(19) 中华人民共和国国家知识产权局

(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102711825 A
(43) 申请公布日 2012.10.03

(21) 申请号 201080052377.1

(22) 申请日 2010.09.20

(30) 优先权数据
09170715.8 2009.09.18 EP
10164596.8 2010.06.01 EP
61/243,651 2009.09.18 US
61/344,147 2010.06.01 US

(85) PCT申请进入国家阶段日
2012.05.18

(86) PCT申请的申请数据
PCT/EP2010/063795 2010.09.20

(87) PCT申请的公布数据
WO2011/033105 EN 2011.03.24

(71) 申请人 米克罗麦特股份公司
地址 德国慕尼黑

(72) 发明人 格哈德·祖格梅尔 彼得·库福尔
多米尼克·鲁丁格尔 萨宾·考比特苏

(74) 专利代理机构 北京瑞恒信达知识产权代理事务所（普通合伙） 11382
代理人 曹津燕 李渤

(51) Int. Cl.
A61K 39/395(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
C07K 16/28(2006.01)
C07K 16/30(2006.01)
C07K 16/46(2006.01)

权利要求书 3 页 说明书 32 页 附图 6 页

(54) 发明名称

用于施用 EpCAMxCD3 双特异性抗体的给药方案

(57) 摘要

本发明涉及一种用于给人类患者施用EpCAMxCD3双特异性抗体的方法(给药方案)，其包括：(a) 在第一时间段连续施用第一剂量的所述抗体；以及不间断地 (b) 在第二时间段连续施用第二剂量的所述抗体，其中所述第二剂量超过所述第一剂量。本发明的方法(以及本发明的给药方案)还适合用于治疗人类患者的 EpCAM 阳性上皮癌细胞，或用于缓解和 / 或预防病况，所述病况是由给人类患者连续施用 EpCAMxCD3 双特异性抗体而介导的。本发明还涉及 EpCAMxCD3 双特异性抗体在制备将被用于如前述权利要求中任一项所限定的方法的药物组合物中的用途。本发明还公开了一种药物包或试剂盒，其包括如本发明的方法 / 给药方案中所限定的第一剂量和第二剂量。

CN 102711825 A

1. 一种 EpCAMxCD3 双特异性抗体，所述抗体用于治疗人类患者的 EpCAM 阳性上皮癌细胞的方法，所述方法包括：

(a) 在第一时间段连续施用第一剂量的 EpCAMxCD3 双特异性抗体；以及不间断地

(b) 在第二时间段连续施用第二剂量的所述抗体；

其中所述第二剂量超过所述第一剂量。

2. 一种 EpCAMxCD3 双特异性抗体，所述抗体用于缓解和/或预防病况、优选不良反应的方法，所述病况是由给人类患者(治疗性)连续施用 EpCAMxCD3 双特异性抗体而介导的，所述方法包括：

(a) 在第一时间段连续施用第一剂量的所述抗体；以及不间断地

(b) 在第二时间段连续施用第二剂量的所述抗体；

其中所述第二剂量超过所述第一剂量。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其中所述人类患者具有或被假设具有 EpCAM 阳性上皮癌细胞。

4. 根据前述权利要求中任一项所述的 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其中步骤(a) 中的施用途径和/或步骤(b) 中的施用途径为静脉内给药。

5. 根据权利要求 2 所述的 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其中所述病况、优选所述不良反应的特征为至少一种肝酶的血清水平的升高。

6. 根据前述权利要求中任一项所述的 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其中所述第二时间段超过所述第一时间段。

7. 根据前述权利要求中任一项所述的 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其中所述第一时间段为至少 1、2、3、4、5、6、7 天(或更多)，优选为 7 天。

8. 根据前述权利要求中任一项所述的 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其中所述第一时间段的特征为至少一种肝酶的血清水平升高至 3 或 4 级。

9. 根据权利要求 8 所述的 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其中所述第一时间段持续至所述肝酶的升高的血清水平降至 2 级。

10. 根据前述权利要求中任一项所述的 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其中所述第一时间段为 4 天，条件是所述至少一种肝酶的血清水平为 2 级或更低。

11. 根据权利要求 5 至 10 中任一项所述的 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其中所述至少一种肝酶为 AST 和/或 ALT 以及还任选的 GGT 和/或 AP。

12. 根据前述权利要求中任一项所述的 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其中所述第二时间段至少持续至所述患者的 CD8+ T 细胞被激活。

13. 根据权利要求 12 所述的 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其中所述激活的特征为至少 20% 的所述 CD8+ T 细胞为 CD25 和/或 CD69 阳性表型。

14. 根据前述权利要求中任一项所述的 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其中所述第二时间段为至少 2、3、4、5 或 6 周，优选为 3 周。

15. 根据前述权利要求中任一项所述的 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其中所述第二时间段为至少 19 天。

16. 根据前述权利要求中任一项所述的 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其中所述第一时间段为 1 至 10 天，所述第二时间段为至少 19 天。

17. 根据权利要求 16 所述的 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其中所述第一时间段为 7 至 9 天，所述第二时间段为 19 至 21 天。

18. 根据权利要求 17 所述的 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其中所述第一时间段为 7 天，所述第二时间段为 21 天。

19. 根据前述权利要求中任一项所述的 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其中所述第二剂量具有治疗活性。

20. 根据权利要求 19 所述的 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其中所述第二剂量的治疗活性的特征为激活的 CD8+ T 细胞。

21. 根据权利要求 20 所述的 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其中所述激活的特征为至少 20% 的所述 CD8+ T 细胞为 CD25 和 / 或 CD69 阳性表型（与所述第二时间段之前的 CD25 和 / 或 CD69 阳性表型有关）。

22. 根据前述权利要求中任一项所述的 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其中所述第一剂量使得在所述第一时间段内至少一种肝酶的血清水平升至 3 或 4 级血清水平并且再降至 2 级血清水平。

23. 根据权利要求 22 所述的 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其中所述至少一种肝酶为 AST 和 / 或 ALT 以及还任选的 GGT 和 / 或 AP。

24. 根据前述权利要求中任一项所述的 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其中所述第一剂量为 1 至 6μg/d，优选为 1 至 3μg/d。

25. 根据前述权利要求中任一项所述的 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其中所述第二剂量为 10 至 120μg/d（或如果在治疗相关情形下需要的话，则更多）。

26. 根据前述权利要求中任一项所述的 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其中所述第一剂量为 1 至 3μg/d，所述第二剂量为 20 至 90μg/d。

27. 根据前述权利要求中任一项所述的 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其中所述双特异性抗体为单链抗体。

28. 根据前述权利要求中任一项所述的 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其中所述抗体为 MT110。

29. 根据前述权利要求中任一项所述的 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其特征还在于（伴随）施用糖皮质激素。

30. 根据权利要求 29 所述的 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其中所述糖皮质激素为强的松、强的松龙和 / 或甲基强的松龙。

31. 根据权利要求 1 或 3 所述的 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其中所述 EpCAM 阳性上皮癌细胞为胃肠道或肺癌细胞。

32. 根据权利要求 31 所述的 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其中所述胃肠道癌为胃癌、结肠直肠癌或其转移性变体，所述肺癌为小细胞肺癌、非小细胞肺癌或其转移性变体。

33. 一种方法，其用于：

（i）给人类患者施用 EpCAMxCD3 双特异性抗体，或者

（ii）治疗人类患者的 EpCAM 阳性上皮癌细胞；或者

（iii）缓解和 / 或预防病况，所述病况是由给人类患者施用 EpCAMxCD3 双特异性抗体而介导的，

所述方法包括：

(a)连续施用 EpCAMxCD3 双特异性抗体，使得至少一种肝酶的血清水平升至 4 级或更低(优选至 3 级)并且随后降至 2 级；以及不间断地

(b)施用所述抗体使得其具有治疗活性。

34. 一种 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其用于：

(i)给人类患者施用 EpCAMxCD3 双特异性抗体，或者

(ii)治疗人类患者的 EpCAM 阳性上皮癌细胞；或者

(iii)缓解和/或预防病况，所述病况是由给人类患者施用 EpCAMxCD3 双特异性抗体而介导的，

其中所述抗体将根据如前述权利要求中任一项所限定的给药方案施用。

35. 一种 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其用于：

(i)给人类患者施用 EpCAMxCD3 双特异性抗体，或者

(ii)治疗人类患者的 EpCAM 阳性上皮癌细胞；或者

(iii)缓解和/或预防病况，所述病况是由给人类患者施用 EpCAMxCD3 双特异性抗体而介导的，

其中所述抗体将根据如前述权利要求中任一项所限定的给药方案施用。

36. EpCAMxCD3 双特异性抗体在制备被用于如前述权利要求中任一项所限定的方法的药物组合物中的用途。

37. 一种药物包或试剂盒，其包括如前述权利要求中任一项所限定的所述第一剂量和所述第二剂量。

38. 根据权利要求 37 所述的药物包或试剂盒，其还包括给患者施用所述第一和/或第二剂量的工具。

39. 根据权利要求 37 和 38 所述的药物包，其中所述第一和/或所述第二剂量被设置成使得其适合用于根据前述权利要求中任一项所述的方法的施用/给药方案。

用于施用 EpCAMxCD3 双特异性抗体的给药方案

技术领域

[0001] 本发明涉及一种用于给人类患者施用 EpCAMxCD3 双特异性抗体的方法(给药方案),其包括(a)在第一时间段连续施用第一剂量的所述抗体;以及不间断地(b)在第二时间段连续施用第二剂量的所述抗体,其中所述第二剂量所述超过第一剂量。本发明所述的方法(即本发明所述的给药方案)也适用于治疗人类患者的 EpCAM 阳性上皮癌细胞,或者减轻和/或预防通过给人类患者连续施用 EpCAMxCD3 双特异性抗体而介导的病况。本发明还涉及 EpCAMxCD3 双特异性抗体在制备可用于前述权利要求中任一项所述方法的药物组合物中的用途。本发明还公开了包括在本发明的方法/给药方案中定义的第一剂量和第二剂量的药物包或试剂盒。

背景技术

[0002] 基于抗体的癌症疗法需要具有与癌细胞的表面紧密结合的靶抗原才能起效。通过与表面靶标结合,抗体能向癌细胞传递死亡信号。在理想治疗方案中,靶抗原在每个癌细胞上大量存在且容易接近,而在正常细胞上不存在、被屏蔽的或少量存在。这种情况就为一个治疗窗提供了基础,其中一定量的基于抗体的治疗药物避开正常细胞而有效地攻击癌细胞。

[0003] EpCAM 可见于大部分人腺癌,包括具有结肠直肠、乳腺、肺、胃、膀胱、前列腺、卵巢和胰腺起源的癌症。比如在结肠直肠癌中,98%以上患者的原发肿瘤癌细胞显现出 EpCAM 大量频繁的表达(P. Went 等人, Br. J. Cancer 94: 128 (2006))。EpCAM 在癌细胞去分化发展到转移阶段时不会丢失。在一些癌症如乳腺癌、卵巢癌及某些鳞状细胞癌中,EpCAM 的表达与正常上皮组织相比,要么从头开始,要么显著上调。当癌细胞中 EpCAM 表达被反义 RNA 或 siRNA 敲除时,细胞在软琼脂中停止增殖、移动和侵入生长。相反地,休眠细胞中 EpCAM 的异位表达具有这些性能,从而导致了它们不依赖于血清生长因子的生长(M. Münz 等人, Oncogene 23: 5748 (2004))。EpCAM 已经加入癌症干细胞标记物列表(J.E. Visvader 和 G.J. Lindeman, Nat. Rev. Cancer 8: 755 (2008))。据信,癌症干细胞不断迁入肿瘤,且是导致耐药性产生及肿瘤复发的原因。已经在源自乳腺、结肠、前列腺、肝及胰腺肿瘤的癌症干细胞中发现 EpCAM 的表达。

[0004] EpCAM 现在正成为若干基于抗体的治疗方法的目标,而这些方法处于不同的临床开发阶段。已报道了用这些 EpCAM 抗体对患者进行治疗的以下不良反应。

[0005] Catumaxomab:

[0006] 全身细胞因子释放导致发热、心动过速

[0007] 淋巴细胞减少

[0008] 高剂量使用且结合低剂量的地塞米松时,肝功能的转氨酶参数升高至 4 级

[0009] VB4-845:

[0010] 低烧、恶心、呕吐

[0011] 转氨酶升高

[0012]　MT110 是一种双特异性单链抗体构建体(BiTE),其与在多数上皮来源的实体癌症中表达的上皮细胞粘附分子(EpCAM)结合,也与 T 细胞上的 CD3 结合。MT110 在各种临床前期模型中,包括人结肠直肠癌(CRC)异种移植物中,显示具有很高的抗肿瘤活性。已在具有 B 细胞淋巴瘤的患者(pt)中采用 blinatumomab (CD19xCD3 BiTE),证实了 BiTE 抗体概念的临床检验(Bargou R 等人(2008) Science 321:9741)。目前,MT110 正处于对(转移性)胃肠癌和胃癌患者进行剂量递增 I 期试验的研究阶段。为了评估抗 EpCAM x 抗 CD3 双特异性单链抗体的安全性和耐受性,通过长期连续输注施用该化合物。开始输注后,没有患者出现发热、发冷或其他输注反应。未能发现显著的全身细胞因子水平。然而,一开始进行 EpCAMxCD3 双特异性单链抗体输注,就检测到肝酶的短暂升高。

[0013]　要设计一个基于抗 EpCAM 抗体的、又不影响所治疗患者的肝功能参数如肝酶等的疗法,明显是有难度的。

发明内容

[0014]　因此,本发明的基础技术问题是要提供解决上述难题的方法。

[0015]　本发明解决了这种需要,并就此提供了关于给人类患者施用 EpCAMxCD3 双特异性抗体的方法及给药方案的实施方案。

[0016]　本文将对这些实施方案进行表征和描述,权利要求中也会有所反映。

[0017]　应注意,除非上下文另有清楚说明,文中所用的单数形式“一个”、“一种”及“某个(种)”均涵盖复数形式。因此,例如,提及“一个试剂”,包括一个或多个不同该试剂;而提及“该方法”,就包括本领域普通技术人员已知的等效步骤及方法,这些步骤和方法是可被改变的或可取代本文所述方法。

[0018]　本发明所引用的所有出版物及专利都以其整体引用的形式并入。如通过引用形式并入的资料与本说明书相抵触或不一致,本说明书将优先于任何此类资料。

[0019]　除非另有指代,在一系列元素之前的术语“至少”应理解为指代该系列中每一个元素。本领域的技术人员将识别,或仅利用常规实验就能确定本文描述的本发明的具体实施方案的许多等同物。本发明意图包含这些等同物。

