



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110753551 A

(43)申请公布日 2020.02.04

(21)申请号 201880039068.7

(74)专利代理机构 北京市金杜律师事务所

(22)申请日 2018.06.19

11256

(30)优先权数据

代理人 陈文平 徐志明

62/522,335 2017.06.20 US

(51)Int.Cl.

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

A61K 35/17(2006.01)

2019.12.12

A61P 35/00(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2018/038308 2018.06.19

(87)PCT国际申请的公布数据

W02018/236887 EN 2018.12.27

(71)申请人 南克维斯特公司

地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 H·克林格曼 T·李

L·博伊赛尔

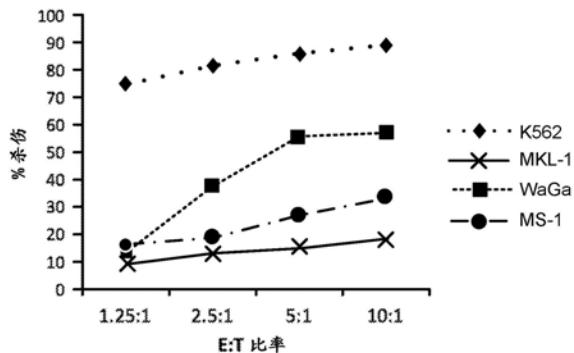
权利要求书1页 说明书9页 附图1页

(54)发明名称

使用NK-92细胞治疗梅克尔细胞癌(MCC)的方法

(57)摘要

本文提供了治疗梅克尔细胞癌的方法。该方法包括选择患有梅克尔细胞癌的受试者，并向该受试者施用治疗有效量的NK-92细胞，其中所述施用治疗该受试者中的梅克尔细胞癌。



1. 一种治疗受试者中梅克尔细胞癌的方法,其中所述方法包括:
 - (a) 选择患有梅克尔细胞癌的受试者;
 - (b) 向所述受试者施用治疗有效量的NK-92细胞,其中所述施用治疗所述受试者中的梅克尔细胞癌。
2. 如权利要求1所述的方法,其中所述受试者先前已接受放射疗法、手术、化学疗法、抗-PD-1疗法或其任何组合。
3. 如权利要求1或2所述的方法,其中所述梅克尔细胞癌是转移性的。
4. 如权利要求1-3中任一项所述的方法,其中向所述受试者施用 1×10^3 至 $1 \times 10^{10}/\text{m}^2$ 的所述NK-92细胞。
5. 如权利要求1-3中任一项所述的方法,其中向所述受试者施用 $2 \times 10^9/\text{m}^2$ 的所述NK-92细胞。
6. 如权利要求1-5中任一项所述的方法,其中所述NK-92细胞肠胃外施用。
7. 如权利要求1-5中任一项所述的方法,其中所述NK-92细胞静脉内施用。
8. 如权利要求1-5中任一项所述的方法,其中所述NK-92细胞肿瘤周施用。
9. 如权利要求1-8中任一项所述的方法,其中所述NK-92细胞通过一段时间内的输注施用于所述受试者。
10. 如权利要求9所述的方法,其中所述时间在5至130分钟之间。
11. 如权利要求9所述的方法,其中所述时间在90至120分钟之间。
12. 如权利要求9所述的方法,其中所述时间在15至30分钟之间。
13. 如权利要求1-12中任一项所述的方法,其中所述梅克尔细胞癌是由梅克尔细胞多瘤病毒引起的。
14. 如权利要求1-12中任一项所述的方法,其中所述梅克尔细胞癌不是由梅克尔细胞多瘤病毒引起的。
15. 如权利要求1-14中任一项所述的方法,其中所述受试者中的梅克尔细胞癌对化学疗法具有抗性。
16. 如权利要求1-15中任一项所述的方法,其中所述NK-92细胞每天向所述受试者施用一次,持续1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20天或更多天。
17. 如权利要求1-15中任一项所述的方法,其中所述NK-92细胞以每天一次持续两天的周期施用。
18. 如权利要求17所述的方法,其中所述NK-92细胞以1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个周期施用。

使用NK-92细胞治疗梅克尔细胞癌(MCC)的方法

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求于2017年6月20日提交的美国临时申请号62/522,335的优先权。该临时申请的全部内容通过引用合并且用于所有目的。

背景技术

[0003] MCC是一种罕见的但日益普遍的侵袭性皮肤癌(在美国,每100,000人-年0.79例(Fitzgerald,等,Am.Surg.81:802-6(2015)),且该疾病的发病率在过去的15年中翻了三倍(Banks,等,J Oncol Pract.12:637-46(2016))。MCC最初提出源自于梅克尔细胞(Merkel cell),其是皮肤的慢适应机械感受器;但是,肿瘤细胞的来源仍然知之甚少,且多能干细胞和表皮角质形成细胞样细胞可能产生癌细胞(Tilling和Moll,J Skin Cancer.2012:680410(2012))。MCC在白种人、大于65岁的个体、男性和患有获得性(例如,HIV感染)或医源性免疫抑制(例如,由于自身免疫性疾病的治疗)的患者中更为常见(Becker,Ann Oncol.21 Suppl 7:vii81-5(2010))。紫外线暴露是该疾病的独立风险因素,且可能导致MCC发病率上升。

