



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 등록특허공보(B1)**

(45) 공고일자 2011년09월07일  
 (11) 등록번호 10-1063278  
 (24) 등록일자 2011년09월01일

(51) Int. Cl.  
*A61K 39/395* (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)  
 (21) 출원번호 10-2009-7021865(분할)  
 (22) 출원일자(국제출원일자) 1999년08월11일  
 심사청구일자 2009년11월19일  
 (85) 번역문제출일자 2009년10월20일  
 (65) 공개번호 10-2009-0115895  
 (43) 공개일자 2009년11월09일  
 (62) 원출원 특허 10-2009-7001690  
 원출원일자(국제출원일자) 1999년08월11일  
 심사청구일자 2009년02월23일  
 (86) 국제출원번호 PCT/US1999/018120  
 (87) 국제공개번호 WO 2000/09160  
 국제공개일자 2000년02월24일  
 (30) 우선권주장  
 60/096,180 1998년08월11일 미국(US)  
 (56) 선행기술조사문헌  
 Blood, Vol. 90, No. 6, pp. 2188-2195\*  
 \*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자  
**바이오젠 아이텍 인크.**  
 미국 02142 매사추세츠 캠프리지 캠프리지 센터 14  
 (72) 발명자  
**그릴로 로페즈 안토니오**  
 미합중국 캘리포니아 92067 란초 산타 페 피.오. 박스 3797  
 (74) 대리인  
**양영준, 김영**

전체 청구항 수 : 총 11 항

심사관 : 박정민

**(54) B-세포 림프종을 치료하기 위한 항-CD 2 0 항체를 포함하는 약제**

**(57) 요약**

본 발명은 특히, 저급, 중급 또는 고급 비-호지킨 림프종을 가진 환자에게 항-CD20 항체를 투여하는 것을 포함하여 이루어지는, B-세포 림프종의 치료를 위한 신규한 조합치료법을 개시한다.

**특허청구의 범위**

**청구항 1**

저급 또는 여포성 비-호지킨(non-Hodgkin) 림프종의 1차 치료(first-line therapy)로서 항-CD20 항체를 포함하는 제약 조성물 및 화학요법제를 포함하며, 여기서 상기 화학요법제는 시클로포스파미드, 빈크리스틴 및 프레드니손(CVP) 요법으로 구성된 것인 치료학적 조합물.

**청구항 2**

제1항에 있어서, 항-CD20 항체가 리투시맵(rituximab)인 조합물.

**청구항 3**

항-CD20 항체를 포함하는 제약 조성물 및 화학요법제를 포함하며, 여기서 치료적 유효량의 항-CD20 항체는 화학요법제 이전, 동안, 또는 이후에 환자에 투여되고, 화학요법제는 시클로포스파미드, 빈크리스틴 및 프레드니손(CVP) 요법으로 구성된, 거대(bulky) 질환 비-호지킨(non-Hodgkin) 림프종을 제외한 B-세포 림프종 치료용 치료학적 조합물.

**청구항 4**

제3항에 있어서, 상기 항-CD20 항체가 키메라 항-CD20 항체인 조합물.

**청구항 5**

제4항에 있어서, 키메라 항체가 리투시맵인 조합물.

**청구항 6**

제3항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 항-CD20 항체 및 화학요법제의 치료가 유의한 상승적 효과를 제공하는 것인 조합물.

**청구항 7**

제3항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, B-세포 림프종이 비-호지킨 림프종인 조합물.

**청구항 8**

제7항에 있어서, 비-호지킨 림프종이 저급/여포성 비-호지킨 림프종인 조합물.

**청구항 9**

제3항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 항-CD20 항체가 화학요법제와 동시에 환자에 투여되는 것인 조합물.

**청구항 10**

제5항에 있어서, 리투시맵이  $375 \text{ mg/m}^2$ 의 용량으로 투여되는 것인 조합물.

**청구항 11**

제10항에 있어서, 리투시맵이 8회의  $375 \text{ mg/m}^2$  용량으로 투여되는 것인 조합물.

**청구항 12**

삭제

**청구항 13**

삭제

**청구항 14**

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

**청구항 31**

삭제

**명세서**

**발명의 상세한 설명**

**기술분야**

[0001] 본 발명은 B-세포 림프종의 치료에서 항-CD20 항체 또는 이의 단편의 사용, 특히 조합치료법에서 이들 항체 및 단편의 사용에 관한 것이다.

**배경기술**

[0002] CD20 항원에 대한 항체의 B-세포 림프종을 위한 진단제 및/또는 치료제로서의 용도는 이미 보고되어 있다. CD20은 이 항원이 악성 B-세포, 즉, 증식이 줄지 않아 B-세포 림프종을 일으킬 수 있는 B세포의 표면에서 매우 고밀도로 발현되므로, B-세포 림프종에 대한 유용한 표지 또는 표적이다.

[0003] CD20 또는 Bp35는 초기 전-B-세포 발생 동안 발현되는 B-림프구-제한 분화 항원이고, 형질 세포(plasma cell) 분화시까지 남아있다. CD20 분자가 세포 주기 개시 및 분화에 필요한 B-세포 활성화 과정에서 한 단계를 조절할 수 있다고 생각하는 사람들도 있다. 또한, 주지하다시피 CD20은 일반적으로 신생("중양") B-세포 상에 매우 높은 수준으로 발현된다. CD20 항원은 발산, 조절, 또는 세포내 이입이 안되기 때문에 표적 치료에서 관심을 끈다.

[0004] 항-CD20 항체를 포함하는 이전에 보고된 치료법들은 치료적 항-CD20 항체를 단독으로 또는 제 2의 방사성 동위원소로 표지된 항-CD20 항체, 또는 화학요법제와 함께 투여하는 것을 포함한다.

[0005] 사실, 식품 의약품국은 재발된, 이전에 치료된 저급 비-호지킨 림프종(NHL)에 사용하기 위한 이러한 항-CD20 항체 중 하나인, Rituxan<sup>®</sup>의 치료적 용도를 승인하였다. 또한, B-세포 림프종 치료를 위해 방사성 동위원소로 표지된 쥐의 항-CD20 항체와 조합하여 Rituxan<sup>®</sup>을 사용하는 것이 제안되어 왔다.

[0006] 그러나, 항-CD20 항체 및 특히, Rituxan<sup>®</sup>(U.S.; 영국에서는, MabThera<sup>®</sup>; 일반적으로 Rituximab<sup>®</sup>)이 비-호지킨 림프종과 같은 B-세포 림프종 치료에 효과적이라고 보고된 반면, 치료 받은 환자들은 자주 병이 재발하였다. 따라서, 더 효과적인 치료법이 개발된다면 이로울 것이다.

[0007] 더욱 상세하게는, 항-CD20 항체가 다른 림프종 치료와 조합하여 이로운 효과를 낸다면, 그리고 새로운 조합치료법이 개발되어 재발의 가능성 또는 빈도를 줄일 수 있다면 유익할 것이다. 또한, B-세포 림프종에 대한 현재의 치료 프로토콜이 개선되어, 다른 치료법으로 치료하기 어려운 림프종 환자가 키메라 또는 방사성 동위원소로 표지된 항-CD20 항체로 치료될 수 있다면 도움이 될 것이다. 또한, 특히, 다른 치료와 조합하여 항-CD20 항체를 사용하는 치료법이, 저급, 여포성 비-호지킨 림프종(NHL) 이외에 다른 형태의 림프종에 대한 치료법으로 사용될 수 있다면 도움이 될 것이다.

**발명의 요약**

[0009] 본 발명은 B-세포 림프종을 위한 조합치료를 개시하며, 키메라 및 방사성 동위원소로 표지된 항-CD20 항체를 사용하여 재발된 또는 난치성 B-세포 림프종을 치료하는 것의 이점을 보고한다. 특히, 항-CD20 항체를 사용한 치료가 사이토카인, 방사선치료, 골수제거 치료, 또는 화학요법과 조합되어 실시되는 경우 유익한 상승 효과를 주는 것으로 밝혀졌다. 놀랍게도, 이전에 골수 또는 줄기 세포 이식을 받은 환자들은 이전에 치료받지 않은 환자들에 비해 전체 반응률에서 뜻밖의 증가를 나타내었다.

**발명의 내용**

**해결 하고자하는 과제**

[0010] 본 발명은 B-세포 림프종의 치료를 위한 조합치료법을 포함한다. 일반적으로, 그러한 방법은 이전에 림프종 치

료를 받은 환자가 재발하여, 치료적 유효량의 키메라 항-CD20 항체가 투여되는 경우인, 재발된 B-세포 림프종의 치료법을 포함한다. 그러한 사전 치료의 예로는 항-CD20 항체를 사용한 사전 치료, 골수 또는 줄기 세포 이식을 포함한 치료, 방사선 치료 및 화학요법을 들 수 있다. 사전 화학요법은 CHOP, ICE, 미토잔트론(Mitozantrone), 사이타라빈(Cytarabine), DVP, ATRA, 이다루비신(Idarubicin), 호올저(hoelzer) 화학요법체제, 라라(La La) 화학요법체제, ABVD, CEOP, 2-CdA, 이어서 G-CSF 처리를 하거나 또는 하지 않는 FLAG & IDA, VAD, M & P, C-Weekly, ABCM, MOPP 및 DHAP을 포함하는, 광범위한 화학요법체 및 조합법의 그룹으로부터 선택될 수 있다.

