



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103458917 B

(45) 授权公告日 2016. 01. 20

(21) 申请号 201280005114. 4

A61K 38/18(2006. 01)

(22) 申请日 2012. 01. 09

A61K 38/20(2006. 01)

(30) 优先权数据

13/005, 993 2011. 01. 13 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2013. 07. 11

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2012/020596 2012. 01. 09

(87) PCT国际申请的公布数据

W02012/096870 EN 2012. 07. 19

(73) 专利权人 昂克拜慕恩有限责任公司

地址 美国路易斯安那州

(72) 发明人 乔纳森·F·海德

罗伯特·L·埃利奥特

(74) 专利代理机构 北京律盟知识产权代理有限

责任公司 11287

代理人 齐杨

(51) Int. Cl.

A61K 38/17(2006. 01)

(56) 对比文件

US 5478556 A, 1995. 12. 26,

WO 2006023598 A2, 2006. 03. 02,

申景平. 治疗性癌症疫苗. 《世界科学》. 2002, (第 11 期),

审查员 王瑶

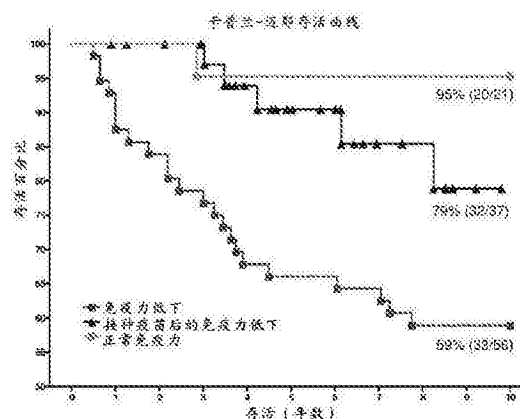
权利要求书1页 说明书9页 附图1页

(54) 发明名称

治疗癌症的组合物和方法

(57) 摘要

本发明描述了用作疫苗的药物组合物,其包含与癌症类型定性或定量相关的纯化表面或分泌蛋白、至少一种白介素(IL)和至少一种集落刺激因子(CSF),其中所述纯化表面或分泌蛋白的提供量足以在施用了所述组合物的个体中诱导免疫反应。所述组合物可用在用于治疗患有癌症的个体以及用于在所述个体中诱导免疫治疗性反应的方法中。



1. 一种组合物,其中每剂量所述组合物包含以下物质:
 - (i) 50 μ g 前列腺特异性抗原 (PSA)、2 μ g 癌胚抗原 (CEA) 和 1000IU CA 125 抗原;
 - (ii) 20,000 单位白介素-2(IL-2);
 - (iii) 16.7 μ g 粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF);
 - 和 (iv) 药学上可接受的载体。
2. 根据权利要求 1 所述的组合物,其中药学上可接受的载体包括生理上可接受的溶液。
3. 根据权利要求 2 所述的组合物,其中所述生理上可接受的溶液是水性缓冲液。
4. 根据权利要求 2 所述的组合物,其中药学上可接受的载体包括无菌水或盐水。
5. 根据权利要求 4 所述的组合物,其中所述盐水是磷酸盐缓冲盐水或汉克缓冲盐溶液 (HBSS)。
6. 一种治疗有效量的根据权利要求 1 所述的组合物在制备用于治疗前列腺癌的药物中的用途。
7. 一种治疗有效量的根据权利要求 1 所述的组合物在制备用于治疗诊断患有前列腺癌的个体中诱导免疫治疗性反应的药物中的用途。

治疗癌症的组合物和方法

发明领域

[0001] 本发明涉及用于治疗癌症的方法和包含纯化表面或分泌蛋白的组合物。

[0002] 发明背景

[0003] 国家癌症研究所估计超过一千万美国人有癌症病史。美国癌症协会预计今年,将会诊断出超过一百四十万癌症病例并且一百中超过五十万美国人将死于癌症。在美国,癌症为第二大最常见的死因,仅次于心脏病。

[0004] 鉴于有各种形式的癌症在美国流行,因此大量研究集中于开发诊断和治疗的新方法。根据癌症类型和其阶段,目前的治疗形式一般可包括手术、辐射、化疗和 / 或激素治疗。

[0005] 近年来,研究也致力于开发癌症疫苗。这些疫苗用于治疗现有癌症(即,治疗性疫苗)或用于防止癌症发生(即,预防性疫苗)。将治疗性疫苗设计成通过刺激免疫系统以识别和攻击癌细胞而不损害非癌细胞来治疗癌症。将预防性疫苗施用给健康人来刺激其免疫系统以攻击致癌剂(例如,致癌病毒)。

[0006] 目前,两种疫苗已获得美国食品药品监督管理局许可来预防可导致癌症的病毒感染。一种是预防乙型肝炎病毒感染的疫苗,乙型肝炎病毒与一些形式的肝癌相关;而另一种是预防两种人类乳头瘤病毒感染的疫苗,这两种病毒总共引起 70% 子宫颈癌病例。

