

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁷

A61P 35/00

A61K 31/415

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 00804524.0

[43]公开日 2002年3月27日

[11]公开号 CN 1342096A

[22]申请日 2000.1.4 [21]申请号 00804524.0

[30]优先权

[32]1999.1.6 [33]US [31]09/226226

[86]国际申请 PCT/US00/00094 2000.1.4

[87]国际公布 WO00/40229 英 2000.7.13

[85]进入国家阶段日期 2001.8.31

[71]申请人 马克西姆药品公司

地址 美国加利福尼亚州

[72]发明人 K·R·格尔森 K·赫尔斯特兰德
S·赫尔莫德松

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 王其灏

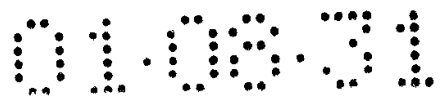
权利要求书3页 说明书15页 附图页数0页

[54]发明名称 组胺诱导的协同破坏肿瘤作用

[57]摘要

本发明涉及治疗癌症的方法,其中与其它癌症疗法联合给予组胺。所述癌症疗法包括手术、放射疗法、免疫疗法、给予增强患者体液免疫应答的药物或它们的任意组合。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4



权 利 要 求 书

1. 一种增强癌症疗法的方法，该方法包括：
在一定时间内给予受治疗者药学上可接受形式的组胺，达到足以
5 增强所述癌症疗法的血液组胺浓度；以及
对所述受治疗者实施一种癌症疗法，其中所述癌症疗法选自手术、放疗、免疫疗法及给予增强所述受治疗者体液免疫应答的药物。
2. 权利要求1的方法，其中所述药学上可接受形式的组胺选自组
10 胺、二盐酸组胺、磷酸组胺、组胺盐类、酯类、同类物、前体药物、
组胺受体激动剂及 diphenylethylamine。
3. 权利要求1的方法，其中所述癌症疗法为放射疗法，它选自外
部远距放射疗法(external beam radiation)、放射性核素、放射性植入物、
放射性抗体、放射性脂质、放射性蛋白、放射性糖脂以及放射性糖蛋
白。
- 15 4. 权利要求1的方法，其中所述癌症疗法为免疫疗法，它选自单
克隆抗体、人源化单克隆抗体、Fab、(Fab')₂、Fv、抗体缀合物、Fab
缀合物、(Fab')₂缀合物、Fv缀合物及抗体复共轭对配位化合物。
5. 权利要求1的方法，其中所述癌症疗法为给予增强所述受治疗
者体液免疫应答的药物，该药物选自病毒抗原、癌细胞抗原、灭活的
20 癌细胞、疫苗及同效维生素。
6. 权利要求1的方法，它还包括对所述受治疗者实施所述癌症疗
法期间保持稳定的血液组胺浓度。
7. 权利要求1的方法，其中通过给予一种诱导内源性组胺释放的
物质间接地给予所述受治疗者组胺。
- 25 8. 权利要求7的方法，其中所述物质选自视黄酸、视黄醛衍生物、
IL-3 及可食变应原。
9. 权利要求1的方法，其中所述组胺的给予是在实施所述癌症疗
法之前进行的。



10. 权利要求 1 的方法，其中所述组胺的给予是在实施所述癌症疗法之后进行的。

11. 权利要求 1 的方法，其中所述组胺的给予是在实施所述癌症疗法期间进行的。

5 12. 权利要求 1 的方法，其中所述组胺的给予还包括以每天 0.1-10.0 mg 的剂量给予组胺。

13. 组胺用于生产治疗癌症的药物的用途，用于给予接受手术、放疗、免疫疗法或第二种增强所述受治疗者体液应答的药物的患者。

10 14. 组胺用于生产增强癌症治疗法的药物的用途，其中所述癌症疗法选自手术、放疗、免疫疗法以及第二种增强受治疗者体液应答的药物。

15 15. 按照权利要求 13 或 14 的用途，其中所述组胺选自组胺、二盐酸组胺、磷酸组胺、组胺盐类、酯类、同类物、前体药物、组胺受体激动剂及 diphenyleidonium。

16. 按照权利要求 13 或 14 的用途，其中所述放射疗法选自外部远距放射疗法、放射性核素、放射性植入物、放射性抗体、放射性脂质、放射性蛋白、放射性糖脂以及放射性糖蛋白。

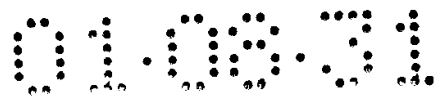
20 17. 按照权利要求 13 或 14 的用途，其中所述免疫疗法选自单克隆抗体、人源化单克隆抗体、Fab、(Fab')₂、Fv、抗体缀合物、Fab 缀合物、(Fab')₂ 缀合物、Fv 缀合物及抗体复共轭对配位化合物。

18. 按照权利要求 13 或 14 的用途，其中所述第二种增强所述受治疗者体液应答的药物选自病毒抗原、癌细胞抗原、灭活的癌细胞、疫苗及同效维生素。

25 19. 按照权利要求 13 或 14 的用途，其中所述组胺在所述癌症治疗前提供。

20. 按照权利要求 13 或 14 的用途，其中所述组胺在所述癌症治疗之后提供。

21. 按照权利要求 13 或 14 的用途，其中所述组胺在所述癌症治



疗期间提供。

22. 按照权利要求 13 或 14 的用途, 其中所述组胺以每天 0.1-10.0 mg 的剂量提供。

23. 一种筛选癌症疗法的方法, 该方法包括:

5 提供非人类哺乳动物;

将人肿瘤细胞移植入所述非人类哺乳动物;

将组胺给予所述非人类哺乳动物;

10 对所述非人类哺乳动物实施一种癌症疗法, 其中所述癌症疗法选自: 给予放射性物质、给予抗体、给予增强所述非人类哺乳动物体液免疫应答的药物、放疗以及手术; 和

检测对所述非人类哺乳动物肿瘤的破坏作用。

24. 权利要求 23 的方法, 其中所述抗体为单克隆抗体。

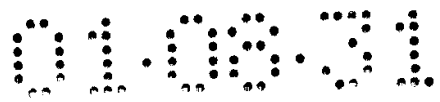
25. 权利要求 24 的方法, 其中所述单克隆抗体与选自以下的一种化合物缀合: 毒素、放射性物质、放射性核素、抗体片断及第二抗体。

15 26. 权利要求 23 的方法, 其中所述增强所述非人类哺乳动物体液免疫应答的药物为疫苗。

27. 权利要求 26 的方法, 其中所述疫苗包括灭活的癌细胞。

28. 权利要求 23 的方法, 其中所述放射性物质包括种子形小管植入物(seed implant)。

20 29. 权利要求 23 的方法, 其中所述放射疗法包括外部远距放射疗法。



说明书

组胺诱导的协同破坏肿瘤作用

5

发明领域

本发明涉及治疗癌症的方法，其中与其它癌症疗法联合给予组胺。所述癌症疗法包括手术、放射疗法、免疫疗法、给予增强患者体液免疫应答的药物或者它们的任意组合。

10

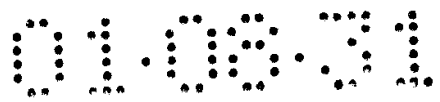
发明背景

尽管在过去几年癌症治疗取得巨大的进展，但是当前的癌症疗法仍不能治愈许多类型的癌症。研究人员和临床医师面临的问题颇多。一些肿瘤为不能切除肿瘤或者放疗或化疗或这些方法的组合治疗无效。而且，常常与这些疗法有关的严重致病性使许多人寻找全新的破坏癌细胞的特异性更高而对正常细胞毒性更低的肿瘤疗法。通过用灭活的癌细胞或癌细胞特异性抗原免疫癌症患者从而促进对肿瘤的免疫应答的各种努力很不成功，而使用单克隆抗体(mAb)作为“魔弹”特异性地破坏癌细胞而不损伤正常细胞在临床上仍受到限制。迫切需要提高已知癌症疗法有效性的方法。

20

手术受到很多人的青睐，是胃癌、胰腺癌、类癌瘤以及卵巢肿瘤患者唯一可能的有效疗法。(Norton, *Digestion* 55 (suppl 3): 98-103 (1994))。虽然手术经常是恶性肿瘤的必要疗法，但是这种形式的癌症疗法有两个主要缺点。首先，许多肿瘤因位于重要结构或扩散入重要结构而不能切除。(Dvorak 等, *Cancer Cells* 3: 77-85 (1991))。尽管减少(debulking)关键区域的肿瘤已成为可选择的方法，但是许多人认为这类方法不能充分治疗所述疾病而只是提高了患者的生活质量。(Norton, *Digestion* 55 (suppl 3): 98-103 (1994))。其次，在诊断和去除原发肿瘤时，许多肿瘤已经转移。(Dvorak 等, *Cancer Cells* 3: 77-85 (1991))和

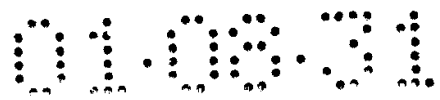
25



(Norton, *Digestion* 55 (suppl 3): 98-103 (1994)). 转移瘤往往为多发并且广泛扩散, 不容易外科手术切除, 因此进行大手术的许多患者只是发现术后不久疾病进展更快。(Dvorak 等, *Cancer Cells* 3: 77-85 (1991)). 尽管手术仍是一线癌症防御方法, 但是肿瘤学家现在还是联合包括放疗、化疗和免疫疗法在内的其它疗法以获得更好的患者生存率。(Hacker and van der Burg, *Annals of Oncology* 4 (suppl. 4): S17-S22 (1993)).

对于头颈部、子宫颈、膀胱、前列腺和皮肤的许多肿瘤的长期控制, 外部远距放射疗法(external beam radiation)替代了手术治疗, 其中外部远距放射疗法通常达到相当概率的具有良好美容效果的肿瘤控制。(Basic Clinical Radiobiology 第2版, Steel 编辑, Arnold Publishers, 第1-13页(1997)). 外部远距放射疗法通常有助于治疗局部肿瘤, 但因它对周围细胞产生明显破坏并危害患者免疫系统, 这种方法也存在问题。使用放射性“种子型小管植入物(seed implant)”更集中针对肿瘤细胞而对周围组织破坏较小, 但是需要更特异的将辐射传递给肿瘤的方法。尽管放射疗法为手术的良好替代疗法, 但是它不能治疗占大多数的对放射线不敏感的癌症, 而且, 由于与高剂量外部远距射线照射相关的高发病率, 使用放射疗法治疗转移性疾病并不理想(Dvorak 等, *Cancer Cells* 3: 77-85 (1991)).