**과제 해결수단**

- [0011] 또한, 본 발명의 방법에 포함되는 방법들은 상기한 모든 치료법, 즉, 키메라 항-CD20 항체를 사용하는 치료법, 골수 또는 줄기 세포 이식을 포함하는 치료법, 방사선요법 및 화학요법을 포함하는 다른 치료법으로는 치료하기 어려운 B-세포 림프종을 가진 환자를 치료하는 방법들이다. 특히, 환자에게 방사성 동위원소로 표지된 항-CD20 항체를 투여하는 것을 포함하여 이루어지는, 키메라 항-CD20 항체의 투여 후에 종양 완화 또는 퇴행을 분명하게 나타내지 않는 상기 환자의 치료법이 포함된다.
- [0012] 특히, 키메라 항체 후에 방사성 동위원소로 표지된 항체를 사용하여 환자를 치료하는 방법이 행해져, 상기 키메라 항-CD20 항체를 투여한 후 약 1주 내지 약 2년 동안 방사성 동위원소로 표지된 항-CD20 항체를 투여한다. 더 상세하게는, 상기 키메라 항-CD20 항체를 투여한 후 약 1주 내지 약 9개월 동안 방사성 동위원소로 표지된 항-CD20 항체를 투여한다.
- [0013] 어떤 항-CD20 항체라도 본 발명의 방법에 사용될 수 있지만, 바람직한 키메라 항체는 C2B8(IDEA Pharmaceuticals, Rituximab<sup>®</sup>)이다. 방사성 동위원소로 표지된 항체로는 이트륨-90(<sup>90</sup>Y)으로 표지된 쥐 항체인 Y2B8이 바람직하다. 그러나, 다른 방사성 동위원소로 표지된 항체, 특히 베타 또는 알파 동위원소로 표지된 것도 사용될 수 있다. 항-CD19 항체도 사용될 수 있다.
- [0014] 당해 기술 분야의 기술자는 항-CD20 항체의 특정 형태를 선택하는 파라미터를 알 것이다. 예를 들면, 키메라 및 인간화된 항체는 감소된 면역원성, 및 인간 불변 영역 도메인을 통해 항체작용체 매개 면역반응을 촉진하는데 유리하다. 이와 대조적으로, 쥐 및 다른 포유류의 항체는 일반적으로 생체내에서 감소된 반감기를 가지므로, 방사성 동위원소 표지를 종양 세포로 전달하는데 유리하다.
- [0015] 난치성 또는 재발한 환자에게 처음 행한 항체 치료는 키메라 항체 또는 포유류 항체를 사용하는 최초 치료를 포함할 수 있다. 또한, 항-CD19 항체 및 항-Lym 항체를 포함하는 다른 항체를 사용하는 최초치료, 및 독소와 같은 세포독성 잔기 및 Oncolym<sup>®</sup>(Technicolone) 또는 Bexxar(Coulter)와 같은 방사성 동위원소 표지로 표지된 항체를 사용하는 치료를 포함한다.
- [0016] 본 발명의 조합치료법은 상기 치료가 동시에 주어져, 즉, 항-CD20 항체는 동시에 또는 같은 시간의 틀(time frame) 안에 투여되어(즉, 치료는 동시에 진행되나 약제는 동시에 정확히 투여되지 않는다) 수행될 수 있다는 것이 명백하다. 본 발명의 항-CD20 항체는 또한 다른 치료 전 또는 후에 투여될 수 있다. 완화 또는 재발 가능성을 감소시키기 위해 환자가 첫번째 치료에 반응하는지 여부에 관계없이 연속 투여를 수행할 수 있다.
- [0017] 본 발명의 조합치료법은 하나 이상의 키메라 항-CD 항체 및 하나 이상의 사이토카인을 투여하는 것을 포함하는 B-세포 림프종 치료법을 포함한다. 특히, 본 발명은 단독 투여된 각 치료의 부가적인 효과보다 치료 효과가 더 좋은, 하나 이상의 항-CD20 항체 및 하나 이상의 사이토카인을 포함하는 상승적 치료 조합을 실시하는 것을 포함하는 B-세포 림프종 치료법을 포함한다. 사이토카인은 알파 인터페론, 감마 인터페론, IL-2, GM-CSF 및 G-CSF로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 것이 바람직하다. 또한, 항-CD20 항체 및 사이토카인(들)은 연속적으로, 어느 한 순서로, 또는 조합하여 투여될 수 있다.
- [0018] 또한, 본 발명에 포함되는 방법은 환자에게 치료적 유효량의 키메라 항-CD20 항체를 화학요법 전, 중 또는 후에 투여하는 것을 포함하는 B-세포 림프종의 치료법이다. 이러한 화학요법은 최소한 CHOP, ICE, 미토잔트론, 사이타라빈, DVP, ATRA, 이다루비신, 호올저 화학요법체제, 라라 화학요법체제, ABVD, CEOP, 2-CdA, 이어서 G-CSF 처리를 하거나 또는 하지 않는 FLAG & IDA, VAD, M & P, C-Weekly, ABCM, MOPP 및 DHAP로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다.
- [0019] 또한, 본 발명에 포함되는 방법은 환자에게 치료적 유효량의 키메라 항-CD20 항체를 골수 또는 말초 줄기 세포

이식 전, 중 또는 후에 투여하는 것을 포함하는 B-세포 림프종의 치료법이다. 그러한 골수 이식은 또한 화학요법과 같은 다른 치료법을 수반할 수 있다. 본 발명의 항체는 또한 환자에게 키메라 항-CD20 항체를 투여함으로써 골수 제거 치료 전 또는 후에 골수 또는 줄기 세포 내의 잔류 CD20+ 종양 세포를 감소시키는 방법에 사용될 수 있다. 또한, 그러한 항체는 환자에게 다시 주입하기 전에 종양세포의 세포자멸사를 유도하고, 잔여 종양 세포의 골수 또는 줄기 세포 준비를 감소 또는 치료하기 위하여 시험관 내에서 사용할 수도 있다.

**효 과**

- [0020] 줄기 세포 이식물은 동종이계 또는 자가조직일 수 있다는 것을 이해해야 한다. 이식물이 동종이계, 즉 타인에게서 온 것이라면, 개시된 치료법은 항-CD20 항체의 투여 전에 면역억제제를 사용하는 치료를 포함할 수 있다. 이식물의 수용을 증진시키고, 면역 세포의 생성 및 분화를 자극하기 위해 다른 약제와의 공동-투여도 고려된다. 예를 들면, 골수 이식 수혜자에게 GM-CSF를 투여하면, 특정 골수 세포의 발달을 촉진시키고, 이는 순환하는 감염과 싸우는 호중구를 생성하여, 골수 이식 수혜자의 생존율이 증가되는 것으로 나타났다.
- [0021] 본 발명의 방법은 저급/여포성 비-호지킨 림프종(NHL), 소형 림프구성 (SL) NHL, 중급/여포성 NHL, 중급 광범성 NHL, 고급 면역아세포 NHL, 고급 림프아세포 NHL, 고급 소형 미분열 세포 NHL, 거대(bulky) 질환 NHL 및 월덴스트롬(Waldenstrom) 마크로글로불린혈증을 포함하는 다양한 B-세포 림프종의 치료에 사용될 수 있다. 당해 기술 분야의 기술자들에게는 이들 림프종이 종종 분류체계의 변화로 인해 다른 이름을 가질 것이고, 다른 이름으로 분류된 림프종을 가진 환자는 또한 본 발명의 조합치료법으로부터 이득을 얻을 수 있다는 것이 명백할 것이다.
- [0022] 예를 들어, 유럽 및 미국 병리학자들에 의해 제안된 최근 분류체계는 개정된 유럽 미국 림프종(REAL) 분류라고 불린다. 이 분류체계는 다른 말초 B-세포 종양 중에서 외피세포 림프종 및 주변 세포 림프종을 인지하고, 몇몇 분류를 세포학에 기초한 등급들, 즉, 소형 세포, 혼합된 소형 및 대형, 대형 세포로 분리한다. 이렇게 분류된 림프종은 모두 본 발명의 조합치료법으로부터 이득을 얻을 수 있다는 것이 이해될 것이다.
- [0023] 미국 국립 암 협회(NCI)는 몇몇 REAL 류를 임상적으로 더 유용한 "무통성" 또는 "공격성" 림프종으로 나누었다. 무통성 림프종은 세포학 "등급"으로 분리된 여포 세포 림프종, 광범성 소형 림프구 림프종/만성 림프구 백혈병 (CLL), 림포플라즈마시토이드/월덴스트롬 마크로글로불린혈증, 주변 지대 림프종 및 헤어리(Hairy) 세포 백혈병을 포함한다. 공격성 림프종은 광범성 혼합된 및 대형 세포 림프종, 버킷(Burkitt) 림프종/광범성 소형 미분열 세포 림프종, 림프아세포 림프종, 외피세포 림프종 및 AIDS-관련 림프종을 포함한다. 이들 림프종은 또한 본 발명의 조합치료법으로부터 이득을 얻을 수 있다.
- [0024] 비-호지킨 림프종은 또한 저급, 중급 및 고급 림프종을 포함하는 다른 질병 특성에 기초한 "등급"을 기초로 하여 분류되어 왔다. 저급 림프종은 일반적으로 결절성 질환으로 존재하며, 흔히 무통성이거나 서서히 성장하는 것이다. 중급 및 고급 질환은 일반적으로 큰 외부결절성 거대 종양과 함께 더욱 더 공격적인 질환으로 존재한다. 저급 NHL 뿐만 아니라 중급 및 고급 질환도 본 발명의 조합치료법으로부터 이득을 얻을 수 있다.
- [0025] 또한, 앤 아버(Ann Arbor) 분류체계는 일반적으로 NHL에 걸린 환자에 대해 사용된다. 이 분류체계에서, 성인 NHL의 단계 I, II, III 및 IV는 환자가 잘 정의된 일반화된 증상을 가지는지(B) 또는 가지지 않는지(A)에 따라 A 및 B 카테고리 분류될 수 있다. B는 하기 증상을 가진 환자에게 주어진다: 진단 6개월 전에 이유가 밝혀지지 않은 10% 이상의 체중감소, 이유가 밝혀지지 않은 38°C 이상의 열 및 흠뻑젓는 도한. 때때로, 특화된 단계 체계가 사용된다:
- [0026] 단계 I - 단일 림프절 영역의 침습 또는 단일 외부림프 기관 또는 부위의 국부적 침습.
- [0027] 단계 II - 횡경막의 동일 면 상에 둘 이상의 림프절 영역 침습 또는 단일 관련된 외부림프 기관 또는 부위 및 횡경막의 동일 면 상에 다른 림프절 영역을 가지거나 또는 가지지 않는 이의 국부적 림프절의 국부적인 침습.
- [0028] 단계 III - 횡경막의 양면 상의 림프절 영역 침습, 외부림프 기관 또는 부위의 가능한 수반하는 국부적인 침습, 비장의 침습, 또는 양쪽 모두.
- [0029] 단계 IV - 관련된 림프절 침습을 가지거나 또는 가지지 않는 하나 이상의 외부림프 부위의 산포된(다중-초점) 침습 또는 먼(비-국부적) 결절성 침습을 가지는 분리된 외부림프 기관 침습.
- [0030] 더 자세하게는, 문헌(The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project: A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *New England J.Med.* 329(14): 987-994(1993))을 참조한다.