[0004] 局限于皮肤的MCC预后良好,并且通常可以通过单独的手术治愈。呈现局部疾病的患者的5年总生存率(OS)为66%(肿瘤小于2厘米)和51%(肿瘤大于2厘米)。转移性MCC的预后要差得多,涉及局部淋巴结的患者的五年OS为39%,转移至远处器官的患者为18%(Lemos等,J Am Acad Dermatol.63:751-61(2010))。疾病分期、位置(会阴和下肢)、男性、高龄(>60岁)、免疫抑制、共病因素、高有丝分裂率和血管淋巴管侵入与预后不良相关(Becker,Ann Oncol.21 Suppl 7:vii81-5(2010);和Miller等,Curr Treat Options Oncol.14:249-63(2013))。

[0005] 手术切除是MCC治疗的基础,其目标是通过宽的局部切除来确定清晰的手术切缘。I/II期MCC患者的原发瘤床的辅助放疗已显示改善OS(Bhatia等,J Natl Cancer Inst.108(2016));同一研究报告,III期疾病患者的全身化疗或放疗均不能改善OS(Bhatia等,J Natl Cancer Inst.108(2016)),尽管其他研究表明化疗可提高晚期MCC患者的生存率(Poulsen,J Clin Oncol.21:4371-6(2003))。

[0006] 细胞毒性化疗通常用于治疗转移性MCC。少数接受化疗的患者对治疗反应良好,但反应通常是短暂的,且很少导致生存时间显著增加(Iyer等,Cancer Med.(2016))。对于晚期局部区域疾病的患者,用依托泊昔和卡铂的辅助治疗并不与OS益处相关(Poulsen等,Int J Radiat Oncol Biol Phys.64:114-9(2006))。一些研究表明,在患有转移性MCC的患者中使用细胞毒性化疗(依托泊昔-卡铂和环磷酰胺-阿霉素-长春新碱-泼尼松是最常用的)具有高的客观抗肿瘤反应(>50%)(Voog,Cancer.85:2589-95(1999));但是,这些反应很少是持久的,中值OS为9个月。此外,高的化学毒性死亡率与一线治疗相关。目前,存在有限的数据来指导有关化学疗法和放射疗法的治疗决策,并且常常基于共病和不良事件的考虑来做出决策(Lebbe等,Eur J Cancer.51:2395-403(2015))。

[0007] 有限数量的研究已经调查了针对晚期MCC的靶向疗法的疗效。在2期临床研究中,

酪氨酸激酶抑制剂伊马替尼的治疗(23名患者)产生了一种部分反应(Samlowski等,Am J Clin Oncol.,33:495-9(2010);和Shah等,Am J Clin Oncol.32:174-9(2009))和Bcl-2反义寡核苷酸G3139的治疗(12名患者)未产生任何客观反应(Samlowski等,Am J Clin Oncol.,33:495-9(2010);和Shah等,Am J Clin Oncol.32:174-9(2009))。

[0008] 在1期研究中,在30名患有晚期实体肿瘤的患者中评估了派姆单抗(pembrolizumab),一种抗-PD1治疗性抗体。参与该研究的患有MCC的单个患者具有在文章发表时(100+周)仍持续的完全反应(Patnaik等,Clin Cancer Res.21:4286-93(2015))。

[0009] 在最近的一项专门针对MCC的2期临床研究中,25名晚期MCC患者接受了至少一剂派姆单抗并进行治疗反应的评估(Nghiem,N Engl J Med.374:2542-52(2016))。所有患者均具有远处转移的或局部复发的MCC,其不适合进行确定性手术或放疗。每三周以2mg/kg的剂量静脉施用派姆单抗,并且治疗持续最长2年,或直到出现完全反应、进行性疾病或剂量限制性毒性作用。本研究的客观反应率为56%,其中4名患者显示出完全反应,且10名患者显示出部分反应。在表现出客观反应的患者中,反应持续时间的范围从最小的至少2.2个月至最大的至少9.7个月的持续时间。反应在MCV-阳性肿瘤(16名患者中的10名)和MCV-阴性肿瘤(9名患者中的4名)中观察到。在4名患者中观察到3级或4级的治疗相关的不良反应事件,其中最严重的AE包括心肌炎以及天冬氨酸和丙氨酸转氨酶水平升高。

[0010] 当前的MCC治疗是无效、部分有效的或导致不良副作用。因此,需要MCC的其他治疗方法。

发明内容

[0011] 本文提供了治疗梅克尔细胞癌的方法。该方法包括选择患有梅克尔细胞癌的受试者,并向该受试者施用治疗有效量的NK-92细胞,其中该施用治疗该受试者中的梅克尔细胞癌。

附图说明

[0012] 图1是显示NK-92细胞在4小时对梅克尔细胞癌细胞系的细胞毒性作用的图。

[0013] 图2是显示NK-92细胞在24小时对梅克尔细胞癌细胞系的细胞毒性作用的图。

具体实施方式

[0014] 由于这种癌症的病毒起源,免疫疗法可能是用于研究治疗梅克尔细胞癌的有希望的途径。本文提供了治疗梅克尔细胞癌的方法。该方法包括选择患有梅克尔细胞癌的受试者,并向该受试者施用治疗有效量的NK-92细胞,其中该施用治疗该受试者中的梅克尔细胞癌。