还报告了多种形式的治疗癌症的抗体疗法。早期抗体疗法治疗几乎全部依赖于完全活化破坏肿瘤细胞。(Cellular and Molecular Immunology, 编辑 Abul K. Abbas, Andrew H. Lichtman 和 Jordan S. Pober, W.B. Saunders Co., Philadelphia (1991)). 最近使用阻断癌细胞生长因子受体的抗体获得了较大的成功。(Wong, *Genetic Engineering News*, 第23和49页(1988年7月)和 Ashley 等, *J. of Neuro-Oncology* 35: 259-273 (1997)). 使用具有诸如毒性分子或放射性同位素的细胞毒性物质的结合肿瘤细胞的抗体缀合物也见到有前景的结果。(Larson 等, *ACTA Oncologica* 32: 709-715 (1993); Quack 和 van Dongen, *Eur Arch*



Dtorhinolaryngol 251:1-5 (1994); Frankel 等, *Cancer Biology* 6:307-317 (1995); Mach 等, *Curr Op in Immunol.* 3:685-693 (1991) 和 *Recent Results in Cancer Research*, 第 141 卷: *Systemic Radiotherapy with Monoclonal Antibodies*, M. L. Sautter-Bihl 和 M. Wannemacher 编辑, Springer-Verlag 出版社(1996))。另一创新的癌症抗体疗法使用抗体复共轭对配位化合物 - 将结合的癌细胞引导至免疫系统吞噬细胞的双功能抗体。(Wong, *Genetic Engineering News*, 第 23 和 49 页(1998 年 7 月))。使用 mAb 复共轭对配位化合物的初步临床试验证实了其在肾癌和前列腺癌治疗中的前景。(同前)。

10 虽然可通过诸如补体激活或抗体依赖性细胞介导的细胞毒性作用的抗体依赖性机制在体外溶解各种肿瘤细胞, 但是很少基于增强受治疗者体液应答的疗法在临床上获得成功。(Sedlacek, *Critical Reviews in Oncogenesis* 5 (6): 555-587 (1994))。在一个研究中, 对患有黑色素瘤的患者给予包含三种同种异体黑色素瘤细胞系混合物的疫苗, 表明 10 年
15 精算存活率为 71%, 相反, 接受单个细胞系疫苗的黑素瘤患者的 10 年精算存活率为 40%。(Slingluff 和 Seigler, *Ann Plast Surg* 28: 104-107 (1992))。然而, 在另一个研究中, 用灭活的白血病细胞免疫的白血病患者没有表现出任何显著的改善。(Cellular and Molecular Immunology, 编辑 Abul K. Abbas, Andrew H. Lichtman 和 Jordan S. Pober, W.B. Saunders Co., Philadelphia (1991))。

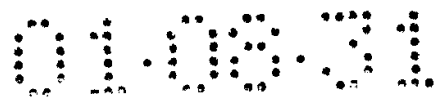
20 在改善癌症疫苗的尝试中, 研究人员尝试了许多方案以使癌细胞疫苗更具抗原性。(Sedlacek, *Critical Reviews in Oncogenesis* 5 (6): 555-587 (1994))。例如, 用编码确定肿瘤抗原的质粒 DNA 或用包含联接致癌受体蛋白的疏水性多糖的复合物进行免疫的研究中, 可表现出更好的
25 临床效果。(Tuting 等, *J Mol Med* 75: 478-491 (1997) 和 Gu 等, *Cancer Research* 58: 3385-3390 (1998))。目前研究人员在通过给予增强患者体液应答的药物
治疗癌症方面取得的成功有限, 尚需改善这种形式治疗的有效性的方法。

尽管最近在癌症疗法方面取得一定进展，但是仍存在许多问题。肿瘤常常转移、在敏感区域生长且不能通过手术或放射疗法治疗。(Dvorak 等, *Cancer Cells* 3: 77-85 (1991))。肿瘤细胞还通常避开癌症患者的免疫监测，而且当前大多数疫苗不能充分地激发癌症患者的免疫系统以克制这种免疫耐受状态。(Sedlacek, *Critical Reviews in Oncogenesis* 5 (6): 555-587 (1994))。此外，针对性肿瘤相关抗原低水平表达、低亲和力 mAb、无效放射性核素、抗体缀合物非特异性毒性以及肿瘤对治疗药物吸收较差限制了使用抗体疗法如免疫毒素、免疫放射性核素、免疫复共轭对配位化合物和受体特异性抗体。(Ashley 等, *J. of Neuro-Oncology* 35: 259-273 (1997); Frankel 等, *Cancer Biology* 6: 307-317 (1995); March 等, *Curr Op in Immunol.* 3: 685-693 (1991) 和 Sedlacek, *Critical Reviews in Oncogenesis* 5 (6): 555-587 (1994))。长期以来需要增强当前癌症疗法的药物。

