

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2013-227352

(P2013-227352A)

(43) 公開日 平成25年11月7日(2013.11.7)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	T 4 C 0 8 4
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 P 35/02	4 C 0 8 5
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	

審査請求 有 請求項の数 11 O L (全 29 頁)

(21) 出願番号	特願2013-168046 (P2013-168046)	(71) 出願人	502440595
(22) 出願日	平成25年8月13日 (2013. 8. 13)		バイオジェン アイデック インコーポレイテッド
(62) 分割の表示	特願2010-185374 (P2010-185374) の分割		アメリカ合衆国、カリフォルニア、サンディエゴ、リサーチ プレイス 5200
原出願日	平成11年8月11日 (1999. 8. 11)	(74) 代理人	110000855
(31) 優先権主張番号	60/096, 180		特許業務法人浅村特許事務所
(32) 優先日	平成10年8月11日 (1998. 8. 11)	(72) 発明者	グリロ - ロペズ、アントニオ
(33) 優先権主張国	米国 (US)		アメリカ合衆国 カリフォルニア、ランチョ サンタ フェ、ピー、オー、ボックス 3797
		Fターム(参考)	4C084 AA19 MA02 NA05 ZB262 ZC752 4C085 AA14 CC23 EE03

(54) 【発明の名称】 抗CD20抗体の投与を含むB細胞リンパ腫の併用療法

(57) 【要約】

【課題】 抗CD20抗体を用いる治療と、サイトカイン、放射線治療法、骨髄機能廃絶療法、または化学療法とを併用する、B細胞リンパ腫の併用療法を提供すること。

【解決手段】 再発性B細胞リンパ腫を有する患者に治療上有効量の抗CD20抗体を投与することを含んでなる、再発性B細胞リンパ腫の治療方法。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

人間の患者における B 細胞リンパ腫の治療において、化学療法と組み合わせて使用するためのリツキシマブを含む医薬組成物であって、治療上有効な量の該医薬組成物を、該化学療法の前、途中、後に、該患者に投与し、該化学療法が C V P である、上記医薬組成物。

【請求項 2】

前記リツキシマブと前記化学療法による治療が有効な相乗効果をもたらす、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 3】

B 細胞リンパ腫が非ホジキンリンパ腫 (N H L) である、請求項 1 又は 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 4】

前記 N H L が低悪性度 / 濾胞性 N H L である、請求項 3 に記載の医薬組成物。

【請求項 5】

前記 N H L が巨大病変 N H L である、請求項 3 に記載の医薬組成物。

【請求項 6】

前記リツキシマブが前記化学療法と同時に患者に投与される、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 7】

リツキシマブが $375 \text{ mg} / \text{m}^2$ の用量で投与される、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 8】

8 用量の $375 \text{ mg} / \text{m}^2$ のリツキシマブが投与される、請求項 7 に記載の医薬組成物。

【請求項 9】

前記患者は抗癌療法を事前に受けていない、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 10】

C V P 療法を含むリンパ腫のための以前の治療についてレスポナーであるヒトの患者における低悪性度 B 細胞非ホジキンリンパ腫の治療における利用のためのリツキシマブを含む医薬組成物であって、2 年間、 $375 \text{ mg} / \text{m}^2$ の用量でのリツキシマブ維持療法として投与される、上記医薬組成物。

【請求項 11】

B 細胞リンパ腫の患者における ^{90}Y イットリウム標識 - 抗 C D 2 0 抗体 B 8 (Y 2 B 8) 投与前の投与のためのリツキシマブを含む医薬組成物であって、該 Y 2 B 8 の投与前に $250 \text{ mg} / \text{m}^2$ の用量で投与される、上記医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(発明の分野)

本発明は、B 細胞リンパ腫の治療における抗 C D 2 0 抗体またはその断片の使用、特に併用療法におけるそのような抗体と断片の使用に関する。

【背景技術】

【0002】

(発明の背景)

B 細胞リンパ腫のための診断薬および / または治療薬としての C D 2 0 抗原に対する抗体の使用は、従来から報告されている。C D 2 0 は、悪性 B 細胞 (すなわち、活発な増殖が B 細胞リンパ腫を引き起こすような B 細胞) の表面で高密度に発現されるため、この抗原は、B 細胞リンパ腫の有用なマーカーまたは標的である。

【0003】

10

20

30

40

50

CD20またはBp35は、早期プレB細胞の発生中に発現され、形質細胞の分化まで維持されるBリンパ球限定分化抗原である。CD20分子は、細胞サイクルの開始と分化に必要なB細胞活性化プロセス中のある工程を制御しているかも知れないと考える者もいる。さらに前記したように、CD20は通常、新生物（「腫瘍」）B細胞上で非常に高レベルで発現される。CD20抗原は、脱落せず、変化せず、またはインターナリゼーションされないため、ターゲティング療法にとって魅力的である。

【0004】

抗CD20抗体を使用する従来報告された治療法は、治療用抗CD20抗体を、単独でまたは第2の放射能標識抗CD20抗体とともに、または化学療法剤とともに投与していた。

10

【0005】

実際、食品医薬品局（Food and Drug Administration）（FDA）は、再発性かつ以前治療された低悪性度非ホジキンリンパ腫（NHL）での、そのような1つの抗CD20抗体（リツキサン（Rituxan）（登録商標））の治療的使用を認可した。また、放射能標識マウス抗CD20抗体とのリツキサン（登録商標）の併用が、B細胞リンパ腫の治療に示唆されている。

【0006】

しかし、抗CD20抗体および特にリツキサン（登録商標）（米国；英国では、マプテラ（MabThera）（登録商標）；一般にはリツキシマブ（Rituximab）（登録商標））は、B細胞リンパ腫（例えば、非ホジキンリンパ腫）の治療に有効であると報告されているが、治療された患者ではしばしば疾患が再発する。従って、より有効な治療法が開発されれば、さらに有用であろう。

20

【0007】

さらに詳しくは、抗CD20抗体が他のリンパ腫治療と併用して有効であるなら、そして新しい併用治療法が開発されて、再発の可能性または頻度が低下すれば有用であろう。またB細胞リンパ腫の現在の治療法が改良されて、他の治療法に抵抗性のリンパ腫の患者が、キメラまたは放射能標識抗CD20抗体で治療できるなら、有用であろう。また、低悪性度濾胞性非ホジキンリンパ腫以外の他のタイプのリンパ腫の治療に、抗CD20抗体による治療（特に、他の治療法との併用）が使用できるなら、有用であろう。

【発明の概要】

30

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

（発明の要約）

本発明は、B細胞リンパ腫の併用療法を開示し、キメラおよび放射能標識抗CD20抗体を用いて再発性または抵抗性B細胞リンパ腫を治療する利点を報告する。特に抗CD20抗体を用いる治療は、サイトカイン、放射線治療法、骨髄機能廃絶療法、または化学療法と併用する時、有効な相乗作用を提供することがわかっている。驚くべきことに、かつて骨髄移植または幹細胞移植を受けた患者は、かつて治療を受けたことのない患者に比較して、全体の応答速度が予想外に上昇した。

【発明を実施するための形態】

40

【0009】

（発明の詳細な説明）

本発明は、B細胞リンパ腫の治療のための併用療法を包含する。一般に、このような方法には、かつてリンパ腫の治療を受けた患者が再発し、治療上有効量のキメラ抗CD20抗体を投与される、再発性B細胞リンパ腫の治療法を含む。そのような前に受けた治療には、例えば抗CD20抗体を用いた従来の治療、骨髄移植または幹細胞移植を含む治療、放射線治療法、および化学療法がある。従来化学療法は、広範囲の化学療法剤や併用療法、例えばCHOP、ICE、ミトザントロン（Mitozantrone）、シタラビン（Cytarabine）、DVP、ATRA、イダルビシン（Idarubicin）、ヘルツァー（hoelzer）化学療法、ララ（LaLa）化学療法、ABVD、CEOP、2-CD4、FLAG&IDA（以後

50

の G - C S F 治療有りまたは無し)、V A D、M & P、C - W e e k l y、A B C M、M O P P、および D H A P よりなる群から選択される。

【 0 0 1 0 】

また本発明には、他の治療法(上記したものを含む、すなわちキメラ抗 C D 2 0 抗体を用いた治療、骨髄移植または幹細胞移植を含む治療、放射線治療法、および化学療法)では抵抗性の被験体である、B 細胞リンパ腫を有する被験体の治療法が包含される。特に、放射能標識抗 C D 2 0 抗体を患者に投与することを含んでなる、キメラ抗 C D 2 0 抗体の投与後に顕著な腫瘍緩解または退縮を示さなかった患者の治療法が包含される。

【 0 0 1 1 】

特に、キメラ抗体後に放射能標識抗体で患者を治療する方法では、キメラ抗 C D 2 0 抗体の投与後に、放射能標識抗 C D 2 0 抗体を約 1 週間から約 2 年間投与する。さらに詳しくは、キメラ抗 C D 2 0 抗体の投与後に、放射能標識抗 C D 2 0 抗体を約 1 週間から約 9 ヶ月間投与する。

【 0 0 1 2 】

本発明の方法に任意の抗 C D 2 0 抗体が使用できるが、好適なキメラ抗体は C 2 B 8 (アイディーイーシーファーマシューチカルズ社 (IDEC Pharmaceuticals)、リツクシマブ (Rituximab) (登録商標)) である。好適な放射能標識抗体は Y 2 B 8 であり、これは イットリウム - 9 0 (^{90}Y) で標識したマウス抗体である。しかし他の放射能標識物を有する抗体も使用でき、特にベータまたはアルファ同位元素で標識したものが使用できる。抗 C D 1 9 抗体を使用してもよい。

【 0 0 1 3 】

特定のタイプの抗 C D 2 0 抗体を選択するためのパラメータは、当業者には公知であろう。例えばキメラ抗体およびヒト化抗体は、免疫原性の低減、およびヒト定常領域ドメインを介する抗体エフェクター介在哺乳動物免疫応答の促進に有用である。これに対してマウスおよび他の哺乳動物抗体は、インビボでの半減期が短いため、そのような抗体は腫瘍細胞に放射能標識物を送達するのに有用である。

【 0 0 1 4 】

患者が抵抗性であるかまたは再発するような初期の抗体治療法には、キメラ抗体または哺乳動物抗体による初期治療がある。また、他の抗体(抗 C D 1 9 抗体や抗 L y m 抗体を含む)による初期治療、および細胞障害性残基(例えば毒素)および放射能標識物(例えばオンコリム (Oncolym) (登録商標) (テクニクロン (Techniclone)) またはベクサー (Bexxar) (コールター (Coulter)) で標識した抗体による初期治療も含まれる。

【 0 0 1 5 】

本発明の併用療法は、治療法が同時に行われ、すなわち抗 C D 2 0 抗体は、同時にまたは同じ時間枠(すなわち、治療は同時に進んでいるが、薬剤は全く同時に投与されるわけではない)で投与される。本発明の抗 C D 2 0 抗体はまた、他の治療法の前または後に投与されてよい。患者が最初の治療法に应答して緩解または再発の可能性が低下するかどうかに関係なく、連続投与を行ってよい。

