组合治疗

以延长患者存活的教导。本发明提供了一种向IIIb期到IV期黑色素瘤患者进行教导的方法,所述方法是通过提供接受拉他莫基和PD-L1阻断剂的组合治疗以延长患者存活的教导。本发明提供了一种向IIIb期到IV期黑色素瘤患者进行教导的方法,所述方法是通过提供接受拉他莫基和抗PD1抗体存活的组合治疗以延长患者存活的教导。本发明提供了一种向IIIb期到IV期黑色素瘤患者进行教导的方法,所述方法是通过提供接受拉他莫基和抗PD-L1阻断剂存活的组合治疗以延长患者存活的教导。本发明提供了一种向IIIb期到IV期黑色素瘤患者进行教导的方法,所述方法是通过提供接受拉他莫基和TIM3抑制剂存活的组合治疗以延长患者存活的教导。本发明提供了一种向IIIb期到IV期黑色素瘤患者进行教导的方法,所述方法是通过提供接受拉他莫基和LAG-3抑制剂存活的组合治疗以延长患者存活的教导。本发明提供了一种向IIIb期到IV期黑色素瘤患者进行教导的方法,所述方法是通过提供接受拉他莫基和B7-H3抑制剂存活的组合治疗以延长患者存活的教导。本发明提供了一种向IIIb期到IV期黑色素瘤患者进行教导的方法,所述方法是通过提供接受拉他莫基和B7-H4抑制剂存活的组合治疗以延长患者存活的教导。本发明提供了一种向IIIb期到IV期黑色素瘤患者进行教导的方法,所述方法是通过提供接受拉他莫基和免疫检查点抑制剂伊匹单抗存活的组合治疗以延长患者存活的教导。本发明提供了一种向IIIb期到IV期黑色素瘤患者进行教导的方法,所述方法是通过提供接受拉他莫基和免疫检查点抑制剂曲美木单抗存活的组合治疗以延长患者存活的教导。本发明提供了一种向IIIb期到IV期黑色素瘤患者进行教导的方法,所述方法是通过提供接受拉他莫基和免疫检查点抑制剂尼沃鲁单抗存活的组合治疗以延长患者存活的教导。本发明提供了一种向IIIb期到IV期黑色素瘤患者进行教导的方法,所述方法是通过提供接受拉他莫基和免疫检查点抑制剂兰伯丽珠单抗存活的组合治疗以延长患者存活的教导。本发明提供了一种向IIIb期到IV期黑色素瘤患者进行教导的方法,所述方法是通过提供接受拉他莫基和免疫检查点抑制剂CT-011存活的组合治疗以延长患者存活的教导。本发明提供了一种向IIIb期到IV期黑色素瘤患者进行教导的方法,所述方法是通过提供接受拉他莫基和免疫检查点抑制剂AMP-224存活的组合治疗以延长患者存活的教导。本发明提供了一种向IIIb期到IV期黑色素瘤患者进行教导的方法,所述方法是通过提供接受拉他莫基和免疫检查点抑制剂BMS-936559存活的组合治疗以延长患者存活的教导。本发明提供了一种向IIIb期到IV期黑色素瘤患者进行教导的方法,所述方法是通过提供接受拉他莫基和免疫检查点抑制剂IMP321存活的组合治疗以延长患者存活的教导。本发明提供了一种向IIIb期到IV期黑色素瘤患者进行教导的方法,所述方法是通过提供接受拉他莫基和免疫检查点抑制剂MGA271存活的组合治疗以延长患者存活的教导。

[0057] 除非本文另外定义,否则结合本发明使用的科技术语应当具有本领域普通技术人员通常所理解的含义。另外,除非上下文另外规定,否则单数形式的术语应当包括复数形式并且复数形式的术语应当包括单数形式。总体而言,与本文所描述的细胞和组织培养、分子生物学、免疫学、微生物学、遗传学以及蛋白质和核酸化学及杂交学结合使用的命名法和技术是本领域熟知并且常用的那些。除非另外指示,否则本发明的方法和技术一般是根据本领域熟知的常规方法并且如本说明书全篇所引用和论述的各种通用和更具体参考文献中所描述来进行。所标识的所有专利和其它出版物明确通过引用的方式整体并入本文中。

[0058] 实施例

[0059] 在患有先前未经过治疗、无法切除的IIIb期-IV期黑色素瘤的受试者中拉他莫基和伊匹单抗相较于单独伊匹单抗的安全性和功效的Ib/2期开放标签评价

[0060] Ib期

[0061] 本研究的目标在于通过在患有先前未经过治疗、无法切除的IIIb期到IV期黑色素瘤的受试者中评估剂量限制性毒性(DLT)的发生率,来确定拉他莫基与伊匹单抗的组合的安全性和耐受性。本研究是一项开放标签的、多中心的单组研究。拉他莫基和伊匹单抗将被施用给多达18位受试者。

