



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 117243963 B

(45) 授权公告日 2024.08.13

(21) 申请号 202311177138.4  
(22) 申请日 2023.09.13  
(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 117243963 A

A61K 45/06 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01)  
A61P 35/02 (2006.01)  
C12N 5/09 (2010.01)

(43) 申请公布日 2023.12.19

(56) 对比文件

CN 114949230 A, 2022.08.30

(73) 专利权人 深圳大学  
地址 518061 广东省深圳市南山区南海大道3688号  
专利权人 深圳大学总医院

Jie Zi等.Targeting NAT10 Induces Apoptosis Associated With Enhancing Endoplasmic Reticulum Stress in Acute Myeloid Leukemia Cells.Frontiers in Oncology.2020,第第10卷卷第4页左栏第1段.

(72) 发明人 周景峰 李舒宜 苏永伟 王蕾  
陈菁鸿 于力

Jie Zi等.Targeting NAT10 Induces Apoptosis Associated With Enhancing Endoplasmic Reticulum Stress in Acute Myeloid Leukemia Cells.Frontiers in Oncology.2020,第第10卷卷第4页左栏第1段.

(74) 专利代理机构 北京预立生科知识产权代理有限公司 11736  
专利代理师 朱萍

审查员 李玉婷

(51) Int.Cl.  
A61K 31/635 (2006.01)  
A61K 31/426 (2006.01)

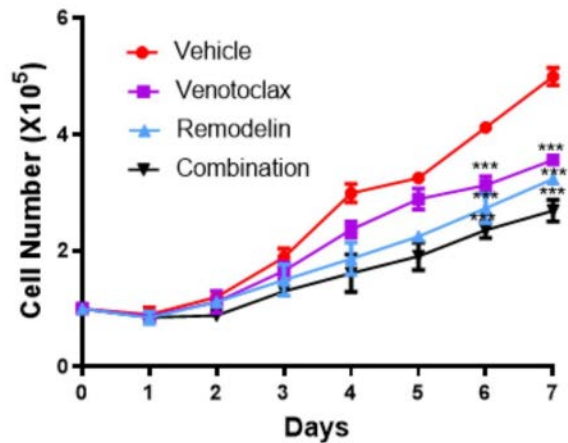
权利要求书2页 说明书6页 附图5页

(54) 发明名称

Remodelin与Venetoclax在治疗癌症中的应用

(57) 摘要

本发明属于医药领域,具体涉及Remodelin与Venetoclax在治疗癌症中的应用。本发明提供了venetoclax和Remodelin在制备治疗癌症的药物中的用途。通过体内外实验证明联合给药能够抑制癌细胞的活力和增殖,并且在动物实验中发现两药联合能显著延长小鼠生存期,缓解脾肿大,减少异常的原始细胞。



1. 一种具有预防、缓解并治疗癌症的药物联用组合物,所述药物联用组合物由以下组分组成:1) venetoclax及其药学上可接受的盐,和,2) Remodelin及其药学上可接受的盐; venetoclax及其药学上可接受的盐和Remodelin及其药学上可接受的盐的剂量比例为1:1。

2. 如权利要求1所述药物联用组合物,所述药物联用组合物还包括药学上可接受的辅料,所述药学上可接受的辅料包括赋形剂、粘合剂、润湿剂、崩解剂、乳化剂、助溶剂、增溶剂、渗透压调节剂、表面活性剂、包衣材料、着色剂、pH调节剂、抗氧剂、抑菌剂或缓冲剂中的任意一种或至少两种的组合。

3. 如权利要求1所述药物联用组合物,所述药物联用组合物经口、经鼻、静脉内、动脉内、皮内、皮下、肌内、腹膜内、胸膜内、阴道内、尿道内、瘤内、颅内、椎管内施用。

4. 如权利要求1所述药物联用组合物,所述药物联用组合物的剂型包括胶囊剂、片剂、丸剂、散剂、颗粒剂、乳液、溶液、悬浮液、糖浆或酞剂。

5. 如权利要求1所述药物联用组合物,所述药物联用组合物中venetoclax及其药学上可接受的盐和Remodelin及其药学上可接受的盐的剂型相同或不同。

6. 如权利要求1所述药物联用组合物,所述药物联用组合物中还包含以下任意一种或多种:阿霉素、长春新碱、长春瑞滨、紫杉醇、顺铂、放线菌素、博来霉素、白消安、卡培他滨、卡铂、卡莫司汀、苯丁酸氮芥、环磷酰胺、阿糖胞苷、柔红霉素、表阿霉素、依托泊甙、足叶乙甙、鬼臼乙叉甙、氟阿糖腺苷酸。