[0020]　除非上下文另外规定,贯穿本说明书始终以及下文的权利要求中的词语“包含”和变型如“含有”和“包含着”应理解为指代含有某个指定的整体或步骤,或某些整体或步骤的集合,但不排除任何其他整体或步骤或者整体或步骤的集合。

[0021]　本说明书全篇引用了多篇文件。无论上文或下文本文所引用的每篇文件(包括所有专利、专利申请、科学出版物、制造商的说明书、说明书等),均以整体引用的形式并入本说明书。这些均不能解释为承认本发明由于在先发明而无权早于此类公开。

[0022]　一旦根据本发明所提供的给药方案给药,EpCAMxCD3 双特异性抗体就能被患者很好的耐受,鉴于用 EpCAM 特异性抗体观察到的不良事件,尤其是肝功能参数如 ALT、AST、AP 等(“ALT、AST、AP 等”这些术语在文中别处有所解释)的惊人升高,这一发现肯定是有显著意义的。

[0023]　具体地,本发明人观察到肝酶的血清水平显著升高到一个不希望的水平,因为这可能对接受 EpCAM 特异性抗体如 EpCAMxCD3 双特异性抗体治疗的患者来说是一个额外的负担。然而,引人注意的是,只要根据文中所公开的的方法 / 给药方案施用抗体,再次接受

EpCAMxCD3 双特异性抗体时，未出现转氨酶升高。总之，本发明人发现，在用 EpCAMxCD3 双特异性抗体治疗之前让患者“适应”EpCAMxCD3 双特异性抗体有助于避免不希望的不良反应发生(尤其是肝功能参数的不希望的升高)。

[0024] 因此，本发明的第一方面涉及一种用于给人类患者施用 EpCAMxCD3 双特异性抗体的方法(给药方案)，所述方法包括 ：

[0025] (a) 在第一时间段连续施用第一剂量的所述抗体 ；以及不间断地

[0026] (b) 在第二时间段连续施用第二剂量的所述抗体 ；

[0027] 其中所述第二剂量高于所述第一剂量。

[0028] 在本发明的背景下，人类患者优选具有或被假设具有 EpCAM 阳性上皮癌细胞。

[0029] 应理解在本发明的背景下，术语“方法”包括本发明方法中所用的“给药方案”。

[0030] 在本发明的背景下，“EpCAMxCD3 双特异性抗体的给药”或“施用 EpCAMxCD3 双特异性抗体”或其任何其它语法形式意味着 EpCAMxCD3 抗体为药物组合物的形式，所述药物组合物任选地包含药学上可接受的载体。因此，应理解为给人类患者施用包含 EpCAMxCD3 双特异性抗体的药物组合物。

[0031] 在本发明的背景下，术语“患者”是指需要治疗 EpCAM 阳性上皮癌细胞的受试者或个体。患者是哺乳动物，优选是人类。

[0032] 术语“施用”的所有语法形式是指 EpCAMxCD3 双特异性抗体(以药物组合物的形式)作为单独治疗药剂或与其他治疗药剂相结合的给药。

[0033] 因此预见到，本发明的药物组合物还可用于协同治疗方法，即与其他药剂或药物一起协同给药，例如，其他用于治疗人类患者的 EpCAM 阳性上皮癌细胞的药物，和 / 或糖皮质激素，和 / 或在本发明所述方法的背景下可能有利的任何其他治疗药剂。

[0034] 文中提及的药物组合物的优选为静脉内给药。由此而知，本发明方法中的步骤(a)的给药途径和 / 或步骤(b) 的给药途径是静脉内给药。

[0035] EpCAMxCD3 双特异性抗体(例如是药学组合物的形式)的给药是连续的或在此也可采用用的持续的。连续给药是指基本上无间断的给药。“基本上无间断”包括连续给药但通常不含连续流动或空间延伸。

[0036] 本发明的一个优选实施方案中，第二剂量具有治疗活性。优选地，有效剂量影响 CD8+T 细胞的激活。被激活的 CD8+T 细胞的优选特征为 CD25 和 / 或 CD69 表型。术语“被激活的 CD8+T 细胞”和“CD25 和 / 或 CD69 表型”在本文别处有所描述。

[0037] “治疗有效量”或“具有治疗活性”是指给所施用的目标产生疗效的 EpCAMxCD3 双特异性抗体的剂量。

[0038] 确切剂量取决于治疗的目的，是本领域技术人员运用已知技术可以确定的。如本领域所熟知的以及上文所述，可能需要根据年龄、体重、基本健康状况、性别、饮食习惯、药物相互作用以及情况的严重性进行调整，该调整是本技术领域技术人员通过常规实验可以确定的。“具有治疗活性”包括在本发明的背景下，至少是上文所述 CD8+T 细胞的激活，这是治疗方法的一个先决条件。本发明所述的各方法或方法步骤的疗效可另通过所有已有的指示疗效的方法和途径检测。例如预见到，可以通过外科切除或活体检查受影响的组织 / 器官，随后用免疫组化(IHC)或比较免疫学技术分析的方法检测疗效。或者还预见到，检测患者血清内肿瘤标记物(如果存在)，来判定治疗方法是否已产生疗效。此外或可选地，还可以

分别评估相应患者的整体状况(身体健康、有幸福感、肿瘤介导的小病的减少等),从而帮助技术从业者评价是否已产生疗效。技术人员知道许多能让他或她观测本发明所述化合物疗效的其他方法。

[0039] 本发明的另一方面涉及一种用于治疗人类患者的 EpCAM 阳性上皮癌细胞的方法,所述方法包括:

[0040] (a)在第一时间段连续施用第一剂量的 EpCAMxCD3 双特异性抗体;以及不间断地,

[0041] (b)在第二时间段连续施用第二剂量的所述抗体

[0042] 其中所述第二剂量高于所述第一剂量。

[0043] 本发明的又一方面涉及一种用于缓解和/或预防病况、优选不良反应的方法,所述病况是由给人类患者(治疗性地)连续施用 EpCAMxCD3 双特异性抗体而介导的,所述方法包括:

[0044] (a)在第一时间段连续施用第一剂量的所述抗体;以及不间断地,

[0045] (b)在第二时间段连续施用第二剂量的所述抗体

[0046] 其中所述第二剂量高于所述第一剂量。所述人类患者优选地具有或被假设具有 EpCAM 阳性上皮癌细胞。

[0047] 在该用于缓解和/或预防病况、优选不良反应的方法的一个优选实施方案中,其中所述病况是由给人类患者施用 EpCAMxCD3 双特异性抗体而介导的,所述病况的特征在于至少一种肝酶的血清水平的升高。

[0048] 所述至少一种肝酶的血清水平的升高最高会达到根据通用不良反应术语标准(Common Terminology Criteria for Adverse Events, CTCAE)3.0 版所划分的 4 级,所述标准将在下文进一步描述。因此,所述至少一种肝酶的血清水平的升高会达到 1 级、2 级或 3 级,而 4 级为最高。

[0049] 所述升高优选地是暂时性的。所述至少一种肝酶的血清水平的升高中所用的"暂时性"是指所述升高并不是永久的,而是在停止治疗后或在连续的进一步输注过程中会消失的。还预见到,肝酶血清水平的暂时升高不一定伴随病理学的影像结果、实质组织损伤或肝脏合成功能参数受损。其示例显示在图 7 中,该图描述了用 MT110 (即本发明的抗体)治疗的患者的肝实质。如图中可见,肝实质在转氨酶峰值时没有实质细胞损伤的迹象(HE 染色)。

[0050] 一般来说,肝酶活性由于提供了关于肝脏状况/状态的指南,因此通常被用作一个肝脏的"窗口"。例如,如果肝脏被如酒精或其他药物损伤,或因任何其他原因出现异常功能,则肝酶将泄露进入正常情况下不存在肝酶的血液中。

[0051] 因此,肝酶的血清水平可通过肝酶活性进行测定。高于(即增加的或升高的)通常公认的参考值的肝酶活性一般指示肝脏潜在的异常功能和/或损伤。

[0052] 所以,肝酶活性可以通过肝功检查(LFT 或 LF)进行测量,所述肝功检查即设计为提供关于患者肝脏状态的信息的临床生化实验室的血液试验。对于肝酶,其参考值(正常值)是已知的且是通常公认的。参考值是健康专家用于解释一组医学检测结果的一组数值。参考值通常定义为 95% 的正常人群落入其中的一组数值,或平均值的两个标准偏差。其是通过收集来自大量实验室试验的数据而确定的。

[0053] 就肝酶而言,其参考值是以国际单位(IU)给出。国际单位以测定的生物活性或作

用为基础。

[0054] 经测定，肝酶血清水平的（优选暂时）升高值是正常上限（ULN）的数倍。ULN 的倍数根据 NCI 通用不良反应术语标准（CTCAE）3.0 版（出版日 :2003 年 12 月 12 日）进行分级。级别是指不良反应的严重性。3.0 版 CTCAE 分为 1 到 5 级，对每种不良反应严重性的临床描述是特定的 :

[0055] 1 级 :轻微不良反应

[0056] 2 级 :中度不良反应

[0057] 3 级 :严重不良反应

[0058] 4 级 :致命或致残的不良反应

[0059] 5 级 :患者死亡

[0060] 肝转氨酶如天冬氨酸转氨酶（AST）和丙氨酸转氨酶（ALT）针对肝脏细胞完整性的状态提供，因为如果肝脏损伤或发生故障，这些酶会从损伤或发生故障的肝细胞中泄漏进入血液。

[0061] 因此，本发明方法的上下文中 AST 和 / 或 ALT 为优选的肝酶（肝脏标记物）。在一些优选实施方案中，所述至少一种肝酶包括 AST 和 / 或 ALT，且任选地包括 GGT 和 / 或 AP。

[0062] 天冬氨酸转氨酶（AST）也称为血清谷草转氨酶（SGOT）或天冬氨酸氨基转移酶（ASAT），类似于丙氨酸转氨酶（ALT），因为它是另一种与肝实质细胞相关的酶。它在急性肝损伤中升高，但也存在于红血球、心脏及骨骼肌肉中，因此并不是肝脏中特有的。AST 与 ALT 的比值有时可用于区分肝损伤的成因。AST 水平的升高并不是肝损伤特异的。AST 的正常参考值是 10 至 50 IU/I。

[0063] 根据通用不良反应术语标准 3.0 版，AST 的分级如下所示 :

[0064]

1 级	2 级	3 级	4 级	5 级
>ULN – 2.5 x ULN	>2.5 – 5.0 x ULN	5.0 – 20.0 x ULN	>20.0 x ULN	-

[0065] 丙氨酸转氨酶（ALT），也称为血清谷丙转氨酶（SGPT）或丙氨酸氨基转移酶（ALAT），是一种存在于肝细胞（肝脏细胞）中的酶。当细胞损伤时，细胞将该酶泄漏进入血液，此处可以测量。在急性肝损伤如病毒性肝炎或超剂量扑热息痛（对乙酰氨基酚）中 ALT 显著升高。ALT 的通常参考值为 5 至 50 IU/I。

[0066] 根据通用不良反应术语标准 3.0 版，ALT 的分级如下所示 :

[0067]

1 级	2 级	3 级	4 级	5 级
>ULN – 2.5 x ULN	>2.5 – 5.0 x ULN	>5.0 – 20.0 x ULN	>20.0 x ULN	-

[0068] 其他肝酶如 γ 谷酰胺转移酶(GGT)或碱性磷酸酶(AP)针对与胆道相关联的状态提供。

[0069] 因此还预见到,作为另一种肝酶,碱性磷酸酶(AP 或 ALP)的增加或减少可在本发明的背景下分别测量。AP 是衬于肝脏胆道的细胞中的一种酶。血浆中的 AP 水平在大胆道阻塞、肝内胆汁郁积或肝脏浸润性疾病中会升高。AP 也存在于骨骼和胎盘组织中,所以在长身体的儿童(因为他们的骨骼正在重建)以及老年佩吉特氏病患者中较高。AP 的通常参考值为 30 至 120 IU/I。

[0070] 根据通用不良反应术语标准 3.0 版,AP 的分级如下所示 :

[0071]

1 级	2 级	3 级	4 级	5 级
>ULN – 2.5 x ULN	>2.5 – 5.0 x ULN	>5.0 – 20.0 x ULN	>20.0 x ULN	-

[0072] 在本发明背景下,可分别测量增加或减少的另一种肝酶是 γ 谷酰胺转移酶(GGT)。已知其会在甚至轻微、亚临床水平的肝功能异常情况下升高。它还有助于鉴定孤立 ALP 升高的成因。GGT 的通常参考值为 0 至 51 IU/I。

[0073] 根据通用不良反应术语标准 3.0 版,GGT 的分级如下所示 :

[0074]

1 级	2 级	3 级	4 级	5 级
>ULN – 2.5 x ULN	>2.5 – 5.0 x ULN	>5.0 – 20.0 x ULN	>20.0 x ULN	-

[0075] 在本发明方法的一方面,所述第二时间段超过所述第一时间段。术语“超过”是指第二时间段比第一时间段长,优选至少长一天。本发明方法 / 给药方案的另一方面,所述第一时间段超过或等于所述第二时间段。

[0076] 还预计,第一时间段和第二时间段被第三时间段(即第一时间段和第二时间段之间的间歇)打断。所述第三时间段优选尽可能短(因为与此同时 EpCAM 阳性上皮癌可能生

长),但视情况可持续一天或多天或甚至是一周、两周或甚至更多周。此打断的目的可视为允许患者从所述至少一种肝酶的血清水平升高中恢复的休养期,只要这是必须的。在一个优选的实施方案中,所述第三时间段(第一和第二时间段之间的时间段)为两周或少于两周,更优选的是一周或少于一周。

[0077] 在本发明的另一方面,预见到所述第一时间段为至少 1、2、3、4、5、6、7 天长,但不排除甚至更长的时间段,如 8、9、10、11、12、13 或 14 天。在此"更长的"并不限于完整的一(1)天作为最小的时间单位,即 1/2 天或完整小时数都是可能的。然而,优选的最小时间单位是完整的一天。鉴于下文实施例所示的结果,证明理想的第一时间段为 7 至 9 天(7、8、9 天),优选 7 天。优选地,在上述第一时间段施用所述 EpCAMxCD3 双特异性抗体,使得至少一种肝酶的血清水平升高至 4 级或不到 4 级(优选至 3 级),随后又降至 2 级。肝酶的这种升高和降低在文中别处有所解释。