**발명의 실시를 위한 구체적인 내용**

- [0031] 바람직한 항체, 투약법 및 치료의 특정 조합은 하기 실시예 데이터로 설명될 것이다.
- [0032] **리투시맵(Rituximab<sup>®</sup>) 및 Y2B8**
- [0033] 미국에서 비-호지킨 림프종(NHL) 환자는 거의 250,000명이다. NHL을 가진 환자들 대부분은 화학요법, 방사선요법, 또는 자가조직의 골수(ABMT) 또는 말초 혈액 줄기 세포(PBSC) 지지체를 사용한 고투여량 치료법에 의해 치료되지 않는다.
- [0034] 비-호지킨 림프종의 약 80%는 B-세포 악성이고, 이들 중 >95%는 세포 표면 상에 CD20 항원을 발현시킨다. 이 항원은 조혈 줄기 세포, 프로-B-세포, 정상 형질 세포, 또는 다른 정상 조직 상에서가 아니라, B-세포 상에서만 발견되기 때문에 면역 치료에서 눈에 띄는 표적이다. 이는 세포 표면으로부터 발산되지 않고, 항체 결합 상에서 조절되지 않는다(1).
- [0035] Rituximab<sup>®</sup>는 짧은 반감기, 인간 작용체 기능의 자극에 대한 제한된 능력, 및 면역원성을 포함하는, 쥐 항체가 마주치는 한계를 극복하기 위해 개발된 새로운 세대의 모노클로날 항체 중 하나이다(2,3).
- [0036] Rituximab<sup>®</sup>은 쥐의 경쇄 및 중쇄 가변 영역 및 인간 감마 I 중쇄 및 카파 경쇄 불변 영역으로 유전적으로 조작된 모노클로날 항체이다. 키메라 항체는 451 아미노산의 두 중쇄 및 213 아미노산의 두 경쇄로 구성되고, 약 145kD의 분자량을 가진다. Rituximab<sup>®</sup>는 보체를 고정하고 ADCC를 매개하는데 있어서 원래의 쥐 항체보다 더 효과적이고, 이것은 인간 보체의 존재 하에 CDC를 매개한다(4). 항체는 B-세포주 FL-18, Ramos, 및 Raji에서 세포 증식을 저해하고, 내화학(chemoresistant) 인간 림프종 세포주를 디프테리아 독소, 리신, CDDP, 독소루비신, 및 에토포시드(etoposide)에 민감하게 하고, 투여량-의존성 방식으로 DHL-4 인간 B-세포 림프종 주에서 세포자멸사를 유도한다(5). 인간에서, 첫번째 주입 후에 항체의 반감기는 약 60시간이고, 각 투여마다 증가해서 네번째 주입 후 174시간까지 증가한다. 항체의 면역원성은 낮다; 일곱 개의 임상 연구에서 355명의 환자들 중에 단지 3명(<1%)만이 검출가능한 항-키메라 항체(HACA) 반응을 나타내었다.
- [0037] Rituximab<sup>®</sup>은 쥐 2B8 항체를 사용하여 유전적으로 조작되었다. 2B8 항체는 또한 진단 및 치료 목적을 위해서 다른 방사성 동위원소 표지에 접합되었다. 이 때문에, 본 명세서 전반에 참조 문헌으로 통합된, 함께 계류 중인 출원 번호 제 08/475,813호, 제 08/475,815호 및 제 08/478,967호는, 치료 항체의 투여 전에 B-세포 림프종 종양의 진단 "이미지화(imaging)"를 위해 방사성 동위원소로 표지된 항-CD20 접합체를 개시한다. "In2B8" 접합체는 2기능성 킬레이터, 즉, 1-이소티오시아나토벤질-3-메틸-DTPA와 1-메틸-3-이소티오시아나토벤질-DTPA의 1:1 혼합물을 포함하여 이루어지는 MX-DTPA(디에틸렌트리아민펜타아세트산)를 통해 인듐[111](<sup>111</sup>In)에 부착되는, 인간 CD20 항원에 특이적인 쥐의 모노클로날 항체인 2B8을 포함하여 이루어진다. 인듐-[111]은 이것이 감마 방사선을 방출하고 이미지화제로서 이전에 사용된 바 있으므로 진단용 방사성 핵종으로 선택된다.
- [0038] 킬레이터 및 킬레이터 접합체와 관련된 특허가 당해 기술 분야에 공지되어 있다. 예를 들면, 갠소우(Gansow)의 미국 특허 제 4,831,175호는 다치환된 디에틸렌트리아민펜타아세트산 킬레이트 및 이를 함유하는 단백질 접합체, 및 이의 제조방법에 관한 것이다. 또한, 갠소우의 미국 특허 제 5,099,069호, 제 5,246,692호, 제 5,286,850호 및 제 5,124,471호는 다치환된 DTPA 킬레이트에 관한 것이다. 이들 특허는 전체가 본 명세서에 통합되어 있다.
- [0039] MX-DTPA에서 킬레이트화를 촉진시키기 위해 사용되는 특정 2기능성 킬레이터는 그것이 3가 금속에 대해 고도의 친화력을 가지고, 증가된 종양 대 비종양 비율, 감소된 뼈 흡수, 및 표적 부위, 즉, B-세포 림프종 종양 부위에서 방사성 핵종의 더 큰 생체내 보유력을 제공하기 때문에 선택되었다. 그러나, 다른 2기능성 킬레이터가 당해 기술 분야에 공지되어 있고, 종양 치료에서 유리할 수도 있다.
- [0040] 또한, 미국 특허 제 5,736,137호에는 B-세포 림프종 및 종양 세포의 표적화 및 파괴를 위한 방사성 동위원소로 표지된 치료적 항체들이 개시되어 있다. 특히, Y2B8 접합체는 동일한 2작용성 킬레이터를 통해 이트륨-[90](<sup>90</sup>Y)에 부착된, 동일한 항-인간 CD20 쥐 모노클로날 항체인 2B8을 포함하여 이루어진다. 이 방사성 핵종은 여러가지 이유로 치료용으로 선택된다. <sup>90</sup>Y의 64시간 반감기는 종양에 의해 항체가 축적되기에 충분히 길고, 예를 들어, <sup>131</sup>I와는 달리 이것은 100 내지 1000 세포 직경 범위를 가지는, 자연붕괴시 감마 방사선을 수반하지 않

는 고에너지의 순수한 베타 방사체이다. 최소량의 침투 방사선은 외래환자에게 <sup>90</sup>Y-표지된 항체 투여를 허락한다. 또한, 표지된 항체의 세포내 이입이 세포 사멸에 필요하지 않고, 이온화 방사선의 국부적 방출은 표적 항원이 결여된 인접한 종양 세포에 치명적이어야 한다.

[0041] <sup>90</sup>Y 방사성 핵종은 동일한 2기능성 킬레이터 분자 MX-DTPA를 사용하여 2B8 항체에 부착되었으므로, Y2B8 접합체는 예를 들면, 표적 부위(종양)에서 증가된 방사성 핵종의 보유력과 같은 상기 논의된 것과 동일한 이점을 가진다. 그러나, <sup>111</sup>In과 달리 이것은 이와 관련된 감마 방사선의 결여로 인하여 이미징 목적에는 사용될 수 없다. 따라서, <sup>111</sup>In과 같은 진단적 "이미징화" 방사성 핵종은 본 발명의 조합법에서 치료적 키메라 또는 <sup>90</sup>Y-표지된 항체의 투여 전 및/또는 후에 종양의 위치 및 상대적인 크기를 결정하는데 사용될 수 있다. 또한, 인듐-표지된 항체는 수행될 선량 측정 평가를 가능하게 한다.

[0042] 항체의 의도된, 즉, 진단제 또는 치료제로서의 사용에 따라, 다른 방사성 동위원소 표지가 당해 기술 분야에 공지되어 있고, 유사한 목적을 위해 사용되어 왔다. 예를 들면, 임상 진단에서 사용되어 온 방사성 핵종에는 <sup>111</sup>In 뿐만 아니라 <sup>131</sup>I, <sup>125</sup>I, <sup>123</sup>I, <sup>99</sup>Tc, <sup>67</sup>Ga가 포함된다. 항체들은 또한 표적화된 면역요법에서의 잠재적인 사용을 위해 다양한 방사성 핵종으로 표지되어 왔다(Peirersz et al.(1987) The use of monoclonal antibody conjugates for the diagnosis and treatment of cancer. *Immunol. Cell Biol.* 65: 111-125). 이러한 방사성 핵종에는 <sup>90</sup>Y 뿐만 아니라 <sup>188</sup>Re 및 <sup>186</sup>Re도 포함되고, 더 적은 정도로 <sup>199</sup>Au 및 <sup>67</sup>Cu도 포함된다. I-(131)는 치료적 목적을 위해서도 사용되어 왔다. 미국 특허 제 5,460,785호는 이러한 방사성 동위원소의 목록을 제공하며, 본 명세서에는 참조문헌으로 통합되어 있다.

[0043] 미국 특허 제 5,736,137호에 보고된 바와 같이, 비표지 키메라 항-CD20 항체 뿐만 아니라, 방사성 동위원소로 표지된 Y2B8 접합체의 투여로 B-세포 림프아세포 종양을 가진 마우스에서 종양이 상당히 감소되었다. 또한, 상기 특허에 보고된 인간 임상 실험은 림프종 환자에게 키메라 항-CD20 항체를 주입하면 상당한 B-세포 제거가 나타났음을 보여주었다. 사실, 키메라 2B8은 최근 Rituxan<sup>®</sup> 라는 이름으로 국가의 첫번째 FDA-승인된 항암 모노클로날 항체로 공지되었다. 따라서, 하나 이상의 키메라 항-CD20 항체가 B-세포 림프종 치료에서의 치료 효능을 나타내는 것으로 나타났다.

[0044] 또한, 본 명세서에 인용에 의해 통합된 미국 특허 제 5,736,137호는 인듐-표지된 또는 이트륨-표지된 쥐의 모노클로날 항체 중 하나 또는 둘 다를 사용한 키메라 항-CD20, Rituxan<sup>®</sup> 의 연속 투여를 개시하고 있다. 이들 조합치료에 사용된 방사성 동위원소로 표지된 항체는 쥐 항체이지만, 키메라 항-CD20을 사용한 최초 치료는 HAMA 반응이 감소되도록 B-세포 집단을 충분히 제거하여, 조합치료 및 진단법을 촉진시킨다.

[0045] 따라서, 조합 면역치료와 관련하여, 쥐 항체는 특히 진단제로서 유용성을 찾을 수 있다. 또한, 미국 특허 제 5,736,137호에는, Rituxan<sup>®</sup> 투여에 이어 이트륨-표지된 항-CD20 항체의 치료적으로 유효한 투여는 (a) 키메라 항-CD20 항체로는 제거되지 않는 어떤 잔여 말초 혈액 B-세포를 제거하거나; (b) 림프절로부터 B-세포 고갈을 시작하거나; 또는 (c) 다른 조직으로부터 B-세포 고갈을 시작하기에 충분한 것으로 나타났다.

