



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102460168 B

(45) 授权公告日 2015.05.20

(21) 申请号 201080029187.8

G01N 33/48(2006.01)

(22) 申请日 2010.05.28

审查员 张绚

(30) 优先权数据

61/182,081 2009.05.28 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2011.12.29

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2010/036615 2010.05.28

(87) PCT国际申请的公布数据

W02010/138839 EN 2010.12.02

(73) 专利权人 阿布拉西斯生物科学有限公司

地址 美国加利福尼亚

(72) 发明人 V·德留 N·德赛 D·瑙尔

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所 11038

代理人 刘晓东

(51) Int. Cl.

G01N 33/53(2006.01)

权利要求书2页 说明书17页 附图3页

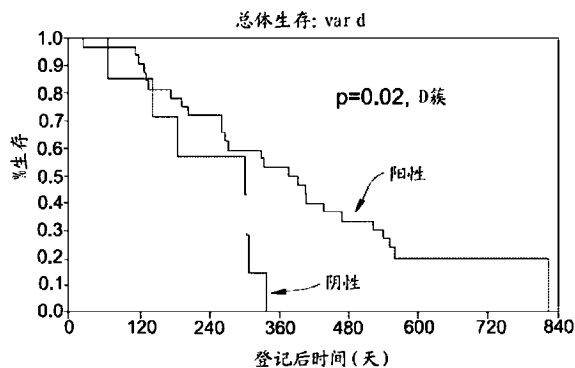
(54) 发明名称

两种抗 SPARC 抗体用于预测对化学疗法的反应的用途

(57) 摘要

本发明提供了基于抗 SPARC 抗体的技术用于预测对化学疗法的反应。

OS与SPARC阳性之间的相关性



1. 第一抗 SPARC 抗体和第二抗 SPARC 抗体联合用于制备用于预测动物的黑素瘤肿瘤对化学疗法方案的反应的制剂中的用途,其中所述第一抗 SPARC 抗体识别被单克隆抗体 MAB 941 识别的 SPARC 表位,所述第二抗体识别被多克隆抗体 AF941 识别的免疫显性 SPARC 表位,并且所述化学疗法方案包括紫杉醇。

2. 权利要求 1 的用途,其中所述第一抗 SPARC 抗体和所述第二抗 SPARC 抗体对所述肿瘤的组织切片内肿瘤细胞的免疫染色预测对所述化学疗法方案有阳性反应。

3. 第一抗 SPARC 抗体和第二抗 SPARC 抗体联合化学疗法方案在制备用于治疗动物中的黑素瘤肿瘤的药物中的用途,其中所述第一抗 SPARC 抗体识别被单克隆抗体 MAB 941 识别的 SPARC 表位,所述第二抗体识别被多克隆抗体 AF941 识别的免疫显性 SPARC 表位,并且所述化学疗法方案包括紫杉醇。

4. 权利要求 1-3 中任一项的用途,其中所述疗法方案还包括施用如下试剂中的一种或多种:氮芥、环磷酰胺、异环磷酰胺、美法仑、苯丁酸氮芥、乙烯亚胺类、甲基蜜胺类、六甲嘧啶、噻替哌、白消安、卡莫司汀、司莫司汀、洛莫司汀、链佐星、磷酸雌莫司汀、达卡巴嗪、替莫唑胺、甲氨蝶呤、氟尿嘧啶、氟尿苷、阿糖胞苷、吉西他滨、巯嘌呤、硫鸟嘌呤、喷司他丁、克拉屈滨、氟达拉滨、安吡啶、长春碱、长春新碱、紫杉醇、多西他赛、表鬼臼毒素、依托泊苷、替尼泊苷、喜树碱、拓扑替康、伊立替康、放线菌素 D、柔红霉素、多柔比星、博来霉素、丝裂霉素、依达比星、表柔比星、L-天冬酰胺酶、干扰素 α 、白细胞介素 2、布舍瑞林、肾上腺皮质类固醇类、雌激素类、阿那曲唑、丙酸睾酮、氟甲睾酮、氟他胺、比卡鲁胺、亮丙瑞林、沙立度胺、顺铂、奥沙利铂、卡铂、葱二酮类、羟基脲、甲基肼、丙卡巴肼、米托坦、氨鲁米特、贝沙罗汀;和酪氨酸激酶抑制剂。

5. 权利要求 1-3 中任一项的用途,其中所述治疗方案还包括施用如下试剂中的一种或多种:泼尼松、孕激素、己烯雌酚、炔雌醇、他莫昔芬、米托蒽醌和伊马替尼。

6. 权利要求 1-3 中任一项的用途,其中所述治疗方案还包括施用如下试剂中的一种或多种:己酸羟孕酮、醋酸甲羟孕酮和醋酸甲地孕酮。

7. 权利要求 1-3 中任一项的用途,其中所述治疗方案还包括治疗有效剂量的替代疗法。

8. 权利要求 1-3 中任一项的用途,其中所述治疗方案还包括施用治疗有效剂量的毒素、外源凝集素类、受体酪氨酸激酶抑制剂、蛋白体抑制剂、极光激酶抑制剂、mTOR 抑制剂、环加氧酶-2 抑制剂、法呢酰基转移酶抑制剂、扎尼思特、基质金属蛋白酶抑制剂、血管生成抑制剂、羧胺三唑、沙立度胺、白细胞介素-12;血小板衍生生长因子受体抑制剂、蛋白激酶 C 抑制剂、促分裂原活化蛋白激酶抑制剂、促分裂原活化蛋白激酶激酶抑制剂、劳氏肉瘤病毒转化癌基因抑制剂、组蛋白脱乙酰基酶抑制剂、小低氧诱导性因子抑制剂、刺猬蛋白抑制剂和 TGF- β 信号转导抑制剂或其组合。

9. 权利要求 8 的用途,其中所述血管生成抑制剂是针对血管生长因子的抗体、针对血管生长因子受体的抗体或其组合。

10. 权利要求 1-3 中任一项的用途,其中所述治疗方案还包括施用治疗有效剂量的 VEGFR2 抑制剂。

11. 权利要求 1-3 中任一项的用途,其中所述治疗方案还包括施用治疗有效剂量的吉非替尼、埃罗替尼、西妥昔单抗、伊马替尼甲磺酸、硼替佐米、PTK787、ZM447439、雷帕霉

素、替吡法尼、BAY 12-9566、硫酸化的多糖替可加兰、贝伐单抗、夫马洁林的类似物、BB-94、BB-2516、利诺胺或其组合。

12. 权利要求 1 - 3 中任一项的用途, 其中所述治疗方案还包括施用治疗有效剂量的 TNP-4。

13. 权利要求 1 - 3 中任一项的用途, 其中所述化学疗法方案包括纳米颗粒白蛋白结合型紫杉醇和卡铂。

14. 权利要求 1 - 3 中任一项的用途, 其中所述化学疗法方案包括纳米颗粒白蛋白结合型紫杉醇。

15. 权利要求 1-3 中任一项的用途, 其中在肿瘤的同一组织切片上同时进行利用所述第一抗 SPARC 抗体和所述第二抗 SPARC 抗体的染色。

16. 权利要求 1-3 中任一项的用途, 其中在肿瘤的不同组织切片上分别地进行利用第一抗 SPARC 抗体和第二抗 SPARC 抗体的染色。

17. 权利要求 1-3 中任一项的用途, 其中所述动物是人患者。

两种抗 SPARC 抗体用于预测对化学疗法的反应的用途

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求 2009 年 5 月 28 日提交的美国临时专利申请 No. 61/182081 (将其通过引用整体并入本文) 的权益。

[0003] 发明背景

[0004] 酸性且富含半胱氨酸的分泌性蛋白 (也称为骨连接蛋白 (steonectin)、BM40 或 SPARC) (在下文中称为 "SPARC") 是引发细胞形状的改变,抑制细胞周期进展并且影响细胞外基质的合成的基质相关蛋白质 (Bradshaw 等人, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 100 :6045-6050(2003))。鼠 SPARC 基因于 1986 年被克隆 (Mason 等人, EMBO J. 5 : 1465-1472(1986)),全长人 SPARC cDNA 于 1987 年被克隆和测序 (Swaroop 等人, Genomics 2 :37-47(1988))。SPARC 的表达受发育调控,并且主要在于正常发育过程中或对损伤反应中经历重塑的组织中表达。例如,高水平的 SPARC 蛋白在正在发育的骨和牙中表达 (参见,例如, Lane 等人, FASEB J., 8, 163173(1994) ;Yan&Sage, J. Histochem. Cytochem. 47 : 1495-1505(1999))。

[0005] SPARC 在几种侵袭性癌中被上调,但在相应的正常组织中不存在 (Porter 等人, J. Histochem. Cytochem., 43, 791(1995))。SPARC 表达在多种肿瘤 (例如,膀胱、肝、卵巢、肾、肠和乳腺肿瘤) 中被诱导。在膀胱癌中,例如,SPARC 表达与晚期癌相关。已显示 T2 期或更晚期的侵袭性膀胱肿瘤相对于 T1 期的膀胱肿瘤 (或较深部的肿瘤 (less superficial tumor)) 表达更高水平的 SPARC 并且更糟的预后 (参见,例如, Yamanaka 等人, J. Urology, 166, 24952499(2001))。在脑膜瘤中, SPARC 表达只与浸润瘤相关 (参见,例如, Rempel 等人, Clinical Cancer Res., 5, 237241(1999))。也在 74.5% 的腺位浸润乳腺癌损伤 (参见,例如, Bellahcene, 等人, Am. J. Pathol., 146, 95100(1995)) 和 54.2% 的乳腺的浸润导管癌 (参见,例如, Kim 等人, J. Korean Med. Sci., 13, 652657(1998)) 中检测到 SPARC 表达。SPARC 表达也与乳腺癌的频率微钙化相关 (参见,例如, Bellahcene 等人, 同上), 这表明 SPARC 表达也是乳腺转移灶 (breast metastase) 对于骨的亲和性的原因。

[0006] 令人惊讶地,还显示 SPARC 在某些系统中具有抗肿瘤活性。SPARC 是在 G1 中期中阻滞细胞的有力的细胞周期抑制剂 (Yan&Sage, J. Histochem. Cytochem. 47 : 1495-1505(1999)), 并且已显示 SPARC 的诱导型表达在体外模型系统中抑制乳腺癌细胞增殖 (Dhanesuan 等人, Breast Cancer Res. Treat. 75 :73-85(2002))。类似地,外源 SPARC 可以以浓度依赖性方式减少 HOSE (人卵巢表面上皮) 和卵巢癌细胞的增殖。此外, SPARC 诱导卵巢癌细胞的细胞凋亡。已报导存在于细胞例如卵巢上皮细胞上的 SPARC 受体的其他证据。已有人提出 SPARC 与其受体的结合可能触发组织特异性信号转导途径,该途径介导其肿瘤抑制性功能 (Yiu 等人, Am. J. Pathol. 159 :609-622(2001))。还已显示纯化的 SPARC 在体内异种移植物模型系统中有力地抑制血管生成并且显著减少神经母细胞瘤生长 (Chlenski 等人, Cancer Res. 62 :7357-7363(2002))。

[0007] 目前主要利用 3 种类型的疗法:手术、放射疗法和化学疗法之一或其组合来治疗癌症。手术通常只对治疗早期癌症有效。对于超过 50% 的癌症个体,当他们被诊断时,他们