[0015] NK-92细胞系是人类IL-2-依赖性NK细胞系,该细胞系是从被诊断患有非Hodgkin淋巴瘤的50岁男性的外周血单核细胞(PBMC)建立的(Gong等,Leukemia.8:652-8(1994))。NK-92细胞特征在于在没有CD3、CD8和CD16的情况下表达CD56^亮和CD2。CD56^亮/CD16^{neg/低}表型对于外周血的小NK细胞亚群是典型的,其具有作为细胞因子产生者的免疫调节功能。与正常NK细胞不同,NK-92缺乏大多数杀伤细胞抑制剂受体(KIR)的表达(Maki等,J Hematother Stem Cell Res.10:369-83(2001))。在NK-92的表面上仅检测到KIR2DL4,一种由所有NK细

胞表达的具有激活功能和抑制潜能的KIR受体。KIR2DL4被认为通过与HLA等位基因G结合来介导抑制作用(Suck,Cancer Immunol.Immunother.65 (4) :485–92 (2015))。NK-92细胞的细胞毒性杀伤的主要途径是通过穿孔素/酯酶途径;NK-92表达高水平的穿孔素和颗粒酶B(Maki等,J Hematother Stem Cell Res.10:369–83 (2001))。

[0016] NK-92细胞具有非常宽的细胞毒性范围,并且对源自血液系统恶性肿瘤和实体肿瘤的细胞系具有活性(Klingemann,Blood,87 (11) :4913–4 (1996);Swift,Hematologica.97 (7) :1020–8 (2012);Yan等,Clin Cancer Res.4:2859–68 (1998))。在严重联合免疫缺陷(SCID)小鼠中的安全性评估未显示NK-92治疗相关的作用,例如急性毒性或长期致癌性(Tam等,J Hematother.8:281–90 (1999),Yan等,Clin Cancer Res.4:2859–68 (1998))。将NK-92细胞施用于用人白血病细胞激发的小鼠或人黑色素瘤小鼠模型导致存活率提高并抑制肿瘤生长,包括部分小鼠肿瘤的完全消退(Tam等,J Hematother.8:281–90 (1999),Yan等,Clin Cancer Res.4:2859–68 (1998))。一期临床试验已证实其安全性特征。NK-92细胞系的特征描述公开在WO 1998/49268和美国专利申请公开号2002-0068044中,其通过引用整体并入本文。

[0017] 本文提供了治疗受试者的梅克尔细胞癌的方法。该方法包括选择患有梅克尔细胞癌的受试者,并向该受试者施用治疗有效量的NK-92细胞,其中施用治疗该受试者中的梅克尔细胞癌。任选地,受试者先前已接受放射疗法、手术、化学疗法、抗-PD-1疗法或其任何组合。任选地,梅克尔细胞癌是转移性的。任选地,梅克尔细胞癌是由梅克尔细胞多瘤病毒引起的。任选地,梅克尔细胞癌不是由梅克尔细胞多瘤病毒引起的。任选地,受试者中的梅克尔细胞癌对化学疗法具有抗性。

[0018] 如本文所用,术语“癌症”是指在哺乳动物中发现的所有类型的癌症、赘生物或恶性肿瘤,其中包括白血病、癌瘤和肉瘤。示例性癌症包括脑癌、乳腺癌、宫颈癌、结肠癌、头颈癌、肝癌、肾癌、肺癌、非小细胞肺癌、黑素瘤、间皮瘤、卵巢癌、肉瘤、胃癌、子宫癌和髓母细胞瘤。其他例子包含Hodgkin病、非Hodgkin淋巴瘤、多发性骨髓瘤、神经母细胞瘤、卵巢癌、横纹肌肉瘤、原发性血小板增多症、原发性巨球蛋白血症、原发性脑肿瘤、癌症、恶性胰腺胰岛瘤、恶性类癌、膀胱癌、癌前皮肤病变、睾丸癌、淋巴瘤、甲状腺癌、神经母细胞瘤、食道癌、泌尿生殖道癌、恶性高钙血症、子宫内膜癌、肾上腺皮质癌、内分泌和外分泌胰腺肿瘤以及前列腺癌。

[0019] 如本文所用,术语“梅克尔细胞癌”是指皮肤的神经内分泌癌。它也被称为皮肤APUDoma、皮肤原发性小细胞癌和皮肤小梁癌。术语“梅克尔细胞癌”包括由梅克尔细胞多瘤病毒引起的梅克尔细胞癌以及其他起源引起的梅克尔细胞癌。

