



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101052416 B

(45) 授权公告日 2013.07.10

(21) 申请号 200580020503.4

(22) 申请日 2005.06.29

(30) 优先权数据

60/584,679 2004.07.02 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2006.12.21

(86) PCT申请的申请数据

PCT/EP2005/006994 2005.06.29

(87) PCT申请的公布数据

W02006/002889 EN 2006.01.12

(73) 专利权人 威丽克斯股份公司

地址 德国慕尼黑

(72) 发明人 O·威尔赫姆 S·瓦纳

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 殷骏

(51) Int. Cl.

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(56) 对比文件

W0 02/062972 A2, 2002.08.15, 摘要, 第1, 8, 14-16 页, 权利要求 15-17.

Bleumer I., et al. A phase II trial with monoclonal antibody WX-G250 in advanced renal cell carcinoma. 《European Urology》. 2002, 第S1 卷 (第1 期), 112.

审查员 廖文勇

权利要求书1页 说明书12页

(54) 发明名称

表达 G250 的肿瘤的改进的辅助治疗

(57) 摘要

本发明涉及表达 G250 抗原的肿瘤、尤其肾透明细胞癌的治疗方法,其包括将 G250 抗原特异性抗体给药于确诊为非转移性疾病的高危险患者。

1. G250 抗原特异性抗体或 / 和其抗体片段在制备辅助治疗中的药物的用途, 所述药物用于有原发性表达 G250 抗原肿瘤的患者, 其中所述患者进行过原发肿瘤的切除和必要时进行过淋巴结切除, 且该患者已经被确诊为有非转移性疾病。
2. 权利要求 1 的用途, 其中该患者已经被确诊为有复发的高危险。
3. 权利要求 1 或 2 的用途, 其中原发肿瘤为表达 G250 抗原的肿瘤, 所述肿瘤选自肾透明细胞癌、宫颈癌、胆癌、食管癌、结肠直肠癌和肺癌。
4. 权利要求 1 或 2 的用途, 其中抗体或 / 和其抗体片段选自多克隆抗体、单克隆抗体或其抗原结合片段。
5. 权利要求 4 的用途, 其中所述抗原结合片段包括 $F(ab')_2$ 、 Fab' 、 sFv 、 $dsFv$ 。
6. 权利要求 1 或 2 的用途, 其中原发肿瘤按照 TNM 分类法被分类为 N0 和 M0。
7. 权利要求 6 的用途, 其中在原发肿瘤切除和任选的淋巴结切除之后, 患者被诊断为没有任何残留的肿瘤疾病的迹象。
8. 权利要求 1 或 2 的用途, 其中原发肿瘤不显示微血管侵入。
9. 权利要求 1 或 2 的用途, 其中原发肿瘤显示微血管侵入。
10. 权利要求 9 的用途, 其中原发肿瘤显示至少 GIII 的核等级。
11. 权利要求 1 或 2 的用途, 其中 G250 抗原特异性抗体或 / 和抗体片段经静脉内途径给药。
12. 权利要求 3 的用途, 其中所述肿瘤为肾透明细胞癌。
13. 权利要求 12 的用途, 其中抗体为 cG250 或由杂交瘤细胞系 DSMACC2526 产生的抗体。

表达 G250 的肿瘤的改进的辅助治疗

技术领域

[0001] 本发明涉及表达 G250 抗原的肿瘤、尤其肾透明细胞癌的治疗方法，其包括将 G250 抗原特异性抗体作为一种辅助治疗方式给药于确诊为非转移性疾病的高危险患者。

[0002] 发明背景

[0003] G250 抗原与许多癌密切相关，其中肾细胞癌是首次记录的病例之一。因此 G250 抗原最初被描述为一种肾癌相关抗原 (W088/08854)。后来发现它与肿瘤相关抗原 MN(一种含碳酸酐酶活性的细胞表面抗原，也称为 CAIX) 完全相同。正常的 G250 表达见于胃、肠和胆的粘膜中，其生理作用在于 pH 调节。除其正常的表达模式之外，还在宫颈癌 (1)、食道癌 (2)、结肠直肠癌 (3)、肺癌 (4)、胆癌 (5) 和透明细胞肾细胞癌 (RCC) 中发现 G250 表达 (W088/08854)。

[0004] 对于 RCC 据估算，1995 年在欧盟有 41,325 件新病例，其中 21,728 件由该疾病导致死亡 (EUCAN 资料库,1995)。按照美国健康和公共事业部门 (the United States Department of Health and Human Services) 统计每年确诊约 30,000 件新病例，其中约 12,000 件为 RCC 相关的死亡 (National Institute of Health, SEER Cancer Statistics Review,1999)。

[0005] 约 50-60% 的患者最初呈现在疾病的 I 期或 II 期，即为局部化的 RCC。在原发肿瘤外科手术切除以后，这些患者预后良好，分别为 60-80% (I 期) 和 40-60% (II 期) 的 5 年生存率。其余的患者预后较差。尽管大多数 III 期疾病即在诊断时为非转移性疾病的患者 (20-25% 的总患者中) 也将进行手术。他们中 5 年生存率仅为 20-40%。这类患者，尽管不存在临床上可检测的肿瘤，但明显地处于肿瘤再发生的高危险之中。IV 期疾病患者 (转移性) (10-20% 的总患者) 5 年生存率为 0-20% (6)。各期可根据 TNM 分级定义，如下面的表 1 中给出：

