



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 02813760.4

[43] 公开日 2004 年 9 月 1 日

[11] 公开号 CN 1525868A

[22] 申请日 2002.7.9 [21] 申请号 02813760.4

[30] 优先权

[32] 2001. 7. 9 [33] US [31] 60/303,868

[86] 国际申请 PCT/US2002/021768 2002.7.9

[87] 国际公布 WO2003/005955 英 2003.1.23

[85] 进入国家阶段日期 2004.1.8

[71] 申请人 埃弗顿有限公司

地址 美国加利福尼亚州

[72] 发明人 P·C·齐瓦斯 D·米卡利

S·格里姆斯

[74] 专利代理机构 上海专利商标事务所

代理人 周承泽

权利要求书 2 页 说明书 19 页 序列表 3 页

[54] 发明名称 治疗和预防肝脏、肺脏和食道的癌症和癌症前期症状

[57] 摘要

本发明涉及通过主动和/或被动免疫患者抗肽类激素胃泌素和/或胃泌素受体如: CCK - B/胃泌素受体, 来治疗和/或预防肝脏、肺和食道的癌症和/或癌症前期症状。 本发明的免疫措施可作为单项治疗, 辅佐性治疗, 或者联合治疗的一部分采用。

1. 一种治疗肺脏、食管或肝脏的癌症或癌症前期症状的方法，其特征在于，所述方法包括对此需要的患者施用一种免疫原，该种免疫原能够在该患者体内诱导抗 G_{17} 胃泌素和/或 CCK-B/胃泌素受体的抗体，该种抗体可抑制 G_{17} 与其在癌症前期或癌症细胞上的受体相结合。
2. 一种治疗肺脏、肝脏或食管的癌症或癌症前期症状的方法，其特征在于，所述方法包括对患者施用抗- G_{17} 抗体和/或抗 CCK-B/胃泌素受体的抗体，该类抗体在体内可选择性中和肽激素 G_{17} 或在体内抑制该受体的活化。
3. 一种治疗肺脏、肝脏或食管的癌症或癌症前期症状的方法，其特征在于，所述方法包括对此需要的患者施用一种免疫原，该种免疫原能够在该患者体内激发足够的抗体效价，所述抗体选择性结合并中和患者本身的 G_{17} 。
4. 一种治疗肺脏、肝脏或食管的癌症或癌症前期症状的方法，其特征在于，所述方法包括对此需要的患者施用一种免疫原，该种免疫原能够在该患者体内激发足够的抗体效价，所述抗体选择性结合并中和在肺脏、肝脏或食管的癌症或癌症前期细胞上表达的 CCK-B/胃泌素受体物质。
5. 如权利要求 2、3 或 4 所述的方法，其特征在于，所述症状是肺癌，其中所述肺癌至少部分是由胃泌素促发的。
6. 如权利要求 5 所述的方法，其特征在于，所述肺癌起源于肺部。
7. 如权利要求 5 所述的方法，其特征在于，所述肺癌有转移源。
8. 如权利要求 7 所述的方法，其特征在于，所述肺癌的转移源是一种胃肠道的恶性肿瘤。
9. 如权利要求 2、3 或 4 所述的方法，其特征在于，所述症状是肝癌。
10. 如权利要求 9 所述的方法，其特征在于，所述肝癌起源于肝部。
11. 如权利要求 9 所述的方法，其特征在于，所述肝癌有转移源。
12. 如权利要求 11 所述的方法，其特征在于，所述肝癌的转移源是一种胃肠道的恶性肿瘤。
13. 如权利要求 2、3 或 4 所述的方法，其特征在于，所述症状是一种癌症前期症状。
14. 如权利要求 13 所述的方法，其特征在于，所述症状是巴雷特食管。
15. 如权利要求 14 所述的方法，其特征在于，所述治疗在于预防或延缓巴雷特食管发展演变为癌症状态。

16. 一种通过在体内选择性中和肽激素 G_{17} 而在患者中治疗由胃泌素诱发的肺脏、肝脏或食管肿瘤或癌症前期病变的生长的方法，其特征在于，所述方法包括对患者施用可与定位在 G_{17} 氨基末端的表位相结合的抗 G_{17} 抗体，从而抑制 G_{17} 与其在肿瘤上的生理性受体相结合。

17. 一种治疗由胃泌素诱发的肺脏、肝脏或食管疾病的方法，其特征在于，所述方法包括对患者施用能够选择性结合十七胃泌素(G_{17})的抗体。

18. 一种在哺乳动物中治疗肺脏、肝脏或食管的癌症或癌症前期症状的方法，其特征在于，所述方法包括施用可在体内中和激素 G_{17} 的治疗剂。

19. 一种治疗肺脏、肝脏或食管的癌症或癌症前期症状的方法，其特征在于，所述方法包括对此需要的患者施用一种免疫原，该种免疫原可在该患者体内增加抗 CCK-B/胃泌素受体的抗体，所述抗体能够阻断因胃泌素与受体结合而导致的胃泌素受体的活化。

20. 一种治疗肺脏、肝脏或食管的癌症或癌症前期症状的方法，其特征在于，所述方法包括对患者施用一种抗 CCK-B/胃泌素受体的抗体，所述抗体能够阻断因胃泌素与受体结合而导致的胃泌素受体的活化。

21. 如权利要求 22 或 23 所述的方法，其特征在于，所述方法还包括施用一种能够增加抗 G_{17} 的抗体的免疫原。

22. 如权利要求 22 或 23 所述的方法，其特征在于，所述方法还包括施用能够在体内选择性中和肽激素 G_{17} 的抗 G_{17} 的抗体。

23. 如权利要求 1 或 2 所述的方法，其特征在于，所述症状是食道癌。

24. 根据如权利要求 26 所述的方法，其特征在于，所述癌症是腺癌。

25. 如权利要求 1 所述的方法，其特征在于，所述方法还包括一种辅助性化学疗法，所述化学疗法包括施用顺铂、卡铂、草酰铂、伊立替康、托泊替康、5-氟尿嘧啶、甲酰四氢叶酸、吉西他滨和/或紫杉烷。

26. 一种治疗非小细胞肺癌的方法，其特征在于，所述方法包括以下步骤：

(a) 对患者施行抗 G_{17} 胃泌素和/或 CCK-B/胃泌素受体的主动和/或被动免疫处理，所述抗体可提供和/或诱导抑制 G_{17} 与其在癌症前期细胞上的受体相结合，和/或抑制该受体的活化；以及

(b) 对患者同时或相继施用有效量的多西他赛。

治疗和预防肝脏、肺脏和食道的癌症和癌症前期症状

本申请要求提交于 2001-06-09 的序列号为 60/303,868 的临时专利申请的优先权。

发明领域

本发明涉及治疗和预防肝脏、肺脏和食道的癌症和癌症前期症状的方法和组合物。本发明还涉及预防和/或抑制由胃泌素诱发的恶性肿瘤向肝脏、肺脏或食道部位的转移。

发明背景

胃泌素是已经证实能够促进正常的胃肠道黏膜以及各种癌症生长的一种生长因子。这类癌症包括:胃、结肠、直肠、胰腺、肝细胞以及神经元等部位的恶性肿瘤。尤其是,如今已经充分查明,胃泌素是某些人类肿瘤的生长因子,例如:胃泌素瘤和结肠直肠癌、包括其转移(参见 Watson 等 2000, Smith 等 1989, Seitz 等 1991 和 Wong 等 1991)。(在此引述的参考文献的全文引用(在正文中未曾引述)都在权利要求一节之前的参考文献一节中列述)。在结肠直肠癌患者中都可发生血浆中的胃泌素总量增高的现象,尤其是,据采用胃泌素抗血清从多数结肠直肠癌中都可检出该激素的前体前胃泌素含量的增长(Coccotosto 等 1995)。本文引用的术语“结肠直肠的”一词是属于胃肠系统的一个亚类。

