



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105194650 A

(43) 申请公布日 2015. 12. 30

(21) 申请号 201510745523. 3

(22) 申请日 2006. 06. 27

(30) 优先权数据

60/694233 2005. 06. 28 US

(62) 分案原申请数据

200680031006. 9 2006. 06. 27

(71) 申请人 肿瘤防护公司

地址 美国华盛顿州

(72) 发明人 B. M. 朗格内克

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 梁谋 黄希贵

(51) Int. Cl.

A61K 38/16(2006. 01)

A61K 39/00(2006. 01)

A61K 9/127(2006. 01)

A61P 35/00(2006. 01)

A61K 31/739(2006. 01)

权利要求书3页 说明书28页

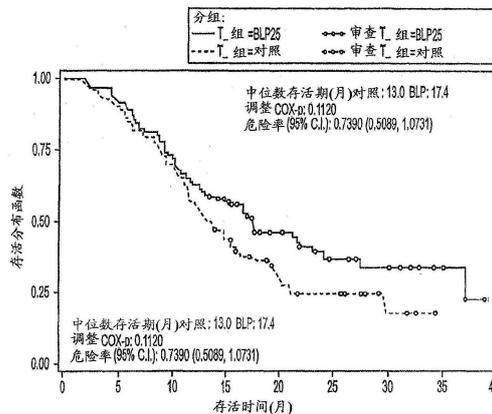
序列表2页 附图20页

(54) 发明名称

用一种粘蛋白状糖蛋白 (MUC-1) 疫苗治疗患者的方法

(57) 摘要

本发明提供一种通过给予患者一种基于 MUC-1 的制剂来治疗罹患癌症的个体的方法, 所述癌症例如非小细胞性肺癌或前列腺癌。所述制剂可以是基于 MUC-1 的脂质体性疫苗制剂。



1. 一种治疗患有非小细胞性肺癌的患者的方法,该方法包括:
 - (a) 选择治疗患有非小细胞性肺癌的患者,和
 - (b) 在一段时间内给予该患者基于 MUC-1 的制剂,其中该制剂包含:
 - (i) 一种脂质体 ;和
 - (ii) 至少一种包含选自下列氨基酸序列的多肽 :SEQ ID NO. 1 的氨基酸序列、SEQ ID NO. 1 的氨基酸序列的免疫学活性变体、SEQ ID NO. 2 的氨基酸序列以及 SEQ ID NO. 2 的氨基酸序列的免疫学活性变体。
2. 一种治疗患有前列腺癌的方法,该方法包括:
 - (a) 选择治疗患有前列腺癌的患者,和
 - (b) 在一段时间内给予该患者基于 MUC-1 的制剂,其中该制剂包含:
 - (i) 一种脂质体 ;和
 - (ii) 至少一种包含选自下列氨基酸序列的多肽 :SEQ ID NO. 1 的氨基酸序列、SEQ ID NO. 1 的氨基酸序列的免疫学活性变体、SEQ ID NO. 2 的氨基酸序列以及 SEQ ID NO. 2 的氨基酸序列的免疫学活性变体。
3. 权利要求 1 或权利要求 2 的方法,其中所述制剂还包含至少一种辅药。
4. 权利要求 3 的方法,其中所述辅药选自脂质 A、胞壁酰二肽、明矾、细胞因子及其组合。
5. 权利要求 4 的方法,其中所述脂质 A 为单磷酸脂质 A 或合成脂质 A。
6. 权利要求 4 的方法,其中所述细胞因子是白细胞介素 -2。
7. 权利要求 1-6 中任一项的方法,其还包括评价所治疗患者的步骤 (c)。
8. 权利要求 7 的方法,其中评价所治疗患者在如下时间进行:(i) 在步骤 (b) 时段之前;(ii) 在步骤 (b) 时段期间;(iii) 在步骤 (b) 时段之后 ;或 (iv) 其组合。
9. 权利要求 7 或 8 的方法,其中评价所治疗患者包括测定所治疗患者的免疫反应。
10. 权利要求 9 的方法,其中测定所治疗患者的免疫反应包括测定 T- 细胞增殖。
11. 权利要求 7-10 中任一项的方法,其中评价所治疗的患者包括测定以下至少一项:
 - (a) 肿瘤体积, (b) 肿瘤位置, (c) 结节阶段, (d) 非小细胞肺癌或前列腺癌的生长速率, (e) 患者的存活率, (f) 患者肺癌或前列腺癌症状的变化, (g) 患者 PSA 浓度的变化, (h) 患者 PSA 浓度倍率的变化,或 (i) 患者生活质量的变化。
12. 权利要求 1-11 中任一项的方法,其中所述患者被诊断患有 IIIIB 期局限性、IIIIB 期恶性肿瘤性胸膜渗漏性或 IV 期非小细胞性肺癌。
13. 权利要求 1-12 中任一项的方法,其中所述制剂是 BLP25 脂质体疫苗,其包含:
 - (a) 含有 SEQ ID NOs: 1 或 2 序列的 MUC-1 肽 ;
 - (b) 一或多种辅药,和
 - (c) 一或多种其它的脂质体样类脂。
14. 权利要求 13 的方法,其中所述 BLP25 脂质体疫苗以药剂盒提供。
15. 权利要求 1-14 中任一项的方法,其中所述给药步骤是经注射、气雾剂、鼻内、阴道、直肠、颊内、眼内、局部、外用、脑池内、腹膜内或口服传递给予,且其中注射是肌内、静脉内、皮下、结节内、瘤内、腹膜内或皮内注射。
16. 权利要求 1-15 中任一项的方法,其中所述给药期选自至少约 2 周、至少约 4 周、至

少约 8 周、至少约 16 周、至少约 17 周、至少约 18 周、至少约 19 周、至少约 20 周、至少约 24 周、至少约 28 周、至少约 32 周、至少约 36 周、至少约 40 周、至少约 44 周、至少约 48 周、至少约 52 周、至少约 60 周、至少约 68 周、至少约 72 周、至少约 80 周、至少约 88 周、至少约 96 周和至少约 104 周。

17. 权利要求 1-16 中任一项的方法,其中所述个体在步骤 (b) 之前接受环磷酰胺治疗。

18. 一种改善或维持被诊断患有非小细胞性肺癌患者的生活质量的方法,其包括在一定期间给予被诊断患有非小细胞性肺癌的患者 BLP25 脂质体疫苗,其中该 BLP25 脂质体疫苗包含:

- (a) 含 SEQ ID NOs: 1 或 2 序列的 MUC-1 肽;
- (b) 一或多种辅药,和
- (c) 一或多种其它的脂质体样类脂。

19. 一种改善或维持被诊断患有前列腺癌患者的生活质量的方法,其包括在一定期间给予被诊断患有前列腺癌的患者 BLP25 脂质体疫苗,其中该 BLP25 脂质体疫苗包含:

- (a) 含 SEQ ID NOs: 1 或 2 序列的 MUC-1 肽;
- (b) 一或多种辅药,和
- (c) 一或多种其它的脂质体样类脂。

20. 权利要求 18 或 19 的方法,其还包括在患者被诊断患有非小细胞性肺癌或前列腺癌的时间段之前、期间以及之后计算患者的身体状况、机能状况和肺癌或前列腺癌症状的综合评分。

21. 权利要求 18-20 中任一项的方法,其中所述给药期为至少约 6 个月、至少约 12 个月、至少约 18 个月、至少约 24 个月或长于 24 个月。

22. 权利要求 13、18 或 19 的任一项的方法,其中 MUC-1 肽的量约为 300 mg。

23. 权利要求 13、18 或 19 的任一项的方法,其中所述辅药为脂质 A。

24. 权利要求 23 的方法,其中脂质 A 的量约为 150 mg。

25. 权利要求 13、18 或 19 的任一项的方法,其中其它脂质体样类脂的量约为 15 mg。

26. 权利要求 13、18 或 19 的任一项的方法,其中 MUC-1 肽包含 SEQ ID NO: 1 中所示的序列。

27. 权利要求 13、18 或 19 的任一项的方法,其中 MUC-1 肽包含 SEQ ID NO: 2 中所示的序列。

28. 权利要求 26 的方法,其中 MUC-1 肽被脂质化。

29. 一种治疗癌症患者的方法,其包含:

- (a) 选择治疗具有表达 MUC-1 的癌细胞的患者,和
- (b) 在一段时间内给予该患者基于 MUC-1 的制剂,其中该制剂包含:
 - (i) 脂质体;和

(ii) 至少一种包含选自下列的氨基酸序列的多肽:SEQ ID NO. 1 的氨基酸序列、SEQ ID NO. 1 的氨基酸序列的免疫学活性变体、SEQ ID NO. 2 的氨基酸序列以及 SEQ ID NO. 2 的氨基酸序列的免疫学活性变体,

且其中该患者在其血清中不具有高水平的循环 MUC-1。

30. 权利要求 29 的方法,其中所述癌症选自卵巢癌、肝癌、结肠癌、乳腺癌、胰腺癌、肾

癌、头颈癌、子宫颈癌、子宫癌、白血病和多发性骨髓瘤。

用一种粘蛋白状糖蛋白 (MUC-1) 疫苗治疗患者的方法

[0001] 本申请是以下申请的分案申请：申请日：2006年6月27日；申请号：200680031006.9；发明名称：同上。

[0002] 相关申请的交叉参考

[0003] 本国际申请要求2005年6月28日提交的美国临时申请序列号60/694,233的优先权，该申请的公开内容结合到本发明中作为参考。

发明领域

[0004] 本发明涉及一种鉴定适于用基于粘蛋白状糖蛋白 (mucinous-glycoprotein, MUC-1) 的制剂治疗的癌症患者的方法。这种癌症的实例为非小细胞肺癌和前列腺癌。在某些情况下，基于MUC-1的制剂是BLP25疫苗。

[0005] 发明背景

[0006] 在北美，肺癌是两性患者中癌症相关死亡率的主要原因。2004年，在美国诊断出大约174,000例新的肺癌病例（男性占54%，女性占46%）。此外，2004年，单在美国死于该病的人数大约为160,000人。

[0007] 不幸的是，在诊断期间，仅有25%的肺癌患者可能通过手术治愈。另外，在患有癌症的患者中，化疗仅能适当地改善存活的机会。

[0008] 非小细胞肺癌 (NSCLC) 是最常见的肺癌，其占全部原发性肺癌的大约75-80%。NSCLC典型为鳞状上皮细胞癌、腺癌和大细胞癌。已观察到粘蛋白状糖蛋白，即MUC-1，高度表达在这类癌中，超出了健康个体上皮细胞中的正常表达水平。还已观察到由于连接于MUC-1多肽的骨架上，很多装饰MUC-1蛋白的碳水化合物部分比连接于正常细胞MUC-1蛋白的那些部分短。因此，与正常细胞内的多肽骨架相比，癌细胞内的MUC-1多肽骨架暴露更多。

[0009] 在肺癌之后，前列腺癌是美国男性中第二种最常见的诊断出的癌。在美国大约有190,000名男性被诊断患有前列腺癌，每年死于该疾病的男性近30,000人。

[0010] 前列腺切除术 (PR) 治疗前列腺癌之后的生化衰竭通常是一种临床失败的预兆，其可缩短患者的期望寿命。并且虽然目前存在对其它治疗前列腺癌的无创性方法的需求，但对前列腺切除术后和生化衰竭的男性的治疗存在一种特殊的需求。

[0011] 目前本领域对鉴定适于新的癌症疗法的患者以及开发这类新的癌症疗法存在一种需求。本发明提供一种鉴定适于用基于粘蛋白状糖蛋白 (MUC-1) 的制剂治疗的癌症患者的方法。

[0012] 发明概述

[0013] 本发明涉及鉴定和治疗癌症患者的方法，其中所述癌症适于用基于MUC-1的制剂治疗。这种癌症的实例为NSCLC和前列腺癌。本发明还包括用基于MUC-1的制剂治疗除NSCLC和前列腺癌之外的其它癌症。

[0014] 在本发明的一实施方案中，基于MUC-1的制剂可以是一种基于MUC-1的脂质体疫苗 (liposomal vaccine)。例如，所述脂质体疫苗可以在其脂质双层中包含一种MUC-1肽或

者包囊在其囊泡结构中。MUC-1 肽还可被脂质化 (lipidated) 以促进其与脂质体样类脂双层或膜的缔合 (association)。MUC-1 肽可包含 SEQ ID NO. 1 中所示的氨基酸序列或其免疫活性片段或变体 (通称为“功能性变体”), 或 SEQ ID NO. 2 的氨基酸序列或其免疫活性片段或变体。以下描述 MUC-1 核重复变体 (core repeat variants) 的具体的特性。

[0015] 在本发明的另一方面, 提供一种治疗 NSCLC 或前列腺癌的患者方法 (“方法 1”)。该方法包括: (A) 选择治疗患有 NSCLC 或前列腺癌的患者, 和 (B) 在一段时间内给予该患者一种基于 MUC-1 的制剂。在方法 1 的一实施方案中, 所述基于 MUC-1 的制剂包含脂质体, 其含有至少具有下列氨基酸序列的多肽: SEQ ID NO. 1 中所示的氨基酸序列或其免疫活性片段或变体, 或者 SEQ ID NO. 2 中所示的氨基酸序列或其免疫活性片段或变体。

[0016] 在特殊的实施方案中, 方法 1 还可包括包含评价所治疗患者的步骤 (C)。在各实施方案中, 评价所治疗的患者可通过测定所治疗患者的免疫反应来完成。在某些实施方案中, 测定所治疗患者的免疫反应可包括测定 T- 细胞增殖。在其它实施方案中, 评价所治疗的患者可包括测定以下的至少一或多项: (a) 肿瘤体积, (b) 肿瘤位置, (c) 结节阶段, (d) NSCLC 或前列腺癌的生长速率, (e) 患者的存活率, (f) 患者肺癌或前列腺癌症状的变化, (g) 患者 PSA 浓度的变化, (h) 患者 PSA 浓度倍率的变化, 或 (i) 患者生活质量的变化, 或者 (j) 其组合。

[0017] 在这些实施方案中, 评价所述患者可在所述给药时间段之前、期间或之后进行。评价所述患者还可在所述给药时间段之前和之后进行。

[0018] 在一进一步的实施方案中, 所述制剂是 BLP25 脂质体疫苗。“BLP25”是一种以下鉴定的特定脂质化的 MUC-1 核重复。所述 BLP25 疫苗可包含含义 MUC-1 核重复 (如 SEQ ID NOs: 1 和 2 中所示的那些) 的预先形成的脂质体。包含 MUC-1 核重复的预先形成的脂质体可被冻干。

[0019] 在该方法的一实施方案中, 所述 BLP25 脂质体疫苗在药剂盒中, 药剂盒中包括制备和使用该疫苗的说明书。因此, 该药剂盒可包含另一种液体, 如用于使所述冻干的物质重新构成的氯化钠溶液 (0.9%, USP)。另外, 可以以液体形式提供 BLP25 脂质体疫苗。该药剂盒还可包含一种辅药或多种辅药的组合。辅药的实例包括但不限于脂质 A、胞壁酰二肽、明矾, 或细胞因子。因此, 该药剂盒可包括能使人制备供给药的 BLP25 疫苗的多种小瓶和管。

[0020] 给予患者所述制剂的步骤可通过任何适合的方法, 并可利用任何药学上可接受的剂型。给药方法的实例包括但不限于注射, 其中注射是肌肉注射、皮下注射、静脉内、结节内、瘤内、腹膜内或皮内注射。另外, 该疫苗或脂质体结合的 MUC-1 核重复肽可通过气雾剂、鼻内、口服、阴道、直肠、眼内、局部 (散剂、软膏剂或滴剂)、颊内、脑池内、腹膜内或外用等给予。该疫苗或脂质体结合的 MUC-1 核重复肽还可通过适于透皮传递的制剂给予, 例如通过透皮贴剂。

[0021] 在本发明的另一方面, 描述一种改善或维持癌症 (如 NSCLC 或前列腺癌) 患者生活质量的方法 (“方法 2”)。该方法可包括在一段时间内常规给予被诊断患有易于用基于 MUC-1 的制剂治疗的癌症 (如 NSCLC 或前列腺癌) 的患者一定剂量的 BLP25 脂质体疫苗。在方法 2 的另一方面, 可计算在给药的时段之前、期间以及之后, 患者的身体状况、机能状况和癌症症状的综合评分。

[0022] 在一实施方案中, BLP25 脂质体疫苗的剂量提供约 1,000 μ g 的 BLP25MUC-1 脂肽,

以单次或多次给予,虽然可给予以下所述的其它剂量。参见,例如以下 BLP25 剂量亚章节下设计的剂量。

[0023] 本发明的另一方面是一种鉴定适于用基于 MUC-1 的组合物(如 BLP25 疫苗)治疗的患者。该方法的一实施方案进行测定患者血流,或血、血浆、尿、血清或其它适合的生物样本中循环的 MUC-1 肽的水平是否正常或异常。如果循环的 MUC-1 的水平正常,则患者适合于连续用 MUC-1 组合物治疗。即,可给予具有正常循环 MUC-1 水平的患者一定剂量的 MUC-1 疫苗,如 BLP25。在一实施方案中,正常 MUC-1 循环水平的上限约为 37.7U/ml。因此,具有 37.7U/ml 或以下的 MUC-1 循环水平的患者适于用 MUC-1 组合物,如 BLP25 疫苗治疗。但是,确定不同组别患者 MUC-1 肽循环的阈水平在技术人员的技术范围之内。即,值“37.7U/ml”不必是所有测试人群的一个限定阈值。循环抗原的“正常”量可从所要求的亚群测定,并可用作一种将 MUC-1 量分为正常或异常的类别的指标。

[0024] 在另一实施方案中,该方法进行检测患者血流,或血、血浆、尿、血清或其它适合的生物样本中 HLA A2 蛋白或编码核酸或 HLA A2RNA 转录的存在。生物样本中 HLA A2 蛋白或编码核酸或 HLA A2RNA 转录的存在的检测表明所述患者适合用基于 MUC-1 的组合物(如 BLP25 疫苗)治疗。

[0025] 在一实施方案中,被筛选适合用 MUC-1 组合物治疗的患者患有 IIIB 期或 IV 期非小细胞性肺癌。

[0026] 在本发明的一方面,提供一种治疗癌症患者的方法。该方法包括 (a) 选择治疗具有表达 MUC-1 的癌细胞的患者,和 (b) 在一段时间内给予该患者基于 MUC-1 的制剂,其中该制剂包含:(i) 脂质体;和 (ii) 至少一种包含选自下列氨基酸序列的多肽:SEQ ID NO.1 的氨基酸序列、SEQ ID NO.1 的氨基酸序列的免疫学活性变体、SEQ ID NO.2 的氨基酸序列以及 SEQ ID NO.2 的氨基酸序列的免疫学活性变体,且其中该患者在其血清中不具有高水平的循环 MUC-1。在一实施方案中,癌症选自卵巢癌、肝癌、结肠癌、乳腺癌、胰腺癌、肾癌、头颈癌和多发性骨髓瘤。

[0027] 上述总的描述和以下图的简述均为示例性和解释性的,并对要求保护的本发明提供进一步的解释。本领域技术人员将从以下发明详述中很容易清楚了解其它的目的、优点和新的特征。

[0028] 图示简述

[0029] 图 1 是描述本发明详述的研究的结果图,表明接受用 BLP25 脂质体疫苗治疗的患者或仅用最佳支持护理处理(best supportive care,BSC)的患者之间研究组别(study arm)的总存活期。参见以下实施例 1。

[0030] 图 2 是显示 NSCLC 的 IIIB 期局限性(locoregional)患者的存活分析图。两组患者(治疗和 BSC)的存活分析包括用 BLP25 脂质体疫苗治疗的患者对比仅用最佳支持护理处理的患者的存活分布函数。参见以下实施例 1。

[0031] 图 3 是描述不同患者的前列腺特异性抗原(“PSA”)倍增时间百分率变化的图,所述患者已接受一种剂量的 BLP25 脂质体疫苗。参见以下实施例 3。

[0032] 图 4 是列出通过探访、研究组别(BLP25 和对照)和正常/异常水平下患者 C27.29 值的频数分布表。

[0033] 图 5 显示与具有异常水平的患者相比较,在基线处具有正常抗原水平的患者的存

活曲线。

[0034] 图 6 显示具有正常水平的 CA27.29 的那些患者的中位数存活期是 24.2 个月,而具有异常水平的患者的中位数存活期为 9.8 个月 (Cox $p = 0.0006$)。

[0035] 图 7 表明对照组别的数据,其中与具有异常 CA27.29 水平的患者的 11.3 个月相比,具有正常 CA27.29 水平患者的中位数存活期为 15.1 个月 (Cox $p = 0.0042$)。

[0036] 图 8 显示与具有中位数存活期为 15.1 个月的对照组的那些患者相比,在 BLP25 组别中具有预存在正常水平 CA27.29 的患者的中位数存活期数据为 24.2 个月 (Cox $p = 0.0605$)。

[0037] 图 9 显示在 BLP25 组别中具有预存在异常水平 CA27.29 的患者的中位数存活期为 9.8 个月,而对照组的那些患者具有中位数存活期为 11.3 个月 (Cox $p = 0.5234$)。

[0038] 图 10 显示存活期对 T- 细胞增殖的 Kaplan-Meier 曲线。

[0039] 图 11 说明对各治疗组之间所选择的 HLA 类型所进行的存活期分析。

[0040] 图 12 表明在各研究组别中具有 HLA A02 的患者的存活期。

[0041] 图 13 表明具有 DQB 1-05 等位基因的患者的两组之间的存活期差异。

[0042] 图 14 显示在具有 DRB1-04 单倍型 (haplotypes) 的两组患者的存活期。

[0043] 图 15 显示具有 DQB 1-02 等位基因的两组患者的另一种存活期曲线。

[0044] 图 16 表明图 11 中所列的相同单倍型的各治疗组别内的另外的存活期分析。

[0045] 图 17 显示只在 BLP25 治疗组中的具有 CW07 等位基因 ($n = 45$) 的患者对比不具有所述等位基因的那些患者 ($n = 43$) 的 Kaplan-Meier 存活曲线。