[0007] 开发治疗性癌症疫苗的步伐进行得十分缓慢。已努力给具有肿瘤细胞或肿瘤相关抗原的癌症患者接种疫苗。其中一些努力已获得了有限成功。一类疫苗的一个实例在美国专利 No. 5, 478, 556 中有报道,其描述了给乳腺癌患者接种组合物,所述组合物包含获自癌细胞的提取的自体或异体乳腺肿瘤相关抗原 (TAA)、白介素 -2 (IL-2) 和粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF) 的组合。

[0008] 发明概述

[0009] 在一个方面,提供了组合物,其包含 (i) 与癌症类型定性或定量相关的纯化表面或分泌蛋白;(ii) 至少一种白介素 (IL);和 (iii) 至少一种集落刺激因子 (CSF),其中所述蛋白的提供量足以在施用了该组合物的个体中诱导免疫反应。

[0010] 在另一个方面,提供了治疗个体的方法,其包括将治疗有效量的前述方面的组合物施用给患有癌症的个体。

[0011] 在另一个方面,提供了在个体中诱导免疫治疗性反应的方法,其包括将治疗有效量的前述方面(上述)的组合物施用给诊断患有癌症的个体,其中所述组合物含量足以在个体中诱导免疫治疗性反应的纯化表面或分泌蛋白。

[0012] 附图简述

[0013] 图 1 是针对参考实施例 1 的经查死于其它原因的患者的卡普兰-迈耶 (Kaplan-Meier) 整体存活曲线。

[0014] 发明详述

[0015] 本发明提供了用于治疗癌症的方法和组合物。因此,根据本发明,将治疗有效量的组合物施用给患有癌症的患者,该组合物包含与癌症类型定性或定量相关的纯化表面或分泌蛋白与包含白介素 (IL) 和集落刺激因子 (CSF) 的佐剂的组合。

[0016] 本发明还涉及癌症疫苗组合物,其包含与特定类型的癌症定性或定量相关的纯化表面或分泌蛋白与包含白介素和集落刺激因子的生物佐剂的组合。

[0017] 不受任何一种作用机理限制,据信所述组合物是通过引起肿瘤细胞死亡、抑制肿瘤生长或复发、促进肿瘤消退和 / 或抑制转移,从而导致无病存活率和 / 或整体存活率提高 ;或其任意组合来发挥作用。

[0018] 在某些实施方案中,白介素是白介素 -2 (IL-2) 且集落刺激因子是粒细胞巨噬细胞 CSF (GM-CSF)。

[0019] 在第一次接种疫苗前,可对接种疫苗的患者免疫反应进行测量,然后在第一次接种疫苗后以及如需要,在随后的任一次接种疫苗后,再次测量,以确定免疫反应的程度。免疫反应水平可利用淋巴细胞母细胞化试验 (LBA) 量化 (参见 Elliott, R. 等, Breast Cancer Research and Treatment 30:299-304 (1994); 以引用的方式并入本文中)。在此试验中,以组织培养的方式使单核细胞生长七天。使单核细胞与不同浓度的肿瘤抗原共培养。将 ^3H - 胸苷加入培养物中,然后立刻终止。然后,通过将并入培养物中肿瘤抗原刺激的单核细胞的 ^3H - 胸苷摄入量除以并入对照单核细胞 (不与肿瘤抗原共培养) 的 ^3H - 胸苷摄入量计算出增殖指数。

[0020] 如本文中所用,短语“治疗有效量”指在组织、系统、动物、个体或人类中引起研究人员、兽医、医生或其它临床医生寻求的生物或医学反应的参照化合物或组合物的量,所述生物或医学反应包括以下一种或多种:

[0021] (1) 预防疾病 ;例如,对易患疾病、病症或失调但尚未罹患或表现出疾病的病理或症状的个体进行该疾病、病症或失调的预防 ;

[0022] (2) 抑制疾病 ;例如,在正罹患或表现出疾病、病症或失调的病理或症状的个体中抑制该疾病、病症或失调 ;以及

[0023] (3) 改善疾病 ;例如,在正罹患或表现出疾病、病症或失调的病理或症状的个体中改善该疾病、病症或失调 (即,逆转病理和 / 或症状),例如降低疾病的严重程度。

[0024] 例如,可将治疗有效量的化合物或组合物测定为增加对肿瘤抗原的免疫反应至少 50% ;或稳定或减少循环肿瘤标记蛋白以抑制癌症进展的量。

[0025] 如本文中所用,术语“治疗”意指 (i) 改善、抑制、或预防所提及的病情,如上所述 ;或 (ii) 引起所提及的生物效应 (例如,免疫治疗性反应可缓解或控制所关注患者所患有的疾病)。更具体地讲,治疗可包括抑制肿瘤生长或复发,使肿瘤消退和 / 或抑制转移形成。

[0026] 如本文中所用,关于“一”或“一种”或“所述”蛋白或抗原或佐剂的提及可指一种或一种以上的蛋白或抗原或佐剂。

[0027] 如本文中所用,与癌症类型“定性或定量相关”的表面或分泌蛋白意指仅常见于一种或多种特定类型的癌症的表面上或其所分泌或见于比正常或非癌细胞更多的癌细胞的表面上或其所分泌的蛋白。也将此蛋白称为肿瘤标记蛋白或肿瘤相关抗原,这些术语在本申请中可互换使用。这些蛋白可自肿瘤细胞制剂纯化或可通过本领域技术人员已知的方法合成。另外,可将这些蛋白制成与其它非肿瘤相关蛋白的混合物,或可制成此在其中其为唯一蛋白组分的制剂。