不再是有效的手术治疗的候选者。放射疗法只对呈现处于癌症的早期和中期的临床局灶性疾病的个体有效,并且对具有转移的癌症晚期无效。

[0008] 化学疗法包括细胞复制或细胞代谢的破坏。化学疗法可以是有效的,但存在严重的副作用,例如呕吐、低白细胞(WBC)、脱发、体重减轻和其他毒性效应。由于极端毒性副作用,因此许多癌症个体不能成功地完成完整的化学疗法方案。化学疗法诱导的副作用明显影响个体的生活质量并且可极大地影响个体对治疗的顺从性。此外,与化疗剂相关的有害副作用通常是此类药物施用的主要剂量限制性毒性(DLT)。例如,粘膜炎是几种抗癌试剂(包括抗代谢药试剂5-FU、氨甲蝶呤和抗肿瘤抗生素,例如多柔比星)的主要剂量限制性毒性之一。许多此类化学疗法诱导的副作用(如果严重的话)可导致住院治疗,或需要利用用于治疗疼痛的镇痛药的治疗。某些癌症个体因对化学疗法的较差的耐受性而死于化学疗法。抗癌药物的极端副作用由此类药物的较差的靶特异性引起。所述药物循环通过个体的大多数正常器官以及目标靶肿瘤。引起副作用的较差靶特异性也减小了化学疗法的功效,因为只有一部分药物被正确靶向。化学疗法的功效因抗癌药物在靶肿瘤内的短暂驻留而被进一步降低。

[0009] 由于癌症的严重性和广泛性,因此存在对克服手术、化学疗法和放射疗法的缺陷的此类疾病或障碍的有效治疗的巨大需要。具体地,鉴于与化学疗法相关的严重副作用,存在鉴定哪种肿瘤将对化学疗法方案起反应或不起反应的需要。

[0010] 发明概述

[0011] 本发明提供了基于利用一种或多种抗 SPARC 抗体对肿瘤组织切片的免疫染色预测动物的肿瘤对化学疗法方案的反应或利用化学疗法方案治疗动物的方法。

[0012] 在一个方面,本发明提供了预测动物的肿瘤对化学疗法方案的反应的方法,包括:(a) 对该肿瘤的组织切片应用第一抗 SPARC 抗体,其中所述第一抗 SPARC 抗体优先免疫染色肿瘤细胞中的 SPARC ;(b) 对 (a) 的组织切片或肿瘤的第二组织切片应用第二抗 SPARC 抗体,其中所述第二抗 SPARC 抗体优先免疫染色成纤维细胞中的 SPARC ;和 (c) 如果所述第一抗 SPARC 抗体和所述第二抗 SPARC 抗体免疫染色所述组织切片,则预测对所述化学疗法方案的阳性反应。

[0013] 在另一个方面,本发明提供了预测动物的肿瘤对化学疗法方案的反应的方法,包括:(a) 对该肿瘤的组织切片应用第一抗 SPARC 抗体,其中所述第一抗 SPARC 抗体优先免疫染色肿瘤细胞中的 SPARC ;(b) 对 (a) 的组织切片或肿瘤的第二组织切片应用第二抗 SPARC 抗体,其中所述第二抗 SPARC 抗体优先免疫染色成纤维细胞中的 SPARC ;和 (c) 如果所述第二抗 SPARC 抗体免疫染色所述组织切片,则预测对所述化学疗法方案的阳性反应。

[0014] 在另一个方面,本发明提供了预测动物的肿瘤对化学疗法方案的反应的方法,包括:(a) 对该肿瘤的组织切片应用第一抗 SPARC 抗体,其中所述第一抗 SPARC 抗体识别被单克隆抗体 MAB 941 识别的 SPARC 表位 ;(b) 对 (a) 的组织切片或肿瘤的第二组织切片应用第二抗 SPARC 抗体,其中所述第二抗体识别被多克隆抗体 AF941 识别的 SPARC 表位 ;和 (c) 如果所述第一抗 SPARC 抗体和所述第二抗 SPARC 抗体免疫染色所述组织切片,则预测对所述化学疗法方案的阳性反应。

[0015] 在另一个方面,本发明提供了预测动物的肿瘤对化学疗法方案的反应的方法,包括:(a) 对该肿瘤的组织切片应用第一抗 SPARC 抗体,其中所述第一抗 SPARC 抗体识别被单

克隆抗体 MAB 941 识别的 SPARC 表位 ;(b) 对 (a) 的组织切片或肿瘤的第二组织切片应用第二抗 SPARC 抗体,其中所述第二抗体识别被多克隆抗体 AF941 识别的免疫显性 SPARC 表位 ;和 (c) 如果所述第二抗 SPARC 抗体免疫染色该组织切片,则预测对所述化学疗法方案的阳性反应。

[0016] 在另一个方面,本发明提供了利用化学疗法方案治疗动物的肿瘤的方法,包括 : (a) 对该肿瘤的组织切片应用第一抗 SPARC 抗体,其中所述第一抗 SPARC 抗体优先免疫染色肿瘤细胞的 SPARC ;(b) 对 (a) 的组织切片或该肿瘤的第二组织切片应用第二抗 SPARC 抗体,其中所述第二抗 SPARC 抗体优先免疫染色成纤维细胞的 SPARC ;和 (c) 如果所述第一抗 SPARC 抗体和所述第二抗 SPARC 抗体免疫染色所述组织切片,那么施用所述化学疗法方案。

[0017] 在另一个方面,本发明提供了利用化学疗法方案治疗动物的肿瘤的方法,包括 : (a) 对所述肿瘤的组织切片应用第一抗 SPARC 抗体,其中所述第一抗 SPARC 抗体识别被单克隆抗体 MAB941 识别的 SPARC 表位 ;(b) 对 (a) 的组织切片或所述肿瘤的第二组织切片应用第二抗 SPARC 抗体,其中所述第二抗体识别被多克隆抗体 AF941 识别的 SPARC 表位 ;和 (c) 如果所述第一抗 SPARC 抗体和所述第二抗 SPARC 抗体免疫染色所述组织切片,那么施用该化学疗法方案。

[0018] 在另一个方面,本发明提供了用于预测动物的肿瘤对化学疗法方案的反应的方法,包括 : (a) 对肿瘤的组织切片应用抗 SPARC 抗体,其中所述抗 SPARC 抗体识别被单克隆抗体 MAB941 识别的 SPARC 表位 ;(b) 如果所述抗 SPARC 抗体免疫染色该组织切片,那么预测对所述化学疗法方案有低反应。

[0019] 在另一个方面,本发明提供了预测动物的肿瘤对化学疗法方案的反应的方法,包括 : (a) 对 (a) 的组织切片或肿瘤的第二组织切片应用抗 SPARC 抗体,其中所述第二抗体识别被多克隆抗体 AF941 识别的免疫显性 SPARC 表位 ;和 (b) 如果所述抗 SPARC 抗体免疫染色该组织切片,那么预测对所述化学疗法方案有阳性反应。

[0020] 具体地,本发明提供了用于预测肿瘤对化学疗法方案的反应的方法,其中所述肿瘤是黑素瘤或胰腺癌,并且所述治疗方案包括单独的或与一种或多种其他试剂组合施用白蛋白结合的纳米颗粒紫杉醇。当所述肿瘤是胰腺癌时,所述治疗方案包括施用白蛋白结合的纳米颗粒紫杉醇和吉西他滨。当所述肿瘤是黑素瘤时,所述化学疗法方案包括施用白蛋白结合的纳米颗粒紫杉醇和卡铂。

[0021] 由本发明提供的此类方法的任一个方法包括其中所述哺乳动物是人患者的方法。

[0022] 几个附图的概述

[0023] 图 1 显示黑素瘤的总体生存曲线。

[0024] 图 2 显示胰腺癌的无进展生存曲线。

[0025] 图 3 显示胰腺癌的总体生存曲线。

[0026] 发明详述

[0027] 肿瘤中的 SPARC 表达很复杂,其中许多成员展示 SPARC 表达,包括间质细胞、成纤维细胞、肿瘤、炎症细胞、正常组织、神经组织和血管。本发明涉及被认为负责 SPARC 对预后的影响的总 SPARC 表达模式组成部分。本发明提供了分析 SPARC 表达的综合方法,所述方法能够更精确地预测广谱癌症对治疗的反应。

[0028] 如本文中所使用的,术语“肿瘤”是指任何赘生性生长 (neoplastic growth)、增殖

或细胞团块（无论是良性还是恶性的（癌性的），无论是原发灶损伤还是转移灶）。如本文中所使用的，术语“癌症”是指由已失去对正常生长控制的易感性的细胞的增殖引起或以此为特征的增生性障碍。相同组织类型的癌症通常源于相同的组织，并且可基于它们的生物学特征被分成不同亚型。癌症的4个一般类型是癌（上皮组织来源的）、肉瘤（结缔组织或中胚层来源的）、白血病（形成血的组织来源的）和淋巴瘤（淋巴组织来源的）。已知有200多种不同类型的癌症，并且身体的每一个器官和组织均可受影响。不限制癌症的定义，癌症的具体实例可包括黑素瘤、白血病、星形细胞瘤、胶质母细胞瘤、视网膜母细胞瘤、淋巴瘤、神经胶质瘤、何杰金氏淋巴瘤和慢性淋巴细胞白血病。可受不同癌症影响的器官和组织的实例包括胰腺、乳腺、甲状腺、卵巢、子宫、睾丸、前列腺，甲状腺，垂体，肾上腺，肾，胃，食道或直肠，头和颈、骨、神经系统、皮肤、血液、鼻咽组织、肺、泌尿道、子宫颈、阴道、外分泌腺和内分泌腺。可选择地，癌症可以具有多中心或不明原发灶（unknown primary site）（CUPS）。

[0029] 如本文中所使用的，“癌细胞”是指已经历转化事件并且其生长不再以与所述转化事件之前相同的程度受到调节的细胞。

[0030] 如本文中所使用的，“药剂”是能够产生效应的可给患者或测试受试者施用的组合物。所述效应可以是化学、生物或物理效应，并且患者或测试受试者可以是人或非人动物，例如啮齿类动物或转基因小鼠。所述组合物可包括合成产生的、自然界中发现的或部分合成来源的具有不同分子组成的小有机分子或无机分子。该组中包括有核苷酸、核酸、氨基酸、肽、多肽、蛋白质或包含此类实体中至少一种的复合物。所述药剂可由有效成分单独地或与药学上可接受的赋形性组合地构成。

[0031] 如本文中所使用的，“药学上可接受的赋形剂”包括任何和所有溶剂、分散介质、包衣、抗菌剂、抗微生物剂或抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等，所述试剂是生理上相容的。所述赋形剂可适合用于静脉内、腹膜内、肌内、硬膜内或口服施用。赋形剂可包括用于临时制备无菌注射液或分散体的无菌水溶液或分散剂。此类介质用于制备药剂的用途在本领域内是已知的。

[0032] 如本文中所使用的，药剂的“药学有效的量”是指使用的药剂量能够达到在使用药物的期间导致治疗水平的被递送药物的浓度。这可取决于递送模式、剂量的时效期限、接受所述药剂的受试者的年龄、体重、一般健康状况、性别和饮食。何剂量为“药理学上有效的量”的确定需要在本领域技术人员的能力范围内的常规最优化。