[0046] 图 18 表明在研究中患有 IIIB 期恶性肿瘤性胸膜渗漏或 IV 期疾病患者的治疗组的存活期。

[0047] 图 19 表明根据基线 CA27.29 正常 vs. 异常 (对照组) 的存活期。

[0048] 图 20 表明基线 CA27.29 正常 vs. 异常的总存活期。

[0049] 图 21 表明治疗组的总存活期。

[0050] 图 22 表明在研究中患有 IIIB 期局限性疾病患者的治疗组的存活期。

[0051] 图 23 表明根据基线 CA27.29 正常 vs. 异常 (BLP 组) 的存活期。

[0052] 发明详述

[0053] 本发明提供基于 MUC-1 的制剂以及治疗罹患癌症的患者的方法,其中癌症易于用 MUC-1 制剂治疗。此类癌症的实例为 NSCLC 和前列腺癌。本发明还包括用基于 MUC-1 的制剂治疗除 NSCLC 和前列腺癌之外的其它癌症。

[0054] 本发明的制剂可包含 MUC-1 核的重复。MUC-1 核重复可以是多次出现在 MUC-1 蛋白中的一种氨基酸序列。优选本发明的 MUC-1 核重复肽拟似表达在癌细胞内的 MUC-1 蛋白所表现的特性,其具有连接于 MUC-1 蛋白骨架的较短的碳水化合物部分。

[0055] 在一实施方案中,本发明的 MUC-1 核重复具有氨基酸序列, STAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPP (SEQ ID NO:1)。

[0056] MUC-1 核重复还可具有任何以下所示的氨基酸序列:

[0057] STAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPK (棕榈酰基)G (SEQ ID NO:2)

[0058] STAPPAHGVTSAPDTRPAPG (SEQ ID NO:3)。

[0059] 在某些实施方案中,该核重复可被脂质化。在此将一种这样的 MUC-1 核重复脂肽

称为 BLP25。还可将所述制剂与脂质体结合。该结合可包括但不限于将肽加入到脂质体中或通过脂质体包裹所述肽。

[0060] 在此将含有 BLP25 脂肽的脂质体疫苗称为“L-BLP25”。

[0061] 本发明的制剂还可包含一种辅药或多种辅药的组合,如脂质 A 或白介素-2(IL-2)。可用于本发明的其它示例性辅药在下文描述。可将基于 MUC-1 的制剂配制成疫苗,并且该疫苗可以是一种脂质体相关的 MUC-1 核重复疫苗。在数个实施方案中,所述疫苗制剂包含与脂质体结合的 MUC-1 核重复和辅药。所述 MUC-1 核重复可被脂质化。

[0062] 本发明的疫苗可包含:(a) 含 SEQ ID NO. :1 的序列和外源性脂质的 MUC-1 核重复;或者 (b) 含 SEQ ID NO. :1 的序列和脂质体的 MUC-1 核重复;或者 (c) 含 SEQ ID NO. :1 的序列和脂质体以及辅药的 MUC-1 核重复;或者 (d) 含 SEQ ID NO. :1 的序列和脂质体以及辅药的 MUC-1 核重复,其中辅药为脂质 A。

[0063] 在某些其它实施方案中,本发明的疫苗可包含:(a) 含 SEQ ID NO. :2 的序列和外源性脂质的 MUC-1 核重复;或者 (b) 含 SEQ ID NO. :2 的序列和脂质体的 MUC-1 核重复;或者 (c) 含 SEQ ID NO. :2 的序列和脂质体以及辅药的 MUC-1 核重复;或者 (d) 含 SEQ ID NO. :2 的序列和脂质体以及辅药的 MUC-1 核重复,其中辅药为脂质 A。

[0064] 以下更详细地描述治疗易于用基于 MUC-1 的制剂以及基于 MUC-1 的疫苗制剂的组分治疗的癌症(如 NSCLC 或前列腺癌)患者的概念。

[0065] I. BLP25 脂质体疫苗

[0066] 在一实施方案中,基于 MUC-1 的制剂包含一定量的 MUC-1 脂肽 BLP25 和一定量的辅药。在此将这种制剂称为 BLP25 脂质体疫苗(“L-BLP25”),其可为液体或为冻干制剂。例如,所述制剂或疫苗在单剂量量中可含有约 1000 μ g 的 MUC-1 脂肽 BLP25 和约 500 μ g 脂质 A。

[0067] 但是,其它微克量的 MUC-1 脂肽和脂质 A 也包括在本发明之内。例如, BLP25 脂肽的量可足以提供多剂量的所述疫苗。因此,所述 MUC-1 核重复制剂可包含例如约 50 μ g、约 100 μ g、约 200 μ g、约 300 μ g、约 400 μ g、约 500 μ g、约 600 μ g、约 700 μ g、约 800 μ g、约 900 μ g、约 1,000 μ g、约 1,010 μ g、约 1,020 μ g、约 1,030 μ g、约 1,040 μ g、约 1,050 μ g、约 1,060 μ g、约 1,070 μ g、约 1,080 μ g、约 1,090 μ g、约 1,100 μ g、约 1,200 μ g、约 1,300 μ g、约 1,400 μ g、约 1,500 μ g、约 1,600 μ g、约 1,700 μ g、约 1,800 μ g、约 1,900 μ g、约 2,000 μ g、约 3000 μ g、约 4000 μ g、约 5000 μ g、约 6000 μ g、约 7000 μ g、约 8000 μ g、约 9000 μ g、约 10000 μ g、约 15000 μ g、约 25000 μ g 或更多的 MUC-1 核重复。MUC-1 核重复的一种特定剂量的范围为约 500 μ g 至约 1500 μ g,约 500 μ g 至约 1500 μ g 和约 1000 μ g。

[0068] 类似地,可改变脂质 A 的量以与用于配制成疫苗的 MUC-1 肽的量相匹配。因此,脂质 A 的量可以是约 50 μ g、约 100 μ g、约 200 μ g、约 300 μ g、约 400 μ g、约 500 μ g、约 600 μ g、约 700 μ g、约 800 μ g、约 900 μ g、约 1,000 μ g、约 1,010 μ g、约 1,020 μ g、约 1,030 μ g、约 1,040 μ g、约 1,050 μ g、约 1,060 μ g、约 1,070 μ g、约 1,080 μ g、约 1,090 μ g、约 1,100 μ g、1,200 μ g、1,300 μ g、1,400 μ g、1,500 μ g、1,600 μ g、1,700 μ g、1,800 μ g、1,900 μ g 或约 2,000 μ g 或更多。尤其是可以有约 500 μ g 的脂质 A。

[0069] 所述 BLP25 脂肽和脂质 A 可与在该干粉再水合中形成的脂质体的脂质双层缔合。

[0070] 所述制剂被保存在管形瓶中,如 5ml 的 I 型硼硅玻璃瓶。容纳 MUC-1 制剂的小瓶

还可装有其它疫苗组分。例如,管形瓶可包含其它的脂质体样类脂,如二棕榈酰基磷脂酰胆碱、胆固醇和二肉豆蔻酰磷脂酰甘油。那些特定脂质的各量可以变化。因此,管形瓶中任何一种二棕榈酰基磷脂酰胆碱、胆固醇和二肉豆蔻酰磷脂酰甘油的量可以是约 1mg、约 2mg、约 3mg、约 4mg、约 5mg、约 6mg、约 7mg、约 8mg、约 9mg、约 10mg、约 11mg、约 12mg、约 13mg、约 14mg、约 15mg、约 16mg、约 17mg、约 18mg、约 19mg、约 20mg、约 25mg、约 30mg、约 35mg、约 40mg、约 45mg、约 50mg、约 55mg、约 60mg、约 65mg、约 70mg、约 75mg、约 80mg、约 85mg、约 90mg、约 95mg 或约 100mg 或超过约 100mg。可将该脂质体样脂质包装在第二种小瓶中,而可将所述 MUC-1 制剂包装在第一种小瓶中。

[0071] 当然,存在本发明目的的其它实施方案。因此,仅以实例形式给出以上量的 MUC-1 脂肽 BLP25、辅药和 L-BLP25 中的脂质体样类脂。可很容易完成对适当量的各组分的测定,包括 MUC-1 脂肽的量。在某些实施方案中,MUC-1 脂肽的量将大于或小于约 300 μ g。所述疫苗不必装填于 5ml I 型硼硅玻璃瓶中,但可以以本领域已知的任何方式供给。

[0072] 在一实施方案中,所述 BLP25 脂肽是在接近其 C-末端含有脂质化氨基酸衍生物的一种线形 27-残基肽。明确地讲,BLP25 在该多肽的 26 位的赖氨酸残基上包含一个棕榈酰基脂质。所述 BLP25 脂肽的序列在以下表明的 SEQ ID NO.:2 中所示:

[0073] SEQ ID NO. 2:STAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPK(棕榈酰)G

[0074] 在具有 MUC-1 核序列的其它实施方案中,可出现在所述肽的天然序列内的氨基酸,如苏氨酸、丝氨酸、赖氨酸、精氨酸或半胱氨酸,可以是一种可与脂质连接的便利位置。另外,所述脂质可连接在一种合成氨基酸或在 MUC-1 核序列中非天然发现的氨基酸上。此外,可将一或多种天然或合成氨基酸加入到 MUC-1 核序列的末端或之内以促进脂质的连接。

[0075] 可加入到 MUC-1 核序列中的氨基酸的数目并不被限定,原因是可加入任何数目的氨基酸,只要所述肽在本发明方法中仍发挥功能即可。如上所示,已向 BLP25 多肽中加入两个其它的氨基酸。即 MUC-1 核序列的 C-末端以脯氨酸结束,因此是 25-残基长度。然而,在 BLP25 多肽情况下,已向该 C-末端脯氨酸中加入一个赖氨酸和甘氨酸以促进棕榈酰的连接。因此,BLP25 多肽的长度是 27 个氨基酸长度。可使用常规的肽合成方法向肽序列中加入一或多个这种其它的氨基酸。另外,可重组制备所述 MUC-1 核序列肽或 BLP25。

[0076] 在一具体的实施方案中,BLP25 脂质体疫苗(“L-BLP25”)可包含 BLP25 脂肽、脂质 A、胆固醇、DMPG 和 DPPC。所述 BLP25 脂肽可包含 SEQ ID NO:2 的序列,一种免疫活性片段,或其免疫学活性变体。这种 BLP25 脂质体疫苗(Liposome Vaccine)的剂量可包含约 1000 μ g 的 BLP25 脂肽、约 500 μ g 脂质 A、约 17.3mg 胆固醇、约 3.6mg DMPG 和约 29.1mg DPPC。

[0077] 还可将这种特定的疫苗组合物和剂量以“每瓶”量描述。因此,一管形瓶可包含约 300 μ g 的 BLP25 脂肽、约 150 μ g 的脂质 A、约 5.2mg 的胆固醇、约 1.1mg 的 DMPG 和约 8.7mg 的 DPPC。

[0078] 可将该疫苗冻干,然后在给药前重新构成溶液,如氯化钠溶液。可将上述 BLP25 脂质体疫苗的量重新构成例如约为 0.6ml 液体的体积的溶液,虽然根据所要求的剂量可使用任何体积的液体,如约 0.1ml、0.2ml、0.3ml、0.4ml、0.5ml、0.6ml、0.7ml、0.8ml、0.9ml、10ml、11ml、12ml、13ml、14ml、15ml、16ml、17ml、18ml、19ml 或 20ml 或 20ml 以上。加入到冻

干 MUC-1 疫苗中重新构成溶液的液体体积不必是给予患者的体积。

[0079] A. MUC-1 核重复变体

[0080] 作为 SEQ ID NOs:1 和 2 中所示的另一种 MUC-1 核重复序列,本发明的制剂可混合有那些 MUC-1 核重复序列的免疫活性同系物。因此,本发明包括应用具有类似于但不等同于 SEQ ID NO:1 或 SEQ ID NO:2 中所示的氨基酸序列的 MUC-1 核重复肽。所以,本发明还包括使用与 SEQ ID NO:1 或 SEQ ID NO:2 相比具有 99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、89%、88%、87%、86%、85%、84%、83%、82%、81% 或 80% 序列同一性且具有免疫活性的 MUC-1 核重复。

[0081] 可对本发明的 MUC-1 核重复蛋白进行修饰以含有保守的变体,或者可进行修饰以改变非关键残基或非关键区域的残基。非关键的氨基酸可通过本领域与已知的方法鉴定,如位点定向诱变、结晶、核磁共振、光亲和标记或丙氨酸扫描诱变 (Cunningham et al., Science, 244:1081-1085(1989); Smith et al., J Mol. Biol, 224:899-904(1992); de Vos et al., Science, 255:306-312(1992))。通过诸如蛋白酶结合底物、裂解、体外活性或体内活性等方法,可很容易测试所修饰的蛋白质诱发免疫反应的活性和能力。

[0082] 具体地讲,MUC-1 核重复变体可结合有 1、2、3、4 或 5 个改善 MUC-1 核重复稳定性的氨基酸取代基,或带有改善对抗氧化的 MUC-1 核重复稳定性的不同的疏水性氨基酸,或者带有改善对抗蛋白酶的 MUC-1 核重复稳定性的不同氨基酸。因此,本发明的“可变”MUC-1 核重复多肽通过一或多个取代、删除、插入、倒转、截断或其组合使得其氨基酸序列与 SEQ ID NOs:1 或 2 中呈现的序列存在差异。可制备含有氨基酸取代的这样的变体,该取代为用类似性质的另一种氨基酸取代一种给定的氨基酸。保守取代包括丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的脂族氨基酸相互交换;羟基残基丝氨酸和苏氨酸的相互交换;酸性残基天冬氨酸 (aspartate) 和谷氨酸 (glutamate) 的交换;酰胺残基天冬氨酸和谷氨酸的取代;碱性残基赖氨酸和精氨酸的交换;以及芳族残基苯丙氨酸和酪氨酸的置换。参见 Bowie et al, Science, 247:1306-1310(1990)。

[0083] B. MUC-1 核重复融合蛋白

[0084] 具有 SEQ ID NOs:1 或 2 的全长序列或其变体的 MUC-1 核重复肽还可结合另一种非正常相关的多肽。因此,可将 MUC-1 核重复肽在其 N- 末端或 C- 末端与具有基本上与 MUC-1 核重复不一致的氨基酸序列的异源多肽有效连接 (operatively)。“有效连接”表明所述 MUC-1 核重复肽和异源多肽都在构架内。

[0085] 融合蛋白可能或不可能影响 MUC-1 核重复或其官能变体诱发宿主系统的免疫反应的能力。例如,所述融合蛋白可以是谷胱甘肽 S- 转移酶 (GST)- 融合蛋白,其中 MUC-1 核重复体与 GST 序列的 C- 末端或者流感 HA 标记物融合。其它类型的融合蛋白包括但不限于酶性融合蛋白,例如 β - 半乳糖苷酶融合蛋白,酵母双- 杂交 GAL 融合蛋白、聚-His 融合蛋白和 Ig 融合蛋白。这些融合蛋白,尤其是聚-His 融合蛋白,可促进用于本发明的重组产生的 MUC-1 核重复体的纯化。在某些宿主细胞中,通过使用与蛋白酶融合的异源信号序列,可增强蛋白的表达和 / 或分泌,所述蛋白酶将 MUC-1 核重复肽传递至细胞外基质中或者将 MUC-1 核重复蛋白集中在细胞膜中。

[0086] 其它融合蛋白可影响 MUC-1 核重复诱发免疫反应的能力。例如,可将 MUC-1 核重复的亚区域置换,例如用 MUC-1 蛋白的另一区域的对应的区域或亚区域置换。因此,可制备

嵌合体性 MUC-1 核重复体。同样地,可改变底物的亲和力或者甚至防止底物的蛋白水解。因此,可使用一种具有例如 SEQ ID NO:1 或 2 或其变体的氨基酸序列的蛋白质作为另一种 MUC-1 核重复肽的竞争性抑制剂。

[0087] C. MUC-1 核重复修饰

[0088] MUC-1 核重复变体还包括衍生物或同系物,其中 (i) 将氨基酸用不是遗传密码编码的氨基酸残基取代,(ii) 使成熟的多肽与另一种化合物(如聚乙二醇)融合,或者 (iii) 将另外的氨基酸与 MUC-1 多肽融合,如前导或分泌序列或纯化多肽的序列。

[0089] 典型的修饰包括但不限于乙酰化、酰化、ADP-核糖基化、酰胺化、黄素的共价连接、血红素(heme)部分的共价连接、核苷或核苷衍生物的共价连接、脂质或脂质衍生物的共价连接、磷脂酰肌醇的共价连接、交联、环化、二硫键形成、脱甲基化、共价交联的形成、胱氨酸形成、焦谷氨酸形成、甲酰化、 γ 羧基化、糖基化、GPI 锚形成、羟基化、碘化、甲基化、十四烷酰化(myristoylation)、氧化、蛋白酶解加工、磷酸化、异戊烯化(prenylation)、外消旋化、硒化、硫酸化、转移-RNA 介导的氨基酸加入到蛋白中(如精氨酸酰化(arginylation))和遍在蛋白化。

[0090] 可用于 MUC-1 核重复的特别常用的肽修饰包括糖基化、脂质连接、硫酸化、谷氨酸残基的 γ -羧基化、羟基化和 ADP-核糖基化。参见 T.E.Creighton, 蛋白—结构和分子特性(Proteins—Structure and Molecular Properties), 第二版(W.H.Freeman 和 Company, New York(1993)); Wold, F., 蛋白质的翻译后共价修饰(Posttranslational Covalent Modification of Proteins), B.C.Johnson, Ed. (Academic Press, New York 1-12(1983)); Seifte 等, Meth. Enzymol, 182:626-646(1990); 和 Rattan 等, Ann. KY. Acad. Sci, 663:48-62(1992)。

[0091] 可在 MUC-1 核重复多肽的任何位置进行修饰,包括在肽骨架、氨基酸侧链和氨基端或羧基端上。通过共价键修饰阻断多肽中的氨基或羧基或两者是自然发生中和合成肽中常见的。

[0092] II. BLP25 剂量

[0093] 当给予患者基于 MUC-1 的制剂时,包括 MUC-1 核肽、BLP25 多肽或 BLP25 脂质体疫苗,本领域技术人员清楚所述剂量可依据数种因素而变化,包括但不限于患者的体重、肿瘤的体积或肿瘤的发展。一般地,本发明所用的接受基于 MUC-1 的制剂的患者是一种单个有机体。在某些实施方案中,患者是哺乳动物。尤其,患者可以是人,包括男性或女性。在许多实施方案中,患者是病人或者是等待或正处于医疗护理或治疗的病人。

[0094] 在单次或累计应用中,可给予患者 BLP25 脂质体疫苗中 BLP25MUC-1 多肽的剂量为约 50 μ g、约 100 μ g、约 200 μ g、约 300 μ g、约 400 μ g、约 500 μ g、约 600 μ g、约 700 μ g、约 800 μ g、约 900 μ g、约 1,000 μ g、约 1,010 μ g、约 1,020 μ g、约 1,030 μ g、约 1,040 μ g、约 1,050 μ g、约 1,060 μ g、约 1,070 μ g、约 1,080 μ g、约 1,090 μ g、约 1,100 μ g、1,200 μ g、1,300 μ g、1,400 μ g、1,500 μ g、1,600 μ g、1,700 μ g、1,800 μ g、1,900 μ g 或约 2,000 μ g。在各特定实施方案中,给予患者的剂量为每周约 1,000 μ g 的基于 MUC-1 的制剂。

[0095] 患者可例如以每日多次、每日、隔日、每周一次或以任何其它适合的给药方案接受一定剂量的基于 MUC-1 的制剂。在一实施方案中,常规给药包括在一定时期内每周一次给予一定剂量的 BLP25 脂质体疫苗。当然,所述给药方案可包含 MUC-1 肽传递的其它更动。

即,可将所述疫苗每周 1 次、2 次、3 次、4 次、5 次、6 次或更多次给予。在某些实施方案中,可在一定时期内给予患者用药至少 5 次。在其它实施方案中,可给予患者多于或少于 5 次的用药。因此,患者每周可接受约 1,000 μg 剂量的 MUC-1 脂质化多肽。另外,患者可每周 2 次接受两个 500 μg 的剂量或者在 5 日内每日接受 100 μg 的剂量。

[0096] 这些剂量实例并非限定性的,且仅用于例证性说明给予约 1,000 μg 的 MUC-1 脂质化多肽的特定给药方案。例如,如果特定给药的适合剂量为每周 1,000 μg ,可将所述剂量分为任何数目的排列。其也适用于如果特定给药的适合剂量大于或小于 1,000 μg 的情况。

[0097] 给予患者基于 MUC-1 的制剂的给药期可以是任何适合的时期。这种适合的时期的实例包括但不限于至少约 3 个月、至少约 4 个月、至少约 5 个月、至少约 6 个月、至少约 7 个月、至少约 8 个月、至少约 9 个月、至少约 10 个月、至少约 11 个月、至少约 12 个月、至少约 13 个月、至少约 14 个月、至少约 15 个月、至少约 16 个月、至少约 17 个月、至少约 18 个月、至少约 19 个月、至少约 20 个月、至少约 21 个月、至少约 22 个月、至少约 23 个月或至少约 24 个月或更长。如果需要,该治疗期还可持续超过 24 个月,如 30 个月、31 个月、32 个月、33 个月、34 个月、35 个月、36 个月或长于 36 个月。

[0098] 在本发明的另一实施方案中,本文所述的任何方法的给药时间段为至少约 2 周、至少约 4 周、至少约 8 周、至少约 16 周、至少约 17 周、至少约 18 周、至少约 19 周、至少约 20 周、至少约 24 周、至少约 28 周、至少约 32 周、至少约 36 周、至少约 40 周、至少约 44 周、至少约 48 周、至少约 52 周、至少约 60 周、至少约 68 周、至少约 72 周、至少约 80 周、至少约 88 周、至少约 96 周或至少约 104 周。