[0028] 此类蛋白或抗原的实例以及其相关癌症包括下表 1 中所列出的那些:

[0029]	表 1	
	癌症	蛋白和抗原
	前列腺癌	PSA, 前列腺酸性磷酸酶(PAP)、前列腺特异性膜抗原(PSMA)、癌胚抗原(CEA)、癌抗原(CA)125
	乳腺癌	CA 15-3、CA 27.29、CEA、CA 125、雌激素受体(ER)、黄体素受体(PgR)、人表皮生长因子受体 2(Her-2/neu)、血浆中脂质相关唾液酸(LASA-P)
[0030]	胃肠癌	CEA, CA 19-9、甲胎蛋白(AFP)、CA 72-4、膀胱肿瘤抗原(BTA)、组织多肽抗原(TPA)
	肺癌	CEA、AFP、神经元特异性烯醇化酶(NSE)、嗜铬粒蛋白 A、TPA、CA 72-4
	肝癌	CEA、CA 19-9、AFP、CA 50
	胰腺癌	CEA、CA 19-9、AFP
	甲状腺癌	CEA、降钙素、甲状腺球蛋白
	卵巢癌	CA 125、AFP、LASA-P、CA 50、CA 72-4
	黑素瘤	S-100 蛋白(S-100)、肿瘤相关抗原 90(TA-90)
	睾丸癌	AFP、 β 人绒毛膜促性腺激素(β -hCG)
	白血病	β -2 微球蛋白、LASA-P
	结肠直肠癌	CEA、CA 19-9、LASA-P
	膀胱癌	BTA、核基质蛋白 22(NMP 22)、TPA
	淋巴瘤	LASA-P
	子宫内膜癌	ER、PgR
	神经系统癌	降钙素、嗜铬粒蛋白 A、NSE
	胚胎癌	β -hCG

[0031] 所述组合物可由分离出的纯化自体、异体或重组表面或分泌肿瘤标记蛋白、或其组合制备。发现这些组合物与低剂量的白介素和 CSF 组合施用时可用作癌症疫苗。

[0032] 在一个实施方案中,所述组合物包含 IL-2 和 GM-CSF。

[0033] 将分离出的纯化抗原用于所治疗的特定类型的癌症提供更强的特异性并消除现有技术中疫苗组合物所存在的变化性。而且,本发明疫苗的制备不需要患者组织,因此,每个出现症状时或手术后的患者是治疗性疫苗的候选人。但是,如果需要,可将患者组织用于制造本发明疫苗。使用分离出的纯化抗原也可大量制造疫苗组合物。

[0034] 如本文中所用,术语“纯化”意指所提及的实体具有大于约 50 总重量 % 的纯度。也就是,在某些实施方案中,本文中所用的每一种分离出的纯化抗原独立地具有大于约 50 总重量 % ;或大于约 60 重量 % ;或约 70 重量 % ;或约 80 重量 % ;或约 85 重量 % ;或约 90 重量 % ;或约 95 重量 % ;或约 98 重量 % ;或约 99 重量 % 的纯度。

[0035] 如本文中所用,术语“约”意指参考值的 $\pm 10\%$ 。

[0036] 可将组合物施用给患有实体瘤、恶性腹水或造血系统癌症的患者以抑制肿瘤生长

或复发或抑制转移形成。也可将组合物施用给患有白血病或淋巴瘤的患者。

[0037] 利用肿瘤标记蛋白制备疫苗组合物。可购得所需的分离和纯化的肿瘤标记蛋白。以上所列出的多种抗原的来源包括Fitzgerald Industries International, Concord, MA, 和Sigma-Aldrich Co, Dallas, TX。本领域技术人员已知并可获得其它商业来源。如果任一特定抗原不能商购获得,则可根据本领域技术人员已知的方法,在cGMP设备中合成。

[0038] 每一种肿瘤标记蛋白独立地以通常介于以下的量存在:每100 μ L疫苗组合物约1 μ g至约1000 μ g的量存在,或每100 μ L组合物约1 μ g至约250 μ g,或每100 μ L组合物约25至约100 μ g,或每100 μ L组合物约50 μ g,或每100 μ L约1 μ g至约10 μ g。如果一种特定抗原不易获得或不易以合理的价格获得,则可在保证良好效果下使用上述范围内的较少的量,例如,在每100 μ L约1 μ g至约10 μ g范围内。

[0039] 一些肿瘤标记蛋白是基于国际单位(IU)出售,而非 μ g。在此情况下,抗原通常以介于每100 μ L疫苗组合物1IU至约10,000IU;或每100 μ L组合物约20至约5,000IU;或每100 μ L组合物约500IU至约1500IU;或每100 μ L组合物约1000IU的范围内的量提供。