7. venetoclax和Remodelin在制备治疗癌症的药物中的用途,所述癌症是急性髓细胞性白血病,所述venetoclax和Remodelin的剂量比例为1:1。

8. 如权利要求7所述用途,所述治疗癌症的表现包括生存期延长、缓解脾肿大和异常的原始细胞减少。

9. 如权利要求7所述用途,所述癌症是以下亚型的急性髓细胞性白血病:inv (3)、inv (16)、t (8;21)、t (9;22) 和t (6;9)。

10. 如权利要求7所述用途,所述癌症是t (8;21) 亚型的急性髓细胞性白血病。

11. 如权利要求7所述用途,所述venetoclax和Remodelin,各自独立地,经口、经鼻、静脉内、动脉内、皮内、皮下、肌内、腹膜内、胸膜内、阴道内、尿道内、瘤内、颅内、椎管内施用。

12. 如权利要求7所述用途,所述venetoclax和Remodelin的剂型,各自独立地,包括胶囊剂、片剂、丸剂、散剂、颗粒剂、乳液、溶液、悬浮液、糖浆或酞剂。

13. 如权利要求7所述用途,所述venetoclax和Remodelin与其他抗癌药物、癌症治疗方式联用。

14. 如权利要求13所述用途,所述其他抗癌药物包括阿霉素、长春新碱、长春瑞滨、紫杉醇、顺铂、放线菌素、博来霉素、白消安、卡培他滨、卡铂、卡莫司汀、苯丁酸氮芥、环磷酰胺、阿糖胞苷、柔红霉素、表阿霉素、依托泊甙、足叶乙甙、鬼臼乙叉甙、氟阿糖腺苷酸。

15. 如权利要求13所述用途,其他癌症治疗方式包括化学疗法、放射疗法、免疫疗法、基因疗法、外科手术。

16. 抑制急性髓细胞性白血病细胞的细胞活力的方法,所述方法包括施用venetoclax和Remodelin的步骤,所述方法是非治疗目的的;所述venetoclax和Remodelin的剂量比例为1:1。

17. 如权利要求16所述方法,所述急性髓细胞性白血病细胞包括Kasumi-1、SKNO-1或来

自AML患者的细胞。

## Remodelin与Venetoclax在治疗癌症中的应用

### 技术领域

[0001] 本发明属于医药领域,具体涉及Remodelin与Venetoclax在治疗癌症中的应用。

### 背景技术

[0002] 白血病是我国十大高发恶性肿瘤之一,急性髓系白血病(Acute myeloid leukemia,AML)异质性大、发病机制复杂、进展迅速、复发耐药率高,治疗费用昂贵,给家庭和社会带来沉重的经济负担。

[0003] AML是一种异质性疾病,不同病人的AML细胞拥有不同组合的突变基因,例如IDH1、TET2、NPM1、CEBPA和RUNX1等点突变,以及一系列染色体结构变异(SV),如inv(3)、inv(16)、t(8;21)、t(9;22)和t(6;9)等。染色体易位是AML最常见的遗传学异常,所产生融合基因往往是AML发生和发展的重要驱动因素。其中t(8;21)(q22;q22)是临床上最常见染色体易位的类型,即易位导致位于8号染色体上的ETO基因与21号染色体上的AML1基因融合,形成了AML1-ETO融合基因(又称RUNX1-RUNX1T1融合基因),其表达生成的蛋白通过多种途径影响造血干细胞正常分化,导致髓系分化的阻滞,导致白血病的发生。t(8;21)AML占全部AML的12-15%,在M2型AML占比高达40%-60%。t(8;21)AML预后良好,整体缓解率高达60%。

[0004] 尽管如此,居高不下的耐药、复发率导致的长期生存率底下仍是临床面临的棘手难题,据美国国家癌症研究所监测数据显示,3年生存率不足35.5%。究其根本,白血病干细胞(leukemia stem cell,LSCs)的存在是AML耐药复发的根源。然而,t(8;21)AML白血病干细胞的调控机制尚未完全阐明,探索干细胞功能维持的调控机制,有助于深入认知t(8;21)AML耐药复发难治的机理,为临床诊治提供新的手段和策略。

[0005] 维奈克拉(Venetoclax,ABT-199)是一种新型的Bcl-2选择性抑制剂,又名维奈托克、维奈妥拉,可与阿扎胞苷、地西他滨或低剂量阿糖胞苷联合使用治疗75岁以上AML患者。虽然维奈克拉表现出良好的临床效果,然而,仍有部分AML患者在接受维奈克拉治疗后会出现复发、耐药并最终死亡。对维奈克拉表现出天然耐药或获得性耐药,这是临床应用维奈克拉治疗AML的巨大障碍。因此,进一步探讨维奈克拉的耐药机制,寻找新型的治疗策略,增强维奈克拉的抗AML活性,对于提高AML的治愈率具有特殊的重要性和迫切性。