[0099] 可在治疗的不同阶段给予基于 MUC-1 的制剂。例如,可在治疗期和维持期均给予基于 MUC-1 的制剂。在某些实施方案中,治疗期将包括以每周剂量给予基于 MUC-1 的制剂,而维持期可能是更长的时间段,如约每 6 周、约每 7 周、约每 8 周、约每 9 周、约每 10 周、约每 11 周、约每 12 周或更长。在某些例子中,治疗期所给予的剂量将比维持期所给予的剂量更大。但是,治疗和维持期是针对具体患者所设计的,因此治疗和维持期之间的时间和剂量可与以上实例明显不同。一般地,维持期可开始于认定适合的任何时间。例如,在某些实施方案中,治疗期为 8 周,而维持期将持续患者的终生。在其它实施方案中,仅进行治疗或维持期。

[0100] 在另一实施方案中,可预防性给予基于 MUC-1 的制剂。在这些实施方案中,给予基于 MUC-1 的制剂可预防个体发生癌症,如 NSCLC 或前列腺癌。当预防性使用基于 MUC-1 的制剂时,可很容易确定给药量和给药方案。

[0101] 医师可确定患者应保持基于 MUC-1 的制剂的时间的量。某些情况下,在患者剩余的生命期内给予基于 MUC-1 的制剂可能是有利的。

[0102] III. 脂质体

[0103] 在很多实施方案中,可将基于 MUC-1 的制剂与脂质体使用。脂质体是由一或多个包围在水隔室 (compartment) 的脂质双层组成的微囊。参见例如 Bakker-Woudenberg 等, *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 12 (Suppl. 1) :S61 (1993), and Kim, *Drugs*, 46:618 (1993)。因为可用还在天然细胞膜中发现的大量脂质分子制备脂质体,所以脂质体通常可被安全地给予并且为可生物降解的。因此,通常在药物传递中使用脂质体。

[0104] 依据制备方法,脂质体可以是单层的或多层的,并且直径的大小可以改变,范围从

约 0.02 μm 至大于约 10 μm 。可将多种药物包囊或插入到脂质体中。疏水性药物分配在双层中,亲水性药物分配在内部水溶液空间内。参见,例如 Machy 等,细胞生物学和药理学中的脂质体 (LIPOSOMES IN CELL BIOLOGY AND PHARMACOLOGY) (John Libbey, 1987) 和 Ostro 等, American J. Hosp. Pharm. 46:1576 (1989)。

[0105] 脂质体可直接吸收任何类型的细胞,然后释放一种结合剂。在某些情况下,脂质体可与靶细胞融合,然后将脂质体的内容物倒空到靶细胞中。另外,脂质体可被具有吞噬性的细胞内吞。内吞作用后脂质体样类脂的内溶酶体 (intralysosomal) 降解并释放被包囊的药物。Scherphof 等, Ann. KY. Acad. Sci, 446:368 (1985)。

[0106] 另外,可用脂质体在其表面上呈现活性剂 (如多肽),由此诱发各种事件 (如信号级联放大) 或激发生化途径,而不融合以上段落中提及的靶细胞或表面。因此,例如,可通过所连接于多肽的脂质,将多肽结合到例如脂质体的脂质双层中。

[0107] 脂质体被用作本发明基于 MUC-1 的制剂的传递载体。可在本发明方法中使用的示例性适合的脂质体包括多层囊泡 (MLV)、少层囊泡 (OLV)、单层囊泡 (UV)、小单层囊泡 (SUV)、中等体积单层囊泡 (MUV)、大单层囊泡 (LUV)、巨型单层囊泡 (GUV)、多泡囊泡 (MVV)、经反相蒸发法制备的单或少层囊泡 (REV)、经反相蒸发法制备的多层囊泡 (MLV-REV)、稳定多层囊泡 (SPLV)、冻结或融化的 MLV (FATMLV)、经挤出法制备的囊泡 (VET)、经弗氏细胞压碎器 (French press) 制备的囊泡 (FPV)、经融合制备的囊泡 (FUV)、脱水-再水合囊泡 (DRV) 和泡状脂质体 (BSV)。然后,如本领域技术人员清楚的一样,所述脂质体的类型并不受此限定,其可包括以任何适合于本发明方法制备的任何脂质体。制备脂质体的技术在本领域是熟知的。参见胶体药物传递系统 (COLLOIDAL DRUG DELIVERY SYSTEMS), vol. 66 (J. Kreuter ed., Marcel Dekker, Inc. (1994))。

[0108] IV. 脂质

[0109] 在很多实施方案中,基于 MUC-1 的制剂可被脂质化,如用 SEQ ID NO. :2 脂质化。此处所用的“脂质”可以是十四烷基、棕榈酰或十二烷基分子,其可与具有功能性氧、氮或硫基团的氨基酸连接。这些氨基酸包括但不限于苏氨酸、丝氨酸、赖氨酸、精氨酸和半胱氨酸。

[0110] “单脂肽”是一种仅连接一个脂质链的肽。类似地,“双脂肽”是一种具有连接一个或两个氨基酸的两个脂质链的肽。如果两个脂质链连接两个氨基酸残基,那些残基可被任何数目的氨基酸在空间上分开。在连接一个以上脂质的情况下,各脂质可以是相同的脂质或者可以是不同的脂质。类似地,如果连接两个以上脂质,则两个或两个以上的脂质可以相同,或者所有的脂质都不相同。

[0111] 据信可将脂肽 (如 BLP25) 结合到脂质体中,原因是肽的脂质部分可自发地整合成脂质体的脂质双层。因此,在这种情况下,脂肽可被呈现在脂质体的“表面”。另外,可将肽包囊在脂质体之内。用诸如肽的分子制备和配制脂质体的技术是熟知的。

[0112] V. 辅药实例

[0113] 本发明的基于 MUC-1 的制剂还可包含一或多种辅药。另外,可在给予本发明的基于 MUC-1 的制剂之前、联合或之后给予一或多种辅药。

[0114] 如所熟知的那样,辅药是与特定抗原刺激物一起作用增强抗原的特殊响应的物质。例如,单磷酸脂质 A (MPLA) 是一种引起脂质体性抗原在特定 T 淋巴细胞上呈现增加的有效辅药。Alving, C. R., Immunobiol, 187 :430-446 (1993)。MPLA 可结合钟样 (toll-like)

受体,其可导致控制各种免疫响应基因的表达的防御信号传导途径的激活。

[0115] 基于脂质的辅药,如脂质 A 和其衍生物,适合于与基于 MUC-1 的制剂使用。当结合到脂质体中时,还发现胞壁酰二肽 (MDP) 能增强辅助疗效。(GuptaRKetal., 辅药—毒性和辅助疗效之间的平衡 (Adjuvants—A balance between toxicity and adjuvancity), "Vaccine, 11, 293-306(1993))。

[0116] 可用于本发明的另一类辅药包括刺激性细胞因子,如白介素 -2(IL-2)。因此,可用 IL-2 配制本发明的脂质体疫苗,或者可将 IL-2 单独给予以得到最优化抗原响应。在很多实施方案中,利于用脂质体将 IL-2 配制成制剂。

[0117] 还可将辅药的合成拟似物与基于 MUC-1 的制剂共同配制。例如,可将脂质体 A 拟似物与脂质体疫苗联合应用。一种特定类型的脂质 A 拟似物是其中脂质 A 二糖的一或两个糖单位被至少季戊四醇的碳骨架替代的类型。例如,参见结合到本发明作为参考的 WO 03/094850。

[0118] VI. 疫苗制剂的示例

[0119] 当基于 MUC-1 的制剂是疫苗时,还可用一或多种药学上可接受的赋形剂制备疫苗。这些赋形剂的性质是本领域熟知的,但一般包括为生理学上可耐受的并且对于本发明组合物的疫苗特性具有惰性或提高活性的赋形剂。药学上可接受的赋形剂的非限定性实例包括液体介质,如无菌、生理盐水。可在配制脂质体疫苗的任何点上加入赋形剂,或者可将其与完整的疫苗组合物混合。人们很容易确定何时加入赋形剂以及用于本发明疫苗的适合的赋形剂。

[0120] 一种具体的疫苗制剂可包括约 300 μ g 的 SEQ ID NO:2 的 MUC-1 脂肽 BLP25、约 150 μ g 脂质 A 和约 15mg 一或多种其它的脂质体样类脂,如二棕榈酰磷脂酰胆碱、胆固醇 (DPMC) 和二肉豆蔻酰磷脂酰甘油 (DPMG)。

[0121] VII. 环磷酰胺

[0122] 在用基于 MUC-1 的制剂治疗之前,可将患者用环磷酰胺“预治疗”。在很多实施方案中,环磷酰胺的剂量约为 300mg/m²、约 400mg/m²、约 500mg/m²或约 600mg/m²。可将范围约为 300mg/m²的环磷酰胺剂量认定为低剂量。在某些实施方案中,将环磷酰胺以单剂量给予。在其它实施方案中,在一定时期内以一个以上的剂量给予环磷酰胺。

[0123] 环磷酰胺的使用剂量,如 300mg/m²,可以部分克服某些癌症患者中所见的免疫抑制。在各种动物模型中,在某些患者中已显示出环磷酰胺增强迟发型超敏反应、增加抗体产生、消除耐药性和增强抗肿瘤免疫性。还可在用本发明制剂的预治疗方案中使用以类似于环磷酰胺的方式影响免疫系统的其它药物。

[0124] VIII. L-BLP25 疫苗给药途径和靶向作用

[0125] 可将本发明的基于 MUC-1 的制剂(包括疫苗)配制成可供多种途径给药。具体的给药途径包括药学上适合的任何给药方法,如通过静脉内、肌内、皮下或皮内注射、气雾剂、经皮、肺、鼻、口腔、阴道、直肠、眼、局部(散剂、软膏剂或滴剂)、颊、脑池内、腹膜内或外用等给予,或者通过这些途径的组合给予,以单次或多个单位剂量给予。还可将该疫苗或与脂质体结合的 MUC-1 核重复肽通过适于透皮传递的制剂给予,如通过透皮贴剂。

[0126] 疫苗的给药是熟知的,并最终依据具体的剂型和主治医师的判断给予。可将基于 MUC-1 的制剂(如 L-BLP25)制成混悬液,或者可将其冻干并在随后水合制成可使用的制剂。

[0127] 在某些实施方案中,如实施例 1 的实施方案中,可将一种剂量的基于 MUC-1 的制剂注射到数个不同的部位。例如,在实施例 1 的实施方案中,可将 1,000 μ g 基于 MUC-1 的多肽以每次大约 250 μ g 的四个亚剂量给予。在注射的情况下,注射的量是无关的,只要给予本发明组合物的适合剂量或亚剂量即可。例如,一次注射可以是 1cc(ml),而另一次具有准确相同剂量的注射可以是 5cc(ml)。此外,亚剂量中的量仅为非限定的实例,可以出现超过或小于全剂量的 1/4 的亚剂量的实施方案。

[0128] 可将所述亚剂量或剂量给予上臂的三角肌或三头肌区以及腹部的左和右前外侧。但是这些注射位置仅为实例。在某些实施方案中,仅给予两个亚剂量,并且可将这些亚剂量给予到以上提及的任何区域内。在另外的实施方案中,可将亚剂量或全剂量给予完全不同的区域。如果注射基于 MUC-1 的制剂,则可容易地确定适合的注射部位。

[0129] 为提供更大的专一性,由此在理论上降低体内给药过程中的毒性或其它不需要的反应的风险,某些实施方案中的本发明组合物通过被设计作用于称之为抗原递呈细胞而靶向作用于细胞上。这可通过使用常规靶向技术,很容易实现将含有致免疫性肽的脂质体作用于体内的特定部位上。为靶向抗原递呈细胞,例如,可将抗体的甘露糖和 Fc 部分化学性结合到抗原肽上,或者可将靶向肽重组融合到致免疫性脂肽上。其它类似的方法对于本领域人员是熟悉的。尽管如此,在某些实施方案中,本发明组合物并不定向于特定的细胞类型或器官。

[0130] IX. 治疗的患者

[0131] 被诊断出患有易于用基于 MUC-1 的制剂治疗的癌症(如 NSCLC 和前列腺癌)的任何患者都可接受用本文所述的基于 MUC-1 的制剂治疗。另外,呈现出易于用基于 MUC-1 的制剂治疗的癌症的任何阶段的症状(如任何阶段 NSCLC 或任何阶段前列腺癌的症状)、但尚未正式诊断为具有癌症的任何患者也可接受用基于 MUC-1 的制剂治疗。此外,如上所述,可预防性给予基于 MUC-1 的制剂以预防患者感染易于用基于 MUC-1 的制剂治疗的癌症,如 NSCLC 或前列腺癌。

[0132] 在选择患有易于用基于 MUC-1 的制剂治疗的癌症患者(如 NSCLC 和 / 或前列腺癌患者)时,为用基于 MUC-1 的制剂治疗,在治疗之前或之中测定患者血清中的 MUC-1 水平是有益的。在某些癌症患者中,高血清水平的 MUC-1 与预后不良关联。

[0133] 参见,例如 Pihl et al., Pathology, 12:439-447(1980)。由于异常循环量的 MUC-1 可抑制或降低外源性基于 MUC1 的制剂间的相互作用的有效性,所以已知量的内源 MUC-1 可协助确定给予患者的基于 MUC-1 的制剂的适合剂量。

[0134] A. 肿瘤标记物 CA27.29(MUC1)

[0135] CA27.29 是一种抗原的名称,其是一种特别有用的鉴定 MUC-1 蛋白的靶标,尤其是鉴定循环在患者血流或适当生物样本,如血、尿或血清样本中的 MUC-1 蛋白片段。通过对 MUC-1 产物的蛋白核心具有特异性的单克隆抗体,可检测 CA27.29 抗原。可使用具有重叠合成肽的最小表位作图(mapping)来鉴别适合的单克隆抗体。一种这样的抗体是 B27.29。

[0136] 几种变量,如 MUC-1 串联重复的数目和 MUC-1 表位的转录后糖基化,可影响体内的检测和 MUC-1 相关标记物的定量。体内检测 MUC-1 及其片段可被存在的循环的抗粘蛋白自身抗体进一步复杂化,所述自身抗体作为宿主对改变的粘蛋白生物化学响应的结果偶尔在癌症患者中发现。这些抗体能够形成粘蛋白-抗体粘蛋白免疫复合物,其依据测试形式不

同可影响 MUC1 的检测。参见 Gion et al., *Clinical Chemistry*, 45:630-637(1999), 其结合到本发明中作为参考。

[0137] 可使用任何方法, 如酶联免疫吸附测定法, 检测或测试患者血样内的 CA27. 29 抗原量。另一种测定法是 ACS:180BR 测定法 (Bayer Diagnostics), 其为一种完全自动化竞争性化学发光免疫分析法。将小鼠单克隆抗体 (因对抗 MUC-1 的骨架的串联区域的肽表位产生并用吡啶鎓盐 (acridinium) 酯标记) 与患者样本和共价偶合于顺磁性颗粒 (固相) 的纯化 CA27. 29 一起孵育 7.5 分钟。样本中的抗原和固相 CA27. 29 竞争结合所标记的抗体。因此, 在样本的抗原量和根据该系统检测的相关光单位的量之间找到反相关。可根据制造商的说明书进行该测定。

[0138] 另一种测试是 TRUQUANT BR 放射性免疫测试, 其使用以上所提的单克隆抗体 B27. 29, 以定量血清中的 CA27. 29 粘蛋白抗原。参见 MacLean 等, *J. Immunother.*, 20(1):70-8(1997)。

[0139] 一般地, 在实施例 4 中例证性的实例中, 血清或循环血中 CA27. 29 抗原的正常水平约为 37.7U/ml。大于约为 37.7U/ml 的血清 MUC-1 水平表明为异常。

[0140] 确定不同组别患者的循环 MUC-1 肽 (如 CA27. 29 抗原) 的阈水平在技术人员的权限之内。即, 值“37.7U/ml”不必是所有测试人群的一个限定阈值。循环 CA27. 29 的“正常”量例如可从所要求的亚群测定, 并可用作一种将 C27. 29 量分为正常或异常的类别的指标。

[0141] 在所呈现的一实例中, 根据 C27. 29 水平测定的正常 MUC-1 循环水平的上限约为 37.7U/ml。因此, 在本发明中, 具有约 37.7U/ml 或低于 37.7U/ml 的 MUC-1 水平的患者是用基于 MUC-1 的疫苗 (如 BLP25) 或本文所述的其它 MUC-1 制剂之一治疗的合适候选者。

[0142] 根据本发明, 具有处于或低于不同“阈”正常水平的循环 MUC-1 的 MUC-1 水平患者也适于作为用基于 MUC-1 的疫苗 (如 BLP25) 或本文所述的其它 MUC-1 制剂之一治疗的合适候选者。

[0143] B. HLA A2 分型

[0144] 术语 HLA 指人白血球抗原系统, 其受染色体六的短臂上的基因控制。HLA 位点是已知作为主要组织相容性复合物 (MHC) 的遗传区的部分。MHC 具有整合免疫响应的正常功能的基因 (包括 HLA)。HLA 抗原的基本作用在于控制自身识别, 并由此防御微生物。不只是在血细胞中, 在所有的机体组织上都识别某些 HLA 抗原。

[0145] 人白细胞抗原 (HLA) A2 是 HLA A 位点上最异质的等位基因, 其具有大约 56 个不同的亚型。在全世界的种群中都已观察到 A02 分布中的基本异质性。HLA B40 是与 A2 单倍型相关的最常见的等位基因。HLA A2 还与多种疾病相关, 包括阿尔茨海默氏病、牛皮癣性关节炎、白斑病和肺结核。

[0146] 可能检测患者的血或组织样本中 HLA A2 蛋白或 DNA 或 RNA 的存在。因此, 在后一种测试中, 可使用聚合酶链式反应 (PCR) 检测 HLA A2DNA、RNA 或 cDNA。例如, 基于 PCR 的可逆印迹序列特异性寡核苷酸杂交技术。另外, 可使用用 HLA A2- 特异性探针的 DNA 或 RNA 印迹技术。另一方面, 可使用抗体检测 HLA A2 蛋白。

[0147] HLA 核酸或 HLA A2 蛋白的存在与否是在准备用基于 MUC-1 的疫苗 (如 BLP25) 治疗的患者中需考虑的一个因素。

[0148] X. NSCLC 患者

[0149] 当用本发明的基于 MUC-1 的制剂治疗 NSCLC 患者时,可治疗被诊断患有局部的 IIIB 期 (LR)、恶性肿瘤性胸膜渗漏的 IIIB 期或者特定 IV 期的 NSCLC 的患者。尽管如此,本发明还包括治疗除患有局部的 III 期、III 期胸膜渗漏和 IV 期疾病患者之外的 NSCLC 患者。因此,本发明包括治疗被诊断为 IA 期、IB 期、IIA 期、IIB 期、IIIA 期、IIIB 期、局部 IIIB 期、胸膜渗漏的 III 期和 IV 期的 NSCLC 患者。参见结合到本文作为参考的 Mountain C. F., Chest, 7/7(6):1710-7(1997)。

[0150] A. 肺癌分期

[0151] 一般地,当在 NSCLC 患者中使用基于 MUC-1 的制剂时,可在治疗之前、之后或过程中测定患者 NSCLC 的阶段。以下列出肺癌分期的要点:

[0152] 一般在肺癌中,“期”数的增加与更严重的预后相关。为诊断各期患者,将原发性肿瘤的体积和位置 (“T”值) 以及包含结节的程度和转移灶增加的可能性 (“N”值) 考虑在内。当诊断患者不存在 (“M0”) 或存在 (“M1”) 转移灶时,也注释。

[0153] 1. T 类

[0154] T 类由 T1-T4 的亚类组成,其中数目由 1 至 4 增加代表原发性肿瘤大小和局部侵袭的增加。T1 和 T2 主要区别在于大小,例如 T1 小于 3cm,而 T2 大于 3cm。T3 肿瘤一般与胸壁有关,包括但不限于肺沟上部、膈膜、纵隔胸膜、心包或近主支气管干,但可切除。T4 肿瘤不能手术切除,因为它们已侵入纵隔,并可涉及心脏、大血管、气管、隆凸 (carina) 或食管,或者在恶性肿瘤性胸膜渗漏、肋膜情形。

[0155] 2. N 类

[0156] 结节期被分为 N1、N2 和 N3。N1 结节一般涉及支气管周围或同侧肺门淋巴结。这些结节位于胸膜内。N2 结节一般涉及同侧纵隔或下主静脉结节。N3 结节一般涉及对侧腋或纵隔任何斜角肌结节或者锁骨上结节。

[0157] 3. NSCLC 各期

[0158] 因此,NSCLC 的“各期”代表根据 T、N 和 M 值不同排列的 NSCLC 的不同分类。公认的 NSCLC 各期如下:

[0159] 隐性癌:在该类别中,将患者划分为 TX N0 M0 类,意指他们已在其支气管肺的分泌物中具有检测到的癌细胞,但支气管镜或放射照相方法并未有明显肿瘤。

[0160] IA 期和 IB 期:根据 5 年存活率结果明显好于 IB 期疾病的患者 (T2 N0 M0),将 IA 期划分为 T1 N0 M0 类。手术是这些患者的优选疗法。在 1997, IA 期的手术时期的患者的 5 年存活率为 67%, IB 期为 57%。

[0161] IIA 期和 IIB 期:IIA 期疾病被定义为 T1 N1 M0,手术阶段的 5 年存活率为 55%。IIB 期疾病由 T2 N1 M0 和 T3 N0 M0 组成。T3 N0 M0 表示法代表未涉及淋巴结的肿瘤肺外扩展。将类别 T3 N0 M0 与类别 T2 N1 M0 归为一组,原因是它们外科期疾病的 5 年存活率分别为 38%和 39%,没有明显差别。手术还是这些患者的主要疗法。

