

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
A61K 39/395 (2006.01)



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 00812442.6

[45] 授权公告日 2009年9月16日

[11] 授权公告号 CN 100540053C

[22] 申请日 2000.7.31 [21] 申请号 00812442.6
[30] 优先权

[32] 1999.8.11 [33] US [31] 60/148,288

[32] 2000.7.26 [33] US [31] 09/625,856

[86] 国际申请 PCT/US2000/020733 2000.7.31

[87] 国际公布 WO2001/010461 英 2001.2.15

[85] 进入国家阶段日期 2002.3.4

[73] 专利权人 拜奥根 IDEC 公司

地址 美国加利福尼亚

[72] 发明人 W·拉斯泰特 C·怀特

审查员 唐 慧

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

代理人 唐晓峰

权利要求书 2 页 说明书 12 页

[54] 发明名称

用于在放射免疫疗法之前测定血液学毒性的
新临床参数

[57] 摘要

报道了新的临床参数，它们可以充当与放射性
标记的治疗性抗体有关的血液学毒性的预报变量，
特别是定向具有定位于骨髓趋势的淋巴瘤细胞的那
些抗体。

1、治疗有效量的非标记的 B-细胞消耗抗-CD20 抗体在制造用于减少血液学毒性的药物中的用途，该血液学毒性由为使骨髓牵连减少至小于起初骨髓牵连程度，对起初骨髓牵连度的癌症患者给予结合 B 细胞表面抗原的放射性标记的抗体而产生，其中癌症是淋巴瘤或白血病。

2、按照权利要求 1 的在制造用于减少血液学毒性的药物中的用途，该血液学毒性由对癌症患者给予放射性标记的抗体而产生，无需在先的造影或剂量测定法。

3、按照权利要求 1 的用途，其中所述癌症是低级/滤泡性非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)，小淋巴细胞性 (SL) NHL，中级/滤泡性 NHL，中级扩散性 NHL，慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)，高级成免疫细胞性 NHL，高级成淋巴细胞性 NHL，高级小未分裂细胞性 NHL，大面积 NHL，外膜细胞性淋巴瘤，与 AIDS 有关的淋巴瘤，瓦尔登斯特伦氏巨球蛋白血症，或 T 细胞性淋巴瘤或白血病。

4、按照权利要求 1 的用途，其中使用基线活组织检查或基线血小板数测定骨髓牵连程度。

5、按照权利要求 1 的用途，其中所述抗-CD20 抗体是利妥昔单抗。

6、按照上述权利要求任一项的用途，其中起初骨髓牵连程度在 0.1%至 5%之间。

7、按照权利要求 1-5 任一项的用途，其中起初骨髓牵连程度大于 5%。

8、按照权利要求 7 的用途，其中给予非标记的消耗抗体使骨髓牵连度减少至小于 5%。

9、按照权利要求 1-5 任一项的用途，其中起初骨髓牵连程度大于 15%。

10、按照权利要求 9 的用途，其中给予非标记的消耗抗体使骨髓牵连度减少至小于 15%。

11、按照权利要求 9 的用途，其中给予非标记的消耗抗体使骨髓

牵连度减少至小于 5%。

12、按照权利要求 1-5 任一项的用途，其中起初骨髓牵连程度大于 25%。

13、按照权利要求 12 的用途，其中给予非标记的消耗抗体使骨髓牵连度减少至小于 25%。

14、按照权利要求 12 的用途，其中给予非标记的消耗抗体使骨髓牵连度减少至小于 15%。

15、按照权利要求 12 的用途，其中给予非标记的消耗抗体使骨髓牵连度减少至小于 5%。

16、按照权利要求 1-5 任一项的用途，其中所述放射性标记的抗体是用 α -放射性或 β -放射性同位素标记的。

17、按照权利要求 16 的用途，其中所述抗体是用 ^{90}Y 或 ^{131}I 标记的。

18、按照权利要求 1-5 任一项的用途，其中所述放射性标记的抗体是抗-CD19，抗-CD20 或抗-CD22 抗体。

19、按照权利要求 18 的用途，其中所述放射性标记的抗体是抗-CD20 抗体。

20、按照权利要求 19 的用途，其中所述放射性标记的抗体是 Y2B8。

21、按照权利要求 1-5 任一项的用途，其中所述放射性标记的抗体是利用放射性标记试剂盒的材料和说明书提供和标记的。

用于在放射免疫疗法之前测定血液学毒性的新临床参数

发明领域

本发明报道用于预报血液学毒性的新临床参数，这能够根据放射性标记的治疗性抗-CD20 抗体以及其他具有定向免疫细胞潜力的治疗性抗体给药加以预测。本发明的临床参数是在治疗之前用 γ -放射性标记的抗体进行剂量测定法试验的有用的替代选择。