[0033] 癌症或癌细胞可被描述为对给定的治疗方案或化学疗法剂“敏感的”或“具有抗性的”（基于所述方案杀伤癌细胞或减小肿瘤尺寸、减少总体癌症生长（即通过血管生成的减少）和/或抑制转移的能力）。抗治疗方案的癌细胞可对所述方案不起反应并且可继续增殖。对治疗方案敏感的癌细胞可对所述方案作出反应，从而导致细胞死亡、肿瘤尺寸的减小、减少的总体生长（肿瘤负荷）或转移的抑制。

[0034] 如本文中所使用的术语“医治”、“治疗”、“医疗”和“治疗性治疗”是指治愈性治疗、预防性治疗或预防治疗。“预防治疗”的实例是预防靶向疾病（例如，癌症或其他增生性疾病）或与其相关的病症或减少其可能性。需要治疗的患者包括已患有疾病或病症的患者以及易于患有待预防的疾病或病症的患者。如本文中所使用的术语“医治”、“治疗”、“医疗”和“治疗性治疗”也描述了为了抵抗疾病或相关病症而进行的哺乳动物的管理和照料，包括施用组合物以减轻疾病或病症的症状、副作用或其他并发症。癌症的治疗性治疗

包括但不限于手术、化学疗法、放射疗法、基因疗法、免疫疗法、替代治疗方案 (alternative therapeutic regimen) 和其组合。

[0035] 如本文中所使用的,术语“试剂”或“药物”或“治疗剂”是指被怀疑具有治疗性质的化合物、化合物的混合物、生物大分子或从生物材料例如细菌、植物、真菌或动物(特别是哺乳动物)细胞或组织制备的提取物。试剂或药物可以是纯化的、大体上纯化的或部分纯化的。根据本发明的“试剂”也包括放射疗法剂或“化学疗法剂”。

[0036] 如本文中所使用的,“化学疗法”是指施用至少一种有害地破坏癌细胞的化学疗法剂。存在众多种临床医生可获得的此类化学疗法剂。可以以快速灌注剂量给受试者施用化学疗法剂,或可以在一段时间内以更小的剂量施用所述化学疗法剂。可使用一种化学疗法剂(单一试剂剂疗法(single-agent therapy))或可组合使用超过一种试剂(联合治疗)。可单独地使用化学疗法来治疗某些类型的癌症。可选择地,可将化学疗法与其他类型的治疗例如本文中描述的放射疗法或替代治疗(例如免疫疗法)组合使用。此外,可将化疗增敏剂(chemosensitizer)作为与化学疗法剂的联合治疗来施用。

[0037] 如本文中所使用的,“化学疗法剂”或“抗癌药物”是指可用于治疗癌症并且通常具有直接杀伤癌细胞的能力的药剂。化学疗法剂的实例包括烷化剂、抗代谢药、天然产物、激素和拮抗剂以及混杂剂。别名标示于括号中。烷化剂的实例包括氮芥例如二氯甲基二乙胺(mechlorethamine)、环磷酰胺、异环磷酰胺、美法仑(L-沙可来新)和丁酸氮芥;乙烯亚胺类和甲基胍胺类(methylmelamines)例如六甲三聚氰胺和噻替哌;烷基磺酸酯类例如白消安;亚硝基脲类例如卡莫司汀(BCNU)、司莫司汀(甲基-CCNU)、洛莫司汀(CCNU)和链佐星(链脲霉素);DNA合成拮抗剂例如磷酸雌二醇氮芥;和三嗪类例如达卡巴嗪(DTIC,二甲基-三氮烯-咪唑羧酰胺)和替莫唑胺。抗代谢药的实例包括叶酸类似物例如氨甲蝶呤(氨甲蝶呤(amethopterin));嘧啶类似物例如氟尿嘧啶(5-氟尿嘧啶,5-FU,5FU)、氟尿苷(氟脱氧尿苷,FUdR)、阿糖胞苷(胞嘧啶阿糖核苷)和吉西他滨;嘌呤类似物例如巯嘌呤(6-巯基嘌呤,6-MP)、硫鸟嘌呤(6-硫鸟嘌呤,TG)和喷司他丁(2'-喷司他丁,喷司他丁)、克拉屈滨和氟达拉滨;和拓扑异构酶抑制剂例如安吡啶。天然产物的实例包括长春花生物碱类例如长春碱(VLB)和长春新碱;紫杉烷类例如紫杉醇和多西他赛(docetaxel)(泰索帝);表鬼臼毒素(epipodophyllotoxins)例如依托泊苷和替尼泊苷;喜树碱例如拓扑替康和伊立替康;抗生素例如放线菌素D(dactinomycin)(放线菌素D(actinomycin D))、柔红霉素(daunorubicin)(道诺霉素(daunomycin)、柔红霉素(rubidomycin))、多柔比星、博来霉素、丝裂霉素(丝裂霉素C)、依达比星、表柔比星(epirubicin);酶例如L-天冬酰胺酶;以及生物响应调节剂例如干扰素 α 和白细胞介素2。激素和拮抗剂的实例包括促黄体激素释放激素激动剂例如布舍瑞林;肾上腺皮质类固醇类(adrenocorticosteroids)例如泼尼松和相关制剂;孕激素类例如己酸羟孕酮、醋酸甲羟孕酮和醋酸甲地孕酮;雌激素类例如己烯雌酚和炔雌醇以及相关制剂;雌激素拮抗剂例如他莫昔芬和阿那曲唑;雄激素类例如丙酸睾酮和氟甲睾酮和相关制剂;雄激素拮抗剂例如氟他胺和比卡鲁胺;和促性腺激素释放激素类似物例如亮丙瑞林。混杂试剂的实例包括沙立度胺;铂配位络合物例如顺铂(顺-DDP)、奥沙利铂和卡铂;葱二酮类例如米托葱醌;取代的脲类例如羟基脲;丙卡巴肼衍生物例如丙卡巴肼(N-丙卡巴肼,MIH);肾上腺皮质抑制剂例如米托坦(o,p'-DDD)和氨鲁米特;RXR激动剂例如贝沙罗汀;和酪氨酸激酶抑制剂例如伊马替尼。化学疗法剂的这些

和其他实例的别名和商品名称以及它们的使用方法（包括给药和施用方案）对于本领域技术人员来说是已知的。具体地，根据本发明使用的适当的化学疗法剂包括但不限于白蛋白结合的纳米颗粒紫杉醇。

[0038] Abraxane™，也称为ABI-007，是一种优选的化学疗法剂。Abraxane™是紫杉醇的白蛋白结合的纳米颗粒制剂。当利用盐水重建时，白蛋白纳米颗粒作为媒介物的应用导致胶体的形成。基于临床研究，已显示应用Abraxane™的特征在于与Taxol™相比较有减小的超敏反应。因此，对于接受Abraxane™的患者不需要前驱给药。

[0039] 白蛋白纳米颗粒制剂的另一个有利方面是因为不包含有毒的乳化剂，因此与对于Taxol™可能采用的频率相比，其可以更频繁的间隔施用更高剂量的紫杉醇。由于(i) 更高的可耐受剂量(300mg/m²)，(ii) 更长的半衰期，(iii) 延长的局部肿瘤可获得性(availability)和/或(iv) 持续的体内释放Abraxane™，存在可在实体瘤中实现增强功效的可能性。

[0040] 如本文中所使用的，术语“放射疗法方案”或“放射疗法”是指施用放射线以杀伤癌细胞。放射疗法与细胞内的各种分子相互作用，但导致细胞死亡的主要靶是脱氧核糖核酸(DNA)。然而，放射疗法通常也导致对细胞膜和核膜以及其他细胞器的破坏。DNA损伤通常包括糖-磷酸主链中的单链和双链断裂。此外，可存在DNA和蛋白质的交联，这可破坏细胞功能。取决于放射线类型，DNA损伤的机制可变化，其相对生物学效应同样地可变化。例如，重粒子（即质子、中子）直接损伤DNA并且具有更大的相对生物学效应。电磁辐射导致通过主要由细胞水的离子化产生的短寿命羟基自由基起作用的间接离子化。放射的临床应用由外线束放射（来自外部来源）和近距离放射疗法（使用植入或插入患者的放射源）组成。外线束放射由X-射线和/或γ射线组成，而近距离放射疗法应用放射性核素，其衰变并且随γ射线一起发射α粒子或β粒子。

[0041] 还可将放射疗法与化学疗法组合使用，化学疗法剂用作放射增敏剂(radiosensitizer)。适合用于个体患者的具体选择可由护理技术人员通过考虑癌症的组织分期来确定。

[0042] 如本文中所使用的，术语“替代治疗方案”或“替代治疗”可包括例如生物反应调节剂（包括多肽、碳水化合物和脂质生物反应调节剂）、毒素、外源凝集素类、抗血管生成因子、受体酪氨酸激酶抑制剂（例如Iressa™(吉非替尼)、Tarceva™(埃罗替尼)、Erbix™(西妥昔单抗)、伊马替尼甲磺酸(Gleevec™)、蛋白体抑制剂（例如硼替佐米，Velcade™）；VEGFR2抑制剂例如PTK787(ZK222584)、极光激酶抑制剂（例如ZM447439）；雷帕霉素的哺乳动物靶子(mTOR)抑制剂、环加氧酶-2(COX-2)抑制剂、雷帕霉素抑制剂（例如西罗莫司，雷帕鸣(Rapamune™)）；法呢酰基转移酶抑制剂（例如替吡法尼，扎你思特(Zarnestra)）；基质金属蛋白酶抑制剂（例如BAY 12-9566；硫酸化的多糖替可加兰(tecogalan)）；血管生成抑制剂（例如Avastin™(贝伐单抗)）；夫马洁林的类似物例如TNP-4；羧胺三唑；BB-94和BB-2516；沙立度胺；白细胞介素-12；利诺胺；肽片段；和针对血管生长因子和血管生长因子受体的抗体）；血小板衍生生长因子受体抑制剂、蛋白激酶C抑制剂、促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated kinase)抑制剂、促分裂原活化蛋白激酶抑制剂、劳氏肉瘤病毒转化癌基因(SRC)抑制剂、组蛋白脱乙酰基酶抑制剂、小低氧诱导性因子抑制剂、刺猬蛋白(hedgehog)抑制剂和TGF-β信号转导抑制剂。此外，免疫

疗法剂也可被认为是一种替代治疗方案。实例包括炎症趋化因子 (chemokine)、趋化因子 (chemotaxin)、细胞因子、白细胞介素或组织因子。适当的免疫疗法剂还包括含有预先形成的抗体的血清或 γ 球蛋白；非特异性免疫刺激佐剂；活性特异性免疫疗法；和过继免疫疗法。此外，替代疗法可包括其他基于生物的化学实体例如多核苷酸，包括反义分子、多肽、抗体、基因疗法载体等。可单独或组合地施用此类可选择的治疗剂，或者与本文中描述的其他治疗方案一起组合使用。用于替代治疗方案的此类试剂和用于替代治疗方案的试剂的其他实例的别名和商品名称以及使用的方法（包括给药和施用方案）对于本领域技术人员来说是已知的。此外，联合治疗的替代治疗方案中使用的化学疗法剂和其他试剂的使用方法（包括给药和施用方案）对于本领域技术人员来说也是已知的。