[0078] 文中所用的定义为"X 至 Y"的时间区间等同于定义为"X 和 Y 之间"的时间区间。这两种时间区间具体都包括上限和下限。即意味着例如时间区间为"1 至 4 天"或在"1 至 4 天"之间包括 1 天、2 天、3 天和 / 或 4 天的时间段。

[0079] 如文中所述,本发明人观察到,在第一时间段期间使人类患者"适应"采用 EpCAMxCD3 双特异性抗体的治疗,允许在第二时间段采用增大的第二剂量的抗体治疗该人类患者,借此可以更好地控制不良反应(至少一种肝酶的血清水平的升高),即可保持在依据 CTCAE 的可接受级别内。

[0080] 然而,为达到此改善目的,需通过在第一时间段给人类患者连续施用第一剂量的抗体(其中所述第一剂量低于后续(第二)剂量),而使其"适应"EpCAMxCD3 双特异性抗体。

[0081] 给人类患者连续施用第一剂量的 EpCAMxCD3 双特异性抗体的所述第一时间段,优选地表征为至少一种肝酶的血清水平升高至 3 或 4 级(因而包括至少一种肝酶的血清水平升高至 1 或 2 级)。可看到此升高与第一时间段开始时所述至少一种肝酶的血清水平的升高相关。

[0082] "适应"期(包括给人类患者连续施用第一剂量的 EpCAMxCD3 双特异性抗体的第一时间段),优选地持续到所述至少一种肝酶的升高的血清水平降至优选 2 级或甚至 1 级。所述适应期还可包括上述第三时间段(假使有用到第三时间段),所述第三时间段意指允许患者从至少一种肝酶的血清水平的升高中恢复的休养间歇(如需要)。

[0083] 总而言之,如上所述,给人类患者连续施用第一剂量的 EpCAMxCD3 双特异性抗体的所述第一时间段的特征在于至少一种肝酶的血清水平的升高以及至少一种肝酶的血清水平的降低。所述降低还可以发生在第三时间段期间,只要采用第三时间段。因此,这种升高和降低表征了被施用 EpCAMxCD3 双特异性抗体的人类患者的适应期,从而允许在第二时间段连续施用第二剂量的 EpCAMxCD3 双特异性抗体,而并不具有至少一种肝酶的血清水平的额外升高。

[0084] 因此,第一时间段(或第一及第三时间段)取决于上述升高和降低所需的时间,所以对每个病人而言可能是不同的。但是,技术从业者提供利用本发明的教导,通过测定血清水平并将其与"适应期"刚开始时,即给人类患者连续施用第一剂量的 EpCAMxCD3 双特异性抗体的第一时间段(及第三时间段,如果存在)刚开始时的血清水平相比较,便能够很容易地确定至少一种肝酶的血清水平的升高。

[0085] 同样地，通过测定到达最高级 4 级之后的血清水平并评估其是否下降，技术从业者能够很容易地确定至少一种肝酶的血清水平的降低。

[0086] 在本发明方法的一个特别优选的实施方案中，给人类患者连续施用 EpCAMxCD3 双特异性抗体的第一时间段等于或少于 4 天(如 3 天)，条件是所述至少一种肝酶的血清水平在所述时间段期间没有升高超过 2 级。

[0087] 同样地，考虑到如人类患者的年龄、性别、体重等因素，第一时间段的持续时间、第二时间段的持续时间及第三时间段的持续时间可以是可变的。

[0088] 第二时间段优选持续到所述患者的 CD8+ T 细胞被激活。

[0089] CD8+ T 细胞的激活可用本领域已知的手段和方法确定，如 FACS 分析法，其通过应用 CD8 的抗体从而对 CD8+ T 细胞进行分选，和 / 或通过应用指征 CD8+ T 细胞激活的细胞表面标记物特异的抗体。

[0090] 因此，CD8+ T 细胞激活的优选特征在于至少 20%、30%、40%、50% 或更多所述 CD8+ T 细胞的 CD25 和 / 或 CD69 阳性表型增多。CD8+ T 细胞的总数可用本领域已知的手段和方法测定，如用 FACS 分析法分析所述患者的外周血样品。可看到第二时间段期间的所述升高与第一时间段之前或第二时间段之前患者 CD8+ T 细胞的 CD25 和 / 或 CD69 阳性表型相关联。因此预见到，为得到可用的参考值，在第一时间段之前或第二时间段之前确定患者 CD8+ T 细胞的表型。

[0091] 在本发明方法的另一个实施方案中，所述第二时间段为至少 2 周，即 2、3、4、5、6、7、8 或甚至更多周，优选 3 周。应理解术语“一周”是指七整天。

[0092] 在一个优选实施方案中，所述第二时间段为至少 19 天，即 19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30 或甚至更多天。优选的，所述第二时间段持续直至检测到治疗效果。在本发明的背景下，“治疗效果”至少包括上述 CD8+ T 细胞的激活，这是所有治疗效果产生的先决条件。

[0093] 在本发明方法 / 给药方案的一个更优选实施方案中，所述第一时间段为 1 至 10 天，而所述第二时间段为至少 19 天。

[0094] 在一个更优选的实施方案中，所述第一时间段为 7 至 9 天，而所述第二时间段为 19 至 21 天。特别优选的是第一时间段为 7 天而第二时间段为 21 天。在又一个特别优选的实施方案中，所述第一时周间段为一周，所述第二时间段至少为三周，而所述第三时间段为一或两周。

[0095] 在某些实施方案中，所述第一剂量并无治疗活性。文中“无治疗活性”是指上述 CD8+ T 细胞激活优选特征在于 CD8+ T 细胞的 CD25 和 / 或 CD69 阳性表型升高 20% 或不到 20%。CD8+ T 细胞的总数可用本领域已知的手段和方法测定，如对所述患者的外周血样品进行 FACS 分析。可看到所述升高与第一时间段之前患者 CD8+ T 细胞的 CD25 和 / 或 CD69 阳性表型相关联。因此预见到，为得到可用的参考值，在第一时间段之前确定患者的 CD8+ T 细胞的表型。

[0096] 预见到第二剂量具有治疗活性。所述第二剂量的治疗活性的特征在于文中别处所述的激活的 CD8+ T 细胞。所述激活的特征在于所述 CD8+ T 细胞的 CD25 和 / 或 CD69 阳性表型高于 20%（与第二时间段之前的 CD25 和 / 或 CD69 阳性表型相关联)。

[0097] 在本发明方法的另一个实施方案中，所述第一剂量使得在第一时间段内，至少一

种肝酶的血清水平升高至 3 级或 4 级血清水平，之后又降至 2 级血清水平。“肝酶”和“级”等术语在文中别处有所描述。

[0098] 在本发明方法 / 给药方案的另一方面，所述第一剂量为 1 μg/d 至 6 μg/d，即 1、2、3、4、5 或 6 μg/d (优选 1 μg/d 至 3 μg/d，即 1、2 或 3 μg/d)。“d”表示一天。例如，1 μg/d 的剂量是指一天中平均施用或一天中连续施用 1 μg EpCAMxCD3 双特异性抗体。“一天中连续”是指允许不中断的持续进行的输注。还预见到，在所述第一时间段期间，第一剂量随着时间增加(即第一时间段分成多步，其特征在于剂量的增加)，其中当剂量快达到所述第二剂量时，所述增加停止。第一时间段内的所述逐步增加可能是逐天增加或逐周增加(见如图 8)。还预见到，第一时间段以“剂量递增”的疗法 / 给药方案开始，其特征在于使患者逐步适应治疗(如 3 μg/ 天给药一周后，6 μg/ 天或 12 μg/ 天给药一周)。

[0099] 在本发明方法 / 给药方案的又一方面，所述第二剂量为 10 至 120 μg/d，即 10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110 或 120 μg/d，或甚至更高。

[0100] 术语“μg”包括“EpCAMxCD3 双特异性抗体制剂的 μg”。优选地，不多于 10% 的所述 EpCAMxCD3 双特异性抗体制剂折叠错误。由此可见，在一个优选实施方案中，90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或甚至 100% 的 EpCAMxCD3 双特异性抗体正确折叠。还可预见，抗体制剂可任选地包含其他成分，如冻干保护剂、表面活性剂、填充剂、粘合剂及 / 或膨胀剂等。这些其他成分的含量优选没有包括在本发明“剂量”和 / 或方法所用的术语“μg”内。

[0101] 在一个优选的实施方案中，所述第一剂量为 1 至 3 μg/d (即 1、2 或 3)，所述第二剂量为 20 至 90 μg/d (即 20、30、40、50、60、70、80 或 90)。

[0102] 应理解，文中所给出的范围是以 10 为增量进行描述的。然而，这些范围还包括较小的增量，例如以 1 为增量所示例的范围(10 至 30 包括如 10、11、12、13、13 等直至 30)，或更小的增量，如小数点后的数值。

[0103] 在一个优选的实施方案中，所述给药方案如图 8 所示。在包含本发明的实施方案的实施例 4 或 5 中描述了这些给药方案的其它细节。

[0104] 如上文所记录，本发明的治疗方法 / 给药方案采用 EpCAMxCD3 双特异性抗体，所述抗体含有能与人 CD3-ε 链的表位结合的第一结合域和能与人 EpCAM 结合的第二结合域。对于根据本发明方法所述的双特异性分子的实施例在 WO2005/040220 (PCT/EP2004/011646) 中有详细描述，所述国际公布通过引用以其整体形式并入本说明书。其中公开的所有具体 EpCAMxCD3 双特异性抗体，包括其变体、片段、等同物等，是本发明特别优选的 EpCAMxCD3 双特异性抗体。

[0105] 文中所用的“EpCAMxCD3 双特异性单链抗体”是指含有两个结合域的单多肽链。该单链抗体在本发明的方法 / 给药方案中是优选的。每个结合域包含至少一个来自抗体重链的可变区(“VH 或 H 区”)，其中第一结合域的 VH 区与 CD3-ε 分子特异结合，而第二结合域的 VH 区与 EpCAM 特异结合。两个结合域任选地通过短多肽间隔序列彼此相连。多肽间隔序列的非限制性例子为 Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (G-G-G-G-S) 及其重复序列。每个结合域可还包括一个来自抗体轻链的可变区(“VL 或 L 区”)，第一和第二结合域各自内部的 VH 区和 VL 区通过多肽接头彼此相连，例如 EP 623679 B1 所公开及要求保护的类型，但无论如何都足够长以允许第一结合域的 VH 区和 VL 区与第二结合域的 VH 区和 VL 区相互配对，以使

得它们能够特异结合于相应的第一和第二结合域。这种EpCAMxCD3双特异性单链抗体在WO2005/040220 (PCT/EP2004/011646) 中有详细描述,所述国际公布通过引用以其整体形式并入本说明书。

[0106] 与本发明相关的术语"结合域"表征与给定靶结构/抗原/表位特异性结合/相互作用的多肽的结构域。因此,所述结合域为"抗原相互作用位点"。根据本发明,术语"抗原相互作用位点"定义了一种能特异性与特定抗原或特定抗原组(如不同物种中的同一种抗原)相互作用的多肽基序。所述结合/相互作用还应理解为定义了"特异性识别"。根据本发明,术语"特异性识别"是指抗体分子能特异相互作用于和/或结合于抗原(如本文中定义的人CD3抗原)上至少2个、优选至少3个、更优选至少4个氨基酸。这种结合可用"锁钥原理"的特异性来例证。因此,一级、二级或三级结构以及所述结构的次级修饰使得结合域的氨基酸序列中的特定基序与抗原相互结合。抗原相互作用位点与其特定抗原的特异性相互作用还可导致所述位点与抗原的简单结合。此外,结合域/抗原相互作用位点与其特定抗原的特异性相互作用或者还可导致触发信号,如由于抗原构象改变、抗原的寡聚等的诱导。依据本发明的结合域的优选实例是抗体。结合域可以是单克隆或多克隆抗体,或来源于单克隆或多克隆抗体。

[0107] 术语"抗体"包括仍保留结合特异性的衍生物或功能片段。用于制备抗体的技术是本领域所熟知且在如Harlow和Lane "Antibodies, A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1988以及Harlow和Lane "Using Antibodies: A Laboratory Manual" Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999中有所描述。术语"抗体"还包括不同类别的免疫球蛋白(Ig's,即IgA、IgG、IgM、IgD及IgE)以及不同亚类(如IgG1、IgG2等)。

[0108] 术语"抗体"的定义还包括其具体体现,如嵌合体、单链且人源化抗体以及抗体片段,例如,尤其是Fab片段。抗体片段或衍生物还包括F(ab')2、Fv、scFv片段、单结构域抗体、单可变结构域抗体或仅含有一个可能是VH或VL的可变结构域的免疫球蛋白单可变结构域,其不依赖于其他V区或结构域就能与抗原或表位特异结合;参见例如以上引用的Harlow和Lane (1988)以及(1999)。该免疫球蛋白单可变结构域不仅包括单独的抗体单可变结构域多肽,还包括具有抗体单可变结构域多肽序列的一个或多个单体的较大多肽。

[0109] 文中所用的CD3-ε是指作为T细胞受体的一部分表达的分子,且其含义通常归入现有技术的含义。在人的情况下,它包括所有已知的单独或独立结合形式的CD3亚基,例如CD3 ε、CD3 δ、CD3 γ、CD3 ζ、CD3 α及CD3 β。人CD3 ε的GenBank登录号为NM_000733。

[0110] 人EpCAM的GenBank登录号为NM_002354。

[0111] 在本发明方法/给药方案的一个优选实施方案中,双特异性单链抗体构建体为EpCAM VL-EpCAM VH-CD3 VH- CD3 VL双特异性单链抗体构建体。

[0112] 在本发明方法/给药方案的一个更优选实施方案中,双特异性单链抗体构建体包含CDR H1-3,如WO2005/040220 (PCT/EP2004/011646) 中公开的SEQ ID NO. 88 (CDRH1)、SEQ ID NO 92 (CDRH2) 及SEQ ID NO 96 (CDRH3) 所示;以及CDR L1-3,如WO2005/040220 (PCT/EP2004/011646) 中公开的SEQ ID NO. 100 (CDRL1)、SEQ ID NO 102 (CDRL2) 及SEQ ID NO 104 (CDRL3) 所示,即表征MT110的CDR。

[0113] 所述 SEQ ID 在下表中也有描述：

[0114]