发明概述

本发明提供治疗癌症的新方法，该方法中联合常规癌症疗法给予组胺，所述常规疗法例如手术、放射疗法、免疫疗法及促进患者体液免疫应答的药物。在一个实施方案中，增强癌症疗法的方法包括在一定时间内给予受治疗者药学上可接受形式的组胺，以达到足以增强所述癌症疗法的血液组胺浓度，并对该受治疗者实施一种癌症疗法，例如手术、放疗、免疫疗法以及增强受治疗者体液免疫应答的药物。

最好使用药学上可接受形式的组胺如组胺、二盐酸组胺、磷酸组胺、组胺盐类、组胺酯、组胺同类物质、组胺药物前体、组胺受体激动剂和 diphenyleiodonium。可使用的放射疗法类型包括外部远距放射疗法、放射性核素、放射性植入物、放射性抗体、放射性脂质、放射性蛋白质、放射性糖脂和放射性糖蛋白。可使用的免疫疗法类型包括给予单克隆抗体、人源化单克隆抗体、Fab、(Fab')₂、Fv、抗体缀合物、Fab 缀合物、(Fab')₂ 缀合物、Fv 缀合物及抗体复共轭对配位化合



物。可使用的增强受治疗者体液免疫应答的几种药物类型包括病毒抗原、癌细胞抗原、灭活癌细胞、疫苗及同效维生素。

5 组胺的给予方式使受治疗者在接受所述癌症疗法期间，保持稳定的血液组胺浓度。可通过给予一种诱导内源性组胺释放的物质如视黄酸、视黄醛衍生物、IL-3 或可食变应原间接给予受治疗者组胺。可在进行所述癌症疗法之前、之后或期间给予组胺。而且，给予组胺的剂量为每天 0.1mg-10.0 mg。

10 在另一实施方案中，本发明提供筛选癌症疗法的方法，在该方法中，将组胺给予移植了人肿瘤细胞的非人类哺乳动物，并对其使用一种癌症疗法如放射性物质、抗体、增强非人类哺乳动物体液免疫应答的药物、放射疗法或手术。实施所述癌症治疗后，在各个不同的时间点对非人类哺乳动物检测对肿瘤的破坏作用。按照这种方法，可使用单克隆抗体、缀合诸如毒素的化合物的单克隆抗体、放射性物质、放射性核素、抗体片段或二抗、疫苗(包括灭活的癌细胞)、放射性种子形小管植入物或外部远距放射疗法。

15

优选实施方案的详细描述

20 组胺为生物源性胺，即脱羧后具有药理学受体介导的生物活性的氨基酸。组胺在速发型超敏反应中的作用已非常明确。(Plaut, M 和 Lichtenstein, L.M., 1982, *Histamine and Immune Responses in Pharmacology of Histamine Receptors*, Ganellin, C.R. 和 M.E. Parsons, eds. John Wright & Sons, Bristol, 第 392-435 页)。组胺还介导小动脉扩张，小动脉扩张可引起毛细血管和小静脉压升高。(Majno 等, *J Cell Bio* 42: 647-672 (1969))。而且，组胺诱导内皮细胞收缩，导致形成细胞间

25 隙和血管外渗。(同前)

本发明基于这样的意外发现：当组胺联合手术、放射疗法、抗体疗法或增强癌症患者体液免疫应答的药物给予时，它产生协同破坏肿瘤的作用。

“组胺”是指组胺、其二盐酸盐(二盐酸组胺)、磷酸组胺、其它组胺盐、组胺酯或组胺前体药物，以及组胺受体(H₁、H₂、H₃)激动剂。还考虑五羟色胺、缓激肽、diphenylethylamine 和 5HT 激动剂。适用于本发明的其它组胺类似物或组胺受体激动剂公开在美国专利第 5,728,378 号并为本领域的技术人员所了解。给予诱导内源性组胺从患者自身组织释放的化合物也包括在本发明范畴之内；因此本文所用术语“组胺”也包括这些化合物。

“癌症疗法”是指手术、放疗、化疗、抗体疗法以及增强癌症患者体液免疫应答的药物疗法。“癌症疗法”还可包括上述治疗的组合。本领域技术人员知道数种组合的上述癌症疗法对恶性肿瘤产生协同作用。如下所述，优化这种联合组胺治疗的组合治疗方法应该是常规性的。

“手术”是指从患者身体中去除癌细胞的外科学操作，包括但不限于肿瘤切除和/或肿瘤压实(debulking of a tumor)。明确的外科肿瘤学方法依肿瘤类型和患者具体情况而异。外科技术实例见 *Surgical Oncology*, Raphael E. Pollock 编辑, Kluwer Academic 出版社, 1997。

“放射疗法”是指应用外部远距放射疗法或给予癌症患者放射性物质，包括但不限于放射性核素、放射性植入物、放射性抗体或放射性蛋白。本领域已知多种放射性疗法，其实例可参见 *Basic Clinical Radiobiology (第二版)*, G. Gordon Steel 编辑, Arnold 出版社, 1997。

“抗体疗法”是指给予癌症患者抗体、抗体缀合物或抗体复共轭对配位化合物以达到治疗或预防癌症的目的。本领域已知许多形式的抗体疗法，包括但不限于给予单克隆抗体或人源化单克隆抗体、给予毒素或放射性核素缀合的抗体以及给予单克隆抗体复共轭对配位化合物，后者具有一个与癌抗原结合的结构域及另一个与 IgG 的 Fc 区结合的结构域。而且，术语抗体疗法是指包括给予具有或不具有缀合毒素或放射性核素的(Fab')₂ 或 Fab 片段。抗体疗法的数个实例参见 *Recent Results in Cancer Research* 第 141 卷: *Systemic Radiotherapy with*

Monoclonal Antibodies, M.L. Sautter-Bihl 和 M. Wannemacher 编辑, Springer-Verlag 出版社, 1996.