发明背景

脊椎动物（例如灵长动物，包括人、无尾猿、猴等）的免疫系统由大量器官和细胞类型组成，它们已经进化为：准确和特异性地识别侵入脊椎动物宿主的外来微生物（“抗原”）；特异性地与这类外来微生物结合；消除/破坏这类外来微生物。淋巴细胞以及其他细胞类型对免疫系统起决定性作用。淋巴细胞是在胸腺、脾和骨髓（成年）中产生的，占到人（成年）循环系统中总白细胞的约 30%。

淋巴细胞有两种主要的亚种群：T 细胞和 B 细胞。T 细胞负责细胞介导的免疫，B 细胞负责抗体的产生（体液免疫）。不过，T 细胞和 B 细胞可以被认为是相互依赖的——在典型的免疫应答中，抗原片段与抗原呈递细胞表面上的主要组织相容性复合体（“MHC”）糖蛋白结合，当 T 细胞受体再与该抗原片段结合时，T 细胞被活化；这类活化导致生物递质（“白介素”）的释放，它从本质上刺激 B 细胞分化和产生对抗该抗原的抗体（“免疫球蛋白”）。

宿主内的每个 B 细胞在其表面上表达不同的抗体——因而一个 B 细胞将表达一种抗原特异性的抗体，另一个 B 细胞将表达不同抗原特异性的抗体。因此，B 细胞是相当多样的，这种多样性对免疫系统起决定性作用。在人类中，每个 B 细胞能够产生大量的抗体分子（即约 10^7 至 10^8 个）。当外来抗原已被中和时，这类抗体产生大多通常停止（或者基本上减少）。不过，特定 B 细胞的增殖偶尔将继续不减弱；这类增殖能够

导致被称为“B细胞性淋巴瘤”的癌症。

T细胞和B细胞都包含细胞表面蛋白，它们能够用作分化和鉴定的“标记”。一种这类人B细胞标记是人B淋巴细胞限制性分化抗原 Bp35，称为“CD20”。CD20是一种B淋巴细胞限制性分化抗原，它在前B细胞发育早期被表达，并保留至浆细胞分化。有人认为CD20分子可以调节B细胞活化过程中细胞周期引发与分化所需的步骤。而且，CD20通常在瘤性（“肿瘤”）B细胞上被高水平表达。CD20抗原满足定向疗法的要求，因为它不脱落、调制或内在化。因而，CD20表面抗原是B细胞性淋巴瘤“定向”的有力候选。

本质上，这类定向可以概括如下：将B细胞的CD20表面抗原特异性抗体例如注射给患者。这些抗-CD20抗体特异性地结合（表面上）正常与恶性B细胞的CD20细胞表面抗原；与CD20表面抗原结合的抗-CD20抗体可以引起瘤性B细胞的破坏和消耗。另外，具有破坏肿瘤潜力的化学试剂或放射性标记能够与抗-CD20抗体缀合，以便试剂被特异性地释放至例如瘤性B细胞。无论什么方法，主要目标都是破坏肿瘤：所采用的特定抗-CD20抗体决定了具体方法，因而，可用于定向CD20抗原的方法可能是各不相同的。

例如，已经报道了针对这种CD20表面抗原定向所作的努力。据报道将鼠（小鼠）单克隆抗体1F5（一种抗-CD20抗体）通过连续静脉内输注对B细胞性淋巴瘤患者给药。据报道为消耗循环中的肿瘤细胞需要极高水平（>2克）的1F5，结果被描述为“瞬时的”。Press等“人B细胞性淋巴瘤的单克隆抗体1F5（抗-CD20）血清疗法”《血液》69/2: 584-591（1987）。