在结肠直肠肿瘤中胃泌素含量的增高,部分是由于在结肠直肠肿瘤细胞中的胃泌素基因的异常表达所致(Hoosein 等 1990, Baldwin 等 1992 和 Finley 等 1993)。在这类细胞内已经鉴定出了一些胃泌素样肽类(Hoosein 等 1988, Watson 等 1991 和 Finley 等 1993),并且已被确认是胃泌素的前体类型(Van-Solinge 等 1993 和 Nemeth 等 1993)。

血清相关性 G17 具有以 CCK-B/胃泌素受体介导的一种内分泌方式,促进结肠直肠肿瘤生长的潜在能力(Watson 等 1993)。胃泌素-17 由于可能提高胃泌素/缩胆囊肽(CCK)-B 受体对于肿瘤细胞的亲和力,其作用要超过其他类型的胃泌素,因而似乎特别与促进人类的结肠直肠癌的生长相关连(Rehfeld, J. F. 1972)。据发现,CCK-B/胃泌素在 56.7%的人体原发性结肠直肠肿瘤中有高亲和力方式的表达(Upp

等, 1989)。据新近已经证实, 一种胃泌素前体分子甘氨酸扩展性胃泌素 17(G₁₇-Gly) 可促进一株胃肠肿瘤细胞系的生长, 由此推测, 由于这类肿瘤具有内源性产生前体胃泌素肽类的能力, 因而也可能存在一种自泌性循环过程(Van-Solinge 等 1993 和 Nemeth 等 1993)。据证实, 这种甘氨酸扩展性胃泌素 17 对于肿瘤的营养作用, 是由不同于 CCK-B/胃泌素受体的一种受体和一种自泌性生长环路所介导的, 可能有各种胃泌素受体参与其间, 据假定可参与胃肠系肿瘤的增殖过程(Seva 等 1994)。

对于各种可手术性的结肠癌症的最有效的治疗方法, 就是施行外科手术切除。对于结肠直肠区域的原发性肿瘤的切除术, 例如, 由于可能存在无法检知的“隐蔽部位”或“微型转移灶”, 以至往往不可能彻底摘除全部恶性肿瘤。此外, 在切除原发性肿瘤的物理作用下, 可能发生部分肿瘤细胞脱落, 并通过循环系统传播, 从而在肝脏或躯体的其他部位定居。在肝脏内最为常见的转移灶是结肠直肠腺癌。

在结肠直肠癌患者中的肝脏转移灶的外科手术治疗措施, 可引起各种并发症。由于肝脏具有再生能力, 肝脏的切除过程有可能散放出一些营养性因子, 据认为肝脏的再生过程就依赖于这类营养性因子(Leith 等 1992, Mizutani 等 1992, Ballantyne 等 1993, Vaillant 等 1993, Ledda-Columbano 等 1993, Matsumata 等 1995, Slooter 等 1995, Hananel 等 1995), 其中包括: 胰岛素、胰增血糖素、生长激素抑制素(Junge 等 1997)、成纤维细胞生长因子(FGF)、表皮生长因子(EGF)(Gutman 等 1994-95)、转化生长因子 a(TGFa)、白细胞介素-6、肝细胞生长因子、以及肿瘤坏死因子(de Jong 等 1996)。

还已发现, 胃泌素 17 对于正常的和再生的肝细胞, 以及受伤后的肝细胞, 例如, 酒精性损伤或肝脏手术性损伤, 都具有营养性作用。在肝脏损伤后曾经记录到胃泌素量增长 2 至 5 倍, 在损伤之后 24 - 72 小时可见到胃泌素达到最大量。据认为, 因为肝脏组织在损伤之后能够再生, 因而就要求胃泌素量的增高, 以促使或诱发肝细胞的增殖过程。在肝脏损伤之后 72 小时, 胃泌素量就开始逐渐减少至正常水平。转移性结肠直肠癌细胞专门在肝脏内定居, 也要求有胃泌素的作用。此外, 通常所谓“肝癌”的原发性肝癌或肝细胞癌中的细胞都具有胃泌素受体, 因而能够对胃泌素发生反应而进行增殖。多肝脏肿瘤都能够表达 CCK-B/胃泌素受体和胃泌素的各种类型的前体(Caplin 1999)。

尽管外科手术对于各种类型的结肠直肠肿瘤、肝癌、以及在肝脏内的转移性肿瘤, 是一种最有效的治疗方法(Supe 等 1994, Fong 等 1993, de Jong 等 1996, Vauthey 等 1995, Scheele 等 1991, Ballantyne 等 1993, Katoh 等 1990), 但是在肝脏带有这类肿瘤的患者中大约有 90% 却不能施行外科手术治疗, 因为在多数情况下, 对

于肿瘤无法定位,或者其所处的解剖部位不可施行手术治疗。这类患者都在其肿瘤被诊断后一年之内死亡。据报道,在肝脏具有结肠直肠肝转移灶或肝癌的其余 10% 的患者中,大约有 50% 由于未观察到肿瘤复发而达到痊愈(Goletti 等 1992 和 Katoh 等 1990)。然而,据临床数据表明,即使患有可切除肿瘤的其余 50% 的患者经外科手术之后,患者的寿命都能够延长,但是在外科手术之后 2 年,全部都有肿瘤复发,在外科手术之后 5 年,有 70% 的患者再次生长肿瘤。在发生肿瘤再次生长的患者中,有 50% 的肿瘤是生长在肝脏内,还有 50% 是生长在躯体的其他部位,例如,在肺脏、肠道、和腹膜内(Ssheele 等 1991, Vauthey 等 1995, Ballantyne 等 1993)。由此可见,施行肝脏切除术,是在目前对于肝脏肿瘤以及结肠直肠的肝脏转移灶的一种最有效的治疗方法。

对于施行肝脏切除术之后的现有的各种标准治疗方法包括,采用各种化学治疗药物,例如:5-氟尿嘧啶、甲酰四氢叶酸、顺铂、甲型肿瘤坏死因子(Fong 等 1995)、以及一种胃泌素拮抗剂丙谷胺(Kameyama 等 1994)。在多数情况下,这类肿瘤对于辐射作用以及化疗措施都没有有效的反应,因而,在现有的操作程序中需要有一些新的治疗措施进行弥补。对于可切除性肿瘤,一般都不能查明是否所有的恶性肿瘤都已经排除,或者在施行外科手术之前或之后是否有肿瘤的转移性细胞脱落,或者在患者体内是否还存在着有可能在其躯体内的某个部位形成肿瘤再生长的残留的微型转移灶。

据记述,对于胃泌素依赖性肿瘤,具有各种高亲和力的 CCK-B/胃泌素受体的拮抗物,例如, L-365,260(Bock 等 1989)和 CI-988(Hughes 等 1990)。已经证实,在活体外和在体内,这类拮抗物都能够有效地中和外源性胃泌素对于胃泌素依赖性肿瘤的生长(Watson 等, Kameyama 等和 Romani 等 1994)。不过,这类拮抗物都能够封闭如胃泌素-34(G34)和 CCK 之类受体的所有潜在的配体,因而缺乏特异性。而且,能够识别并结合胃泌素前体 G_{17} -Gly 的各种细胞受体,并不能与所有受测试的各种抑制物相结合(Seva 等 1994)。因而,如果在自泌性生长链锁内有一种不同的受体参与,那么胃泌素的各种拮抗物就不可能封闭这种肿瘤生长促进机制。还曾经调查了在体内用放射性标记的胃泌素相关性和缩胆囊肽相关性肽类,作为探索 CCK-B/胃泌素受体表达性肿瘤靶标的物质(参见 Behr 等,缩胆囊肽-B/胃泌素受体结合性肽类:其诊断和治疗潜在性能的临床前期研制和评定,临床肿瘤研究(1999)10月:(增刊 10):3124-3138,本文已经收录作为参考文献)。