### 发明内容

[0006] 本发明是首次提出venetoclax与remodelin联合给药治疗癌症,通过体内外实验证明联合给药能够抑制癌细胞的活力和增殖,并且在动物实验中发现两药联合能显著延长小鼠生存期,缓解脾肿大,减少异常的原始细胞。

[0007] 具体地,本发明提供以下技术方案:

[0008] 第一方面,本发明提供了一种具有预防、缓解并治疗癌症的药物联用组合物,所述药物联用组合物中包含:1) venetoclax及其药学上可接受的盐,和,2) Remodelin及其药学上可接受的盐。

[0009] 优选地,所述药物联用组合物还包括药学上可接受的辅料,所述药学上可接受的

辅料包括稀释剂、赋形剂、填充剂、粘合剂、润湿剂、崩解剂、乳化剂、助溶剂、增溶剂、渗透压调节剂、表面活性剂、包衣材料、着色剂、pH调节剂、抗氧化剂、抑菌剂或缓冲剂中的任意一种或至少两种的组合。

[0010] 本发明的药物联用组合物的剂型和施用方式没有特别限制。代表性的施用方式包括但并不限于：口服、瘤内、直肠、肠胃外（静脉内、肌肉内或皮下）注射、和局部给药。

[0011] 在一种具体地实施例中，用于口服给药的固体剂型包括胶囊剂、片剂、丸剂、散剂和颗粒剂。在这些固体剂型中，活性化合物与至少一种常规惰性赋形剂（或载体）混合，如柠檬酸钠或磷酸二钙，或与下述成分混合：(a) 填料或增容剂，例如，淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇和硅酸；(b) 粘合剂，例如，羟甲基纤维素、藻酸盐、明胶、聚乙烯基吡咯烷酮、蔗糖和阿拉伯胶；(c) 保湿剂，例如，甘油；(d) 崩解剂，例如，琼脂、碳酸钙、马铃薯淀粉或木薯淀粉、藻酸、某些复合硅酸盐、和碳酸钠；(e) 缓溶剂，例如石蜡；(f) 吸收加速剂，例如，季胺化合物；(g) 润湿剂，例如鲸蜡醇和单硬脂酸甘油酯；(h) 吸附剂，例如，高岭土；和(i) 润滑剂，例如，滑石、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、十二烷基硫酸钠，或其混合物。胶囊剂、片剂和丸剂中，剂型也可包含缓冲剂。固体剂型如片剂、糖丸、胶囊剂、丸剂和颗粒剂可采用包衣和壳材制备，如肠衣和其它本领域公知的材料。它们可包含不透明剂，并且，这种组合物中活性化合物或化合物的释放可以延迟的方式在消化道内的某一部分中释放。可采用的包埋组分的实例是聚合物物质和蜡类物质。必要时，活性化合物也可与上述赋形剂中的一种或多种形成微胶囊形式。

[0012] 在一种具体地实施例中，用于口服给药的液体剂型包括药学上可接受的乳液、溶液、悬浮液、糖浆或酞剂。除了活性化合物外，液体剂型可包含本领域中常规采用的惰性稀释剂，如水或其它溶剂，增溶剂和乳化剂，具体例如，乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、丙二醇、1,3-丁二醇、二甲基甲酰胺以及油，特别是棉籽油、花生油、玉米胚油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油或这些物质的混合物。除了这些惰性稀释剂外，组合物也可包含助剂，如润湿剂、乳化剂和悬浮剂、甜味剂、矫味剂和香料。如悬浮液可包含悬浮剂，具体例如，乙氧基化异十八烷醇、聚氧乙烯山梨醇和脱水山梨醇酯、微晶纤维素、甲醇铝和琼脂或这些物质的混合物。

[0013] 在一种具体地实施例中，用于肠胃外注射的组合物可包含生理上可接受的无菌含水或无水溶液、分散液、悬浮液或乳液，以及用于重新溶解成无菌的可注射溶液或分散液的无菌粉末。适宜的含水或非水载体、稀释剂、溶剂或赋形剂包括水、乙醇、多元醇及其适宜的混合物。

[0014] 在一种具体地实施例中，用于局部给药的剂型包括软膏剂、散剂、贴剂、喷射剂和吸入剂。由活性成分在无菌条件下与药学上可接受的载体及任何防腐剂、缓冲剂，或必要时可能需要的推进剂一起混合而成。