[0062] 通过瘤内注射将拉他莫基施用到可注射的皮肤、皮下和结节肿瘤中,最初,其剂量在第1周第1天是达4.0ml的 $10^6$ 个空斑形成单位/毫升(PFU/mL),随后在第4周第1天及之后每2周(±3天)剂量是达4.0ml的 $10^8$ PFU/mL。从第6周第1天(即,第三剂拉他莫基时)开始每3周(±3天),即在第9周第1天、第12周第1天以及第15周第1天,静脉内施用3mg/kg剂量的伊匹单抗,输注4次。当在同一天施用拉他莫基和伊匹单抗时,首先施用拉他莫基。

[0063] 用拉他莫基治疗受试者,直到无论以下哪个先发生:完全反应,所有可注射肿瘤都已经消失,疾病进展(遵照修订的免疫相关反应标准(irRC)),或对研究治疗不耐受。

[0064] 在最后一剂拉他莫基之后约30(+7)天或在最后一剂伊匹单抗之后60(+7)天(以后出现的为准),跟踪受试者的安全性,并且跟踪存活持续招募结束之后约24个月。

[0065] 本研究的结果是通过在患有先前未经过治疗、无法切除的IIIb期到IV期黑色素瘤的受试者中评估剂量限制性毒性(DLT)的发生率,证实拉他莫基与伊匹单抗的组合的安全性和耐受性。

[0066] 剂量限制性毒性定义为在第一剂伊匹单抗与之后6周之间发生的任何病因的任何等级(gr)≥3的免疫相关不良事件(AE)或gr≥4的AE。DLT的发生率需要前6位可评价的患者中≤1例,或前9位可评价的患者中≤2例(如果2例DLT是在前6位患者中见到的话)。关键的纳入标准是先前未经过治疗、无法切除的IIIB-IV期黑色素瘤、ECOG 0-1、可测量的疾病以及≥1个可注射的皮肤、皮下或结节肿瘤。

[0067] 截至目前,已经招募19位患者(13位患者接受≥1剂拉他莫基或伊匹单抗);9位患者已经完成DLT阶段,1位患者在接受伊匹单抗之前撤销同意书,并且9位患者尚未到达DLT阶段结束。到DLT截止时止(第1剂伊匹单抗之后6周),所有DLT可评价患者接受了至少4剂拉他莫基和2剂伊匹单抗。在可评价的患者中没有观察到剂量限制性毒性。截至目前,19位患者中报告1例严重不良事件(在治疗第11周中的3级恶心和腹胀)。到第12周,9位DLT可评价患者中报告两例部分反应。

[0068] 本研究的次要目标包括:

[0069] 通过测定客观反应率(ORR)来估计拉他莫基和伊匹单抗的组合相对于单独伊匹单抗的功效。

[0070] 通过测定所有不良事件(AE),即等级≥3的AE、严重不良事件(SAE)以及需要中断研究药物的事件的发生率;对肿瘤的局部影响(即疼痛、炎症和溃疡);临幊上显著的实验室变化;以及未定义为DLT的生命体征的临幊显著变化,来评估拉他莫基与伊匹单抗的组合的安全性。

[0071] 2期

[0072] 本研究的主要目标是通过在患有先前未经过治疗、无法切除的IIIb期到IV期黑色

素瘤的受试者中评估总体存活 (OS) 来估计拉他莫基和伊匹单抗的组合相对于单独伊匹单抗的安全性和功效。本研究是一项开放标签的、多中心的随机化研究。将约140位受试者以1:1随机分组以接受以下各物：

[0073] 第1组：拉他莫基加伊匹单抗

[0074] 第2组：伊匹单抗

[0075] 通过疾病分期 (IIIb/c期、IVM1a期及IVM1b期相对于IVM1c期) 和BRAF V600E (突变相对于不存在突变) 对随机选择进行分层。

[0076] 通过瘤内注射将拉他莫基施用到可注射的皮肤、皮下和结节肿瘤中，最初，其剂量在第1周第1天是达4.0ml的 $10^6$ PFU/mL，随后在第4周第1天及之后每2周(±3天)剂量是达4.0ml的 $10^8$ PFU/mL。每3周(±3天)静脉内施用3mg/kg剂量的伊匹单抗，输注4次。从第6周第1天(即，第三剂拉他莫基时)开始，在第9周第1天、第12周第1天以及第15周第1天，随机分入第1组的受试者将接受伊匹单抗。当在同一天施用拉他莫基和伊匹单抗时，首先施用拉他莫基。从第1周第1天开始，在第4周第1天、第7周第1天以及第10周第1天，随机分入第2组的受试者接受伊匹单抗。