这种方法的潜在问题是非人类单克隆抗体（例如鼠单克隆抗体）通常缺乏人效应器功能性，也就是它们尤其不能通过抗体依赖性细胞毒性或Fc-受体介导的吞噬作用介导补体依赖性溶胞作用或者溶解人靶细胞。此外，非人类单克隆抗体可能被人宿主识别为外来蛋白质；因此，这类外来抗体的反复注射可能诱导引起有害过敏反应的免疫应答。关于基于鼠的单克隆抗体，这经常被称为人抗小鼠抗体应答，或“HAMA”应

答。另外，这些“外来”抗体可以受到宿主免疫系统的攻击，以致它们实际上在到达它们的靶部位之前即被中和。

一种致力于补偿鼠抗体效应器功能缺乏的方法是将这类抗体缀合在毒素或放射性标记上。淋巴细胞和淋巴瘤细胞天生对放射疗法敏感。因此，B细胞恶性肿瘤是放射免疫疗法(RIT)的有力目标，这有若干原因：放射性标记抗体电离放射的局部发射可以杀死带有或没有靶抗原（例如CD20）的细胞，靶抗原非常靠近与抗原结合的抗体；穿透辐射、即 β 发射体可以避免在庞大或多血管化肿瘤中接近抗体有限的问题；可以减少所需抗体总量，从而减轻潜在HAMA应答的严重性。放射性核素发射放射性粒子，能够损害细胞DNA至细胞修复机理不能使细胞继续存活的程度；因此，如果靶细胞是肿瘤，那么放射性标记有益于杀死肿瘤细胞。按照定义，放射性标记抗体包括放射性物质的使用，这可能要求预先警告患者（即可能的骨髓移植）以及健康护理人员（也就是在放射性条件下工作时需要高度谨慎）。

现已公开了大量特异性抗体可与放射性标记或毒素缀合，以便该标记或毒素定位于肿瘤部位。例如，上述IF5抗体已经用碘-131 (^{131}I) “标记”，据报道评价了两名患者的生物分布。参见Eary, J. F.等“B细胞性淋巴瘤的造影与治疗”《核医学杂志》31/8: 1257-1268 (1990)；另见Press, O. W.等“用放射性标记的MB-1（抗-CD37）抗体治疗顽固性非何杰金氏淋巴瘤”《临床肿瘤学杂志》718: 1027-1038 (1989)（指出用 ^{131}I 标记IF5治疗的一名患者达到“部分应答”）；Goldenberg, D. M.等“用碘-131标记LL2单克隆抗体定向B细胞性淋巴瘤和剂量测定法与放射免疫疗法”《临床肿瘤学杂志》9/4: 548-564 (1991)（据报道接受多次注射的八名患者中有三名发展为HAMA应答）；Appelbaum, F. R. “非何杰金氏淋巴瘤治疗中的放射性标记单克隆抗体”《Hem./Onc. Clinics of N. A.》5/5: 1013-1025 (1991)（评论文章）；Press, O. W.等“带有自体骨髓支架的B细胞性淋巴瘤的放射性标记抗体疗法”《新英格兰医学杂志》329/17: 1219-1223 (1993)（碘-131标记的抗-CD20抗体IF5和B1）；Kaminski, M. G.等“使

用 ^{131}I 抗-B1 (抗-CD20) 抗体的 B 细胞性淋巴瘤的放射免疫疗法”《新英格兰医学杂志》329/7 (1993) (碘-131 标记的抗-CD20 抗体 B1; 另见 Kaminski 的美国专利 No. 5,843,398)。还已将毒素 (即化学治疗剂, 例如阿霉素或丝裂霉素 C) 与抗体缀合。例如参见 PCT 公布的申请 WO 92/07466 (1992 年 5 月 14 日公布)。

美国申请 08/475,813、08/475,815 和 08/478,967 引用在此作为参考文献, 其中公开了用于定向和破坏 B 细胞性淋巴瘤和肿瘤细胞的放射性标记的治疗性抗体。特别是公开了 Y2B8 抗体, 它是一种抗人 CD20 鼠单克隆抗体 2B8, 经由双官能整合剂 MX-DTPA 与钇-[90] (^{90}Y) 连接。选择这种放射性核素用于治疗有若干原因。 ^{90}Y 长达 64 小时的半衰期足以允许肿瘤的抗体蓄积, 例如不象 ^{131}I , 它是一种高能的纯 β 发射体, 在其衰退中不伴有 γ 辐射, 范围为 100 至 1000 个细胞直径。最小穿透放射量允许 ^{90}Y 标记抗体对门诊病人给药。此外, 杀死细胞不要求标记抗体的内在化, 电离放射的局部发射对缺乏靶抗原的相邻肿瘤细胞应当是致命性的。