[0006] 表 1 : 期的分级 (31)

[0007]

I 期	T1	N0	M0
II 期	T2	N0	M0
III 期	T3	N0	M0
	T1,2,3	N1	M0
IV 期	T4	N0, N1	M0
	各 T	N2	M0
	各 T	各 N	M1

[0008] 一种在 814 名患者中进行结果评价的前瞻性群组研究能在疾病特异性和总体生存率两方面的定义五种不同的类别 (7)。将这些类别转化为根据 1997TNM 分类、Fuhrman 的分级和 ECOG 表现状态定义的风险组。在 486 名非转移性患者中，128 (27%) 名为低危险患者，190 (41%) 名为中度危险患者，150 (32%) 名为高危险患者。这些组之间 5 年总体生存率差别显著，分别为 84%、72% 和 44%。在高风险组中，42.5% 患者肾切除之后头两年内复发。Fuhrman 的核分级可按下面的表 2 所示进行定义。

[0009] 表 2 :Fuhrman 的核分级 (32)

[0010]

级别 1 (GI)	圆形、均匀的核,直径大约 10 微米 (RBC 为 6 微米), 核仁微小或没有
级别 2 (GII)	轮廓略不规则,直径大约 15 微米,核仁在 400× 下可见
级别 3 (GIII)	轮廓中等至明显不规则,直径为大约 20 微米,核仁大, 在 100× 下可见
级别 4 (GIV)	轮廓与级别 3 中轮廓的相似,但还有多小叶核或复核或 异形核和重簇的染色质

[0011] 由于患者中 RCC 早期诊断增加以及手术后疾病复发的发病率高因而需要考虑辅助治疗。

[0012] 癌可能呈现局部化的 (仅在一个位点生长) 而它实际上可能已经开始蔓延。癌细胞可能已经冒险出去进入躯体内,但只是小数量以致于还不能检测到它们。在初步治疗之后患者可能无症状。辅助治疗描述为以任何剩余的不能发现的癌细胞作为靶点的方法。辅助治疗在初步治疗如外科手术或放射之后运用,以预防癌症再发生。存在四种主要类型的辅助治疗,可基于癌症的类型及其进展进行选择:

[0013] - 化疗

[0014] - 激素治疗

[0015] - 放射治疗

[0016] - 免疫治疗。

[0017] 辅助治疗的原理得到公认并在几种肿瘤如乳房癌和结肠直肠癌中沿用已久。对于后来复发的肾切除患者,复发时间的中位值为 15 至 18 个月,其中 85% 的复发在 3 年之内发生 (8)。关于 RCC 的辅助治疗迄今为止还没有药物获得批准。

[0018] Pizzocaro 等报道了以 247 名患者进行的 RCC 大量辅助治疗研究 (9)。一半的患者接受干扰素 - α (IFN- α), 在外科手术的一个月之内开始,一周三次,肌肉注射 (i. m.) 6 个月。另一半患者只接受观察。5 年总体的和无事件生存的概率显示出没有统计上显著的差异。在 97 名淋巴结阴性的 (negative) 患者中,在治疗组中观察到统计上显著的有害影响。当对 3 年的生存累积概率进行评价时,在 13 名接受 pN2/pN3 治疗的患者的小的分组 (关于分类参见下文) 中可观察到保护效应。由于该患者组数量少,因而这些数据没有统计上的显著意义。55% 的患者表现出由 IFN- α 引起毒性的迹象,28% 需要减小剂量和 / 或中止治疗。该结果表明在 IFN 治疗中死亡率更高且复发率更高,其中 13% 的患者经历 4 级中毒。

[0019] 白细胞介素 -2 (IL-2) 在辅助固定 (setting) 中的作用还没有定义。在美国的细胞因子工作组正进行的一项研究现在正在评价高剂量的 IL-2 与只是做观察相比较 (10)。由于缺乏与显著的毒性相结合的正性研究结果,肾切除后护理的现行标准观察结果有限。

[0020] 包括在 RCC 中采用自体疫苗接种方法的辅助治疗的 III 期临床研究现在正在进行 (National Cancer Institute, www.cancer.gov; Antigenics, press release Dec. 22, 2003)。

[0021] 通常认为评价 RCC 患者外科手术后预后的主要参数是依据 TNM 分类中所述的病理阶段。该分类已经在 2002 年修正如下 (11):

[0022] 表 3 :TNM 分类

[0023]

T1	肿瘤在最大的维度上 $\leq 7\text{cm}$,局限于肾
T1a	肿瘤在最大的维度上 $\leq 4\text{cm}$,局限于肾
T1b	肿瘤在最大的维度上 $>4\text{cm}$ 但 $\leq 7\text{cm}$,局限于肾
T2	肿瘤在最大的维度上 $>7\text{cm}$,局限于肾
T3	肿瘤侵入大静脉或肾上腺或肾周组织但没有超出 Gerota 氏筋膜
T3a	肿瘤直接侵入肾上腺或肾周和 / 或肾窦的脂肪但没有超出 Gerota 氏筋膜
T3b	肿瘤严重地扩展到肾静脉或其部分 (包括肌肉) 支链、或隔下的腔静脉
T3c	肿瘤严重地扩展到隔上方的腔静脉或侵入腔静脉壁
T4	肿瘤侵入 Gerota 氏筋膜以外
N0	没有转移至区域性淋巴结
N1	转移至单一的区域淋巴结中
N2	转移至一个以上的区域淋巴结中
M0	没有远距离的转移
M1	远距离的转移