SEQ ID NO. 88 (CDRH1)	<400> 88 Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Thr Met His 1 5 10
SEQ ID NO 92 (CDRH2)	<400> 92 Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys 1 5 10 15 Gly
SEQ ID NO 96 (CDRH3)	<400> 96 Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr 1 5 10
SEQ ID NO. 100 (CDRL1)	<400> 100 Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Tyr Met Asn 1 5 10
SEQ ID NO 102 (CDRL2)	<400> 102 Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser 1 5
SEQ ID NO 104 (CDRL3)	<400> 104 Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr 1 5

[0115] 在本发明方法的一个更优选实施方案中，EpCAMxCD3 双特异性单链抗体构建体包含(或其组成为)WO2005/040220 (PCT/EP2004/011646) 中公开的下文也将描述的如 SEQ ID NO. 63 所示的氨基酸序列，或与所述 SEQ ID NO. 63 的同一性为至少 90%、优选 95% 的氨基酸序列(这在下文将公开)。该序列表征的 EpCAMxCD3 双特异性单链抗体为 MT110。

[0116] MT110 的氨基酸序列

[0117] <223> 5-10(VL-VH)x 抗 -CD3(VH(5)-VL(2))

[0118] <400> 63

[0119] Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

[0120] 1 5 10 15

[0121] Val His Ser Glu Leu Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val

[0122] 20 25 30

[0123] Thr Ala Gly Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu

[0124] 35 40 45

[0125] Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys

[0126] 50 55 60

[0127] Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu

[0128] 65 70 75 80

[0129] Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe

[0130] 85 90 95

[0131] Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr

[0132] 100 105 110

[0133] Cys Gln Asn Asp Tyr Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys

[0134] 115 120 125

[0135] Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

[0136] 130 135 140

[0137] Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val

[0138] 145 150 155 160

[0139] Arg Pro Gly Thr Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala

[0140] 165 170 175

[0141] Phe Thr Asn Tyr Trp Leu Gly Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly

[0142] 180 185 190

[0143] Leu Glu Trp Ile Gly Asp Ile Phe Pro Gly Ser Gly Asn Ile His Tyr

[0144] 195 200 205

[0145] Asn Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser

[0146] 210 215 220

[0147] Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Phe Glu Asp Ser Ala

[0148] 225 230 235 240

[0149] Val Tyr Phe Cys Ala Arg Leu Arg Asn Trp Asp Glu Pro Met Asp Tyr

[0150] 245 250 255

[0151] Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser

[0152] 260 265 270

[0153] Asp Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

[0154] 275 280 285

[0155] Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr

[0156] 290 295 300

[0157] Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

[0158] 305 310 315 320

[0159] Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val

[0160] 325 330 335

[0161] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Thr Thr Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

[0162] 340 345 350

[0163] Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys

[0164] 355 360 365

[0165] Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

[0166] 370 375 380

[0167] Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Glu Gly Thr Ser Thr Gly Ser Gly

[0168] 385 390 395 400

[0169] Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ala Asp Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser

[0170] 405 410 415

[0171] Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys

[0172] 420 425 430

[0173] Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro

[0174] 435 440 445

[0175] Gly Lys Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser

[0176] 450 455 460

[0177] Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser

[0178] 465 470 475 480

[0179] Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys

[0180] 485 490 495

[0181] Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val

[0182] 500 505 510

[0183] Glu Ile Lys

[0184] 515

[0185] 因此，在本发明方法/给药方案的一个最优选实施方案中，所述 EpCAMxCD3 双特异性单链抗体为以上氨基酸序列所表征的 MT110。

[0186] 本发明描述 EpCAMxCD3 双特异性单链抗体分子，其包含如上述（或 WO2005/040220 (PCT/EP2004/011646) 中的）SEQ ID NO. 63 所示的氨基酸序列；以及与所述氨基酸序列的同一性为至少 90% 或优选 95%、最优选 96%、97%、98% 或 99% 氨基酸序列。应理解，序列同一性是以完整氨基酸序列确定的。例如，可用 GCG 软件包（Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wisconsin, USA 53711 (1991)）中含有的 Gap 或 BestFit 程序进行序列比对（Needleman 和 Wunsch J. Mol. Biol. 48 (1970), 443-453; Smith 和 Waterman, Adv. Appl. Math 2 (1981), 482-489）。测定和识别与文中所述 EpCAMxCD3

双特异性单链抗体(优选的是 MT110)的氨基酸序列有例如 90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 序列同一性的氨基酸序列,对于本领域技术人员来说是一种常规方法。例如,根据克里克的摆动假说,反密码子的 5' 碱基不像另外两个碱基有空间局限,因而可能发生非标准的碱基配对。换言之,三联密码子的第三个位点是可变的,以使得两个在第三位点不同的三联密码子可编码相同的氨基酸残基。所述假说是为本领域技术人员所熟知的(参加例如 http://en.wikipedia.org/wiki/Wobble_Hypothesis; Crick, J Mol Biol 19 (1966): 548–55)。测定与文中所述 EpCAMxCD3 双特异性单链抗体的核苷酸或氨基酸序列有例如 90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 序列同一性的这样的氨基酸序列的细胞毒性,对于本领域技术人员来说也是一种常规方法。EpCAMxCD3 双特异性单链抗体或与 EpCAMxCD3 双特异性单链抗体的氨基酸序列有例如 90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 序列同一性的抗体构建体的细胞毒性可用如 WO2005/040220(PCT/EP2004/011646)中所述方法进行测定。

[0187] 还预见到,本发明方法的特征还优选在于伴随物糖皮质激素的施用。

[0188] 如所附的实施例 2 所示,发现糖皮质激素能稍微减轻上述在采用本发明治疗方法期间肝酶的升高。因此可预见到,本发明方法(及本发明的给药方案)的特征还在于任选地施用至少一种糖皮质激素。所述施用优选伴随着文中所述的第一和/或第二时间段。糖皮质激素(GC)是一类与糖皮质激素受体(GR)结合的类固醇激素,所述糖皮质激素受体存在于几乎每一个脊椎动物、包括人类的细胞中。这些化合物是有效的抗炎剂,而不管炎症是何种成因。通过抑制编码细胞因子 IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8 及 IFN-γ 的基因,糖皮质激素特别抑制细胞介导的免疫。

[0189] 文中所使用的术语"糖皮质激素"至少包括可的松、氯化可的松、氯泼尼醇、强的松、强的松龙、甲基强的松龙、地夫可特、氟可龙、去炎松、地塞米松以及倍他米松。优选强的松、强的松龙和/或甲基强的松龙。

[0190] EpCAM 是一种泛上皮分化抗原,在几乎所有癌的(基侧)细胞表面表达。癌表示任何起源于上皮细胞的恶性癌症。癌会侵入周围的组织和器官,可能转移或扩散到淋巴结或其他部位。因此,文中所用的"EpCAM 阳性上皮癌细胞"是指所类型的癌,包括在其细胞表面表达 EpCAM 的单个细胞或其转移细胞。EpCAM 阳性上皮癌(细胞)的例子有胃肠癌(细胞)、肺癌(细胞)、前列腺癌(细胞)及卵巢癌(细胞)。"胃肠"包括如食道、胃(胃部的)、小肠和大肠、膀胱、胆囊、肝脏和胰腺。肺癌的主要类型有小细胞肺癌和非小细胞肺癌。

[0191] 癌细胞会从原发肿瘤中脱离、泄漏或溢出,进入淋巴管和血管随血流循环,在体内其他地方的正常组织中沉积。大多数恶性肿瘤及其他恶性赘生物会转移,尽管程度不同。这些转移的癌细胞有时也称为"转移变体"或"转移瘤"。这些转移的癌细胞特别包括在本发明的范围内。

[0192] 在本发明方法的一个优选实施方案中,所述胃肠癌为胃癌、结肠直肠癌或其转移变体,而所述肺癌是小细胞肺癌、非小细胞肺癌(NSCLC)或其转移变体。

[0193] 肺腺癌、胃-食管交界腺癌、激素难治性前列腺癌、卵巢癌及乳腺癌等也是优选的。

[0194] 在本发明方法的另一个优选实施方案中,所述方法是用于治疗、缓解或消除具有(转移性)EpCAM 阳性上皮癌细胞的患者体内的微小残留疾病(MRD)。"MRD"如其名称所示,是指治疗期间或治疗后,当患者处于缓解期(即患者没有疾病的症状或迹象)时患者体内残

留的少量癌细胞。这是上皮癌和白血病复发的主要原因。

[0195] 在另一个实施方案中，本发明涉及一种方法，其用于：

[0196] （i）给人类患者施用 EpCAMxCD3 双特异性抗体，或

[0197] （ii）治疗人类患者的 EpCAM 阳性上皮癌细胞；或

[0198] （iii）缓解或预防由给人类患者施用 EpCAMxCD3 双特异性抗体而介导的病况；

[0199] 所述方法包括：

[0200] （a）连续施用 EpCAMxCD3 双特异性抗体，使得至少一种肝酶的血清水平升高至 4 级或不到 4 级（优选至 3 级），随后降至 2 级；以及不间断地

[0201] （b）施用所述抗体使得其具有治疗活性。

[0202] 在本发明方法的另一个实施方案中，一个治疗周期（包括第一和第二时间段，及任选的第三时间段）在无治疗的间歇后接着一个或多个重复周期。在本发明方法的一个优选实施方案中，一个治疗周期（包括第一和第二时间段，及任选的第三时间段）是 4 至 8 周的连续输注，在 2 至 6 周的无治疗间歇后，有一个（或多个）重复周期。还可预见到，所述第二治疗周期与第一治疗周期不同（“第一治疗周期”在此是指刚好在“第二治疗周期”之前的治疗周期）；与第一治疗周期相比，所述第二周期的第一时间段和 / 或剂量不同，以及 / 或者第二时间段和 / 或剂量不同。同样可行的是，第三时间段（如果在第一治疗周期中存在）可能也不同或甚至在第二个周期中不存在（或反之亦然，即可能在第二周期中存在而在第一周期中不存在）。还预计到，第二个治疗周期仅由第二时间段组成，即显而易见可预计到第二治疗周期跳过以文中所述第一时间段（包括第三时间段，如果存在）的第一剂量为表征的适应期，而直接从具有治疗活性的剂量开始。所述第二治疗周期的具有治疗活性的剂量与第一治疗周期的第二时间段所采用的剂量要么相同，要么不同（优选超过）。特别优选如图 8 所示或在所附的实施例中举例说明的给药方案。

[0203] 本发明还涉及一种 EpCAMxCD3 双特异性抗体，其用于：

[0204] （i）给人类患者施用 EpCAMxCD3 双特异性抗体，或

[0205] （ii）治疗人类患者的 EpCAM 阳性上皮癌细胞；或

[0206] （iii）缓解或预防由给人类患者施用 EpCAMxCD3 双特异性抗体而介导的病况；

[0207] 其中所述抗体根据本发明方法或给药方案施用。

[0208] 本发明还涉及 EpCAMxCD3 双特异性抗体在制备 / 制造用于前述权利要求中任一项所限定的方法的药物组合物中的用途。本发明的药物组合物可任选地包含药学载体。合适药学载体的实例是本领域所熟知的，包括磷酸盐缓冲盐水溶液、灭菌溶液等。静脉内载体包括流体和营养补充剂、电解质补充剂（如基于林格氏葡萄糖的补充剂）等等。还可以存在防腐剂及其他添加剂，如抗微生物剂、抗氧化剂、螯合剂及惰性气体等。另外，本发明的药物组合物可以包含如本文中别处所述的其它药剂，例如糖皮质激素。

[0209] 本发明的再一方面涉及一种包括本文中所限定的第一剂量和第二剂量的（药物）试剂盒或药物包。由此，所述第一和第二剂量一起包装在一个密封的药物包或试剂盒里。应理解，在此方面，“第一剂量”和“第二剂量”含有给定时间段（为第一或者第二时间段）所使用的相应的单剂数量。比方说，这意味着本发明药物包或试剂盒中所包括的“第一剂量”或“第二剂量”含有比如 7 个的单独日剂量。由此，包装的日剂量数反映了预期的时间段（如果所述的时间段为 X 天则含 X 天的剂量，如果时间段为 Y 天则含 Y 天的剂量，以此类推）。这

些实施方案中，(药物)试剂盒或药物包在单个包装中包括在单独容器里的日剂量。如文中别处所述，所述单独容器可能含有不同剂量，例如在文中所述第一或第二时间段期间剂量逐渐加大的情况下——第一容器中可能含有每天 3μg 的剂量(比如乘以 7)，而另一容器中含有 12μg/ 天(比如乘以 7) ——但是所有这些容器仍组成“第一剂量”的一部分。

[0210] 或者，还预见到，预期的第一剂量和 / 或第二剂量没有按各自的日剂量数分开，而是全部或部分地被包含在单个容器中(比如在一个输注包中)，其中包含第一时间段和 / 或第二时间段所需的部分(如 1 至 3 天)或全部(即第一或第二时间段)的剂量。这意味着，单个容器包含比方说“第一剂量”的 7 个日剂量，可在第一时间段等期间使用。

[0211] 应理解，本发明的(药物)试剂盒或药物包还可以几乎包括各时间段所需的日剂量(不论是否分开)。或者，(药物)试剂盒或药物包被制备成使得其包括本文中所限定的第一和第二时间段所需的日剂量数(不论是否分开)，即“第一剂量”和“第二剂量”在单个包装里。这样的一个包装在理想状态下应足够患者的一个完整治疗(包括第一和第二时间段)使用。本发明的试剂盒及包的部分可单独包装到小瓶或瓶子里，或者组合包装到容器或多容器装置中。试剂盒的生产遵循优选的标准流程，这是本领域技术技术人员已知的。

[0212] 此外，本发明涉及包括以上文所述的第一剂量和第二剂量为活性成分以及其依照本发明方法顺序使用的书面说明的药物包或试剂盒。所述的药物包或试剂盒还可以包括标签或印迹，用于指示内含物可用于治疗人类患者的 EpCAM 阳性上皮癌细胞 ；或用于缓解或预防由给人类患者施用 EpCAMxCD3 双特异性抗体而介导的病况。

[0213] 还预见到，本发明的药物包或试剂盒进一步包括用于给患者施用第一剂量和 / 或第二剂量的工具，和 / 或通常用于治疗药剂输注的缓冲液、小瓶、特氟龙袋或输注袋。由此，“工具”包括一种或多种选自注射器、皮下注射针头、套管、导管、用于静脉内给药的输注袋、静脉内注射工具、小瓶、缓冲液、稳定剂、有助于技术人员准备本发明的相应剂量和输注液的书面说明等的物件。