涉及整合剂和整合剂缀合物的专利是本领域已知的。例如, Gansow 的美国专利 No. 4,831,175 涉及多取代的二亚乙基三胺五乙酸螯合物和含有它的蛋白质缀合物, 和它们的制备方法。Gansow 的美国专利 No. 5,099,069、5,246,692、5,286,850 和 5,124,471 也涉及多取代的 DTPA 螯合物。这些专利全文引用在此作为参考文献。

选择在申请 08/475,813、08/475,815 和 08/478,967 中用于促进螯合作用的具体双官能整合剂, 因为它对三价金属具有较高亲合性, 增加肿瘤-非肿瘤之比, 减少骨摄取, 并且提供更多的放射性核素在靶部位、即 B 细胞性淋巴瘤部位的体内滞留。不过, 其他双官能整合剂也是本领域已知的, 对肿瘤疗法也是有益的。

未决申请 08/475,813、08/475,815 和 08/478,967 还报道了放射性标记的 Y2B8 缀合物以及未标记的嵌合抗-CD20 抗体的给药, 导致 B 细胞成淋巴细胞肿瘤小鼠的肿瘤显著减少。而且, 其中所报道的人临床试验显示输注嵌合抗-CD20 抗体显著消耗淋巴瘤患者的 B 细胞。事实上,

嵌合 2B8 最近已被宣布为美国第一种经过 FDA 批准的抗癌单克隆抗体，名称为利妥昔单抗 (Rituximab)[®] (在美国为 B 细胞单克隆抗体 (Rituxan)[®]，在英国为美罗华 (Mabthera)[®])。

另外，美国申请 08/475,813 公开了 Rituxan[®]与钇标记的 Y2B8 鼠单克隆抗体的顺序给药。尽管用于这种联合疗法的放射性标记抗体是鼠抗体，不过最初用嵌合抗-CD20 抗体治疗足以消耗 B 细胞种群，以便减少 HAMA 应答，从而有利于联合治疗与诊断制度。而且，美国申请 08/475,813 显示，治疗学上有效剂量的钇标记抗-CD20 抗体在 Rituxan[®]之后给药足以 (a) 清除所有未被嵌合抗-CD20 抗体清除的剩余外周血液 B 细胞；(b) 开始消耗淋巴结中的 B 细胞；或 (c) 开始消耗其他组织中的 B 细胞。

因而，放射性标记与癌治疗性抗体的缀合作用提供了有价值的临床工具，它可以用于增强或补充嵌合抗体的肿瘤杀死潜力。根据抗-CD20 抗体在非何杰金氏淋巴瘤治疗中的确定功效和已知的淋巴细胞对放射性的敏感性，若这类治疗性抗体成为商业上可得到的试剂盒将是非常有利的，由此它们可以容易地被放射性标记所修饰，在临床背景下直接对患者给药。

为此，美国申请 No. 09/259,337 公开了用于实现抗体的放射性标记的方法、试剂和试剂盒。这类试剂盒是适宜将这些试剂置于临床背景下的载体，使它们易于制备，并且可以在放射性标记显著衰退或者抗体由于放射性标记的存在而显著破坏之前对患者给药。申请 No. 09/259,337 引用在此作为参考文献，其中所公开的试剂盒克服了现有技术的很多缺陷，这些缺陷制止了这类方便工具的引入，以使这种有价值的技术商业化。

放射性标记试剂盒引入市场缓慢的原因可能是有些已知的标记方案证明结合效率差，和在放射性标记操作之后需要对试剂进行柱纯化。这类试剂盒的延缓开发也可能部分由于以前缺乏获得纯放射性同位素商品的手段，后者可以用于有效产生标记产物，无需随后纯化。或者，这类试剂盒一般不可得到的原因也许是实际上缺乏能够象 Rituxan[®]在人淋巴瘤患者的治疗中都已经实现的那样获得批准或者具有功效的抗