[0015] 优选地，所述药物联用组合物可以通过口服施用。

[0016] 优选地，所述药物联用组合物的剂型包括胶囊剂、片剂、丸剂、散剂、颗粒剂、乳液、溶液、悬浮液、糖浆或酞剂。

[0017] 在一种具体地实施例中，所述药物联用组合物中1) venetoclax及其药学上可接受的盐，和，2) Remodelin及其药学上可接受的盐的剂型相同或不同。

[0018] 在一种具体地实施例中，所述药物联用组合物中1) venetoclax及其药学上可接受

的盐,和,2)Remodelin及其药学上可接受的盐同时或相继施用,具体地,可以间隔0、1、2、3、4、5、6、7或更多天施用。

[0019] 在一种具体地实施例中,所述药物联用组合中1)venetoclax及其药学上可接受的盐,和,2)Remodelin及其药学上可接受的盐的剂量比例是1:0.1-2;具体包括3:1、2:1、1:1、1:2、1:3。

[0020] 优选地,所述药物联用组合中两种主要活性成分的质量比为1:1。

[0021] 最优选地,所述venetoclax的有效剂量是100-600mg/日。

[0022] 最优选地,所述Remodelin的有效剂量是100-600mg/日。

[0023] 优选地,所述药物联用组合中还可以包含其他癌症药物,例如阿霉素、长春新碱、长春瑞滨、紫杉醇、顺铂、放线菌素、博来霉素、白消安、卡培他滨、卡铂、卡莫司汀、苯丁酸氮芥、环磷酰胺、阿糖胞苷、柔红霉素、表阿霉素、依托泊甙、足叶乙甙、鬼臼乙叉甙、氟阿糖腺苷酸等。

[0024] 另一方面,本发明提供了venetoclax和Remodelin在制备治疗癌症的药物中的用途。

[0025] 具体地,所述治疗癌症的表现包括生存期延长、缓解脾肿大、异常的原始细胞减少。

[0026] 优选地,venetoclax和Remodelin同时或相继施用;

[0027] 优选地,所述venetoclax和Remodelin还可以与其他抗癌药物、癌症治疗方式联用。

[0028] 具体地,所述其他抗癌药物例如阿霉素、长春新碱、长春瑞滨、紫杉醇、顺铂、放线菌素、博来霉素、白消安、卡培他滨、卡铂、卡莫司汀、苯丁酸氮芥、环磷酰胺、阿糖胞苷、柔红霉素、表阿霉素、依托泊甙、足叶乙甙、鬼臼乙叉甙、氟阿糖腺苷酸等。其他癌症治疗方式例如:化学疗法、放射疗法、免疫疗法、基因疗法、外科手术等。

[0029] 如本领域技术人员所熟知,所述venetoclax和所述Remodelin的有效剂量(施用剂量)根据施用途径、赋形剂的使用以及与其它治疗方式的共同施用而变化。

[0030] 另一方面,本发明提供了Remodelin在制备治疗癌症、降低venetoclax毒副作用的产品中的应用。

[0031] 另一方面,本发明还提供了一种治疗癌症的方法,所述方法包括向癌症患者施用Remodelin和venetoclax。

[0032] 本发明所述癌症的实例包括但不限于宫颈癌、精原细胞瘤、睾丸淋巴瘤、前列腺癌、卵巢癌、肺癌(例如,小细胞肺癌SCLC、非小细胞肺癌NSCLC、肺腺癌)、直肠癌、乳腺癌、皮肤鳞状细胞癌、结肠癌、肝癌、胰腺癌、食管癌、甲状腺癌、膀胱移行上皮癌、白血病(例如,急性淋巴细胞性白血病ALL、急性髓细胞性白血病AML、慢性髓细胞性白血病CML、慢性淋巴细胞性白血病CLL)、脑瘤、胃癌、腹膜癌、头颈癌、子宫内膜癌、肾癌、雌性生殖道癌、原位癌、神经纤维瘤、骨癌、皮肤癌、胃肠道间质瘤、肥大细胞肿瘤、多发性骨髓瘤、黑色素瘤、胶质瘤。

[0033] 优选地,本发明所述癌症是急性髓系白血病,所述急性髓系白血病(AML)是一组造血组织来源的恶性克隆性疾病,其特征为异常原始细胞的堆积以及正常血细胞的生成及分化障碍。