[0214] 还预见到，本发明的药物包或试剂盒进一步包括糖皮质激素。

[0215] 本发明的再一方面提供了一种药物包或试剂盒，其中所述第一剂量和 / 或第二剂量的这种设置使得其适用于根据上文权利要求中任一项方法的给药或给药方案。“这种设置”包括日剂量各自分别包装后再包装在一起，和 / 或第一剂量和 / 或第二剂量包装成一个整体，或其组合。

[0216] 本发明还涉及下列项目 ：

[0217] 1. 一种用于给人类患者施用 EpCAMxCD3 双特异性抗体的方法(给药方案)，所述方法包括 ：

[0218] (a) 在第一时间段连续施用第一剂量的所述抗体 ；以及不间断地

[0219] (b) 在第二时间段连续施用第二剂量的所述抗体 ；

[0220] 其中所述第二剂量高于所述第一剂量。

[0221] 2. 一种用于治疗人类患者的 EpCAM 阳性上皮癌细胞的方法，所述方法包括 ：

[0222] (a) 在第一时间段连续施用第一剂量的 EpCAMxCD3 双特异性抗体 ；以及不间断地

[0223] (b) 在第二时间段连续施用第二剂量的所述抗体 ；

[0224] 其中所述第二剂量高于所述第一剂量。

[0225] 3. 一种用于缓解或预防由给人类患者(治疗性地)连续施用 EpCAMxCD3 双特异性

抗体而介导的病况，优选不良反应，所述方法包括 ：

[0226] （a）在第一时间段连续施用第一剂量的所述抗体 ；以及不间断地

[0227] （b）在第二时间段连续施用第二剂量的所述抗体 ；

[0228] 其中所述第二剂量高于所述第一剂量。

[0229] 4. 项目 1、2 或 3 所述的方法，其中所述人类患者具有或被假设具有 EpCAM 阳性上皮癌细胞。

[0230] 5. 上述项目中任一项所述的方法，其中步骤（a）的给药途径和 / 或步骤（b）的给药途径是静脉内给药。

[0231] 6. 项目 3 所述的方法，其中所述病况，优选所述不良反应的特征在于至少一种肝酶的血清水平的升高。

[0232] 7. 上述项目中任一项所述的方法，其中所述第二时间段超过所述第一时间段。

[0233] 8. 上述项目中任一项所述的方法，其中所述第一时间段为至少 1、2、3、4、5、6、7 天（或更长），优选为 7 天。

[0234] 9. 上述项目中任一项所述的方法，其中所述第一时间段的特征在于至少一种肝酶的血清水平升高至 3 级或 4 级。

[0235] 10. 项目 9 所述的方法，其中所述第一时间段持续到所述肝酶的升高的血清水平降至 2 级。

[0236] 11. 上述项目中任一项所述的方法，其中第一时间段为 4 天，条件是所述至少一种肝酶的血清水平为 2 级或低于 2 级。

[0237] 12. 项目 6 至 11 中任一项所述的方法，其中所述至少一种肝酶为 AST 和 / 或 ALT，还任选为 GGT 和 / 或 AP。

[0238] 13. 上述项目中任一项所述的方法，其中所述第二时间段至少持续到所述患者的 CD8+ T 细胞被激活。

[0239] 14. 项目 13 所述的方法，其中所述激活的特征在于至少 20% 所述 CD8+ T 细胞为 CD25 和 / 或 CD69 阳性表型。

[0240] 15. 上述项目中任一项所述的方法，其中所述第二时间段为至少 2、3、4、5 或 6 周，优选为 3 周。

[0241] 16. 上述项目中任一项所述的方法，其中所述第二时间段为至少 19 天。

[0242] 17. 上述项目中任一项所述的方法，其中所述第一时间段为 1 至 10 天，第二时间段为至少 19 天。

[0243] 18. 项目 17 所述的方法，其中所述第一时间段为 7 至 9 天，第二时间段为 19 至 21 天。

[0244] 19. 项目 18 所述的方法，其中所述第一时间段为 7 天，第二时间段为 21 天。

[0245] 20. 上述项目中任一项所述的方法，其中所述第二剂量具有治疗活性。

[0246] 21. 项目 20 所述的方法，其中所述第二剂量的所述治疗活性的特征在于激活的 CD8+ T 细胞。

[0247] 22. 项目 21 所述的方法，其中所述激活的特征在于至少 20% 所述 CD8+ T 细胞为 CD25 和 / 或 CD69 阳性表型（与第二时间段之前的 CD25 和 / 或 CD69 阳性表型相关）。

[0248] 23. 上述项目中任一项所述的方法，其中所述第一剂量使得至少一种肝酶的血清

水平升高至 3 级或 4 级的血清水平，并且在第一时间段内又下降至 2 级血清水平。

[0249] 24. 项目 23 所述的方法，其中所述至少一种肝酶为 AST 和 / 或 ALT，还任选为 GGT 和 / 或 AP。

[0250] 25. 上述项目中任一项所述的方法，其中所述第一剂量为 1μg/d 至 6μg/d，优选为 1μg/d 至 3μg/d。

[0251] 26. 上述项目中任一项所述的方法，其中所述第二剂量为 10μg/d 至 120μg/d（或更多，如果在治疗相关方面必须）。

[0252] 27. 上述项目中任一项所述的方法，其中所述第一剂量为 1μg/d 至 3μg/d，第二剂量为 20μg/d 至 90μg/d。

[0253] 28. 上述项目中任一项所述的方法，其中所述双特异性抗体为单链抗体。

[0254] 29. 上述项目中任一项所述的方法，其中所述抗体为 MT110。

[0255] 30. 上述项目中任一项所述的方法，其特征还在于(同时）施用糖皮质激素。

[0256] 31. 项目 30 所述的方法，其中所述糖皮质激素为强的松、强的松龙和 / 或甲基强的松龙。

[0257] 32. 项目 1 或 4 所述的方法，其中所述 EpCAM 阳性上皮癌细胞为胃肠癌和或肺癌细胞。

[0258] 33. 项目 32 所述的方法，其中所述胃肠癌为胃癌、结肠直肠癌或其转移性变体，所述肺癌为小细胞肺癌、非小细胞肺癌或其转移性变体。

附图说明

[0259] 附图显示：

[0260] 图 1 依照实施例 1，EpCAMxCD3 双特异性单链抗体的 T 细胞激活能力。

[0261] 图 2 依照实施例 2 的给药方案示例。

[0262] 图 3MT110 的生成及作用方式。

[0263] 图 4 采用维持剂量为 10 或 12μg/ 天的 MT110 治疗的患者在 A、B 或 C 计划中的 MT110 血浆水平比较图。

[0264] 图 5A 开始 MT110 输注后及第 7 天增加剂量后，在患者 114-012(群组 B2 :3 → 12μg/天）中观测到的淋巴细胞的重新分布。

[0265] 图 5B 开始 MT110 输注后及第 7 天增加剂量后，在患者 114-012(群组 B2 :3 → 12μg/天）中观测到的 T 细胞激活。

[0266] 图 6A 切除的肺部病变。大量的 CD3 阳性淋巴细胞(红色箭头)、坏死组织(绿色箭头)、肿瘤细胞(橙色箭头)。

[0267] 图 6B 切除的肺部病变。CD8 阳性淋巴细胞浸润(红色箭头)。

[0268] 图 7 转氨酶达到峰值时的肝脏实质。

[0269] 图 8 本发明的具体给药方案。

具体实施方案

[0270] 以下实施例例证了本发明。这些实施例不可解释为限制本发明的范围。包括所述实施例仅为了进行例证，且本发明仅受权利要求的限制。

[0271] 实施例 1

[0272] EpCAMxCD3 双特异性单链抗体介导 T 细胞对 EpCAM 阳性靶细胞的特异细胞毒性，由此介导可通过细胞因子释放及 T 细胞表面标记物上调的测量的 T 细胞激活。此过程是绝对的剂量依赖型以及完全依赖于 EpCAM 阳性靶细胞的存在。EpCAMxCD3 双特异性单链抗体 MT110 对人 T 细胞准确的生物学效应在体外分析如下 :

[0273] 来自随机健康捐赠者的人 PBMC 与所指示浓度的 EpCAMxCD3 双特异性单链抗体，在不存在或存在 0.2%、2% 或 10% 自然表达 EpCAM 的 Kato III 细胞的情况下一起培养。在 37℃加湿培养箱中培养 40 小时后，用抗 CD4、CD8 及 CD25 的荧光标记抗体进行细胞染色，以便通过流式细胞仪识别效应细胞（CD4 或 CD8 阳性）及其状态（从头表达 CD25）。$CD25^+$ T 细胞的百分比用 Prism 软件（Graph Pad Software Inc.， 4.02 版）依据 BiTE 浓度对数绘图。所得的剂量响应曲线用整合四元参数非线性适用模型分析，并计算最大半致死浓度（EC_{50}）作为特殊生物活性的指征。含有 100 ng/ml EpCAMxCD3 双特异性单链抗体的样品上清液中的细胞因子含量，用人 Th1/Th2 细胞微球阵列（CBA）试剂盒（BD Bioscience）根据厂商的使用说明进行分析。

[0274] EpCAMxCD3 双特异性单链抗体的 T 细胞激活能力如图 1 所示。人 PBMC 中加入 10% $EpCAM^+$ 细胞使得约 95% 的 $CD8^+$ T 细胞以及约 85% 的 $CD4^+$ T 细胞在 40 小时内以抗体剂量依赖性的方式被激活。加入 2% $EpCAM^+$ 细胞导致约 50% $CD8^+$ T 细胞以及约 25% $CD4^+$ T 细胞的半激活，但仅加入 0.2% $EpCAM^+$ 细胞则在测试的任何 BiTE 浓度下难以诱导效应细胞上表达 CD25。EC50 值随存在的靶细胞数量的减少而增加，在 10、2 及 0.2% Kato III 细胞存在的情况下，$CD8^+$ T 淋巴细胞的 EC50 值分别为 0.26 ng/ml、0.99 ng/ml 和 5.98 ng/ml，$CD4^+$ T 淋巴细胞的 EC50 值分别为 0.8 ng/ml、2.35 ng/ml 和 3.50 ng/ml。BiTE 介导 CD25 的上调，伴随着 IFN-γ、TNF-α 及 IL-10 从人 PBMC 中释放，其强度与存在的 EpCAM 阳性靶细胞百分数密切相关。无 $EpCAM^+$ 靶细胞时，在评估的任何 BiTE 浓度下都检测不到细胞因子的释放或者 $CD8^+$ 或 $CD4^+$ T 细胞中 CD25 的上调。这可指征 EpCAMxCD3 双特异性单链抗体在富含 EpCAM 的肿瘤环境中具有高效能，且在含有 T 细胞无法直接接触的 EpCAM 的组织中同时具有高耐受性。

[0275] 实施例 2

[0276] EpCAM/CD3 双特异性 BiTE 抗体 MT110 在转移性结肠直肠癌、胃癌或肺癌患者体内的安全性及药理学

[0277] 1.1 研究设计

[0278] 第一目的 :评估安全性和耐受性

[0279] 第二目的 :评估 MT110 药代动力学（PK）、药效学（PD）及抗肿瘤活性

[0280] 患者 :已知广泛表达 EpCAM 的局部晚期的、复发的或转移性实体肿瘤

[0281] - 肺腺癌

[0282] - 小细胞肺癌

[0283] - 胃癌

[0284] - 结肠直肠癌

[0285] 其他重要合格标准 :

[0286] 用尽或不可采用标准治疗方法

[0287] 至少一个疗程的在先化疗

[0288] ECOG 性能状态≤ 2

[0289] 能够理解患者信息及知情同意书表格

[0290] CT 或 MRI 扫描基线上没有 CNS 转移迹象,或没有其他 CNS 病史

[0291] 嗜中性粒细胞计数＜ 1,500/mm³ (= 1.5 x 109/1)

[0292] 血小板计数＜ 100,000/mm³ (= 100 x 109/1)

[0293] WBC＜ 3 x109/1 ;血红蛋白＜ 9.0 g/dl

[0294] 无肾脏或肝脏功能异常

[0295] 无 02 饱和度＜ 92%(在室内空气条件下)

[0296] 无同时进行的抗肿瘤疗法,缓和放射疗法除外

[0297] 不存在人抗鼠抗体(HAMA)

[0298] 1.2 MT110 疗法及剂量增加

[0299] MT110 :重复 1-18 天连续静脉内输注周期,直到疾病继续发展,2 至 4 周的治疗间歇。

[0300] 剂量组 :每天 1/ 3/ 6/ 10/ 12 / 24μg (现在仍在进行)MT110,计划的 B/C 组中有其他剂量增加(参见图 2)。

[0301] 依赖于 DLT 出现的 3+3 设计,在各组各患者结束第一周期后决定剂量的增加。

[0302] 按时间表 A、B 或 C 进行治疗。

[0303] DLT 标准 :任何与 AE 相关的 3 级或 4 级持续的时间比预先定义的长,尽管采用了足够的患者管理手段。

[0304] 伴随的药物 :在 MT110 输注或剂量增加之前,皮质类固醇、抗组胺剂、抗酸剂

[0305] 其他允许的辅助药物

[0306] 1.3 评价

[0307] 安全性 : 安全参数(根据 CTCAE 3.0 版报告不良反应(AE))、实验室参数的连续评价,在第 1 和 2 周的第 1 和 2 天至少每天两次,第 3 和 5 天每天一次 ;且之后每周两次。

[0308] 抗肿瘤活性 : 每个治疗周期后的评价(在可检测损伤的情况下根据 RECIST 1.0 版)。

[0309] PK/PD: 在预定的时间点收集用于 PK、细胞因子、淋巴细胞亚群、循环肿瘤细胞和免疫原性分析的样品

[0310] 在石蜡包埋的肿瘤组织中分析 EpCAM 表达

[0311] 2. 结果

[0312] 2.1 患者和 MT110 治疗

[0313] 此处显示的数据自 2009 年 9 月 10 日起,研究正在进行。

[0314] • 22 名患者已经开始了 MT110 治疗,期中分析包括 :

[0315] - 20 名患者的人口数据

[0316] - 20 名患者的安全性和药效学数据

[0317] 表 1. 每剂量群组的患者的人口数据

[0318]