[0043] 具体地，适当的替代治疗方案包括但不限于针对癌细胞表面上的分子的抗体例如针对 Her2（例如，曲妥珠单抗）、EGF 或 EGF 受体、VEGF（例如，贝伐珠单抗）或 VEGF 受体、CD20 等的抗体。治疗剂还可包含介导补体激活、细胞介导的细胞毒反应、诱导细胞凋亡、诱导细胞死亡和调理作用中的一项或多项的任何抗体或抗体片段。例如，这样的抗体片段可以是完整或部分 Fc 结构域。

[0044] 如本文中所使用的，术语“组织切片”是指适合置于显微镜载玻片上并且利用任何适当的方案染色的组织样品的薄切片。如本文中所使用的，“免疫染色组织切片”是指因抗体与作为细胞成份 / 细胞内基质的结合而导致的组织切片的细胞和细胞内基质的染色。如本文中所使用的，为了“主要地”或“优先地”染色某一结构，例如优先于成纤维细胞而染色癌细胞，当由本领域技术人员通过显微镜观察时，组织切片中优先染色的结构的免疫染色应当具有 3/3 的强度，同时所有其他结构染色只具有 1/3 的强度或显示 0/3（无）染色。

[0045] 如本文中所使用的，术语“表位”是指被抗体结合的三维结构，特别是被抗体靶向的氨基酸序列。如本文中所使用的，术语“被 MAB 941 单克隆抗体识别的表位”是指被 MAB941 单克隆抗体（SPARC 单克隆抗体（R&D Systems, Minneapolis, MN），目录号 MAB941 结合的 SPARC 中的氨基酸序列。

[0046] 如本文中所使用的，“免疫显性表位”是指被购买的抗体多克隆抗血清以最大集合亲合力结合的三维结构。具体地，所述表位负责利用该多克隆抗血清的免疫染色方案中的染色模式。如本文中所使用的，术语“被 AF941 多克隆抗体识别的免疫显性 SPARC 表位”是指被 AF941 多克隆抗血清以最大亲合力结合的 SPARC 肽和氨基酸序列。因此，对此类 SPARC 肽和氨基酸序列的结合和染色占有所观察到的大部分的免疫染色的大部分。（SPARC 多克隆抗体（R&D Systems, Minneapolis, MN），目录号 AF941）。

[0047] 对于“抗体”，其是指（无限制地）单克隆抗体、多克隆抗体、二聚体、多聚体、多特异性抗体（例如，双特异性抗体）。抗体可以是鼠抗体、人抗体、人源化抗体、嵌合抗体或来源于其他物种的抗体。抗体是由免疫系统产生的蛋白质，其能够识别和结合特定抗原。靶抗原通常具有许多结合位点，也称表位，其被多种抗体上的 CDR 识别。特异性结合不同表位的每一种抗体具有不同结构。因此，一个抗原可具有超过一个的相应抗体。

[0048] 抗体包括全长免疫球蛋白分子或全长免疫球蛋白分子的免疫活性部分，即包含免疫特异性结合目的靶的抗原或其部分的抗原结合位点的分子。靶包括癌细胞或产生与自身免疫疾病相关的自身免疫抗体的其他细胞。

[0049] 本文中公开的免疫球蛋白可以是任何种类（例如，IgG、IgE、IgM、IgD 和 IgA）或亚类（例如，IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1 和 IgA2）的免疫球蛋白分子。免疫球蛋白可来源于任何物种。

[0050] “抗体片段”包括全长抗体的部分，该部分维持所需的生物活性。“抗体片段”通常是其抗原结合区或可变区。抗体片段的实例包括 Fab、Fab'、F(ab')₂ 和 Fv 片段；双体 (diabody)；线性抗体；通过 Fab 表达文库产生的片段、抗独特型（抗-Id）抗体、CDR（互补决定区）和免疫特异性结合癌细胞抗原、病毒抗原或微生物抗原的上述任一种的表位结合片段、单链抗体分子；和从抗体片段形成的多特异性抗体。

[0051] 本文中提及的单克隆抗体明确地包括“嵌合抗体”，其中重链和 / 或轻链的部分与来源于特定物种或属于特定抗体种类或亚类的抗体相同或同源，同时链的其余部分与来源于另一物种或属于另一抗体种类或亚类的抗体的相应序列相同或同源，以及此类抗体的片段，只要它们展示所需的生物活性（美国专利 No. 4, 816, 567）。本文中的目的嵌合抗体包括包含来源于非人灵长类（例如，旧世界猴或猿）的可变结构域抗原结合序列和人恒定区序列的“灵长类化”抗体。

[0052] “抗体依赖性细胞介导的细胞毒性”和“ADCC”是指一种细胞介导的反应，其中表达 Fc 受体 (FcR) 的非特异性细胞毒性细胞（例如，天然杀伤 (NK) 细胞、中性白细胞和巨噬细胞）识别靶细胞上结合的抗体并且随后引起靶细胞的裂解。介导 ADCC 的主要细胞，即 NK 细胞，只表达 Fc γ RIII，而单核细胞表达 Fc γ RI、Fc γ RII 和 Fc γ RIII。为了评估目的分子的 ADCC 活性，可进行体外 ADCC 测定（美国专利 No. 5, 003, 621；美国专利 No. 5, 821, 337）。用于此类测定的有用的效应细胞包括外周血单个核细胞 (PBMC) 和天然杀伤 (NK) 细胞。

[0053] “诱导细胞死亡”的抗体是引起活细胞变成无活性的抗体。可在补体和免疫效应细胞不存在的情况下测定体外细胞死亡，以区分由抗体依赖性细胞介导的细胞毒性 (ADCC) 或补体依赖性细胞毒性 (CDC) 诱导的细胞死亡。因此，可使用热灭活血清（即，在补体不存在的情况下）在免疫效应细胞不存在的情况下进行细胞死亡的测定。为了确定所述抗体是否能够诱导细胞死亡，可相对于未处理的细胞评估如通过碘化丙锭 (PI)、台盼蓝或 7AAD 的摄入评估的膜完整性的丧失。诱导细胞死亡的抗体是在 BT474 细胞的 PI 摄入测定中诱导 PI 摄入的抗体。

[0054] “诱导细胞凋亡”的抗体是诱导程序化细胞死亡（如通过膜联蛋白 V 的结合、DNA 的片段化、细胞皱缩、内质网的肿胀、细胞碎裂和 / 或膜囊泡（称为凋亡小体）的形成测定的）的抗体。

[0055] 如本文中所使用的，“化学增敏剂”或“敏化剂”是可增强化学疗法剂、放射疗法或替代治疗方案的治疗效应，从而提高此类治疗或试剂的功效的药剂。还可通过例如测量一段时间内肿瘤尺寸、肿瘤负荷或转移的发生来测量动物例如人或啮齿类动物中肿瘤或癌细胞对治疗的敏感性或抗性。例如，对于人为约 2、约 3、约 4 或约 6 个月，对于小鼠为约 2-4、约 3-5 或约 4-6 周。如果相对于在此类组合物或方法不存在的情况下的治疗敏感性或抗性而言，治疗敏感性的增加或抗性的减小为约 10% 或更多，例如约 30%、约 40%、约 50%、约 60%、约 70%、约 80% 或更多至约 2 倍、约 3 倍、约 4 倍、约 5 倍、约 10 倍、约 15 倍、约 20 倍或更高，那么治疗的组合物或方法可使肿瘤或癌细胞对治疗性治疗敏感。对治疗性治疗的敏感性或抗性的测量在本领域内是常规的，并且在本领域技术人员的技术能力内。

[0056] 术语“肽”、“多肽”和“蛋白质”可互换使用，并且是指由通过肽键或经修饰的肽键例如肽同配体 (isostere) (经修饰的肽键) (其可给肽提供额外的期望的性质例如增加的半衰期) 共价连接的至少两个氨基酸组成的化合物。肽可包含至少 2 个氨基酸。还可通过天然方法，例如翻译后加工，或通过本领域内公知的化学修饰技术修饰本文中描述的包含氨基酸的肽或蛋白质。修饰可发生于肽的任何地方，包括肽主链、氨基酸侧链和氨基或羧基末端。应理解，相同类型的修饰可以相同或不同的程度存在于给定的肽的几个位置。

[0057] 诊断和治疗方法

[0058] 本发明提供了用于预测动物的肿瘤对化学疗法方案的反应的方法，其中将能够优先免疫染色肿瘤细胞中的 SPARC 和 / 或成纤维细胞中的 SPARC 的一种或多种抗 SPARC 抗体施用于所述肿瘤的一个或多个组织切片。随后可基于在组织切片中观察到的免疫染色来预测对所述化学疗法方案的反应。

[0059] 在某些实施方案中，本发明提供了如下方法，包括 (a) 将第一抗 SPARC 抗体施用于肿瘤的组织切片，其中所述第一抗 SPARC 抗体优先免疫染色肿瘤细胞中的 SPARC ;(b) 对 (a) 的组织切片或肿瘤的第二组织切片应用第二抗 SPARC 抗体，其中所述第二抗 SPARC 抗体优先免疫染色成纤维细胞中的 SPARC ;和 (c) 如果所述第一抗 SPARC 抗体和所述第二抗 SPARC 抗体免疫染色所述组织切片，则预测对所述化学疗法方案的阳性反应。

[0060] 在其他实施方案中，本发明提供了如下方法，包括 (a) 对肿瘤组织切片应用第一抗 SPARC 抗体，其中所述第一抗 SPARC 抗体优先免疫染色肿瘤细胞中的 SPARC ;(b) 对 (a) 的组织切片或肿瘤的第二组织切片应用第二抗 SPARC 抗体，其中所述第二抗 SPARC 抗体优先免疫染色成纤维细胞中的 SPARC ;和 (c) 如果所述第二抗 SPARC 抗体免疫染色其所施用于至的组织切片，则预测对所述化学疗法方案的阳性反应。

[0061] 在其他实施方案中，本发明提供了如下方法，包括 (a) 对肿瘤的组织切片应用抗 SPARC 抗体，其中所述抗 SPARC 抗体优先免疫染色肿瘤细胞中的 SPARC ;和 (b) 如果所述抗 SPARC 抗体免疫染色所述组织切片，则预测对所述化学疗法方案的阴性反应。更具体地，利用优先免疫染色肿瘤细胞中的 SPARC 的抗 SPARC 抗体 (例如 MAB941 或识别被 MAB 941 识别的 SPARC 表位的另一种抗体) 对肿瘤细胞的免疫染色可预测阴性结果。在用于预测阴性反应的优选实施方案中，所述肿瘤是胰腺癌并且所述化学疗法方案是单独的或与吉西他滨联合的纳米颗粒白蛋白结合型紫杉醇。然而，应理解可根据本方法评估任何实体癌性肿瘤。

[0062] 在另一个方面，本发明提供了利用化学疗法方案治疗动物的肿瘤的方法。在某些实施方案中，所述方法包括 (a) 对肿瘤的组织切片应用第一抗 SPARC 抗体，其中所述第一抗 SPARC 抗体优先免疫染色肿瘤细胞中的 SPARC ;(b) 对 (a) 的组织切片或肿瘤的第二组织切片应用第二抗 SPARC 抗体，其中所述第二抗 SPARC 抗体优先免疫染色成纤维细胞中的 SPARC ;和 (c) 如果所述第一抗 SPARC 抗体和所述第二抗 SPARC 抗体免疫染色所述组织切片，则给动物施用化学疗法方案。