【 0 0 1 6 】

本発明の併用療法には、少なくとも 1 つのキメラ抗 C D 2 0 抗体と少なくとも 1 つのサイトカインとを投与することを含んでなる、B 細胞リンパ腫の治療法を含む。特に本発明は、少なくとも 1 つの抗 C D 2 0 抗体と少なくとも 1 つのサイトカインとを含む相乗作用的治療の組合せを投与することを含んでなる、B 細胞リンパ腫の治療法を含み、その治療効果はいずれか単独で治療する場合の相加効果より優れている。好適なサイトカインは、アルファインターフェロン、ガンマインターフェロン、I L - 2、G M - C S F および G - C S F よりなる群から選択される。さらに抗 C D 2 0 抗体とサイトカインは、連続的に、任意の順序で、または組合せて投与される。

【 0 0 1 7 】

また本発明には、化学療法の前、その最中、または後に、治療上有効量のキメラ抗 C D 2 0 抗体を患者に投与することを含んでなる、B 細胞リンパ腫の治療法が含まれる。その

10

20

30

40

50

ような化学療法は、少なくとも、CHOP、ICE、ミトザントロン、シタラビン、DVP、ATRA、イダルビシン、ヘルツァー（hoelzer）化学療法、ララ（LaLa）化学療法、ABVD、CEOP、2-CD4、FLAG&IDA（以後のG-CSF治療有りまたは無し）、VAD、M&P、C-Weekly、ABCM、MOPP、およびDHAPよりなる群から選択される。

【0018】

また本発明には、骨髄移植または末梢幹細胞移植の前、その最中、または後に、治療上有効量のキメラ抗CD20抗体を患者に投与することを含んでなる、B細胞リンパ腫の治療法が含まれる。そのような骨髄移植にはまた、化学療法のような他の治療法を併用してもよい。本発明の抗体はまた、キメラ抗CD20抗体を患者に投与することにより、骨髄機能廃絶療法の前または後に、骨髄または幹細胞中の残存CD20+腫瘍細胞を減少させる方法で使用してもよい。また、患者に戻して注入する前に、インビトロでそのような抗体を使用して腫瘍細胞のアポトーシスを誘導し、残存腫瘍細胞の骨髄または幹細胞調製物を、減少または治療することもできる。

10

【0019】

幹細胞移植物は、同種異系移植でも自己由来でもよいことを理解されたい。移植が同種異系（すなわち、他のヒトから）の場合は、開示された治療法には、抗CD20抗体の投与前に免疫抑制剤で治療することを含む。移植物の受容性を増強し免疫細胞の産生と分化を刺激することを目的とする他の薬剤の同時投与も包含される。例えば、骨髄移植受容者にGM-CSFを投与すると、特異的な骨髄細胞の成長が促進され、これは次に、感染と戦う循環好中球を産生し、骨髄移植受容者の生存率が上昇することも証明されている。

20

【0020】

本発明の方法はまた、低悪性度/濾胞性非ホジキンリンパ腫（NHL）、小リンパ球性（SL）NHL、中悪性度/濾胞性NHL、中悪性度びまん性NHL、高悪性度免疫芽球性NHL、高悪性度リンパ芽球性NHL、高悪性度小非切れ込み細胞NHL、巨大病変NHL、およびワルデンストレームマクログロブリン血症を含む、種々のB細胞リンパ腫を治療するのに使用される。これらのリンパ腫は、分類法の変化のためにしばしば異なる名前を有すること、かつ異なる名前でも分類されるリンパ腫を有する患者も、本発明の併用療法が有用なこともあることは当業者には明らかであろう。

30

【0021】

例えば、欧米の病理学者が最近提唱している新しい分類法は、改訂ヨーロッパアメリカリンパ腫（the Revised European American Lymphoma）（REAL）分類と呼ばれる。この分類法は、マンツル細胞リンパ腫と、他の末梢血B細胞腫瘍の中でも辺縁細胞リンパ腫を認めており、いくつかの分類項目は細胞診断に基づく悪性度（すなわち、小細胞、混合細胞、および巨大細胞）に分類している。このような分類のリンパ腫も、本発明の併用療法が有用であることを理解されるであろう。

【0022】

米国国立ガン研究所（the U.S. National Cancer Institute）（NCI）は、REAL分類項目のいくつかを、臨床的に有用な「無痛性」または「侵襲性」リンパ腫に分類した。無痛性リンパ腫には、細胞診断により「悪性度」に分離された濾胞細胞性リンパ腫、びまん性リンパ球性リンパ腫/慢性リンパ球性白血病（CLL）、リンパ形質細胞様/ワルデンストレームマクログロブリン血症、周縁リンパ腫、およびヘアリーセル白血病がある。侵襲性リンパ腫には、びまん性混合および巨大細胞リンパ腫、パーキットリンパ腫/びまん性小非切れ込み細胞リンパ腫、リンパ芽球性リンパ腫、マンツル細胞リンパ腫、およびAIDS関連リンパ腫がある。これらのリンパ腫はまた、本発明の併用療法が有用である。

40

【0023】

非ホジキンリンパ腫はまた、「悪性度」に基づき、低悪性度、中悪性度および高悪性度リンパ腫を含む他の疾患の特性に基づき、分類されている。低悪性度リンパ腫は通常、節性リンパ腫として現れ、しばしば無痛性であるかまたは増殖が遅い。中悪性度および高悪

50

性度病変は、大節外性巨大腫瘍を有するはるかに侵攻性の病変として現れる。中悪性度および高悪性度ならびに低悪性度病変は、本発明の併用療法が有用であろう。

【0024】

NHLの患者には、アンアーバー(Ann Arbor)分類法もふつうに使用されている。この方法では、成人NHLのステージI、II、III、およびIVが、明確な全身性症状を有する(B)かまたは有さない(A)かに依存して、分類AとBに分けることができる。Bは、以下の症状を有する患者である：診断の前6ヶ月中の原因不明の10%を超える体重減少、38℃を超える原因不明の発熱、およびびしょぬれになる程の寝汗。たまに特殊なステージ分類法が使用される：

【0025】

ステージI - 単一のリンパ節領域の関与、または単一のリンパ管外臓器または部位の局在化関与。

ステージII - 横隔膜の同じ側の2つまたはそれ以上のリンパ節領域の関与、または単一の関連したリンパ管外臓器または部位および横隔膜の同じ側に他のリンパ節を持つかまたは持たない局所的リンパ節の局在化関与。

ステージIII - おそらくリンパ管外臓器または部位の局在化関与を伴う、横隔膜の両側のリンパ節領域の関与、脾臓の関与、またはその両方。

ステージIV - 関連リンパ節関与が有るかまたは無い1つまたはそれ以上のリンパ管外部位の散在性(多病巣性)関与、または遠隔(非局所的)節関与を有する、孤立性リンパ管外臓器関与。詳細については、国際非ホジキンリンパ腫予後因子プロジェクト：侵攻性非ホジキンリンパ腫の予測モデル、New England J. Med. 329 (14): 987-994 (1993)を参照されたい。

【0026】

好適な抗体、投与方法および治療法の特定の組合せは、以下の例のデータにより例示される。

【0027】

リックシマブ(登録商標)とY2B8

米国で約25,000人が非ホジキンリンパ腫(NHL)に罹っている。NHL患者の大半は、化学療法、放射線治療法、または自己骨髄(ABMT)や末梢血幹細胞(PBSC)支持による高投与量治療により治療されない。

【0028】

非ホジキンリンパ腫の約80%はB細胞リンパ腫であり、これらの>95%は、細胞表面上にCD20抗原を発現する。この抗原は、B細胞上にのみ存在し、造血幹細胞、プロB細胞、正常形質細胞、または他の正常組織には存在しないため、免疫治療法の魅力的な標的である。これは、細胞表面から脱落せず、抗体が結合しても変化しない(1)。

【0029】

リックシマブ(登録商標)は、マウス抗体で遭遇する欠点(短い半減期、ヒトエフェクター機能の限定された刺激能力、および免疫原性を含む)を克服するために開発された新しい世代のモノクローナル抗体の1つである(2, 3)。

【0030】

リックシマブ(登録商標)は、マウス軽鎖と重鎖の可変領域を有し、ヒトガンマI重鎖およびカッパ軽鎖定常領域を有する、遺伝子工学的に作成されるモノクローナル抗体である。このキメラ抗体は、451アミノ酸の2つの重鎖と213アミノ酸の2つの軽鎖からなり、分子量が約145kDである。リックシマブ(登録商標)は、補体結合およびADCC介在においてそのマウスのものより有効であり、ヒト補体の存在下でCDCを仲介する(4)。この抗体は、B細胞株F1-18、ラモス(Ramos)、およびラジ(Raji)の細胞増殖を阻害し、ジフテキラ毒素、リシン、CDDP、ドキシソルピシン、およびエトポシドに対して、化学耐性ヒトリンパ腫細胞株を感作し、DHL-4ヒトB細胞リンパ腫株で用量依存性にアポトーシスを誘導する(5)。ヒトでは、抗体の半減期は、最初の注入後約60時間であり、4回目の注入後は175時間まで各投与とともに上昇する。抗体の免疫原性は低く、

10

20

30

40

50

7つの臨床試験の355人の患者のうち、3人 (< 1%) のみが検出可能な抗キメラ抗体 (H A C A) 応答を有した。

【0031】

リックシマブ (登録商標) は、マウス 2 B 8 抗体を使用して遺伝子工学的に作成した。2 B 8 抗体はまた、診断および治療目的で、異なる放射能標識物に結合されている。このために、同時係属出願第08/475,813号、08/475,815号、および08/478,967号 (これらの全体が、参照により本明細書に組み込まれる) は、治療用抗体の投与の前のB細胞リンパ腫の診断「イメージング」のための放射能標識抗CD20抗体を開示している。「In2B8」結合体は、2官能価キレート剤、すなわちMX-DTPA (ジエチレントリアミン五酢酸) (これは、1-イソチオシアネートベンジル-3-メチル-DTPAと1-メチル-3-イソチオシアネートベンジル-DTPAの1:1混合物からなる) を介して、インジウム[111] (^{111}In) に結合した、ヒトCD20抗原に対して特異的なマウスモノクローナル抗体2B8を含む。インジウム-[111]は、ガンマ線を放出し従来からイメージング剤として使用されるため、診断用放射線核種として選択される。

10

【0032】

キレート剤およびキレート剤結合体に関する特許は、当該分野で公知である。例えば、ガンソウ (Gansow) の米国特許第4,831,175号は、ポリ置換ジエチレントリアミン五酢酸キレート物質、これを含むタンパク質結合体、およびこれらの調製法に関する。ガンソウ (Gansow) の米国特許第5,099,069号、第5,246,692号、第5,286,850号、および第5,124,471号はまた、ポリ置換DTPAキレート物質に関する。これらの特許は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