[0162] IIIA 期:认为 IIIA 期的患者可进行切除术,而 IIIB 期的患者不能进行切除。IIIA 期的患者被定义为具有延伸到肺外 (T3) 并涉及有限的淋巴结 (N1 或 N2) 的病灶。所涉及的结节可延伸到同侧纵隔和 / 或锁骨上的淋巴结。将这些患者划分为 T3 N1 M0 或 T1-3 N2 M0 类。在 1997, IIIA 期疾病的 5 年存活率为 23%。

[0163] IIIB 期:IIIB 期分类指具有涉及肺外症状的患者,所述肺外包括但不限于对侧纵

膈或肺门淋巴结；同侧或对侧锁骨上或斜角肌结节；没有远端转移的广泛纵膈结节；或者细胞学阳性恶性肿瘤性胸膜渗漏。可将这些患者划分为 T1-3 N3 M0 或 T4 N0-3 M0 类。在 1997, 多疗法的临床期疾病的 5 年存活率为 5%。

[0164] **IV 期:**IV 期被定义为任何涉及转移的阶段。这些患者被分为带有任何 T 和任何 N 的 M1 类别。在 1997, 超过四分之一的 NSCLC 患者具有临床 IV 期。

[0165] **XI. 前列腺癌患者**

[0166] 与经历多种疗法的晚期肺癌患者的低存活率类似, 经历前列腺切除术后生物化学衰竭的前列腺癌男性患者具有很少的治疗选项。一种目前具有的治疗选项是雄激素剥夺疗法 (ADT)。不幸的是, 这种疗法具有明显的发病率, 尤其是如果长时间使用时。

[0167] 在前列腺癌患者中, 已知当前列腺增大时, 血中前列腺特异性抗原 (“PSA”) 水平趋向于升高。因此, PSA 是前列腺癌的好的生物学或肿瘤标记物。在更晚期病情的患者中, 治疗引起的 PSA 降低与改善存活期有关 (Scher 等, J. Natl. Cancer Inst., Pi (3) : 244-51 (1999))。

[0168] **XII. 治疗 NSCLC 或前列腺癌患者**

[0169] 本发明包括在所有的 NSCLC 阶段用本发明的基于 MUC-1 的制剂治疗 NSCLC 患者以及治疗前列腺癌患者, 包括具有 PSA 衰竭、根治性前列腺切除术之后的前列腺癌患者。术语 “治疗” 的使用指所述制剂或疫苗对预防、治愈、逆转、衰减、缓和、降到最低、抑制或停止疾病状态的有害作用、疾病的发展、疾病的致病因素或其它异常疾病有用。

[0170] 在某些实施方案中, NSCLC 或前列腺癌患者在用本发明组合物治疗之前, 可能以前进行过放射或手术治疗。在用本发明的基于 MUC-1 的制剂治疗之前、之中或之后, 患者还可能接受化疗、放疗或手术疗法。在这些患者中, 可在基于 MUC-1 的制剂治疗之前、之中或之后, 给予任何可接受的癌症疗法。

[0171] 当选择用本发明制剂和疫苗治疗的患者时, 可使用选入标准和排除标准。例如, 在一实施方案中, 当将 NSCLC 患者用基于 MUC-1 的制剂治疗时, 所治疗的患者可以是 18 岁以上的男性或女性, 其疾病稳定或者在其一线标准化疗完成后对治疗响应。可用基于 MUC-1 的制剂治疗除上述患者之外的患者。事实上, 用本发明组合物治疗的某些患者在用基于 MUC-1 的制剂治疗之前未经化疗。

[0172] **XIII. NSCLC 患者的可能的选入标准和排除标准**

[0173] 在另一实施方案中, 所选用于治疗的 NSCLC 患者具有东部肿瘤协作组 (ECOG) 体能状态 (performance) 评分 ≤ 2 , 中性白细胞计数 $\geq 1.5 \times 10^9/L$; 血小板计数 $\geq 100 \times 10^9/L$; WBC $\geq 2.5 \times 10^9/L$ 和血红蛋白 $90g/L$ 。虽然可使用 ECOG 成员评估治疗的患者, 但在治疗之前、之中或之后并不要求特定的 ECOG 成员。

[0174] 其它选入标准可包括四个月的期望存活期和其中患者了解并签署书面承诺。当然, 没有设定选入标准和对预期具有较低期望寿命的患者的治疗。另外, 当基于 MUC-1 的制剂变成主流癌症疗法时, 患者可能有开具的本发明组合物的处方, 并且不必签署书面承诺。

[0175] 对于可排除治疗的 NSCLC 患者, 所述排除标准仅为指导性原则。在很多情况下, 呈现一或多种排除标准 (包括所有的排除标准) 的患者, 仍可用基于 MUC-1 的制剂治疗。NSCLC 患者的排除标准的实例包括: (a) 治疗前 4 周内的手术或免疫疗法, (b) 治疗前 3 周内的免疫抑制药物, 包括系统性给予肾上腺皮质激素类药物, (c) 除肺癌外, 赘生物在过去

或当前病史, (d) 自身免疫性疾病或公认的免疫缺陷疾病, (e) 临床上显著的肝或肾功能不全, (f) 显著的心脏病或活动性感染, 或 (g) 已做过脾切除术的患者。

[0176] XIV. 前列腺癌患者的可能的选入标准和排除标准

[0177] 类似于 NSCLC 患者, 前列腺癌患者也可遵从选入标准和排除标准。再一次说明, 这些标准仅为指导性原则, 不满足任何所述选入标准或满足任何或所有所述排除标准的前列腺癌患者仍可在本发明方法下治疗。对于前列腺癌患者, 选入标准可包括: (a) 治疗前至少 6 个月进行根治性前列腺切除术, (b) 根治性前列腺切除术后 3 个连续增加的血清 PSA 值, 比前列腺切除术后最低值增加至少 50%, (c) 阴性骨盆 CT 和骨扫描证实预治疗评估中无恶性疾病迹象, (d) ECOG 体能状态 0、1, (e) 正常的血液、肝和肾功能检测, (f) 理解并签署书面告知承诺书; 和 (g) 曾经用激素疗法 (即新辅助疗法 pre-RP) 治疗前列腺癌的患者血清睾酮必须在正常范围之内。如上所述, 这些选入标准仅为指导性方针, 并且可使用本发明方法治疗具有不同标准的很多患者。例如, 可治疗尚未进行根治性前列腺切除术的前列腺癌患者。另外, 还可治疗血清 PSA 未增加或者与前列腺切除术后最低点比较其血清 PSA 未连续增加或未增加 50% 以上的患者。

[0178] 虽然未要求, 但对于前列腺癌患者, 可使用的排除标准包括: (a) 治疗前 6 个月内的激素疗法, (b) 治疗前 4 周内的免疫疗法, (c) 治疗前 1 年内对前列腺病灶的放射疗法, (d) 用免疫抑制药物, 如环孢菌素或促肾上腺皮质激素 (ACTH) 治疗或需要用皮质激素长期治疗, (e) 已知的自身免疫或免疫缺陷疾病, 或者 (f) 临床上显著的心脏病或活动性感染。再次强调, 这些排除标准仅为示例性的。例如可在各例中, 用本发明的方法治疗同时患有前列腺癌和临床上显著的心脏病的患者。

[0179] XV. 治疗效果

[0180] 用本发明所述的基于 MUC-1 的制剂治疗可导致不同的效应。用基于 MUC-1 的制剂治疗诊断为 NSCLC 的患者 (尤其是诊断为 IIIIB 期的 NSCLC 患者) 的一种效果是存活期增加。类似地, 给予患者基于 MUC-1 的制剂可影响患者的“生活质量”或“生活的健康有关的质量”。存活期增加以及对生活质量的影响还可在所治疗的前列腺癌患者中发现。另外, 在某些前列腺癌患者中, 用基于 MUC-1 的制剂治疗将导致较低的 PSA、稳定的 PSA 或 PSA 倍率 (doubling rates) 的降低。

[0181] 可在所治疗的患者和未经历护理的患者或经历最佳支持护理 (BSC) 的患者之间, 比较用基于 MUC-1 的制剂治疗的效果。BSC 包括很多种其它类型的不包括用基于 MUC-1 的制剂治疗的护理。例如, 虽然通常任意取决于环境, 但 BSC 可包括精神心理的 (psychosocial) 支持、镇痛药和营养支持。

[0182] 在某些实施方案中, 对接受不同量的基于 MUC-1 的制剂的患者之间进行治疗效果的比较。在另一实施方案中, 患者将接受 BSC 和基于 MUC-1 的制剂的联合治疗。

[0183] 在用本发明的基于 MUC-1 的制剂治疗患者之前, 可对患者进行治疗前评估。治疗前评估的非限定性实例包括一套完整的病史和身体检查。身体检查可包括诸如 CT 扫描或 X-射线等项目。还可在治疗过程中对患者进行治疗评估。治疗评估可包括监测的患者的关键体征、检查注射部位和分析血样。

[0184] 还可通过测定以下项目评价所治疗的患者: (a) 肿瘤体积, (b) 肿瘤位置, (c) 结节阶段, (d) NSCLC 或前列腺癌的生长速率, (e) 患者的存活率, (f) 患者肺癌或前列腺癌症状

的变化, (g) 患者 PSA 浓度的变化, (h) 患者 PSA 浓度倍率的变化或 (i) 患者生活质量的变化。

[0185] XVI. 通过给予基于 MUC-1 的制剂或 BLP25 脂质体疫苗增加 NSCLC 患者的存活时间

[0186] 用本发明的基于 MUC-1 的制剂治疗 NSCLC 或前列腺癌患者的优点之一是患者可具有比不用本发明组合物治疗的患者更长的存活期。存活率可通过比较目前存活数目与开始用基于 MUC-1 的制剂治疗的患者数目来确定。在其它实施方案中, 可将存活率与已公开的特定类型癌症的存活率比较。存活率一般可在开始治疗后的任何时间点测定。

[0187] 例如, 可在治疗开始后至少 6 个月内、大于 6 个月但小于 1 年内、1 年或大于 1 年但小于 2 年、2 年或 2 年以上但小于 5 年或者 5 年或 5 年以上时, 测定存活率。在某些实施方案中, 存活率增加将证实本发明的基于 MUC-1 的制剂影响特定患者。

[0188] XVII. 通过给予基于 MUC-1 的制剂维持生活质量与肺癌症状

[0189] 如上所述, 用本发明的基于 MUC-1 的制剂治疗 NSCLC 或前列腺癌患者的另一个优点是维持或增加患者的生活质量。临床医生和管理机构认识到患者的“生活质量”(“QoL”) 是癌症临床试验的重要终点。参见, 例如 Plunkett 等的 Clin. Lung Cancer, 5(1):28-32(2003) 以及 Cella 等的 J. Clin. Epidemiol., 55(3):285-95(2002), 均结合到本发明中作为参考。

[0190] 最为重要的其中四种生活质量指标是身体和职业机能、心理状态、社会相互作用和躯体感觉。在一方面中, 在 NSCLC 患者中, 可用两种肺癌调查表, 欧洲癌症研究和治疗组织调查表 (“EORTC”) 和癌症治疗的功能评价表 (“FACT-L”), 评估用本发明基于 MUC-1 的制剂治疗之前、之中和之后的患者生活质量, 尤其是患者的健康相关的生活质量。

[0191] 应预期的是可将本发明方法与各种亚范围 (subscales) 的评估结合应用, 所述评估用以监测患者的身体健康 (PWB)、社会 / 家庭健康 (SWB)、情感健康 (EWB)、机能健康 (FWB) 和肺癌症状亚范围 (LCS)。虽然肺癌症状亚范围明显是针对肺癌患者, 但不同类型的癌症可用不同的亚范围。因此, 前列腺癌患者可用不同的亚范围。根据组合的“健康”评分, 可获得一种“FACT-L 评分值”(所有亚范围的总和) 或“试验结果评分值 (TOI)” (PWB、FWB 和 LCS 亚范围)。TOI 是生活质量有意义地改变的可靠指标。参见以上 Cella 等文献。

[0192] 可在用本发明所述 MUC-1 性制剂治疗之前、之中和之后评定患者的 FACT-L 和 TOI 得分。例如, TOI 的得分可在基线 (即治疗前) 以及随后在开始治疗后不同时间间隔, 即第 4 周、8 周、19 周、31 周或 43 周或更长时间处获取。这些不同的时间间隔仅为实例, 可在任何适合的时间点获取生活质量指征。例如, 可在第一次治疗后, 而不是基线时, 获得首个 TOI 评分值。然后, 可计算不同时间点之间得分的变化以确定相关生活质量的改善、恶化或维持的趋势。

[0193] 已计算过从 LCS 基线降低 3 个或以上的点在临床上意味着肺癌症状更为严重, 而增加 3 个或以上的点在临床上意味着肺癌症状得到改善。同样对于 TOI 分值, 降低 7 个或以上的点指生活质量更为恶化, 而增加 7 个或以上的点意味着生活质量改善。

[0194] 在某些实施方案中, 肺癌症状或生活质量的临床改进表明所述基于 MUC-1 的制剂对特殊患者具有影响。

[0195] 因此, 给予本发明的基于 MUC-1 的制剂可用于改善或维持所治疗的患有 NSCLC 或前列腺癌患者的患者的生活质量。在测定对生活质量的影

响的大小。在某些实施方案中,0.2 至 <0.49 之间的影响大小表明小影响,0.5 至 0.79 表明中度影响,0.8 或以上指大影响。这些数目仅为实例,影响的大小可随治疗某些患者改变。

[0196] 还可给予所述基于 MUC-1 的制剂用于预防在很多癌症患者中发现的日益恶化的生活质量。例如,在某些实施方案中,给予基于 MUC-1 的制剂(如 BLP25 脂质体疫苗)可导致基本保持不变或未达恶化或提高的生活质量水平的生活质量指数。

[0197] 在一实施方案中,本发明包括通过在用本发明所述的基于 BLP25MUC-1 的制剂治疗之前、之中和之后测定患者的 TOI 或 LCS 得分,在诊断患有 NSCLC 的患者中改善或维持生活质量或者改善或稳定肺癌症状。

[0198] XVIII. 降低 PSA 倍增时间

[0199] 在某些实施方案中,用本发明 MUC-1 性制剂治疗前列腺癌患者将导致 PSA 浓度降低、PSA 浓度稳定或 PSA 倍增时间降低。通常来讲,可在任何时间测定基于 MUC-1 的制剂对 PSA 浓度或 PSA 倍增时间的影响。例如,虽然可将治疗后的 PSA 浓度与基线值比较,但还可比较治疗点之间或特定治疗点和治疗终点之间的 PSA 浓度。在某些实施方案中,在治疗中确证 PSA 的响应。

[0200] XIX. 利用免疫功能的疗法评估

[0201] 在某些实施方案中,使用免疫功能试验,如 T- 细胞增殖响应试验,测定患者对基于 MUC-1 的制剂的反应。在某些实施方案中,T- 细胞增殖响应试验的结果将用于确定所述基于 MUC-1 的制剂疗法是否对患者有效。还可用这些试验的结果确定不同疗程中不同时间点时患者对该制剂的响应。

[0202] 测定增殖性 T- 细胞的试验并没有特别局限,其可通过本领域的任何已知方法实现。可将 T- 细胞增殖反应进行比较,比较治疗前和治疗后的反应,以及比较治疗中的免疫响应。

[0203] XX. 其它癌症

[0204] 本发明还包括用本发明所述的基于 MUC-1 的制剂治疗除 NSCLC 和前列腺癌以外的其它癌症。

[0205] 可将任何具有表达 MUC-1 的癌症患者作为用基于 MUC-1 的制剂治疗的靶标。例如,可将患有表达 MUC-1 蛋白的粘蛋白型癌症或腺癌的患者作为用 BLP25 脂质体疫苗的靶标。腺癌的实例包括但不限于卵巢癌、肝癌(例如肝的侵袭性胆管癌)、结肠癌、乳腺癌、胰腺癌(例如胰腺的侵袭性导管癌)、肾癌和多发性骨髓瘤。其它癌症包括宫颈癌、子宫癌和白血病。表达 MUC-1 的另一种癌是头颈癌。

[0206] 以下实施例用于说明但不限定本发明。虽然它们对如何可应用本发明方法具有代表性,但预期存在符合本发明精神的其它方法,并可使用这些方法。贯穿于本说明书中,可通过参考特别结合任何和所有的公开可获得的资料,包括美国专利。

实施例

[0207] 实施例 1

[0208] 用于治疗 NSCLC 的脂质体 MUC1 疫苗的 II 期研究

[0209] 本实施例证明 L-BLP25 疫苗对治疗局限性 IIIB 期或 IV 期 NSCLC 的作用。

[0210] 用 L-BLP25 疫苗治疗的患者证明存活率增加。另外,通过维持整个治疗以及治疗

维持期中稳定的身体健康以及维持患者生活质量（其可通过 FACT-L 总分和试验结果指数测定）证实与单独的最佳支持性护理相比，在最佳支持性护理中加入 BLP25 脂质体疫苗的一种显著性优点，

[0211] **方法:**171 名患者登记进行有对照的、公开标记的 IIb 期试验。在所登记的 171 名患者中,65 名患有 IIIb 局限性疾病。这 65 名中,随机取 35 名进行治疗,随机取 30 名进行最佳标准护理。根据年龄和种族划分,将各组充分平衡。较多的女性和 ECOG0 患者被随机进行治疗和最佳标准护理 (BSC) (51.4% 和 36.7%, 以及 40.0% 和 26.7%), 在登记进行本试验前, 治疗组较多的患者除接受化疗外, 还接受过放射性疗法的癌症治疗 (91.4 对 76.7%)。

[0212] 在该具体实验中使用的 L-BLP25 疫苗是由下列组成的冻干制剂:(1)1000 μ g 的 BLP25 脂肽, 例如包含 SEQ ID NO:2 的 MUC-1 肽, (2)500 μ g 免疫辅药单磷酸脂质 A, 和 (3) 三种形成脂质体产物的脂质:(i)17.3mg 胆固醇, (ii)3.6mg 二肉豆蔻酰磷脂酰甘油, 和 (iii)29.1mg 二棕榈酰磷脂酰胆碱。

[0213] L-BLP25 组的所有患者接受至少至少 5 次疫苗接种,96.6% 的这些患者完成初期治疗计划,69.3% 继续进入治疗计划的维持期。研究中二线治疗主要由化疗(二线或三线)、放射疗法和手术组成。在研究的初期治疗期间,5 名 L-BLP25 组患者和 10 名 BSC 组患者接受二线治疗。继续进入研究的维持期的患者中,43 名 L-BLP25 组患者和 45 名 BSC 组患者接受二线治疗。

[0214] 为增强更大量引流淋巴结的抗原刺激,在四个解剖位置给予疫苗。将 1000 μ g 剂量的 L-BLP25 以四个 0.5mL 皮下注射给予,每次注射含总剂量的四分之一。将该亚剂量给予上臂的三角肌或三头肌以及腹前部的左和右外侧上。

[0215] 一般的将本实施例中使用的存活期定义为从随机取样日至死亡日的时间。对于随访分析时活着或者死亡的患者,计算随机取样日和最后已知患者存活的日期之间的间隔,并用作该分析中的一种审查的观测。在该实施例中,以三个月间隔监测患者完成试验后的 12 个月的存活期。

[0216] 在特定时间点给予所有患者 FACT-L QoL 调查表。QoL 分析包括评估从基线至第四周和第八周平均 FACT-L 患者变化评分、QoL 得分随时间的图标描述以及总的和亚范围得分的曲线分析下的面积。从基线处测定治疗组间生活质量变化的作用大小。作用大小在 0.2 至 <0.49 表明作用小,0.5 至 0.79 表明作用适中,而 0.8 或以上表明作用大。

[0217] **结果:**如图 2 中所示,所观察到的疫苗组 IIIb 期局限性患者的两年存活率为 60%,对照组为 36.7%,表明期望寿命明显增加 23.3%。在所有患者群中,疫苗组两年存活率为 43.2%,而对照组为 28.9%,表明期望寿命增加 14.3%。参见图 1。仅进行最佳标准护理的 IIIb 期局限性患者的中位数存活期类似于进行最佳标准护理的所有组别的总的中位数存活期 13.3 个月。相反地,用 L-BLP25 治疗的 IIIb 期局限性患者的总的中位数存活期未能到达最小均值 24 个月,表明期望寿命增加至少 10.7 个月。这是令人惊奇和意外的,因为在采用本发明所述 MUC-1 组合物之前,对于这类病人没有可用的治疗方法产生这种结果。

[0218] 关于生活质量,与 BSC 组相比,L-BLP25 组呈现明显的优点。与 BSC 组相比,L-BLP25 组中更多的患者临床明显的改善或者未产生变化。在仅为 BSC 组中,更多的患者在试验结果指数 (TOI) 中呈现出临床明显恶化。

[0219] **方法:**使用 T- 检验,对于 FACT-L 总分、各种亚范围和 TOI,对在治疗组和仅为 BSC 的患者之间的 IIIB 期局限性 (LR) 疾病和带有恶性肿瘤性胸膜渗漏 (PE) 的 IIIB 期 /IV 亚组进行比较分析。阴性总 /TOI 变化得分表明 QoL 恶化,而阳性总 /TOI 变化得分表明改善。亚组分析表明用 L-BLP25 治疗的 IIIB 期 LR 患者有较好的 QoL。这与以前的数据一致,表明用 BLP25 治疗的 IIIB 期 LR 患者的存活期有临床上的明显改善 ($p = 0.0692$)。

[0220] 生活质量比较的结果在下表 1 中显示:

[0221]

QoL	IIIBLR TX	IIIBLR BSC	P	IIIBPE/IV TX	IIIBPE/IV BSC	P
FACT-L 总分						
Δ 从基线开始 19 周	0.6±12.1	-7.5±12.7	.027	-0.2±13.2	-8.6±22.2	.072
Δ 从基线开始 31 周	2.9±14.2	-8.0±9.0	.008	-2.4±10.3	-0.7±17.0	.737
TOI						
Δ 从基线开始 19 周	0.5±8.2	-6.5±10.9	.014	-1.0±10.6	-6.6±15.0	.110
Δ 从基线开始 31 周	1.2±10.2	-6.5±8.3	.016	-1.3±8.7	-2.4±10.5	.761