[0063] 在某些实施方案中，所述第一抗 SPARC 抗体识别被 MAB 941 抗体识别的 SPARC 表位。例如，所述第一抗 SPARC 抗体可以是 MAB 941 抗体。然而，应理解也可在本发明中使用能够以特异性结合该表位的其他抗 SPARC 抗体。在某些实施方案中，所述第二抗 SPARC 抗体识别被 AF941 抗体识别的 SPARC 表位，优选被 AF941 抗体识别的免疫显性 SPARC 表位。例如，所述第二抗 SPARC 抗体可以是 AF941 抗体。

[0064] 然而,应理解,也可在本发明中使用能够以特异性结合该表位的其他抗 SPARC 抗体。可使用本领域内已知的标准技术进行表位作图。例如,来自 Using Antibodies by Ed Harlow 和 David Lane. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA, 1999 (将其通过引用整体并入本文) 中的第 11 章“表位作图”的方案。通过对表位作图,可利用标准技术容易地产生表位特异性抗体。

[0065] 可使用组织微阵列鉴定适当的抗 SPARC 抗体来测定肿瘤和成纤维细胞 SPARC 染色的正确分布。可使用本领域技术人员已知的任何方法制备组织微阵列。可使用利用本领域内已知的标准技术制备的单克隆和多克隆抗体。可制备对于肿瘤 SPARC 和成纤维细胞 SPARC 都具有特异性的抗体。双特异性抗体或对于本文中鉴定的表位具有双重特异性的其他抗体在本发明的方法中是特别优选的。

[0066] 本发明中涉及的联合治疗包括但不限于抗体施用、疫苗施用、细胞毒性剂的施用、天然氨基酸多肽、核酸、核苷酸类似物和生物反应调节剂。可一起或相继地使用两种或更多种组合化合物。化学疗法剂的实例包括烷化剂、抗代谢药、天然产物、激素和拮抗剂以及混杂试剂。烷化剂的实例包括氮芥例如氮芥、环磷酰胺、异环磷酰胺、美法仑 (L-沙可来新) 和苯丁酸氮芥; 乙烯亚胺类和甲基蜜胺类 (methylmelamine) 例如六甲嘧胺和噻替哌; 烷基磺酸酯类例如白消安; 亚硝基脲类例如卡莫司汀 (BCNU)、司莫司汀 (甲基-CCNU)、洛莫司汀 (CCNU) 和链佐星 (streptozocin) (链脲佐菌素 (streptozotocin)); DNA 合成拮抗剂例如磷酸雌莫司汀; 和三嗪类例如达卡巴嗪 (DTIC、二甲基-三氮烯咪唑羧酰胺) 和替莫唑胺。抗代谢药的实例包括叶酸类似物例如甲氨蝶呤 (氨甲蝶呤 (amethopterin)); 嘧啶类似物例如氟尿嘧啶 (5-氟尿嘧啶、5-FU、5FU)、氟尿苷 (氟脱氧尿苷、FUdR)、阿糖胞苷 (胞嘧啶阿糖核苷 (cytosine arabinoside)) 和吉西他滨; 嘌呤类似物例如巯嘌呤 (6-巯基嘌呤, 6-MP)、硫鸟嘌呤 (6-硫代鸟嘌呤, TG) 和喷司他丁 (2'-喷司他丁 (deoxycoformycin)、喷司他丁 (deoxycoformycin))、克拉屈滨和氟达拉滨; 和拓扑异构酶抑制剂例如安吡啶。天然产物实例包括长春花生物碱类例如长春碱 (VLB) 和长春新碱; 紫杉烷类例如紫杉醇 (Abraxane™) 和多西他赛 (泰索帝™); 表鬼臼毒素例如依托泊苷和替尼泊苷; 喜树碱例如拓扑替康 (topotecan) 和伊立替康; 抗生素类例如放线菌素 D (dactinomycin) (放线菌素 D (actinomycin D))、柔红霉素 (daunorubicin) (道诺霉素 (daunomycin)、柔红霉素 (rubidomycin))、多柔比星、博来霉素、丝裂霉素 (丝裂霉素 C)、依达比星、表柔比星 (epirubicin); 酶例如 L-天冬酰胺酶; 和生物反应调节剂例如干扰素 α 和白细胞介素 2。激素和拮抗剂的实例包括促黄体激素释放激素激动剂例如布舍瑞林; 肾上腺皮质类固醇类 (adrenocorticosteroids) 例如泼尼松和相关制剂; 孕激素类例如己酸羟孕酮、醋酸甲羟孕酮和醋酸甲地孕酮; 雌激素类例如己烯雌酚和炔雌醇以及相关制剂; 雌激素拮抗剂例如他莫昔芬和阿那曲唑; 雄激素类例如丙酸睾酮和氟甲睾酮和相关制剂; 雄激素拮抗剂例如氟他胺和比卡鲁胺; 和促性腺素释放激素类似物例如亮丙瑞林。混杂试剂的实例包括沙立度胺; 铂配位络合物例如顺铂 (cis-DDP)、奥沙利铂和卡铂; 葱二酮类例如米托葱醌; 取代的尿素例如羟基脲; 甲基胍衍生物例如丙卡巴肼 (N-甲基胍, MIH); 肾上腺皮质抑制剂例如米托坦 (邻, 对'-DDD) 和氨鲁米特; RXR 激动剂例如贝沙罗汀; 和酪氨酸激酶抑制剂例如伊马替尼。

[0067] 应理解, 确定抗 SPARC 抗体是否免疫染色组织切片, 即组织切片是否是 SPARC 阳

性的,这一操作在本领域技术人员的能力范围内。在某些实施方案中,可使用病理学中的任何方法标准定量免疫染色的水平,从而高于预定水平的任何免疫染色水平被理解为构成 SPARC 阳性样品。例如,可按照 0-3 的等级评估免疫染色,其中 0 = 阴性(少于 5% 的细胞染色),1 = 非常微弱,2 = 适当染色(即 5-50% 的细胞以适当的亚细胞分布显示微弱至中等强度染色),3 = 强染色(即,5% 的细胞显示非常强的染色或超过 50% 的细胞以适当的亚细胞分布显示微弱至适度强的染色)。优选地,当使用这样的等级时,当评分为 3 时,样品被确定为 SPARC 阳性的。在其他实施方案中,当评分为 2 或甚至 1 时,样品可被确定为 SPARC 阳性的。在其他实施方案中,可以例如通过与阳性或阴性对照样品相比较来定量测定免疫染色的水平。例如,如果组织切片的免疫染色显示等于或大于先前或分别被确定为 SPARC 阳性的样品,那么所述组织切片将被理解为 SPARC 阳性的。类似地,如果组织切片的免疫染色显示等于或小于先前或分别地被确定为 SPARC 阴性的样品,那么所述组织切片将被理解为 SPARC 阴性的。同样地,本领域技术人员将能够确定处于已知的 PARC 阳性样品与已知的 SPARC 阴性样品的免疫染色之间的免疫染色的组织切片应当被表征为 SPARC 阳性还是 SPARC 阴性。

[0068] 可使用 SPARC 免疫染色的评分或定量评估来预测对化学疗法方案的阳性或阴性反应。如本发明的方法中预测的阳性反应包括但不限于病理学反应(肿瘤大小或负荷的减小)、总体生存或无疾病进展的生存,如通过至少 5%,优选至少 10%,更优选至少 15%,更优选至少 20%,最优选至少 25% 或更高水平的改善所显示的。可选择地,这种度量显示与无治疗或治疗前或替代治疗相比较而言统计上显著量的改善。阴性反应包括但不限于病理进展、减少的总体生存或减少的无疾病进展生存。

[0069] 肿瘤可以是本领域技术人员已知的任何类型的肿瘤。在优选实施方案中,所述肿瘤是实体癌性肿瘤。可在本方法中进行评估或治疗的示例性肿瘤可包括口腔肿瘤、咽肿瘤、消化系统肿瘤、呼吸系统肿瘤、骨肿瘤、软骨瘤、骨转移瘤、肉瘤、皮肤肿瘤、黑素瘤、乳腺肿瘤、生殖系统肿瘤、泌尿道肿瘤、眼眶肿瘤(orbital tumors)、脑和中枢神经系统肿瘤、神经胶质瘤、内分泌系统肿瘤(endocrine system tumors)、甲状腺肿瘤、食管肿瘤、胃肿瘤、小肠肿瘤、结肠肿瘤、直肠肿瘤、肛门肿瘤、肝肿瘤、胆囊肿瘤、胰腺肿瘤、喉肿瘤、肺肿瘤、支气管肿瘤、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、子宫颈肿瘤、子宫体肿瘤、卵巢肿瘤、外阴肿瘤、阴道肿瘤、前列腺肿瘤、前列腺癌、睾丸肿瘤、阴茎肿瘤、膀胱肿瘤、肾肿瘤、肾盂肿瘤、输尿管肿瘤、头颈部肿瘤、甲状旁腺癌、何杰金氏病、非何杰金淋巴瘤、多发性骨髓瘤、白血病、急性淋巴细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、急性髓样白血病、慢性髓样白血病和肛门肿瘤。雌激素受体阳性(ER+) 肿瘤在本方法中也是优选的。在最优选实施方案中,所述肿瘤是黑素瘤、乳腺癌、头和 / 或颈肿瘤或胰腺癌。

[0070] 涉及的化学疗法方案可以包括上文中所列的任何化学疗法或抗癌药物。在某些实施方案中,所述化学疗法方案包括紫杉烷。在优选实施方案中,所述化学疗法方案包括紫杉醇。在优选实施方案中,根据癌症和 / 或肿瘤的类型选择所述化学疗法方案。例如,当所述肿瘤是胰腺癌时,化学疗法方案包括紫杉醇,优选纳米颗粒白蛋白结合型紫杉醇(Abraxane™)、吉西他滨或其组合。当所述肿瘤是黑素瘤时,化学疗法方案可包括紫杉醇,优选纳米颗粒白蛋白结合型紫杉醇(Abraxane™)、卡铂或其组合。当所述肿瘤是雌激素受体阳性时,化学疗法方案包括紫杉醇,优选纳米颗粒白蛋白结合型紫杉醇(Abraxane™)、雌激

素拮抗剂或 ER+ 消除治疗 (ablation therapy) 或其组合。

[0071] 根据本发明的方法包括例如联合治疗,其中所述动物也经历选自手术、化学疗法、放射疗法、热疗法 (thermotherapy)、免疫疗法、激素疗法和激光治疗的一种或多种癌症治疗。术语“共施用”和“联合治疗”是指给受试者施用两种或更多种治疗活性成分。可将试剂包含在单一药物组合物中并且同时施用,或可将试剂包含在分别的制剂中并且相继地给受试者施用。只要可同时在受试者中检测到这两种试剂,那么所述两种试剂被认为是被共施用的。