20

【0033】

MX-DTPAのキレート形成を促進するのに使用される具体的な2官能価キレート剤は、3価金属に対して高親和性を有し、腫瘍対非腫瘍比が上昇し、骨摂取が低下し、標的部位 (すなわち、B細胞リンパ腫腫瘍部位) で放射性核種のより大きいインビボ保持を提供するため、これを選択した。しかし他の2官能価キレート物質は、当該分野で公知であり、腫瘍治療法で有用であり得る。

【0034】

また米国特許第5,736,137号には、B細胞リンパ腫および腫瘍細胞のターゲティングと破壊のための放射能標識治療用抗体が開示されている。特にY2B8結合体は、同じ2官能価キレート剤を介してイットリウム-[90] (^{90}Y) に結合した同じ抗ヒトCD20抗体マウスモノクローナル抗体2B8を含む。この放射性核種は、いくつかの理由で治療法のために選択された。 ^{90}Y の64時間の半減期は、腫瘍による抗体蓄積を可能にするのに充分長く、そして、例えば ^{131}I とは異なり、これは、その崩壊におけるガンマ線照射を伴わない100~1000細胞直径を有する高エネルギーの純粋なベータエミッターである。貫通照射の最少量は、 ^{90}Y 標識抗体の通院投与を可能にする。さらに標識抗体のインターナリゼーションは、細胞死滅には必要でなく、イオン化照射の局所的放出は、標的抗原が欠如した隣接腫瘍細胞には致死的である。

30

【0035】

^{90}Y 放射性核種は、同じ2官能価キレート剤分子MX-DTPAを使用して抗体に結合したため、Y2B8結合体は、上記の同じ利点 (例えば、標的部位 (腫瘍) における放射性核種の保持の増加) を有する。しかし、 ^{111}In とは異なり、これは、ガンマ照射が伴わないため、イメージング用には使用できない。すなわち診断用「イメージング」放射性核種 (例えば、 ^{111}In) は、本発明の併用療法における治療用キメラまたは ^{90}Y 標識抗体の投与前および/または後に、腫瘍の位置と相対的大きさを決定するのに使用することができる。さらにインジウム標識抗体は、線量測定による評価を可能にする。

40

【0036】

抗体の使用目的 (すなわち、診断試薬または治療試薬として) により、当該分野では他の放射性核種が公知であり、同様の目的に使用されている。例えば臨床診断に使用されている放射性核種には、 ^{131}I 、 ^{125}I 、 ^{123}I 、 ^{99}Tc 、 ^{67}Ga 、ならびに ^{111}In がある。

50

抗体もまた、ターゲティング免疫治療法で使用するために多様な種々の放射性核種で標識される（ペイレルス（Peirersz）ら（1987）、癌の診断と治療のためのモノクローナル抗体結合体の使用、Immunol. Cell Biol. 65: 111-125）。これらの放射性核種には、 ^{188}Re および ^{186}Re ならびに ^{90}Y 、そして程度は少ないが ^{199}Au と ^{67}Cu がある。I-(131) はまた、治療用に使用されている。米国特許第5,460,785号は、このような放射性同位元素のリストを提供するが、これは参照により本明細書に組み込まれる。

【0037】

米国特許第5,736,137号に報告されているように、放射能標識 Y 2 B 8 結合体ならびに非標識キメラ抗 CD 20 抗体の投与は、B細胞リンパ芽球性腫瘍を有するマウスで有意な腫瘍退縮を引き起こした。さらに、そこで報告されたヒトでの臨床知見は、キメラ抗 CD 20 抗体を注入したリンパ腫患者における有意なB細胞枯渇が証明された。実際、キメラ 2 B 8 は、リツキサン（登録商標）という名前で米国の最初の FDA 認可抗癌モノクローナル抗体であると、最近告知された。すなわち少なくとも1つのキメラ抗 CD 20 抗体は、B細胞リンパ腫の治療において治療効果を示すことが証明されている。

10

【0038】

さらに米国特許第5,736,137号（参照により本明細書に組み込まれる）は、インジウム標識またはイットリウム標識マウスモノクローナル抗体の両方またはいずれかとともに、キメラ抗 CD 20 抗体であるリツキサン（登録商標）の連続的投与を開示している。これらの併用療法で使用される放射能標識抗体はマウス抗体であるが、キメラ抗 CD 20 抗体による初期治療は、HAM A 応答が低下するようにB細胞集団を十分に枯渇しており、こうして併用療法と診断法を促進している。

20

【0039】

すなわち併用免疫治療法において、マウス抗体が診断試薬として有用である。さらに米国特許第5,736,137号において、リツキサン（登録商標）投与後の治療上有効量のイットリウム標識抗 CD 20 抗体は、(a) キメラ抗 CD 20 抗体により排除できない残存末梢血B細胞を排除するのに充分であり；(b) リンパ節からB細胞の枯渇を開始するのに充分であり；または(c) 他の組織からB細胞の枯渇を開始するのに充分であることが証明された。

【0040】

すなわち、癌治療抗体への放射能標識物の結合は、このような抗体の治療効果の可能性を評価し、治療の進展を追跡するための診断試薬を作成し、そしてキメラ抗体の初期の癌死滅能力を増強するために使用される追加の治療試薬を作り出すのに使用される、有用な臨床手段となる。非ホジキンリンパ腫の治療において抗 CD 20 抗体の効果および放射線に対するリンパ球の公知の感受性が証明されたため、再発性または抵抗性非ホジキンリンパ腫の頻度を減少させる併用療法に、このようなキメラ抗体および放射能標識治療用抗体を使用することは非常に有益であろう。さらに、このような併用療法が他のB細胞リンパ腫の治療に使用されるなら、有益であろう。

30

【実施例】

【0041】

低悪性度または濾胞性 NHL

40

再発性または抵抗性 NHL による単一薬剤試験

リツクシマブ（登録商標）の FDA 認可は、主に低悪性度または濾胞性 NHL の患者での単一薬剤試験に基づく。10~500mg/m²の範囲の単一のリツクシマブ（登録商標）注入の初期の第 I 相試験は、最大許容用量には達しなかったことを証明したが、最高用量での注入時間の長さは、通院治療法では現実的ではないと考えられた。15人の患者の ORR は13%であった（表1）（6）。

【0042】

【表 1 - 1】

表 1
Rituximab®: 薬効の結果のまとめ

試験内容	適応	N*	ORR	CR	PR	中央値 DR (月)	中央値 TTP (月)	参考文献
第 I / II 相、単一薬剤 単一用量・単一薬剤	再発 B 細胞リンパ腫	15	2 (13%)	0 (0%)	2 (13%)	NA†	8.1	6
第 I / II 相、複数用量・用量変化	再発低、中及び高程度 のリンパ腫	34	17 (50%)	3 (9%)	14 (41%)	8.6	10.2	7
第 II 相、複数用量 CHOP との組合せ	新しく診断された及び 再発低程度または 高程度 B 細胞リンパ腫	38	38 (100%)	22 (58%)	16 (42%)	35.3+	36.7+	21,22
第 III 相、複数用量 単一薬剤	再発低程度または 高程度 B 細胞リンパ腫	151	76 (50%)	9 (6%)	67 (44%)	11.6	13.2	8,9
第 II 相、複数用量 単一薬剤	再発低程度または 高程度 B 細胞リンパ腫	35	21 (60%)	5 (14%)	16 (46%)	13.4+	19.4+	13
第 II 相、複数用量 インターフェロンとの組合せ	再発低程度または 高程度 B 細胞リンパ腫	38	17 (45%)	4 (11%)	13 (34%)	22.3+	25.2+	29
第 II 相、複数用量 単一薬剤	再発低程度または 高程度 B 細胞リンパ腫、 大きい病巣	28	12 (43%)	1 (4%)	11 (39%)	5.9	8.1	14

10

20

30

40

【表 1 - 2】

表 1 (続き)

試験内容	適応	N*	ORR	CR	PR	中央値 DR (月)	中央値 TIP (月)	参考文献
第Ⅱ相、複数用量 単一薬剤	再発低程度または ろ胞性B細胞リンパ腫、 再治療	57	23 (40%)	6 (11%)	17 (29%)	15.0+	16.7+	19,20
第Ⅱ相、複数用量 C.H.O.Pとの組合せ 様式	以前未治療の中または 高程度のリンパ腫	30	29 (96%)	19 (63%)	10 (33%)	11+	17+	34
第Ⅱ相、選択的 複数用量	中または高程度の B細胞リンパ腫	54	17 (32%)	5 (9%)	12 (22%)	NA†	8.2+	33

*N = 評価可能な患者数

†Not available (入手不可)

10

20

30

40

【0043】

第Ⅰ/Ⅲ相の用量変動試験の第Ⅰ相において、患者に125~375mg/m²を毎週1回で4回投与した。用量に関連する毒性は証明されず、375mg/m²を第Ⅱ相の用量として選択した。この用量を投与された患者37名のうち17名(46%)に腫瘍退縮が観察され、3名(8%)

50

は完全応答 (CR) を示し14名 (38%) は部分的応答 PR を示した (7)。

【0044】

リックシマブ (登録商標) 375mg/m² を毎週1回で4回注入した後のシングルアーム (single arm) 主要試験を、再発性または抵抗性の低悪性度もしくは濾胞性 NHL (国際ワーキングフォームレーション (International Working Formulation) [IWF] タイプ A~D および REAL 分類、小リンパ球性リンパ腫、濾胞中心、濾胞悪性度 I、II、III (8)) を有する166人の患者で行った。末梢血中の腫瘍塊 > 10cm または > 5000リンパ球/μl を有する患者は、試験から除外した。年齢の平均値は58才 (男性105名、女性61名) で、先行治療の平均数は3であった。評価した149名のうちの56%で骨髄の関与が存在した。45%は2節外部位を有し、41%は巨大病変 (> 5 cm) を有した。

10

【0045】

完全応答には、少なくとも28日間離れて、首、胸、腹、および骨盤CTスキャンですべてのリンパ節が < 1 × 1 cm² に退縮、すべての症状とリンパ腫の兆候の消滅、そして骨髄、肝臓および脾臓の正常化が必要であった。部分的応答には、少なくとも28日間は疾患の悪化の証拠が無しで、病変の直角方向の測定値の積の合計で50%の低下が必要であった。CR または PR を示さなかった患者は、たとえ測定病変の正味の低下 (> 50%) が観察されても、非応答者とみなした。悪化までの時間を、最初の注入から悪化まで測定した。

【0046】

全体的応答率 (ORR) は、48%であり、6%がCRそして42%がPRであった (8)。応答者の悪化までの平均時間 (TTP) は13.2ヶ月であり、応答の継続平均時間は11.6ヶ月であった。80名の応答者のうち22名 (28%) は、20.9+ ~ 32.9+ ヶ月で緩解が進行していた (9)。