体。

例如，美国专利 4,636,380 引用在此作为参考文献，正如其中所讨论的，科学界普遍认为为了发现放射性药物的临床实用性，必须容忍长期和沉闷的分离和纯化过程。向患者注射未结合的放射性标记的确不是可取的。对额外纯化步骤的需求赋予在临床背景下放射性标记抗体的过程以不可能性，特别是对医生来说，他们既没有设备也没有时间来纯化他们自己的治疗剂。

此外，放射性标记的蛋白质可能是天生不稳定的，特别是用辐解同位素、例如 ^{90}Y 标记的那些，与靠近的抗体连接的时间越长，它们就越具有导致损害的趋势。这类辐解作用由于放射性标记的丧失和/或与靶抗原的结合减少而依次导致治疗效率不可靠，并且可以引起所不需要的针对变性蛋白质的免疫应答。尽管没有就地标记和纯化抗体的设施，医师没有别的选择，只有订购已经标记过的治疗性抗体，或者在另处的有关设施上标记它们，标记之后运输，对患者给药。所有这类操作增加了标记与给药之间的宝贵时间，从而加大治疗剂的不稳定性，实际上减少放射性标记试剂盒在临床背景下的实用性。

其他人主张开发适用于不要求单独纯化步骤的试剂盒的放射性标记方案 (Richardson 等 (1987) “ ^{111}In 免疫闪烁照相术常用 DTPA-标记抗体试剂盒的优化和成批制备” 《核医学通讯》 8: 347-356; Chinol 和 Hnatowich (1987) “发生器产生的放射免疫疗法用钷-[90]” 《核医学杂志》 28(9): 1465-1470)。不过，这类方法不能实现本发明人利用本文公开的方案所实现的结合水平，本方案导致结合水平为至少 95%。这样一种结合水平提供额外的增加安全性的益处，事实上没有因放射结合率低而使未结合的标记注射给患者。

公开在美国申请 No. 09/259,337 中的发明试剂盒所包括的方案允许快速标记，因标记而异，可以在大约半小时内或者短至五分钟内进行。而且，正如上面所讨论的，公开在该申请中的试剂盒方案的标记效率超过 95%，从而放弃对进一步纯化的需要。由于放弃对进一步纯化的需要，放射性标记的半衰期和抗体的完整性出于它所标记的治疗目的得以保

存。

不过，在用 β 放射性放射性同位素、例如 ^{90}Y 放射性标记的免疫治疗剂的方便临床使用上仍然存在一些障碍。与 ^{111}In 不同， ^{90}Y 不能用于造影目的，因为缺乏与之有关的 γ 放射。因而，诊断性“造影”放射性核素、例如 ^{111}In 通常在治疗性嵌合抗体或 ^{90}Y -标记抗体的给药之前和/或之后用于测定肿瘤的位置和相对大小。另外，铟-标记的抗体能够进行剂量测定，这被普遍认为需要在使用 ^{90}Y -标记的抗体之前进行，因为它们被骨吸收的效力和趋势相对较高。

例如，Kaminski 等的美国专利 No. 5, 843, 398 公开了将 ^{90}Y 标记的抗体对淋巴瘤患者给药的方法，但是坚持需要对 ^{90}Y 进行剂量测定。为了进行剂量测定，Kaminski 在 ^{90}Y -标记的抗体给药之前使用 ^{111}In -标记的抗体，不过也承认预期有一定的不精确性，因为两种放射性同位素的药动学特征不同。另外，Kaminski 的专利建议还可以谨慎地增加 ^{90}Y -标记的抗体剂量，以减少产生不可逆毒性的机会。

这种对在治疗性抗体给药之前进行剂量测定评价的要求使在临床背景下使用免疫疗法治疗患者的方便性大打折扣，浪费了患者可能接受实际上有助于减轻疾病的治疗的宝贵时间，增加了患者和医生与放射性的接触。而且，使用定向相同细胞表面分子的诊断抗体作为治疗性抗体，必须为诊断抗体分配更多的时间以廓清系统，目的是使治疗性抗体具有澄清的路径达到它们的位于恶性 B 细胞表面上的靶。如果所开发的预报放射性标记的抗体对每名特定患者的毒性的方法使医师能够放弃对诊断性放射性标记抗体的剂量测定的需要，这将有助于免疫治疗剂领域，并进一步有利于这类治疗剂在临床背景下的使用。