[0072] 可通过任何适当的途径实现本发明的药物组合物的施用,包括但不限于静脉内、皮下、肌内、腹膜内、瘤内、口服、经直肠、经阴道、膀胱内和吸入施用,静脉内和瘤内施用是最优选的。组合物还可包含任何其他适当的成分,特别地用于增强组合物的稳定性和/或其终末用途。因此,存在多种多样的本发明组合物的适当制剂。下列制剂和方法仅为示例性的并且绝不起限制作用。

[0073] 需要时,药物组合物还可包括另外的治疗或生物活性试剂。例如,可存在在特定适应症的治疗中有用的治疗因子。控制炎症的因子例如布洛芬或甾类可以是组合物的部分,以减小与药物组合物的体内施用相关的肿胀和炎症以及生理痛苦 (physiological distress)。

[0074] 载体通常可以是液体,但也可以是固体或液体和固体成分的组合。载体理想地是生理可接受的(例如,药物或药理学上可接受的)载体(例如,赋形剂或稀释剂)。生理可接受的载体是公知的并且可容易地获得。可至少部分地根据靶组织和/或细胞的定位以及用于施用组合物的具体方法来确定载体的选择。

[0075] 通常,可将此类组合物制备为注射剂,可以是液体或悬浮液;还可制备适合用于在注射前加入液体时制备液体或悬浮液的固体形式;以及还可乳化制剂。适合用于注射使用的药物制剂包括无菌水溶液或分散体;包含已知的蛋白质稳定剂和冻干保护剂的制剂、包含芝麻油、花生油或含水丙二醇的制剂以及用于临时制备无菌注射液或分散体的无菌粉剂。在所有情况下,所述制剂必须是无菌的,并且其流动性必须达到可容易注射的程度。其必须在制造和贮存的条件是稳定的,并且必须进行防腐剂处理以抵抗微生物例如细菌和真菌的污染作用。可将游离碱或药理学上可接受盐形式的活性化合物的溶液配制于与表面活性剂例如羟基纤维素适当混合的水中。还可将分散体配制在甘油、液体聚乙二醇以及其混合物和油中。在贮存和使用的一般条件下,此类制剂包含防腐剂以防止微生物的生长。

[0076] 药理学上可接受的盐包括酸加成盐(与蛋白质的游离氨基形成的),所述盐是与无机酸例如盐酸或磷酸,或者有机酸例如乙酸、草酸、酒石酸、扁桃酸等形成的。与游离羧基形成的盐也可衍生自无机碱例如氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化铵、氢氧化钙或氢氧化铁,和有机碱如异丙胺、三甲胺、组氨酸、普鲁卡因等。

[0077] 适合用于胃肠外施用的制剂包括水性和非水性等渗无菌注射溶液,其可包含抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂和使得制剂与期望的受者的血液等渗的溶质,以及水性和非水性无菌悬浮液,其可包含悬浮剂、增溶剂、增稠剂、稳定剂和防腐剂。制剂可以以单位剂量或多剂量存在于密封容器例如安瓿和小瓶中,并且可在冷冻干燥(冻干的)条件下贮存,只需在即将使用之前加入无菌液体赋形剂例如水以用于注射。可从先前描述的种类的无菌粉剂、颗粒和片剂制备临时注射液和悬浮液。在本发明的一个优选实施方案中,配制包含肽配体结构

域的缀合物以用于注射（例如，胃肠外施用）。在这方面，所述制剂理想地适合用于瘤内施用，但也可被配制用于静脉内注射、腹膜内注射、皮下注射等。

[0078] 适合通过吸入施用的制剂包括气溶胶制剂。可将气溶胶制剂置于加压的可接受喷射剂，例如二氯二氟甲烷、丙烷、氮气等中。还可将它们配制为非加压的制剂，以用于从喷雾器或雾化器递送。

[0079] 可通过将活性成分与多种基质例如乳化基质或水溶性基质混合来将适合于肛门施用的制剂可配制为栓剂。可将适合用于阴道施用的制剂配制成子宫托 (pessaries)、止血塞 (tampon)、乳膏剂 (cream)、凝胶剂、糊剂、泡沫或喷雾制剂 (spray formulas)，其中除了活性成分外还包含如已知在本领域内适用的载体。

[0080] 此外，本发明的组合物可包含另外的治疗或生物活性剂。例如，可存在可用于治疗特定适应症的治疗因子。控制炎症的因子例如布洛芬或甾类可以是组合物的部分，以减小与药物组合物的体内施用有关的肿胀和炎症以及生理痛苦。

[0081] 在吸入治疗的情况下，本发明的药物组合物理想地以气溶胶形式存在。气溶胶和用于施用所述试剂（如果以固体形式存在）的喷雾发生器是可获得的。此类发生器提供可呼吸或可吸入的颗粒，并且以适合于人施用的速率产生一定体积的包含预定计量剂量的药剂的气雾剂。此类雾化剂和喷雾发生器的实例包括本领域内已知的计量剂量吸入器和充气器 (insufflator)。如果以液体形式存在，可利用适当的设备雾化本发明的药物组合物。

[0082] 当与静脉内、腹膜内或瘤内施用结合使用时，本发明的药物组合物可包含活性化合物的无菌水性和非水性注射液、悬浮液或乳剂，所述制剂优选与期望的受者的血液等渗。此类制剂可包含抗氧化剂、缓冲剂、表面活性剂、共溶剂、抑菌剂、使得组合物与期望的受者的血液等渗的溶质和本领域内已知的其他制剂成分中的一种或多种。水性和非水性无菌悬浮液可包含悬浮剂和增稠剂。所述组合物可以以单剂量或多个剂量存在于容器例如密封的安瓿和小瓶中。

[0083] 需要时，本发明还提供了其中将肽作为“替代治疗”施用并且可将此类肽缀合至聚乙二醇 (PEG) 的实施方案。PEG 缀合可增加此类多肽的循环半衰衰期，减少多肽的免疫原性和抗原性，以及改善它们的生物活性。如果使用，可使用 PEG 缀合物的任何适当方法，包括但不限于，使甲氧基-PEG 与肽的可用氨基或其他反应位点例如组氨酸或半胱氨酸反应。此外，可使用重组 DNA 方法将具有 PEG 反应性基团的氨基酸加至包含肽配体结构域的缀合物。此外，可根据本发明的方面使用可释放和杂合 PEG 化策略，例如多肽的 PEG 化，其中添加至包含肽配体结构域的缀合物分子的某些位置的 PEG 方法在体内被释放。PEG 缀合方法的实例在本领域内是已知的。参见，例如，Greenwald 等人，*Adv. Drug Delivery Rev.* 55 : 217-250 (2003)。

[0084] 所述动物可以是需要治疗或诊断的任何患者或受试者。在优选实施方案中，所述动物是哺乳动物。在特别优选的实施方案中，所述动物是人。在其他实施方案中，所述方法可以是小鼠、大鼠、兔、猫、狗、猪、绵羊、马、牛或非人灵长类动物。

[0085] 下列实施例进一步举例说明本发明，但当然不应当解释为以任何方式限定其范围。

[0086] 实施例 1

[0087] 本实施例描述了针对回顾性肿瘤 SPARC 状态而对患者对 Abraxane™ 白蛋白结合型

纳米颗粒紫杉醇的反应的分析。

[0088] 利用动脉内 Abraxane™白蛋白结合型纳米颗粒紫杉醇治疗 54 个患有头颈癌的患者,利用放射线摄影测量他们的肿瘤以确定对治疗的反应性。追溯地,测定其数据可供利用的 16 个患者的肿瘤 SPARC 状态。

[0089] 对于所有患者 ($n = 54$),对 Abraxane™白蛋白结合型纳米颗粒紫杉醇的总体阳性反应为 45/54 (78%)。对于具有已知肿瘤 SPARC 状态的患者,12 个具有 SPARC 阳性肿瘤的患者中有 10 个 (83%) 对 Abraxane™起反应。相反地,对于具有 SPARC 阴性肿瘤的患者,4 个患者中只有 1 个 (25%) 对这样的治疗起反应。使用 Fisher 精确检验,结果是显著的, $P = 0.06$ 。

[0090] 这些结果显示了肿瘤 SPARC 阳性状态与对 Abraxane™白蛋白结合型纳米颗粒紫杉醇化学疗法的反应之间的可能相关性。

[0091] 实施例 2

[0092] 本实施例描述了肿瘤微环境中 SPARC 表达的不同成分的鉴定和它们在提供预后信息中的用途。

[0093] 就它们在一系列正常和肿瘤组织中的结合特征评估一系列抗 SPARC 的抗体。测定肿瘤的不同组成部分中的 SPARC 表达模式 (如通过免疫染色测定的),包括肿瘤细胞、血管、成纤维细胞、间质、炎症细胞和邻近正常组织的 SPARC 表达水平。通过对于 SPARC 的差异亲和力鉴定到两种抗体,并且将其用于随访研究。具体地,使用单克隆抗体 ("抗体 M") (SPARC 单克隆抗体 (R&D Systems, Minneapolis, MN), 目录号 MAB941 批号 ECH 045011), 以 1 : 100 稀释于基于 tris 的稀释液中) 和多克隆抗体 ("抗体 P") (SPARC 多克隆抗体 (R&D Systems, Minneapolis, MN, 目录号 AF941 批号 EWN04), 以 1 : 50 稀释于基于 tris 的稀释剂中) 测定染色的模式。

[0094] 在载玻片上制备肿瘤的组织切片,使用标准免疫染色方案进行染色。简而言之,排列 (Beecher 仪, Silver Spring, Md) 来自福尔马林固定的、石蜡包埋的肿瘤块的组织核心 (每块有 2 个来自最具代表性的区域的核心),以产生每个测量为 2.0mm 的核心的组织微阵列,并且将其置于带正电荷的载玻片上。随后将具有样品的载玻片置于 60°C 的烘箱中进行 1 小时,冷却,脱蜡,经二甲苯和梯度乙醇溶液至水进行再水合。使用自动染色装置 (Dako Cytomation 自动染色仪, Dako, Carpinteria, CA) 对所有载玻片进行染色。

[0095] 将所有载玻片在 3%过氧化氢水溶液中猝灭 5 分钟以封闭内源过氧化物酶。在用缓冲液漂洗后,用抗体 M 或阴性对照试剂温育载玻片,进行 30 分钟。温育小鼠辣根过氧化物酶聚合物试剂盒 (Mouse MACH 3HRP Polymer 试剂盒, Biocare Medical, Concord, CA), 每试剂进行 20 分钟。在另一次用缓冲液漂洗后,施加 DAB 色原 (Dako, Carpinteria, CA), 进行 10 分钟。将苏木精用于复染载玻片。将相同的方案用于利用抗体 P 免疫染色样品,但利用抗生物素蛋白 - 生物素试剂盒 (Biocare Medical, Concord, CA) (每试剂温育 15 分钟) 替代 HRP 检测试剂盒。

[0096] 由委员会核定的病理学家进行一系列样品的 SPARC 表达的详细病理学评估。对不同肿瘤成分的 SPARC 表达水平 (如通过免疫组织化学测定的) 进行评分。按 0-3 的等级赋予 SPARC 表达水平分值,3 为最为阳性的评分,这在本领域中被普遍采用,并且对于本领域技术人员来说是公知的。所使用的单克隆和多克隆抗体检测如表 1 中所示的不同的 SPARC

表达模式。

[0097] 表 1

[0098]