能够选择性地对胃泌素 17 激素的(成熟型和甘氨酸扩延的前体型)两种类型的生物学活性进行免疫中和的一种治疗方法,对于因胃泌素 17 激素的过量产生而引

起的胃泌素依赖性肿瘤的再生长, 可提供一种控制或预防的有效手段。

本文指定引用作为参考文献的美国专利号 5,023,077 和 5,468,494 披露了用于患者通过产生抗胃泌素抗体来控制 G_{17} 和 G_{34} 水平的各种免疫原性成分, 以及采用这类成分对胃和十二指肠溃疡以及胃泌素诱发性癌症施行治疗的技术。本发明也涉及了采用该专利号 5,023,077 和 5,468,494 披露的抗- G_{17} 免疫原性成分, 来预防肿瘤的再生长和/或在肝脏切除术之后的转移性癌症的发育。其中肿瘤的再生长是由胃泌素的刺激作用所致, 因为在外科手术之后的肿瘤复发过程是一个常见问题, 尤其是在施行肝脏切除术之后。本发明还涉及了对 CCK-B/胃泌素受体施行免疫处理, 以封闭肿瘤细胞上的受体的活化过程。在共同指定的美国申请序列号 09/076,372 中披露了激发对于 CCK-B/胃泌素受体发生反应的一种抗体的各种免疫原的制备方法。本文在此也已经引用作为参考文献。

上述本发明用于预防转移性肿瘤生长, 或者在癌症治疗过程预防肿瘤再生长的该方法, 具有若干优于现有其他各种治疗方法的优点。该种方法是非侵入性的、有选择的可逆性、不破坏正常组织、不要求经常反复处置、并且也不会穿透血脑屏障。

在肺部, 胃泌素是伴随着肺癌的形成而增加的。参见:Gocyk 等 2000, 在此引用作为参考文献。与上述的肝癌同样, 胃泌素也是与从胃肠道恶性肿瘤转移的肺癌相关。本发明涉及通过对于肿瘤细胞上表达的 CCK-B/胃泌素受体的胃泌素依赖性活化作用, 对于各种肺脏癌症的治疗, 以及对于肺部转移的预防措施。此外, 本发明定向于对小细胞性肺癌(SCLC)和非小细胞肺癌(NSCLC)都可进行治疗。对于小细胞性肺癌和非小细胞肺癌还在继续研制各种类型的治疗方案。参见:Reddy, 2000, 对于小细胞性肺癌; Evans, 2001, 对于非小细胞肺癌。该两篇论文都已在此引用作为参考文献。

在胃食管反流性疾病(GERD)患者中, 有 10-20%可发生巴雷特食管(Barrett's esophagus)(一种慢性消化性食管溃疡综合征), 这是一种癌症前期期症状。大约有 2000 万美国公民罹患这种慢性消化性食管溃疡综合征, 大约有 5-10%的慢性消化性食管溃疡综合征病例可发展为癌症状态, 尤其是腺癌。(参见:国家卫生研究院, 出版号:99-4546, 1999 年 5 月)现有的各种预防性治疗方法以及实际治疗措施都已作了综述, Fennerty, 2001, 在此引用作为参考文献。据各项研究提示, 在慢性消化性食管溃疡综合征的病变内存在着胃泌素和/或胃泌素分泌性细胞, 由此提示, 胃泌素具有促发慢性消化性食管溃疡综合征病变并发展成癌症状态即腺癌的作用。参见, 例如, Buchanan 等, 在慢性消化性食管溃疡综合征中的各种调节性肽类, 病

理学杂志(1985)7月号;146(3):227-34;和 Trakal 等,慢性消化性食管溃疡综合征的诊断及其病因学胃泌素分泌性细胞的存在,拉丁美洲胃肠病学论文集(1985);15(2):67-80;该两篇论文都在此引用作为参考文献。本发明涉及对于慢性消化性食管溃疡综合征的治疗措施,以及防止或延缓慢性消化性食管溃疡综合征向食管腺癌的发展。本发明还涉及对于原有的食管腺癌以及食管中其他恶变过程的治疗措施。

发明概述

本发明涉及通过活化和/或被动免疫处理,以使患者拮抗肽类激素胃泌素和/或胃泌素受体,例如,CCK-B/胃泌素受体,对于肝脏、肺脏和食管的癌症和/或癌症症状进行治疗和/或预防。本发明的免疫处理方法,可配合例如,化学治疗剂和/或放射治疗剂,用作单项治疗或者辅助治疗或综合治疗的一部分。

本发明可提供用于抑制由胃泌素激发的肿瘤细胞,从例如,胃肠部位的恶性肿瘤,向肝脏、肺脏和食管位转移的各种成分和方法。本发明还可提供对于小细胞性肺癌和非小细胞肺癌都能够治疗的各种成分和方法。本发明还可提供包括对于胃泌素和/或其受体施行主动和/或被动免疫处理,结合采用紫杉烷如多西他赛,对非小细胞肺癌进行治疗的一种联合治疗方法。本发明另外还提供了可用于抑制肝脏、肺脏或食管位的前恶性肿瘤(癌症前期)细胞向癌症状态转变的各种成分和方法。

发明详述

本方法包括,在治疗或预防肺脏、肝脏或食管的癌症和/或癌症前期症症状方面,为了控制患者的胃泌素的水平,而采用抗 G_{17} 免疫原或抗胃泌素 17 激素的抗体,对患者施行主动性或被动性免疫处理的各种方法。本发明还涉及对于胃泌素依赖性肿瘤细胞向肝脏、肺脏和食管成功转移的防制方法。美国专利号 5,203,077 和 5,785,970 都披露了对于患者施行主动性和被动性免疫处理,以拮抗胃泌素的各种方法,在此都被采用作为参考文献。

本发明的免疫处理方法,可以采用单项治疗、对于外科手术的一种辅助性治疗、化学疗放和/或放射疗法或者综合疗法的一部分,包括,各种化学治疗剂、放射治疗剂、生物性因子如改型病毒和/或光动力学治疗措施等。

通过对患者诱发抗胃泌素 17 的抗体,就可在体内,对于激素胃泌素 17 和前激素前胃泌素 G_{17} -Gly 进行中和处理,从而抑制其生理性效应。尤其是,对于 G_{17} 的中和作用,可预防该激素与其生理性受体相结合,从而抑制肿瘤细胞的生长。

各种抗-G₁₇的免疫原,包括 G₁₇的氨基酸终端通过一个分隔体肽类与一种免疫原性载体如白喉类毒素(DT)相结合,产生可与 G₁₇相结合并使之中和的一类免疫模拟性片段。

在本发明的一个实例中,抗 G₁₇的免疫处理方法包括,主动性免疫处理,其特征在于,采用本发明的一种免疫原进行免疫处理。该免疫原可促发接受免疫处理的患者产生抗 G₁₇的抗体,而诱发足够的抗体效价,以中和并抑制 G₁₇的生理性效应,从而限制患者对于外科手术反应所产生的癌症-营养激素水平。由在患者体内产生的抗 G₁₇抗体对于 G₁₇激素的生理性中和作用可抑制胃泌素,从而可防止须依赖 G₁₇作为其生长的促进因子或诱导因子的肿瘤细胞的再生长。本发明的这类治疗方法,特别适用于在施行肝脏切除术之后,对于 G₁₇反应性胃泌素依赖性的转移性肿瘤细胞的治疗措施。

本发明的这类免疫原,包括由两个功能区域组成的各种肽类。其两个功能区域是免疫模拟区域和分隔区域。免疫模拟区域的功能是,可与 G₁₇产生免疫学交叉反应,并在接受免疫处理的动物体内,诱导可与确定靶标的 G₁₇激素相结合的抗体,从而抑制 G₁₇的功能,并制止 G₁₇依赖性肿瘤细胞的生长。在所有受测试的经免疫处理的动物中,施用了这类免疫原之后,都可诱导在生物学方面有效的免疫学反应。本发明的免疫模拟肽类-分隔物能够以广泛范围的肽与载体的置换比率,与各种免疫性载体偶合,而产生各种有效的免疫原。