20

【0047】

リックシマブ (登録商標) の投与により、B細胞の急速で持続的な枯渇が起きた。83%の患者で、循環B細胞が、最初の3回の投与で枯渇し、治療後6~9ヶ月まで枯渇が持続した。平均B細胞レベルは、治療後12ヶ月までに正常に戻った。平均NK細胞数は変化がなかったが、ベースラインでの高絶対NK細胞数十リックシマブ (登録商標) に対する応答との間に正の相関が観察された (10)。

【0048】

いくつかのベースライン予知因子を解析して、その応答への相関を調べた。ABMT または PBS C 後に再発した23名の患者で、ORR は78%であり、先行高用量治療を受けていない患者では43%であった ($p < 0.01$)。多変量解析では、ORR は、濾胞性 NHL の患者では小リンパ球性リンパ腫の患者に比較して高く (58%対12%、 $p < 0.01$)、化学感受性再発の患者では化学耐性再発の患者より高かった (53%対36%、 $p = 0.06$)。応答に対する作用は：年齢 > 60才、節外病変、先行のアントラサイクリン治療、または骨髄関与、とは相関しなかった。

30

【0049】

治療と追跡調査期間中の複数の時点で平均血清抗体濃度と応答の間に、統計的に有意な相関が見られた (11)。

【0050】

抗体の血清レベルは、リンパ球性リンパ腫に比較して濾胞性 NHL の患者で高かった。平均血清抗体は、腫瘍の大きさの測定値とかつベースラインの循環B細胞の数と反比例していた。低血清抗体濃度が、循環NHL細胞の数が多いことと腫瘍のサイズが大きいこととに相関していることは、抗体クリアランスの主要なモードは腫瘍細胞に対してであることを示唆している。血清抗体濃度が高いことと応答および腫瘍のサイズが小さいことまたは循環細胞が少ないこととの相関は、リックシマブ (登録商標) の高濃度またはそれ以上の用量が、ある亜集団の患者 (例えば、大きな病変を有する患者) において応答を誘発するのに必要かも知れないことを示唆する。

40

【0051】

しかし、腫瘍 > 5 cm の患者の43%および腫瘍 > 7 cm の患者の35%でリックシマブ (登録

50

商標)による応答が見られ、リツクシマブ(登録商標)による大きな病変を有する患者の治療が可能であることを示唆していた。抗体治療法が、腫瘍が小さいために大きな病変の治療には適さないと長い間考えられてきたことを考慮すると、これは驚くべきことである。

【0052】

日本で行われた研究では、再発性B細胞リンパ腫の患者が、週に1回で4回250mg/m²(N=4)または375mg/m²(N=8)のリツクシマブ(登録商標)で治療された。11名の評価可能な患者のうち、8名は濾胞性NHLを有し、2名はびまん性巨大細胞NHLを有し、1名はマントル細胞リンパ腫を有した。11名のうち2名は、CRを有し、5名はPRを有し、ORRは64%であり、すべての応答者は、濾胞性の組織学的所見があった。

10

【0053】

以前の試験ではリツクシマブ(登録商標)の血清レベルと応答は正相関していたため、第II相試験(週に1回で8週間375mg/m²のリツクシマブ(登録商標)を投与する)を、低悪性度または濾胞性NHL患者について行った。評価可能な患者でORRは60%であり、14%はCRで46%はPRであった。応答者とDRのTTPの平均値は、それぞれ13.4+ヶ月と19.4+ヶ月であった(13)。試験全体で比較することは困難であるが、より高い用量を使用することでTTPとDRは改善されるようである。

【0054】

微小転移性疾患においてのみ有用な抗体治療法についての初期の推定に反して、リツクシマブ(登録商標)は非常に大きな病変できわめて活性である。別の試験では、再発性または抵抗性の巨大悪性度NHL(単一の病変の直径が>10cm)を有する31名の患者に、週に1回で4回375mg/m²のリツクシマブ(登録商標)を投与した。28名の評価可能な患者のうち12名(43%)は、CR(1.4%)またはPR(11.39%)を示した(14)。

20

【0055】

ワルデンストレームマクログロブリン血症

ワルデンストレームマクログロブリン血症(WM)は、Bリンパ球が過剰量のIgM抗体を分泌する悪性腫瘍である。WMは通常、60才以上の人に発症するが、30歳代初期の成人でも検出されている。今日WMは、まれな不治の無痛性の悪性腫瘍であり、従来は、血清の粘度を低下させるプラズマフェレシスにより治療されている。しばしば、アルキル化剤のような化学療法薬およびコルチコステロイドが処方される。WMの最も推奨される薬

30

【0056】

患者をリツクシマブ(登録商標)で治療した(375mg/m²を週1回で4回)ワルデンストレームマクログロブリン血症を有する7名の患者についての報告は、4名(57%)の患者で効果を認めている。悪化の無い平均生存時間は、8ヶ月であった(範囲3~27+ヶ月)。すなわち、リツクシマブ(登録商標)は、併用療法プロトコール、特に2CdAのような化学療法薬との併用が有用である。

【0057】

慢性リンパ性白血病(CLL)

CLLは、小リンパ球性リンパ腫(SLL)の流動性(白血病性)相当物である。SLLの患者は、標準用量のリツクシマブ(登録商標)で治療すると、他の低悪性度NHL亜型を有する患者より、血清レベルと応答率が低い。これはおそらく、CLLの患者では循環腫瘍細胞のレベルが非常に高いため、およびCLLに關与する悪性腫瘍細胞は、細胞表面上のCD20発現のレベルが低下していると考えられるためであろう。

40

【0058】

しかし本発明は、CLLのような血液の悪性腫瘍がリツクシマブ(登録商標)で治療できることを発見した。最近の臨床試験は、高用量のリツクシマブ(登録商標)でCLL患者の治療を評価した(16)。すべての患者にまず、第1の用量の375mg/m²を投与して、注入に關連する副作用を最小にする。次に1週当たりの投与回数(3)は同じにして、用量レベルを上げた。16名の患者を、500~1500mg/m³で治療した。平均年齢は66才であった(

50

範囲、25~78)。81%は、最終段階III~IVの疾患を有した。平均白血球数は、 $40 \times 10^9/L$ (範囲、4~200)、Hgb 11.6g/dl (範囲、7.7~14.7)、血小板 $75 \times 10^9/L$ (範囲、16~160)、平均 γ_2 免疫グロブリンは4.5mg/l (範囲、3.1~9.2)であった。先行治療の平均回数は2.5 (範囲1~9)であった。60%の患者は、治療に抵抗性であった。最初の投与 ($375\text{mg}/\text{m}^3$) で2名の患者は、重傷の高血圧を発症し、他の1人はさらに治療を受けた。以後の増加した投与量では毒性は弱かったが、 $1500\text{mg}/\text{m}^3$ の用量レベルではいずれの患者も完全には評価していない。8名の患者は治療を終了した ($500\text{mg}/\text{m}^3$ で4名、 $650\text{mg}/\text{m}^3$ で3名、 $825\text{mg}/\text{m}^3$ で1名)。 $560\text{mg}/\text{m}^3$ で治療した1名の患者は、完全に緩解した。1名の患者は、治療でリンパ球増加を示し、他のすべての患者は、末梢血リンパ球増加が低下したが、リンパ節に対する作用は小さかった。用量を上げる実験が進行中である。

10

【0059】

CLL患者の応答性を改善する別のアプローチは、サイトカインを使用してCD20抗原をアップレギュレーションすることである。インビトロ試験で、CLL患者の単核細胞を種々のサイトカインとともに24時間インキュベートした。フローサイトメトリーの結果は、IL-4、GM-CSFおよびTNF- α で顕著なアップレギュレーションを示した(17)。実際、最近のデータは、CLL細胞で観察されたCD20のアップレギュレーションは、腫瘍細胞に限定されるかも知れないことを示唆している(ベノゴバル(Venogopal)ら、ポスター パンパシフィックリンパ腫会議(PanPacific Lymphoma meeting)、1999年6月)。慢性リンパ性白血病(CLL)細胞中のCD20抗原発現のサイトカイン誘導性アップレギュレーションは、腫瘍細胞に限定されるかも知れない)。予備的データはまた、インターフェロナルファは500~1000U/mlの濃度で適用されると、わずか24時間後にCLL細胞に対するCD20をアップレギュレーションすることを示唆する。

20

【0060】

すなわちリックシマブ(登録商標)の投与の前または同時にCLL患者にいくつかのサイトカインを投与することにより、悪性腫瘍B細胞の表面上のCD20発現がアップレギュレーションされ、こうして他の細胞表面マーカー(例えばCD19)と同様にCD20を、免疫治療法のより魅力的な標的としている。インビボでのCD20アップレギュレーションの最適なサイトカイン用量を試験するために、共同研究が開始されている。この試験プロトコールでは、10名の患者をまず $250 \mu\text{g}/\text{m}^2$ SQ 1日1回 X 3のGM-CSFで、10名の患者をIL-4 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ SQ 1日1回 X 3で、そして10名の患者を $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ SQ 1日1回 X 3のG-CSFで治療した。単核細胞は、アボトシス試験のためにフィコンハイペーク(Ficon Hypaque)遠心分離により分離して、CD20のアップレギュレーションがリックシマブ(登録商標)による腫瘍細胞の死滅の増加につながるかどうかを測定した。

30

【0061】

CLLの抗体治療を、CLLの治療のために有用であることが公知の他の通常の化学療法と組み合わせることができる。CLLの最も頻繁に使用される単一の薬剤はクロラムブシル(chlorambucil)(ロイケラン(leukeran))であり、 $0.1\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$ または $0.4 \sim 1.0\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$ で4週置きに投与される。クロラムブシルは、しばしば経口プレドニソン($30 \sim 100\text{mg}/\text{m}^2/\text{d}$)と併用され、これは自己免疫性血球減少の管理に有用である。シクロホスファミドは、クロラムブシルの代用となり、通常用量は $1 \sim 2\text{g}/\text{m}^2$ を3~4週置きにビンクリスチンやステロイド(例えば、COP治療法)とともに投与される。

40

【0062】

CLLには種々の薬剤の併用が使用され、例えばCOP(シクロホスファミド、オンコピン(Oncovin)、およびプレドニソン)やCHOP(これらの3つの薬剤+ドコソルピシン)がある。フルダラビンは、CLLの治療に効果を示し、 $25 \sim 30\text{mg}/\text{m}^2/\text{d}$ で3~4週置きに治療した患者群では50%のORRが得られた。一部の患者は、フルダラビンに対して抵抗性であった。フルダラビンに抵抗性の患者はまた、しばしば2-CD4に対して抵抗性である(オブライエン(O'Brien)ら、N. Engl. J. Med. 330: 319-322 (1994))ため、このような患者はまた2-CD4に対して抵抗性かも知れない。

50

【 0 0 6 3 】

従って抗CD20抗体治療法は、化学療法に抵抗性であるかまたは化学療法の治療後に再発した患者に特に有用である。リツクシマブ（登録商標）治療法はまた、これらの患者で放射線治療法と併用してもよい。75～150cGyの総線量に対して15cGyの少ない線量によるTBIは、約3分の1の患者で有効であることが証明されている。