[0024] 在一家医院总共 675 名全肾切除的患者中进行所追溯评价,48%的患者有 pT1, 20%有 pT2, 10%有 pT3a, 20%有 pT3b, 2%有 pT4(12)。

[0025] TNM 分类只考虑宏观上可测定的血管和周围组织的侵入。运用多变量统计分析发现间变 (anaplasia) 和微观的血管侵入 (MVI) 的等级也能提供预后信息。后两个变量预后互相联系,因为 MVI 在高等级的间变之中特别频繁而在低等级肿瘤中较少,分别是核分等级的 GII-GIII 有 56%的血管侵入而在 GI 肿瘤中为 24%。有血管侵入的患者比没有血管侵入的患者肿瘤转移的频率高 (47%对 21%) (13)。

[0026] 嵌合的单克隆抗体 cG250 是原型鼠单克隆抗体 mG250 的 IgG1 κ 轻链嵌合体的模型,最初由 Oosterwijk 等描述 (22)。在竞争性结合测定已经证明嵌合体 G250 (cG250) 相当于鼠的 mG250 并对人癌细胞系表现出与 mG250 相似的结合反应活性。G250 能检测肾癌细胞上的细胞表面抗原 (MN 抗原)。在新鲜冷冻组织的免疫组织化学测定中,G250 与 95%的透明细胞型的肾癌反应而与结肠直肠癌及其它癌反应的比例低得多。与肾癌的反应活性 75%的肾癌中是均匀的 (大于 75%的反应细胞)。cG250 与正常人组织的反应活性只限于胃上皮细胞和肝内胆管 (23, 24)。

[0027] 该嵌合抗体可用碘-131 进行放射性标记,其免疫反应性的损失极小。在对 16 名有转移性 RCC 患者的研究中,在肾切除前一周注入 ^{131}I - 标记的抗体 (25)。注入后放射性标记的抗体逐渐局部化进入肿瘤内,其余的部分从体内排泄。局部化进入肿瘤内的标记抗体的百分率是曾经报道的用抗肿瘤抗体进行的临床试验中最高的之一。

[0028] 在以未作标记的 cG250 抗体制剂的 I 期多次剂量的研究中,12 名转移性 RCC 患者以剂量逐步升高的设值 (setting) 每周接受一定的剂量,持续 6 周。结果表明该抗体在 5、10、25 和 50mg/m² 的所有剂量水平上是安全的。观察到一项目的响应 (one objective response), 12 名患者中有 8 名在第一个 6 周循环的治疗之后呈现疾病稳定 (26)。

[0029] 此外,在 II 期研究中未作标记的 cG250 抗体作为单一治疗给药,32 名转移性 RCC 的可评价患者用 50mg cG250 治疗达到 20 周,每周一次,一次 50mg cG250。该研究证实了用该抗体长期治疗的优良安全特性。没有严重的药物相关不良反应报道和没有过敏性反应发生。在两名患者中发现极低水平的人抗嵌合抗体 (HACA) (27)。32 名患者中,6 名在进入研

究项目时为进行性的患者,取得疾病的稳定至少 6 个月。此外,治疗结束 4 个月之后在随访期间发现两名肿瘤消退,一名完全性反应,一名轻微反应。在此期间这些患者当中没人接受任何肿瘤治疗。测得中值总体生存率为 15.6 个月,35% 的患者在长达 166 周的随访时间之后仍活着。所有的研究证实了 cG250 的优良耐受性。

[0030] cG250 的作用机理为抗体依赖性细胞毒性 (ADCC),不过也可能是其它作用机理。体外研究表明 0.5 μ g/ml 的 cG250 对于诱导 ADCC 是足够的 (28)。这表明至少 0.5 μ g/ml cG250 的临床给药方案递送水平应有效,条件是药物能达到靶点。此外,运用放射性标记的 cG250 的示踪剂剂量进行剂量逐步上升研究的结果表明每个患者 10mg 以上的单一剂量对于使所有抗原阳性的肿瘤细胞浸透一周的时间应是最佳的 (24)。这些数据表明大于 0.5 μ g/ml 的血浆浓度将不会提供其它的临床益处。

[0031] 正如以上的讨论,对于治疗转移性 RCC 的治疗最近几年中新的疗法已经获得批准,但肾细胞癌的生存率几十年中还没有显著的变化。因此,本发明旨在解决的问题是确定新的治疗方案,尤其是对于肾切除后有复发高风险又没有宏观上可检测的疾病证据的 RCC 患者广泛和容易应用的且无毒的治疗。

[0032] 该问题的解决方案是本发明的对患者的辅助治疗方法,其中所述患者原发肿瘤的特征为 G250 表达。

[0033] 在本发明的一实施方案中,治疗表达 G250 抗原的癌症的方法包括将 G250 抗原特异性抗体或 / 和其抗体片段作为辅助治疗给药于有原发肿瘤的患者,其中患者进行过原发肿瘤的切除和必要时进行过淋巴结切除和 / 或是由于进行原发肿瘤切除和必要时进行淋巴结切除的原因。

[0034] 优选,患者已经被确诊为有非转移性疾病或 / 和已经被确诊有复发的高风险。非转移性疾病患者按照本发明的分类法 (参见下文) 可分为风险组 I、II 或 III。