发明概述

本发明提供新的临床参数，用于在给药之前评估放射性标记的抗体对特定患者的血液学毒性。这类临床参数特别适合于预报 ^{90}Y -标记的抗体毒性，特别是定向癌性细胞、特别是 B 细胞表面上的分子的那些，并且特别是用于治疗淋巴瘤或白血病的那些，例如抗-CD20、抗-CD19 抗体或抗-CD22 抗体。所公开的参数惊人地提供了比标准的剂量测定法更

加准确的骨髓消融危险预报,可以用于在免疫疗法之前测量对骨髓收获与移植的需要。

发明的详细说明

本发明涵盖预报血液学毒性严重性的方法,该毒性将是由放射性标记的抗体对癌症患者、特别是B细胞性淋巴瘤患者给药而引起的,在放射性标记的抗体给药之前使用这样一种预报来制止或减少这类血液学毒性。例如,已经发现两种临床参数、特别是基线血小板数和骨髓牵连程度是比剂量测定法参数更好的、关于非何杰金氏B细胞性淋巴瘤患者血液学毒性的预报变量。

本文公开的预报然后制止放射免疫治疗剂毒性的方法可以包含各种步骤,包括:(a)测量基线活组织检查中的骨髓牵连程度或基线血小板数;和(b)如果所述基线骨髓牵连程度高于5%,那么将治疗学上有效量未标记的嵌合抗体或人抗体给药,以便所述骨髓牵连程度减少至小于5%。回忆引用在此作为参考文献的美国申请 No. 08/475,813,公开了Rituxan[®](嵌合抗-CD20抗体)与钷-标记的Y2B8鼠单克隆抗体的顺序给药,还公开了该嵌合抗体可以用于在该放射性标记的抗体给药之前消耗B细胞种群,从而有利于联合的治疗与诊断方案。本发明人已经惊人地发现,这类未标记抗体先于放射性标记抗体给药也有效减少骨髓中癌细胞水平升高的患者的骨髓牵连程度,以便这些患者可以是放射免疫疗法的更好的候选者。

因而,可以用在本发明中的消耗抗体包括未标记的抗体,在B细胞性淋巴瘤中优选为未标记的抗-CD20抗体,其中所述抗-CD20抗体是人嵌合抗体或人化抗体。优选地,所述抗体是嵌合的或人抗-CD20抗体,优选地,该嵌合抗-CD20抗体是Rituximab[®]。不过,也可以使用针对其他B细胞表面分子的抗体,只要这类细胞表面分子是在恶性细胞表面上被表达的即可。特别是也可以使用抗-CD19和抗-CD22抗体。

为了在放射性标记的抗体给药之前消耗骨髓中的B细胞,嵌合抗-CD20抗体给药按至少50mg/m²的剂量给药至少一次,更优选为按每周至少50mg/m²的剂量给药至少两周。最优选的剂量范围每周从约100至

约 500 mg/m² 达至少两周，特别包括每周约 375mg/m² 达四周的剂量方案。

可能有这样一种情况，测量本文所述临床参数时，没有在先治疗是减少骨髓牵连水平所必需的。在这类情况下，本发明的方法可以被描述为用放射性标记的治疗性抗体治疗 B 细胞性淋巴瘤患者的改进方法，其中所述改进包括：(a) 使用基线骨髓活组织检查和/或基线血小板数作为血液学毒性的指征；和 (b) 根据最初的骨髓牵连百分比或基线血小板数，将治疗学上有效量的放射性标记的抗体给药。当然，如果临床参数确实提示骨髓牵连水平将引起血液学毒性，也就是如果最初的骨髓牵连百分比提示将存在血液学毒性，特别是如果骨髓牵连水平大于 5%，更特别是大于 15%，最特别是如果骨髓牵连水平大于 25%，那么本发明的改进方法可以进一步包含将一定剂量或剂量方案的未标记抗体先于放射性标记的抗体给药。