实施例 1

如美国专利号 5,785,970 所述,能够诱导对于 G17 的特异性免疫反应的各种肽类,可以采用各种标准的固态合成方法进行制备,例如,可按如下所列的氨基酸序列来合成各种肽类:

肽 1—人 G17(1 - 6):pGlu-Gly-Pro-Trp-Leu-Glu-Arg-Pro-Pro-Pro-Pro-Cys (SEQ ID NO:1)

肽 2—人 G17(1 - 5):pGlu-Gly-Pro-Trp-Leu-Arg-Pro-Pro-Pro-Pro-Cys (SEQ ID NO:2)

肽 3—人 G17(1 - 4):pGlu-Gly-Pro-Trp-Arg-Pro-Pro-Pro-Pro-Cys (SEQ ID NO:3)

肽 4—人 G17(1-9):pGlu-Gly-Pro-Trp-Leu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ser-Ser-Pro-Pro-Pro-Pro-Cys (SEQ ID NO:4)

上述每一种肽类都含有一个 G17 的氨基末端片段,例如,在肽类 1-4 中的人体

G17 的头 4-9 个氨基酸；以及羧基终端分隔体肽组分，Arg-Pro-Pro-Pro-Cys (SEQ ID NO:5)，或 Ser-Ser-Pro-Pro-Pro-Cys (SEQ ID NO:6)。在进一步制备免疫原之前，每一种合成的肽类都具有其特定的氨基酸含量和纯度。

上述这些肽类，都可利用一种异型双功能连接剂(这类连接剂在其一端含有一个琥珀酰亚胺基酯，另一端含有顺丁烯二酰亚胺的)，通过终端肽半胱氨酸残基，与一种载体如白喉类毒素(“DT”)上的氨基团相结合。

实施例 2

为完成例如，在上述 1-4 中的一种肽类与一种载体之间的连接，先将无水的肽溶解在含有超量的 30 克分子二硫代苏糖醇(dithiothreitol) (“DTT”)的 pH 8.0 的 0.1 克分子的磷酸钠缓冲液中，并将该溶液在用水饱和的氮气中搅拌 4 小时。利用经 0.2 克分子乙酸平衡处理的 G10 Sephadex 柱(一种交联葡聚糖柱)进行层析处理，将其中的含有还原半胱氨酸的肽成分，与其他成分分离。并将该种肽成分经冻干处理之后，贮存于真空条件下备用。对于载体采用一种异型双功能连接剂如戊型顺丁烯二酰亚胺己酸 N-羟基琥珀酰亚胺酯(“EMCS”)，按足以使每 10^5 分子量的载体大约 25 个游离氨基团活化的比率，进行活化处理。以白喉类毒素为例，每 20 毫克的白喉类毒素总计须添加 6.18 毫克的戊型顺丁烯二酰亚胺己酸 N-羟基琥珀酰亚胺酯(纯度 75%)。

将每 20 毫克整除量的白喉类毒素溶解于 1 毫升 0.2 克分子量的 pH 6.45 磷酸钠缓冲液中，即可完成活化过程。整除量的 6.18 毫克戊型顺丁烯二酰亚胺己酸 N-羟基琥珀酰亚胺酯须溶解在 0.2 毫升的二甲亚砜中(“DMF”)。其操作须在避光进行，在一边搅拌的条件下，将戊型顺丁烯二酰亚胺己酸 N-羟基琥珀酰亚胺酯按 50 微升(“ μ l”)量逐滴加入白喉类毒素(DT)中。经无光培育 2 小时之后，在用含有 0.1mM 乙二胺四乙酸(EDTA)的 0.1 克分子量的 pH 6.0 柠檬酸钠缓冲液处理的 G50 Sephadex 柱中，对该混合液进行层析处理。

在避光条件下，对于含有经戊型顺丁烯二酰亚胺己酸 N-羟基琥珀酰亚胺酯活化处理的白喉类毒素的各份组分，用 PM 10 超滤膜进行浓缩处理。采用 Lowry 或 Bradford 的方法测定该浓缩物中的蛋白质含量。对于经活化处理的载体中的戊型顺丁烯二酰亚胺己酸 N-羟基琥珀酰亚胺酯含量，是将该载体用盐酸半胱氨酸进行培育之后，再与 10mM Elman 氏试剂 5,5'-双硫-二(2-硝基苯甲酸)10 mM 进行反应来测定。采用在 412 纳米波长(nm)按对于 5-硫代-2-硝基苯甲酸的克分子量消光系数 13.6×10^3 ，将含有盐酸半胱氨酸的空白试管与含有盐酸半胱氨酸和载体的样本试

管之间的光密度差，换算为戊型顺丁烯二酰亚胺己酸 N-羟基琥珀酰亚胺酯基团的含量。

对于该肽成分中还原的半胱氨酸含量(—SH)也利用 Elman 氏试剂进行测定。将该肽成分大约 1 毫克，溶于 1 毫升的饱和氮气的水中，取该溶液的整分量 0.1 毫升用 Elman 氏试剂进行反应。利用 5-硫代-2-硝基苯甲酸的克分子量消光系数(13.6×10^3)，计算游离的半胱氨酸-SH 量。将足以与在载体上含有经戊型顺丁烯二酰亚胺己酸 N-羟基琥珀酰亚胺酯活化的每 25 个氨基团发生反应的游离—SH 的肽成分量，溶于含有 0.1 mM 乙二胺四乙酸的 pH 6.0 的 0.1 克分子量柠檬酸钠缓冲液，并在避光条件下逐滴加入经戊型顺丁烯二酰亚胺己酸 N-羟基琥珀酰亚胺酯活化处理的载体中。当全部肽溶液加入载体之后，在饱和氮气大气的水中避光培育过夜。

利用经 0.2 克分子量的重碳酸铵进行平衡处理的 G50 Sephadex 柱进行层析处理，将通过戊型顺丁烯二酰亚胺己酸 N-羟基琥珀酰亚胺酯与载体连接的肽结合物，与该混合液中的其他成分分离。并将从柱管中洗出的结合物进行冻干处理，干贮于 -20°C 下备用。

对于该种结合物可利用本领域熟练的技术人员所熟知的各种方法，对其中肽含量的特征进行鉴定，其方法包括：增重法、氨基酸分析法，等。利用这类方法测定所产生的肽 1-3 与白喉类毒素的结合物中，在每 10^5 个分子量载体中含有 20-25 克分子量的肽，据认为全部都是适用于作为对动物施行免疫处理的免疫原。

实施例 3

另外，还有一种采用密闭式系统的方法，可对肽-载体成分进行制备、结合、分离、以及提纯处理。在美国专利号 6,359,114 已经披露了这种方法和系统，在此已经全文引用作为参考文献。该方法是在密闭的液相系统中进行的，其主要步骤如下：

(a) 在一种液相反应混合物中，将一种肽型免疫原利用(或不利用)分隔物，与一种免疫原性载体物质相结合，形成一种结合型肽与非结合型肽以及其他各种物质的混合物；

(b) 将该种含有结合型肽与非结合型肽以及其他各种物质的液相反应混合物进行超滤处理，利用这种超滤处理方法在超滤器中分离出的滞留物，就是结合型的肽类物质；

(c) 利用脱盐的溶液、水或其他缓冲溶液洗涤在超滤器中的结合态的肽类物质的滞留物；

(d) 用回洗贮器中的缓冲溶液对超滤处理环节进行反向洗涤, 从超滤环节以释放并分散在超滤环节中的结合态肽类物质的滞留物;