[0035] 优选原发肿瘤为表达 G250 抗原的肿瘤,尤其是选自肾透明细胞癌、宫颈癌、胆癌、食管癌、结肠直肠癌和肺癌的原发肿瘤。

[0036] 例如抗 G250 抗体描述于 EP-B-0637336,在此引入作为参考。

[0037] 在另一优选的实施方案中抗体或 / 和其抗体片段选自多克隆抗体、单克隆抗体、其抗原结合片段如 $F(ab')_2$ 、 Fab' 、sFv、dsFv 及其嵌合的、人源化的和完全人的变体。尤其优选,抗癌的抗体为嵌合的或人源化的 G250 抗体和 / 或其片段。这些抗体可按照 PCT/EP02/01282 和 PCT/EP02/01283 中描述的方法生产,在此引入作为参考。最优选的抗体为 cG250。另一最优选的抗体为由杂交瘤细胞系 DSM ACC2526 产生的单克隆抗体 G250,其中已经保藏在 DSMZ, Mascher oder Weg 1b, D-38124 Braunschweig。

[0038] 更优选的实施方案为治疗肾透明细胞癌的方法,包括将 G250 抗原特异性抗体或 / 和其抗体片段作为辅助治疗给药于有原发肿瘤的患者,其中患者进行过原发肿瘤的切除和必要时进行过淋巴结切除和 / 或是由于进行原发肿瘤切除和必要时进行淋巴结切除的原因。

[0039] 最优选本发明治疗肾透明细胞癌的方法包括给予抗体 cG250。

[0040] 例如,被分类为下列风险组之一的肿瘤患者有复发的高风险。这些风险组参考 TNM 分类法,第 6 版 UICC (2002) :

[0041] • 风险组 I :原发肿瘤已经在组织学上证实为阶段 T3bN0M0 或 T3cN0M0 或 T4N0M0

[0042] • 风险组 II :任何在组织学上证实的 T 阶段和 N1 或 N2 疾病

[0043] • 风险组 III :原发肿瘤 T1bN0M0 或 T2N0M0 或 T3aN0M0,其中每种都有微血管侵入和级别为 III (Fuhrman 或任何其它的含至少 3 个等级的核分级系统)

[0044] 转移为癌细胞从一个器官或组织到另一个器官或组织的移动或蔓延。癌细胞通常经血流或淋巴系统蔓延。就原发癌的局部关系而论,将转移区分为局部转移(局部闭合或靠近原发癌)、区域转移(在区域淋巴系统的范围内)和远距离转移。

[0045] 确诊为 N0 和 M0 的患者可分为风险组 I 或 III 类。在癌症的发展过程中,淋巴道转移可存在于单一的区域淋巴结中(N1,按照 TNM 分类法)或/和存在于一个以上的区域淋巴结中(N2),将其分类为高风险组 II,其中有远距离转移的患者将被分类为转移性疾病。因此,在优选的实施方案中,接受本发明方法治疗的患者为有复发高风险、被分类为风险组 I、II 或 III 的患者。

[0046] 非转移性疾病可能在区域淋巴结中没有组织学上证实的转移(N0,按照 TNM)和没有远距离的转移(M0)。然而,患者存在有由肿瘤细胞带来的相当大的复发危险,例如在微小转移中,其中肿瘤细胞在原发肿瘤切除之后还有残存,其不能通过组织学方法检测,导致患者没有任何残留的肿瘤疾病证据的诊断结论。在优选的实施方案中接受本发明方法治疗的有复发高风险的患者有/曾经有被分类为 N0 和 M0 的原发肿瘤。在更优选的实施方案中,N0 和 M0 患者,在原发肿瘤切除和任选的淋巴结切除之后,没有证据诊断患者有任何残留的肿瘤疾病。

[0047] 另外,非转移性疾病可能在单一的区域淋巴结(N1)、或在一个以上的区域淋巴结(N2)中有淋巴道转移。在本发明优选的实施方案中,有复发高风险的患者有/曾经有被分类为 N1 或 N2 的原发肿瘤。

[0048] 本发明各风险组选择的理论基础如下:

[0049] 风险组 I:

[0050] 一旦 Gerota 氏筋膜穿透 pT3 子群的分析显示中值存活率的显著降低(pT3a 和 pT3b 之间的过渡)。对于 pT3a 中值存活率为 107 个月,对于 pT3b 存活率降低至 64 个月而对于 pT3c 存活率降低至 30 个月(14)。此外,对 814 名患者进行前瞻性群组研究,其中 RCC 进一步分类为预测临床结果的风险组。名称为“非转移性高风险”(NM-HR)的一组,包括非转移性、T3 或更大的 N0 肿瘤以及与其它因素的各种组合(操作量表,核分级)。在第 24 个月时复发评价为约 42%的这组预后比中度和低风险组显著糟糕(7)。

[0051] 风险组 II:

[0052] 在过去曾经显示淋巴结阳性的患者复发的概率显著高于其它患者类别。在淋巴结阳性组中,80%的患者在 30 个月之内复发。淋巴结阴性疾病的患者预后好得多,只有 40%在第 3 年复发(15,16)。

[0053] 风险组 III:

[0054] 若干研究已经表明微血管侵入的存在(MVI)对其预测值的意义。当在血管中发现肿瘤时认为存在微观的侵入,即认为至少一个或多个血管中膜内皮细胞包围肿瘤细胞群。Lang 等评价了 255 名通过全肾切除治疗的 N0M0 患者中在外科手术至少 5 年的观察期间的该参数(17)。通过双盲组织学研究测定 MVI 的存在,在 29%的患者中有记录。在该研究中,MVI 不是无关的和显著的预测因素,但与转移性发展危险增加有关。最近 van Poppel