[0020] 如本文所用,术语“转移”,“转移性”和“转移性癌症”可以互换使用,并且是指增殖性疾病或病症(例如,癌症)从一个器官或另一不相邻器官或身体部分的扩散。癌症发生在起源部位,例如乳腺,该部位称为原发肿瘤,例如原发性乳腺癌。原发肿瘤或起源部位中的某些癌细胞获得穿透和渗透局部区域中的周围正常组织的能力和/或穿透淋巴系统或血管系统的壁从而通过该系统循环到达体内其他部位和组织的能力。由原发性肿瘤的癌细胞形成的次生的临幊上可检测的肿瘤称为转移性或继发性肿瘤。当癌细胞转移时,推测转移性肿瘤及其细胞与原始肿瘤和细胞相似。因此,如果肺癌转移到乳腺,则乳腺部位的继发性肿瘤由异常的肺细胞而不是异常的乳腺细胞组成。乳腺中的继发性肿瘤被称为转移性肺癌。

因此,短语转移性癌症是指其中受试者患有或曾患有原发性肿瘤并具有一个或多个继发性肿瘤的疾病。短语非转移性癌症或患有非转移性的癌症的受试者是指其中受试者患有原发性肿瘤但没有一个或多个继发性肿瘤的疾病。例如,转移性肺癌是指患有原发性肺肿瘤或具有原发性肺肿瘤病史并且在第二位置或多个位置(例如在乳腺中)具有一个或多个继发性肿瘤的受试者中的疾病。

[0021] 如本文所用,“处理”或“治疗”病状、疾病或病症或者与病状、疾病或病症相关的症状是指用于获得有益或期望的结果(包含临床结果)的方法。有益或期望的临床结果可包括但不限于减轻或改善一种或多种症状或病状,减轻病状、病症或疾病的程度,稳定病状、病症或疾病的状态,预防病状、病症或疾病的发生,预防病状、病症或疾病的传播,延迟或减慢病状、病症或疾病的进展,延迟或减缓病状、病症或疾病的发作,改善或缓解病状、病症或疾病的状态,以及消退,无论是部分还是完全。“治疗”也可以意味着延长受试者的生存期使其超出未进行治疗时的预期生存期。“治疗”还可以意指抑制病状、病症或疾病的进展,暂时减缓病状、病症或疾病的进展,尽管在某些情况下,它涉及永久停止病状、病症或疾病的进展。如本文所用,术语疗法、治疗或处理是指减少以蛋白酶表达为特征的疾病或病状的一种或多种症状的影响或减轻以蛋白酶表达为特征的疾病或病状的症状的方法。因此,在所公开的方法中,治疗可以指已确立的疾病或病状或者疾病或病状的症状的严重性降低10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%。例如,如果与对照相比,受试者的疾病的一种或多种症状减轻10%,则认为疾病的处理方法为疗法。因此,减轻可以是与天然或对照水平相比10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%,或10%和100%之间的任何百分比的减轻。应当理解,治疗不一定是指治愈或完全消除疾病、病状或者疾病、病状的症状。此外,如本文所用,涉及减少、减轻或者抑制包括与对照水平相比10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更大的变化,并且此类术语可以包括但不限于完全消除。

[0022] 术语“受试者”、“患者”、“个体”等不意图是限制性的,并且通常可以互换。即,被描述为患者的个体不一定患有给定的疾病,而可能仅仅是寻求医疗建议。如通篇所用,受试者可以是脊椎动物,更具体地说哺乳动物(例如人、马、猫、狗、奶牛、猪、绵羊、山羊、小鼠、兔、大鼠和豚鼠)、鸟类、爬行动物、两栖动物、鱼类和其他任何动物。该术语不表示特定的年龄或性别。因此,意在覆盖成人和新生儿受试者,无论是雄性还是雌性。如本文所使用的,患者、个体和受试者可以互换使用,并且这些术语不意在限制性的。即,被描述为患者的个体不一定患有给定的疾病,而可能仅在寻求医疗建议。术语患者或受试者包含人类和兽医受试者。

[0023] 如本文所用,“施用”或“给予”是指通过任何合适的途径提供、接触和/或递送一种或多种化合物以实现期望的效果。施用可包括但不限于口服、舌下、肠胃外(例如静脉内、皮下、皮内、肌肉内、关节内、动脉内、滑膜内、胸骨内、鞘内、病灶内或颅内注射)、经皮、局部、口腔、直肠、阴道、鼻腔、眼睛、经吸入和植入。任选地,肠胃外施用NK-92细胞。任选地,静脉内施用NK-92细胞。任选地,NK-92细胞肿瘤周施用。

[0024] 可以通过多种途径将NK-92细胞施用于受试者。例如,可以在一段时间内通过输注(例如,静脉内输注)将NK-92细胞施用于受试者。通常,对于单剂量的NK-92细胞,时间为5至130分钟。任选地,时间在90到120分钟之间。任选地,时间在15到30分钟之间。

[0025] NK-92细胞和任选的其他抗癌剂可以对患有癌症的患者施用一次,可以施用多次,例如,每1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22或23小时一次,或每1、2、3、4、5、6或7天一次,或治疗期间每1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多周一次,或任意两个数字之间的任意范围(包含端点)。因此,例如,可以每天向受试者施用NK-92细胞一次,持续1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多天。任选地,以每天一次持续两天的周期施用NK-92细胞。然后,该周期之后一或多个小时、天或周不进行NK-92细胞治疗。如本文所用,术语“周期”是指以规律的时间表重复的治疗,其间有休息期(例如,没有治疗或用其他药物治疗)。例如,给予一个周然后休息两周的治疗是一个治疗周期。这样的治疗周期可以重复一次或多次。因此,可以以1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多的周期施用NK-92细胞。