5 “促进体液免疫应答的药物”是指给予癌症患者以增强其体液免疫应答的物质。已知许多增强癌症患者体液免疫应答的物质, 包括但不限于给予病毒抗原、癌细胞抗原、灭活的癌细胞、疫苗以及包括抗坏血酸、生育酚及 β 胡萝卜素在内的同效维生素。

10 组胺的给予可遵照几种治疗方案, 下列方案是使用本发明的一些方法的范例, 但并不是用它们限制本发明的范围。本发明包括在进行明确形式的癌症疗法如手术、放疗、抗体疗法或给予增强患者体液免疫应答的药物之前、期间或之后, 给予所述癌症患者有效量的组胺。

15 通过以约 0.1-10.0 mg/天、优选约 0.5-8.0 mg/天及更优选约 1.0-5.0 mg/天的剂量给予组胺, 以获得有效水平的循环血液组胺。在另一个实施方案中, 在 1-4 周的时间内给予组胺。在一个高度优选的实施方案中, 在 1-2 周的时间内给予组胺。在本发明的一个实施方案中, 保持有效稳定的循环血液组胺浓度(即至少约 0.2 μ M 的稳定的循环血液组胺浓度水平)。

20 本领域技术人员知道还可在治疗过程中监测患者循环血液组胺水平, 并且每当所述血液组胺水平降至有效血液组胺水平以下或接近有效血液组胺水平的低限时提高所述血液组胺水平。例如, 在本实施方案中, 每当受治疗者的组胺水平降至 0.2 μ M 以下时可给予组胺。或者, 最好可周期性间歇性地以足以达到和保持有效血液组胺水平的剂量给予组胺。

25 给予组胺的途径和载体组合物已在美国专利第 5,348,739 号和第 5,728,378 号中公开, 所述专利通过引用结合到本文中。控释载体也是制药科学技术人员所熟知的。该领域的技术和产品在不同情况下称为控释、缓释、延时作用、depro、贮库、延迟作用、延缓释放及定时释放; 本文所用词语“控释”用来包括前述每项技术。美国专利申请第 08/767,338 号还公开许多用于给予组胺的控释载体及输注设备。

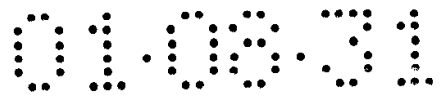
最好是以每分钟约 0.5-0.2 mg 的速率将组胺注射、输注或释放入患者体内。优选速率为每分钟约 0.1 mg。组胺最好在约 1、3 或 5 分钟至约 30 分钟的时间内给予，优选上限为约 20 分钟，使得组胺的成人每日总剂量为约 0.1-10.0 mg，优选约 1.0-5.0 mg。已发现在更长的时间
5 (即超过约 30 分钟)内给予组胺引起疗效降低或丧失，而在少于 1-3 分钟的时间内快速给予可引起更明显和更严重的副作用，包括 anaphalaxis、心力衰竭、支气管痉挛(bronchospasm)、明显的面部潮红、不适、心率及呼吸速率增加、高血压以及严重的头痛。

各剂量组胺的给予可为每天 1 次至每天最多达约 4 次，优选每天
10 2 次。给予途径可为皮下、静脉内、肌肉内、眼内、口服、经粘膜或经皮肤，并可使用直接皮下注射或其它注射或输液方法，或可通过以上公开类型的控释机制介导。可使用任何能够在约 1-30 分钟的时间内给予有效治疗量组胺的控释载体或输液设备。

除组胺、二盐酸组胺、磷酸组胺或其它组胺盐类、酯类、同类物
15 质、前体药物和组胺受体激动剂外，5-羟色胺、5HT 激动剂及诱导组胺从患者自身组织释放的化合物也包括在本发明的范畴内。视黄酸、诸如 9-顺式-视黄酸和全-反式-视黄酸的其它视黄醛衍生物、IL-3 及可食变应原是已知诱导内源性组胺释放的化合物。这些化合物可通过口服、静脉内、肌肉、皮下或其它批准途径给予患者。然而，给予诱导
20 组胺从患者自身组织释放的化合物应使内源性组胺的释放为约 0.1-10.0 mg/天，优选约 0.5-8.0 mg/天，更优选约 1.0-5.0 mg/天。

给予各剂诱导组胺释放的化合物可为每天 1 次至每天最多达约 4
次，优选每天 2 次。给予途径可为皮下、静脉内、肌肉内、眼内、口服、经粘膜或经皮肤，并可包括以上公开类型的控释机制。可使用任
25 何能够给予有效治疗量的诱导组胺在约 1-30 分钟时间内释放的化合物的控释载体。