【 0 0 6 4 】

現在、CLL患者でCALGBによる第II相試験が行われている。リツクシマブ（登録商標）とフルダラビンを同時に投与し、次にリツクシマブ（登録商標）強化対フルダラビン誘導を、そして次にリツクシマブ（登録商標）を投与する。

【 0 0 6 5 】

骨髄機能廃絶化学療法とのリツクシマブ（登録商標）

骨髄機能廃絶化学療法は、無痛性リンパ腫において応答を示した。しかし、高用量治療法にもかかわらず残存腫瘍細胞が残り、再注入したPBCが腫瘍細胞を含有するかも知れない。残存CD20+腫瘍細胞を減らしたり、採取する骨髄または幹細胞の汚染を低減するために、リツクシマブ（登録商標）は、幹細胞動員前および移植後に使用されている。中間結果は、採取された細胞中でCD20+細胞は検出されないことを示した。24人の患者のうち18人は、移植を達成し、治療は充分許容された。残存腫瘍細胞を評価するためのPCR試験が行われている（18）。

【 0 0 6 6 】

リツクシマブ（登録商標）による再発性低悪性度NHLの再治療

リツクシマブ（登録商標）に反応し後に再発した53人の患者の再治療を評価する試験が報告されている（19）。56人の評価可能な患者のうち7人（13%）はCRを達成し、16人はPR（29%）、ORRは42%であった。2回目の反応があった4人の患者に3回目の治療を行った（これらのうち3人は反応した）。

【 0 0 6 7 】

リツクシマブ（登録商標）の2コース後に、1人の患者の腫瘍（最初は、濾胞性非切れ込み細胞NHLと分類された）は、もうCD20抗原を発現せず、びまん性巨大細胞NHLへの形質転換時にリツクシマブ（登録商標）に対して不反応性であった（20）。

【 0 0 6 8 】

すなわち、リツクシマブ（登録商標）による先行治療後に再発した患者の治療にリツクシマブ（登録商標）による再治療は有効ではあるが、2回目の治療後にCD20+腫瘍細胞の頻度が増加することがある。この観察結果は、本明細書に記載の併用療法の有用性を支持している。

【 0 0 6 9 】

低悪性度NHLのためのリツクシマブ（登録商標）とCHOP化学療法との併用

シクロホスファミド、ドコソルピシン、ビンクリスチンおよびプレドニソンによる化学療法（CHOP）は、低悪性度または濾胞性NHLの最初の有効な治療法である。初期応答率は高いが、最終的に再発し、以後の化学療法では、緩解の間隔がより短くなる。低悪性度または濾胞性NHLの作用機序は、交差耐性ではなく、リツクシマブ（登録商標）はいくつかの細胞障害性薬剤（ドコソルピシンを含む）と相乗作用を示す（5）ため、新に診断された再発性低悪性度NHLまたは濾胞性NHLにおけるCHOPとリツクシマブ（登録商標）との併用を評価するために第II相試験を開始した。

【 0 0 7 0 】

38人の患者のうち29人は、先行の抗癌療法を行わなかった。CHOPは、標準用量で3週間毎にリツクシマブ（登録商標）（375mg/m³）を6回注入する6サイクルを行った。リツクシマブ（登録商標）注入1と2は、最初のCHOPサイクル（これは8日目に開始した）の前の1日目と6日目に投与した。リツクシマブ（登録商標）注入3と4は、それぞれ第3および第4のCHOPサイクルの2日前に投与し、注入5と6は、6回目のCHOPサイクル後のそれぞれ134日目と141日目に投与した。

【 0 0 7 1 】

10

20

30

40

50

この併用試験では、治療した38人の患者の100%が応答した（CR、58%；PR、42%）。治療を完了した35人の評価可能な患者のうち、63%はCRで37%はPRであった（21）。平均DRは35.3+ヶ月であり、悪化の無い平均生存時間は、平均観察時間36.7ヶ月後に達成されなかった。36+ヶ月～53.4+ヶ月後にもまだ、20人の患者は緩解中であった（22）。最初の治療にとってもこのDRは驚くべきことであり、この試験集団の24%は化学療法後に再発した。

【0072】

GALGBが実施する試験では、低悪性度NHLの40人の患者に、リツキシマブ（登録商標）を週に1回を8回、そして8日目から開始して経口シクロホスファミドを毎日投与する。20人の患者には、リツキシマブ（登録商標）のみを8週間投与する。

【0073】

低悪性度NHLの患者についてECOGが実施する第III相試験は、シクロホスファミドおよびフルダラビン（アームA）と、標準的CVP療法（アームB）との併用を比較している。アームAまたはアームBへのランダム化において、患者は、年齢、腫瘍負荷量、組織染色、およびB症状により分類する。両方のアームでの応答者は、リツキシマブ（登録商標）維持療法（375mg/m²を週に1回で4回、6ヶ月毎に2年間（アームC））または観察（アームD）への第2のランダム化を受ける。

【0074】

リツキシマブ（登録商標）とサイトカインとの併用

リツキシマブ（登録商標）+インターフェロナルファ

インターフェロンは、免疫系の調節に関するサイトカインである（23）。インターフェロンが抗体の有効性を上昇させる機序は、抗体発現の強化（24）、腫瘍への抗体のターゲティングの上昇（25、26）、および免疫毒素の細胞障害性の上昇（27）がある。

【0075】

併用治療で、NHLで単一薬剤臨床活性を有する（28）サイトカインであるインターフェロナルファ（ロフェロン-A（Roferon-A））とリツキシマブ（登録商標）を、再発性低悪性度または濾胞性NHLを有する患者に投与した。インターフェロナルファ（2.5または5MIU）を、週に3回で12週間皮下投与した。リツキシマブ（登録商標）は、治療の第5週に開始して、IV注入を週に1回で4回（375mg/m²）投与した。ORRは45%（17/38患者）であり、11%がCRを、そして34%がPRを有した。応答者中の平均DRとTTPのカプラン-マイヤー（Kaplan-Meier）推定値は、それぞれ22.3+と25.2+ヶ月であった（29）。インターフェロナルファとアントラサイクリンを含む化学療法との以前の併用試験では、悪化までの時間は延長したが、一貫して応答性または生存率を上げることはなかった（30～32）。これらの初期の結果は、リツキシマブ（登録商標）とインターフェロナルファとの併用は、リツキシマブ（登録商標）単独と比較して、悪化までの時間を延長させることを示唆する。

【0076】

リツキシマブ（登録商標）+G-CSF

別の試験で、リツキシマブ（登録商標）とG-CSFを、再発性低悪性度NHLで評価されている。健常志願者でのインビトロならびにインビボの試験で、G-CSFは脊髄性前駆細胞に対するその作用を介して、ADCCでエフェクター細胞として機能することができるFcRI陽性好中球を誘発することが証明されている。このために、併用療法の毒性と有効性を評価するために、第I/II相試験を開始した。

【0077】

第I相とII相試験において、リツキシマブ（登録商標）の投与前2日目に開始して標準用量のG-CSF（5μg/kg/日）を、患者に3日間投与した。第I相は、リツキシマブ（登録商標）の用量の増加からなった（125、250、または375mg/m²、毎週1回×4）。これまで評価された9人の患者の初期結果は、9人の患者のうち8人で弱毒性を有する67%のORR（44%のCR、22%のPR）を有した。最も頻繁な有害事象は、発熱（4/8患者）、鼻炎（4/8）、寒気（3/8）、および頭痛（3/8）であり、これは、リツク

10

20

30

40

50

シマブ（登録商標）単独投与で以前観察された有害事象に匹敵した。試験の第II相部分を開始しており、これはG - C S Fと375mg/m²リツキシマブ（登録商標）×4の併用の有効性を試験するであろう。

【0078】

リツキシマブ（登録商標）+ I L - 2

NHLを治療するのに、自己末梢血幹細胞（P B S C）または骨髄（B M）レスキューによる高用量療法が使用されているが、再発のリスクが高い（50～80%）ため、成功率が限定されている。移植後の持続性のある緩解を改善するために、I L - 2による高用量および低用量を含む免疫療法が、多くの治療センターで試験されている。このような試験は、I L - 2療法が早期の移植後抗腫瘍活性を示すことを示唆している。

10

【0079】

まず自己移植後に、患者は、免疫再構成の遅延を示し、これは、免疫介在腫瘍根絶を低下させる可能性がある（43、44）。実際、C D 4 + T細胞と細胞障害性C D 8 + T細胞が低下していることが証明されている（45～49）。インビトロ測定法は、分裂促進物質と可溶性抗原に应答して、T細胞細胞溶解性および増殖性应答の大きな抑制ならびにI L - 2産生の低下を証明している。しかし可溶性I L - 2は、これらの免疫应答を回復することができ、自己移植後の患者の免疫細胞は、外因性I L - 2に应答することができることを示唆する（47）。B M T後は末梢血NK活性も対照値より低いままであり、NK活性もまた、外因性I L - 2の添加により増強される（49）。これらのデータは、幹細胞移植後まもなくの患者へのI L - 2投与は、腫瘍負荷量が最小であり、I L - 2の非存在下で免疫应答性が欠如している決定的に重要な時期に、免疫应答性を増強することを示唆する。

20

【0080】

例えばカリギウル（Caligiuru）らは、 0.45×10^6 U/M²/日で24時間C I Vで12週間投与したI L - 2（ホフマン - ラロッシュ（Hoffman-LaRoche））は、C D 5 6が明白なNK細胞の絶対数を拡張することができることを証明した（50～52）。この療法を、毒性のほとんど無い通院ベースで非移植患者に行った。

【0081】

動物試験は、非L A K誘導性の低用量I L - 2は、腫瘍特異的Tエフェクター細胞とともに投与されると、抗腫瘍活性を劇的に増強することを証明した（53）。さらにソイファー（Soiffer）ら（54）は、再発性白血病またはリンパ腫の治療を受けている13人の自己B M TまたはT細胞枯渇同種B M T受容者に、低用量のI L - 2を投与した。免疫学的应答性の増強が実験室で証明され、循環性のC D 5 6の明白なC D 1 6 + C D 3 - NK細胞が5～40倍増加した。さらにこのI L - 2の低用量法により、NK標的K 5 6 2のインビトロ死滅が増強された。ソイファー（Soiffer）ら（55）は、低用量I L - 2を投与された29人の同種異系B M T患者の結果を更新し、これらの患者の生存率（70%）が組織検査対照（30%、p=0.41）と比較して優れていることを見いだした。

30

【0082】

ラウリア（Lauria）ら（56）は、 2×10^6 IU/m²の用量を隔日に2週間と次に 3×10^6 IU/m²の用量を週に2回で1年間I L - 2を投与して、A B M T後平均42日の高悪性度NHLの11人の患者を治療した。表現型分析は、6ヶ月の治療後に、総リンパ球の比率と絶対数の持続的かつ有意な（p = 0.001）増加、特にC D 1 6とC D 5 6 NK細胞の増加を示した。治療開始後の平均22ヶ月（範囲10～42ヶ月）の追跡で、いずれの患者も悪化しなかった。さらにA B M T後の残存病変を有する2人の患者（1人は肝臓で2人目はリンパ節）は、I L - 2治療の7および10ヶ月後に完全緩解を示した。