尽管任何定向存在于恶性细胞表面的细胞表面分子的抗体都可以用于释放放射性同位素，不过优选地所述放射性标记的抗体与 B 细胞表面分子结合。最优选的是抗-CD20 抗体，其中所述放射性标记的抗-CD20 抗体是用 α -或 β -放射性同位素标记的。鉴于衰退粒子的范围和效力，最优选的同位素是 β -放射性同位素。优选的 β -发射体包括 ⁹⁰Y 和 ¹³¹I，不过 ⁹⁰Y 优选于 ¹³¹I，后者也发出一定的 γ 辐射。⁹⁰Y 也比 ¹³¹I 释放更多的能量 (2.3MeV 对 0.81MeV)，具有更长的路径长度 (5-10mm 对 1-2mm)，这有益于更大面积疾病的治疗，其中与肿瘤外缘细胞结合的抗体可以杀死肿瘤内部的细胞，无需与表面结合。其他适合用在本发明中的放射性核素包括 ¹⁸⁸Re 与 ¹⁸⁶Re、¹⁹⁹Au 和 ⁶⁷Cu。美国专利 No. 5,460,785 提供了适合的放射性同位素列表，引用在此作为参考文献。

优选用在本发明中的放射性标记的抗体是 Y2B8，它是一种通过双官能整合剂与 ⁹⁰Y 缀合的鼠抗-CD20 抗体。Y2B8 的制备和使用公开在美国申请 08/475,813、08/475,815 和 08/478,967 中，引用在此作为参考文献。尽管由于半衰期相对较短，就放射性同位素对人患者给药而言鼠抗体一般优选于嵌合抗体，不过也可以使用人的、嵌合的、结构域缺

失的或人化抗体作为放射免疫治疗剂。这类抗体可以要求不同的剂量，这取决于所缀合的放射性标记和它们的体内稳定性。

本发明方法的一个重要目标是利用未标记的肿瘤细胞定向抗体消耗位于寻求接受放射免疫疗法的患者骨髓中的肿瘤细胞。因而，用在所公开的方法中的未标记抗体的治疗学上有效量是有效减少骨髓牵连程度至低于指定水平的量。特别是如果所述基线骨髓牵连程度高于15%，那么将本发明的未标记抗体给药，以便所述骨髓牵连程度减少至小于15%。更特别是如果所述基线骨髓牵连程度高于25%，那么将本发明的未标记抗体给药，以便所述骨髓牵连程度减少至小于25%。最理想地，如果所述基线骨髓牵连程度高于25%，那么将本发明的未标记抗体给药，以便所述骨髓牵连程度减少至小于15%，最优选为小于5%。实际的剂量将取决于患者的敏感性、所用抗体的类型、所定向的抗原、骨髓牵连水平和基线血小板数。

本发明方法的另一个目标是能够用放射性标记的免疫治疗性抗体治疗癌症患者，特别是B细胞性淋巴瘤患者，以便不需要在前的造影或经典的剂量测定法。本文所公开的临床参数可以取代这类剂量测定法评价，实际上是比用铟-[111]-标记的抗体进行的剂量测定法判断更好的、预期在放射性标记的抗体对特定患者给药后产生的血液学毒性的预报变量。当与美国申请 No. 09/259,337 所公开的放射性标记方法和试剂盒结合使用时，这类方法是特别有用的，有利于快速标记和放射性标记的抗体的方便给药，无需在先纯化。

放射性标记的抗体的剂量当然将取决于特定的患者、特定的抗体、特定的靶和特定的放射性标记。与之有关的还有最初的骨髓牵连程度和在先用未标记的消耗抗体治疗的功效。但是关于⁹⁰Y-标记的抗-CD20抗体、特别是Y2B8，优选的剂量将从约0.1至0.5mCi/kg。技术人员通过常规的优化方法可以确定关于任何特定抗体的适当剂量。

本发明的方法将有益于任何类型的癌症患者，这些类型可能涉及恶性细胞渗入骨髓，即淋巴瘤或白血病型癌症，其中这类患者将另外受益于使用定向这类癌性细胞表面上的细胞表面分子的抗体的放射免疫疗