[0026] NK-92细胞可以按照绝对细胞数量施用于受试者,例如,所述受试者可以施用约1000个细胞/注射至多达约100亿个细胞/注射,例如,每次注射约、至少约或至多约 1×10^{10} 、 1×10^9 、 1×10^8 、 1×10^7 、 5×10^7 、 1×10^6 、 5×10^6 、 1×10^5 、 5×10^5 、 1×10^4 、 5×10^4 、 1×10^3 、 5×10^3 (等等)个NK-92细胞,或者任意两个数字之间的任意范围(包含端点)。任选地,将 1×10^8 至 1×10^{10} 个细胞施用于受试者。任选地,每周一次或多次施用细胞,持续一周或多周。任选地,每周一次或两次施用细胞,持续1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多周。

[0027] 任选地,向受试者施用约1000个细胞/注射/ m^2 至多达约100亿个细胞/注射/ m^2 ,例如,每次注射施用约、至少约或至多约 $1 \times 10^{10}/m^2$ 、 $1 \times 10^9/m^2$ 、 $1 \times 10^8/m^2$ 、 $1 \times 10^7/m^2$ 、 $5 \times 10^7/m^2$ 、 $1 \times 10^6/m^2$ 、 $5 \times 10^6/m^2$ 、 $1 \times 10^5/m^2$ 、 $5 \times 10^5/m^2$ 、 $1 \times 10^4/m^2$ 、 $5 \times 10^4/m^2$ 、 $1 \times 10^3/m^2$ 、 $5 \times 10^3/m^2$ (等等)NK-92细胞,或任意两个数字之间的任何范围(包含端点)。任选地,向受试者施用 1×10^3 至 $1 \times 10^{10}/m^2$ 的NK-92细胞。任选地,向受试者施用 $2 \times 10^9/m^2$ NK-92细胞。

[0028] 任选地,NK-92细胞可以按照相对细胞数量向这样的个体施用,例如,所述个体可以施用每千克个体约1000个细胞至多达约100亿个细胞,例如,每千克个体约、至少约或至多约 1×10^{10} 、 1×10^9 、 1×10^8 、 1×10^7 、 5×10^7 、 1×10^6 、 5×10^6 、 1×10^5 、 5×10^5 、 1×10^4 、 5×10^4 、 1×10^3 、 5×10^3 (等等)个NK-92细胞,或任意两个数字之间的任意范围(包含端点)。

[0029] 任选地,总剂量可以通过体表面积的 m^2 来计算,包括每 m^2 约 1×10^{11} 、 1×10^{10} 、 1×10^9 、 1×10^8 、 1×10^7 ,或任意两个数字之间的任意范围(包含端点)。任选地,向患者施用约10亿至约30亿之间的NK-92细胞。任选地,每剂量注射的NK-92细胞量可以通过体表面积的 m^2 来计算,包括每平方米 1×10^{11} 、 1×10^{10} 、 1×10^9 、 1×10^8 、 1×10^7 、 1×10^6 、 1×10^5 、 1×10^4 、 1×10^3 。

[0030] 任选地,NK-92细胞以包含NK-92细胞和介质(例如,人血清或其等同物)的组合物施用。任选地,介质包含人血清白蛋白。任选地,介质包含人血浆。任选地,介质包含约1%至约15%的人血清或人血清等同物。任选地,介质包含约1%至约10%的人血清或人血清等同物。任选地,介质包含约1%至约5%的人血清或人血清等同物。任选地,介质包含约2.5%的人血清或人血清等同物。任选地,血清是人AB血清。任选地,使用可接受用于人类治疗的血清代用品代替人血清。这样的血清代用品可以是本领域已知的。任选地,NK-92细胞在包含NK-92细胞和支持细胞生存力的等渗液体溶液的组合物中施用。任选地,NK-92细胞在从冷藏保存的样品复原的组合物中施用。

[0031] 根据本文提供的方法,受试者施用有效量的本文提供的一种或多种药剂。术语有

效量和有效剂量可以互换使用。术语有效量定义为产生期望的生理反应(例如,减轻炎症)所需的任何量。本领域技术人员可以经验地确定用于施用药剂的有效量和时间表。施用的剂量范围是足够大以产生期望的效果(其中疾病或病症的一种或多种症状受到影响(例如,减轻或延迟))的那些剂量范围。剂量不应太大以致引起严重的不良副作用,例如不希望的交叉反应、过敏反应等。通常,剂量将随年龄、病状、性别、疾病类型、疾病或病症的程度、给药途径或方案中是否包括其他药物而变化,并且可以由本领域技术人员确定。在任何禁忌症的情况下,剂量可由个体医师调整。剂量可以变化,并且可以每天以一个或多个剂量给药来施用,持续一天或几天。对于给定的药品类别,可以在文献中找到适当剂量的指导。例如,对于给定的参数,有效量将显示至少5%、10%、15%、20%、25%、40%、50%、60%、75%、80%、90%或至少100%的增加或减少。功效也可以表示为“倍数”增加或减少。例如,治疗有效量可以具有相对于对照至少1.2倍、1.5倍、2倍、5倍或更高的效果。确切的剂量和制剂将取决于治疗的目的,并且可由本领域技术人员使用已知技术来确定(参见,例如,Lieberman, Pharmaceutical Dosage Forms (1-3卷, 1992); Lloyd, The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding (1999); Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 22nd Edition, Gennaro, Editor (2012), 和 Pickar, Dosage Calculations (1999))。