(e) 重复进行(c)和(d)步骤以提纯结合态肽类物质, 直至结合态肽类物质中基本上不再含有非结合态的肽类物质; 以及

(f) 从超滤处理环节回收结合态肽类物质滞留物, 或者将该滞留物再输送入超滤环节的反应容器中, 作进一步处理。

该种装置是在反应容器与超滤/透析过滤(ultrafiltration/diafiltration)装置之间, 通过一种适当的液体通道, 如设置阀门或泵唧的管道, 以液相方式连通的。含有试剂和产物的液相反应溶液, 能够从反应容器通过适当的蠕动式泵筒进入过滤单元。透析过滤贮器(Diafiltration Reservoir)是通过反应容器与过滤单元相连接, 用于对积聚在过滤单元的滤膜上的滞留物进行洗涤和冲淋。渗透物或过滤物都可从过滤单元流入贮器中。“反冲贮器”可供应一种溶液, 将滞留物从超滤单元反向流入反应容器或其他收容器。含有反应产物的蛋白质或肽类组分, 可任选地利用不同分子量规格的滤器, 顺次按分子量大小差别进行分级分离, 或者根据需要的产物进行分离。

在涉及以后进一步处理的反应过程, 例如, 与一种或多种其他成分如蛋白质、肽类或非蛋白物质如碳水化合物的辄合/偶合过程, 在至少一种成分的第一次提纯处理方面, 可以预期须有若干步骤和设施组合进行。

对于该种装置的各个部件的具体部分序号和厂商都已经开列清单; 然而, 据认为, 另外还有其他商品来源的相应设施, 可以取代而不致减损该种装置的效能; 还应当了解, 该种装置能够按比例提高到任何所需的生产水平, 而不会偏离本发明的原则条件。

该系统的一项实例可以更加详尽地论述如下。其反应容器是一种 2000 毫升容量, 1 级玻璃质的琥珀色的广口瓶(Wheaton 公司)。选用该种容器的标准依据是: (i) 其 2000 毫升的容量适用于处理 100 毫升至 1800 毫升的反应用量; (ii) 1 级玻璃符合美国药典(USP)对于药物制造的标准要求; (iii) 反应容器的琥珀色玻璃, 可限制能够对合成过程所使用的光敏性化学交联物质发生降解作用的光线的穿透; 以及 (iv) 其广口结构可为容纳 3 支试管插入的瓶塞提供足够的空间, 并且也便于添加试剂和进行取样。在该反应容器的瓶壁上, 标有以 100 毫升递增量分度的溶液容量标记。该种反应容器配有氯丁二烯橡胶质的瓶塞, 其上开有 3 个插管孔, 以相等间距按横过瓶塞的对角线排列。

在瓶塞的 3 个插孔中, 分别插入相应内径的硼硅酸盐质玻璃插管。该反应容器

还配有相应的连接管，设置在该容器内的泵筒相连接，该泵筒运转时，就可有效地使该容器内容达到真空状态。

该装置中配备的管道部件的实际长度，以不致妨碍其操作为度。不过，其管道最好应当尽可能保持可操作的最短长度，以便尽量减少其管道内的容量。其管道内的阀门都采用聚丙烯和聚四氟乙烯材料制成。

蠕动式泵筒是 LP1 型 (Amicon 公司)。这种型号可变速、可调节滤器压力、还能够可逆性操作。

其中的超滤操作单元包括一个螺旋式滤膜支架分离过滤浓缩器 (#54118, Amicon 公司)，设置有一个具有适宜的分子量分段控制条件的螺旋式缠卷滤膜筒。选用这种分离过滤操作浓缩器，是因为其容量与该种设施的普通小容量反应能力相适应。

“反向洗涤贮器”包括一个具有整体固定式 2 通旋塞阀的 500 毫升玻璃质的分液 (Buchner 式) 漏斗，(#6402, Pyrex 公司)。

操作程序 1: 反应过程

例如，在“反应容器”内操作的使短肽链与大型蛋白质进行化学耦联过程的一种反应。加速分离过滤操作过程的管道 26a 并不浸入“分离过滤溶液贮器”27。通过开口 101 向该容器添加反应材料。(必要时，在设置该“反应容器”时，可增加试剂添加管和样本装填采集管)。在反应操作过程中，须将开口 101 关闭。对反应混合液须进行搅拌，直至反应完成。期间可从该反应容器采集样本以监控反应进程。

操作程序 2: 纯化过程

通过分离过滤工序进行提纯处理。在“分离过滤溶液贮器”中装有分离过滤溶液以及一支供汲取分离过滤溶液用的玻璃管 26a，直插到该“分离过滤溶液贮器”的底部。将需要提纯的材料加入“反应容器”，并将该容器关闭。再从该“反应容器”将该转移的溶液经入口部泵入“超滤单元”。对于“超滤单元”的操作，须根据厂商的建议，通过对泵速和该“超滤单元”配套的反压力阀进行调节，在指定的流入量和反压力条件下运行。

对于提纯处理的进程，是通过从导向“渗透物贮器”的管道汲取样本进行测试来监控的。该“渗透物贮器”中收容的是反应溶液以及洗涤溶液的过滤流出物。当“分离过滤溶液贮器”中的溶液量减少时须加以补充；对于“渗透物贮器”须在适当情况下，及时予以排空或更换。

当对渗透物测试表明提纯处理已经完成时,就可通过例如,将“分离过滤溶液”供应容器中的导管提起离开其中的分离过滤溶液,并将其中剩余的溶液排入“反应容器”内。随后即将阀门关闭。然后就可将“超滤单元”和导管内的测试溶液通过排放或反冲操作,收集入“反应容器”内。

提纯处理程序也可采用交换各种缓冲液的方式来实施。其提纯操作程序基本是相同的,只是须将新的溶媒/缓冲液加入“分离过滤溶液贮器”中。提纯操作过程须进行至陈旧的溶媒/缓冲液被完全更换为止。

操作程序 3:浓缩过程

对于“反应容器”内的各种浓缩溶液,加入相应的缓冲液或贮备溶液。开启阀门,使渗透物从“超滤单元”流入“渗透物贮器”内。分离过滤溶液的接受导管还未曾放入“分离过滤溶液贮器”中(能够使空气通过该导管)。然后按“提纯操作程序”启动“泵筒”和“超滤单元”,在浓缩处理过程中,必须对“反应容器”内的溶液量予以监控,以保证在溶液水平下降时,“导管”仍然保持浸入溶液中。当浓缩过程完成时,就可将泵筒和全部“阀门”关闭。随后再将“超滤单元”以及导管中的溶液排放或反冲进入“反应容器”内。

操作程序 4:排放/反冲过程

在提纯和浓缩操作程序完成之后,就可从“超滤单元”和导管中回收含有反应产物的溶液,必须将该两个部件中的溶液排放入“反应容器”内。在实施该操作步骤时,须将分离过滤溶液的接受导管提高“分离过滤溶液贮器”,以便使空气能够通入该分离过滤导管。此时阀门是关闭的。(开启的阀门可使“反向洗涤贮器”(此时是空的)内的空气经过阀门对阀门流通。)然后就可将阀门开启,使空气通过阀门进入“反应容器”内,从而使各部导管排空。如须排空“超滤单元”,可调节“阀门”使空气经过“阀门”通入“超滤单元 13”。然后以反向方式启动“泵筒”,使带有反应产物的溶液从“超滤单元”通过“泵筒”流入“反应容器”内。在排放操作完成之后,就可关闭“泵筒”和各处“阀门”。

对“超滤单元”进行反冲处理基本可按对“超滤单元”的排放处理相同的程序实施,只是须将所需回洗的溶液量加入“回洗贮器”内。从而,当开启“阀门”时,只有回洗溶液而不是空气从“回洗贮器”通过“阀门”进入“超滤单元”,最后进入作为贮库的“反应容器”内。当回洗操作完成之后,(例如,已经将各种产物提取后),就可关闭“泵筒”和各处“阀门”。