法。被定向的肿瘤细胞可以包括任何具有浸润骨髓能力的细胞，包括 T 细胞和 B 细胞。

证明本文所公开的方法有用的基础观察结果之一是，当放射性标记的抗体定向骨髓中的细胞时，具有骨髓牵连的患者对放射免疫疗法特别敏感。骨髓中的放射性同位素消融甚至不可能表达被定向的细胞表面分子的正常祖代细胞，从而消耗在正常情况下将有利于放射免疫疗法之后的免疫系统重建的免疫细胞种群。而且，具有骨髓牵连的患者的确不会受益于自体骨髓收获和移植，因为这类移植仅将肿瘤细胞再输注回到患者体内。因而，在放射免疫疗法之前鉴定和矫正骨髓牵连的常规方法将是淋巴瘤治疗领域中有价值的附加措施。在这点上，本文所公开的临床参数同样也将指示由用其他细胞毒部分、例如毒素标记的抗体所带来的骨髓毒性的程度。因而，本文所公开的参数还可以用于预报和制止由细胞毒性抗体给药引起的毒性和骨髓消融。

本发明的方法可以用于治疗各种癌症，特别是 B 细胞性淋巴瘤和白血病，若所述 B 细胞性淋巴瘤是非何杰金氏淋巴瘤 (NHL) 则是特别有用的。Rituximab[®] 已被批准可用于低级滤泡性 NHL 的治疗，但是本发明人已经惊人地发现 Rituximab[®] 也有益于中级与高级 NHL、包括大面积疾病的治疗。因此，可用本发明方法治疗的淋巴瘤包括低级/滤泡性非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)、小淋巴细胞性 (SL) NHL、中级/滤泡性 NHL、中级扩散性 NHL、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、高级成免疫细胞性 NHL、高级成淋巴细胞性 NHL、高级小未分裂细胞性 NHL、大面积 NHL、外膜细胞性淋巴瘤、与 AIDS 有关的淋巴瘤和瓦尔登斯特伦氏巨球蛋白血症，或者任何潜在伴有骨髓牵连的淋巴瘤类型，骨髓牵连可能使放射免疫疗法的功效复杂化。

现在将以下列数据为例，阐述所公开的临床参数的使用示范。

用 Y2B8 对五十八名复发性或顽固性非何杰金氏淋巴瘤 (NHL) 患者 (6% 小淋巴细胞性、65% 滤泡性、24% DLC & DMC、6% 外膜细胞性) 进行 I/II 期研究。在治疗前一周，所有患者用 ¹¹¹In-标记的抗体 (In2B8) 进行造影和剂量测定 (也公开在申请 08/475,813、08/475,815 和

08/478,967 中, 引用在此作为参考文献)。将 Rituximab[®] 250mg/m² 先于造影和放射性标记的治疗性抗体之前给药。对第 2 和第 3 组 50 名门诊患者给以 0.2、0.3 或 0.4mCi/kg 的单一剂量。选择轻微血小板减少患者(血小板 100-150/mm³) 给以 0.4mCi/kg 和 0.3mCi/kg 的 II 期剂量。

接受 0.4mCi/kg 或 0.3mCi/kg 的 II 期患者的骨髓剂量测定法(包括全血 T1/2 与 AUC、得自血液与骶骨的骨髓剂量测定法)对血液学毒性级别分析没有证明有显著的相关性。不过,在淋巴瘤牵连骨髓的程度与 4 级底点(血小板 \leq 25,000/mm³; ANC \leq 500/mm³) 发生率之间证明有显著相关性。无骨髓牵连的患者有百分之八(2/25)发展为 4 级血小板减少,骨髓牵连 0.1-5%的患者有 25% (1/4)、骨髓牵连 5-20%的患者有 45% (5/11)和骨髓牵连 20-25%的患者 100% (6/6)发展为 4 级血小板减少。总之,仅有 5 名(10%)患者发展到血小板数小于 10,000/mm³。

经过一年对立期,平均血清免疫球蛋白保持正常。所有剂量下的全部组织学检查结果中,ORR 为 67% (26% CR 和 41% PR),低级 NHL 中为 82%。根据 Kaplan-Meier 法的预报,应答者的中位 TTP 为 12.9+月,应答持续时间为 11.7+月。基线脾大患者中,4/8 (50%)患者有应答,无脾大患者为 74% (29/39) (p=0.1761)。

这些结果提示,包括基线血小板数和淋巴瘤牵连骨髓的程度在内的临床参数能够代替剂量测定法,用于 Y2B8 和其他放射性标记的抗体对 NHL 患者安全给药。Y2B8 的血液学毒性明显与存在于骨髓中的淋巴瘤细胞的治疗性抗体定向有关。