所述治疗适用的恶性肿瘤包括但不限于：原发性和转移性恶性实体肿瘤疾病，以及血液学恶性肿瘤如急性和慢性骨髓性白血病、急性



和慢性淋巴细胞性白血病、多发性骨髓瘤、Waldenstrom 巨球蛋白血症、毛细胞白血病、骨髓发育不良综合症、真性红细胞增多症 (polycythaemia vera) 及特发性血小板增多症。

5 借助于以下实施例可更好地了解本发明，以下实施例代表更优选的实施方案，但不应认为用其限制本发明的范围。

给予组胺后可将升高血液组胺水平并保持在有效水平

10 为实施本发明，必须提高患有恶性肿瘤的受治疗者的组胺有效水平。以下实施例提供了一种在癌症患者中建立稳定有效的循环血液组胺水平的方法。

实施例 1

15 5 名急性骨髓性白血病(AML)缓解患者接受用无菌氯化钠溶液稀释的二盐酸组胺进行的治疗。在连续 21 天的时间内在上午和晚上于独立皮下注射位点注射组胺。使用装有 0.1 mg/ml 组胺的 1 ml 注射器皮下注射给予组胺。每天给予 2 次(上午和晚上)组胺治疗，剂量为每次注射 0.4-0.7 mg 组胺(即每日组胺的总剂量为 0.8-1.4 mg/天)。

20 开始治疗前和治疗后每周用 10 ml 肝素化试管取外周静脉血样品。最后一次注射组胺后至少 8 小时取样品。通过使用得自 Bionerica, Inc., Newport Beach, California 92663(商品目录号 1051)的双抗体放射免疫测定试剂盒分析全血样品中组胺浓度。按照日期为 1989 年 6 月的试剂盒提供的生产厂家的说明书进行分析。在指定的时间测定血液组胺水平。

25 实验之初患者血液组胺水平低于 0.2 μ M。给予组胺后，循环血液组胺水平升至有效水平(即至少约 0.2 μ M 的稳定的循环血液组胺浓度水平)。令人惊奇的是，循环血液组胺水平在持续给药期间、甚至停止给予组胺后仍然保持高水平。本实验的结果证明给予组胺后血液组胺水平可升高并保持在有效水平。

这种升高恶性肿瘤疾病患者循环血液组胺水平并将组胺浓度保持在有效水平的性能可与下列实施例 2、3、4 以及实施例 5 中详述的癌症治疗方法相结合。

5

联合组胺与外科手术的癌症疗法

10

按照本发明者考虑，联合手术切除肿瘤给予组胺以对患者达到协同破坏肿瘤的作用。一种方法是，在手术前给予组胺足够时间以使患者稳定的血液组胺浓度提高到至少约 0.2 μM 。然后按照标准技术手术去除肿瘤。(参见例如 *Surgical Oncology*, Raphael E. Pollock 编辑, Kluwer Academic 出版社, 1997)。去除肿瘤后，继续进行组胺疗法足够时间，以达到对所述肿瘤完全有效。根据恶性肿瘤的类型，可利用几种确定肿瘤细胞残留情况的方法，包括通过 ELISA 检测脱落的癌细胞特异性抗原或使用放射性标记的抗体和成像技术原位检测癌细胞。(Quak 和 van Dongen, *Eur. Arch. Otorhinolaryngol* 251:1-5 (1994))。

15

实施例 2

20

通过在手术去除前列腺肿瘤之前、期间及之后给予组胺获得协同破坏肿瘤的作用。相应地在手术前将溶于无菌载体溶液中的药学上可接受形式的组胺给前列腺癌患者皮下注射一周(每天 0.5-2.0 mg)。治疗之后，当循环血液组胺水平提高到至少 0.2 μM 时，手术切除肿瘤。

一旦去除所述肿瘤后，循环血液组胺水平至少保持在约 0.2 μM ，直到观察到完全的治疗反应。按照常规方法在不同时间检测患者 PSA 抗原水平评价对肿瘤的破坏作用。通过采用本实施例公开的方法，观察到协同破坏肿瘤的作用并且前列腺癌得到有效治疗。

25

联合组胺和放射治疗的癌症疗法

在另一个实施方案中，联合放射疗法给予组胺以在患者达到协同破坏肿瘤的作用。一种方法是，在放疗之前给予组胺足够时间，使患

者血液组胺的稳定浓度提高到至少约 0.2 μM 。然后按照标准技术对所述肿瘤进行外部远距射线照射。(参见例如 *Basic Clinical Radiobiology* (第二版), G. Gordon Steel 编辑, Arnold 出版社, 1997)。组胺疗法一直持续至观察到如上检测的完全的治疗反应。如果肿瘤消退不很明显, 还可联合组胺疗法进一步进行放射治疗。

实施例 3

通过在前列腺肿瘤的放射治疗之前、期间及之后给予组胺获得协同破坏肿瘤的作用。相应地在放射疗法前将溶于无菌载体溶液中的药
10 学上可接受形式的组胺给前列腺癌患者皮下注射一周(每天 0.5-2.0 mg)。治疗之后, 当循环血液组胺水平提高到至少 0.2 μM 时, 对所述肿瘤进行外部远距射线照射(60-70 Gy)。