[0046] 따라서, 암 치료 항체에 대한 방사성 동위원소 표지의 접합은 그러한 항체의 잠재적인 치료 효능을 평가하고, 치료 과정을 관찰하기 위한 진단제를 만들고, 키메라 항체의 초기 종양-사멸 잠재력을 증진시키는데 사용될 수 있는 부가적인 치료제를 고안하는데 사용될 수 있는 유용한 임상적 도구를 제공한다. 비-호지킨 림프종 치료에서 항-CD20 항체의 입증된 효능 및 방사성에 대한 림프구의 공지된 감도가 주어진다면, 재발 또는 난치성 비-호지킨 림프종의 빈도를 감소시키는 조합치료법에서 그러한 키메라 및 방사성 동위원소로 표지된 치료 항체의 용도를 밝히는 것은 매우 유익하다. 또한, 다른 B-세포 림프종의 치료에서의 그러한 조합치료법의 용도가 밝혀진다면 이로울 것이다.

[0047] **저급 또는 여포성 NHL**

[0048] 재발 또는 난치성 NHL의 단일-약제 연구

[0049] Rituximab<sup>®</sup>의 FDA 승인은 주로 저급 또는 여포성 NHL에 걸린 환자에서의 5개의 단일-약제 연구를 기초로 하였다. 10-500 mg/m<sup>2</sup> 범위의 단일 Rituximab<sup>®</sup> 주입의 초기 I기 연구에 의하면, 최대 면역관용 투여량에 도달하지 않았지만; 최고 투여량에서 주입 시간의 길이는 외래환자 치료에 알맞게 고려되지 않았다. 15명의 환자 중에

ORR은 13%(표1)(6)이었다.

**표 1**

Rituximab<sup>(R)</sup>: 효능 결과 요약

연구 설명	지시	N*	ORR	CR	PR	중양값 DR (개월)	중양값 TIP (개월)	참조 문헌
I/II기, 단일-투여량 단 일 약제	재발 B-세포 림프종	15	2(13%)	0(0%)	2(13%)	NA†	8.1	6
I/II기, 다중-투여량 투 여량-범위	재발 저급, 중급 및 고급 림프종	34	17(50%)	3(9%)	14(41%)	8.6	10.2	7
II기; CHOP와 조합된 다중-투여량	새로 진단 및 재발된 저급 또는 여포성 B-세포 림프 종	38	38(100%)	22(58%)	16(42%)	35.3+	36.7+	21,22
III기; 다중-투여량 단 일-약제	재발 저급 또는 여 포성 B-세포 림프종	151	76(50%)	9(6%)	67(44%)	11.6	13.2	8,9
II기; 다중-투여량 단 일-약제	재발 저급 또는 여 포성 B-세포 림프종	35	21(60%)	5(14%)	16(46%)	13.4+	19.4+	13
II기; 인터페론과 조 합된 다중-투여 량	재발 저급 또는 여 포성 B-세포 림프종	38	17(45%)	4(11%)	13(34%)	22.3+	25.2+	29
II기; 다중-투여량 단 일-약제	재발 저급 또는 여 포성 B-세포 림프종 거대질환	28	12(43%)	1(4%)	11(39%)	5.9	8.1	14
II기; 다중-투여량 단 일-약제	재발 저급 또는 여 포성 B-세포 림프종, 재치료	57	23(40%)	6(11%)	17(29%)	15.0+	16.7+	19,20
II기; CHOP양상 과 조합된 다중-투여량	이전에 치료되지 않 은 중급 또는 고급 림프종	30	29(96%)	19(63%)	10(33%)	11+	17+	34
II기; 선택적 다중-투여	중급 또는 고급 B- 세포 림프종	54	17(32%)	5(9%)	12(22%)	NA†	8.2+	33
*N=평가 가능한 환자수								
†언지 못함								

[0051] I/II 기 투여량-범위 연구 중 I 기에서, 환자에게 125-375 mg/m<sup>2</sup>을 4회의 매주 주입으로 투여하였다. 투여량 관련 독성은 나타나지 않았고, 375mg/m<sup>2</sup>을 II 기 투여량으로 선택하였다. 이러한 투여량을 투여한 37명의 환자 중 17명(46%)에게서 중양 퇴행이 관찰되었고, 3명(8%)에게서 완전한 반응(CR) 및 14명(38%)에게서 부분적 반응 PR이 관찰되었다(7).

[0052] 이어서, 주당 375 mg/m<sup>2</sup>의 Rituximab<sup>(R)</sup>을 4회 주입하는 단일부문 중추 연구(single-arm pivotal study)를 166 명의 재발 또는 난치성의 저급 또는 여포성 NHL(International Working Formulation[IWF] Types A-D and REAL classification, small lymphocytic lymphoma, Follicular center, follicular Grades I, II, III(8)) 환자에게 실시하였다. 종양 크기 >10cm 또는 말초 혈액 중 > 5000 림프구/ $\mu$ l인 환자를 연구에서 제외하였다. 중양값 연령은 58세였고(105명의 남성 및 61명의 여성), 이전 치료의 중양값 수는 3이었다. 평가된 환자 149명 중 56%에게 골수 침습이 존재하였다. 45%는  $\geq 2$  외부결절 부위를 가졌고, 41%는 거대 질환( $\geq 5$ cm)을 가졌다.

[0053] 완전한 반응(CR)은 목, 가슴, 배 및 골반 CT 스캔에서, 적어도 28일 간격으로 2회에 나타난 모든 림프절의 <1x1 cm로의 퇴행, 림프종의 모든 증상 및 징후의 해소 및 골수, 간 및 비장의 정상화를 필요로 했다. 부분적 반응

(PR)은 적어도 28일 동안 진행성 질환의 증거가 전혀 없이 병변의 수직 측정 생성물의 합이  $\geq 50\%$  감소하는 것을 필요로 했다. CR 또는 PR을 얻지 못한 환자는 측정가능한 질환의 순감소( $>50\%$ )가 관찰되더라도 비-반응자로 간주하였다. 질병 진행까지의 시간은 첫번째 주입부터 진행까지를 측정하였다.

[0054] 총 반응률(ORR)은 CR 6% 및 PR 42%로 48%였다. 반응자의 질병 진행까지의 시간(TTP)의 중앙값은 13.2개월이었고, 반응 지속 기간(DR)의 중앙값은 11.6개월이었다. 반응자 80명 중 22명(28%)은 20.9+ 내지 32.9+ 개월에 완화가 진행중이었다(9).

[0055] Rituximab<sup>®</sup>을 투여하면, B-세포가 신속하고 지속적으로 제거되었다. 순환성 B-세포는 처음 세번 투여로 제거되었고, 6개월 내지 9개월까지 후-치료하는 동안 환자 중 83%에게 제거가 지속되었다. 치료 12개월 후에 중앙값 B-세포 수준은 정상으로 회복되었다. 중앙값 NK 세포 수는 변화가 없었으나, 베이스라인의 NK 세포의 더 높은 절대수와 Rituximab<sup>®</sup>에 대한 반응 사이에는 명확한 상관관계가 관찰되었다(10).

[0056] 베이스라인 예후 인자 몇가지를 분석하여 이들의 반응에 대한 상관관계를 결정하였다. 두드러지게, ABMT 또는 PBSC 이후 재발한 환자 23명 중 ORR은 78%인데 비해, 이전의 고투여량 치료를 받지 않은 환자에서는 43%였다 ( $p<0.01$ ). 다변수 분석에서, ORR은 여포성 NHL 환자가 소형 림프구성 림프종 환자에 비해 더 높았고(58% 대 12%,  $p<0.01$ ), 화학 민감성 재발 환자가 화학 내성 재발 환자에 비해 더 높았다(53% 대 36%,  $p=0.06$ ). 반응률에 미치는 효과는 연령 $>60$ 세, 외부결절 질환, 이전의 안트라사이클린 치료 또는 골수 침습과 전혀 상관이 없었다.

[0057] 중앙값 혈청 항체 농도와, 치료 및 추적검사 동안 여러 시점에서의 반응 간에 통계적으로 큰 상관관계가 있는 것으로 밝혀졌다(11).

[0058] 혈청 항체 수준은 소형 림프구성 림프종 환자에 비해 여포성 NHL 환자에게서 더 높았다. 평균 혈청 항체는 또한 중앙 크기 측정 및 베이스라인에서의 순환성 B-세포 수와 역의 상관관계가 있었다. 낮은 혈청 항체 농도와 다수의 순환성 NHL 세포 및 더 높은 중앙 크기와의 관계는, 항체 클리어란스의 주요 모드가 중앙 세포에 대한 것임을 제시한다. 더 높은 혈청 항체 농도와 반응 및 작은 중앙 크기 또는 순환 세포와의 관계는, 거대 질환 환자와 같은 일부 그룹의 환자에게서 반응을 유도하기 위하여 Rituximab<sup>®</sup>의 더 높은 또는 더 많은 투여가 필요할 수 있다는 것을 제시한다.

[0059] 그룹에도 불구하고, Rituximab<sup>®</sup>를 사용하여,  $>5\text{cm}$  종양을 가진 환자 중 43%,  $>7\text{cm}$ 의 종양을 가진 환자 중 35%에서 반응이 나타났으며, 이로써 Rituximab<sup>®</sup>를 사용하여 거대 질환을 갖는 환자를 치료할 수 있는 것으로 제시되었다. 항체 치료가 종양의 밀집특성으로 인해 거대 질환 치료에 도움이 되지 않는다는 오랜 관념을 고려할 때, 이는 놀랄만하다.

[0060] 일본에서 실시된 연구(12)에서, 재발 B-세포 림프종 환자를 주당 Rituximab<sup>®</sup> 250mg/m<sup>2</sup>(N=4) 또는 375mg/m<sup>2</sup>(N=8)으로 4회 사용하여 치료하였다. 11명의 평가가능 환자 중 8명은 여포성 NHL을 가졌고, 2명은 광범성 대형 세포 NHL을 가졌으며, 1명은 외피세포 림프종을 가졌다. 11명 중 2명은 CR, 5명은 PR로, 64%의 ORR이었고, 모든 반응자는 여포성 조직학을 가졌다.

[0061] Rituximab<sup>®</sup> 혈청 수준 및 반응은 이전 연구를 통하여 명확하게 상관관계를 가지므로, 주당 375mg/m<sup>2</sup>의 Rituximab<sup>®</sup>을 8회 투여하는 II기 연구를 저급 또는 여포성 NHL 환자에게 실시하였다. ORR은 평가가능 환자 중 60%였고, CR률 14%, PR률 46%였다. 반응자의 TTP 및 DR의 중앙값은 각각 13.4+개월 및 19.4+개월이었다(13). 연구를 통하여 비교는 어렵지만, TTP 및 DR은 더많은 투여량을 사용하여 개선 가능한 것으로 보인다.