[0032] 药学上可接受的组合物可以包含多种载体和赋形剂。可以使用多种水性载体,例如缓冲盐水等。这些溶液是无菌的,并且通常没有不希望的物质。合适的载体及其制剂描述于Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 22nd Edition, Loyd V. Allen等, 编辑Pharmaceutical Press (2012) 中。药学上可接受的载体是指不是生物学上或另外地不期望的材料,即,将该材料施用于受试者而不会引起不希望的生物学效应或以有害的方式与包含其的药物组合物的其他组分相互作用。如果施用于受试者,载体任选地选择为最小化活性成分的降解和最小化受试者的不良副作用。如本文所用,术语“药学上可接受的”与生理上可接受的和药理学上可接受的同义使用。药物组合物通常包含用于在储存中缓冲和保存的试剂,并且可以包括用于适当递送的缓冲剂和载体,这取决于给药途径。

[0033] 组合物可包含近似生理条件所需的可接受的辅助物质,例如pH调节剂和缓冲剂、毒性调节剂等,例如乙酸钠、氯化钠、氯化钾、氯化钙、乳酸钠等。这些制剂和/或其他药剂中的细胞浓度可以变化,并且根据所选择的特定施用方式和受试者的需要,主要基于液体量、粘度、体重等进行选择。

[0034] 任选地,NK-92细胞与一种或多种用于所治疗的癌症的其他治疗联合施用于受试者。不受理论的束缚,据信用NK-92细胞以及另一种用于癌症的疗法对受试者的共同治疗使得NK-92细胞和可选疗法为内源性免疫系统提供清除此前压倒这种内源性作用的癌症的机会。任选地,用于治疗的癌症的两种或更多种其他治疗包括,例如,抗体、放射、化疗、干细胞移植或激素疗法。

[0035] 任选地,抗体与NK-92细胞结合施用于患者。任选地,NK-92细胞和抗体一起(例如,在相同的制剂中)、单独地(例如,在单独的制剂中,同时地)施用于受试者,或者可以单独地施用,例如按照不同的给药时间表或在一天中的不同时间施用。当单独施用时,抗体可以用任何合适的途径施用,例如静脉内或口服施用。

[0036] 任选地,抗体可用于靶向癌细胞或表达癌症相关标志物的细胞。许多抗体已被批

准单独用于治疗癌症。

[0037] 所提供的方法可以进一步与其他肿瘤疗法(例如,放射疗法、手术、激素疗法和/或免疫疗法)组合。因此,所提供的方法可以进一步包括向受试者施用一种或多种另外的治疗剂。合适的另外的治疗剂包括但不限于,止痛药、麻醉药、兴奋剂、皮质类固醇、抗胆碱能药、抗胆碱酯酶、抗惊厥药、抗肿瘤剂、变构抑制剂、合成代谢类固醇、抗风湿药、心理治疗药、神经阻滞剂、消炎药、抗蠕虫药、抗生素、抗凝剂、抗真菌剂、抗组胺药、抗毒蕈碱剂,抗分枝杆菌药、抗原生动物药、抗病毒药、多巴胺能药物、血液学药物、免疫学药物、毒蕈碱药、蛋白酶抑制剂、维生素、生长因子和激素。基于所治疗的给定疾病,本领域技术人员可以容易地确定药剂和剂量的选择。任选地,另外的治疗剂是醋酸奥曲肽、干扰素、派姆单抗、吡喃葡萄糖基脂质A、卡铂、依托泊苷或其任意组合。

[0038] 任选地,另外的治疗剂是化疗剂。化疗治疗方案可包括将一种化疗剂或化疗剂的组合施用于受试者。化学治疗剂包括但不限于,烷基化剂、蒽环类、紫杉烷类、埃博霉素类、组蛋白脱乙酰基酶抑制剂、拓扑异构酶I抑制剂、拓扑异构酶II抑制剂、激酶抑制剂、单克隆抗体、核苷酸类似物和前体类似物、肽抗生素、铂基化合物、类视黄醇和长春花生物碱及其衍生物。任选地,化疗剂是卡铂。

[0039] 药剂或组合物的组合可以伴随地(例如,作为混合物)、单独但同时地(例如,经由单独的静脉内管线)或顺序地(例如,首先施用一种药剂,然后施用第二药剂)施用。因此,术语组合用于指两种或多种药剂或组合物的伴随、同时或顺序施用。根据受试者的特定特征和所选择治疗的类型,最好按照个体确定治疗过程。治疗(例如本文公开的那些治疗)可以每天、每天两次、每两周、每月或在治疗有效的任何适用的基础上对受试者施用。该治疗可以单独施用或与本文公开或本领域已知的任何其他治疗组合施用。另外的治疗可以与第一疗法同时、在不同时间或以完全不同的治疗时间表(例如,第一疗法可以是每天,而另外的治疗是每周)来施用。