[0222] **研究计划**

[0223] 第 2 周:给予 FACT-L QoL 调查表。

[0224] 第 2 周:将患者随机分成 L-BLP25 加最佳护理标准组或单独的最佳护理标准组 (最佳护理标准包括减轻的放射疗法和 / 或根据目前标准临床实践的二线化疗,并还可包括精神心理帮助、镇痛药和营养支持)。

[0225] 第 2 周:预治疗评估 (完整病史、身体检查和临床实验室研究)。如果临床上保证,可进行其它潜在的疾病位点评价,以排除其它区域的进行性疾病。治疗前,要求可能分娩的妇女的怀孕 (HCG) 试验呈阴性。

[0226] 第 3 日:治疗组患者接受单剂量静脉给予 300mg/m²环磷酰胺。

[0227] 第 0-7 周:L-BLP25 疫苗 #1 至 #8 (初步治疗期)。L-BLP25 组患者进行评估的生命征象以及各次 L-BLP25 治疗之前检查以前注射的位置。每次给予 L-BLP25 治疗后,还监测 1 小时的生命征象。给患者日记卡片,使在每次接种疫苗之后记录任何不良事件,并在随后的探访中评估以前注射的位置。根据 CALGB 扩展标准,将毒性分级。

[0228] 第 4 周:对治疗组患者进行治疗评估和安全性及免疫学血样分析。给所有患者 FACT-L QoL 调查表。

[0229] 第 8 周:治疗评估 (身体检查、ECOG 状态、生命征象、L-BLP25 组治疗位置的检查以及不利事件的评估)。还抽取血样并进行标准安全性 (血液学和化学) 和免疫响应分析。给所有患者 FACT-L QoL 调查表。

[0230] 19 周以后:维持接种疫苗 (6 周间隔) 和治疗评估 (12 周间隔)。L-BLP25 组患者

进行治疗评估和在各次维持接种疫苗时进行安全血液分析以及第一次维持接种疫苗后免疫学方面检查。给所有患者 FACT-L QoL 调查表。

[0231] 患者群

[0232] 选入标准

[0233] 1. 18 岁以上的患有 NSCLC 的男性或女性, 其疾病稳定或者在其一线标准化疗完成后对治疗响应。

[0234] 2. 东部肿瘤协作组 (ECOG) 体能状态评分 ≤ 2 , 中性白细胞计数 $\geq 1.5 \times 10^9/L$; 血小板计数 $\geq 100 \times 10^9/L$; WBC $\geq 2.5 \times 10^9/L$ 和血红蛋白 $90g/L$ 。

[0235] 3. 四个月的期望存活期

[0236] 4. 了解并签署书面承诺。

[0237] 排除标准

[0238] 1. 进入研究前 4 周内的手术或免疫疗法。

[0239] 2. 进入研究前 3 周内的免疫抑制药物, 包括系统性给予肾上腺皮质激素类药物。

[0240] 3. 除肺癌外, 赘生物在过去或当前病史。

[0241] 4. 自身免疫性疾病或公认的免疫缺陷疾病。

[0242] 6. 临床上显著的肝或肾功能不全。

[0243] 7. 明显的心脏病或活动性感染, 或已做过脾切除术的患者。

[0244]

表 2: NSCLC 研究的患者特征

	L-BLP25 + BSC N=88	BSC N=83	总数 N=171
随机取样的年龄: (岁)			
中位数	59.5	59	59
性别: N (%)			
女性	36 (40.9)	40 (48.2)	76 (44.4)
男性	52 (59.1)	43 (51.8)	95 (55.6)
ECOG 体能状态: N (%)			
0	31 (35.2)	22 (26.5)	53 (31.0)
1	53 (60.2)	57 (68.7)	110 (64.3)
2	4 (4.5)	4 (4.8)	8 (4.7)
疾病期: N (%)			
IIIB LR	35 (39.8)	30 (36.1)	65 (38)
IIIB MPE or IV	53 (60.2)	53 (63.9)	106 (62)
一线治疗的反应: N (%)			
稳定疾病	39 (44.3)	38 (45.8)	77 (45.0)
临床反应 (PR 或 CR)	49 (55.7)	45 (54.2)	94 (55.0)

[0245] 实施例 2

[0246] T- 细胞增殖响应测试

[0247] 本实施例证明本发明的 MUC-1 制剂直接引起实施例 1 中显示的中位数存活期的增加。

[0248] 应用实施例 1 研究中登记的患者进行淋巴组织增生测试,以监测疫苗接种前和后 MUC1 抗原特异性 TH 响应(辅助 T-细胞的增殖),来测定患者抗-MUC1 细胞免疫响应的动力学。在预先免疫和免疫后数个时间点的 L-BLP25 组患者中进行 T-细胞增殖测试。

[0249] 在 L-BLP25 组患者中,对 78 名进行 T-细胞增殖反应的评估。测定 16 名患者具有由 L-BLP25 疫苗诱发的阳性 MUC1 特异性 T-细胞增殖性响应(该响应不发生预先免疫)。发生免疫响应的 16 名患者中,2 名具有 IIIB 期局限性疾病,其余的患者具有 IV 期疾病。具有阳性增殖响应的 L-BLP 组中的患者的中位数存活期为 27.6 个月,而阴性增殖响应的患者的中位数存活期为 16.7 个月。这些结果表明本发明的 MUC-1 制剂直接使期望寿命的中位数存活期增加 10.9 个月。

[0250] 实施例 3

[0251] 在根治前列腺切除术后 (RP)PSA 衰竭中脂质体 MUC1 疫苗的 II 期研究

[0252] 本实施例表明 L-BLP25 疫苗对根治前列腺切除术后 PSA 升高男性的 PSA 水平的免疫治疗影响。

[0253] 在初级治疗期(8周)结束时,8/16 患者具有稳定的 PSA。一名患者在至整个研究期结束时(49周)维持稳定的 PSA。除一名登记的患者外,其它所有患者的 PSA 倍增时间(“PSADT”)明显延长。倍增时间是患者 PSA 水平增倍所需要的时间长度,其是一种用于预测前列腺癌患者手术后存活期的一种因素。本试验数据表明 6/16 患者倍增时间超过 50%。

[0254] 方法:登记经前列腺切除术后 PSA3 次升高所证实的生物化学衰竭的男性。包括 16 名患者,年龄中位数为 60 岁,ECOG 评分为 0 或 1,Gleason 评分中位数为 7。MUC1 脂质体疫苗(L-BLP25)治疗的初级终点是有效(根据 PSA 响应测定)并安全的。还对 PSA 倍增时间(PSADT)的变化进行评估。患者接受单剂量静脉注射 300mg/m²的环磷酰胺(CTX),接着进行 8 周皮下接种含 1,000 μg 抗原的 L-BLP25 疫苗(治疗期)。在 49 周中以 6 周的间隔连续给予疫苗(维持期)。在治疗和维持期中测定 PSA 浓度,对这些间隔计算 PSADT,并与登记前 PSADT 比较。

[0255] 所有 16 名患者都接受 CTX,而 15/16 患者完成治疗期。10 名患者完成了维持期。治疗后最常见的副作用是恶心(31%)和疲劳(25%);然而,这些副反应均未超过 1 级。

[0256] 结果:诱导后,8/15 的可评价患者具有稳定或降低的 PSA(按每个 PSA 工作组定义)。在最后研究 PSA 测定时,1 名患者保持稳定的 PSA。与研究前 PSADT 比较,6/15 患者的 PSADT 延长 >50%。

[0257] 如下为通过使用 L-BLP25 疫苗在该患者群中初级终点评估 PSA 稳定或减少作用:

[0258] -8/16 患者在初级治疗期具有 PSA 稳定性;

[0259] -1/16 患者在维持期结束时保持 PSA 稳定性;和

[0260] -通过使用疫苗,14/15 患者的 PSADT 得到延长;6/16 患者的 PSADT 延长 >50%。

[0261] 研究计划:

[0262] 第 2 周:预处理评估(身体测试、PSA 浓度测定、骨盆 CT 和骨扫描)。

[0263] 第 3 日:环磷酰胺预处理。

[0264] 第 0-7 周:L-BLP25 疫苗 #1 至 #8(初步治疗期)。

- [0265] 第 8 周 :初步治疗期评估,包括 PSA 响应。 .
- [0266] 第 13 周 :确证 PSA 响应。
- [0267] 第 13、19、25、31、37、43&49 周 :L-BLP25 疫苗 #9 至 #15 (维持期)。
- [0268] 第 43 周 :评估 PSA 响应。
- [0269] 第 49 周 :确证 PSA 响应。
- [0270] 第 50 周 :维持治疗评估。
- [0271] 患者群 :
- [0272] 选入标准
- [0273] 1. 进入研究前至少 6 个月进行根治性前列腺切除术。
- [0274] 2. 根治性前列腺切除术后 3 个连续增加的血清 PSA 值,比前列腺切除术后最低值增加至少 50%。
- [0275] 3. 阴性骨盆 CT 和骨扫描证实预治疗评估中无恶性疾病迹象。
- [0276] 4. ECOG 体能状态 0、1。
- [0277] 5. 正常的血液、肝和肾功能检测。
- [0278] 6. 理解并签署书面告知承诺书。
- [0279] 7. 曾经用激素疗法 (即新辅助疗法 pre-RP) 治疗前列腺癌的所有患者的血清睾酮必须在正常范围之内。
- [0280] 排除标准
- [0281] 1. 进入研究前 6 个月内的激素疗法。
- [0282] 2. 进入研究前 4 周内的免疫疗法。
- [0283] 3. 进入研究前 1 年内的对前列腺病灶 (bed) 的放射性疗法。
- [0284] 4. 用免疫抑制性药物,如环孢菌素或促肾上腺皮质激素 (ACTH) 治疗或需要用皮质激素长期治疗。
- [0285] 5. 已知的自身免疫或免疫缺陷疾病。
- [0286] 6. 临床上明显的心脏病或活动性感染。
- [0287] 表 3 :前列腺癌研究的患者特征
- [0288]

年龄 (yrs):	
n	16
平均值± S.D.	60.4 ± 7.7
中位值	60.0
25% / 75%	54.5 / 66.0
范围	46.0 - 74.0
ECOG 体能状态:	
	n (%)
0	13 (81%)
1	3 (19%)
Gleason 分级:	
6	3 (19%)
7	10 (63%)
8	3 (19%)

[0289]	进入研究的初次诊断（年）：	
[0290]	平均值 ±S. D.	3.8±2.5
[0291]	中位值	3.2
[0292]	范围	1.0-9.5
[0293]	进入研究的前列腺切除术后最低值（年）：	
[0294]	平均值 ±S. D.	3.1±2.3
[0295]	中位值	2.8
[0296]	范围	0.6-9.1
[0297]	基线 PSA μ g/L：	
[0298]	平均数	3.8
[0299]	中位数	0.4
[0300]	25% /75%	0.1/0.8
[0301]	<u>接受的治疗</u>	
[0302]		

	接受治疗的总数	n (%)
	环磷酰胺	16 (100.0)
	初步治疗期疫苗	
	1	16 (100.0)
[0303]	2	16 (100.0)
	3	16 (100.0)
	4	16 (100.0)
	5	16 (100.0)
	6	16 (100.0)
	7	15 (93.8)
	8	15 (93.8)
[0304]	维持治疗期疫苗	
[0305]		
	9	14 (87.5)
	10	14 (87.5)
	11	13 (81.3)
	12	12 (75.0)
	13	11 (68.8)
	14	10 (62.5)
	15	10 (62.5)

- [0306] 表 4 :PSA 值
 [0307] 基线至 8 周内 PSA 的变化
 [0308] (初步治疗期)
 [0309] 每名患者
 [0310]

患者编号	基线 PSA ($\mu\text{g/L}$)	8 周 PSA ($\mu\text{g/L}$)	8 周的反应
001	20.00	没达到 8 周	未评估
002	35.00	48.00	发展
003	0.07	0.07	稳定 PSA
004	0.47	0.46	稳定 PSA
005	0.17	0.14	稳定 PSA
006	0.89	0.94	稳定 PSA
007	0.36	0.45	发展
008	0.58	0.79	发展
009	0.10	0.11	稳定 PSA
010	0.08	0.10	发展
011	0.59	0.82	发展
012	0.11	0.18	发展
013	0.13	0.18	发展
014	0.71	0.64	稳定 PSA
015	1.80	1.90	稳定 PSA
016	0.38	0.34	稳定 PSA

- [0311] 不良事件
 [0312] 具有不良事件的患者的总数, n(%) 14(87.5)
 [0313] 报告具有 10%或更高频率的不良事件的患者
 [0314]

恶心	5 (31.3)
疲劳	4 (25.0)
腹泻 NOS (不另外指明)	3 (18.8)
流感样病	3 (18.8)
鼻咽炎	3 (18.8)
便秘	2 (12.5)
头痛 NOS	2 (12.5)
疼痛 NOS	2 (12.5)

- [0315] 16 名患者中的 6 名报告显示没有任何类型的注射部位反应。报告有 9 名患者出现红斑。没有出现溃疡。没有出现严重的或预防其它疫苗的事件。

- [0316] 表 5 :PSA 倍增时间

[0317]

患者编号	间隔 A PSADT (日)	间隔 B PSADT (日)	间隔 A 和间隔 B 之 间的 PSADT 差异
002	173	476	175%
003	133	291	119%
004	345	393	14%
005	302	342	13%
006	172	185	8%
007	309	347	12%
008	173	332	92%
009	404	637	58%
010	508	595	17%
011	165	257	56%
012	241	97	-60%
013	84	112	33%
014	479	844	76%
015	227	288	27%
016	344	385	12%
平均值	271	372	44%

[0318] 间隔 A = 预研究 (prestudy) (从进入研究前首次 3 个连续上升的预研究 PSA 至基线研究间)

[0319] 间隔 B = 维持期 (从第 8 周至研究结束)

[0320] 实施例 4

[0321] 肿瘤标记物 CA27.29

[0322] 图 1 列出通过探访、研究组别 (BLP25 或对照) 和正常 / 异常水平下患者 CA27.29 值的频数分布。MUC1 (CA27.29) 血清水平的测定在 166 名患者的基线样本 (其中 BLP25 组中 4 名患者未产生数据 (3 - 未收到样本; 1 - 标记错误), 对照组中 1 名患者无数据 (1 - 未收到登入的数据) 以及 153 名患者的邮寄 8 份免疫样本上进行。通过 CA27.29 水平可见, 各组之间没有明显差异。

[0323] 图 5-9 显示经 CA27.29 (MUC1) 的存活期的 Kaplan-Meier 曲线。图 5 显示与具有异常水平的患者相比较, 在基线处具有正常抗原水平的患者的存活曲线。在本试验 (Truquant® BR 放射免疫测定法, 根据 1004 名健康女性供者的血清检测) 中测定的 MUC-1 的正常血清水平的上限为 37.7U/ml。大于 37.7U/ml 的血清 MUC1 水平被认为异常。有 124 名具有正常 CA27.29 水平的基线患者 (63 名在 BLP25 组中, 61 名在对照组中) 和 42 名异常水平的患者 (21 名在 BLP25 组中, 21 名在对照组中)。具有基线正常水平 CA27.29 的那些患者的中位数存活期是 19.5 个月, 而具有异常水平的患者的中位数存活期为 10.5 个月 (Cox $p < 0.0001$)。

[0324] 图 6 和 7 说明各组中无论他们是否具有基线正常或异常 CA27.29 水平的患者的存活期。在 BLP25 组中 (图 6), 具有正常水平 CA27.29 的那些患者的中位数存活期是 24.2 个月, 而具有异常水平的患者的中位数存活期为 9.8 个月 (Cox $p = 0.0006$)。在对照组中 (图 7), 与异常 CA27.29 水平患者的 11.3 个月相比, 具有正常 CA27.29 水平患者的中位数

存活期为 15.1 个月 (Cox $p = 0.0042$)。

[0325] 图 8 和 9 说明无论他们是否具有正常或异常预先免疫 CA27.29 血浆水平, A 组 (BLP25) 患者和 B 组 (对照组) 患者之间存在存活期的差别。如图 8 中所示, 与具有中位数存活期为 15.1 个月的对照组的那些患者相比, 在 BLP25 组中具有预存在正常水平 CA27.29 的患者的中位数存活期为 24.2 个月 (Cox $p = 0.0605$)。在图 9 中, BLP25 组中具有预存在异常 CA27.29 水平的患者的中位数存活期为 9.8 个月, 而对照组的那些患者具有 11.3 个月的中位数存活期 (Cox $p = 0.5234$)。

[0326] 图 10 表明经 T-细胞增殖的存活期的 Kaplan-Meier 曲线。T-细胞增殖测定在预先免疫和在免疫后数个时间点的组别 A (BLP25) 的患者中进行。然后如果一或多个时间点显示一种与在预先免疫时间点上响应不同的响应, 则根据具有阳性或阴性反应将这些患者排列。在 BLP25 组的患者中, 评价 78 名患者对 T 细胞增殖的响应。测定 16 名患者具有 L-BLP25 疫苗诱发的阳性 MUC1 特异性 T 细胞增殖响应。Kaplan Meier 存活曲线 (图 10) 表明有三个患者群: 对照组、BLP25 组中的阳性增殖子 (proliferators) 和 BLP25 组中的阴性增殖子。具有阳性增殖性响应的 BLP25 组中的患者中位数存活期为 27.6 个月, 而具有阴性增殖性响应的患者具有的中位数存活期为 16.7 个月; 而对照组患者具有的中位数存活期为 13 个月 (Cox $p = 0.2148$)。

[0327] 实施例 5

[0328] HLA 分型

[0329] HLA 分型在组 A (BLP25) 和组 B (对照) 的所有患者中进行。完成这种分型以考虑患者表达的 HLA I 类和 II 类等位基因可能对疫苗的效能具有重要性的可能性。通过非血清学的 DNA 分析进行 HLA 分型, 并且所用的命名为 DNA 所用的命名。对于各组别, 测定所给出的等位基因的频率%和 n 值。对于存活期分析, 选择任一组中具有 $n \geq 19$ 的 HLA 等位基因。对 HLA 11 进行另外的分析, 如对于该单倍体, 存在一种已知的 MUC1 CT1 抗原表位。

[0330] 图 11 说明对各治疗组之间所选择的 HLA 类型所进行的存活期分析。该表列出比较治疗时的单倍型/等位基因、单倍型患者的总数 (各患者具有一个以上的单倍型)、BLP25 组和对照组中带有那种类型的患者的数量、BLP25 组和对照组中具有那些单倍型患者的中位数存活期以及对数-秩检验 (Log-Rank test) 和 Cox H. R. 分析的统计学意义。

[0331] 图 12-16 说明几种 HLA 等位基因的 Kaplan-Meier 存活期分析的结果。将这些分析校正用于 Cox H. R. 分析中研究开始时的响应层化和疾病分期。图 12 表明在各研究组别中具有 HLA A02 的患者的存活期。BLP25 组中有 44 名具有该类型的患者, 而对照组中有 36 名患者。与对照组中 HLA A02 患者的 11.9 个月的中位数存活期相比, BLP25 组中 HLA A02 患者具有 22 个月的中位数存活期 (Cox $p = 0.0063$)。图 13 表明具有 DQB 1-05 等位基因的患者的一组之间的存活期差异。BLP25 组中具有该等位基因的患者 ($n = 25$) 尚未达到中位数存活期, 而对照组中的那些 DQB 1-05 患者 ($n = 27$) 的中位数存活期为 12.9 个月 (Cox $p = 0.0213$)。图 14 显示在具有 DRB1-04 单倍型的两组患者的存活期。BLP25 组中有 22 名具有该单倍型的患者, 而对照组中有 23 名患者。BLP25 组中那些患者的中位数存活期为 22 个月, 而对照组中那些患者的中位数存活期为 11.8 个月 (Cox $p = 0.0043$)。

[0332] 图 15 表明具有 DQB 1-02 等位基因的两组患者的另一种存活期曲线。BLP25 组中具有该等位基因的患者 ($n = 31$) 中位数存活期仅为 9.8 个月, 而对照组患者的中位数存活

期为 16 个月 (Cox $p = 0.0424$)。

[0333] 图 16 表明图 17 中所列的相同单倍型的各治疗组别内的另外的存活期分析。该表的前半部分列出单倍型,即 BLP25 组中对该单倍型为阳性和阴性的患者的数目、对数-秩 (Log-Rank) 检验和 Cox H. R. p 值以及 BLP25 组中对该单倍型为阳性和阴性的患者的中位数存活期。该表的后半部分给出对照组中那些患者的相同信息。

[0334] 最后的 Kaplan-Meier 存活曲线 (图 18) 显示仅具有 CW07 等位基因的 BLP25 组别内的患者 ($n = 45$) 对比不含有所述等位基因的那些患者 ($n = 43$)。BLP25 组中具有 CW07 等位基因的患者的中位数存活期仅为 12.6 个月,而不具有所述等位基因的组别患者的中位数存活期为 24.2 个月 (Cox $p = 0.0171$)。在具有或不具有 CW07 等位基因的对照组中患者的存活期没有明显差别 (未显示图表)。另外,在具有 CW07 等位基因的 BLP25 组中和具有所述等位基因的对照组中患者的存活期没有明显差别 (未显示数据)。

[0335] 如所清楚的那样,本发明所公开的所有范围还包括任何和所有可能的亚范围及其亚范围的组合。因此,可很容易将任何所列的范围认定为充分描述并能将所述相同的范围分成至少等同的两份、第三、第四、第五、第十份等。作为一个非限定的实例,可很容易将在此所讨论的各范围分成下三分之一部分 (lower third)、中三分之一部分 (middle third) 和上三分之一部分 (upper third) 等。还如所清楚的那样,所有诸如“最高至”、“至少”、“大于”、“小于”、“多于”等表述包括所叙述的数目,并指可按如上所述接着能被分成亚范围的范围。在相同的方法中,本文所公开的所有比率还包括落在更宽比率内的所有亚比率。

[0336] 再者,当以常规方式将各成员分成组别时,如 Markush 组,本发明不仅包含所列的整体上全部的基团,而且还包含各个基团的每个成员以及所述主要基团的所有可能的亚族。因此,一般来讲,本发明不仅包括所述主要的基团,但还包括缺乏一或多个基团成员的主要基团。本发明还构思了明确排除本发明要求保护的任何基团成员的一或多个成员。

[0337] 本文公开的所有参考文献、专利和出版物都明确地结合到本发明中作为参考。除另有说明外,“a”或“an”指“一或多个”。

[0338] 本领域技术人员应清楚的是在不背离本发明的精神或范围下,可在本发明的方法和组合物中进行各种修饰和改变。因此,本发明意欲涵盖所提供符合所附权利要求书及其等价物范围内的本发明的修饰和改变。

[0001]

序列表

<110> BIOMIRA, INC.