一旦照射所述肿瘤后, 循环血液组胺水平保持在至少约 0.2 μM , 直到观察到完全的治疗反应, 按照常规方法在不同时间检测患者 PSA
15 抗原水平评价对肿瘤的破坏作用。通过使用本实施例公开的方法, 观察到协同破坏肿瘤的作用并且前列腺癌得到有效治疗。

联合组胺和抗体疗法的癌症疗法

在本发明的另一个实施方案中, 联合抗体疗法给予组胺。根据本
20 实施方案的一个方面, 联合组胺给予放射性单克隆抗体。最好在抗体疗法之前给予组胺 1-2 周, 以使患者血液组胺的稳定浓度提高到至少约 0.2 μM 。达到至少约 0.2 μM 血液组胺的稳定水平后, 联合组胺治疗给予所述患者放射性标记的针对癌细胞抗原的 mAb。(参见例如
25 *Recent Results in Cancer Research* 第 141 卷: *Systemic Radiotherapy with Monoclonal Antibodies*, M. L. Sautter-Bihl 和 M. Wannemacher 编辑, Springer-Verlag 出版社, 1996)。组胺治疗可一直持续至观察到如上检测的完全的治疗反应。

通过用一种同位素或如 ^{131}I 、 ^{90}Y 、 ^{67}Cu 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{212}Bi 或 ^{211}At

同位素的组合标记抗体，制备肿瘤抗原特异性的放射性 mAb。优选放射性标记 mAb 能够向肿瘤传送的射线高于 6000 rad，并对肿瘤有足够的亲合力，使暴露于患者骨髓的射线不超过 300 rad。在最近的临床
5 试验中，针对表达于成熟 B-细胞表面 CD-20 抗原的 ^{131}I 标记的抗 B1 (Bexxar) mAb 是放射性标记 mAb 成功治疗滤泡型非何杰金氏淋巴瘤的一个实例。(*Wong, Genetic Engineering News*, 第 23-49 页(1998 年 7 月))。联合组胺治疗使用 ^{131}I 标记的抗 B1 (Bexxar) mAb 以及其它放射性标记 mAb 在本实施方案的范畴内。

另一方面，联合上面详述的组胺治疗方法使用复共轭对配位化合物 mAb，该 mAb 将所结合的癌细胞引向免疫系统的吞噬细胞。例如，
10 已证实 mAb MDX-210 (Medarex)对肾癌及前列腺癌具有有效的治疗作用，mAb MDX-210 包括一个结合原癌基因 HER-2/neu (C-erbB2)、与表皮生长因子(EGF)受体部分同源的细胞表面生长因子 p185^{HER-2} 受体的结构域，和第二个识别高亲和力 IgG Fc 受体的结构域，高亲和力 IgG
15 激活并引导免疫系统的天然破坏伤细胞(NK)到达病灶部位。(*Wong, Genetic Engineering News*, 第 23-49 页(1998 年 7 月))。本发明者考虑联合给予组胺使用该抗体及类似设计的复共轭对配位化合物抗体以获得协同破坏肿瘤的作用。

包括在本发明的本实施方案的另一种用法涉及给予抗癌细胞特异性受体的人源化 mAb。例如已证实 p185^{HER-2} 受体(Genetech)阻断表皮生长因子与受体的结合，并因此切断了随后的细胞增殖的信号转
20 导。(*Wong, Genetic Engineering News*, 第 23-49 页(1998 年 7 月))。在使用 p185^{HER-2} 抗体的临床试验中，乳腺癌患者表现为总体肿瘤疗效的明显改善。本发明者还考虑联合组胺治疗使用人源化抗 p185^{HER-2} 受体的
25 的 mAb(Genetech)和其它针对癌细胞特异性受体的 mAb。

实施例 4

通过在抗体治疗之前、期间及之后将组胺给予乳腺癌患者获得协

同破坏肿瘤的作用。相应地，在抗体疗法之前将溶于无菌载体溶液的药学上可接受形式的组胺给所述患者皮下注射一周(每次注射 0.5-1.0 mg, 每天 1-2 次)。组胺治疗后，给予患者人源化 ^{131}I 标记的 p185^{HER-2} 抗体(Genetech)并继续进行组胺疗法。

5 一旦用所述抗体治疗所述肿瘤，循环血液组胺水平保持在至少 0.2 μM ，直到观察到完全的治疗反应。按照常规方法通过测定患者不同时间的 p185^{HER-2} 受体水平评价破坏肿瘤的作用。(Quak 和 van Dongen, *Eur. Arch. Otorhinolaryngol* 251:1-5 (1994))。通过采用本实施例公开的方法，观察到协同破坏肿瘤的作用并有效治疗乳腺癌。

10

组胺和增强癌症患者体液免疫应答方法相结合的癌症疗法

本发明的另一个实施方案包括联合组胺疗法给予增强患者体液免疫应答的药物。一种方法是，将所述药物提供给患者之前给予组胺以便开始就使患者血液组胺稳定浓度达到至少约 0.2 μM 。然后将增强
15 体液免疫应答药物如病毒抗原、癌细胞抗原、灭活癌细胞、疫苗或同效维生素给予所述患者。组胺疗法持续至观察到如上检测的完全治疗反应为止。此外，本发明者还考虑联合组胺疗法和给予已知增强细胞免疫应答的细胞因子，用增强患者体液免疫应答的药物治疗。