[0034] 优选地,所述癌症是急性髓细胞性白血病AML。

- [0035] 优选地,所述癌症是以下亚型的AML:inv(3)、inv(16)、t(8;21)、t(9;22)和t(6;9)。
- [0036] 更优选地,所述癌症是t(8;21)亚型的AML,也即带有8:21号染色体转位的AML。
- [0037] 更优选地,所述AML包括复发性AML、难治性AML。
- [0038] 本发明所述术语“Venetoclax(维奈妥拉、维奈托克、凡托克斯、ABT-199、GDC-0199)”是全球第一个针对蛋白-蛋白相互作用(PPI)的小分子抑制剂,是一种高效、有选择性和口服活性的小分子Bcl-2抑制剂,其能够和Bcl-2的疏水凹槽结合,破坏Bcl-2分子与促凋亡蛋白(如Bax)的相互作用。本发明所述Venetoclax包括Venetoclax药学上可接受的盐。
- [0039] 本发明所述术语“Remodelin(Histone Acetyltransferase抑制剂)”化学名为4-(N,N-二甲基氨基)偶氮苯-4'-异硫氰酸酯,是一种已知有效的acetyl-transferase NAT10抑制剂。本发明所述Remodelin包括Remodelin药学上可接受的盐。
- [0040] 另一方面,本发明提供了抑制AML细胞的细胞活力的方法,所述方法包括施用venetoclax和Remodelin的步骤。
- [0041] 优选地,所述方法是非治疗目的的。
- [0042] 更具体地,所述AML细胞包括Kasumi-1、SKNO-1或来自AML患者的细胞。
- [0043] 有益效果:
- [0044] 本发明提供的将venetoclax与Remodelin联合给药的方式,既减少venetoclax的剂量减少毒副作用,又达到协同治疗的效果。

#### 附图说明

- [0045] 图1是Kasumi-1细胞中验证venetoclax和Remodelin协同效果的结果。
- [0046] 图2是SKNO-1细胞中验证venetoclax和Remodelin协同效果的结果。
- [0047] 图3是AML临床样本细胞中验证venetoclax和Remodelin协同效果的结果。
- [0048] 图4是药物治疗后小鼠脾脏代表图。
- [0049] 图5是药物治疗后脾脏重量的统计结果图。
- [0050] 图6是使用流式检测小鼠骨髓中白血病细胞数量的统计结果图。
- [0051] 图7是治疗后AML小鼠的生存曲线图。
- [0052] 图8是小鼠尾巴外周血涂片的吉姆萨染色结果图。
- [0053] 图9是HE染色结果图。

#### 具体实施方式

[0054] 下面结合实施例对本发明做进一步的说明,以下所述,仅是对本发明的较佳实施例而已,并非对本发明做其他形式的限制,任何熟悉本专业的技术人员可能利用上述揭示的技术内容加以变更为同等变化的等效实施例。凡是未脱离本发明方案内容,依据本发明的技术实质对以下实施例所做的任何简单修改或等同变化,均落在本发明的保护范围内。

[0055] 实施例1、使用MTS法测定两种药物的联合效果

[0056] 操作步骤:

[0057] 计数细胞,确保细胞活率大于95%,用培养基将细胞浓度调整为 $4 \times 10^5$ /ml。每孔体积:50 $\mu$ l,即每孔细胞数: $2 \times 10^4$ 个。

[0058] 按照药物的溶解度,用RPMI-1640培养基将Remodelin进行倍比稀释,终浓度为0、1.25、2.5、5、10、20、40 $\mu\text{M}$ ;将Venetoclax也进行倍比稀释,由于不同细胞对药物敏感性不同,Kasumi-1细胞设置为0、12.5、25、50、100、200nM,SKNO-1设置为0、0.5、1、2、4、8 $\mu\text{M}$ 。

[0059] 分别将25 $\mu\text{l}$ 药物Venetoclax和Remodelin加入到96孔板对应的孔中,使总体积变成100 $\mu\text{l}$ 。每个浓度设置4个副孔。单药孔补加25 $\mu\text{L}$ RPMI-1640培养基,对照孔补加50 $\mu\text{L}$ 培养基。

[0060] 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱培养68h,加10 $\mu\text{L}$  MTS混合液(MTS:PMS=20:1),处理4h。用酶标仪读取OD<sub>490</sub>值。

[0061] 用GraphPad Prism软件计算出IC<sub>50</sub>值(对细胞达到50%抑制时的药物浓度)并做出标准等效线图,评估两种药物的联合效果。

[0062] 实验结果:

[0063] 结果如图1-2所示,图中的点表示:在venetoclax一定浓度下,Remodelin的IC50值。图中“点”落在斜线下方代表两药联合具有协同效果,落在斜线上代表两药联合具有叠加效果,落在斜线外代表两药联合具有拮抗效果。结果表明Remodelin联合Venetoclax能够协同抑制AML细胞的活力,两药联合具有协同抗AML活性。

[0064] 实施例2、在AML临床样本细胞中验证venetoclax和Remodelin的协同效果

[0065] 操作步骤:

[0066] 计数细胞,确保细胞活率大于95%,用培养基将细胞浓度调整为 $2 \times 10^6/\text{ml}$ ,500 $\mu\text{l}$ 体系。设置成4组,分为为vehicle,Remodelin,Venetoclax,Remodelin和Venetoclax联合组。

[0067] 加入Remodelin,调整最终浓度为10 $\mu\text{M}$ ,加入Venetoclax,调整最终浓度为200nM,将孔板中的细胞与药物充分混匀。

[0068] 药物作用24h后,开始计数。用台盼蓝染料连续7天计数,用GraphPad Prism软件统计,评估两种药物的联合对AML细胞增殖的影响。

[0069] 实验结果:

[0070] 结果如图3所示,图中的点表示,每日统计的细胞数目,在t(8;21)AML样本中给予Remodelin和Venetoclax两种药物后,连续使用台盼蓝动态7天计数测定细胞增殖能力。 $*P < 0.05$ , $**P < 0.01$ , $***P < 0.001$ ;one-way ANOVA,post hoc comparisons,Tukey's test。这部分结果表明Remodelin联合Venetoclax能够协同抑制AML细胞增殖,并且效果优于单药。

[0071] 实施例3、在动物模型中验证venetoclax和Remodelin的协同效果

[0072] 药物配制:

[0073] Remodelin:工作液浓度10mg/ml,配方:20%DMSO+65%PEG300+15%TWEEN 80;先配置母液50mg/ml,取400mg药物溶于8000 $\mu\text{l}$  DMSO溶液,分装成800 $\mu\text{l}$ /支,冻于-80 $^{\circ}\text{C}$ ,待用时取800 $\mu\text{l}$  DMSO母液,加入2600 $\mu\text{l}$ PEG300,待混匀澄清后加入600 $\mu\text{l}$  TWEEN80,混匀后即可用。

[0074] Venetoclax:工作液浓度10mg/ml,配方:5%DMSO+50%PEG300+5%TWEEN80+40%ddH<sub>2</sub>O;先配置母液200mg/ml,取400mg药物溶于2000 $\mu\text{l}$ DMSO溶液,分装成200 $\mu\text{l}$ /支,冻于-80 $^{\circ}\text{C}$ ,待用时取200 $\mu\text{l}$  DMSO母液,加入2000 $\mu\text{l}$  PEG300,待混匀澄清后加入200 $\mu\text{l}$  TWEEN80,混匀后加入1600 $\mu\text{l}$ ddH<sub>2</sub>O即可用。



[0075] 操作步骤:

[0076] 取6-8周龄,体重18-22g的C57BL/6J雄性小鼠3只,雌性小鼠6只,过夜交配后检控,14.5天后断颈处死雌鼠取胎肝细胞,使用MSCV-AML-ET09a-IRES-tNGFR逆转录病毒(AML1-ET09a异构体为导致t(8;21)AML发生的融合基因)感染细胞2次,裂解红细胞,计数细胞 $1 \times 10^6$ 个,尾静脉注射至750cGy辐照过的受体鼠体内。

[0077] 等待21天小鼠发生白血病后,安乐死小鼠,取小鼠脾脏和骨髓细胞,计数细胞 $1 \times 10^6$ 个,将细胞移植到450cGy辐照的受体鼠体内。

[0078] 将小鼠分为4组,分别为vehicle,Remodelin,Venetoclax,Remodelin和Venetoclax联合组,一组6只。第二天开始以灌胃方式给药治疗,Remodelin100mg/kg,Venetoclax 100mg/kg,连续给药14天。其中一半小鼠安乐死后,解剖,收取骨髓和脾脏细胞,流式染色,HE染色观察脾脏变化。另一半小鼠继续细心照看,监测小鼠生存期。

[0079] 实验结果:

[0080] 图4:药物治疗后小鼠脾脏代表图。图5:药物治疗后脾脏重量。图6:使用流式检测小鼠骨髓中白血病细胞。图7:治疗后连续观察,统计AML小鼠的生存情况。用Kaplan-Merier绘制生存曲线图8:从小鼠尾巴取外周血涂片,吉姆萨染色,观察原始细胞比率。图9:HE染色观察脾脏病变。\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ,\*\*\* $P < 0.001$ 。

[0081] 本部分结果表明,两种药物联合治疗后小鼠的生存期延长,使骨髓中的白血病细胞减少。外周血涂片可见,Vehicle组和venetoclax组可见原始粒细胞,早幼粒细胞,而remodelin组和联合给药组则见成熟粒细胞。两种药物都能缓解AML小鼠脾肿大,减少病变,联合效果更好。