已经追溯分析了 180 名全肾切除或部分肾切除的患者 (18)。将微观的血管侵入的关联性与传统的肿瘤分类、分级和肿瘤直径比较。在 28.3% 的患者中发现 MVI。在有 MVI 但没有淋巴结介入或宏观血管侵入的患者中疾病级数的危险在一年之内为 45%。

[0055] 由于不能认为 MVI 的存在是显著性的预测因素, 已经进行原发肿瘤切除且不显示 MVI 的患者毫无疑问被认为是具有复发高风险的患者。因此, 在优选的实施方案中, 接受本发明方法治疗的患者不显示任何组织学上证实的 MVI。

[0056] 在进一步的研究中, 将级别、血管侵入和年龄小确定为在肾切除后临床局部化的 RCC 中主要的独立预测因素 (19)。

[0057] 就分级而言, 显示高级别的肿瘤 (例如 Fuhrman 级别 3 和 4) 比低级别的肿瘤 (级别 1 和 2) 有差的癌特异性存活率和无转移的存活率 (21)。

[0058] MVI 和分级结合当同时肿瘤尺寸大于 4cm 时视为阴性的预测因素。因此, 这类患者也必须被认为是具有复发高风险的患者。支持性证据来自对 840 名 pT1 肾细胞癌患者的评价 (20)。该追溯性研究支持结论: 对于透明细胞 RCC 的患者对 pT17-cm 肿瘤尺寸的切去可能太大, 向危险增加的过渡发生在 4.5-5cm 的肿瘤尺寸。在该肿瘤尺寸下, 发现 RCC 死亡的从低 (比所期待的少) 到高 (比所期待的大) 危险的过渡。实际上, 在 2002 年 UICC TNM 分类法进行了修订, pT1a 和 pT1b 之间的过渡定在 4cm。

[0059] 因此, 在另一优选的实施方案中, 接受本发明方法治疗的患者显示 MVI。由于 MVI 和分级的结合 (其可视为阴性的预测因素), 更优选接受本发明方法治疗的显示 MVI 的患者的原发肿瘤核分级为至少 GIII。

[0060] 在一优选的实施方案中, 将本发明的抗体在单一治疗方案中给药。

[0061] 在其它优选的实施方案中, 可将抗体在联合治疗方案中给药。该辅助抗体治疗可与任何其它类型的辅助治疗例如辅助性化疗、辅助性激素治疗或 / 和辅助性放射治疗结合。更优选, 可将细胞因子与该抗体一起共同给药以增加抗体依赖的细胞毒性 (ADCC) 和 / 或激活患者的免疫系统, 例如 NK 细胞。

[0062] 细胞因子优选选自白细胞介素, 例如 IL-2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14 和 15, 干扰素, 例如 IFN- α 、IFN- β 和 IFN- γ , TNF- α 、TNF- β , 神经生长因子 (NGF), CD40、FAS、CD27 和 CD30 的配体, 巨噬细胞抑制蛋白, Rantes, 活性片段和可药用类似物和衍生物以及它们的混合物。更优选细胞因子选自 IL-2 和 IFN- α 。

[0063] 例如, 医生将根据年龄、重量和疾病的严重程度确定 G250 抗原特异性抗体的剂量。例如, 每个患者每周的周期 20mg 或 50mg cG250 的给药方案, 将释放 0.5 μ g/ml 以上的浓度, 因此应该有足够效力。因此, 在优选的实施方案中, 以 5 至 250mg/周 G250-特异性抗体、更优选 10 至 100mg/周和最优选 20mg/周至 50mg/周的每周剂量给药。

[0064] 在上述技术研究现状中所收集的药代动力学数据表明 cG250 的血浆水平在治疗的六至十周达到平高线水平。据发现, 在剂量为每周 20mg 的情况下, 波谷血浆在 10 周的治疗之后于 5.5 μ g/ml 变为水平。令人惊奇地, 其波谷水平与 50mg 的单一剂量之后达到的波谷水平 (4.2 μ g/ml) 几乎相同。这表明通过给予预先 50mg 的负荷剂量可使每周 20mg 的剂量加速达到稳态血浆浓度水平。

[0065] 因此, 本发明的方法优选包括将 G250 抗原特异性抗体或 / 和其抗体片段在至少两个治疗阶段中给药于需要其的对象, 其中以不同的量、优选渐减量的抗体给药。

[0066] 更优选本发明的方法包括在两个阶段将 G250 抗原特异性抗体或 / 和其抗体片段给药于需要其的对象, 其中

[0067] (a) 在第一治疗阶段中所给 G250 抗原特异性抗体的剂量为 10-250mg/ 周, 优选 20-100mg/ 周, 更优选 20-50mg/ 周, 最优选 50mg/ 周, 和

[0068] (b) 在第二治疗阶段中所给 G250 抗原抗体的剂量为 5-100mg/ 周, 优选 10-50mg/ 周, 更优选 15-25mg/ 周, 最优选 20mg/ 周。