[0040] 例如,如果所关注的癌症类型是前列腺癌并且疫苗组合物中包含PSA,则PSA可以每100 μ L组合物约1 μ g至约250 μ g,或每100 μ L组合物约25 μ g至约100 μ g,或每100 μ L组合物约50 μ g的浓度提供。PSA在前列腺癌疫苗中可为唯一标记,或疫苗可包含一种或多种其它或替代的如上所述的抗原。

[0041] 例如,疫苗也可包含CEA;此抗原通常以每100 μ L组合物约1 μ g至约250 μ g的浓度提供。疫苗中可包含CA125蛋白;其常以IU的形式出售并可以每100 μ L组合物约20IU至约5,000IU,或每100 μ L组合物约100IU至约2500IU,或每100 μ L组合物约1000IU的浓度提供。

[0042] 可包含CA15-3和/或CA27.29,每种浓度为每100 μ L组合物约1 μ g至约250 μ g。

[0043] 一般来说,疫苗中所使用的特定抗原的量基本上相等,不管抗原是疫苗中所提供的唯一抗原或疫苗组合物中所提供的多种抗原中的一种。因此,在以上段落中所提供的前列腺癌疫苗实例中,不管组合物包含所述抗原中的一种或两种、三种、四种或五种抗原的组合,所提供的每种抗原量在上述指导方针范围内。其它抗原的存在可增加患者有效的免疫反应的概率。

[0044] 在另一个实施方案中,使纯化抗原与少量的白介素与CSF的组合物物理组合。在另一个实施方案中,分开施用抗原溶液和佐剂(例如,白介素和CSF),但应将抗原和佐剂施用到同一部位,施用时间尽可能接近,相隔不超过2小时。通常,疫苗中每种组分是以生理上可接受的溶液形式提供,然后将所需量的每种溶液组合以得到最终的疫苗组合物。

[0045] 适宜的白介素包括IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-9、IL-12、IL-13、IL-14和IL-15。在某些实施方案中,白介素是IL-1。在某些其它实施方案中,白介素是IL-2。在某些其它实施方案中,白介素是IL-3。在某些其它实施方案中,白介素是IL-4。在某些其它实施方案中,白介素是IL-5。在某些其它实施方案中,白介素是IL-6。在某些其它实施方案中,白介素是IL-7。在某些其它实施方案中,白介素是IL-9。在某些其它实施方案中,白介素是IL-12。在某些其它实施方案中,白介素是IL-13。在某些其它实施方案中,白介素是IL-14。在某些其它实施方案中,白介素是IL-15。

[0046] 适宜的集落刺激因子包括粒细胞-巨噬细胞-CSF(GM-CSF)、粒细胞-CSF(G-CSF)

和巨噬细胞-CSF (M-CSF)。在某些实施方案中,集落刺激因子是 GM-CSF。在某些实施方案中,集落刺激因子是 G-CSF。在某些实施方案中,集落刺激因子是 M-CSF。

[0047] 可将单一白介素和单一集落刺激因子用于本文中组合物或可使用两种或更多种白介素和/或集落刺激因子的组合。虽然如果单独施用,每种细胞因子的效力非常有限,但是发现将白介素和 CSF 与肿瘤标记抗原组合施用将产生协同效应。

[0048] 在一个实施方案中,细胞因子的组合是 GM-CSF 和 IL-2。IL-2 促进细胞毒性 T- 细胞免疫;GM-CSF 促进树突状细胞加工。

[0049] 通常,所述组合物包含每 100 μ L 组合物约 5,000U 至约 50,000 单位 (U) (约 0.3 μ g 至约 3 μ g) 白介素;或每 100 μ L 组合物约 10,000U 至约 30,000U (约 0.6 μ g 至约 1.8 μ g) 白介素;或每 100 μ L 组合物约 20,000U (约 1.2 μ g) 白介素和每 100 μ L 组合物约 10 μ g 至约 100 μ g CSF,或每 100 μ L 组合物约 15 至约 20 μ g CSF,或每 100 μ L 组合物约 16.5 μ g 至约 16.9 μ g CSF,或每 100 μ L 组合物约 16.7 μ g CSF。

[0050] 通常,每种细胞因子是以冻干粉末的形式提供并与生理上可接受的液体载体组合,必要时进行连续稀释以在 100 μ L 中得到最终的所需浓度。例如,IL-2 可在商品名 **Proleukin®** 下以冻干粉末的形式购自 Chiron Corporation, Emeryville, CA, 22×10^6 IU (1.3mg) / 小瓶。例如,如果将其与 1.1mL 无菌水组合,然后进行 1:10、1:10 (最终 1:100) 连续稀释,其在 100 μ L 中的最终浓度是 20,000 IU (1.18 μ g)。同样,GM-CSF 可在商品名 **Leukine®** 下以冻干粉末的形式购自 Berlex Laboratories, Montville, N. J., 250 μ g / 小瓶。例如,如果将其与 1.5mL 无菌水组合,将得到每 100 μ L 16.7 μ g 的最终浓度。