20

实施例 5

通过在用增强免疫应答的药物治疗黑素瘤患者之前、期间及之后给予组胺获得协同破坏肿瘤的作用。相应地，在给予所述增强体液免疫应答的药物之前将溶于无菌载体溶液中的药学上可接受形式的组胺给患者皮下注射一周(每次注射 0.5-1.0 mg, 每天 1-2 次)。组胺治疗后，
25 当循环血液组胺水平增加到至少 0.2 μM 时，按照常规技术给予患者包含三种灭活黑素瘤细胞系混合物的疫苗。(Slingsluff 等, *Ann. Plast. Surg.* 28:104-107(1992))。

一旦用所述疫苗治疗肿瘤后，循环血液组胺水平保持在至少 0.2

μM , 一直到观察到完全的治疗反应。按照常规方法通过检测患者不同时间的黑素瘤情况评价破坏肿瘤的作用。(Quak 和 van Dongen, *Eur. Arch. Otorhinolaryngol* 251:1-5 (1994)). 通过采用本实施例公开的方法, 观察到协同破坏肿瘤的作用并有效治疗黑素瘤。

5 尽管实施例 2-5 的方法详述几种依靠联合已明确的癌症疗法给予组胺而产生协同破坏肿瘤的作用的治疗方案, 但是可通过使用筛选方法或其变通方法开发出更多的利用组胺诱导的协同作用的癌症治疗方案, 这些方案描述于实施例 6。

10 筛选当联合给予组胺时产生协同破坏肿瘤作用的治疗药物

筛选当与组胺一起给予时产生协同破坏肿瘤作用的治疗药物的能力的方法是本发明的另一个实施方案。一般来说, 实现需要建立癌症模型系统, 然后给予受治疗者组胺和治疗药物, 以及测定破坏肿瘤的作用。

15

实施例 6

模型系统和放射性标记 mAb 的制备如下。例如, 将约 10^6 人 SK-N-SH 神经母细胞瘤细胞系(购自 American Type Culture Collection, Rockville MD)肿瘤细胞皮下注射入裸鼠右侧腹而建立人神经母细胞瘤异种移植。使所述肿瘤增殖直到该肿瘤直径约 1 cm. mAb BW575/9 (Behringwerke, Marburg, Germany)为抗神经细胞粘附分子(NCAM)的鼠同种型 IgG1, 由神经母细胞瘤、黑素瘤及其它癌症表达。(Bosslet 等, 欧洲专利公布第 EP 0443 599 A2 号)。已有报告 BW575/9 特异性地与神经母细胞瘤细胞系 SK-N-SH 结合。(Recent Results in Cancer Research, 第 141 卷: Systemic Radiotherapy with Monoclonal Antibodies, Sautter-Bihl 和 Wannermacher 编辑, Springer-Verlag 出版社, Bihl 和 Bihl, 小鼠神经母细胞瘤异种移植系统的实验数据, 第 124-135 页 (1996)). 作为对照, 使用抗独特型 mAb B40(购自 German

20

25

Cancer Research Center, Heidelberg, Germany). 通过 lodogen 方法用 ^{131}I 标记所述 mAb, 按照明确的方法达到比活为 $1\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$. (同上).

5 为了评价联合放射免疫疗法实施组胺疗法获得的协同破坏肿瘤作用, 进行了一个实验. 在抗体治疗之前将溶于无菌载体溶液的药学上可接受形式的组胺给荷载恶性肿瘤的裸鼠尾静脉注射一周(每天 0.5 mg). 一个对照组未给予组胺以便测定组胺疗法的协同破坏肿瘤作用. 组胺治疗之后, 当循环血液组胺水平增加到至少 $0.2\mu\text{M}$ 时, 按照常规技术经尾静脉注射给予小鼠 $10\mu\text{Ci}^{131}\text{I}$ 标记的 mAb.

10 在实施所述抗体疗法后 1、4、12、24、36 和 48 天, 颈椎脱臼处死小鼠, 收集小鼠的肿瘤、脾、肾、肝、肌肉和骨, 在多频道 γ 计数器上测量并分析 ^{131}I . 如上所述, 在所述实验过程中继续每日组胺治疗, 并在第 24 天第二次给予抗体. 该实验的结果表明, 当联合组胺给予 BW575/9 mAb 时, 比单独给予 BW575/9 mAb 获得更强的破坏肿瘤作用.

15 使用变通形式的上述模型系统, 可对新研制的治疗药物和治疗方法进行快速筛选, 以确定联合组胺治疗给予这些药物或实施这些方法时, 它们产生协同破坏肿瘤作用的能力. 事实上, 实施例 6 中使用的方法可用于或易于修改以筛选其它抗体、抗体缀合物、抗体复共轭对配位化合物、增强受治疗者体液免疫应答的药物、放射疗法及外科技
20 术.

虽然参照实施方案和实施例描述了本发明, 但是应该知道在不脱离本发明宗旨的情况下可对本发明进行各种改进. 相应地, 本发明只受到以下权利要求书的限制. 本文所列举的所有参考文献通过引用特别结合到本文中.