[0069] 更优选第一治疗阶段包括给予 50mg/ 周的 G250- 特异性抗体, 第二治疗阶段包括给予 20mg/ 周的 G250- 特异性抗体。

[0070] 抗癌的抗体优选静脉内给药、优选通过输注或静脉注射。抗体通过输注的给药, 优选在最高约 30 分钟、更优选约 15 分钟内进行。

[0071] 每周 20 或 50mg 的 cG250 的输注达 20 周的给药计划似乎能较好耐受且不会引起显著的 HACA 发生。

[0072] 因此优选, 第一治疗阶段包括最多 12 周、优选最多 6 周、更优选最多一周, 且第二治疗阶段包括最多 156 周、优选最多 104 周、更优选最多 52 周、尤其更优选最多 12-24 周。

[0073] 在最优选的实施方案中, 对于肾透明细胞癌第一治疗阶段包括最多一周和 cG250 的 50mg/ 周的单一负荷剂量的给药, 第二治疗阶段包括最多 24 周和 cG250 的 20mg/ 周的给药。

[0074] 在另一实施方案中, 本发明涉及一种药物组合物或药盒, 其包含以本发明如上所述的方法给药的 G250 抗原特异性抗体或 / 和其抗体片段。

[0075] 在优选的实施方案中, 药物组合物或药盒包含第一组合物, 其中第一组合物包含第一治疗阶段中治疗的 G250 抗原特异性抗体或 / 和其抗体片段, 进一步包含第二组合物, 其中第二组合物包含用于第二治疗阶段中治疗的 G250 抗原特异性抗体或 / 和其抗体片段。

[0076] 进一步地, 本发明通过下列实施例说明。

[0077] 实施例 1

[0078] 包括在有透明细胞 RCC 和复发高危险的患者中进行辅助抗体 -cG250 治疗的临床试验。

[0079] 1.1 设计

[0080] 这是评价在外科手术后没有残留疾病证据且有复发高危险的透明细胞 RCC 患者中与安慰剂比较辅助 cG250 治疗的效力和安全性的预期的、多中心、III 期研究。

[0081] 主要目的是通过与安慰剂供给比较评价在治疗供给中的无病生存和总体生存来评价治疗效力。此外, 还评价抗体治疗的安全性和对生活质量的影

[0082] 1.2 终点标准

[0083] 首要目的是:

[0084] a) 评价 cG250 治疗与安慰剂相比较的无病存活率

[0085] b) 评价 cG250 治疗与安慰剂相比较的总存活数

[0086] 第二目的是:

[0087] c) 利用核实问卷评价在治疗和安慰剂供给中的生活质量

[0088] d) 评价安全性

[0089] 1.3 研究的时间

[0090] 在两种供给中对个体患者治疗的时间为连续 24 周。存活的监测将一直持续到 310 名死亡发生或最后一名患者参加后 60 个月,以较后的时间为期限。

[0091] 1.4 受试者选入标准的选择

[0092] • 先前进行过有透明细胞组织学记录的原发性肾细胞癌肾切除

[0093] • 需要进行区域淋巴结切除和肿瘤分类

[0094] • 无宏观和微观残留疾病的证据

[0095] • 确诊为具有下列之一的患者(参考 TNM 分类,第 6 版 UICC,2002 年):

[0096] - 组织学证实处于 T3bN0M0 或 T3cN0M0 或 T4N0M0 阶段

[0097] - 任何组织学证实的 T 阶段和 N1 或 N2 疾病

[0098] - 原发肿瘤 T1bN0M0 或 T2N0M0 或 T3aN0M0,其中每种都有血管侵入且级别 \geq III (Fuhrman 或任何其它的含至少 3 个等级的核分级体系)

[0099] • ECOG 为 0 (参见表 II)

[0100] • 肾切除后不超过 6 周

[0101] • HIV 和肝炎试验为阴性

[0102] • 女性怀孕能力的妊娠试验为阴性(尿液或血清)

[0103] • 有怀孕能力的女性必须采取充分的避孕预防措施

[0104] • 愿意回到试验点配合长期的管理访问直到复发

[0105] • 年龄 \geq 18 年

[0106] • 具有提供书面告知的同意的能力

[0107] Table II ECOG/Karnofsky 操作量表

[0108]

ECOG 表现状态	Karnofsky 操作量表
0 充分能动,能进行一切疾病前的表现没有限制。	100 正常,没有不适或疾病的证据。 90 能进行正常活动但有微小的疾病征兆存在
1 在身体费力的活动方面受到限制,但能走动且能进行轻松的或久坐性质的工作,例如轻松的家庭劳动、办公室工作。	80 能正常活动但需要努力。疾病的体征和症状更显著。 70 能自我照顾,但不能工作或进行其它正常活动。
2 能走动且能够进行所有的自理但不能进行任何工作活动。超过和大约 50% 以上的时间是清醒的。	60 能照料大多数的需要,但需要偶尔的帮助。 50 需要相当多的帮助和频繁的医疗护理;可进行一些自理。
3 只能进行有限的自理,限于床或椅子上,50% 以上的时间是清醒的。	40 丧失能力;需要特别的护理和帮助。 30 严重丧失能力;需要住院治疗但离死亡较远。

4 完全丧失能力,不能进行任何自理。完全限于床或椅子上。	20 疾病非常严重;需要支持性治疗和 / 或住院治疗。
5 死亡。	10 死亡即将来临。 0 死亡的。

[0109] 1.5 研究药物

[0110] 研究药物通过静脉输注一周(±两天)一次给药,连续24周。在第1周时给予单一负荷剂量的50mg的cG250,之后在第2-24周时每周输注20mg的cG250。对于在第1周的第一次给药将总共50mg抗体以溶液的形式调配。对于2-24周的进一步的连续给药将总共20mg抗体以溶液的形式调配。该溶液用注射器抽取,在加入到100ml生理盐水(无菌的0.9%氯化钠水溶液)之前必须用0.2μm滤过器预过滤。另外2ml的生理盐水用于冲洗过滤器以避免研究药物在过滤器上损失。将包含抗体的生理盐水注入到输注溶液中。将输液在15分钟内给药到坐着或仰卧的患者。