[0051] 适用于本文中组合物的药学上可接受的载体指可注入宿主而不产生显著副作用的流体媒介物。本领域中已知的适宜的药学上可接受的载体包括但不限于无菌水、盐水、葡萄糖和生理上可接受的水性缓冲液或溶液,包括盐水或磷酸盐缓冲的盐水。载体可包括辅助剂,包括但不限于稀释剂、稳定剂(即,糖和氨基酸)、防腐剂、湿润剂、乳化剂、pH 缓冲剂、粘度增强剂、染色剂等。例如,适用于肿瘤标记蛋白和佐剂的载体包括生理上可接受的水性缓冲液或溶液,包括无菌水、盐水、磷酸盐缓冲盐水、或汉克缓冲盐溶液 (HBSS)。

[0052] 将适量抗原或佐剂与选定的载体混合。可将疫苗中的所有组分提供在一种载体中,但是如果需要,可将一种或多种组分提供在单独的载体中并与其它组分组合施用。

[0053] 在另一个方面,本发明提供了治疗癌症的方法,其包括施用治疗有效量的组合物,该组合物包含与癌症类型定性或定量相关的纯化表面或分泌蛋白与包含白介素 (IL) 和集落刺激因子 (CSF) 的生物佐剂的组合。

[0054] 可通过注射施用疫苗。在另一个实施方案中,表皮下施用疫苗,但也可肌肉、皮下、或腹腔内施用。疫苗施用剂量通常为每剂量约 0.3mL 至约 1mL,或约 0.5mL 至约 0.7mL,或约 0.5mL。虽然可使用单剂量的疫苗,但常常需要施用约 3 次至约 12 剂量的疫苗和或约 6 至约 12 剂量。如果施用一次以上的剂量,剂量通常间隔至少 7 天。例如,剂量通常可间隔约 7 至约 90 天施用。例如,一种有效方案是以每周的间隔施用三次剂量的疫苗,之后再以四周的间隔施用三次剂量(即,疫苗在第 0、1、2、6、10 和 14 周时施用)。如果需要,可在初期的免疫治疗后,施用强化注射剂量,每月一次或每两月一次,长达约一年。可使强化注射剂量与强化注射剂量的白介素(例如,但不限于 IL-2) 交替以增加患者的天然杀伤细胞。

[0055] 接受本发明疫苗的患者的 T- 和 B- 细胞免疫可在施用疫苗前以及随后的接种疫苗

方案期间和之后,利用淋巴细胞母细胞化试验监测(参见,Elliott,R.等,Breast Cancer Research and Treatment30:299-304(1994);以引用的方式并入本文中)。增殖指数的增加表明因疫苗接种而对细胞和蛋白抗原的免疫反应增强。接受本发明疫苗的患者也可利用测量循环肿瘤标记蛋白的试验进行监测。循环肿瘤标记蛋白的减小是免疫反应增强的替代标记。

[0056] 本文中的疫苗可用于治疗任何实体癌症,包括前列腺癌、乳腺癌、肺癌、结肠癌、直肠癌、子宫癌(包括子宫颈癌和子宫内膜癌)、卵巢癌、口腔癌、膀胱癌、胰腺癌、胃癌、肝癌、肾癌、皮肤癌、睾丸癌和淋巴组织癌。也可将其用于治疗恶性腹水和造血系统肿瘤,包括白血病和淋巴瘤。选择适宜的肿瘤标记蛋白,利用一般量的如上所述的疫苗组分制备疫苗。

[0057] 在一个实施方案中,提供了用作前列腺癌疫苗的组合物,其包含至少一种与前列腺癌定性或定量相关的纯化表面或分泌蛋白和生物佐剂组合的组合,其中佐剂基本上由白介素和集落刺激因子组成。在一个实施方案中,至少一种纯化表面或分泌蛋白包括纯化PSA,其任选地与一种或多种与前列腺癌相关的其它纯化蛋白组合。在一个相关实施方案中,提供了一种用于治疗前列腺癌患者的方法,其包括利用组合物使患者免疫,该组合物包含纯化PSA,其任选地与一种或多种与前列腺癌相关的其它纯化蛋白组合,和包含白介素和集落刺激因子的生物佐剂。在另一个相关实施方案中,提供了一种在前列腺癌患者中诱导免疫治疗性反应的方法,其中该免疫治疗性反应是通过利用组合物使患者免疫来使循环PSA减少以及肿瘤细胞死亡,该组合物包含纯化PSA,其任选地与其它与前列腺癌相关的纯化蛋白组合,和生物佐剂,其中该佐剂基本上由白介素和集落刺激因子组成。免疫可进行一次,或可重复多次。将免疫设计成使对肿瘤抗原/蛋白的免疫治疗性反应比基线免疫增加至少约50%,减少循环PSA,并导致肿瘤细胞死亡,无进展存活率和整体存活率增加。

[0058] 另一个实施方案包括用作乳腺癌疫苗的组合物,其包含治疗有效量的与乳腺癌定性或定量相关的纯化表面或分泌蛋白。此组合物可包含CA15-3、CA125或CEA、或其组合,以及以上生物佐剂的组合。在一个相关实施方案中,提供了一种治疗乳腺癌患者的方法,其包括利用组合物使患者免疫,该组合物包含纯化CA15-3、CA125和CEA,任选地与一种或多种与乳腺癌相关的其它纯化蛋白组合,和包含白介素和集落刺激因子的生物佐剂。免疫可进行一次,或可重复多次。将免疫设计成使对肿瘤抗原/蛋白的免疫治疗性反应比基线免疫增加至少约50%,减少循环肿瘤抗原,并导致肿瘤细胞死亡,无进展存活率和整体存活率增加。