### Kasumi-1 (72 h)

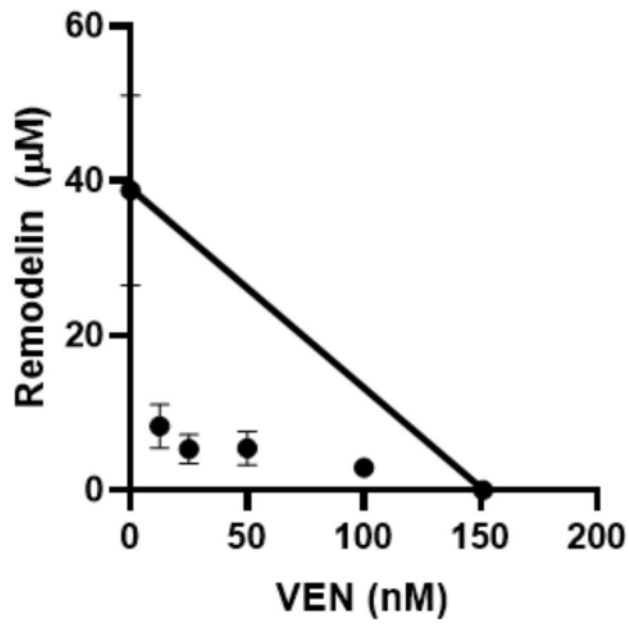


图1

### SKNO-1 (72h)

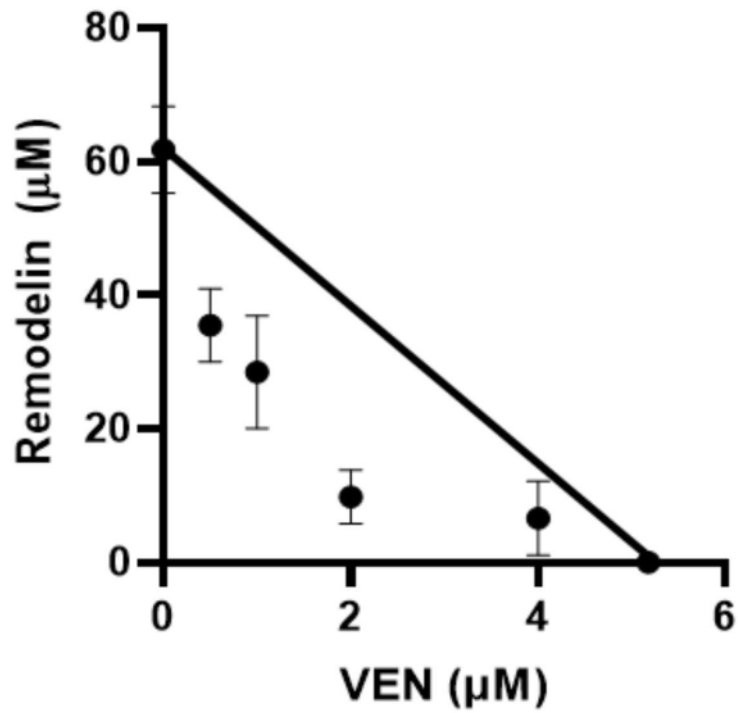


图2

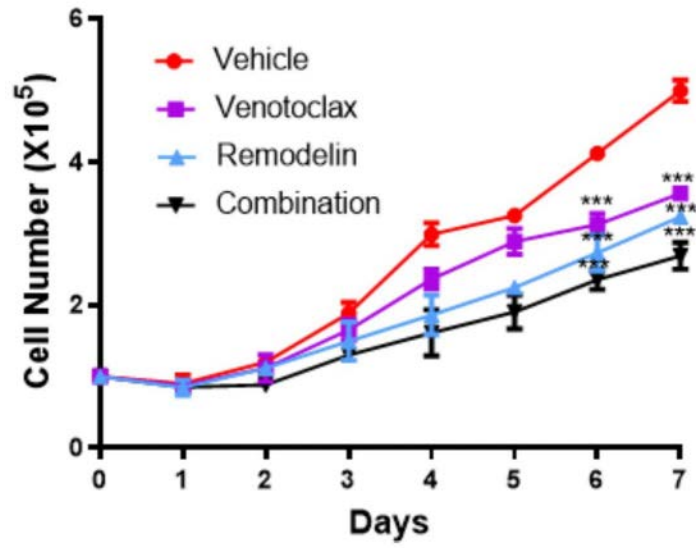


图3

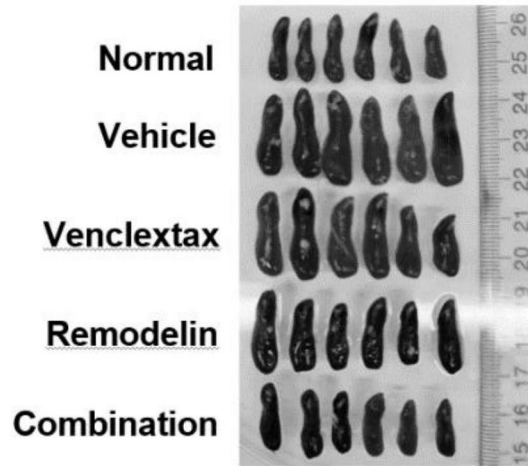