[0062] 항체 치료가 미소 전이 (micrometastatic) 질환에만 유용하다는 초기 가정과는 달리, Rituximab<sup>®</sup>는 고도의 거대 질환에 상당히 유효하다. 별도의 연구에서, 재발 또는 난치성의, 거대 저급 NHL 환자 31명(직경 $>10\text{cm}$ 의 단 일 병변)에게 주당 375mg/m<sup>2</sup> Rituximab<sup>®</sup>을 4회 주입으로 투여하였다. 28명의 평가가능 환자 중 12명(43%)은 CR(1,4%) 또는 PR(11, 39%)을 나타내었다(14).

[0063] **월덴스트롬의 마크로글로불린혈증(Waldenstrom's Macroglobulinemia)**

[0064] 월덴스트롬의 마크로글로불린혈증(WM)은, B-림프구가 과량의 IgM 항체를 분비하는 악성종양이다. WM은 일반적으로 60세 이상의 사람에게 발생하나, 30대 초의 성인에서도 발견되었다. 오늘날 WM은 희귀한 불치의 무통성

악성종양으로 간주되며, 과거에는 혈청 점도를 감소시키기 위하여 혈장분리반출법으로 치료되었다. 알킬화제 및 코르티코스테로이드와 같은 화학치료 약물이 종종 처방되었다. WM에 가장 추천되는 약물은 류스타틴(Leustatin, 2CdA)였다.

[0065] 환자들이 Rituximab<sup>®</sup>(주당 375mg/m<sup>2</sup> 4회)로 치료된 경우인(15) 월덴스트롬 마크로글로블린혈증 환자 7명에 대한 보고서에서 환자 중 4명(57%)에서의 반응이 주목되었다. 중앙값 진행이 없는 생존 기간은 8개월이었다(3-27+ 개월의 범위). 따라서 Rituximab<sup>®</sup>은 특히 2CdA와 같은 화학치료를 사용한, 조합치료 프로토콜에 유용하다.

[0066] **만성 림프구성 백혈병(CLL)**

[0067] CLL은 소형 림프구성 림프종(SLL)의 체액(백혈병성) 증가증이다. SLL 환자는, Rituximab<sup>®</sup> 표준 투여량으로 치료시 다른 저급 NHL서브타입 환자보다 혈청 수준이 낮고 반응률이 낮다. 이는 아마도 CLL 환자의 순환성 종양 세포 수준이 매우 높고, CLL에 관련된 악성 세포가 세포 표면에서 감소된 수준의 CD20 발현을 갖기 때문으로 보인다.

[0068] 그럼에도 불구하고, 본 발명자들은 CLL과 같은 혈액학적 악성종양이 Rituximab<sup>®</sup>로 치료될 수 있다는 것을 발견하였다. 최근 임상 연구를 통해 CLL환자를 더 높은 투여량의 Rituximab<sup>®</sup>로 치료하여 평가하였다(16). 모든 환자에는 375mg/m<sup>2</sup>을 1차 투여하여 주입-재발 부작용을 최소화하였다. 이어서, 주당 투여(3)는 동일하였으나, 증가된 투여량 수준으로 실시하였다. 16명의 환자는 500 내지 1500mg/m<sup>2</sup>의 투여량으로 치료하였다. 중앙값 연령은 66세(범위, 25-78)였다. 81%는 말기 III-IV 질환이었다. 중앙값 백혈구 수는 40x10<sup>9</sup>/L(범위, 4-200), Hgb 11.6g/dl(범위, 7.7-14.7), 혈소판 75x10<sup>9</sup>/L (범위, 16-160), 중앙값 β<sub>2</sub> 면역글로블린은 4.5mg/L(범위, 3.1-9.2)였다. 이전 치료법의 중앙값 수는 2.5(범위 1-9)였다. 60%의 환자는 난치성이었다. 두명의 환자는 1차 투여(375mg/m<sup>2</sup>)시 심각한 고혈압이 발생하였고, 다른 한명은 추가 치료를 받았다. 1500mg/m<sup>2</sup> 투여 수준에서 환자를 완전히 평가하지 않았으나, 연이은 단계확대 투여시 독성은 약하였다. 8명의 환자는 완치되었다(500mg/m<sup>2</sup>에서 4명, 650mg/m<sup>2</sup>에서 3명, 825mg/m<sup>2</sup>에서 1명). 560mg/m<sup>2</sup>으로 치료한 환자 한명은 완전히 완치되었다. 한명의 환자는 치료시 진행성 림포시토시스를 가지며, 모든 다른 환자는 말초 혈액 림포시토시스가 감소하였으나, 림프절에는 효과가 적었다. 투여량 단계적 확대 연구는 진행중이다.

[0069] CLL 환자의 반응을 개선하기 위한 또다른 접근방식은 사이토카인을 사용하여 CD20 항원을 상향조절하는 것이다. 시험관 내 연구에서, CLL 환자로부터의 단핵 세포를 24시간동안 다양한 사이토카인을 사용하여 배양하였다. 유세포분석 결과는 IL-4, GM-CSF 및 TNF-알파를 사용하여 상당히 상향-조절되는 것으로 나타났다(17). 사실상, 최근 데이터에 따르면, CLL 세포에서 관찰되는 CD20의 상향 조절은 종양 세포로 한정될 수 있다고 제시된다(Venogopal et al. Poster-PanPacific Lymphoma meeting, June 1999. 만성 림프구성 백혈병(CLL) 세포에서 CD20 항원 발현의 사이토카인-유도된 상향 조절은 종양 세포로 한정될 수 있다.). 예비 데이터 또한, 인터페론 알파도 500 내지 1000U/ml의 농도로 적용시 24시간만에 CLL 세포 상의 CD20을 상향조절하는 것으로 제시한다.

[0070] 따라서, 특정 사이토카인을 CLL 환자에게 Rituximab<sup>®</sup> 투여 이전 또는 동시에 투여함으로써, 악성 B-세포의 표면상 CD20 발현은 상향조절될 수 있으며, 이로써 CD19와 같은 다른 세포 표면 표지뿐 아니라 더욱 효과적인 면역치료 표적인 CD20을 만들 수 있다. 생체 내 CD20 상향조절을 위한 사이토카인 최적 투여량을 시험하기 위하여, 공동 연구를 시작하였다. 연구 프로토콜은 초기에 GM-CSF 250mcg/m<sup>2</sup> SQ QD X 3 를 사용하여 10명의 환자를 치료하고, IL-4mcg/kg SQ QD X 3로 10명, G-CSF 5mcg/kg SQ QD X 3으로 10명의 환자를 치료하는 것을 포함한다. 세포자멸사 연구용 피콘 하이파크(Ficon Hypaque) 원심분리를 통하여 단핵 세포를 분리하여, CD20의 상향조절로 Rituximab<sup>®</sup>에 의한 종양 세포 사멸이 증진되는지를 확인한다.

[0071] CLL 항체 치료법을 CLL 치료에 유용한 것으로 알려진 다른 통상적인 화학요법과 결합할 수 있다. CLL에 가장 자주 사용되는 단일 약제는 클로람부실(류케란)으로, 일일 0.1mg/kg 또는 매 4주마다 0.4 내지 1.0mg/kg 로 투여한다. 클로람부실은 경구 프레드니손(30 내지 100mg/m<sup>2</sup>/d)과 종종 결합되며, 자가 면역 세포감소증 치료에 유용하다. 시클로포스파미드를 클로람부실 대신 사용가능하며, 일반적인 투여량은 빈크리스틴 및 스테로이드(예를 들어, COP법)와 함께 매 3-4주에 1-2g/m<sup>2</sup>를 투여한다.

[0072] 다양한 약물 조합물이 CLL에 사용되었으며, COP(시클로포스파미드, 은코빈 및 프레드니손) 및 CHOP(이러한 세

약물 + 독소루비신)가 포함된다. 플루다라빈은 CLL 치료에 효과를 보였고, 매 3-4주마다 25-30mg/m<sup>2</sup>/d로 치료한 환자의 그룹에서 50%의 ORR이 나타났다. 환자중 일부는 플루다라빈으로 치료되기 어려운 것으로 나타났다. 플루다라빈에 불치인 환자는 2-CDA에도 치료되기 어려운 경우가 많으므로, 이러한 환자는 또한 2-CdA 에 내성이 있을 수 있다(O'Brien et al. N. Engl. J. Med. 330:319-322(1994)).

[0073] 따라서, 항-CD20 항체 치료는 화학치료 약물로 치료한 후 재발되거나 난치인 환자에게 특히 유용한 것이다. 이러한 환자에게 Rituximab<sup>®</sup> 치료법은 방사선요법과 결합될 수도 있다. 15 cGy의 단편 크기가 작은 TBI를 총투여량 75 내지 150cGy로 하면 환자 중 약 3분의 1에 효과적인 것으로 나타났다.

[0074] II기 임상시험이 CLL 환자에게 CALGB로 현재 실시되고 있다. Rituximab<sup>®</sup> 및 플루다라빈은 동시에 투여되고, 그 결과 Rituximab<sup>®</sup> 강화 대 Rituximab<sup>®</sup>에 의한 플루다라빈 유도가 일어난다.

[0075] **Rituximab<sup>®</sup>와 골수제거 치료**

[0076] 골수제거 치료법으로 무통성 림프종에 대한 반응을 얻었다; 그러나, 고-투여량 치료법으로도 잔류 종양 세포가 잔류할 수 있으며, 재주입된 PBSC가 종양 세포를 함유할 수 있다. Rituximab<sup>®</sup>은 줄기 세포 동원 (mobilization) 전 및 이식 후에 사용되어, 잔류 CD20+종양 세포를 감소시키고, 수집된 골수 또는 줄기 세포의 오염을 감소시킨다. 중간 결과에 따르면, CD20+세포는 수집된 세포에서 검출되지 않는 것으로 증명되었다. 24 명의 환자 중 18명에서는 융합이 되었고, 치료는 잘 면역관용되었다. 잔류 종양 세포를 평가하기 위하여 PCR 시험이 진행중이다(18).

[0077] **Rituximab<sup>®</sup>를 사용한 재발 저급 NHL의 재치료**

[0078] Rituximab<sup>®</sup>에 반응한 후 재발된 53명의 환자에게, 재치료를 평가하기 위해 실시한 실험이 보고되었다(19). 56명의 평가가능 환자중 7명(13%)은 CR, 16명(29%)은 PR로, ORR이 42%이었다. 2차 반응을 나타낸 4명의 환자는 3차 치료를 행하였다. 이중 3명이 반응하였다.

[0079] Rituximab<sup>®</sup>로 두 과정 치료 후, 여포성의 소형 분할된 세포 NHL로 초기 분류된 한 환자의 종양은 더이상 CD20 항원을 발현하지 않았고, 광범성 대형세포 NHL로 형질전환시에 Rituximab<sup>®</sup>에 반응하지 않았다(20).