[0040] 还公开了包含提供的NK-92细胞用于治疗梅克尔细胞癌的试剂盒。任选地,试剂盒可以包含另外的化合物,例如在施用NK-92细胞之前、同时或之后施用的治疗活性化合物或药物。这样的化合物的实例包括维生素、矿物质、氟可的松、布洛芬、利多卡因、奎尼丁、化疗剂等。任选地,该试剂盒包括注射装置。如本文所使用的,“注射装置”是指被设计用于实施注射的装置,注射包括将注射装置临时流体地联接至人的组织,通常是皮下组织的步骤。注射还包括将一定量的药剂施用于组织中以及将注射装置从组织中脱离或移除。在一些实施方案中,注射装置可以是静脉内注射装置或IV装置,其是当目标组织是循环系统内的血液(例如,静脉中的血液)时所使用的注射装置类型。注射装置的常见但非限制性实例是针头和注射器。

[0041] 任选地,试剂盒的使用说明书包括在癌症的治疗中使用试剂盒组分的指示。说明书可进一步包含关于如何制备(例如,在冷冻干燥的蛋白质的情况下,稀释或重构)抗体和NK-92细胞(例如,解冻和/或培养)的信息。说明书可以进一步包括关于给药剂量和频率的指导。

[0042] 公开了可用于所公开的方法和组合物的材料、组合物和组分,可以与所公开的方法和组合物结合使用的材料、组合物和组分,可用于制备所公开的方法和组合物的材料、组合物和组分,或者所公开的方法和组合物的产物。本文公开了这些和其他材料,并且应当理

解,当公开了这些材料的组合、子集、相互作用、组等,而没有明确公开这些化合物的各个不同的个体和集体组合和排列的具体指引时,其各自在本文中特别考虑和描述。例如,如果公开并讨论了一种方法并且讨论了可对包括该方法的许多分子进行的多种修饰,则除非有相反的明确说明,否则将特别考虑该方法的各个和每一个组合和排列以及可能的修饰。同样,这些的任何子集或组合也被特别考虑和公开。该概念适用于本公开的所有方面,包括但不限于,使用所公开的组合物的方法中的步骤。因此,如果存在可以执行的多个附加步骤,则应理解,这些附加步骤中的每一个都可以与所公开方法的任何特定方法步骤或方法步骤的组合一起执行,并且各个这样的组合或组合的子集被特别考虑且应该被认为是公开的。

[0043] 本文所引用的出版物及其所引用的材料特此通过引用整体并入本文。

[0044] 以下实施例旨在进一步说明本文所述的方法和组合物的某些方面,而不旨在限制权利要求的范围。

[0045] 实施例

[0046] 实施例1.NK-92细胞对多瘤病毒阳性的梅克尔细胞癌细胞系的细胞毒性活性。

[0047] NK-92细胞表现出对多瘤病毒阳性MCC细胞系的细胞毒性活性。图1和2显示了NK-92细胞以不同的效应-靶比率过夜暴露于三种MCC细胞系(MKL-1、WaGa和MS-1)后,NK-92细胞的细胞毒性的结果。人CML细胞系K562作为对照,因为它总是被NK-92细胞杀死。具体而言,根据制造商的说明(Sigma Aldrich, St. Louis, MO)将K562、MKL-1、MS-1和WaGa细胞(靶细胞)用膜染料PKH67-GL预染色,然后以 $10e5/ml$ 的细胞密度重悬于RPMI 1640+10%FBS中。将NK-92细胞(效应细胞)以 $10e6/ml$ 的细胞密度重悬于X-Vivo10+5%HS+IL-2(500IU/ml)中。将靶细胞和效应细胞在96孔板中以10:1、5:1、2.5:1、1.25:1的效应-靶(E:T)比率混合,其最终体积为200ul/孔。包括仅靶细胞对照以测定自发死亡背景。将该平板在37°C的CO₂培养箱中孵育4小时或24小时,然后用碘化丙啶(0.1μg/ml)将细胞染色10分钟。通过流式细胞术分析样品,并按如下方式计算细胞毒性百分比:杀伤=[((样品中的%PKH+/PI+) - (仅靶细胞中的%PKH+/PI+)) / [100 - (仅靶细胞中的%PKH+/PI+)] * 100。图1显示4小时的细胞毒性,和图2显示24小时的细胞毒性。

[0048] 实施例2. 使用NK-92细胞在体内治疗梅克尔细胞癌(MCC)。

[0049] 用NK-92细胞治疗一位81岁的男性患者,该患者患有头皮上的复发性MCC,具有至少3个皮肤转移。先前的疗法包括手术、辅助放疗(RT)、病灶内干扰素(IFN)加RT加局部咪唑莫特、抗PD-1治疗、病灶内TLR-4激动剂、中子和奥曲肽(octreotide)长效释放(LAR)的RT。在第一周期中第1天,患者接受了 2×10^9 细胞/m²的NK-92静脉输注。在第一周期的第2天,患者接受了 2×10^9 细胞/m²的第二次NK-92输注。该周期重复八次,每个周期之间间隔两周。患者实现了完全反应(CR),MCC肿瘤得到了完全解决。NK-92治疗耐受,无明显不良反应。