<120> 用一种粘蛋白状糖蛋白(MUC-1)疫苗治疗患者的方法

<130> 042881-0217

<140> PCT/US06/25002

<141> 2006-06-27

<150> 60/694, 233

<151> 2005-06-28

<160> 3

<170> PatentIn Ver. 3.3

<210> 1

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 1

Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg

1

5

10

15

Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro

20

25

<210> 2

<211> 27

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

[0002]

<220>

<221> MOD_RES

<222> (26)

<223> Lys-棕榈酰基

<400> 2

Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg
1 5 10 15

Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Lys Gly
20 25

<210> 3

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 3

Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg
1 5 10 15

Pro Ala Pro Gly
20

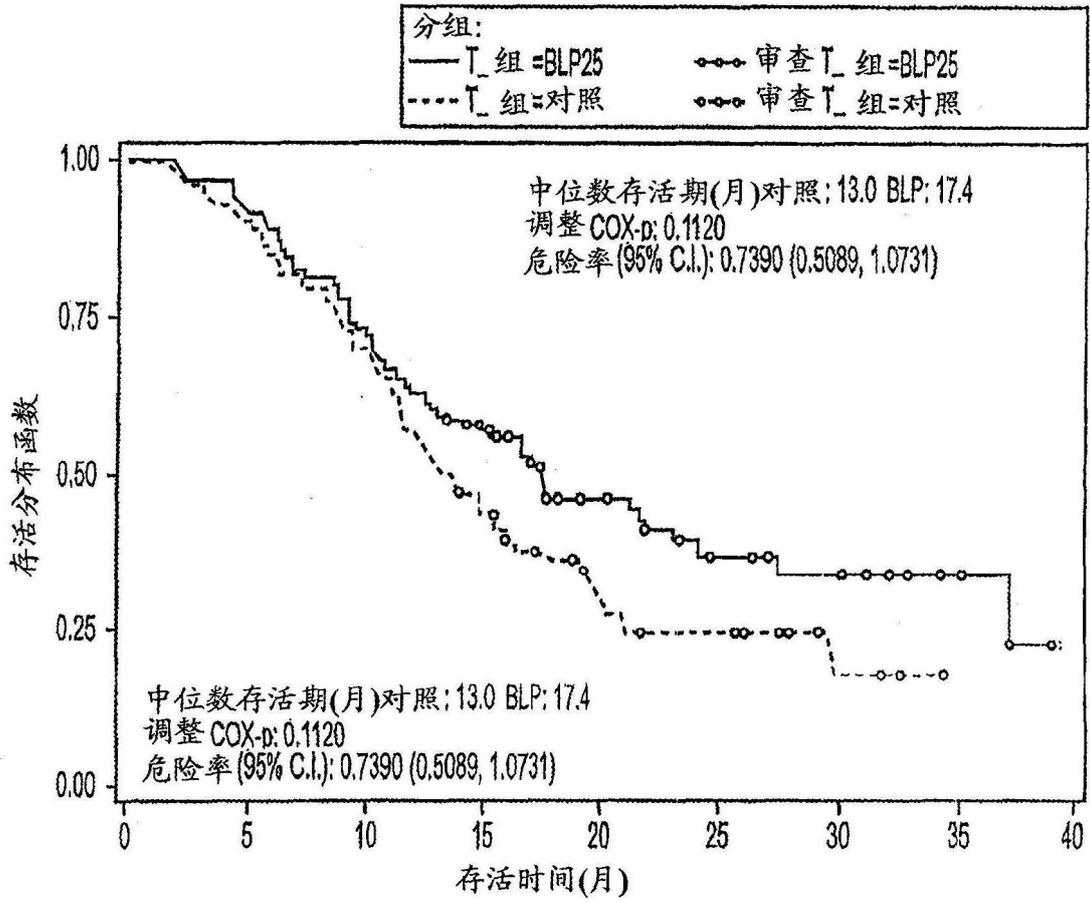


图 1

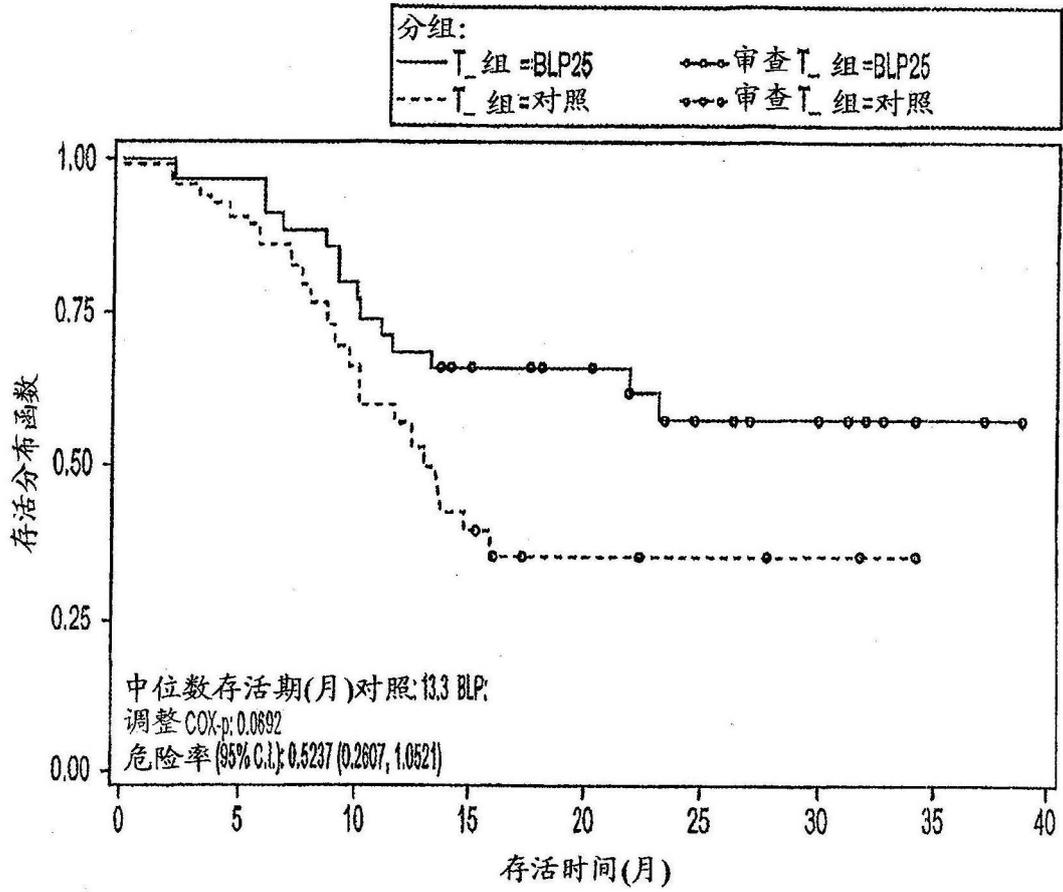


图 2

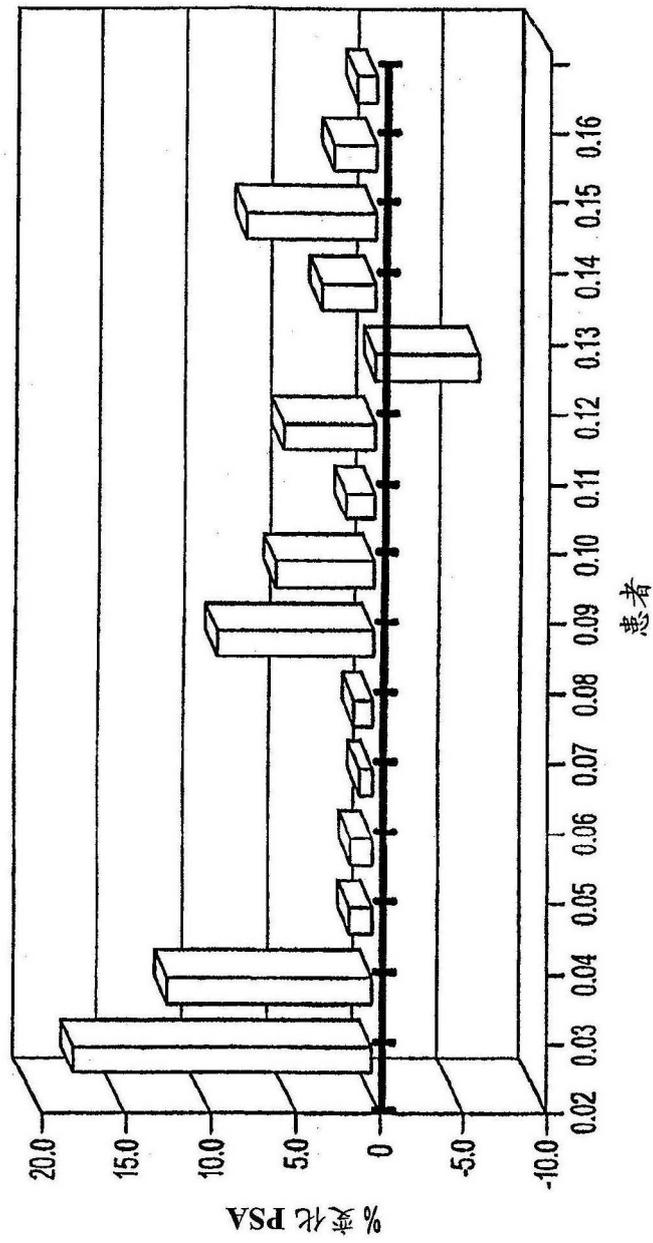


图 3

			N	%
随访	组	CA27.29		
随访前	BLP25	正常	63	37.95
		异常	21	12.65
	对照	正常	61	36.75
		异常	21	12.65
随访后 8	BLP25	正常	62	40.52
		异常	20	13.07
	对照	正常	53	34.64
		异常	18	11.76