40

【0083】

ベイ（Vey）ら（57）は、難治性または再発性HD（11人の患者）とNHL（14人の患者）を有する25人の患者を低用量I L - 2で治療した。48%の患者は、移植で抵抗性の病変を有し、84%はA B M T後にC Rを達成した。I L - 2は移植後平均54日で開始し、最初の5日間を1サイクル後1週置きに2日間を4サイクルから構成された。患者は、平均

50

160 × 10⁶ IU/m²の I L - 2 を投与された。5年間の追跡後、生存の確率と D F S は、72% (H D 73%と N H L 70%) と 45% (H D 36%と N H L 48%) である。

【 0 0 8 4 】

フレッドハッチンソン癌研究センター (Fred Hutchinson Cancer Research Center) (F H C R C) のグループは、低用量 I L - 2 治療法が通院状況で充分許容され、低用量 I L - 2 で治療された患者の緩解は、I L - 2 治療の無い患者より長くなる傾向があることを最近見いだした。I L - 2 治療法は、免疫細胞のいくつかの集団の数の増加に関連していた (C D 8 + C D 6 9 + 細胞 ; C D 1 6 + C D 8 + 細胞 ; C D 1 6 + C D 6 9 + 細胞 ; C D 1 6 + C D 5 6 + 細胞 ; C D 1 6 + C D 1 2 2 + 細胞 ; C D 1 6 + D r + 細胞 ; および C D 8 + C D 5 6 + 細胞を含む)。腫瘍標的 K 5 6 2 とダウジ (Daudi) に対する溶解活性の発現も増加し、それぞれ平均 5.9 倍と 6.5 倍の増加を示した。再発は (起きた時は)、移植後平均 17.8 ヶ月で発生し、従って緩解は、I L - 2 治療の無い移植受容者で歴史的に見られたものより特徴的に長いことが報告された。

10

【 0 0 8 5 】

A B M T 移植受容者に対する I L - 2 による単一治療試験から有望なデータを考慮すると、リツキシマブ (登録商標) の生物活性は、A D C C と補体介在溶解活性を介するようであるため、移植後に I L - 2 治療法をリツキシマブ (登録商標) と併用することが妥当と思われた。従って、併用療法の安全性と可能な薬効を評価するために F H C R C と共同して第 I 相試験を開始した。

【 0 0 8 6 】

低用量 I L - 2 とリツキサン (登録商標) を投与されている患者の薬効と H A C A 形成の頻度を評価するために、別の第 II 相試験も行われている。この試験の具体的な目的は、I L - 2 へのインビボ暴露により A D C C が増強されるかどうか、かつ A D C C 活性が臨床応答と相関するかどうかを評価することである。患者の試験対象基準は、組織学的に確認されたステージ II ~ IV 低悪性度濾胞性 B 細胞またはマントル細胞リンパ腫である。この臨床試験の目的において、マントル細胞リンパ腫は、免疫組織化学による C D 5 +、C D 2 3 - (利用できるなら) および / または b c l - 1 + であると定義される。標準的治療法 (すなわち、化学療法、放射線治療法、A B M T および / または免疫治療法) による初期の治療に応答しないかまたは再発した患者は、適合する。

20

【 0 0 8 7 】

再発性低悪性度 N H L または濾胞性 B 細胞リンパ腫の治療のためのリツキシマブ (登録商標) + G M - C S F

30

リツキシマブ (登録商標) と G M - C S F による併用療法の有効性を試験するために、2つの別の第 II 相試験も開始している。1つの試験は、再発性低悪性度 B 細胞リンパ腫を有する 40 人の患者を含み、375mg/m² のリツキシマブ (登録商標) を週 1 回 × 4 (d . 1、8、15、22) およびリツキシマブ (登録商標) の最初の投与の 1 時間前に開始して、240 μg の G M - C S F (ロイキン (Leukine)、イムネックス (Immunex)) を皮下に週 3 回で 8 週間投与する。この試験は、併用療法の臨床的有効性 (全体的応答率 (O R R)、全体的完全応答率、悪化までの時間と疾患の無い生存) を評価するために、併用療法の安全性 (有害事象の定性、定量、持続と可逆性) を解析するために、そして関係のあるリンパ球亜集団とサイトカインに対する併用療法の作用を測定するために、使用される。第 2 の試験は、死滅の機序を評価するために免疫学的パラメータを追跡することも計画している (補体 C 3 と C 4、C H 5 0、C D 3、C D 4、C D 8、C D 1 6、C D 1 9 および C D 5 6 のフローサイトメトリー、および A D C C 測定法)。

40

【 0 0 8 8 】

リツキシマブ (登録商標) + ガンマイインターフェロン

低悪性度またはより高い悪性度のリンパ腫を有する患者を治療するのに、ガンマイインターフェロンもリツキシマブ (登録商標) との併用療法が有用かも知れない。ガンマイインターフェロンは、多発性骨髄腫 (M M) 患者の形質細胞、患者 B 細胞ならびに正常ドナー B 細胞上での C D 2 0 発現をアップレギュレーションすることが最近見いだされた (トレオ

50

ン (Treon) ら、ルガノ (Lugano)、1999)。実際トレオン (Treon) と共同研究者たちは、ガンインターフェロンがこれらの細胞のリツクシマブ (登録商標) への結合を増強することを証明した。形質細胞上での CD 20 発現の誘導は、用量依存性に起き、1 U/ml のインターフェロンガンマという少ない量でアップレギュレーションが見られた。48時間 で 100U/ml でプラトーになった。すなわちガンインターフェロンもまた、リツクシマブ (登録商標) と組合せて投与することが有用なようである。

【0089】

中悪性度と高悪性度 NHL

単一薬剤試験

ヨーロッパとオーストラリアで行われた試験では、54人の再発性または抵抗性中悪性度または高悪性度 NHL 患者で、代替投与スケジュールを評価した (34)。リツクシマブ (登録商標) を $375\text{mg}/\text{m}^2$ を週 1 回で 8 回、または $375\text{mg}/\text{m}^2$ を 1 回と次に $500\text{mg}/\text{m}^2$ を週 1 回で 7 回注入した。ORR は 31% (CR 9%、PR 22%) で、投与法の間に有意な差は観察されなかった。びまん性巨大細胞リンパ腫を有する患者 (N = 30) は、ORR が 37% であり、マンツル細胞リンパ腫を有する患者 (N = 12) は ORR が 33% であった。

【0090】

リツクシマブ (登録商標) と CHOP 化学療法の併用

別の試験では、中または高悪性度 NHL を有する 31人の患者 (女性 19人、男性 12人、平均年齢 49 才) に、6 回の 21 日サイクルの CHOP の 1 日目にリツクシマブ (登録商標) を投与した (35)。30人の評価可能な患者のうち、19人は CR (63%) で 10人は PR (33%) であり、ORR は 96% であった。この治療法は充分許容されると考えられ、リツクシマブ (登録商標) または CHOP 単独より高い応答を示すようである。

【0091】

NCI 癌治療と診断部門 (NCI Division of Cancer Treatment and Diagnosis) はアイディーイーシーファーマシューチカルズ社 (IDEC Pharmaceuticals Corporation) と共同して、他の適応症でのリツクシマブ (登録商標) 治療を探索している。混合性のびまん性巨大細胞および免疫芽球性巨大細胞組織学的 NHL を有する高齢患者 (>60 才) で、ECOG、CALGB および SWOG により CHOP 対 CHOP とリツクシマブ (登録商標) の第 II 相試験が行われている (N = 630 が計画されている)。この試験は、リツクシマブ (登録商標) による維持対非維持への 2 次ランダム化を含む。

【0092】

マンツル細胞リンパ腫が未治療の 40人の患者でリツクシマブ (登録商標) と CHOP の第 III 相試験も、ダナファーバー研究所 (Dana Farber Institute) で行われている。21 日毎の 6 サイクルで、リツクシマブ (登録商標) は 1 日目に投与され、CHOP は 1 ~ 3 日目に投与される。この試験の発生項目は完了している。SWOG により行われた新に診断された濾胞性リンパ腫で CHOP の後にリツクシマブ (登録商標) を使用する第 II 相試験もまた、完了している。これらの 2 つの試験の結果は現在解析されている。

【0093】

AIDS 悪性腫瘍協会 (AIDS Malignancy Consortium) による HIV 関連 NHL における CHOP とリツクシマブ (登録商標) 対 CHOP の第 II 相試験が行われている。120人の患者が計画されている。

【0094】

骨髄機能廃絶化学療法再発後のリツクシマブ (登録商標)

自己 P B S C 支持による高用量治療後の再発性中悪性度 NHL の患者で、リツクシマブ (登録商標) は有望な初期結果を示した。応答した 7 人の患者のうちの 6 人 (CR 1 人、PR 5 人) と 1 人の患者は、安定な疾患を有し、治療は充分許容された (36)。

【0095】

安全性経験

5 つの単一薬剤米国試験の 315人の患者の有害事象と臨床実験室データを組合せて、低悪性度または濾胞性 NHL 患者のリツクシマブ (登録商標) の安全性プロフィールを提供

10

20

30

40

50

する。大半の有害事象は注入関連であり、最初の注入後には頻度が低下して起きた。最も一般的な注入関連事象は、発熱（49%）、寒気（32%）、吐き気（18%）、疲労（16%）、頭痛（14%）、血管浮腫（13%）、かゆみ（10%）、および時々低血圧（10%）と気管支けいれん（8%）であった。治療期間中（最後の投与後30日まで）、10%の患者はグレード3または4の有害事象を示し、これは主に注入関連または血液学関連であった。血小板減少症（ $< 50,000$ 血小板/mm³）が1.3%の患者に、好中球減少症（ < 1000 /mm³）が1.9%に、そして貧血（ < 8 gm/dl）が1.0%に起きた。リツキシマブ（登録商標）は70%～80%の患者でB細胞枯渇を誘発したが、異常に低い血清免疫グロブリンが少数の患者で観察され、感染頻度は上昇していないようであった。

【0096】

リツキシマブ（登録商標）注入の介入が必要な低血圧は、10%の患者で発生し、1%ではグレード3または4であった。13%の患者で血管浮腫が報告され、1人の患者では重症と思われた。気管支けいれんは8%の患者で発生し、2%は気管支拡張薬で治療された。閉鎖性気管支肺炎の1件の報告も注目された。2回目および以後の注入までに、多くの患者はさらなる注入関連の毒性は示さなかった。再治療により有害事象を報告する患者の割合は、第1回目のコース後に報告されたものに類似していた（14）。

【0097】

リツキシマブ（登録商標）注入の間に4人の患者は不整脈を発症した。4人のうちの1人は、心室性頻脈と上室性頻拍のために治療を中止した。他の3人の患者は、三連脈（N = 1）と不整脈（N = 2）を示したが、治療の中止は必要ではなかった。心筋梗塞の病歴を有する1人の患者では、注入の間に狭心症が報告され、注入の4日後に心筋梗塞を起こした。