特征	MT110 剂量群组						总计
	A1: 1 μg/d	A2: 3 μg/d	A3: 10 μg/d	B1: 3/6 μg/d	B2: 3/12 μg/d	C1: 3 次间断/12 μg/d	
	N=6	N=3	N=2	N=4	N=4	N=1	N=20
平均年龄（岁，范围）	64	56	54	62	65	75	63 (44-85)
男性 (n; %)	4	2	1	4	3	0	12 (67.0%)
诊断							
CRC (n; %)	5	2	1	2	3	1	14 (70.0%)
胃癌 (n; %)	1	1	0	1	0	0	3 (15.0%)
NSCLC (n; %)	0	0	1	0	1	0	2 (10.0%)
SCLC (n; %)	0	0	0	1	0	0	1 (5.0%)
之前化疗的线数情况 (n; %)							
≥3	5	2	1	2	3	1	14 (70.0%)
<3	1	1	1	2	1	0	6 (30.0%)
之前放疗 (n; %)	1	2	0	2	1	0	6 (30.0%)
之前手术 (n; %)	6	2	1	4	4	1	18 (90.0%)
肝转移 (n; %)	3	2	0	3	4	1	13 (65.0%)
ECOG 0 /1 /2	1/5/0	2/0/1	1/1/0	2/2/0	1/3/0	0/0/1	7/11/2
基线处异常的肝功能参数	3	3	1	2	3	1	13 (65.0%)

[0319] 2.2 安全性和耐受力

[0320] 不良反应概述

[0321] • 在 20 名患者中，17 名患者能够完成至少一个为期 4 周的 MT110 静脉内输注。

[0322] • 大多数观察到的临床不良反应与列在下面的疾病相关。

[0323] • 与 MT110 相关的非血液学临床不良反应由少数患者的轻度发热和疲劳组成，发热与首次输注反应无关。

[0324] • 与 MT110 相关的实验室变化主要发生在输注的第一周或增加剂量后，其持续时间短而且在大多数情况下在输注过程中消退。肝功能参数的变化也是暂时的且无症状的；不伴随病理学的影像结果、显著的组织损伤或者肝合成参数的损害。

[0325] 表 2. 不考虑关联性时在≥ 3 名患者中出现 AE 的概率

[0326]

	总计, N=20			
	1/2 级		3/4 级	
临床不良反应	患者	(%)	患者	(%)
腹痛	5	(25.0%)	0	(0.0%)
发热	8	(40.0%)	1	(5.0%)
呕吐	6	(30.0%)	0	(0.0%)
鼻咽炎	5	(25.0%)	0	(0.0%)
咳嗽	4	(20.0%)	0	(0.0%)
腹泻	4	(20.0%)	0	(0.0%)
外周水肿	4	(20.0%)	0	(0.0%)
疲劳	3	(15.0%)	0	(0.0%)
实验室变化				
淋巴细胞数量减少/淋巴细胞减少症	2	(10.0%)	14	(70.0%)
血红蛋白减少	2	(10%)	1	(5%)
γ-谷氨酰转移酶增多	3	(15.0%)	13	(65.0%)
转氨酶增多	2	(10.0%)	9	(50.0%)
血糖升高/高血糖症	10	(50.0%)	7	(35.0%)
血淀粉酶增多	2	(10.0%)	3	(15.0%)
脂肪酶增多	1	(5.0%)	5	(25.0%)
C-反应蛋白增多	4	(20.0%)	0	(0.0%)
血碱性磷酸酶增多	2	(10.0%)	1	(5.0%)
血胆红素增多	4	(20.0%)	0	(0.0%)
低血钙症	3	(15%)	0	(0.0%)
血乳酸脱氢酶增多	3	(15.0%)	1	(5.0%)

[0327]　表 3. 在 >1 名患者中出现与 MT110 相关的不良反应的概率

[0328]

	A1 (n=6)		A2 (n=3)		A3 (n=2)		B1 (n=4)		B2 (n=4)	
临床不良反应	G1/2	G3/4	G1/2	G3/4	G1/2	G3/4	G1/2	G3/4	G1/2	G3/4
发热	2	0	1	0	0	0	1	0	0	0
疲劳	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
实验室变化*										
淋巴细胞减少症/淋巴细胞数量减少	1	4	0	3	0	2	0	4	1	0
γ-谷氨酰转移酶增多	2	3	0	2	0	2	1	2	0	3
转氨酶增多	2	2	0	2	0	2	0	3	0	1
血淀粉酶增多	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1
脂肪酶增多	1	0	0	1	0	1	0	1	0	1
血碱性磷酸酶增多	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0
血胆红素增多	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0
血乳酸脱氢酶增多	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0
低血钙症	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0

[0329]　表 4. 报告的剂量限制性毒性

[0330]

患者	MT110 剂量	肿瘤	事件	行为	结果
114-002 (A1)	1 μg/d	胃癌	AST+ALT 升至 4 级	施用糖皮质激素	消退
114-007 (A3)	10 μg/d	NSCLC	ALT 保持 3 级达>72 hrs	MT110 输注中断	消退

[0331]　2.3 药代动力学情况

[0332]　PK 参数的概述

[0333]　• 确定 MT110 的血清半衰期为 3.5-6.8 小时。

[0334]　• 经过针对剂量和体重的归一化后，至今测试的剂量水平可呈现剂量线性。

[0335]　2.4 药效学标记物

[0336]　• 没有患者显示出显著的全身性细胞因子释放，在不同的时间点可检测到的 IL-6 水平低，在一些患者中见到单一的可检测水平的 IFNγ 和 IL-10。

[0337]　• 在 MT110 输注开始后以及剂量增加后在所有患者中都观察到淋巴细胞的再分布（图 5a）。

[0338]　•第一周期后，在临床上受益的患者中观察到 T 细胞激活的最初迹象（图 5b）。

[0339]　• 通过 CellSearch 方法对循环肿瘤细胞的首次分析揭示了每 7.5ml 来自 CRC 患者的样品有多达 6 个细胞。

[0340]　2.5 患者结果

[0341]　<u>根据 RECIST 标准的肿瘤评价</u>

[0342]　• 在周期中值为 91 天（范围为 29+ 至 150 天）的第一周期后，在 18 名可评价的患者中观察到 7 名的疾病稳定。

[0343]　<u>病例报告：生物学抗肿瘤活性的证据</u>

[0344]　• 在加入研究时 CRC 的肺中呈现转移性损伤的患者（女性，85 岁）

[0345]　• 用 1μg/d MT110 治疗 28 天

[0346]　• MT110 开始后 80 天，患者进行肺损伤的手术切除，病理学显示：

[0347]　- 在该损伤中有 >70% 的坏死组织（图 6A）

[0348]　- 在肿瘤组织中和周围有大量包括 CD8 阳性细胞的浸润 T 细胞（图 6B）

[0349]　3.　总结

[0350]　在五个剂量群组中 20 名合格的患者接受治疗并且至今接受总计 25 个 MT110 周期：

[0351]　• MT110 静脉内输注 28 天在临床上被很好地耐受：

[0352]　- 在少数患者中出现轻微发热和疲劳并且与研究用药有关。

[0353]　- 没有观察到相关的全身细胞因子释放。

[0354]　- 除了最初暂时的淋巴细胞减少症，肝酶暂时无症状地升高至 3/4 级，这是最频繁的实验室异常。

[0355]　• 生物学活性的最初迹象

[0356]　- 输注开始后，MT110 很快引起淋巴细胞的快速再分布。4 周后，在临床上受益的

患者中见到 T 细胞扩增 / 激活的迹象。

[0357] - 根据 RECIST 在持续中值为 91 天的 18 名患者中的 7 名中证实了疾病稳定。

[0358] - 在一名患者中，开始 MT110 治疗后 11 周，肺转移被切除。免疫组织化学揭示肿瘤细胞坏死和大量 T 细胞侵润，可作为 MT110 活性的证据

[0359] • 没有患者产生抗 MT110 的抗体。

[0360] 4. 结论

[0361] • 可以安全地给患有表达 EpCAM 的晚期实体瘤的患者静脉内施用 MT110。

[0362] • 在临床良好耐受剂量下已经观察到生物学活性的最初迹象。

[0363] • 目前正在对增加剂量时 BiTE 抗体 MT110 的评价。

[0364] 实施例 3

[0365] 在 MT110-101 的研究中，采用 MT110 治疗的第一患者群组的肝功能参数变化的比较

[0366] 在下面的表中，基于 MT110 剂量、治疗方案和糖皮质激素治疗分析了各个患者组的肝功能参数升高，所述肝功能参数由血液水平峰值的平均幅值（表 1）和平均血液水平值进行表征。转氨酶 AST 和 ALT 是主要受 MT110 输注影响的肝功能参数。

[0367] 各个肝功能参数的血液水平峰值的幅值是通过如下方式计算的：从对于该组中的每名患者的各个剂量下进行第一周 MT110 输注时测定的水平峰值减去在筛选评价时测定的基线值。获得的组中每名患者的幅值被用于计算各组的平均值。

[0368] 平均血液值的幅值是通过从平均水平减去在筛选评价时测定的基线值来计算的，所述平均水平是由对于该组中的每名患者的各个剂量下进行第一周 MT110 输注的所有测量值计算的。获得的组中每名患者的幅值被用于计算各组的平均值。

[0369] 不同组的对比可以总结如下：

[0370] - 另外伴随的糖皮质激素治疗可以减少以 1μg/d MT110 治疗的患者的肝功能参数的升高（主要是 AST 和 ALT）（组 II 与组 I 对比）

[0371] - 随着 MT110 剂量增加，肝功能参数的血液水平的峰值和平均值表现为数值增加，不管是否伴随糖皮质激素治疗（组 V 和组 III 与组 II 对比）。

[0372] 结论：伴随的糖皮质激素治疗不能避免肝功能参数的升高。

[0373] - 糖皮质激素剂量的进一步增加也不能避免伴随剂量增加的肝功能参数的升高（组 IV 与组 III 对比）。

[0374] - 在第一周开始低剂量 MT110 治疗并且在第二周开始更高剂量，使得在第二周肝酶仅稍微增加（组 VII 与组 V 对比）。

[0375] 结论：就第一周输注的低 MT110 起始剂量而言，进一步的增加剂量是可能的。

[0376] 表 1：给定剂量下的第一治疗周的峰值和筛选值之间幅值的无标准偏差平均值

[0377]

MT110 剂量群组	第一周高于筛选值的 AST (U/l)峰值	第一周高于筛选值的 ALT (U/l)峰值	第一周高于筛选值的 GGT (U/l)峰值	第一周高于筛选值的 AP (U/l)峰值	第一周高于筛选值的 Bili (mg/dl)峰值
I: 1μg+ 1x100mg 糖皮质激素 d0	438.0	436.7	276.3	252.3	0.6
II: 1μg+ 2-3x100mg 糖皮质激素 d0-2	7.8	24.3	79.3	30.3	0.2
III: 3μg+ 2-3x100mg 糖皮质激素 d0-2	161.4	152.1	209.4	36.3	0.3
IV: 3μg+ 1g+2x500mg 糖皮质激素 d0-2	212.0	272.8	152.8	12.3	0.1
V: 10μg+ 2-3x100mg 糖皮质激素 d0-2	540	510	627.5	136.5	0.6
IV: 6μg+ 1g+2x500mg 糖皮质激素 d0-2，1 周低剂量(3μg)后	69.0	175.3	234.0	21.3	0.4
VII: 12μg+ 2-3x100mg 糖皮质激素 d0-2，1 周低剂量(3μg)后	94.7	155.7	378.7	60.0	0.7

[0378]　表 2 :给定剂量下第一治疗周的峰值和筛选值之间的幅值的无标准偏差平均值

[0379]　Wk :周

[0380]　W1 :第一周

[0381]　Scr :筛选评价

[0382]　Cort :糖皮质激素

[0383]　实施例 4

[0384]

	A1: 1μg/d	A2: 3μg/d	A3: 10μg/d	B1: 3/ 6μg/d	B2: 3/ 12μg/d	B3: 3/ 24μg/d	C1: 3/间断/ 12μg/d	C2: 3/间断 / 24μg/d	D1: 周期 1= 3/ 12 周期 2= 24μg/d	

[0385]

	N=6	N=3	N=2*	N=4+	N=4+	N=2++	N=4+	N=3	N=1++	N=29
年龄中值（年龄，范围）	64	56	54	62	65	55	64	69	58	64 (37-85)
男性 (n, %)	4	2	1	4	3	1	2	3	0	20 (69%)
ECOG 0 / 1 / 2	1/5/0	2/0/1	1/1/0	2/2/0	1/3/0	0/1/1	0/2/2	2/1/0	0/1/0	9/16/4
诊断										
CRC (n, %)	5	2	1	2	3	1	3	3	1	21 (72%)
胃癌 (n, %)	1	1	0	1	0	1	1	0	0	5 (17%)
NSCLC (n, %)	0	0	1	0	1	0	0	0	0	2 (7%)
SCLC (n, %)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1 (3%)
之前化疗的线数 (n, %)										

[0386]

≥3	5	2	1	2	3	2	2	1	0	18 (62%)
<3	1	1	1	2	1	0	2	2	1	11 (38%)
之前放疗 (n, %)	1	2	0	2	1	1	1	2	1	11 (38%)
之前手术 (n, %)	6	2	1	4	4	2	3	3	1	26 (90%)
肝转移 (n, %)	3	2	0	3	4	1	4	2	1	20 (69%)
基线处的异常肝功能参数	3	3	1	2	4	1	3	1	1	19 (66%)

[0387] ＊监察委员会决定开放 B1 群组而不是完成 A3 中的招募。

[0388] ++ 正在进行的群组

[0389] + 被替代的群组中的一名患

[0390]

	A1 (n=6)	A2 (n=3)	A3 (n=2)	B1 (n=4)	B2 (n=4)	B3* (n=2)	C1 (n=4)	C2 (n=3)
剂量限制性毒	1		1			1		2

[0391]

性																
临床不良反应	G1/2	G3/4	G1/2	G3/4	G1/2	G3/4	G1/2	G3/4	G1/2	G3/4	G1/2	G3/4	G1/2	G3/4	G1/2	G3/4
发热	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	3	0	2	0
恶心	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	2	0
呕吐	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0
腹泻	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1Δ
皮疹	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
实验室变化																
淋巴细胞数量减少/淋巴细胞减少症	1	4	0	3	0	2	0	4	1	1	0	1	0	4	0	3
γ-谷氨酰转移酶增加	2	3	0	2	0	2	1	2	0	3	0	2	0	4	0	3
转氨酶增加	2	2Δ	0	2	0	2Δ	0	3	0	1	0	2Δ	1	3	1	2

[0392]