	肿瘤			成纤维细胞		
	抗体 P	抗体 M		抗体 P	抗体 M	
乳腺	30/106	35/106	P=ns	82/107	26/107	P<0.0001
胰腺	20/36	7/36	P=0.0031	18/29	5/29	P=0.0011
黑素瘤	30/41	20/41	P=0.0408	19/33	14/33	P=ns

[0099] 所述多克隆抗体显示对成纤维细胞中 SPARC 的优先染色。然而单克隆抗体显示优先染色肿瘤细胞中的 SPARC。根据这些染色参考资料,就它们在一系列肿瘤中的预测值分析下列 SPARC 模式。

[0100] A,当在任何成分中均发现为 3+ 时。

[0101] B,当对于单克隆抗 SPARC 抗体在任何成分中发现为 3+ 时。

[0102] C,当对于单克隆抗 SPARC 抗体在任何成分中发现为 3+ 时。

[0103] D,当对于两种抗 SPARC 抗体在肿瘤细胞中均发现为 3+ 时。

[0104] E,当对于两种抗 SPARC 抗体在成纤维细胞中均发现为 3+ 时。

[0105] 使用逻辑回归和比例风险测定反应、无疾病进展存活率 (" PFS") 和总体存活 (" OS") 与 SPARC 模式之间的相关性。

[0106] 肿瘤组之一是具有不能切除的 IV 期黑素瘤的患者的卡铂和新肿凡纳明 (nab)-紫杉醇 (ABI-007) 的 II 期试验。具体地,在 28 天周期的第 1、8 和 15 天施用新肿凡纳明-紫杉醇 (100mg/m²) 和卡铂 (AUC2)。如图 1 中所示,在 D 模式 (即,当对于两种抗 SPARC 抗体在肿瘤细胞中均发现 3+ 时) 与总体生存之间存在统计上显著的相关性。

[0107] 另一组肿瘤获自患有晚期胰腺癌的患者,患者已在 28 天周期的第 1、8 和 15 天进行了利用 Abraxane™ 白蛋白结合型纳米颗粒紫杉醇 (100-150mg/m²) 和吉西他滨 (1000mg/m²) 的治疗。在这些患者中,如表 2 中所示观察到对治疗的反应。

[0108] 表 2

[0109]

反应	CR*	PR*	SD*	PD*
32 个患者中 的数目	2 (6%)	14 (44%)	14 (44%)	2 (6%)

[0110] (*CR, 完全反应 ;PR, 部分反应 ;SD, 稳定的疾病 ;PD, 进行性疾病)

[0111] 在这些患者中,在反应与肿瘤细胞的 SPARC 表达 (如通过利用多克隆抗 SPARC 抗体染色测定的) 之间存在显著的相关性 (单尾 t 检验, p = 0.027)。在另一方面,利用单克隆抗体对肿瘤细胞的染色预测了更差的总体生存和无疾病进展生存。

[0112] 此外,B 模式的染色 (即,当利用单克隆抗 SPARC 抗体在任何成分中发现为 3+ 时)

预示了该方案对于患胰腺癌的这些患者有最差的无疾病进展生存。

[0113] 这些结果显示患者对基于纳米颗粒紫杉醇的方案（具体地，基于**Abraxane®**的方案）的反应与不同细胞类型的肿瘤中 SPARC 表达的模式之间存在统计上显著的相关性。

[0114] 实施例 3

[0115] 本实施例评估 SPARC 表达与乳腺癌的雌激素受体 (ER) 阳性是否具有任何相关性。

[0116] 利用两个抗 SPARC 抗体组合评估来自两个新辅助疗法乳腺试验的 54 个 ER 阳性 (ER+) 和 52 个 ER 阴性 (ER-) 乳腺肿瘤样品。单克隆抗 SPARC 抗体对肿瘤细胞的染色与 ER 阳性显著相关 ($p = 0.01$)。在 54 个 ER+ 肿瘤中, 44.44% ($n = 24$) 是 mAT SPARC 阳性的, 而 55.58% ($n = 30$) 是 SPARC 阴性的。在 52 个 ER 肿瘤中, 78.5% ($n = 41$) 也是 SPARC 阴性的, 而 21.15% ($n = 11$) 是 SPARC 阳性的。

[0117] 虽然 ER 阳性被认为是乳腺癌的良好预后指标, 但这些结果显示其也与 SPARC 阳性相关。

[0118] 实施例 4

[0119] 本实施例提供了用于制备和免疫染色组织切片的示例性方案。

[0120] 排列 (Beecher 仪, Silver Spring, Md) 来自福尔马林固定的、石蜡包埋的肿瘤块的组织核心 (每块有 2 个来自最具代表性区域的核心), 以产生每个测量为 2.0mm 的核心组织微阵列, 并且将其置于带正电荷的载玻片上。将具有样品的载玻片置于 60°C 的烘箱中进行 1 小时, 冷却, 脱蜡, 经二甲苯和梯度乙醇溶液至水进行再水合。随后将所有载玻片在 3% 过氧化氢水溶液中猝灭 5 分钟以封闭内源过氧化物酶。利用加热法进行抗原恢复, 其中使用蔬菜蒸笼 (vegetable steamer) 将样品于 94°C 下置于柠檬酸溶液 (pH 6.1) (code S 1699, Dako, Carpinteria, CA) 进行 20 分钟, 然后冷却 15 分钟。随后将载玻片置于免疫染色系统例如 Dako Cytomation Autostainer (Dako, Carpinteria, CA) 上, 以与利用适当抗体的免疫组织化学法一起使用。

[0121] 该方法基于如下的连续应用: (1) 抗待定位的抗原的一抗, (2) 生物素化的交联抗体, (3) 酶缀合的链霉抗生物素蛋白和 (4) 底物色原 (DAB)。随后将载玻片在 Richard-Allan 苏木精 (Kalamazoo, MI) 中复染, 经梯度乙醇溶液脱水, 用盖玻片覆盖在上面。

[0122] 实施例 5

[0123] 本实施例提供了同时使用多种免疫染色制备和免疫染色组织切片的方案 ("2-色双免疫染色")。

[0124] 与上文实施例 4 中一样, 以 4 μ m 的厚度将石蜡包埋的组织块切片, 将切片置于带正电荷的载玻片上。随后将具有样品的载玻片置于 60°C 的烘箱中进行 1 小时, 脱蜡, 经二甲苯和梯度乙醇溶液至水进行再水合。随后将载玻片在 3% 过氧化氢水溶液中猝灭 5 分钟以封闭内源过氧化物酶。利用加热法进行抗原恢复, 其中采用蔬菜蒸笼将样品于 94°C 下置于柠檬酸溶液 (pH 6.1) 进行 25 分钟 (与对于先前提及的个别抗体的 30 分钟相比较), 再冷却 15 分钟。随后将载玻片置于免疫染色系统 (Dako, Carpinteria, CA) 上以与免疫组织化学法一起使用。

[0125] 将第一一抗在室温下温育 30 分钟。将检测系统 EnVision+dual link (Dako, code K4061, Carpinteria, CA) 温育 30 分钟。最后, 温育 DAB 色原。在应用第二一抗之前, 加入无血清蛋白质封闭剂 (Dako, code X0909, Carpinteria, CA) 以使本底和一抗之间的交叉反应降

至最低。将第二一抗在室温下温育1小时。再使用EnVision+dual link(Dako,code K4061, Carpinteria, CA)作为检测系统并且温育30分钟。将NovaRED(Vector Laboratories, Burlingame, Calif)与第二一抗一起使用,以便可容易地区分利用两种抗体的染色。随后在Richard-Allan 苏木精中复染载玻片,通过梯度乙醇溶液脱水,用盖玻片覆盖在上面。

[0126] 本文中引用的全部参考资料,包括出版物、专利申请和专利在此被引用作为参考,如同每一个参考资料在此被个别且具体地引用作为参考并且以其整体列于本文中一样。

[0127] 除非在本文中另有所指或根据上下文明确矛盾,在描述本发明时(特别是在下列权利要求中),术语“一种”和“一个”以及“这种(the)”和相似的指示物的使用被解释为涵盖单数和复数。除非另外指出,否则术语“包含”、“具有”、“包括”和“含有”被解释为开放式的术语(即,意指“包括,但不限于”)。除非在本文中另有所指,否则本文中数值范围的引用仅仅意欲用作单个地指示落在所述范围内的每一个单独的值的速记方法,并且每一个单独的值被并入说明书中,就如同其在本文中被单独列出一样。除非另在本文中另外指出或根据上下文明确矛盾,否则可以以任何适当的顺序实施本文中描述的所有方法。除非另有要求,否则本文中提供的任何和所有实例或示例性短语(例如,“例如”)的使用仅仅意欲更好地阐明本发明,并且不对本发明的范围加以限制。本说明书中的短语不应当解释为将任何非要求的元素标示为实施本发明所必需的。

[0128] 在本文中描述了本发明的优选实施方案,包括对于本发明者来说已知用于进行本发明的最佳模式。在阅读上述说明书后,此类优选实施方案的变型对于本领域技术人员将变得显而易见。发明者预期本领域技术人员在适当时会利用此类变型,并且本发明者意欲本发明以本文中明确描述的方式之外的其它方式实施。因此,本发明包括其所附的权利要求中引述的主题的所有变动和等同物,如由适用的法律所允许的。此外,除非在本文中另有所指或通过上下文明确存在矛盾,否则上述元素的所有可能变型中的任何组合均包括在本发明中。