[0111] 1.6 效力的评价

[0112] 1.6.1 效力参数

[0113] 认为与安慰剂比较在治疗供给中显著较好的无病存活率是治疗效力的证据。这可通过测定总存活数(中值存活率和5年的存活率)随后证实。放射学评价用来记录肿瘤复发的存在。对转移性疾病或局部复发的两种独立的放射学检查(reviews)用于中心评价在基线时和在研究期间的螺旋CT。

[0114] 1.6.2 无病存活率的评价

[0115] 肿瘤复发的评价是基于胸、腹部和骨盆(静脉相)的对比增强的螺旋计算机体层摄影(CT),试验点的放射部门做的相邻切片厚度≤7.5mm。为了保证质量将扫描用数字技术储存在CD-ROM上。在特殊情况下以胶片的形式提供数据也可接受,例如若在某个评价时点不能获得数字数据时。

[0116] 1.7 统计

[0117] 第一研究终点为无病存活率和总存活数。

[0118] • 从随机化的日期直到有记录的复发日期计算无病存活率。当在所有患者当中50%已经复发时则达到中值。没有复发记录的患者在他们最后的研究评价日期接受检查。

[0119] • 复发定义为有转移性疾病的体征或被计算机X射线体层摄影证实有局部复发、死亡(排除与该疾病无关的死亡)或开始新的抗肿瘤治疗。

[0120] • 从随机化的日期到所记录的死亡日期计算总存活数。没有死亡记录的患者在他们最后的研究评价日期接受检查。

[0121] 第二终点为:

[0122] • 生活质量(EORTC QLQ-C30 问卷)由EORTC开发的QLQ-C30既包括多项等级又包括单项测量(24,25)。这些包括五个功能等级、三个症状等级、整体的健康状态/QoL等级以及六个单项。每一多项等级包括不同的项目组-没有项目存在多于一个的等级。编码该评分方法的统计程序包已由EORTC提供并在SAS中运行。

[0123] • 临床不良反应的发生率

[0124] • 根据NCI CTC标准分等级的实验室值。

[0125] 1.7.1 统计模型

[0126] 对无病存活率和总存活数应用分级测试以保持5%的总体显著水平。

[0127] 对无病存活率,第一研究终点之一,在 cG250 供给和安慰剂供给之间采用组序贯对数-秩和检验 (a group sequential log-ranktest),该检验基于总体 5%的 α 水平上的 O'Brien 和 Fleming 类型边界值。模型估计值采用 Kaplan-Meier 法导出。对无病存活率的主要分析是基于打算处理的人群(定义为所有随机化的患者)。

[0128] 对总存活数,另一个第一研究终点,在 cG250 供给和安慰剂供给之间采用对数-秩和检验和 Kaplan-Meier 法进行比较。采用组序贯法的 O'Brien-Fleming 法调整总存活数分析内的显著性水平以保持总显著性水平为 5%。对总存活数的主要分析是基于打算治疗的人群(定义为所有随机化的患者)。

[0129] 对各部分的 95%置信区间采用精确方法计算 (Pearson-Clopper)。

[0130] 无病存活率和总存活数的 Kaplan-Meier 曲线由处理组显示。运用描述统计学。漏失值没有被代替。

[0131] 采用时间对事件参数的 Cox 比例危险模型研究预测因素对无病存活率和总存活数两者可能的影响。目的是探究调整主要的预测因素后有统计显著性的敏感性。认为有可能的预测值的主要参数反映在 TNM 分类和研究项目的疾病阶段中。迄今为止研究项目定义三个高风险标准充分地反映了危险因素,其预测值在肾细胞癌中确定。

[0132] 进行美国和欧洲地点的分离分层法。

[0133] 当主要分析设定时利用打算治疗的人群对所有的效力进行分析并利用每个方案人群重复。

[0134] 第二统计分析试验在 5%的 α 水平下进行并被认为是探测性的,因此没有对多重性进行调整。

[0135] 参考文献

[0136] 1. Liao et al. Identification of the MN antigen as a diagnostic biomarker of cervical intraepithelial squamous and glandular neoplasia and cervical carcinomas. *Am J, Pathol.* 145, 598-609 (1994).

[0137] 2. Turner et al., *Hum. Pathol.* MN antigen expression in normal, preneoplastic, and neoplastic esophagus: a clinicopathological study of a new cancer-associated biomarker. 28, 740-744 (1997).

[0138] 3. Saarnio et al. Immunohistochemical study of colorectal tumors for expression of a novel transmembrane carbonic anhydrase, MN/CAIX, with potential value as a marker of cell proliferation. *Am. J. Pathol.* 153, 279-285 (1998).

[0139] 4. Vermylen et al. Carbonic anhydrase IX antigen differentiates between preneoplastic malignant lesions in non-small cell lung carcinoma. *Eur. Respir. J.* 14, 806-811 (1999).

[0140] 5. Saarnio et al. Transmembrane carbonic anhydrase, MN/CAIX, is a potential biomarker for biliary tumors. 35, 643-649 (2001).