脂肪酶增加	1	1	0	1	0	1	1	1	0	1	0	1	0	2	2	1
血胆红素增加	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	2	0	2	1Δ
血淀粉酶增加	0	1	1	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	1
血碱性磷酸酶增加	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1
血乳酸脱氢酶增加	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1
谷氨酸脱氢酶增加	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	2
血糖升高/高血糖症	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0
低白蛋白血症	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1
纤维蛋	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0

[0393]

白D二聚体增加																	

[0394] Δ 包括一名具有剂量限制性毒性的患者

[0395] 实施例 5

[0396]

用于缓解正在进行的 MT110-101 研究中的肝功能参数升高的不同方法的结果							
群组 **MT110 剂量** 预防	**AST (U/l) vs BL**	+/-	**ALT (U/l) vs BL**	+/-	**Bili vs BL**	+/-	评论
I: 应用相同 MT110 剂量/糖皮质激素方案的所有患者 目标剂量 **1 μg** **1x 100mg d0** 糖皮质激素	**438**	*385*	**437**	*396*	**0,7**	*0,6*	在治疗开始单独施用糖皮质激素导致肝功能参数的中度升高
II: 应用相同 MT110 剂量/糖皮质激素方案的所有患者 目标剂量 **1 μg** **2-3x 100mg d0-2** 糖皮质激素	**8**	*5*	**24**	*16*	**0,3**	*0,2*	在 0-2 天糖皮质激素剂量升至 2-3x 100mg 可以缓解肝功能参数的升高
III: 应用相同 MT110 剂量/糖皮质激素方案的所有患者 目标剂量 **10 μg** 2-3x 100mg d0-2 糖皮质激素	**540**	*220*	**510**	*41*	**0,7**	*0,0*	MT110 剂量增加导致肝功能参数升高较多，这不能通过在 0-2 天剂量为 2-3x 100mg 的糖皮质激素得到充分缓解

[0397]

IV: 应用相同MT110起始剂量/糖皮质激素方案的所有患者 **起始剂量3μg** **2-3x 100mg d0-2 糖皮质激素**	**144**	*137*	**154**	*128*	**1,1**	*1,2*	3 μg/d的低MT起始剂量与所述的糖皮质激素方案结合导致肝功能参数仅轻微升高并且允许进一步的剂量升高步骤。
V: 应用相同MT110起始剂量/糖皮质激素方案的所有患者 **起始剂量3μg** **1g+2x500mg d0-2 糖皮质激素**	**212**	*175*	**273**	*221*	**0,1**	*0,1*	与II中所述的糖皮质激素剂量相比，进一步增加糖皮质激素剂量不能更好地缓解肝功能参数的升高
VI: 应用相同MT110起始剂量/糖皮质激素方案以及步骤2中为6μg的所有患者 **步骤2:6 μg** **1g+2x 500mg d0-2 糖皮质激素**	**69**	*71*	**175**	*138*	**0,4**	*0,3*	如IV中所述的低剂量预处理允许进一步提高剂量，仅导致肝功能参数的轻微升高
VII:应用起始剂量3μg以及步骤2中为12μg的所有患者 **步骤2:12 μg** 2-3x 100mg d0-2 **糖皮质激素**	**60**	*51*	**102**	*78*	**0,5**	*0,3*	

[0398]

VIII:应用起始剂量 3 μg 以及步骤 2 中为 12 μg 且之间中断 1 周的所有患者 **步骤 2: 12 μg** 2-3x 100mg d0-2 糖皮质激素	**160**	*116*	**192**	*96*	**1,5**	*0,7*	低剂量开始后和 MT110 剂量升高之前增加处理的中断也导致肝功能参数的轻微升高
IX:应用起始剂量 3 μg 以及步骤 2 中为 24 μg 的所有患者 **步骤 2: 24 μg** 2-3x 100mg d0-2 糖皮质激素	**305**	*181*	**475**	*216*	**2,9**	*1,7*	就较高的 MT110 剂量而言，再次看到肝功能参数升高对 MT110 剂量的剂量依赖性
X:应用起始剂量 3 μg 以及步骤 2 中为 24 μg 且之间中断 1 周的所有患者 **步骤 2: 24 μg** 2-3x 100mg d0-2 糖皮质激素	**630**	*328*	**683**	*39*	**3,8**	*0,8*	一周的中断不足以充分缓解较高 MT110 剂量下肝功能参数的升高
XI: 应用第 1 周期的起始剂量 3 μg + 步骤 2 中为 12 μg 的所有患者；增加步骤 3=第 2 周期的起始 **步骤 3 = 周期 2: 24 μg** 2-3x 100mg d0-2 糖皮质激素	**366**	*347*	**308**	*280*	**1,9**	*2,1*	逐步升高剂量仅导致肝功能参数的中度升高；必须确定中断周期的最佳长度和剂量大小的步骤

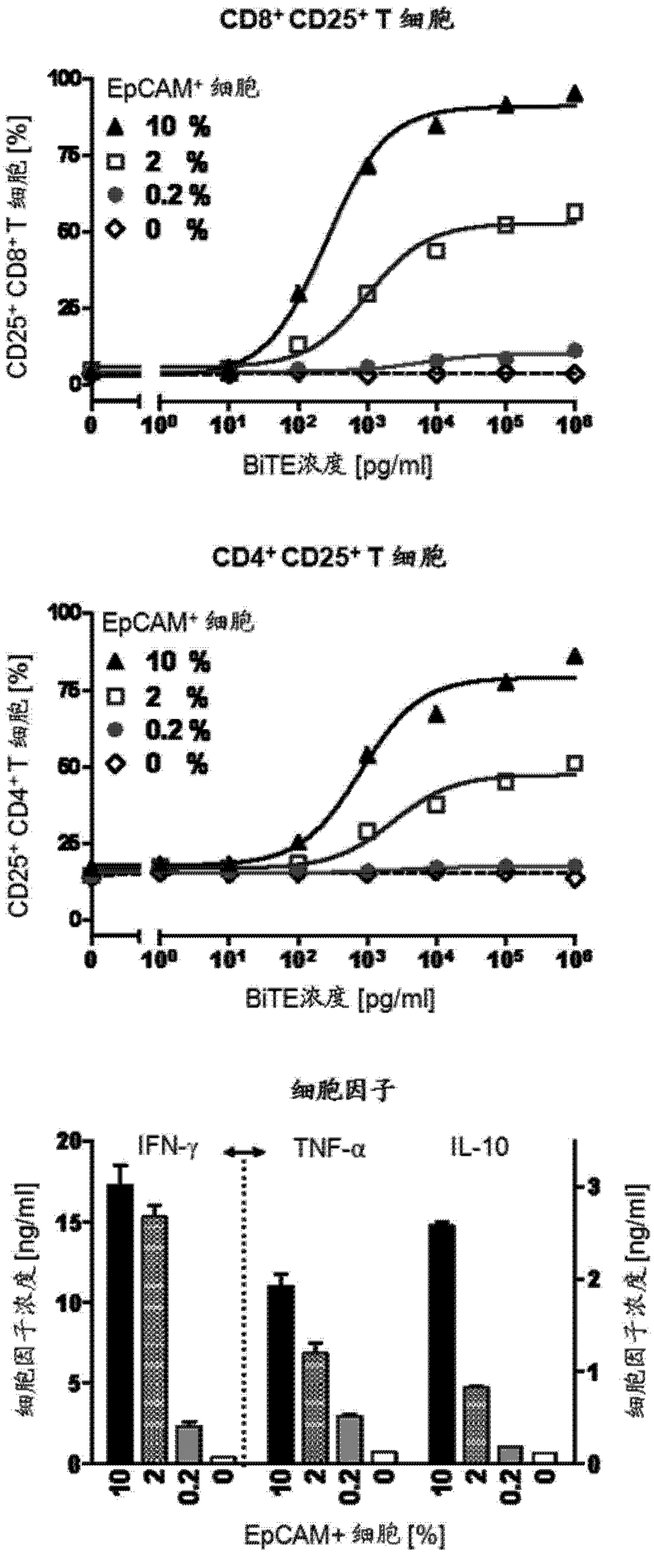
CD8⁺ CD25⁺ T 细胞
EpCAM⁺ 细胞
10 %
2 %
0.2 %
0 %
CD25⁺ CD8⁺ T 细胞 [%]
BiTE浓度 [pg/ml]
CD4⁺ CD25⁺ T 细胞
EpCAM⁺ 细胞
10 %
2 %
0.2 %
0 %
CD25⁺ CD4⁺ T 细胞 [%]
BiTE浓度 [pg/ml]
细胞因子
IFN-γ
TNF-α
IL-10
细胞因子浓度 [ng/ml]
细胞因子浓度 [ng/ml]
EpCAM+ 细胞 [%]

图 1

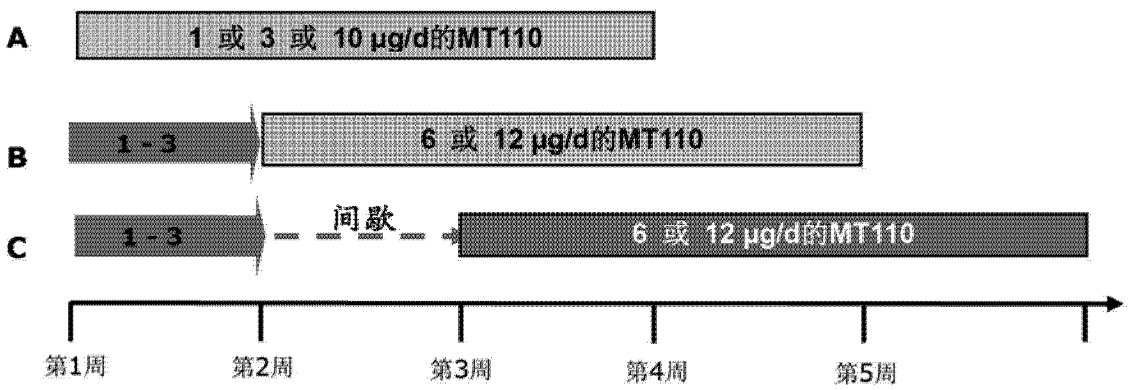

图 2

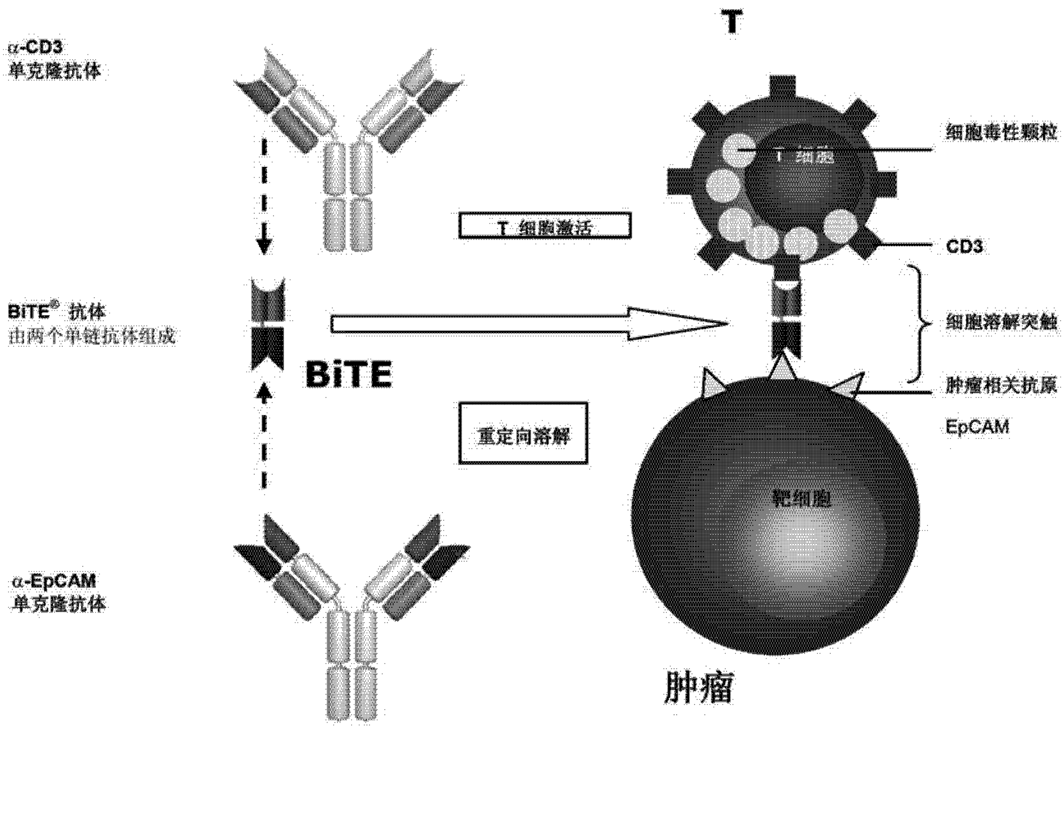

图 3 :MT110 的生成及作用方式

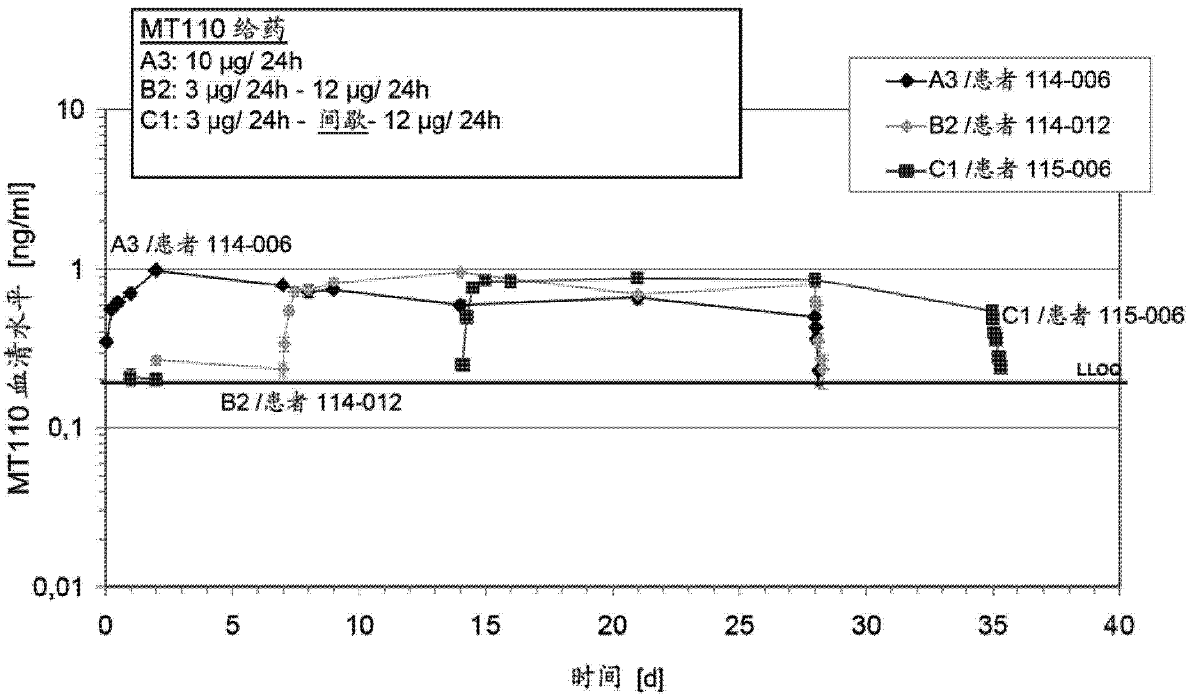
MT110 给药
A3: 10 μg/ 24h
B2: 3 μg/ 24h - 12 μg/ 24h
C1: 3 μg/ 24h - 间歇- 12 μg/ 24h
A3 /患者 114-006
B2 /患者 114-012
C1 /患者 115-006
LLOQ
MT110 血清水平 [ng/ml]
时间 [d]
10
1
0,1
0,01
0
5
10
15
20
25
30
35
40