OS与SPARC阳性之间的相关性

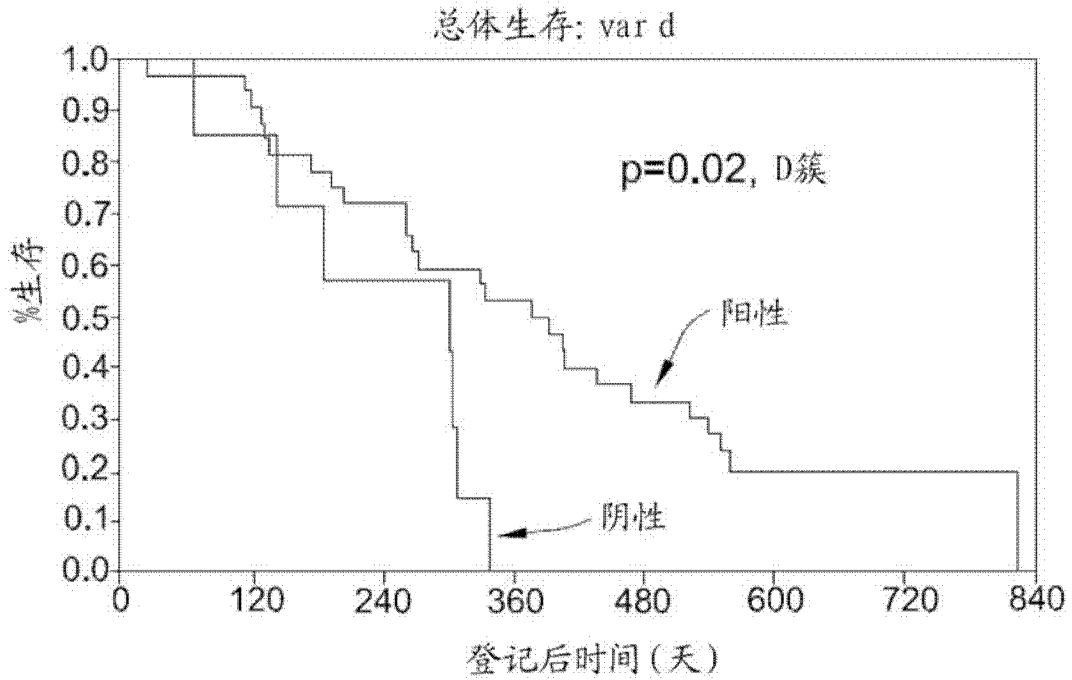


图 1

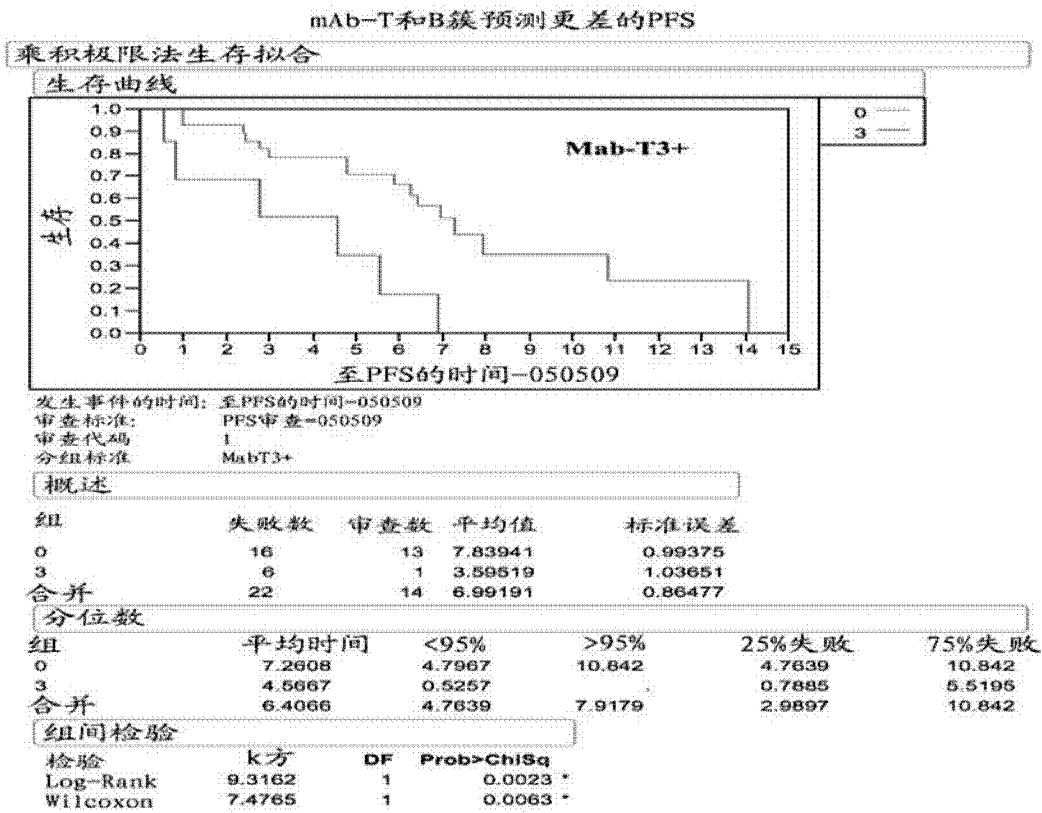


图 2A

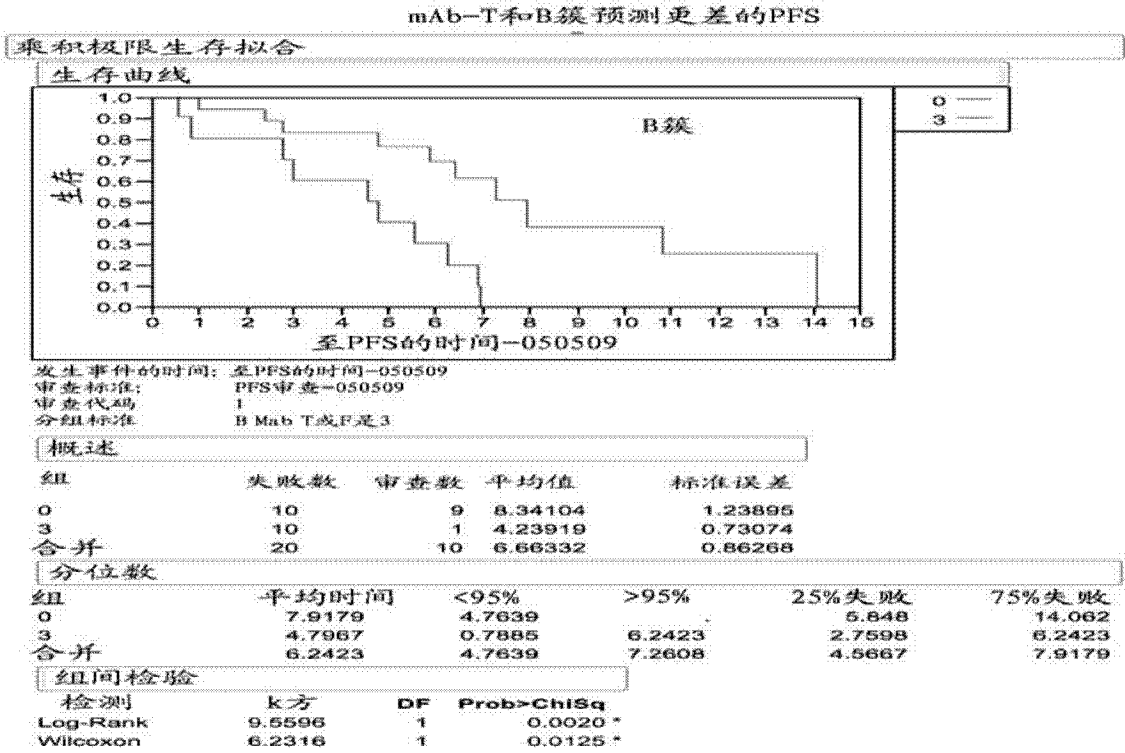


图 2B

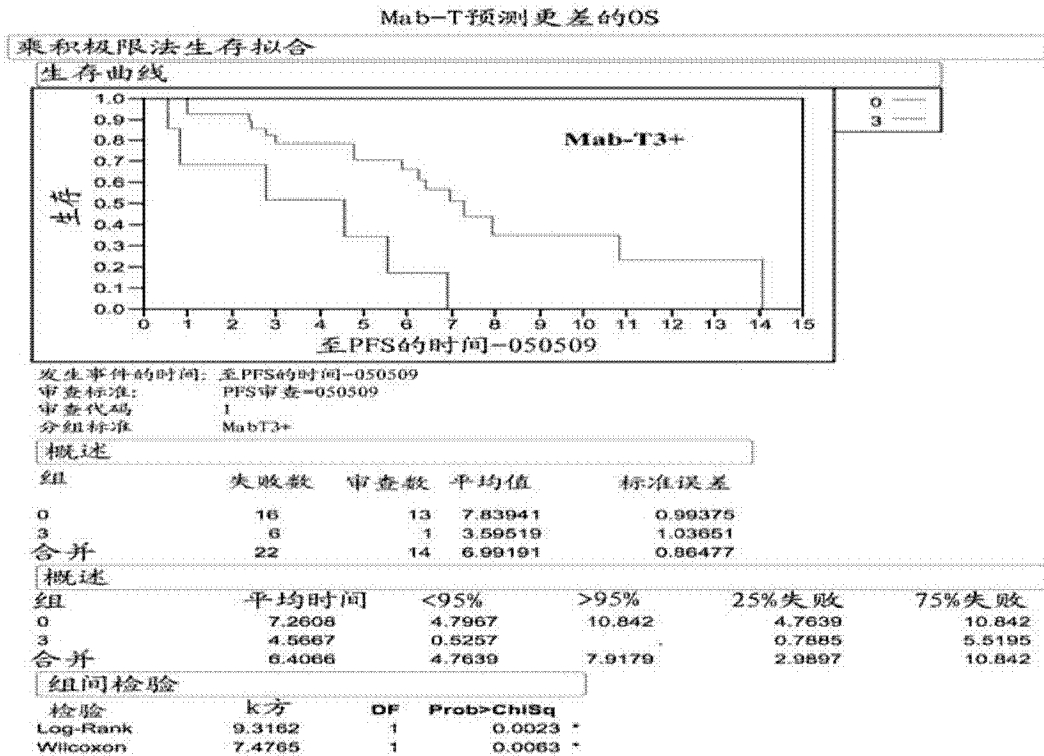


图 3A

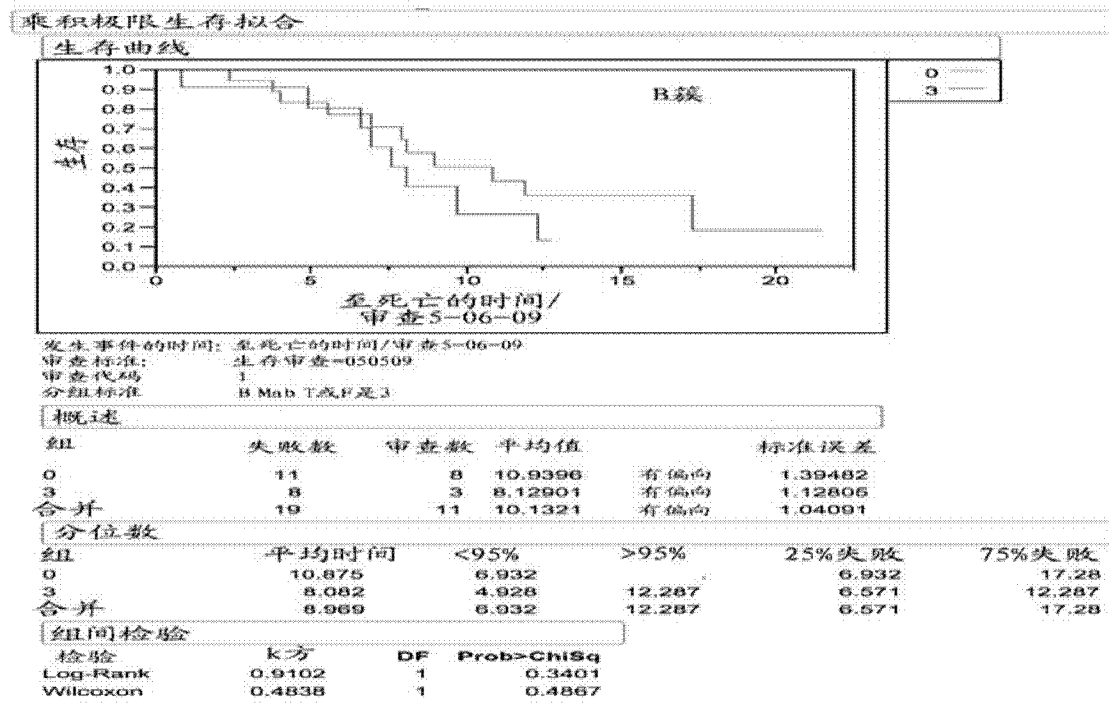


图 3B