[0080] 따라서, Rituximab<sup>®</sup>를 사용한 재치료는, 이전에 Rituximab<sup>®</sup>로 치료한 후 재발된 환자의 치료에 효과적이거나, 2차 치료후 CD20- 종양 세포의 발생빈도가 증가될 수 있다. 이러한 관찰결과로, 본 명세서 기재의 조합치료법의 유용성이 확인된다.

[0081] **저급 NHL에 대한 Rituximab<sup>®</sup> 및 CHOP 화학요법의 조합**

[0082] 시클로포스파미드, 독소루비신, 빈크리스틴 및 프레드니손 화학요법(CHOP)은 저급 또는 여포성 NHL의 효과적인 일차 치료법이다. 초기 반응률은 높으나, 결국에는 재발이 일어나고, 수반되는 화학요법은 더 짧은 기간동안 완화를 일으킨다. 이들의 작용 메카니즘이 교차-내성이 아니고 Rituximab<sup>®</sup>은 독소루비신을 포함하는 특정 세포독성 약물과 상승작용이 있기 때문에(5), 새로 진단받은 재발 저급 또는 여포성 NHL에서의 CHOP 및 Rituximab<sup>®</sup>의 조합을 평가하기 위하여, II기 임상실험을 시작하였다(21).

[0083] 38명의 환자 중 29명은 전에 항암 치료를 받은 적이 없었다. CHOP를 표준 투여량으로 매 3주마다 6 주기로, Rituximab<sup>®</sup> (375 mg/m<sup>2</sup>)의 6회 주입과 함께 투여하였다. Rituximab<sup>®</sup> 1회 및 2회 주입은 1차 CHOP 주기 전 1 일째 및 6일째에 투여하였고, 1차 CHOP 주기는 8일째에 시작하였다. Rituximab<sup>®</sup> 3회 및 4회 주입은 3차 및 5 차 CHOP 주기 2일 전에 실시하였고, 5회 및 6회 주입은 6차 CHOP 주기 후 134일째 및 141일째에 각각 주입하였다.

[0084] 이러한 조합 연구에서, 38명의 치료 환자의 100%가 반응하였다(CR 58%; PR 42%). 치료를 마친 35명의 평가가능한 환자 중, 63%는 CR, 37%는 PR이었다(21). 36.7+ 개월의 중앙값 관찰 시간 후 도달되지 않은 중앙값 진행이 없는 생존으로 중앙값 DR은 35.3+ 개월이다. 36+ 개월 내지 53.4+ 개월 후에, 20명의 환자는 여전히 완화상태이다(22). 이 DR은 최우량 치료로서도 인상적이고, 이러한 실험 집단 중 24%는 화학치료 후 재발하였다.

- [0085] CALGB로 실시하는 연구에서, 저급 NHL 환자 40명에게 주당 투여로 Rituximab<sup>®</sup>을 8회 투여, 시클로포스파미드는 8일째부터 매일 경구투여할 것이다. 20명의 환자에게는 Rituximab<sup>®</sup>만을 주당 투여로 8회 투여할 것이다.
- [0086] 저급 NHL 환자에 ECOG로 실시하는 III기 연구에서, 시클로포스파미드 및 플루다라빈의 조합[부문(Arm) A]을 표준 CVP 치료법(부문 B)과 비교한다. 부문 A 또는 부문 B 무작위화에서, 환자를 연령, 중앙 정도, 조직학, 및 B 증상으로 나누었다. 두 부문의 반응자는 Rituximab<sup>®</sup> 유지 치료(2년간 매 6개월마다 주당 375mg/m<sup>2</sup>으로 4회)(부문 C)에 대하여, 또는 관찰(부문 D)에 대하여 2차 무작위화가 실시될 것이다.
- [0087] **Rituximab<sup>®</sup> 과 사이토카인의 조합**
- [0088] **Rituximab<sup>®</sup> + 인터페론 알파**
- [0089] 인터페론은 면역계 조절에 관계하는 사이토카인이다(23). 인터페론이 항체 효과를 증가시킬 수 있는 메카니즘에는, 항원 발현의 효력 증가(potentiation)(24), 항체의 중앙으로의 표적화 증가(25, 26) 및 면역독소의 세포독성 증진(27)이 포함된다.
- [0090] 조합실험에서, 인터페론 알파(Roferon-A), NHL에 단일-약제 임상 활성을 갖는 사이토카인, 및 Rituximab<sup>®</sup>을 재발된 저급 또는 여포성 NHL 환자에게 투여하였다. 인터페론-알파(2.5 또는 5 MIU)를 피하에 12주동안 매주 투여로 3회 투여하였다. Rituximab<sup>®</sup>를, 치료 5번째 주에 시작하여 매주 투여로 4회(375mg/m<sup>2</sup>) IV 주입을 통해 투여하였다. ORR은 45%였다(17/38 환자); 11%는 CR, 34%는 PR이었다. 반응자의 중앙값 DR 및 TTP의 Kaplan-마이어 추정(Kaplan-Meier estimates)은 각각 22.3+ 및 25.2+ 개월이었다(29). 이전의 인터페론-알파 및 안트라사이클린을 함유하는 화학요법의 조합 연구는 진행 시간이 연장되었으나, 반응 또는 생존율은 지속적으로 증가되지 않았다(30-32). 이러한 초기 결과는, Rituximab<sup>®</sup> 및 인터페론-알파의 조합이 Rituximab<sup>®</sup> 단독에 비하여 진행 시간을 연장할 수 있음을 제시한다.
- [0091] **Rituximab<sup>®</sup> + G-CSF**
- [0092] 별도의 연구에서, 재발된 저급 NHL에서 Rituximab<sup>®</sup> 과 G-CSF를 평가하고 있다. 건강한 지원자의 생체 내 뿐만 아니라 시험관 내에서도, G-CSF가, 골수전구세포에 대한 영향을 통해, ADCC에서 작용체세포로서 기능을 할 수 있는 FcRI-양성 호중구를 유도한다는 것이 밝혀졌다. 그 때문에, 조합치료의 독성과 효능을 평가하기 위하여 I/II기 연구를 시작하였다.
- [0093] I기와 II기 모두에서, Rituximab<sup>®</sup>를 투여하기 2일 전에 시작하여, 3일 동안 표준투여량의 G-CSF(5µg/kg/day)를 환자에게 투여하였다. I기는 Rituximab<sup>®</sup> 투여량을 단계적 확대(매주 125, 250, 또는 375mg/m<sup>2</sup> X4)하는 것으로 구성하였다. 지금까지 평가된 9명의 환자에서 초기결과는 67%(44% CR, 22% PR)의 ORR이 야기되었고, 9명의 환자 중 8명의 환자에서 사소한 독성이 나타났다(33). 가장 흔한 부작용은 열(4/8환자), 비염(4/8), 오한(3/8) 및 두통(3/8)이었는데, 이는 Rituximab<sup>®</sup>를 단독으로 투여한 경우에서 이전에 관찰된 부작용과 비슷한 정도이다. 본 연구의 II기 부분이 시작되었는데, 이는 G-CSF와 375mg/m<sup>2</sup>의 Rituximab<sup>®</sup> X4의 조합의 효능을 조사할 것이다.
- [0094] **Rituximab<sup>®</sup> + IL-2**
- [0095] 자가조직의 말초혈액 줄기 세포(PBSC) 또는 골수(BM) 구조(rescue)를 사용한 고투여량 치료가 NHL을 치료하는데 사용되었지만, 50-80%로 높은 재발의 위험때문에 성공이 제한되고 있다. 이식후 지속적인 완화를 향상시키기 위한 노력으로, IL-2의 고투여량 및 저투여량 치료를 포함하는 면역치료가 많은 치료센터에서 연구되어 왔다. 그러한 연구는 IL-2 치료가 초기에 이식 후 항종양활성을 나타낸다는 것을 제시하고 있다.
- [0096] 자가조직이식 후 처음에, 환자들은 잠재적으로 감소된 면역개개 중앙근절을 일으키는 지연된 면역 재구성을 나타낸다(43, 44). 실제로, CD8+ T세포와 세포독성 CD8+ T세포 모두 억제된 것으로 나타났다(45-49). 시험관내 분석은 미토겐(mitogen)과 용해성 항원에 반응하여 IL-2의 생산이 감소될 뿐 아니라 T 세포용해 및 증식반응이 크게 억제된다는 것을 나타내었다. 그러나 용해성 IL-2는 자가조직 이식 후 환자의 면역세포들이 외인성 IL-2에

반응할 수 있다는 것을 제시하는 이들 면역반응을 회복할 수 있다(47). 말초혈액 NK 활성화도 대조 값보다 BMT 후에 더 낮게 유지되고, NK 활성화도 외인성 IL-2를 첨가함으로써 증대된다(49). 이들 데이터는 줄기 세포이식 직후 환자에게 IL-2를 투여하면 종양정도가 최소일 때 및 IL-2가 없어서 면역반응성이 결여된 때인 결정적인 기간에 면역반응성을 증진시킬 수 있다는 것을 제시한다.