图 4

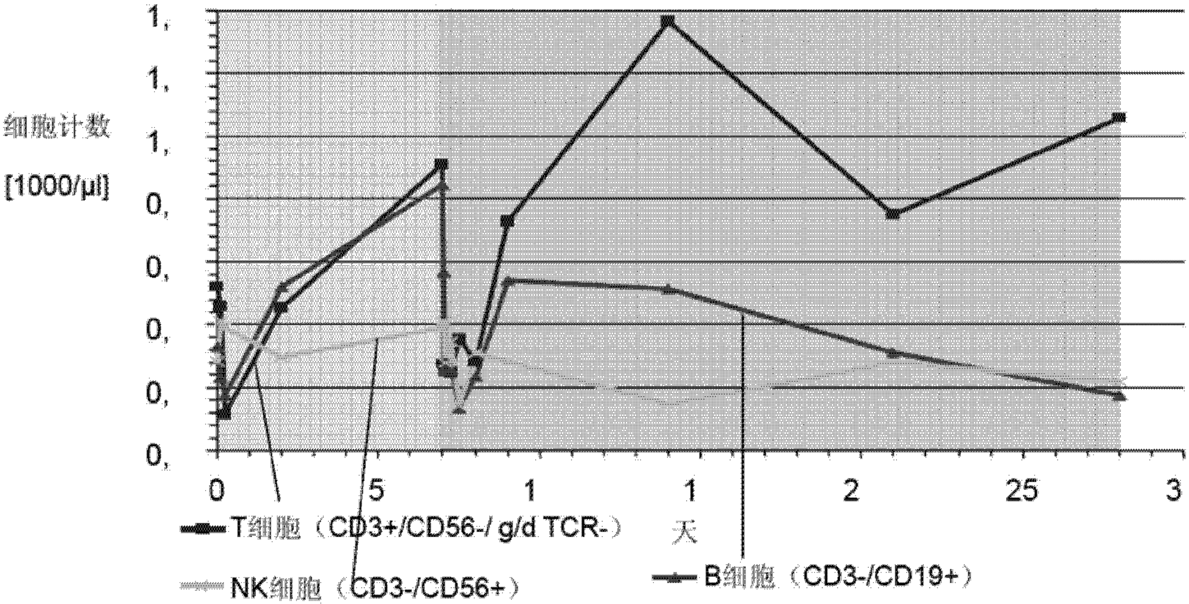
细胞计数
[1000/μl]
T细胞（CD3+/CD56-/ g/d TCR-）
NK细胞（CD3-/CD56+）
B细胞（CD3-/CD19+）
天

图 5A

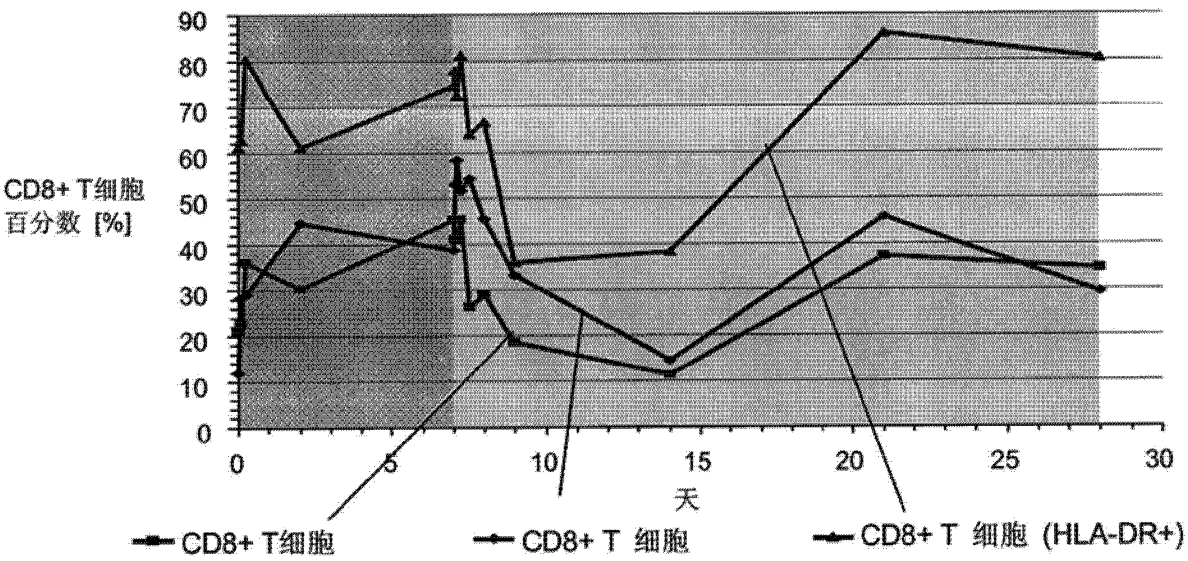
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
CD8+ T细胞
百分数 [%]
0
5
10
15
20
25
30
天
CD8+ T细胞
CD8+ T 细胞
CD8+ T 细胞 (HLA-DR+)

图 5B

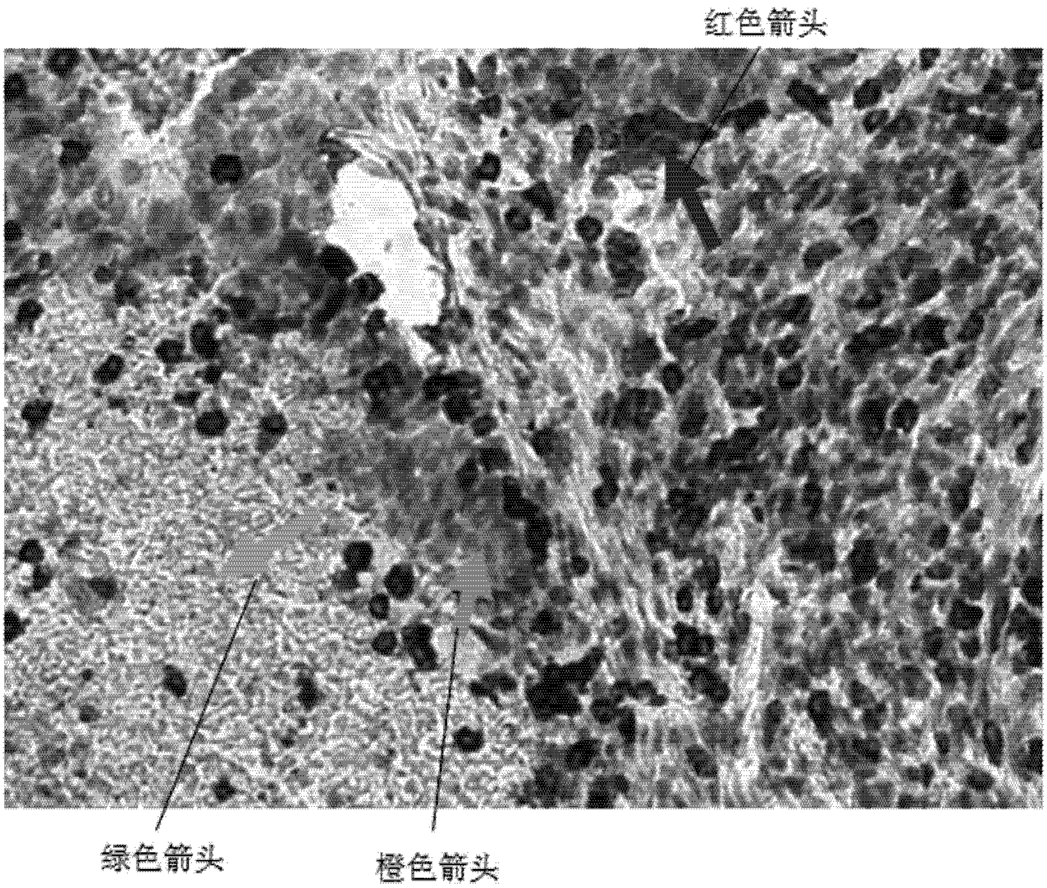
红色箭头
绿色箭头
橙色箭头

图 6A

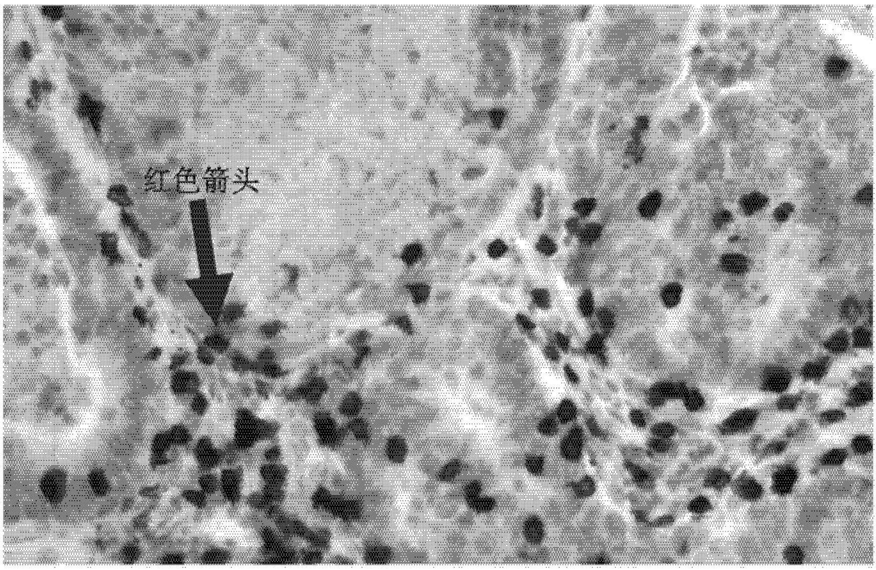

图 6B

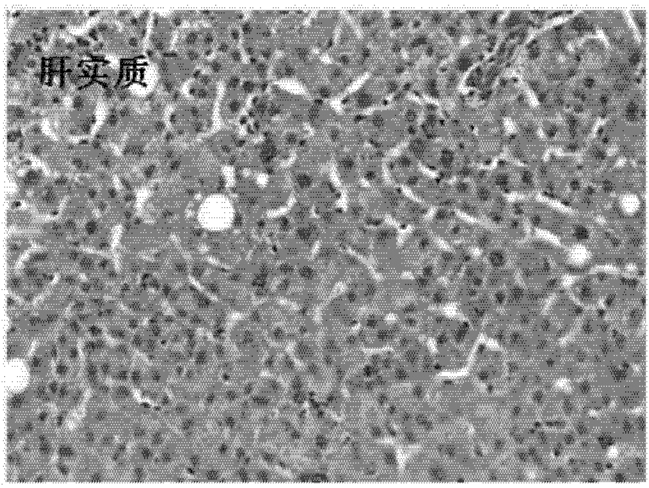

图 7

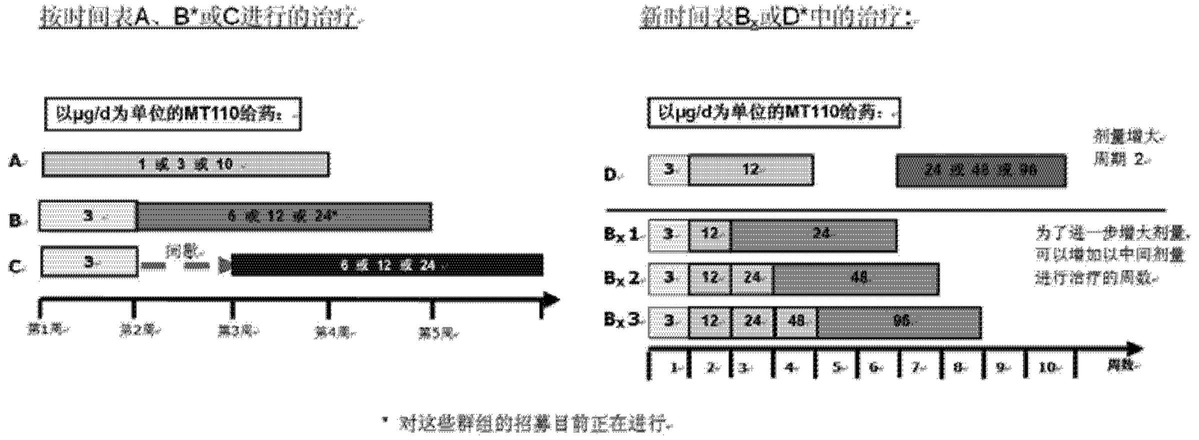
按时间表A、B*或C进行的治疗
以μg/d为单位的MT110给药：
A
1 或 3 或 10
B
3
6 或 12 或 24*
C
3
间歇
6 或 12 或 24
第1周
第2周
第3周
第4周
第5周
新时间表Bx或D*中的治疗：
以μg/d为单位的MT110给药：
D
3
12
24 或 48 或 96
剂量增大
周期 2
Bx 1
3
12
24
Bx 2
3
12
24
48
Bx 3
3
12
24
48
96
为了进一步增大剂量，
可以增加以中间剂量
进行治疗的周数
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
周数
* 对这些群组的招募目前正在进行

图 8