[0077] 用拉他莫基治疗受试者，直到无论以下哪个先发生：完全反应，所有可注射肿瘤都已经消失、疾病进展(遵照修订的irRC)，或对研究治疗不耐受。归因于作用机制，受试者可能在获得拉他莫基的最大临床益处之前，经历现有肿瘤的生长或新肿瘤的出现。因此，从初始剂量时起，只要受试者没有需要中断治疗的临幊上显著的健康状况恶化迹象并且能够耐受所述治疗，就持续给药至少6个月。

[0078] 在最后一剂拉他莫基之后约30(+7)天或在最后一剂伊匹单抗之后60(+7)天(以后出现的为准)，跟踪受试者的安全性，并且在随机分组结束之后约24个月，跟踪其存活状况。

[0079] 本研究的结果是通过在患有先前未经过治疗、无法切除的IIIb期到IV期黑色素瘤的受试者中评估总体存活来估计拉他莫基和伊匹单抗的组合相对于单独伊匹单抗的功效。研究结果是测量到肿瘤特异性T细胞反应的量值和反应时间相较于单独伊匹单抗增加。

[0080] 本研究的次要目标包括：

[0081] 通过测定总体反应率、反应持续时间、反应时间、无进展存活、切除率、1年存活率以及2年存活率来估计拉他莫基和伊匹单抗的组合相对于单独伊匹单抗的功效。

[0082] 通过测定所有不良事件(AE)，即等级≥3的AE、SAE以及需要中断研究药物的事件的发生率；对肿瘤的局部影响(即疼痛、炎症和溃疡)；临幊上显著的实验室变化；以及生命体征的临幊显著变化，来评估拉他莫基与伊匹单抗的组合相对于单独伊匹单抗的安全性。

[0083] 两项研究的纳入标准包括以下各项：

[0084] 1. 受试者或受试者的法律上可接受的代表已提供知情同意书

[0085] 2. 组织学确诊患有恶性黑色素瘤

[0086] 3. 患有不适合手术切除的IIIb期、IIIc期、IVM1a期、IVM1b期或IVM1c期疾病

[0087] 4. 未经过治疗：先前不得接受由化学疗法、免疫疗法或靶向性疗法组成的针对无法切除的IIIb期到IV期黑色素瘤的任何全身抗癌治疗。注意：先前接受针对黑色素瘤的辅助疗法的受试者将不被排除。然而，如果受试者接受过辅助疗法，那么所述受试者须在招募(1b期)或随机分组(2期)之前至少6个月已经完成疗法。先前不得接受拉他莫基、伊匹单抗、其它CTLA-4抑制剂、程序性死亡蛋白-1(PD-1)抑制剂或肿瘤疫苗，即使是作为辅助疗法。

- [0088] 5. 定义为以下一种或两种的可测量的疾病:
- [0089] 如通过针对内脏或结节/软组织疾病(包括淋巴结)的对比增强或螺旋计算机断层摄影(CT)扫描可以准确并连续地测量至少两个尺寸并且最大直径 $\geq 10\text{mm}$ 的至少1处黑色素瘤病变
- [0090] 如通过测径器所测量,至少1处 $\geq 5\text{mm}$ 的浅层皮肤或皮下黑色素瘤病变
- [0091] 6. 如下定义的可注射疾病(即,适于直接注射或通过使用超声波[US]引导注射):
- [0092] 最长直径 $\geq 5\text{mm}$ 的至少1处可注射皮肤、皮下或结节黑色素瘤病变
- [0093] 7. 东部肿瘤协作组(Eastern Cooperative Oncology Group,ECOG)体能状况是0或1
- [0094] 8. 年龄 $\geq 18$ 岁的男性或女性
- [0095] 9. 如下所示的正常的造血功能:
  - [0096] 绝对嗜中性细胞计数(ANC)  $\geq 1.5 \times 10^9 \text{个/L}$
  - [0097] 血小板计数 $\geq 100 \times 10^9 \text{个/L}$
  - [0098] 血红蛋白 $\geq 9\text{g/dL}$ (无需造血生长因子或输血支持)
- [0099] 10. 如下所示的正常的肾功能:
  - [0100] 血清肌酸酐 $\leq 1.5 \times$ 正常值上限(ULN),或24小时肌酸酐清除率 $\geq 50\text{cc/min}$ 。(注意:如果基线血清肌酸酐在正常限值内,则无需测定肌酸酐清除率)
- [0101] 11. 如下所示的正常的肝功能:
  - [0102] 血清胆红素 $\leq 1.5 \times \text{ULN}$
  - [0103] 天冬氨酸氨基转移酶(AST)  $\leq 2.5 \times \text{ULN}$
  - [0104] 丙氨酸氨基转移酶(ALT)  $\leq 2.5 \times \text{ULN}$
- [0105] 12. 凝血酶原时间(PT)  $\leq 1.5 \times \text{ULN}$ (或国际标准化比率[INR]  $\leq 1.3$ )并且部分凝血活酶时间(PTT)或活化的PTT(aPTT)  $\leq 1.5 \times \text{ULN}$ 。