- [0097] 예를 들면, 칼리쥬루 등(Caligiuru et al.)은 12주 동안 24시간 CIV에 의해  $0.45 \times 10^6$  U/M<sup>2</sup>/day로 투여된 IL-2(Hoffman-LaRoche)가 CD56 밝은 NK 세포의 절대수를 확대할 수 있었다는 것을 보여주고 있다(50-52). 이 방법은 독성이 거의 없이 외래환자실에서 비이식환자들에게 투여되었다.
- [0098] 동물모델은 종양특이적 T 작용체세포가 투여되었을 때 저 투여량의 IL-2를 유도하는 비 LAK가 항종양활성을 극적으로 증진시킨다는 것을 보여준다(53). 또한, 소이퍼 등(Soiffer et al.)(54)은 재발된 백혈병 또는 림프종에 대한 치료를 받고 있는 13명의 자가조직 BMT 또는 T세포 제거된 동종이계 BMT 수혜자에게 저투여량의 IL-2를 투여하였다. 실험실에서, 순환성 CD56 밝은 CD16+ CD3- NK세포가 5 내지 40배 증가한 증진된 면역학적 반응성이 나타났다. 게다가 IL-2의 이 저투여량법은 NK 표적 K562의 시험관 내 사멸을 증대시켰다. 소이퍼 등(55)이 저투여량 IL-2를 받은 29명의 동종이계 BMT 환자들의 결과를 갱신했을 때, 그들은 조직학적 대조구(30%, p=0.41)에 비해 이들 환자들에 대한 생존률(70%)이 우수하다는 것을 발견하였다.
- [0099] 로리아 등(Lauria et al.)(56)은 1년 동안 2주 간  $2 \times 10^6$  IU/m<sup>2</sup> qod 및 그 다음에 일주일에 2회  $3 \times 10^6$  IU/m<sup>2</sup> 투여량의 IL-2로 ABMT 후 42일의 중앙값에 11명의 고급의 NHL 환자를 치료하였다. 표현형분석은 치료 6개월 후 총림프구의 비율과 절대수 및 특히 CD16 및 CD56 NK 세포 모두의 비율과 절대수가 지속적으로 상당히(p=0.001) 증가했다는 것을 보여주었다. 치료개시 후 22개월(10-42개월 범위) 간 중앙값 추적조사를 한 결과 환자들 중 누구도 더 이상 진행하지 않았다. 또한, ABMT 후 잔여질병을 가진 2명의 환자들(한사람은 간, 두번째 사람은 림프절)은 IL-2 치료를 한지 7 내지 10개월 후 완전한 반응성을 획득했다.
- [0100] 베이(Vey)등(57)은 저투여량 IL-2로 난치 또는 재발된 HD(11명의 환자) 및 NHL(14명의 환자)에 걸린 25명의 환자를 치료했다. 환자들 중 48%는 이식시 저항성 질병에 걸렸고 84%는 ABMT 후 CR을 획득했다. IL-2는 이식 후 평균 54일에 시작되었고, 5일의 제1주기와 그 후 격주마다 2일의 4주기로 구성된다. 환자들은 평균  $160 \times 10^6$  IU/m<sup>2</sup>의 IL-2를 받았다. 5년간 추적조사를 한 후, 생존률 및 DFS는 72%(HD 73%와 NHL 70%) 및 45%(HD 36%와 NHL 48%)이다.
- [0101] FHCRC(Fred Hutchinson Cancer Research Center)의 한 그룹은 최근 저투여량 IL-2 치료가 외래환자실에서 잘 면역관용되고, 저투여량 IL-2로 치료된 환자들에서 병의 완화가 IL-2 치료를 하지 않은 경우보다 더 긴 경향이 있다는 것을 발견했다. IL-2 치료는 CD8+ CD69+ 세포; CD16+ CD8+ 세포; CD16+ CD69+ 세포; CD16+ CD56+ 세포; CD16+ CD122+ 세포; CD16+ Dr+ 세포; 및 CD8+ CD56+ 세포를 포함하는 면역세포들의 어떤 군집의 수에서의 증가와 관련되었다. 종양표적 K562와 다우디(Daudi)에 대한 세포용해활성의 발현도 각각 중앙값 5.9배 및 6.5배 증가하였다. 재발은 이식후 중앙값 17.8개월에서 일어났고, 따라서 완화효과는 IL-2 치료를 하지 않은 이식수혜자에서 조직학적으로 나타나는 것보다 특징적으로 더 길다고 보고되었다.
- [0102] ABMT 이식수혜자에서 IL-2를 사용한 단일치료연구로부터 모아진 고무적인 데이터가 주어지면, Rituximab<sup>®</sup>의 생물학적 활성이 ADCC와 보체매개 세포용해활성을 통해 매개되는 것으로 가정한다면, 이식후 IL-2 치료를 Rituximab<sup>®</sup>과 조합하는 것이 적당해 보인다. 따라서, 조합치료법의 안전성과 잠재적 효능을 평가하기 위하여 FHCRC와 공동으로 I기 임상시험을 시작하였다.
- [0103] 저투여량 IL-2 와 Rituxan<sup>®</sup>을 받은 환자에서 HACA 형성의 발병율과 효능을 평가하기 위하여 별도의 II기 연구도 수행되고 있다. 본 연구의 특정 목표는 ADCC가 IL-2에 대해 생체내 노출됨으로써 증진되는지 여부와 ADCC활성이 임상적 반응과 상호관련이 있는지 여부를 평가하는 것이다. 환자들에 대한 산입기준은 II-IV 저급, 여포성 B 세포 또는 외피세포 림프종으로 조직학적으로 확인된다. 본 임상연구의 목적을 위하여, 외피세포 림프종은 면역조직화학에 의하여 CD5+, CD23-(입수할 수 있다면) 및/또는 bc1-1+로 한정된다. 표준치료법, 즉 화학요법, 방사선요법, ABMT 및/또는 면역요법을 사용한 최초치료에 반응하지 않았거나 재발된 환자들이 적합하다.
- [0104] 재발된 저급 또는 여포성의 B 세포 림프종의 치료를 위한 Rituximab<sup>®</sup> + GM-CSF
- [0105] Rituximab<sup>®</sup> 와 GM-CSF의 조합치료의 효능을 시험하기 위하여 2개의 독립된 II기 임상시험도 시작되었다. 한 연

구는 재발된 저급 B세포 림프종을 가진 환자들을 포함하고, 매주 375 mg/m<sup>2</sup> X4(d.1,8,15,22)에서 Rituximab<sup>®</sup> 및 Rituximab<sup>®</sup>의 제1투여 1시간 전에 시작하여 8주 동안 매주 3회 250 mcg sc의 GM-CSF(Leukine, Immunex)를 투여하는 것을 포함한다. 본 연구는 조합치료법의 임상적 효능(총반응률(ORR), 총체적인 완전한 반응률, 질병 진행까지의 시간 및 실패없는 생존)을 평가하는데, 조합치료의 안전성(부작용의 질적, 양적, 지속시간 및 역전 가능성)을 특성화하는데, 및 관련된 림프구의 소집합과 사이토카인에 대한 조합치료의 효과를 확인하는데 사용될 것이다. 제2연구는 사멸의 메카니즘을 평가하기 위하여 면역학적 파라미터(보체 C3와 C4, CH50, CD3, CD4, CD8, CD16, CD19 및 CD56에 대한 유세포분석기 및 ADCC분석)도 관찰할 계획이다.

[0106] Rituximab<sup>®</sup> + 감마-인터페론

[0107] 감마-인터페론은 또한 저급 또는 고급 림프종에 걸린 환자들을 치료하기 위하여 Rituximab<sup>®</sup>과 조합하여 치료하는데 유용할 수 있다. 최근 감마-인터페론이 정상적인 공여자 B 세포에 대해서뿐만 아니라, 환자의 B세포인 다중골수종(MM) 환자 형질세포에서 CD20 발현을 상향조절한다는 것을 발견하였다(Treon et al., Lugano, 1999). 사실, 트레온(Treon)과 동료들은 감마-인터페론이 이들 세포가 Rituximab<sup>®</sup>에 결합하는 것을 증진시킨다는 것을 보여준다. 형질세포에 대한 CD20 발현의 유도는, 인터페론 감마의 1U/ml 정도로 적게 보이는 상향조절로, 투여량 의존 방식으로 일어났다. 정체상태는 48시간에서 100 U/ml에서 일어났다. 따라서 감마-인터페론은 Rituximab<sup>®</sup>과 함께 투여될 때 유용할 수 있다.

[0108] 중급 및 고급 NHL

[0109] 단일약제연구

[0110] 유럽 및 호주에서 행해진 연구에서, 54명의 재발된 또는 난치성 중급 또는 고급 NHL 환자에게서 선택적인 투약 계획을 평가하였다(34). Rituximab<sup>®</sup>는 8회 투여하는 동안 매주 375 mg/m<sup>2</sup> 또는 1회 375 mg/m<sup>2</sup>로 주입한 후 7회 투여하는 동안 매주 500 mg/m<sup>2</sup>으로 주입하였다. ORR은 31%였고; (CR 9%, PR 22%) 투여방법간 상당한 차이는 관찰되지 않았다. 광범성 대형세포 림프종에 걸린 환자(N=30)는 37%의 ORR을 나타내었고, 외피세포 림프종에 걸린 환자(N=12)는 33%의 ORR을 나타내었다.

[0111] Rituximab<sup>®</sup>와 CHOP 화학요법의 조합

[0112] 다른 연구에서, 중급 또는 고급 NHL에 걸린 31명의 환자(여자 19명, 남자 12명, 중앙값연령 49세)는 CHOP의 6번의 21일 주기의 각각의 1일째에 Rituximab<sup>®</sup>을 받았다. 30명의 평가가능한 환자 중, 19명이 CR(63%), 10명이 PR(33%)로, 96%의 ORR이었다. 이 방법은 면역관용이 잘 된 것으로 생각되었고, Rituximab<sup>®</sup> 또는 CHOP 단독으로 사용한 경우보다 더 높은 반응율을 가져올 수 있다.

[0113] NCI 암치료 및 진단부는 다른 증상들에서의 Rituximab<sup>®</sup> 치료를 조사하기 위하여 IDEC 제약회사와 공동연구하고 있다. CHOP 대 CHOP과 Rituximab<sup>®</sup>의 II기 임상시험은 혼합, 광범성 대형세포, 및 면역아세포 대형세포 조직학 NHL에 걸린 더 나이든 환자들(>60세)(N=630 계획)에게서 ECOG, CALGB, 및 SWOG로 수행하고 있다. 본 연구는 Rituximab<sup>®</sup>로의 유지 대 비유지에 대한 2차 무작위화를 포함한다.

[0114] Dana 파버 인스티튜트(Dana Farber Institute)에서 이전에 미치료된 외피세포 림프종에 걸린 40명의 환자에서의 Rituximab<sup>®</sup>와 CHOP의 III기 임상시험을 하고 있다. Rituximab<sup>®</sup>은 첫번째 날에 투여되고 CHOP는 6주기동안 매 21일의 1-3일에 주어진다. 본 연구의 증가가 완료되었다. SWOG에 의해 행해진 새로 진단된 여성성림프종에서의 CHOP 후 Rituximab<sup>®</sup>의 II기 임상시험도 완료되었다. 이들 두 임상시험의 결과는 분석중이다.

[0115] 악성AIDS협회에 의해 수행된 HIV관련 NHL에서 CHOP와 Rituximab<sup>®</sup> 대 CHOP 단독의 II기 임상시험이 진행중이고; 예정된 환자는 120명이다.

[0116] 골수제거치료 재발 후 Rituximab<sup>®</sup>

[0117] Rituximab<sup>®</sup>는 자가조직 PBSC 지지체로 고투여량 치료를 한 후 재발된 중급 NHL에 걸린 환자들에서 유망한 초기결과를 나타내었다. 7명의 환자 중 6명이 반응했고(1 CR과 5 PR) 1명의 환자는 안정한 질환을 나타내었으며;

치료는 면역관용이 잘 되었다(36).