图 4

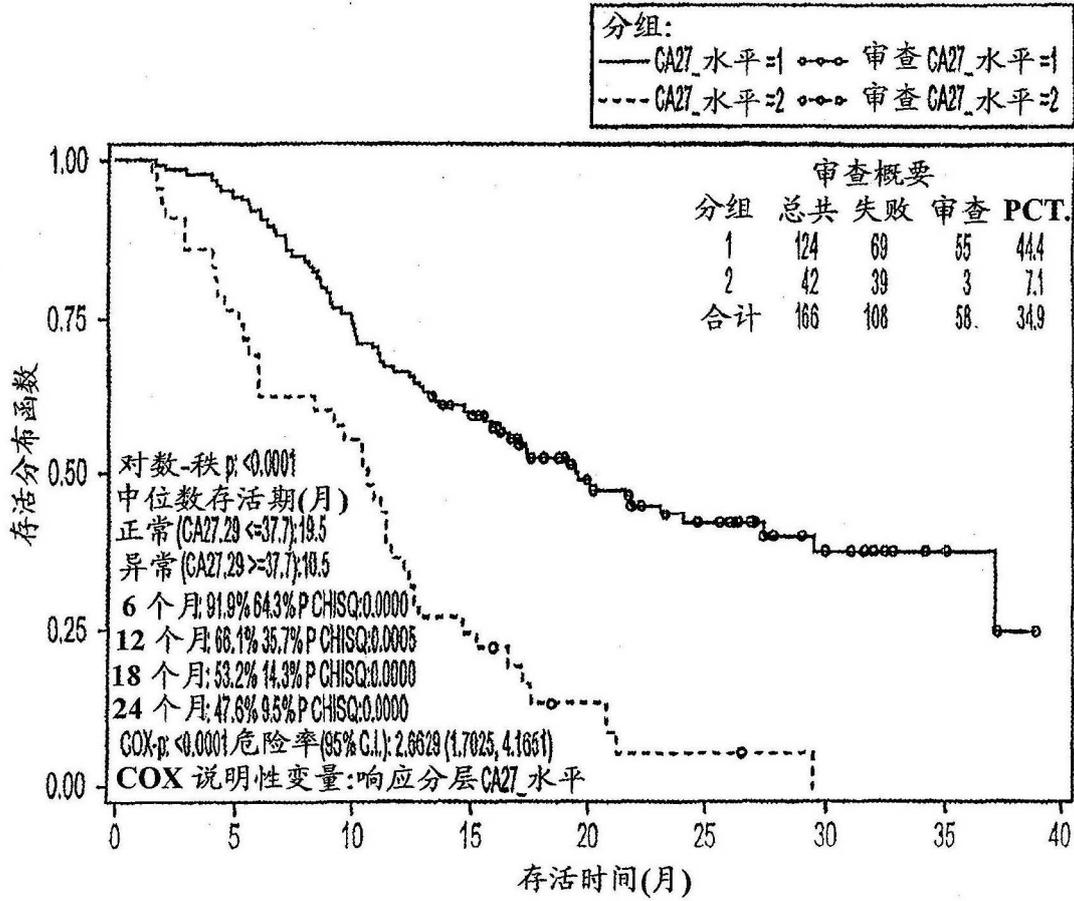


图 5

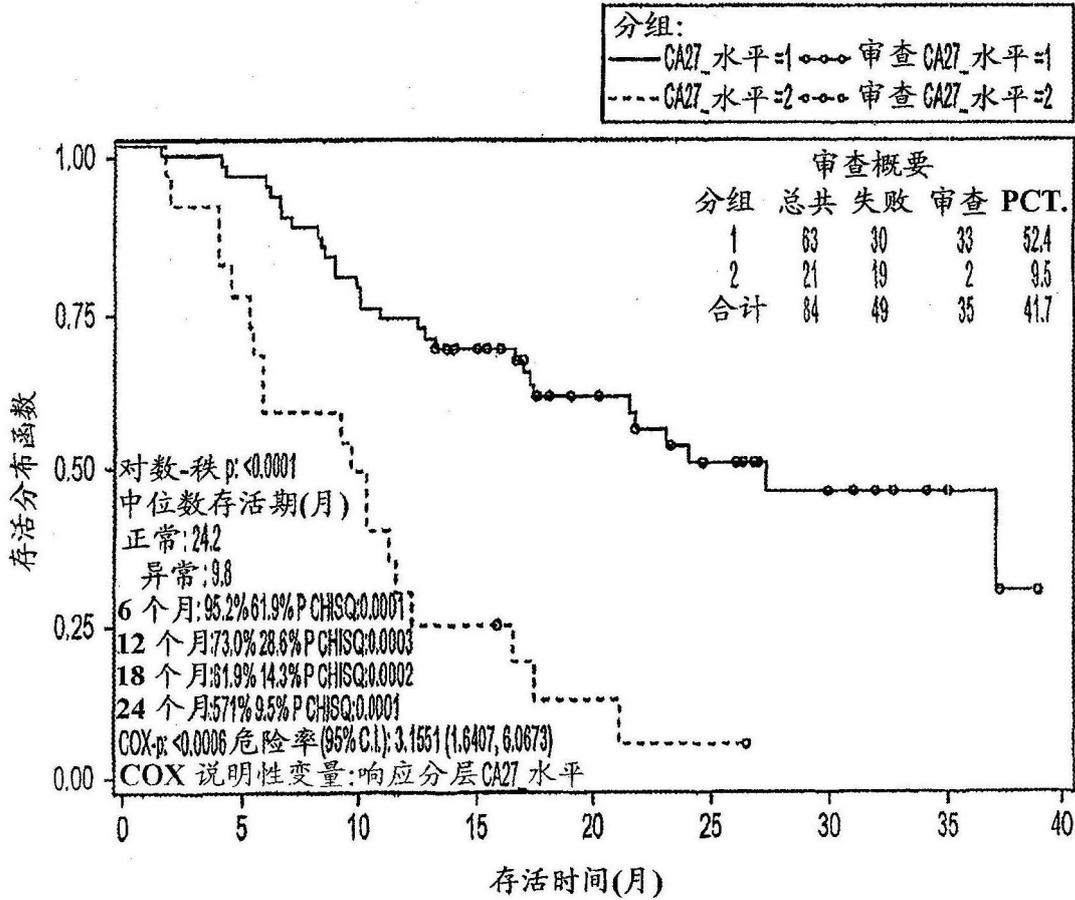


图 6

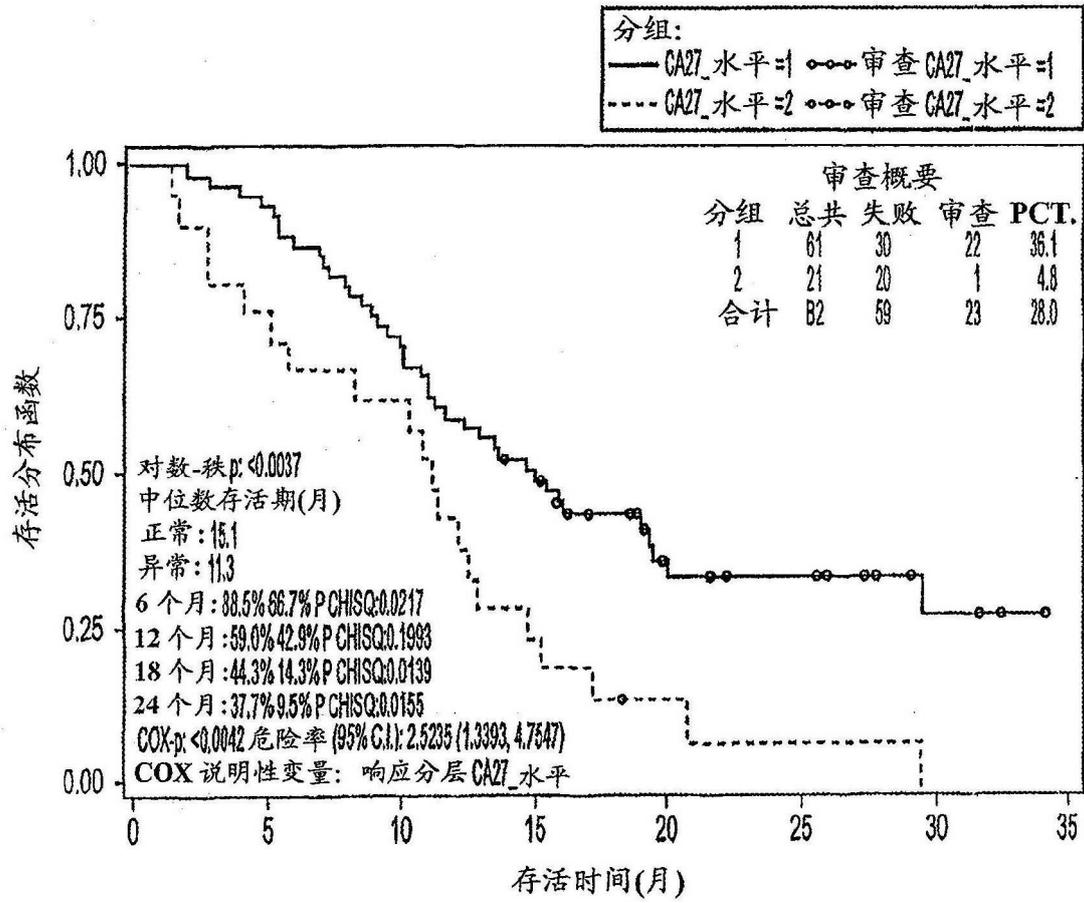


图 7

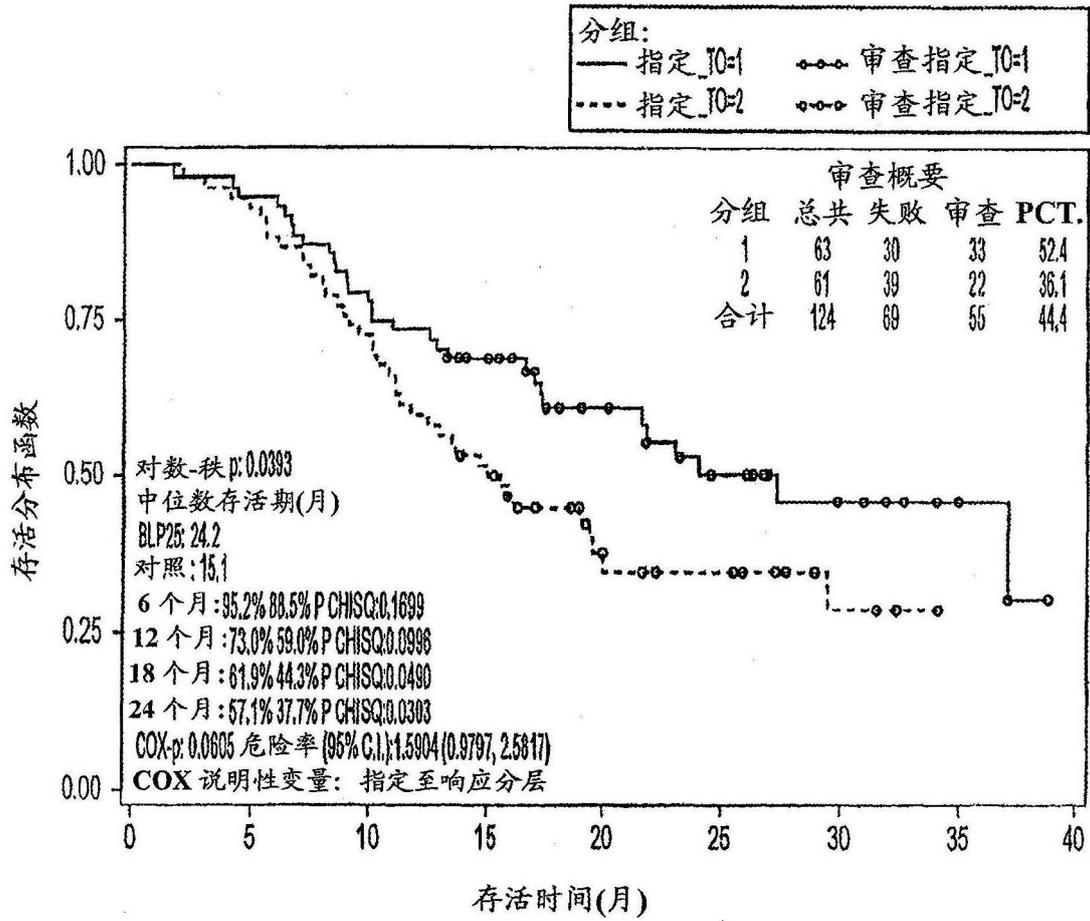


图 8

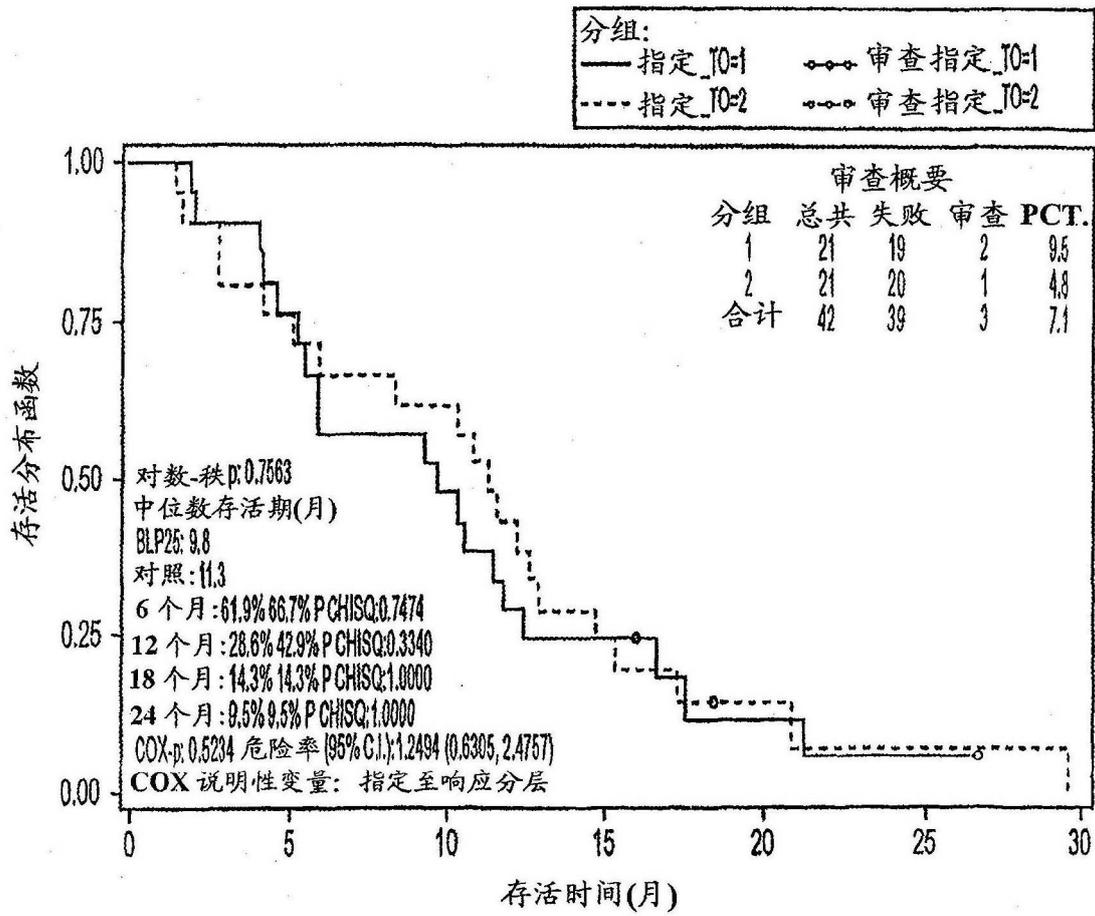


图 9

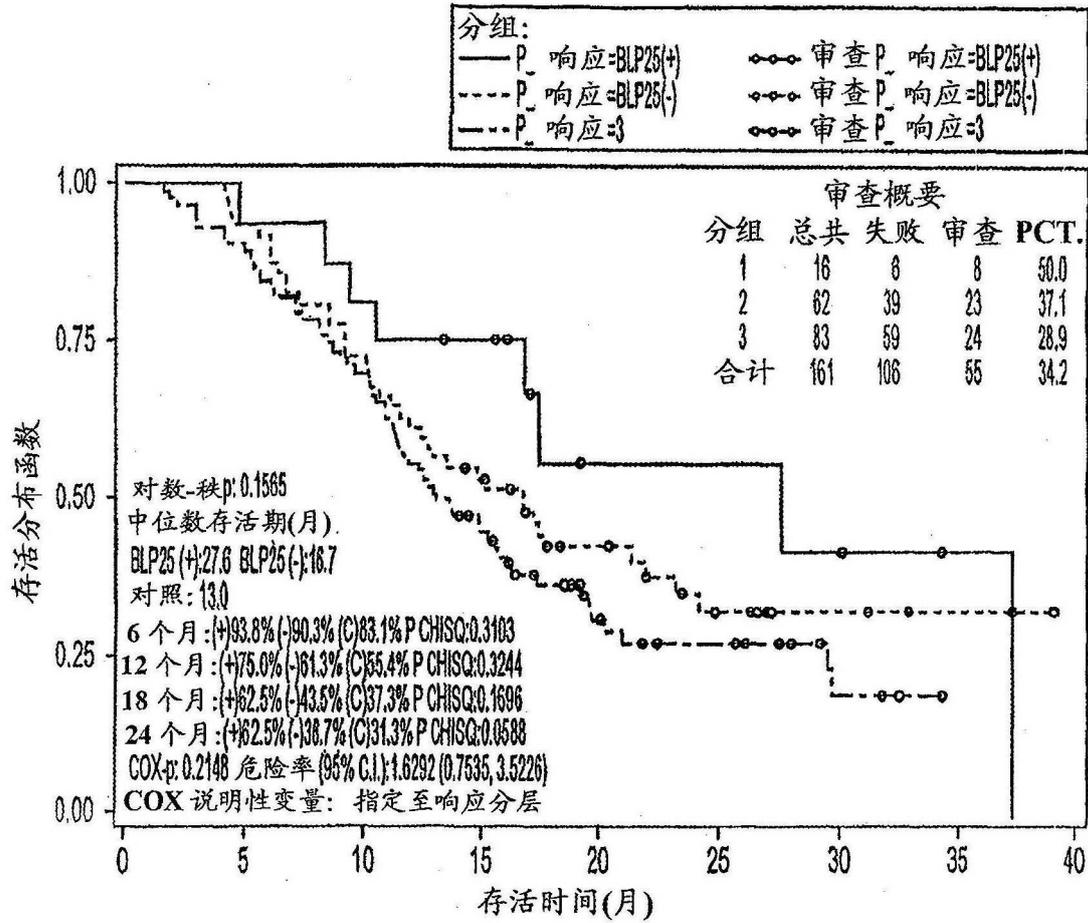


图 10

HLA 类型	N 总共	对数-秩 P	COXP	N BLP25	中位数存活期 (月) BLP25	N 对照	中位数存活期 (月) 对照
A01	45	0.6482	0.5197	19	10.4	26	15.4
A02	80	0.0067	0.0063	44	22.0	36	11.9
A03	37	0.9661	0.8780	22	14.8	15	15.6
A24	34	0.9930	0.9053	19	11.1	15	13.0
A11	27	0.0872	0.0760	11	21.3	16	11.2
B07	35	0.5329	0.6015	22	15.1	13	14.8
B08	37	0.3208	0.1925	19	9.4	18	16.0
B44	38	0.3919	0.2835	19	13.4	19	11.1
CW07	85	0.9831	0.9865	45	12.6	40	13.6
DQB1-06	78	0.3267	0.3850	40	21.3	38	14.8
DQB1-02	64	0.1465	0.0424	31	9.8	33	16.0
DRB1-04	45	0.0076	0.0043	22	22.0	23	11.8
DQB1-05	52	0.0143	0.0213	25		27	12.9
DRB1-15	45	0.2902	0.3331	25	21.3	20	12.8
DQB1-03	42	0.7678	0.7122	23	17.1	19	15.1
DRB1-07	40	0.5436	0.8318	19	27.6	21	14.8
DRB1-13	37	0.7260	0.7446	19	13.4	18	13.7
DRB3	98	0.7485	0.7871	56	15.1	42	14.8
DRB4	87	0.0505	0.1097	45	17.6	42	12.4
DRB5	47	0.1405	0.1771	25	21.7	22	12.8

图 11

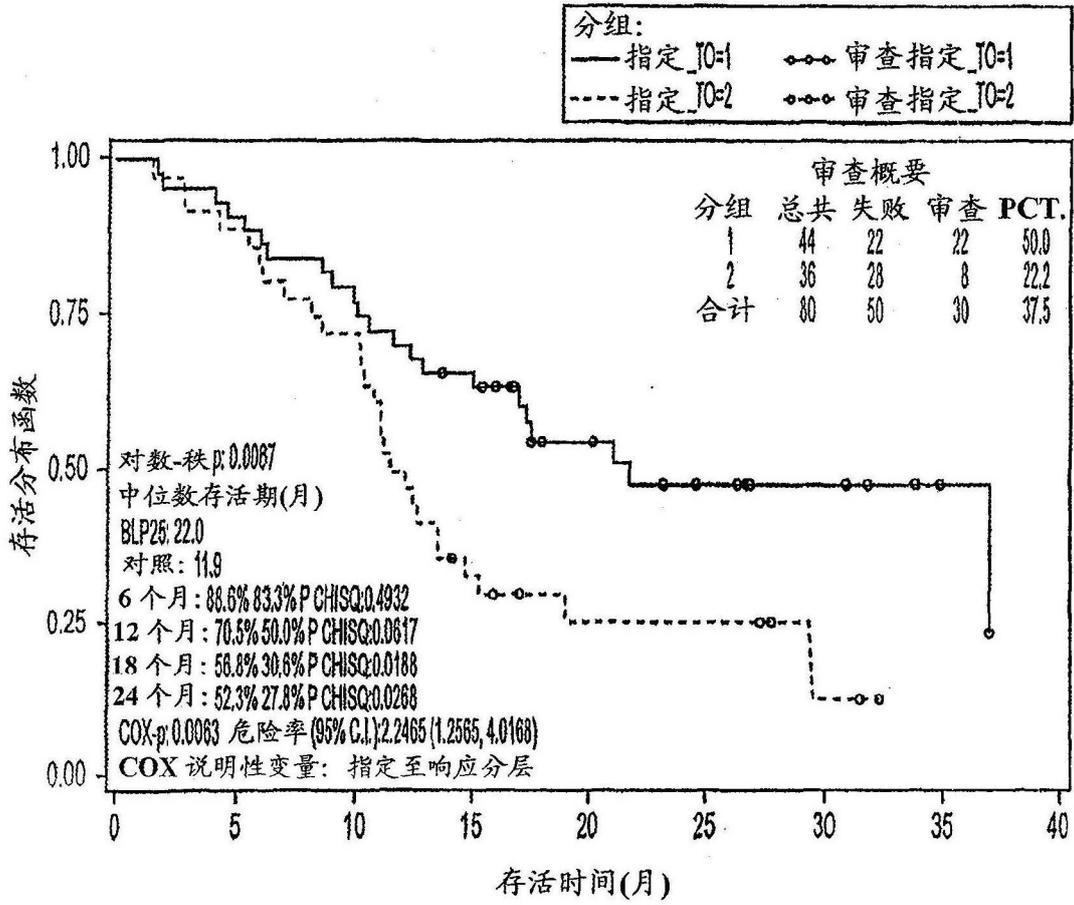


图 12

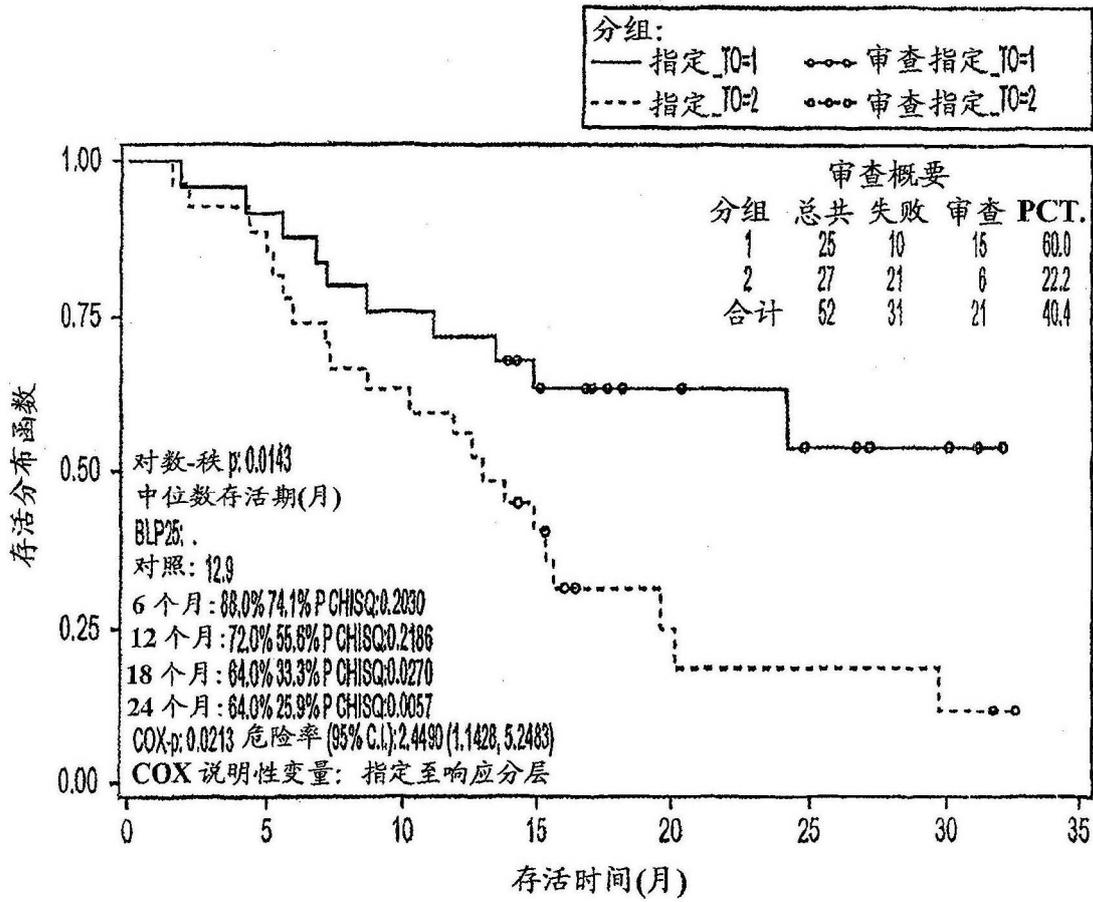


图 13

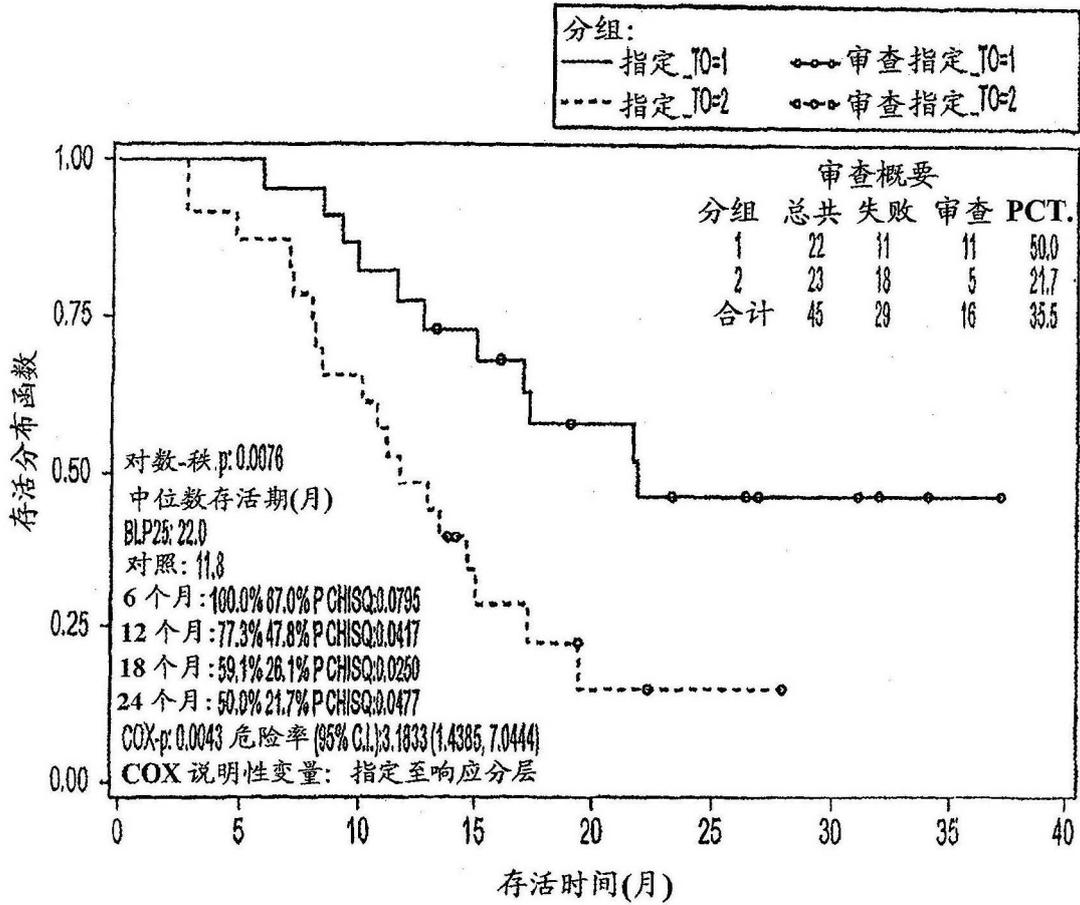


图 14

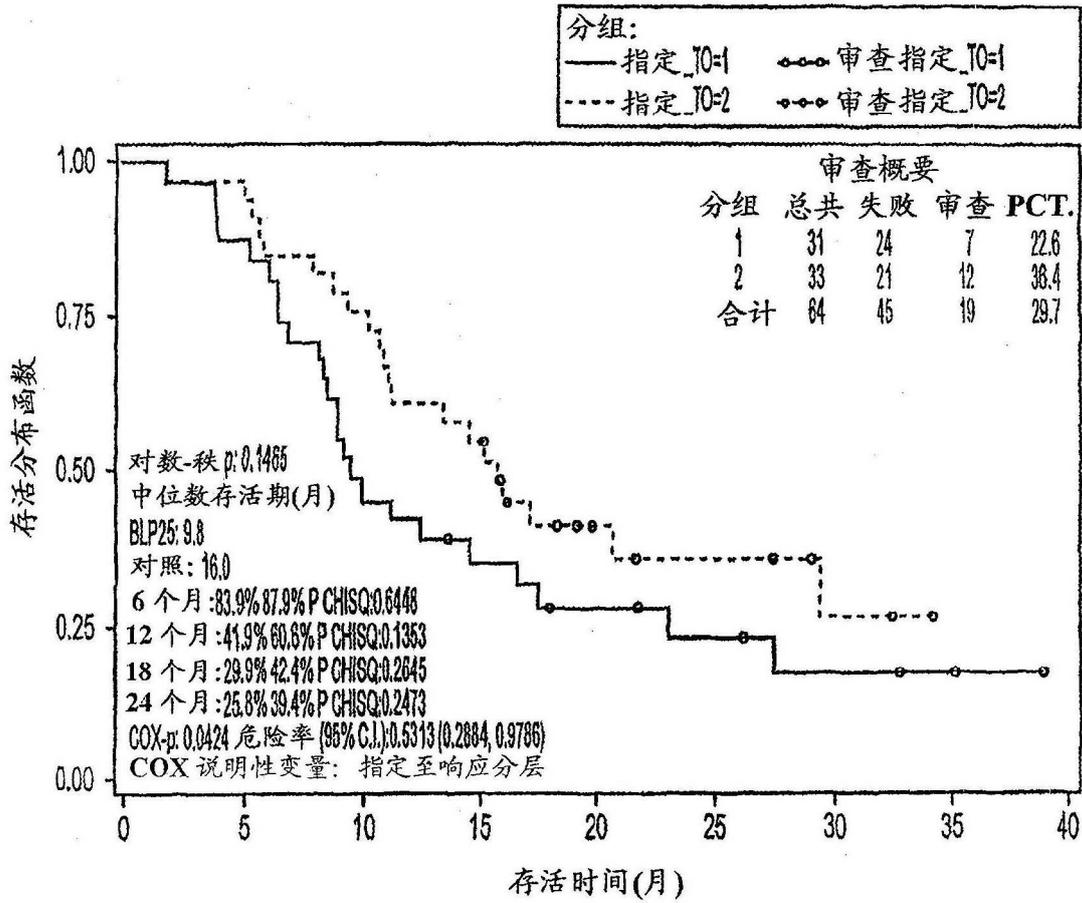


图 15

HLA 类型	NPOS BLP	NNEG BLP	对数-秩 BLP	COXP BLP	中位数 存活期* POS, BLP	中位数 存活期* NEG, BLP	NPOS 对照	NNEG 对照	对数-秩 对照	COXP 对照	中位数 存活期* POS, 对照	中位数 存活期* NEG, 对照
A01	19	69	0.0589	0.6833	10.4	21.7	26	57	0.9522	0.1979	15.4	12.9
A02	44	44	0.0444	0.4514	22.0	14.1	36	47	0.2531	0.1674	11.9	15.6
A03	22	66	0.4581	0.6820	14.8	17.4	15	68	0.6390	0.2100	15.6	12.8
A11	11	77	0.4653	0.7931	21.3	16.7	16	67	0.2544	0.2094	11.2	14.8
A24	19	69	0.1010	0.8378	11.1	17.6	15	68	0.8730	0.2020	13.0	13.1
B07	22	66	0.8057	0.7142	15.1	17.4	13	70	0.7792	0.2076	14.8	13.0
B08	19	69	0.0280	0.7366	9.4	21.3	18	65	0.5811	0.2304	16.0	12.6
B44	19	69	0.5321	0.7242	13.4	17.5	19	64	0.3133	0.1427	11.1	14.4
CW07	45	43	0.0166	0.8470	12.6	24.2	40	43	0.9509	0.1829	13.6	12.6
DQB1-02	31	57	0.0068	0.2849	9.8	21.7	33	50	0.1359	0.1752	16.0	12.4
DQB1-03	23	69	0.9290	0.6334	17.1	17.5	19	64	0.3866	0.2273	15.1	12.8
DQB1-05	25	63	0.0920	0.8384		16.7	27	56	0.3468	0.1633	12.9	13.3
DQB1-06	40	48	0.5864	0.7416	21.3	16.7	38	45	0.3589	0.1510	14.8	12.5
DRB1-03	12	76	0.0009	0.6349	9.2	21.3	11	72	0.9332	0.1915	16.0	13.0
DRB1-04	22	66	0.1212	0.5386	22.0	16.7	23	60	0.1826	0.1588	11.8	14.3
DRB1-07	19	69	0.6593	0.7925	27.6	16.8	21	62	0.5481	0.3381	14.8	12.8
DRB1-13	19	69	0.7748	0.7546	13.4	17.4	18	65	0.8873	0.1921	13.7	13.0
DRB1-15	23	63	0.9846	0.7557	21.3	16.8	20	63	0.7800	0.1939	12.8	13.6
DRB3	56	32	0.6300	0.5614	15.1	17.6	42	41	0.2215	0.2449	14.8	12.5
DRB4	45	44	0.3283	0.6129	17.6	16.7	42	41	0.3763	0.2200	12.4	14.8
DRB5	25	63	0.3434	0.7471	21.7	15.1	22	61	0.9754	0.1930	12.8	13.6