为合成肽-蛋白质轭合物而设计的该项实例的操作程序，可用于诱导对人的胃泌素 17 (hG₁₇) 的抗体反应。此项未曾公开的操作程序在此进行详细说明如下：

实施例 4

步骤 1: 白喉类毒素 (DT) 的纯化

供应的白喉类毒素是一种溶液，其中还含有低分子量的其他各种成分，包括 0.3 克分子量的甘氨酸以及 0.01% 硫柳汞(消毒剂)。在能够进行轭合处理程序之前，须将该其他成分除去。利用超滤单元通过一系列分离过滤处理和浓缩处理操作步骤，对白喉类毒素进行提纯处理。每次分离过滤操作的分离过滤物溶液所使用的脱离子水容量，等于在反应容器内存留的样本容量的 5 倍。为了防止滤器堵塞，在分离过滤处理过程，还可结合从贮器利用反冲处理进行反向洗涤的操作程序。待对于白喉类毒素的提纯处理的分离过滤程序完成之后，就可更换采用磷酸盐缓冲液(0.5 克分子量磷酸钠)以 5 倍容量进行 3 轮分离过滤处理，以准备用戊型顺丁烯二酰亚胺己酸 N-羟基琥珀酰亚胺酯(EMCS)对白喉类毒素进行活化反应处理。待步骤 1 结束之后，将该溶液在超滤单元(配备有按 30,000 分子量分段的螺旋缠卷滤膜筒，Amicon 公司，YM30S1)中处理，审慎地除去洗涤渗透物的溶液，使之浓缩至大约 20-25 毫克白喉类毒素/毫升。然后通过反冲处理程序，将纯品白喉类毒素送入反应容器内。再利用高压液相层析技术(HPLC)对白喉类毒素进行纯度分析，并测定其浓度。

步骤 2: 用戊型顺丁烯二酰亚胺己酸 N-羟基琥珀酰亚胺酯(EMCS)对纯化的白喉类毒素进行活化反应处理

其次是用戊型顺丁烯二酰亚胺己酸 N-羟基琥珀酰亚胺酯对纯品白喉类毒素进行活化处理，使之产生顺丁烯二酰亚胺-白喉类毒素(MDT)。在这一步骤中，在顺丁烯二酰亚胺的琥珀酰亚胺基分子部分与白喉类毒素上的各游离 α -氨基团发生反应，而使戊型顺丁烯二酰亚胺己酸 N-羟基琥珀酰亚胺酯与白喉类毒素偶合，在戊型顺丁烯二酰亚胺己酸 N-羟基琥珀酰亚胺酯中留出顺丁烯二酰亚胺基团与肽相结合(步骤 4)。

在白喉类毒素的蛋白质中，每 10^5 分子量大约有 40 个氨基团，其中约有 25 个可在现有的合成过程被活化。要达到这一活化水平，要求戊型顺丁烯二酰亚胺己酸 N-羟基琥珀酰亚胺酯的克分子量须超过白喉类毒素的氨基团 4 倍。进行活化处理的白喉类毒素的浓度可调节在 20 毫克/毫升(+/-0.5 毫克/毫升)，再回输入反应容

器内。添加戊型顺丁烯二酰亚胺己酸 N-羟基琥珀酰亚胺酯后经过 2 小时的反应过程, 就可形成顺丁烯二酰亚胺白喉类毒素。

步骤 3: 顺丁烯二酰亚胺白喉类毒素的纯化处理

将反应容器内的反应混合物转移至分离过滤处理、反向洗涤处理以及浓缩处理等一系列步骤(如上所述), 其中包括从反应容器通过超滤装置环流柠檬酸盐洗涤溶液, 将滤过液移入贮器内, 或者从贮器 22 反向洗涤, 并在该装置内对于扣留的顺丁烯二酰亚胺白喉类毒素(MDT)进行浓缩处理, 最后将该提纯的顺丁烯二酰亚胺白喉类毒素贮存于反应容器内。在这一系列操作程序中, 完全用柠檬酸盐(0.1 克分子量柠檬酸钠)偶合作用缓冲液替换了磷酸盐缓冲液。在该步骤结束时, 测定顺丁烯二酰亚胺白喉类毒素的量及其活化程度。

步骤 4: hG17 免疫原肽与顺丁烯二酰亚胺白喉类毒素的耦合处理

取 500 毫克 hG17 免疫原肽溶入 25 毫升饱含氮气的 0.1 克分子量柠檬酸钠(SC), 并与经过活化处理的顺丁烯二酰亚胺白喉类毒素(MDT)进行耦合。其操作是, 在反应容器 11 内, 将提纯的肽逐渐添加于在 20 毫克/毫升 MSC 中含有 1.17 克 MDT 的纯化 MDT 溶液中。经过适当的时间, 使其完成耦合反应。(在 MDT 中)按肽:顺丁烯二酰亚胺基团的克分子量比率 1.1:1 添加肽成分, 以达到所需的 25 克分子量肽的置换比率。

步骤 5: 耦合物的纯化和冻干处理

对于耦合物的反应溶液(83.5 毫升)用 0.2 克分子量重碳酸铵溶液(AB)稀释至 1.0 升容量, 然后浓缩大约 5 倍至接近 100 毫升容量。其操作方法是, 在密闭系统内进行分离过滤处理, 在超滤单元 13 中, 该溶液在 30,000 道尔顿分子量分段的螺旋式缠卷滤膜上, 用 500 毫升重碳酸铵溶液进行处理, 可有效地专门扣留其中的耦合物, 然后再用 100 毫升重碳酸铵溶液进行反向洗涤, 再将该产物溶液重新浓缩成 100 毫升。这一系列分离过滤-反向洗涤-浓缩处理的操作程序, 须重复进行两次以上, 然后再再在蒸馏水中进行 3 轮分离过滤-反向洗涤-浓缩处理的操作程序。经最后一次操作之后, 将该系统的导管和滤膜筒沥干以除去残留的重碳酸铵。然后将该耦合物溶液从反应容器中取出, 用水稀释成约为 2 毫克/毫升, 随后进行冻干处理, 以进一步除去或升华残留的重碳酸铵。据检测, 耦合物的产率为 1.4 克。

对该耦合物进行高压气相层析技术检测分析, 发现仅有单一的峰, 表明其达到

了同质性。相反，采用以往的操作方法产生的轭合物，在高压气相层析法分析时，则其纯度不佳，其中大约含有 3 个不同的峰。此外，本实例进行合成的时间，仅需 1.5 天就可完成，大大少于采用过去的操作方法进行合成所化的 3 天时间。

无论是轭合处理还是纯化处理，本发明的方法所采用的免疫原组分，可以具有不同的类型，例如，固态、半固态、和液态等剂型，例如，粉剂、溶液、悬浮液、栓剂、以及可注射性和浸渍性溶液。这类组成制剂都含有现有的各种免疫原以及适用的药物学上可承受的各种成分，其中可包括：其他各种医用物质、载体、佐剂、赋形剂，等。适用的佐剂包括(但不限于)，非胞莨酸基二肽(nor-MDP, Peninsula 实验公司，加利福尼亚州)，以及油类，例如，Montanide ISA 703 (Seppic 公司，法国，巴黎)。这类材料都可采用标准操作程序进行混合。

在本发明的另一项实例中，其治疗方法包括，被动免疫处理方法，其抗 G17 的抗体以足够的浓度施用于患者，以减少进入血行循环的非结合型 G17 水平。由于施用抗 G17 抗体而减少患者循环血行中的游离 G17 和 G17-Gly 的水平，就可抑制隐秘性或微型转移性肿瘤细胞的生长。用于施行被动性免疫治疗的抗 G17 抗体可以例如，用实施例 1 的各种免疫原对宿主进行免疫处理，热情浓厚利用各种标准方法例如，制备式亲和层析法，从该宿主的血清中分离出抗 G17 抗体。可选择的供被动性免疫治疗用的抗 G17 抗体还有，采用本领域的技术人员都已经熟知的各种生物技术方法制备的嵌合型、人性化或人型单克隆等类型的抗体。