[0059] 其它实施方案包括组合物,其包含治疗有效量的与胃肠系统癌、肺癌、肝癌、胰腺癌、甲状腺癌、卵巢癌、睾丸癌、结肠直肠系统癌、子宫内膜癌、膀胱癌或神经系统癌、或黑色素瘤、白血病或淋巴瘤定性或定量相关的纯化蛋白,将此组合物施用给患有此癌症的患者以引起对癌症的免疫反应。

[0060] 通过以下实施例对本发明进一步阐述,这些实施例无意限制。

实施例

[0061] 参考实施例1

[0062] 进行回顾性研究以确定免疫反应与整体存活率之间的关系。利用LBA测定免疫反应,如上所述。

[0063] 对免疫力低下的早期乳腺癌患者进行研究,该患者在辅助情况下已接受了乳腺

癌疫苗。测试该患者对自体细胞、异体细胞和蛋白抗原的免疫反应。使免疫力低下的患者接种至少 6 种疫苗,包括自体乳腺癌细胞、异体乳腺癌细胞(MCF-7 细胞)、CA15-3 抗原、CA125 抗原、CEA 抗原和生物佐剂(IL-2 和 GM-CSF),免疫力低下就是在 LBA 中比率小于 1.5 (通过本发明的修改的 LBA 试验的数据组的切点分析确定(Head, 等, Ann. NY Acad. Sci, 1993;690:340-342))。在第六次疫苗接种结束 2 至 4 周后进行第二次 LBA。随访长达 10 年。图 1 是死于其它原因的患者的卡普兰-迈耶整体存活曲线。在进行标准治疗的免疫力低下患者中,患者经 10 年所计算的卡普兰-迈耶整体存活率(即,在连续时间段内的存活百分比)是 59%,在 LBA 中对其自身的肿瘤相关抗原具有免疫力的患者在症状出现时进行标准治疗,其存活率为 95% (研究的历史性对照)。对其自身的肿瘤抗原缺乏免疫力的免疫力低下患者在症状出现时如上所述接种疫苗,这使得在 10 年间整体存活率从 59% 升到 79%。根据年龄、绝经状态、肿瘤大小、淋巴结状态、疾病阶段、雌激素受体状态、孕激素受体状态和抗激素治疗使各组匹配。

[0064] 该项研究显示免疫力低下患者比免疫力正常患者的整体存活率更低并且长期预后不良,而且,通过疫苗接种改善免疫反应使整体存活率得以改善。

[0065] 而且,本领域中已知的是,免疫反应的强加与整体存活率增加相关。例如,以引用的方式并入本文中的 Hsueh 等 (J. Clin. Oncol., Dec. 1, 2002; 20(23):4549-54) 指出 “[s]urvival after vaccine immunotherapy was significantly correlated with the DTH immune response to vaccine but not to a control antigen...” (第 4553 页, 论述的第一段)。此外,以引用的方式并入本文中的 Galon 等 (Science, Sep. 29, 2006; 313:1960-64) 报道 “...time to recurrence and overall survival time are governed in large part by the state of the local adaptive immune response” (第 1963 页, 最后一段)。

[0066] 因此,癌症患者改善的免疫反应与整体存活率相关,这是本领域中已知的并且通过图 1 中的数据得到了证实。

[0067] 实施例 1PSA 组合物的制备

[0068] 根据以下步骤制备根据本发明的组合物:

[0069] 1. 将 1mg PSA (Fitzgerald Industries International, Concord, MA, CAT#30-AP15E) 在 2.0mL 无菌水 USP 中稀释。利用 0.22 微米过滤器使溶液过滤杀菌。将 100 μ L 无菌等分试样在 -80°C 下冷冻,直至需要。

[0070] 2. 将 500 μ g CEA (Fitzgerald Industries International, Concord, MA, CAT#30-AC30) 在 25mL 无菌水 USP 中稀释,并利用 0.22 微米过滤器使所得溶液过滤杀菌。将 100 μ L 无菌等分试样在 -80°C 下冷冻,直至需要。

[0071] 3. 将 20,000 单位的 CA125 (Fitzgerald Industries International, Concord, MA, CAT#30-AC11) 在 2.0mL 无菌水 USP 中稀释,并利用 0.22 微米过滤器使所得溶液过滤杀菌。将 100 μ L 无菌等分试样在 -80°C 下冷冻,直至需要。

[0072] 4. 使二千二百万单位的 IL-2 (Proleukin; Chiron Corporation, Emeryville, CA) 在 1.1mL 无菌水 USP 中复水,然后利用无菌水 USP1:10 稀释。再次将所得溶液 1:10 稀释,得到每 100 μ L 20,000 单位的最终浓度。将 100 μ L 无菌等分试样在 -80°C 下冷冻,直至需要。