【0098】

有害事象の全体の発生率とグレード3と4の有害事象の発生率は、非巨大病変を有する患者より巨大病変を有する患者でより高かった。めまい、好中球減少症、血小板減少症、筋肉痛、貧血および胸痛は、 > 10 cmの病変を有する患者でより高かった。グレード3または4の好中球減少症、貧血、低血圧、および呼吸困難の発生率も、 < 10 cmの病変を有する患者に比較して巨大病変を有する患者で高かった（19）。

【0099】

再発性または抵抗性の低悪性度または濾胞性NH Lの治療について1997年にリツキシマブ（登録商標）がFDAにより認可されて以来、推定17,000人の患者が治療されている。1998年5月に、リツキシマブ（登録商標）の使用に関連する重症の注入関連有害事象が致命的結果を引き起こした8つの市販後報告がまとめられた。8人の死亡のうちの7人では、最初のリツキシマブ（登録商標）注入中に重症の症状が発生した。8症例のうちの2例については、死因は報告されないかまたは不明である。重症の呼吸事象（低酸素症、肺浸潤、または成人型呼吸窮迫症候群）が8人の報告された死亡のうちの6人の死亡を引き起こした。1人の患者は、治療前のリンパ球数が $600,000$ /mm³であり、二人目はクレアチニンが8，3人目は呼吸速度が40、4人目は汎血球減少症を有した。高腫瘍負荷または循環悪性腫瘍細胞の多い患者はよりリスクが高く、これらの患者は、各注入中注意深く追跡する必要がある。

【0100】

最近報告された多くの有害事象のほとんどは、リツキシマブ（登録商標）の臨床試験で以前観察されたものであった。1つの目立つ例外は、急速な腫瘍溶解を伴う注入関連症状であり、これは循環腫瘍細胞の多い6人の患者で報告された（37、38）。この症状は、発熱、硬直、低酸素血症を伴う気管支けいれん、末梢血リンパ球の急速な低下、腫瘍破壊の実験室的証拠、および一過性の重症血小板減少症が特徴である。これらの患者は、B前リンパ球性白血病（N = 2）、慢性リンパ性白血病（N = 2）、マントル細胞リンパ腫（N = 1）、または形質転換NH L（N = 1）を診断された。これらすべての患者は、循環リンパ球が高く、巨大腺症と臓器巨大症があった。これらの6人の患者のうち5人は入院が必要であったが、症状は解消し、以後のリツキシマブ（登録商標）治療は充分許容された

10

20

30

40

50

。最後の患者は、さらに治療を拒否し、2週間後に疾患の悪化により死亡した。

【0101】

CLLを有する7人の患者とマントル細胞リンパ腫を有する1人の患者の別の報告では、リンパ球数が $>10 \times 10^9/L$ の患者で最初のリツキシマブ（登録商標）注入後に腫瘍溶解症状が観察された（39）。

【0102】

リツキシマブ（登録商標）と併用した ^{90}Y イットリウム標識抗CD20抗体による放射線免疫治療法

評価中のNHLへの別の治療的アプローチは、放射能標識抗CD20抗体（IDEC-Y2B8）のリツキシマブ（登録商標）との併用である。IDEC-Y2B8（ ^{90}Y -イブリットモマブチウキセタン（ ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan））は、キレート剤MX-DTPA（これは抗体に共有結合している）を介して ^{90}Y に結合したマウスIgG₁カッパ抗CD20抗体である。リツキシマブ（登録商標）（250mg/m²）は、末梢Bリンパ球を枯渇させかつ放射能標識抗体の生体分布を改善するためにIDEC-Y2B8の前に投与される。

10

【0103】

最近報告された第I/II相試験（40~42）では、低悪性度NHL（N=34）、中悪性度NHL（N=14）、またはマントル細胞リンパ腫（N=3）の患者が、IDEC-Y2B8で治療された。平均年齢は60であり、71%は男性であり、96%はコーカサス人種であった。再発性または抵抗性NHLの51人の患者のうち、34人（67%）は、単回投与の0.2、0.3、または0.4mCi/kgのIDEC-Y2B8に应答した。低悪性度または濾胞性NHLの患者ではORRは82%（28/34）であり、中悪性度リンパ腫の患者では43%（6/14）であった。マントル細胞疾患の患者は应答しなかった。

20

【0104】

低悪性度濾胞性または形質転換NHL患者の治療についてIDEC-Y2B8とリツキシマブ（登録商標）（375mg/m²を週に1回で4回）を比較する第III相ランダム化試験が行われている。リツキシマブ（登録商標）に対して抵抗性である再発性NHLの患者で、別の第III相試験も行われている。

【0105】

要約

NHLの治療法が存在しない状況下で、治療の目的は、有意義な期間疾患の抑制を達成し、過度の毒性無しで腫瘍関連症状の緩解を提供することである。リツキシマブ（登録商標）による治療は、ほとんどの患者で有害事象が限定された短期の22日間の通院治療法である。臨床試験では、評価可能な再発または化学療法抵抗性低悪性度または濾胞性NHL患者の50%は、完全应答または部分的应答を達成した。これらの应答は、維持治療無しで持続性があり、重要な試験で应答者の平均TTPは13.2ヶ月で、平均DRは11.6ヶ月であった。

30

【0106】

リツキシマブ（登録商標）は、再発性低悪性度または濾胞性B細胞NHL患者の安全かつ有効な治療薬として認可されている。これは、有意な臨床活性、新規の作用機序を有し、应答率と应答の持続期間で代替治療法に充分匹敵する。進行中の試験の完了により、他のCD20+Bリンパ球悪性腫瘍の治療における代替リツキシマブ（登録商標）治療法とリツキシマブ（登録商標）の役割が証明されるであろう。

40

【0107】

参考文献

1. Press O, Appelbaum F, Ledbetter J, Martin P, Zarling J, Kidd P, Thomas E. Monoclonal antibody IF5 (anti-CD20) serotherapy of human B-cell lymphomas. *Blood* 1987; 69:584-591.
2. Dillman R. Antibodies as cytotoxic therapy. *Journal of Clinical Oncology* 1994; 12:1497-1515. 10
3. Grossbard M, Press O, Appelbaum F, Bernstein I, Nadler L. Monoclonal antibody-based therapies of leukemia and lymphoma. *Blood* 1992; 80:863-878.
4. Reff M, Camer K, Chambers K, Chinn P, Leonard J, Raab R, Newman R, Hanna N, Anderson D. Depletion of B cells in vivo by a chimeric mouse human monoclonal antibody to CD20. *Blood* 1994; 83:435-445. 20
5. Demidem A, Lam T, Alas S, Hariharan K, Hanna N, Bonavida B. Chimeric anti-CD20 (IDEC-C2B8) monoclonal antibody sensitizes a B cell lymphoma cell line to cell killing by cytotoxic drugs. *Cancer Biotherapy & Radiopharmaceuticals* 1997; 12:177-186.
6. Maloney D, Liles T, Czerwinski D, Waldichuk C, Rosenberg J, Grillo-López A, Levy R. Phase I clinical trial using escalating single-dose infusion of chimeric anti-CD20 monoclonal antibody (IDEC-C2B8) in patients with recurrent B-cell lymphoma. *Blood* 1994; 84:2457-2466. 30
7. Maloney D, Grillo-López A, White C, Bodkin D, Schilder R, Neidhart J, Janakiraman N, Foon K, Liles T-M, Dallaire B, Wey K, Royston I, Davis T, Levy R. IDEC-C2B8 (Rituximab®) anti-CD20 monoclonal antibody therapy in patients with relapsed low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1997; 90: 2188-2195. 40
8. McLaughlin P, Grillo-López A, Link B, Levy R, Czuczman M, Williams M, Heyman M, Bence-Bruckler I, White C, Cabanillas F, Jain V, Ho A,

- Lister J, Wey K, Shen D, Dallaire B. Rituximab® chimeric anti-CD20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma: half of patients respond to a 4-dose treatment program. *Journal of Clinical Oncology* 1998; 16:2825-2833.
9. McLaughlin P, Grillo-López A, Maloney D, Link B, Levy R, Czuczman M, Cabanillas F, Dallaire B, White C. Efficacy controls in long-term follow-up of patients treated with rituximab for relapsed or refractory, low-grade or follicular NHL. *Blood* 1998; 92:414a-415a. 10
 10. Janakiraman N, McLaughlin P, White C, Maloney D, Shen D, Grillo-López A. Rituximab: Correlation between effector cells and clinical activity in NHL. *Blood* 1998; 92 (10 Suppl 1):337a.
 11. Berinstein N, Grillo-López A, White C, Bence-Bruckler I, Maloney D, Czuczman M, Green D, Rosenberg J, McLaughlin P, Shen D. Association of serum Rituximab (IDEC-C2B8) concentration and anti-tumor response in the treatment of recurrent low-grade or follicular non-Hodgkin's lymphoma. *Annals of Oncology* 1998; 9:995-1001. 20
 12. Tobinai K, Kobayashi Y, Narabayashi M, Ogura M, Kagami Y, Morishima Y, Ohtsu T, Igarashi T, Sasaki Y, Kinoshita T, Murate T. Feasibility and pharmacokinetic study of a chimeric anti-CD20 monoclonal antibody (IDEC-C2B8, rituximab) in relapsed B-cell lymphoma. *Annals of Oncology* 1998; 9:527-534. 30
 13. Piro L, White C, Grillo-López A, Janakiraman N, Saven A, Beck T, Varns C, Shuey S, Czuczman M, Lynch J, Kolitz J, Jain V. Extended Rituxan (anti-CD20 monoclonal antibody) therapy for relapsed or refractory low-grade or follicular non-Hodgkin's lymphoma. 1999; Submitted
 14. Davis T, White C, Grillo-López A, Velasquez W, Link B, Maloney D, Dillman R, Williams M, Mohrbacher A, Weaver R, Dowden S, Levy R. 40