图 16

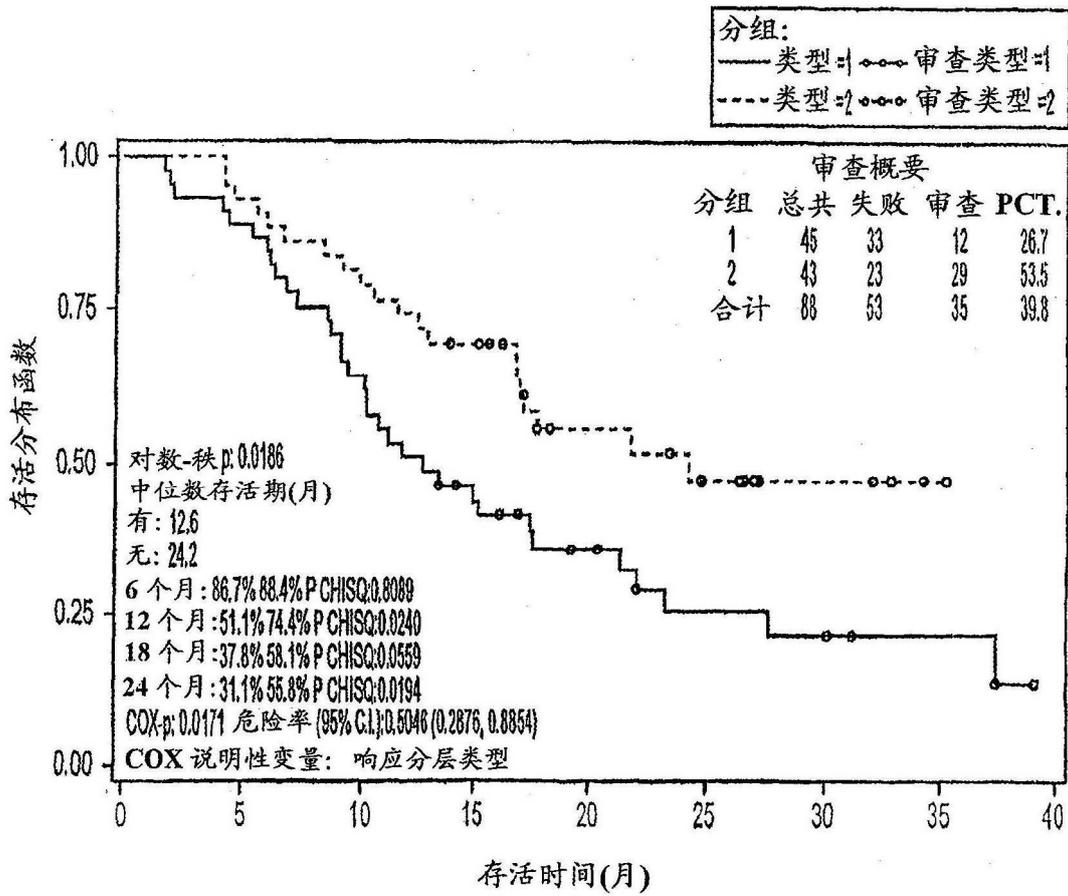


图 17

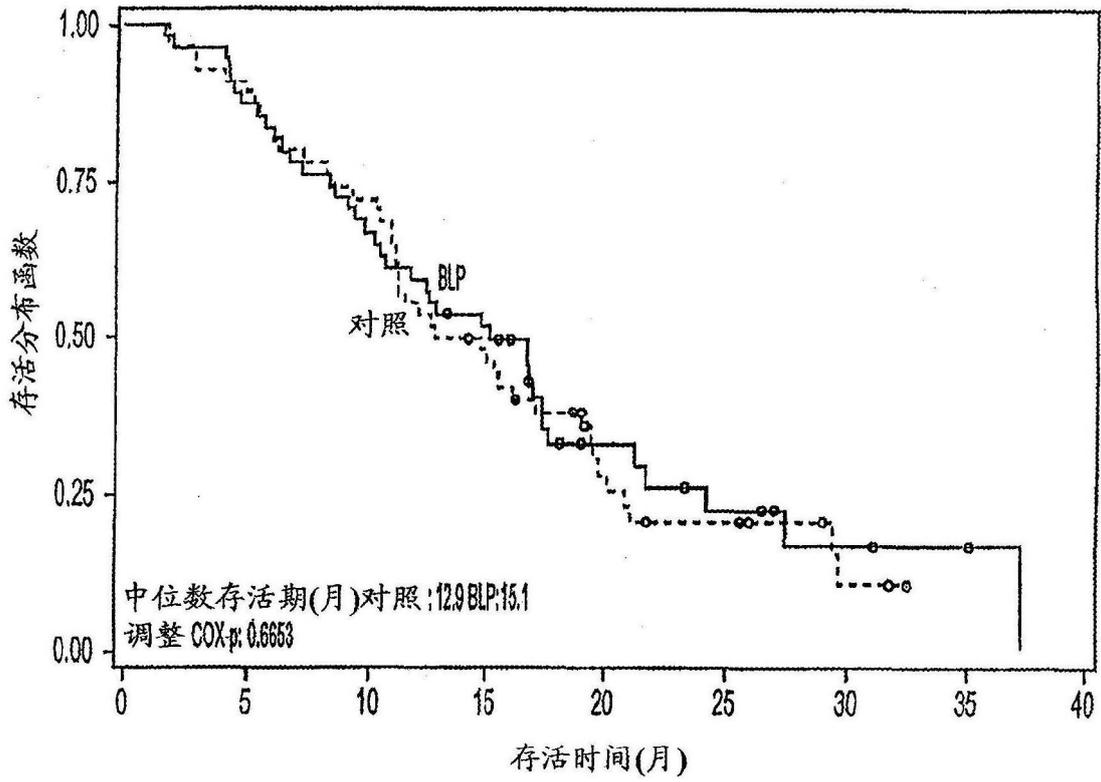


图 18

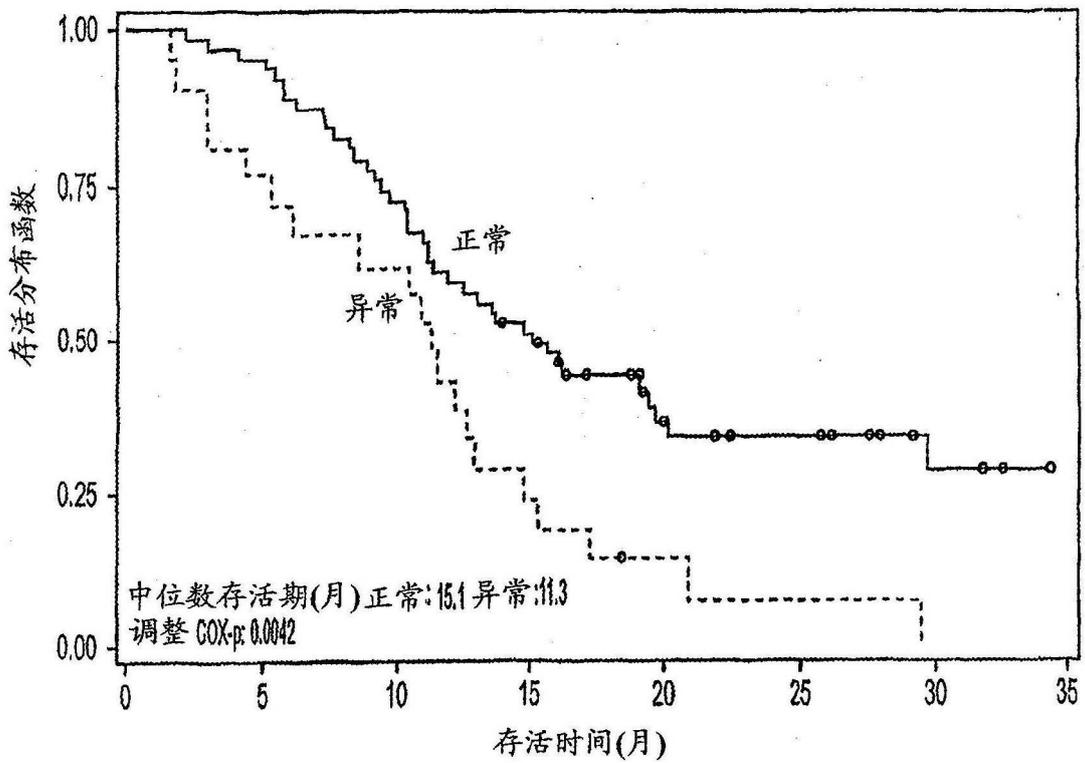


图 19

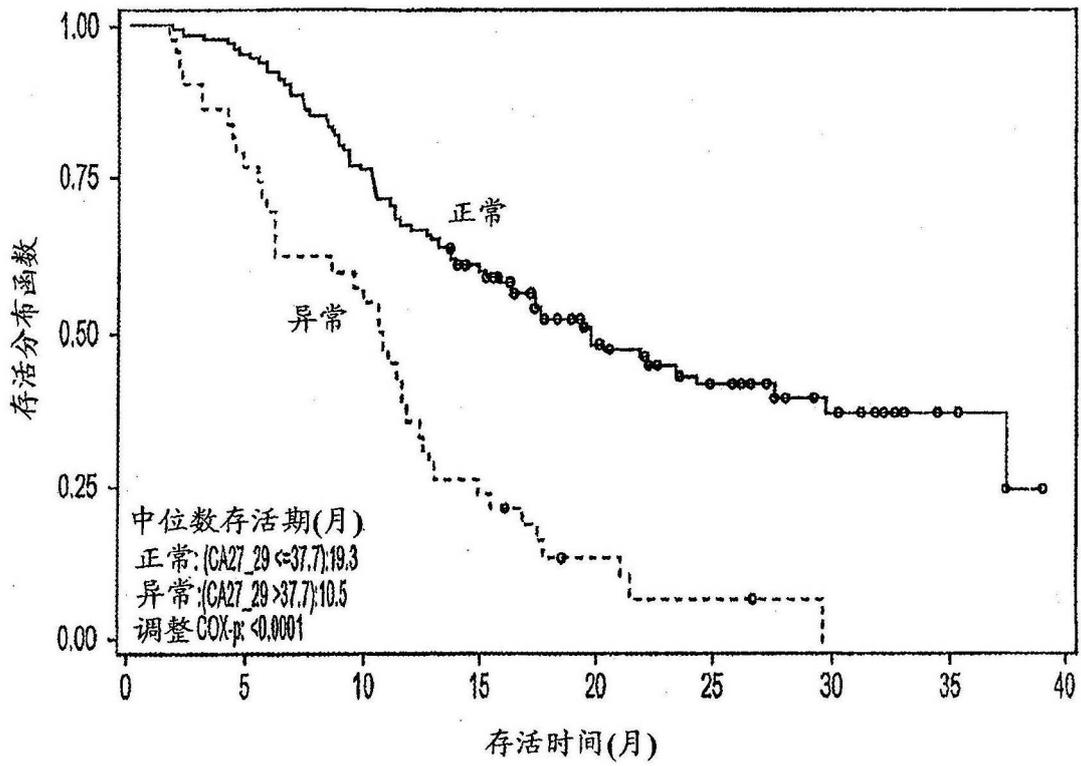


图 20

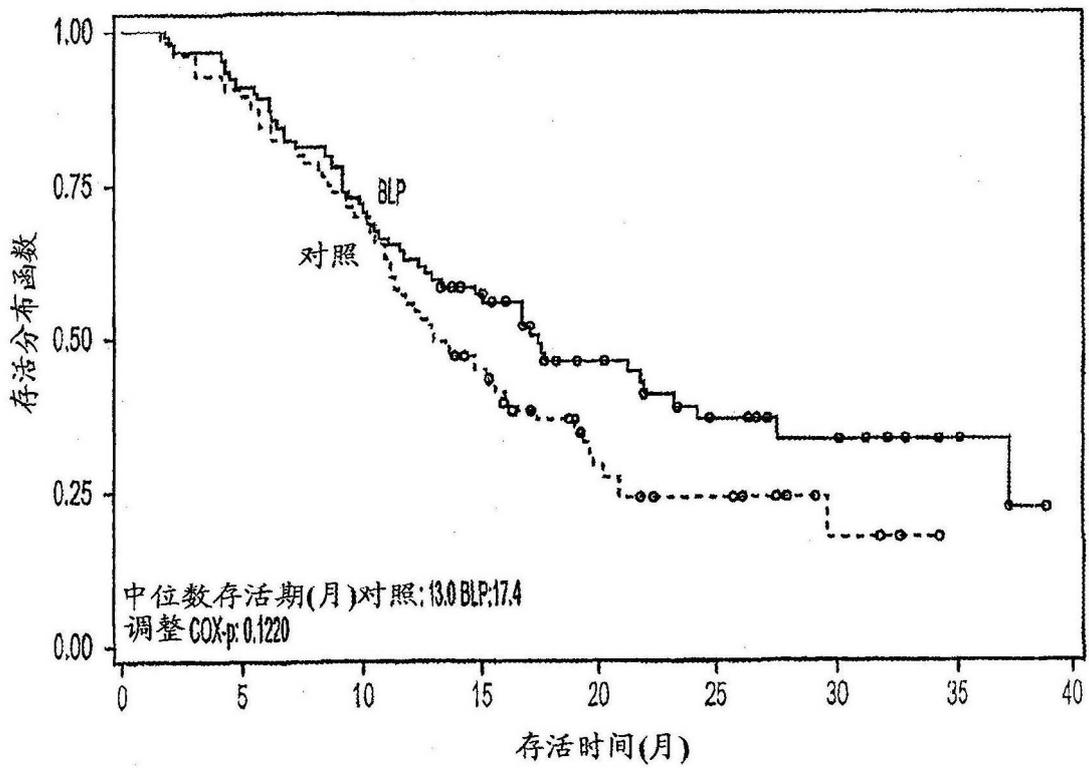


图 21

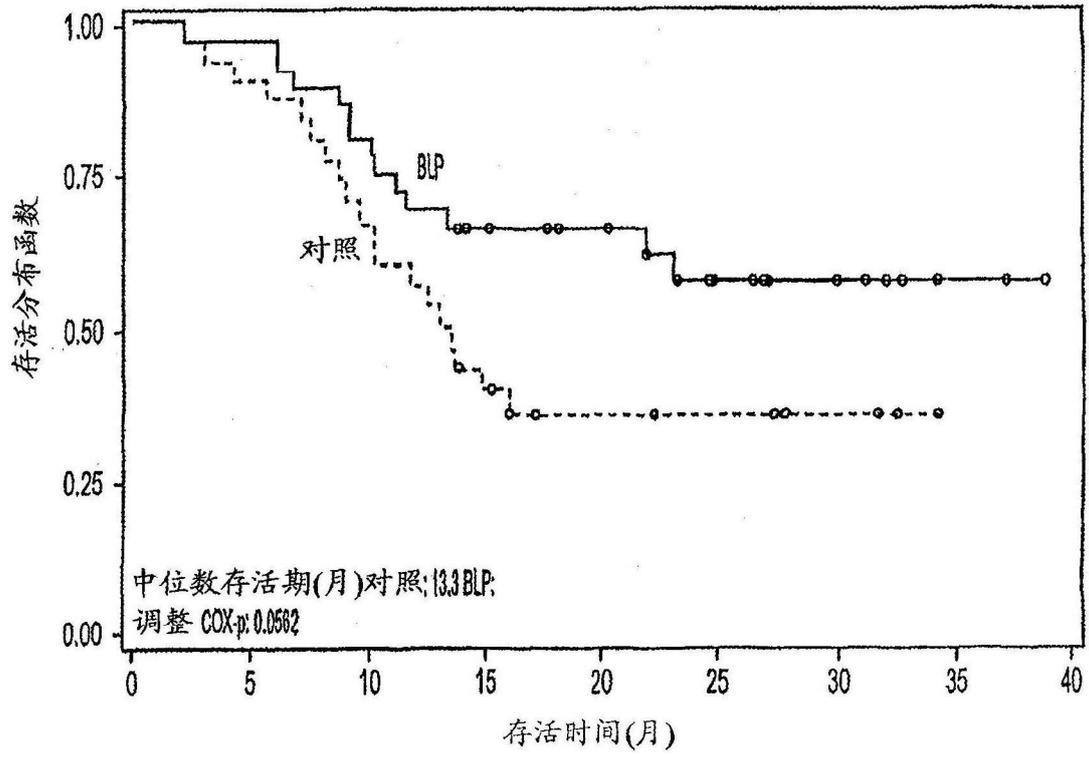


图 22

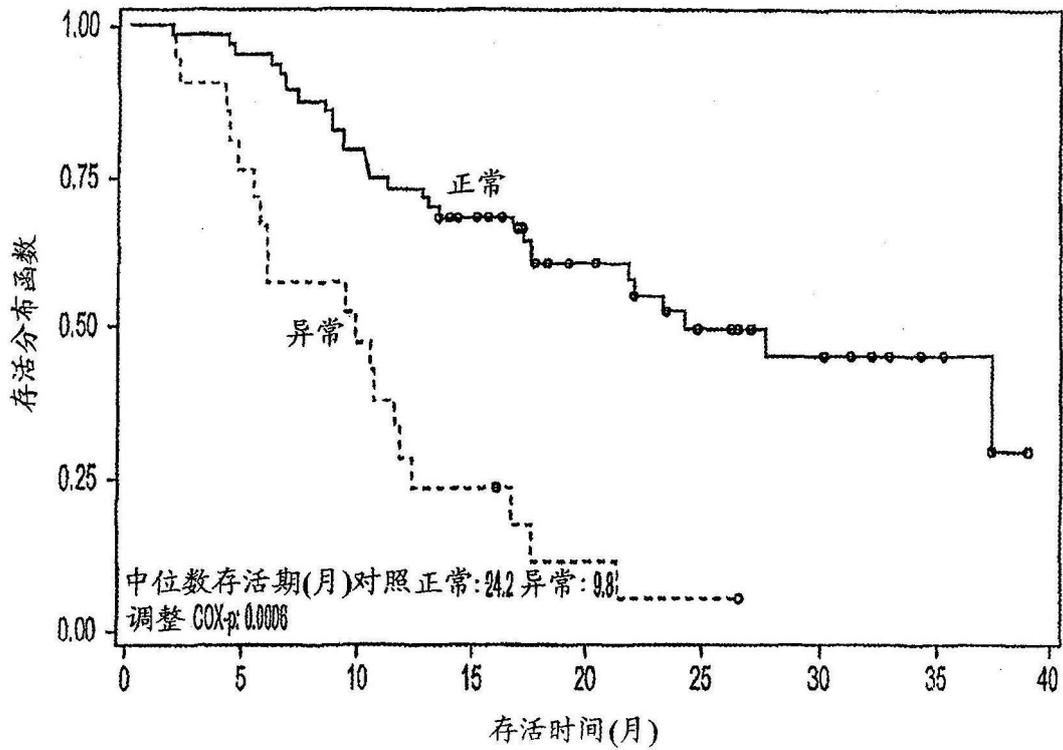


图 23

Abstract

The present invention provides a method for treating an individual who is afflicted with a cancer, such as non-small cell lung cancer or prostate cancer, by administering to that individual a MUC-I -based formulation. The formulation may be a MUC-I based liposomal vaccine formulation.