[0073] 5. 利用 1.5mL 无菌水 USP 使一瓶 250 μ g GM-CSF (Berlex

Laboratories, Montville, NJ)复水,得到在 100 μ L 中 16.7 μ g 的最终浓度。使溶液在 4℃ 下冷冻。

[0074] 6. 为制备一剂量的疫苗,将以下的冷冻等分试样置于室温:分别 100 μ L 的三种抗原(PSA、CEA 和 CA125)和分别 100 μ L 的两种佐剂(IL-2 和 GM-CSF)。然后,将 100 μ L 每种组分吸入具有一英寸 26 号针头的 1mL 注射器中。最终的总体积是 0.5mL。

[0075] 每剂量的疫苗包含 50 μ g PSA、2 μ g CEA、1000IU CA125、20,000 单位 IL-2 和 16.7 μ g GM-CSF。

[0076] 实施例 2

[0077] 在第 0、1、2、6、10 和 14 周,对 13 名经活检确定的前列腺癌患者表皮下施用初期的 6 次疫苗接种疗程,每剂量包含 PSA、CEA、CA125、IL-2 和 GM-CSF,如实施例 1 所制备。在第一次疫苗接种前,确定每个患者的血清 PSA 含量。在疫苗接种期间,患者不同时进行其它治疗(即,手术、激素、辐射、放射性种子或化疗)。

[0078] 根据 Gehan 所教授的方案(参见, Gehan, E., J. Chron. Dis. 13(4), 346-353(1961); 以引用的方式并入本文中)设计治疗方案以在单臂 I / II 期临床试验中确定肿瘤药物的最低反应率。简单地讲, Gehan 法计算在不产生任何反应下,终止研究所需的最小样品量,因为不能达到预确定的最小反应率(通常 15 至 20%)。将置信水平设在 95%,因此,如果存在反应率小于 15 至 20% 的目标反应率的 95% 置信度,则研究将提前结束。因此,如果 14 名患者(20% 反应率)或 19 名患者(15% 反应率)在处理没有出现任何反应,则药物无效。如果一名患者有反应,则需对更多患者处理以确定准确的反应率。

[0079] 下表 2 中提供前列腺癌疫苗的施用结果:

诊断	表 2			
	疫苗接种前的 PSA	6 次疫苗接种后的 PSA	12 次疫苗接种后的 PSA	最后一次 PSA (月数)
前列腺癌	4.10	2.40	2.50	3.50 (80)
前列腺癌	1.40	0.60	0.66	0.90 (92)
前列腺癌	6.80	6.40	仅 6 次疫苗接种	--
前列腺癌	4.90	2.80	2.40	2.97 (42)
前列腺癌	6.20	5.80	1.90	2.20 (65)
前列腺癌	4.20	3.50	4.40	3.90 (18)
前列腺癌	14.60	5.50	6.50	7.70 (49)
前列腺癌	7.6	13.70	仅 4 次疫苗接种	---
前列腺癌	4.00	4.93	种子植入	---
前列腺癌	8.95	10.60	17.19	Zoladex, 种子
前列腺癌	7.20	5.41	7.30	6.00 (28)
前列腺癌	4.55	7.02	4.17	10.80 (21)
前列腺癌	5.40	10.40	Lupron	---

[0081] 在第四次疫苗接种后,8 号患者的 PSA 含量从 7.6 升到 13.7,将他请出研究以寻求其它治疗。其余 12 名前列腺癌患者中每个患者的血清 PSA 含量在第 6 次疫苗接种结束 3-4 周后确定。如表 2 所示,在第 6 次疫苗接种后,12 名患者中 8 名的血清 PSA 含量降低。

[0082] 一名患者(3 号患者),其 PSA 从 6.8 降至 6.4 并且先前接受过放射治疗(唯一一名

先前治疗过的患者),在初期的疫苗接种结束时被请出了研究并进行了根治性前列腺切除术。选出两名 6 次疫苗接种后 PSA 升高的患者进行其它标准治疗(一名患者接受种子植入而另一名接受 Lupron)。在初期的疫苗接种结束后的 6 个月内,最初的 13 名患者中 9 名患者又接受了 3 次剂量的疫苗,交替地施用 IL-2(一千一百万单位),以增加其天然杀伤细胞。选出其中一名 PSA 升高的患者接受 Zoladex 和种子植入。对 8 名患者随访了 18-92 个月(因为每名患者的初期疫苗接种日期(患者在不同时间开始研究)以及患者失去随访,所以随访不同)。这 8 名患者的平均 PSA 值最初是 5.9;在初期的 6 次疫苗接种后降至 4.1,在 12 次疫苗接种后又降至 3.7,在平均 49 个月的随访时间后为 4.7(中值 45.5 个月)。

[0083] 一名患者,其 PSA 在疫苗接种后从 4.1 降至正常的 2.4ng/ml,在 18 和 30 个月后,再次活检,未发现癌症,不再患病并稳定了 10 年以上。其它两名患者也在疫苗接种后接受了活检:一名在 24 个月时的活检样品中不患病,而另一名在 16 个月时的包括癌细胞的活检样片的百分比显著降低(从 55% 降至 1%)。