本发明还涉及对于患者施行对胃泌素受体如，CCK-B/胃泌素受体的主动和/或被动免疫处理，对肺脏、肝脏和食管的癌症和/或癌症前期症状进行治疗和/或预防的措施。可以单独采用对 CCK-B/胃泌素受体进行免疫处理，也可以结合对于胃泌素本身施行免疫处理。在美国申请系列号 09/076,372 中，已经详细披露了有关可产生抗 CCK-B/胃泌素受体的治疗用抗体的各种免疫原的生产方法。在此已经全文引用作为参考文献。本分明的供被动性免疫除了用的抗体，可以采用药学上可接受的载体例如，生理盐水溶液，如，磷酸盐缓冲的生理盐水溶液制备，对患者施行静脉内注射，或者以其他任何方法施用。

实施例 5

如美国申请系列号 09/076,372 所述，由取自 CCK-B/胃泌素受体的一种肽成分，与一种免疫原性载体物质轭合，可用于在施行免疫处理的宿主体内，对于 CCK-B/胃泌素受体产生抗体反应。例如，免疫原性肽片段 KLNRSVQGTGPGPGASL(序列表中的 SEQ ID NO:7，与 CCK-B/胃泌素受体序列中的 5-21 氨基酸相当)，或

GPGAHRALSGAPISF(序列表中的 SEQ ID NO:8, 相当于 CCK-B/胃泌素受体的细胞外第四区域), 都可用于诱导这类反应。在本发明的一个实例中, 这些免疫原性肽类还包括一个羧基终端分隔体肽序列, 例如, SSPPPPC(序列表中的 SEQ ID NO:6)。这种免疫原性载体可以例如, 从白喉类毒素、破伤风类毒素、和牛血清白蛋白中选出。在本发明的一项实例中, CCK-B/胃泌素受体的带有分隔体的各种免疫原性肽类, 可以与本项目的实例 1 所述的同样方式, 与免疫原性载体白喉类毒素进行耦合。

该免疫原性成分在用于治疗胃肠道癌症方面, 对于患者施用的有效剂量范围为 0.001-10 毫克。在本发明的另一项实例中, 施用剂量为 0.001-2 克。从患者的血液样本中还可监控对于受体的抗体效价水平。为维持有效的抗体效价, 可进行若干次强化免疫处理。

供被动免疫治疗用的抗 CCK-B/胃泌素受体的抗体, 也可以采用 CCK-B/胃泌素受体的免疫原性肽成分对宿主施行免疫处理, 或者采用本领域技术人员所知的其他方法进行生产。

本发明的下述各项实例, 都涉及对于患者施行对 G17 胃泌素和/或 CCK-B/胃泌素受体的主动和/或被动免疫处理。

本发明的一项实例主要涉及预防癌症向肝脏转移的问题。例如, 关于患者面临肝脏发生肿瘤转移的风险问题, 例如对于一例患有胃肠道恶变病情的患者, 施行对 G17 胃泌素和/或 CCK-B/胃泌素受体的主动和/或被动免疫处理。本发明的另一项实例是着眼于对肺脏转移性癌症的预防措施。例如, 患者面临肺脏发生转移性肿瘤的问题。例如对于一例患有胃肠道恶变病情的患者, 施行对 G17 胃泌素和/或 CCK-B/胃泌素受体的主动和/或被动免疫处理。

本发明的还有一项实例是关于对肝癌(或者是肝脏本身的内源性癌症, 或者是来自身体其他部位在肝脏中的转移性癌症)的治疗措施。本发明的类似的一项实例涉及对于肺脏癌症(或者是肺脏本身起源的癌症, 或者是来自身体其他部位在肺脏中的转移性癌灶)的治疗措施。本发明另外还有一项实例关注于对食管癌症(或者是食管本身内部起源的癌症, 或者是来自身体其他部位在食管中的转移性病灶)的治疗问题。

在相关的一项实例中, 采用了综合性(同时或顺次)的治疗措施, 包括采用紫杉烷, 例如, 多西他赛(Taxotere)或紫杉醇(Taxol), 结合施行对 G₁₇ 胃泌素和/或 CCK-B/胃泌素受体的主动和/或被动免疫处理。根据本发明的要求, 对于非小细胞性肺癌, 除了施行对胃泌素和/或胃泌素受体的免疫处理之外, 还可采用每 3 周一次经静脉内用 1-1000 毫克/米²的多西他赛或紫杉醇施行治疗。在本发明的另一项

实例中, 采用联合治疗措施, 包括施用铂类化合物, 例如, 顺铂、卡铂或草酰铂(oxaloplatin), 结合施行对 G_{17} 胃泌素和/或 CCK-B/胃泌素受体的主动和/或被动免疫处理。本发明还提供了对于肝癌和食管癌症的治疗, 以及对于肝脏、肺脏或食管的癌症前期症状进行治疗的这类联合治疗措施。对于可以单独或多元组合与本发明的免疫处理配伍施用的各种化疗药剂包括(但不限于), 伊立替康、托泊替康、5-氟尿嘧啶+甲氧四氢叶酸、以及吉西他滨。

本发明的另外一项实例, 是着眼于对一种前恶变(癌症前期)症状, 慢性消化性溃疡性食管炎的治疗措施。本发明的一项相关性实例, 主要关注于预防或延缓慢性消化性溃疡性食管炎的进展演变为癌症状态,。例如, 腺癌。

参考文献

1. Watson SA 等, 抗血清可提高抗缩胆囊肽 B/胃泌素受体的表位的能力而抑制人结肠癌对肝脏的侵害。Clin Cancer Res 2000 年 12 月; 6(12):4719-24。
2. Rehfeld JF, 在人血清中的胃泌素的三种成分, Biochim. Biophys. Acta., 285:364-372, 1972。
3. Upp JR, Singh S, Townsend CM, 和 Thompson JC, 人结肠癌中胃泌素的临床意义。Cancer Res., 49:488-492, 1989。
4. Hoosein NW, Kiener PA, Curry RC, 和 Brattain MC, 胃泌素/缩胆囊肽样肽对于培育的结肠肿瘤细胞的自泌性生长促进作用的依据, Exptl. Cell Res., 186:15-21, 1990。
5. Baldwin GS, 和 Zhang Q-X, 利用定量聚合酶链式反应法对于结肠癌症细胞系中的胃泌素以及一种信使 RNA 变异生长因子水平的测定, Cancer Res., 52:2261-2267, 1992。
6. Finley GG, Koski RA, Melham MF, Pipas JM, 和 Meisler AI, 在正常人结肠以及结肠直肠腺癌中胃泌素基因的表达。Cancer Res., 53:2919-2926, 1993。
7. Watson SA, Durrant LG, Wencyk PM, Watson AL, 和 Morris DL, 人胃肠道肿瘤细胞中的细胞内胃泌素。J. N. C. I., 83:866-872, 1991。
8. Hoosein NM, Kiener PA, 和 Curry RC, 在人结肠癌细胞系中的胃泌素受体的各种拮抗物以及对胃泌素的各种抗体的抗增殖作用。Cancer Res., 48:7179-7183, 1988。
9. Van-Solinge WW, Nielsen FC, Friis-Hansen L, Falkmer UG 和 Rehfeld JF, 在结肠直肠癌症中的前胃泌素的不完全成熟的表达。Gastroenterology,

104:1099-1107, 1993。

10. Nemeth J, Taylor B, Pauwels S, Varro A, 和 Dockray GJ, 在结肠直肠癌症的提取物中前胃泌素产生的各种肽类的鉴定。Gut, 34:90-95, 1993。

11. Seva C, Dickinson CI, 和 Yamada T, 甘氨酸扩展的前胃泌素的生长促进作用。Science, 265:410-412, 1994。

12. Bock MG, DiPardio RM, Evans BE, Rittle KE, Whitter A, Veber D, Anderson E. 和 Freidinger A, 苯并二氮杂草、胃泌素和脑缩胆囊肽:L-365,260, J. Med. Chem., 32:13-17 1989。