[0050] 用NK-92细胞治疗了一位患有大腿的进行性MCC的75岁男性。先前的疗法包括化疗和抗PD-1疗法。在第一周期第1天,患者接受了 2×10^9 细胞/m²的NK-92静脉输注。在第一周期的第2天,患者接受了 2×10^9 细胞/m²的第二次NK-92输注。该周期重复第二次;然而,由于缺乏疾病状态的显著变化,治疗被中止。

[0051] 实施例3.MCC患者的治疗

[0052] 用NK-92细胞治疗三名患者。根据实体肿瘤反应评估标准(Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, RECIST),这些患者均患有不可切除的III期(IIIB)或远处转

移(IV期)MCC。每2周在连续的两天(=1个周期)通过静脉输注以 2×10^9 细胞/ m^2 的剂量向患者给予NK-92细胞,进行共8个周期(16次输注)。自治疗开始的4个月,对患者进行监测并评估无进展生存率(Progression Free Survival)。初步数据表明,NK-92细胞疗法取得了有益的临床结果。

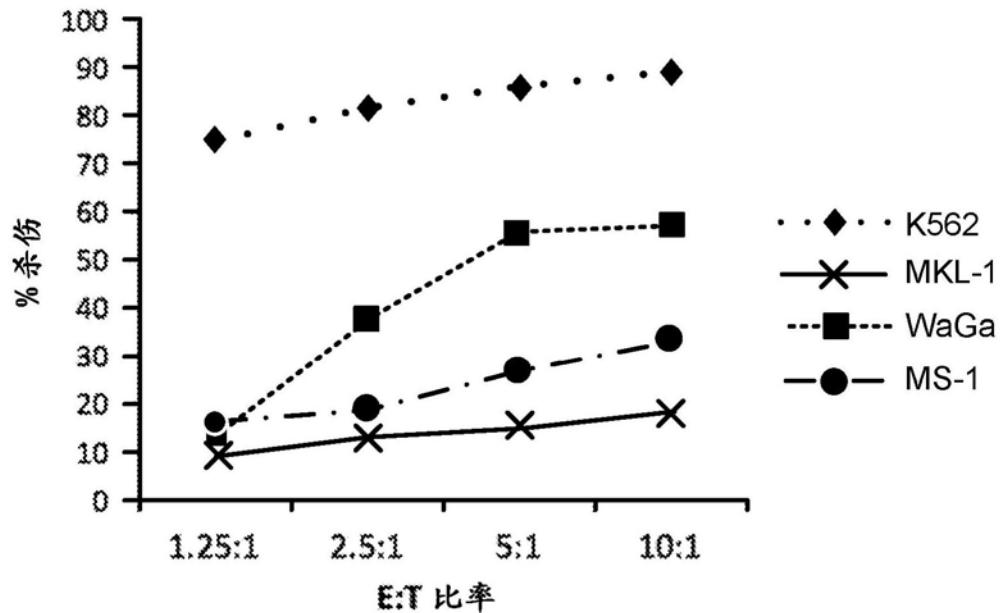


图1

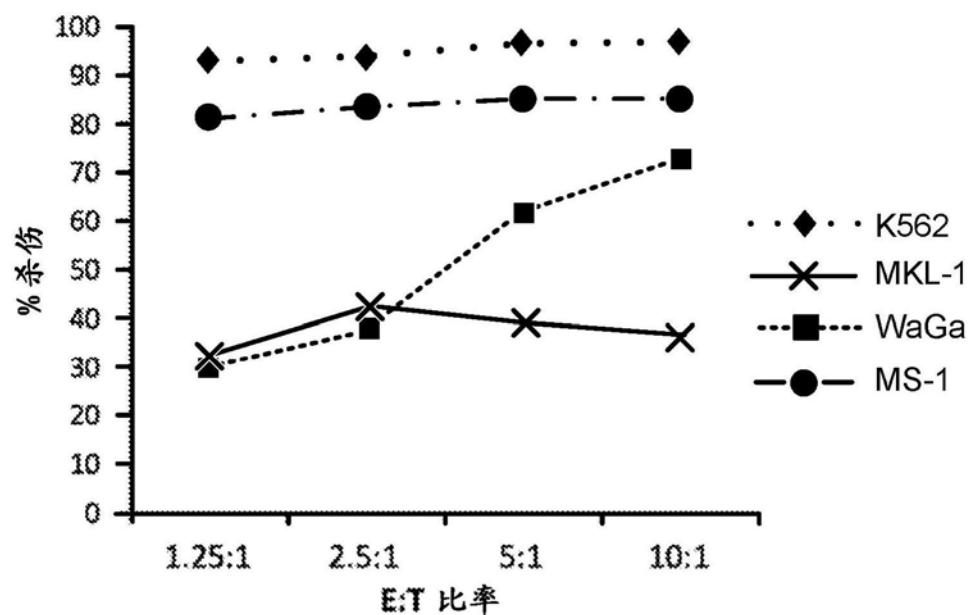


图2