[0084] 上述前列腺癌疫苗具有免疫反应(如 12 名患者中 8 名患者(67%)在 6 次疫苗接种后以及 9 名患者中 6 名患者(67%)在 12 次疫苗接种后血清 PSA 降低所表明)。在试验招募的最初 13 名患者中,在随访的中值 45.5 个月(18 至 80 个月)后,7 名(54%)患者的 PSA 含量低于症状出现时,表明其疾病没有出现生化进展(血清 PSA 量没有增长)。根据 Gehan 方案,估计这些通过生物肿瘤标记 PSA 血清浓度降低所测得的反应率为 50% 或更好,因此,反映出非常显著的反应率。许多前列腺癌患者的 PSA 随时间轻微增长,此表明在初期的 12 次疫苗接种后需加强疫苗。

[0085] 实施例 3

[0086] 本文中所提供的疫苗也用于治疗患有其它形式癌症的患者。利用以下组分,按照实施例 1 中一般步骤制备疫苗组合物,如表 3 所示。

[0087]

表 3					
癌症	标记 1	标记 2	标记 3	IL	CSF
乳腺癌	50 µg CEA	50 µg CA 15-3	1000 IU CA 125	20,000 单位 IL-2	16.7 µg GM-CSF
胃肠癌	50 µg CEA	50 µg CA 19-9	50 µg 甲胎蛋白	20,000 单位 IL-2	16.7 µg GM-CSF
肝癌	50 µg CEA	50 µg CA 19-9	50 µg 甲胎蛋白	20,000 单位 IL-2	16.7 µg GM-CSF
胰腺癌	50 µg CEA	50 µg CA 19-9	50 µg 甲胎蛋白	20,000 单位 IL-2	16.7 µg GM-CSF
卵巢癌	1000 IU CA 125	50 µg 甲胎蛋白		20,000 单位 IL-2	16.7 µg GM-CSF
结肠直肠癌	50 µg CEA	50 µg CA 19-9		20,000 单位 IL-2	16.7 µg GM-CSF

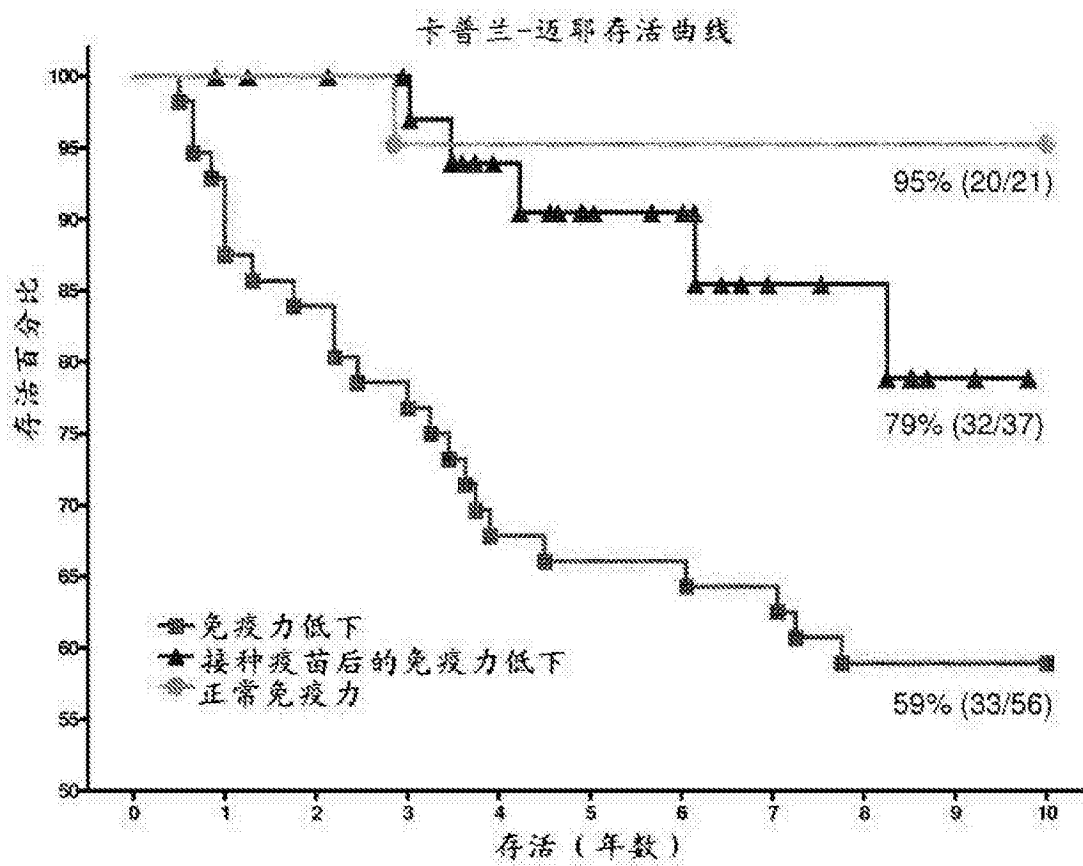


图 1