[0141] 6. DeVita V. T. & Hellman, S. R. S. A. *Cancer: principles and practice of oncology.* Lippincott Williams & Wilkins (2001).

[0142] 7. Zisman, A. et al. Risk group assessment and clinical outcome algorithm to

predict the natural history of patients with surgically resected renal cell carcinoma. *J. Clin. Oncol.* 20,4559-4566(2002).

[0143] 8. Lipton, A. Effects of Renal Cell Carcinoma on the Skeleton. Perry, M. American Society of Clinical Oncology Educational Book(38th annual meeting), 633-634. 2002. American Society of Clinical Oncology.

[0144] 9. Pizzocaro, G. et al. Interferon adjuvant to radical nephrectomy in Robson stages II and III renal cell carcinoma: a multicentric randomized study. *J. Clin. Oncol.* 19,425-431(2001).

[0145] 10. Dutcher, J. P. Introduction to the session on integration of immunotherapy and surgery in metastatic renal cell carcinoma. Piantadosi, S. American Society of Clinical Oncology Educational Book(38th annual meeting), 630-632, 2002. American Society of Clinical Oncology.

[0146] 11. Sobin, L. & Wittekind, C. TNM Classification of Malignant Tumors, 6th edition. John Wiley & Sons(2002).

[0147] 12. Ficarra, V. et al. Prognostic factors in patients with renal cell carcinoma: retrospective analysis of 675 cases. *Eur. Urol.* 41,190-198(2002).

[0148] 13. Sanchez, d. I. M. et al. Renal cell carcinoma: vena caval invasion and prognostic factors. *Eur. Urol.* 19,284-290(1991).

[0149] 14. Hermanek, P. & Schrott, K. M. Evaluation of the new tumor, nodes and metastases classification of renal cell carcinoma. *J. Urol.* 144,238-241(1990).

[0150] 15. Mulders, P. F. & De Mulder, P. H. The role of adjuvant immunotherapy in renal cell carcinoma. *Curr. Urol. Rep.* 3,44-49(2002).

[0151] 16. Porzsolt, F. Adjuvant therapy of renal cell cancer with interferon-alpha. Delta-p gruppe. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* 11,202(1992).

[0152] 17. Lang, H. et al. Microscopic venous invasion: a prognostic factor in renal cell carcinoma. *Eur. Urol.* 38,600-605(2000).

[0153] 18. Van Poppel, H. et al. Microscopic vascular invasion is the most relevant prognosticator after radical nephrectomy for clinically non-metastatic renal cell carcinoma. *J. Urol.* 158,45-49(1997).

[0154] 19. Griffiths, D. F. et al. Contribution of grade, vascular invasion and age to outcome in clinically localized renal cell carcinoma. *BJU. Int.* 90,26-31(2002).

[0155] 20. Lau, W. K., Chevillat, J. C., Blute, M. L., Weaver, A. L. & Zincke, H. Prognostic features of pathologic stage T1 renal cell carcinoma after radical nephrectomy. *Urology* 59,532-537(2002).

[0156] 21. Fuhrman, S. A., Lasky, L. C. & Limas, C. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. *Am. J. Surg. Patholog.* 6, 655-663(1982).

[0157] 22. Oosterwijk, E. et al. Monoclonal antibody G 250 recognizes a determinant present in renal-cell carcinoma and absent from normal kidney. *Int. J. Cancer* 38,

489-494(1986).

[0158] 23. Oosterwijk, E. et al. Antibody localization in human renal cell carcinoma :a phase I study of monoclonal antibody G250. J. Clin. Oncol. 11, 738-750(1993).

[0159] 24. Steffens, M. G. et al. Targeting of renal cell carcinoma with iodine-131-labeled chimeric monoclonal antibody G250. J. Clin. Oncol. 15, 1529-1537(1997).

[0160] 25. Wiseman, G. A. Chimeric G250 monoclonal antibody (cG250) Phase I dose escalation trial in patients with advanced renal cell carcinoma (RCC). ASCO Meeting San Francisco May 2001 (2001).

[0161] 26. Beck, J. et al. A phase II trial with monoclonal antibody WX-G250 in advanced RCC. 2nd International Kidney Cancer Symposium Chicago 2001. 30-10-2001.

[0162] 27. Surfus, J. et al. Anti-renal-cell carcinoma chimeric antibody G250 facilitates antibody-dependent cellular cytotoxicity with in vitro and in vivo interleukin-2-activated effectors. J. Immunother. 19, 184-191(1996).

[0163] 28. Steffens, M. G. et al. Phase I radioimmunotherapy of metastatic renal cell carcinoma with 131I-labeled chimeric monoclonal antibody G250. Clin. Cancer Res. 5, 3268s-3274s(1999).

[0164] 29. Aaronson, N. K. et al. The European Organization for Research and Treatment of Cancer QLQ-C30 :a quality-of-life instrument for use in international clinical trials in oncology. J. Natl. Cancer Inst. 85, 365-376(1993).

[0165] 30. Fayers, P. M. et al. The EORTC QLQ-C30 Scoring Manual (3rd Edition). European Organisation for Research and Treatment of Cancer, Brussels (2001).

[0166] 31. Manual, Tumorzentrum München, 3. Edition 2003 W. Zuckschwerdt, München Wien New York Editor B. Liedl

[0167] 32. John N. Eble, M. D. and Stephan Storkel, M. D. on the USCAP web site 4/24/01 www.palpath.com.