**[0118] 안전성실험**

**[0119]** 저급 또는 여포성 NHL에 걸린 환자에서 Rituximab<sup>®</sup>의 안전성 프로파일을 제공하기 위하여 5개의 단일약제 미국연구에서 315명의 환자의 부작용과 임상적 실험데이터를 조합하였다. 부작용의 대부분은 주입과 관련된 것이었고 제1주입 후 빈도가 감소하여 발생했다. 가장 흔한 주입관련부작용은 열(49%), 오한(32%), 메스꺼움(18%), 피로(16%), 두통(14%), 혈관부종(13%), 가려움증(10%), 및 때로 저혈압(10%)과 기관지경련(8%)이었다. (최후 투여 후 30일까지의) 치료기간 동안, 환자 중 10%가 3급 또는 4급 부작용을 경험하였는데, 주로 주입과 관련되거나 혈액학적인 것이었다. 혈소판감소증(< 50,000 혈소판/mm<sup>3</sup>)은 환자들 중 1.3%에서 발생하였고, 호중구감소증(< 1000/mm<sup>3</sup>)는 1.9%에서 발생했고, 빈혈증(< 8gm/dL)은 1.0%에서 발생하였다. Rituximab<sup>®</sup>가 70 - 80%의 환자들에게서 B 세포제거를 유도했지만, 소수의 환자들에게서 비정상적으로 감소된 혈장 면역글로불린이 관찰되었고 감염의 경우가 증가되는 것으로 나타나지 않았다.

**[0120]** Rituximab<sup>®</sup>주입의 중단이 필요한 저혈압은 환자들중 10%에서 발생했고, 1%에서는 3급 또는 4급이었다. 혈관부종은 환자들중 13%에서 보고되었고 1명의 환자에서 심각한 것으로 생각되었다. 기관지경련은 환자들 중 8%에서 발생했고; 2%는 기관지확장제로 치료되었다. 세기관지염 말소의 경우도 단 한 건 보고되었다. 대부분의 환자들은 2차 및 이후 주입에 의해 더 이상의 주입관련독성을 겪지 않았다. 재치료에 대한 부작용을 보고하는 환자의 백분율은 첫번째 코스 후에 보고된 것과 유사하였다(14).

**[0121]** 4명의 환자들은 Rituximab<sup>®</sup>를 주입하는 동안 부정맥을 나타내었다. 4명 중 1명은 심실의 심계항진증과 심실상의 심계항진증 때문에 치료를 중단하였다. 다른 3명의 환자들은 삼단맥(N=1)와 불규칙적인 맥박(N=2)을 겪었지만 치료의 중단은 필요하지 않았다. 이전에 심근경색의 병력을 가진 한 환자에게서 주입하는 동안 협심증이 보고되었고, 주입 4일 후 심근경색이 발생하였다.

**[0122]** 부작용 및 3급과 4급 부작용의 총발생률은 비거대 질병을 가진 환자들에서보다 거대 질병을 가진 환자들에게서 더 높았다. 현기증, 호중구감소증, 혈소판감소증, 근육통, 빈혈증, 및 가슴통증의 발병률은 > 10 cm 병변을 가진 환자들에서 더 높았다. 3급 또는 4급 호중구감소증, 빈혈증, 저혈압, 및 호흡곤란의 발병률도 < 10 cm 병변을 가진 환자들에 비해서 거대 질병을 가진 환자들에서 더 높았다.

**[0123]** 1997년 FDA가 Rituximab<sup>®</sup>를 재발 또는 난치성 저급 또는 여포성 NHL의 치료용으로 승인한 이래, 약 17,000 환자들이 치료되어 왔다. 1998년 5월에, 치명적인 결과를 일으키는 Rituximab<sup>®</sup>의 사용과 관련된 심각한 주입관련 부작용에 대한 8개의 판매 후 보고서의 기재내용이 요약되었다. 8명의 사망자 중 7명에서, Rituximab<sup>®</sup>를 1차 주입하는 동안 심각한 증상이 발생했다. 8명 중 2명에 대해서는 죽음의 원인이 보고되지 않아 미상으로 남아 있다. 8명의 보고된 사망자 중 6명은 저산소증, 폐의 침윤, 성인의 호흡장애증후군을 포함한 심각한 호흡기 부작용때문이었다. 한 환자는 600,000/mm<sup>3</sup>의 전처리 림프구수를 나타내었고; 다른 환자는 8의 크레아티닌; 세번째 환자는 40의 호흡율; 4번째 환자는 범혈구감소증을 나타내었다. 높은 중앙정도를 가지거나 많은 수의 순환성 악성세포를 가진 환자들은 더 높은 위험성을 가질 수 있고, 이들 환자는 각 주입 내내 면밀히 체크해야 한다.

**[0124]** 최근에 기술된 부작용의 대부분은 Rituximab<sup>®</sup> 임상연구에서 이미 밝혀졌다. 한가지 주목할만한 예외는 급속 중앙세포용해와 관련된 주입관련증후군인데, 이는 많은 수의 순환성 중앙세포를 가진 6명의 환자에게서 보고되었다(37, 38). 이 증후군은 열, 오한, 저산소혈증과 관련된 기관지경련, 말초 림프구의 급속한 감소, 중앙과피의 실험적 흔적, 및 일시적이고 심각한 혈소판감소증으로 특징지워진다. 이들 환자는 B-프로림프구성 백혈병(N=2), 만성 림프구성 백혈병(N=2), 외피세포 림프종(N=1), 또는 형질전환된 NHL(N=1)의 진단을 받았고; 모두 높은 순환성 림프구, 거대 선증, 및 장기종대를 나타내었다. 이들 6명의 환자중 5명은 입원가료가 필요했지만, 증상은 해소되고 이후의 Rituximab<sup>®</sup> 치료는 잘 면역관용되었다; 마지막 환자는 더 이상의 치료를 거부하고 2주 후 병이 진행되어 사망했다.

**[0125]** CLL에 걸린 7명의 환자 및 외피세포 림프종에 걸린 1명의 환자에 대한 별도의 보고서에서, 림프구 수가 > 10 X 10<sup>9</sup> L인 환자들에서 Rituximab<sup>®</sup> 1차주입 후 중앙세포용해증후군이 관찰되었다(39).

**[0126]** Rituximab<sup>®</sup>과 조합된 <sup>90</sup>이트튬표지된 항-CD20 항체를 사용한 방사선면역치료

- [0127] 평가되고 있는 NHL에 대한 다른 치료적 접근방식은 Rituximab<sup>®</sup>과 조합된 방사성동위원소 표지된 항-CD20 항체 (IDEC-Y2B8)<sup>90</sup>(<sup>90</sup>Y-ibritumomab tiuxetan)은 항체에 공유결합된 킬레이터인 MX-DTPA를 통하여 <sup>90</sup>Y에 결합된 쥐의 IgG<sub>1</sub> 카파 항-CD-20 항체이다. 말초 B림프구를 제거하고 방사성동위원소 표지된 항체의 생체분포를 향상시키기 위하여 IDEC-Y2B8 전에 Rituximab<sup>®</sup> (250 mg/m<sup>2</sup>)을 투여한다.
- [0128] 최근 보고된 I/II기 연구에서(40-42), 저급 NHL(N=34), 중급 NHL(N=14), 또는 외피세포 림프종 (N=3)에 걸린 환자들을 IDEC-Y2B8으로 치료하였다. 중앙값연령은 60세였고, 71%가 남자이고 96%가 백인이었다. 재발 또는 난치성 NHL에 걸린 51명의 환자 중, 34명(67%)이 0.2, 0.3, 0.4 mCi/kg의 IDEC-Y2B8의 단일투여량에 반응하였다. ORR은 저급 또는 여포성 NHL에 걸린 환자들에 대해 82%(28/34)였고, 중급 림프종에 걸린 환자들에 대해서 43%(6/14)였다. 외피세포질병을 가진 환자들은 반응하지 않았다.
- [0129] 저급 여포성 또는 형질전환된 NHL 환자를 치료하기 위하여 IDEC-Y2B8을 Rituximab<sup>®</sup>와 비교하는 III기 무작위 연구(주당 375 mg/m<sup>2</sup> 4회)가 진행되고 있다. 다른 III기 임상시험도 Rituximab<sup>®</sup>에 난치성인 재발된 NHL에 걸린 환자들에서 행해지고 있다.
- [0130] **요약**
- [0131] NHL에 대한 치료법이 없을 때, 치료의 목적은 의미있는 지속시간동안 질병을 제어하고 과도한 독성없이 종양관련증상의 완화를 제공하는 것이다. Rituximab<sup>®</sup>를 사용한 치료는 대부분의 환자에서 제한된 부작용을 가진 짧은 22일 외래환자치료이다. 임상연구에서, 평가할만한 재발된 또는 화학요법 난치성 저급 또는 여포성 NHL 환자의 50%가 완전한 또는 부분적인 반응을 이루었다. 이들 반응은 유지치료없이 지속될 수 있고; 중추연구에서 반응자들에 대한 중앙값 TTP는 13.2개월이고 중앙값 DR은 11.6개월이었다.
- [0132] Rituximab<sup>®</sup>는 재발된 저급 또는 여포성 B 세포 NHL에 걸린 환자들에 대한 안전하고 효과적인 치료방법으로 입증된다. 그것은 상당한 임상적 활성, 신규한 작용메카니즘을 나타내고 반응률과 반응지속시간에서 선택적인 치료법들과 필적한다. 진행중인 연구가 완료되면 다른 CD20+ B 림프구 악성종양의 치료에서 선택적인 Rituximab<sup>®</sup> 법과 Rituximab<sup>®</sup>의 역할이 입증될 것이다.

참조 문헌

1. Press O, Appelbaum F, Ledbetter J, Martin P, Zarling J, Kidd P, Thomas E. Monoclonal antibody 1F5 (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.
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.
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.
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.
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,

[0133]

- 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. 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.
  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.
  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.

[0134]

- 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).
  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.
  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.
  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

[0135]

- 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.
  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, Nagaïke 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.
  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.
  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 Immunoconjugates and Radiopharmaceuticals* 1995; 8:60.

[0136]

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.
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.
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.
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.

[0137]

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 H 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.
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.
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.
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.

[0138]

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.
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).
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.
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.

[0139]

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 CDE4+ and CD8+ cells even in the presence of exogenous IL-2. *Blood* 74:2270, 1989.
  49. Bosley, A. et al., Interleukin-2 as consolidative immuotherapy against minimal residual disease. *Nouv Rev Fr Hematol* 32:13, 1990.
  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 reocmbinant Interleukin-2 therapy: rationale and potential clinical applications. *SEM in Oncol* 20:3, 1993.
  53. Klarnet, 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-doe recombinant Interleukin-2 after autologous and T cell-depleted allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 79:517, 1992.
  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.
- [0140]
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.
- [0141]