13. Hughes J, Boden P, Costall B, Domeney A, Keiiy E, Horwell DC, Hunter JC, Pinnock RD, 和 Woodruff GN, 一类具有强力抗焦虑作用活性的选择性缩胆囊肽型受体拮抗物的研制。Proc. Natl. Acad. Sci., 87:6728-6732, 1990。

14. Watson SA, Durrant LG, Elston P, 和 Morris DL, 胃泌素拮抗物(L-365,260)对于胃肠道肿瘤细胞的抑制作用, Cancer,

15. Romani R, Howes LG, 和 Morris DL, 在活体外和在体内对于人结肠直肠癌细胞系具有强效作用的胃泌素受体拮抗物(GRAs)新族的生产。PROCS. AACR 35:397(摘要), 1994。

16. Makishimi R, Larkin P, Michaeli D, 和 Gaginella TS, 拮抗具有N-终端产生的免疫原的胃泌素-17 的主动免疫处理对于大鼠的胃和十二指肠病变的抑制作用。Gastroenterology, 106:A824, 1994。

17. Martin F, Caignard A, Jeannin J-F, Leclerc A, 和 Martin M., 可形成进行性或退行性肿瘤的2个亚系的大鼠癌症细胞的胰蛋白酶选择作用。Int. J. Cancer, 32:623-627, 1989。

18. Ohning GV, Wong HC, 和 Walsh JH, 在大鼠中胃泌素单克隆抗体及其抗原结合片段-1(F ab₁)对于血行中的胃泌素的免疫中和作用的动力学差异。Peptides, 15:417-423, 1994。

19. Dickinson CJ, 胃泌素对于结肠癌症的调理作用的相互关系。Gastroenterology, 109:1384-1388, 1995。

20. Ciccotosto GD, McLeish A, Hardy KJ, 和 Shulkes A, 在结肠直肠癌患者中胃泌素的表达、形成和分泌过程。Gastroenterology, 109:1142-1153, 1995。

21. Kameyama M, Nakamori S, Imaoka S, Yasuda T, Nakano H, Ohigashi H, Hiratsuka M, Sasaki T, Kabuto H, 和 Ishikawa O, 在结肠直肠癌的肝脏转移灶切除术之后采用胃泌素拮抗物施行辅助性化学内分泌化学疗法。Gan. To. Kagaku

Ryoho(日本), 21(13):2169-2171, 1994。

22. Smith JP, wood JG, Solomon, Travis E, 患有结肠癌症或腺瘤样息肉的患者中胃泌素含量增高现象。34(2):171-174, 1989。

23. Wong K, Beardshall K, water CM, Calam J, GJ Poston, 在结肠直肠癌患者中的饮食后高胃泌素血症现象。32:1352-1354, 1991。

24. Seitz, Jean-Francois, Giovannini, Marc, Gouvernet, Joary, Gauthier, Andre P, 在结肠直肠赘生物患者的血清中胃泌素水平增高的现象。13(5):541-5, 1991。

25. Goletti 等, 肝脏胃泌素瘤切除术导致真性胃泌素血症现象。Eur. J. Surgery, 158:55-57, 1992。

26. Katoh 等, 恶性三联综合征(佐林格-埃利森综合征)。施行原发性肿瘤胃切除术之后的肝转移灶的稳定性。

27. De Jong 等, 部分肝脏切除对于肿瘤生长的作用。肝病学, 25:109-121, 1996。

28. Scheel 等, 肝脏切除之后对于结肠直肠癌预后过程的指标。Surgery, 110(1):13-29, 1991。

29. Vauthey 等, 肝脏切除之后对于肝细胞癌症长远后果的影响。Am. J. Surgery, 169:28-35, 1995。

30. Hannanel 等, 对于结肠直肠的肝转移灶的肝脏切除。Am. Surgeon, 61(5):444-447, 1995。

31. Slooter 等, 部分肝脏切除术后施行甲型肿瘤坏死因子治疗有可能减少肿瘤生长促进作用。

32. Gutman 等, 在发生肝脏再生长的裸小鼠中人结肠癌细胞的生长过程加速现象。Invasion and Metastasis. 14(1-6):362-371, 1994-95。

33. Ballantyne 等, 对于结肠直肠癌患者中肝脏转移灶的外科治疗措施。Cancer, 71(12):4252-4266, 1993。

34. Leith 等, 部分肝脏切除术对于外植体 DLD-2 人结肠癌的生长特性以及组织缺氧性部分的作用。Radiation Res., 132(2):263-268, 1992。

35. Matsumata 等, 在大鼠中经过肝脏切除之后在肝脏再生过程的肿瘤转移现象初报。Eur. J. Surg. Oncol., 21(2):188-190, 1995。

36. Vaillant 等, 对于复发性结肠直肠转移灶的重复性肝脏切除措施。British J. Surgery, 80(3):340-344, 1993。

37. Mizutani 等, 在大鼠中施行肝脏切除对于肝脏转移现象的促进作用。British J.Cancer, 65(6):794-797, 1992。
38. Ledda-Columbano 等, 补偿性再生现象, 丝裂素诱导性肝脏生长, 以及多阶段化学致癌过程。Env.Health Persp., 10(5):163-168, 1993。
39. Gocyk 等, 肺癌中的幽门螺杆菌、胃泌素以及环氧酶-2。Med Sci Montior 11-12 月; 6(6):1085-1092, 2000。
40. Reddy AA, 小细胞性肺癌:改善后果。美国医疗放射学和肿瘤学学会(American Society for Therapeutic Radiology and Oncology)第 42 届年会—第 1 天, 10 月 22 日, 2000, 会议报告由 Medscape 发表。
41. EansTL, 对于陈旧性非小细胞肺癌的化学疗法。美国临床肿瘤学学会第 37 届年会—第 1 天, 5 月 22 日, 2001。会议报告由 Medscape 发表。
42. Fennerty MB 关于巴雷特食管的最新进展。消化性疾病周, 2001-第 3 天, 5 月 22 日, 2001。会议报告由 Medscape 发表。
43. Capline M 等, 在肝细胞癌、fibromellar 癌以及胆管癌中胃泌素的表达和产生。J.Hepatol, 1999 年 5 月; 30(3):519-26。

<110> 埃弗顿有限公司 (Apton Corporation)

<120> 治疗和预防肝脏、肺脏和食道的癌症和癌症前期症状

<130> 1102865-0057

<150> US 60/303,868

<151> 2001-07-09

<160> 8

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1).. (1)

<223> Xaa=焦谷氨酸

<400> 1

Xaa Gly Pro Trp Leu Glu Arg Pro Pro Pro Pro Cys
1 5 10

<210> 2

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1).. (1)

<223> Xaa=焦谷氨酸

<400> 2

Xaa Gly Pro Trp Leu Arg Pro Pro Pro Pro Cys
1 5 10

<210> 3
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> Xaa=焦谷氨酸

<400> 3
Xaa Gly Trp Arg Pro Pro Pro Cys
1 5

<210> 4
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> Xaa=焦谷氨酸

<400> 4
Xaa Gly Pro Trp Leu Glu Glu Glu Glu Ser Ser Pro Pro Pro Cys
1 5 10 15

<210> 5
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 假定的间隔区肽

<400> 5
Arg Pro Pro Pro Pro Cys
1 5

<210> 6
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 假定的间隔区肽

<400> 6
 Ser Ser Pro Pro Pro Pro Cys
 1 5

<210> 7
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 7
 Lys Leu Asn Arg Ser Val Gln Gly Thr Gly Pro Gly Pro Gly Ala Ser
 1 5 10 15

Leu

<210> 8
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 8
 Gly Pro Gly Ala His Arg Ala Leu Ser Gly Ala Pro Ile Ser Phe
 1 5 10 15