- Rituximab: First report of a Phase II (PII) trial in NHL patients (pts) with bulky disease. *Blood* 1998; 92 (10 Suppl 1):414a.
15. Byrd J, White C, Thomas S, Veldsquez W, Rosenberg J, Grillo-López A. Rituximab therapy in previously treated Waldenstrom's Macroglobulinemia: Preliminary evidence of activity. *Blood* 1998; 92 (10 Suppl 1): 106(a). 10
 16. O'Brien S, Freireich E, Andreeff M, Lemer S, Keating M. Phase I/III Study of Rituxan in chronic lymphocytic leukemia (CLL). *Blood* 1998; 92:105a, #431.
 17. Venugopal P, Sivaraman S, Huang X, Chopra H, O'Brein T, Jajeh A, Preisler H. Upregulation of CD20 expression in chronic lymphocytic leukemia (CLL) cells by *in vitro* exposure to cytokines. *Blood* 1998; 10:247a. 20
 18. Flinn I, O'Donnell P, Noga S, Vogelsang G, Grever M, Goodrich A, Abrams R, Marcellus D, Miller C, Jones R, Ambinder R. *In vivo* purging and adjuvant immunotherapy with Rituximab PBSC transplant for NHL. *Blood* 1998; 92:648a, #2673.
 19. Davis T, Levy R, White C, Czuczman M, McLaughlin P, Link B, Varns C, Weaver R, Grillo-López A. Rituximab: Phase II (PII) retreatment (ReRx) study in patients (pts) with low-grade or follicular (LG/F) NHL. *Blood* 1998; 92 (10 Suppl 1):414a. 30
 20. Davis T, Czerwinski D, Levy R. Therapy of B cell lymphoma with anti-CD20 antibodies can result in the loss of CD20 antigen expression. *Clinical Cancer Research* 1999; 5: In press.
 21. Czuczman M, Grillo-López A, White C, Saleh M, Gordon L, LoBuglio F, Jonas C, Klippenstein D, Dallaire B, Varns C. Treatment of patients with low-grade B-cell lymphoma with the combination of chimeric anti-CD20 40

- monoclonal antibody and CHOP chemotherapy. *Journal of Clinical Oncology* 1999; 17:268-276.
22. White C, Czuczman M, Grillo-López A, White C, Saleh M, Gordon L, LoBuglio A, Jonas C, Alkuzweny B, Dowen S. Rituximab/CHOP chemoimmunotherapy in patients (pts) with low grade lymphoma (LG/F NHL): Progression free survival (PFS) after three years (median) follow-up. *Proceedings of ASCO* 1999, In press. 10
23. Wadler S, Schwartz E. Principles in the biomodulation of cytotoxic drugs by interferons. *Seminars in Oncology* 1992; 19:45-48.
24. Nakamura K, Kubo A, Hosokawa S, Nagaike K, Hashimoto S. Effect of alpha-interferon on anti-alpha-fetoprotein-monoclonal-antibody targeting of hepatoma. *Oncology* 1993; 50:35-40.
25. Greiner J, Guadagni F, Noguchi P, Pestka S, Colcher D, Fisher P, Schlom J. Recombinant interferon enhances monoclonal antibody-targeting of carcinoma lesions in vivo. *Science* 1987; 235:895-898. 20
26. Murray J, Zukiwski A, Mujoo K, Rosenblum M. Recombinant alpha-interferon enhances tumor targeting of an antimelanoma monoclonal antibody in vivo. *Journal of Biological Response Modifiers* 1990; 9:556-563. 30
27. Yokota S, Hara H, Luo Y, Seon B. Synergistic potentiation of in vivo antitumor activity of anti-human T-leukemia immunotoxins by recombinant alpha-interferon and daunorubicin. *Cancer Research* 1990; 50:32-37.
28. Grillo-López A, Dallaire B, Shen C, Varns C, McClure A, Caralli V. Treatment options for patients with relapsed low-grade or follicular lymphoma: The role of IDEC-C2B8. *Antibody Imunoconjugates and Radiopharmaceuticals* 1995; 8:60. 40

29. Davis T, Maloney D, White C, Grillo-López A, Williams M, Weiner G, Sklenar T, Levy R. Combination immunotherapy of low grade or follicular (LG/F) non-Hodgkin's lymphoma (NHL) with Rituximab and alpha interferon: Interim analysis. *Proceedings of the American Society of Clinical Oncology* 1998; 17:11a.
30. Smalley R, Andersen J, Hawkins M, Bhide V, O'Connell M, Oken M, Borden E. Interferon alfa combined with cytotoxic chemotherapy for patients with non-Hodgkin's lymphoma. *New England Journal of Medicine* 1992; 327: 1336-1341. 10
31. Hagenbeek A, Carde P, Meerwaldt JH, Somers R, Thomas J, De Bock R, Raemaekers JM, van Hoof A, De Wolf-Peeters C, van Glabbeke M. Maintenance of remission with human recombinant interferon alfa-2a in patients with stages In and IV low-grade malignant non-Hodgkin's lymphoma. European Organization for Research and Treatment of Cancer Lymphoma Cooperative Group. *Journal of Clinical Oncology* 1998; 16:41-47. 20
32. Solal-Céligny P, Lepage E, Brousse N, Tendler C, Brice P, Haioun C, Gabarre J, Pignon B, Tertian G, Bouabdallah R, Rossi J-F, Doyen C, Coiffier B. Doxorubicin-containing regimen with or without interferon alfa-2b for advanced follicular lymphomas: Final analysis of survival and toxicity in the groupe d'etude des lymphomes folliculaires 86 trial. *Journal of Clinical Oncology* 1998; 16:2332-2338. 30
33. van der Kolk L, Grillo-López A, Gerritsen W, Jonkhoff A, Baars J, van Oers M. Chimeric anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) plus G-CSF in relapsed B-cell lymphoma: A phase I/II clinical trial. *Blood* 1998; 92:241b, #4037. 40

34. Coiffier B, Haioun C, Ketterer N, Engert A, Tilly H, Ma D, Johnson P, Lister A, Feuring-Buske M, Radford JA, Capdeville R, Diehl V, Reyes F. Rituximab (anti-CD20 monoclonal antibody) for the treatment of patients with relapsing or refractory aggressive lymphoma: a multicenter phase II study. *Blood* 1998; 92:1927-1932.
35. Link B, Grossbard M, Fisher R, Czuczman M, Gilman P, Lowe A, Vose J. Phase II pilot study of the safety and efficacy of rituximab in combination with CHOP chemotherapy in patients with previously untreated- or high-grade NHL. *Proceedings of the American Society of Clinical Oncology* 1998; 17:3a. 10
36. Tsai, D, Moore H, Porter D, Vaughn D, Luger S, Loh R, Schuster S, Stadtmauer E. Progressive intermediate grade non-Hodgkin's lymphoma after high dose therapy and autologous peripheral stem cell transplantation (PSCT) has a high response rate to Rituximab. *Blood* 1998; 92:415a, #1713. 20
37. Byrd J, Waselenko J, Maneatis T, Murphy T, Weickum R, Ward F, White C. Rituximab therapy in hematologic malignancy patients with circulating blood tumor cells: Association with increased infusion-related side effects and rapid tumor lysis. *Blood* 1998; 92 (IO Suppl 1): 106a. 30
38. Jensen M, Winkler U, Manzke O, Diehl V, Engert A. Rapid tumor lysis in a patient with B-cell chronic lymphocytic leukemia and lymphocytosis treated with an anti-CD20 monoclonal antibody (IDEC- C2B8, rituximab). *Annals of Hematology* 1998; 77:89-91.
39. Winkler U, Jensen M, Manzke O, Tesch H, Bohlen H, Diehl V, Engert A. Severe side effects in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia (CLL) and lymphocytosis treated with the monoclonal antibody Rituximab. *Blood* 1998; 92:285b, #4228. 40

40. Witzig T, White C, Wiseman G, Gordon L, Emmanouilides C, Raubitschek A, Janakiraman N, Gutheil J, Spies S, Silverman D, Parker E, Grillo-López A. Phase I/II trial of IDEC-Y2B8 radioimmunotherapy for treatment of relapsed or refractory CD20 positive B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Journal of Clinical Oncology* 1999; Submitted.
41. Wiseman G, White C, Witzig T, Gordon L, Emmanouilides C, Raubitschek A, Janakiraman N, Spies S, Silverman D, Gutheil J, Schilder R, Parker E, Rosenberg J, Grillo-López A. IDEC-Y2B8 radioimmunotherapy: Baseline bone marrow involvement and platelet count are better predictors of hematologic toxicity than dosimetry. *Blood* 1998; 92:417a. 10
42. Witzig T, White C, Wiseman G, Gordon L, Emmanouilides C, Raubitschek A, Janakiraman N, Spies S, Silverman D, Gutheil J, Schilder R, Ding E, Shen D, Grillo-López A. IDEC-Y2B8 Radioimmunotherapy: Responses in patients with splenomegaly. *Blood* 1998; 92:417(a). 20
43. Witherspoon RP, Lum LG, Storb R. Immunologic reconstitution after bone marrow grafting. *Semin Hematol* 21:2, 1984.
44. Anderson, KC et al. Hematological engraftment and immune reconstitution posttransplant with anti-B1 purged autologous bone marrow. *Blood* 69:597, 1987. 30
45. Lum LG. Kinetics of immune reconstitution after human marrow transplantation. *Blood* 69:369, 1987.
46. Azogui O., Gluckman E., Fradelizi, D., Inhibition of IL-2 production after human allogeneic bone marrow transplantation. *J. Immunol.* 131:1205, 1983.
47. Welte, K. et al, Defective Interleukin-2 production in patients after bone marrow transplantation and in vitro restoration of defective T lymphocyte proliferation by highly purified Interleukin. *Blood* 64:380, 1984. 40

48. Cayeau, S. et al., T-cell ontogeny after bone marrow transplantation: failure to synthesize Interleukin-2 (IL-2) and lack of CD2- and CD3-mediated proliferation by both CD4+ and CD8+ cells even in the presence of exogenous IL-2. *Blood* 74:2270, 1989.
49. Bosley, A. et al., Interleukin-2 as consolidative immunotherapy against minimal residual disease. *Nouv Rev Fr Hematol* 32:13, 1990. 10
50. Caligiuri, M.A. et al, Extended continuous infusion low-dose recombinant Interleukin-2 in advanced cancer. Prolonged immunomodulation without significant toxicity. *J Clin Oncol* 9:2110, 1991.
51. Caligiuri, M.A. et al, Selective immune modulation of NK cells following prolonged infusions of low dose recombinant IL-2. *J.Clin Invest* 91:123, 1993.
52. Caligiuri, M.A., Low-dose recombinant Interleukin-2 therapy: rationale and potential clinical applications. *SEM in Oncol* 20:3, 1993. 20
53. Klarinet, J.P. et al, Antigen-driven T cell clones can proliferate in vivo, eradicate disseminated leukemia and provide specific immunologic memory. *J Immunol.* 138:4012, 1987.
54. Soiffer, R.J. et al, Clinical and immunologic effects of prolonged infusion of low-dose recombinant Interleukin-2 after autologous and T cell-depleted allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 79:517, 1992. 30
55. Soiffer, R.J. et al, Effect of low-dose Interleukin-2 on disease relapse after T-cell depleted allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 84:964, 1994.
56. Lauria, F. et al, Immunologic and clinical modifications following low-dose subcutaneous administration of rIL-2 in non-Hodgkin's lymphoma patients after autologous bone marrow transplantation. *BMT* 18:79, 1996. 40

57. Vey, N. et al, A pilot study of autologous bone marrow transplantation followed by recombinant Interleukin-2 in malignant lymphomas. *Leukemia & Lymphoma* 21:107, 1996.
58. Venugopal, P. et al, Upregulation of CD20 expression in CLL cells by cytokines. Submitted to ASH Meeting, December 1998.