图4

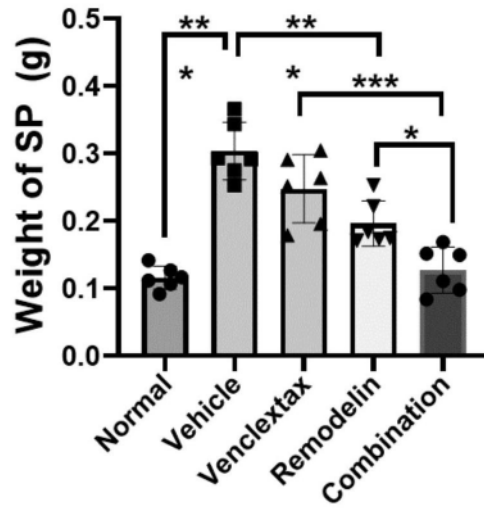


图5

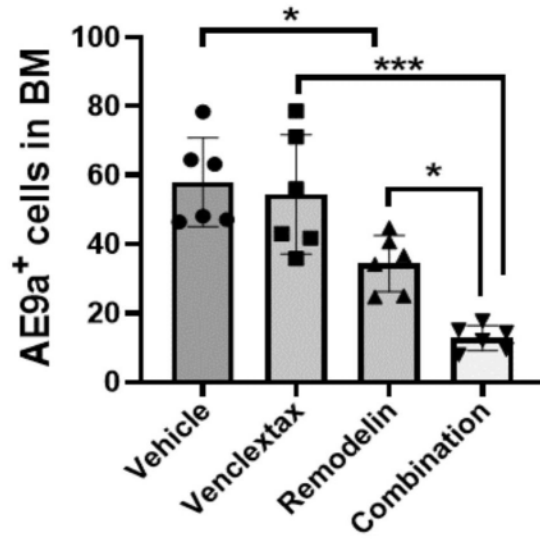


图6

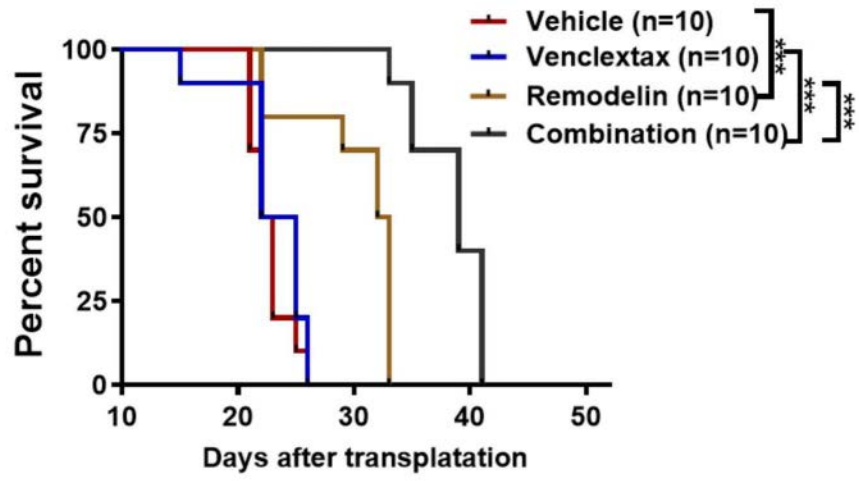


图7

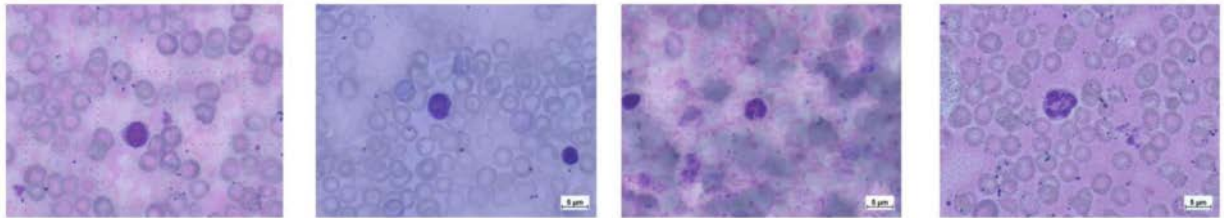


图8

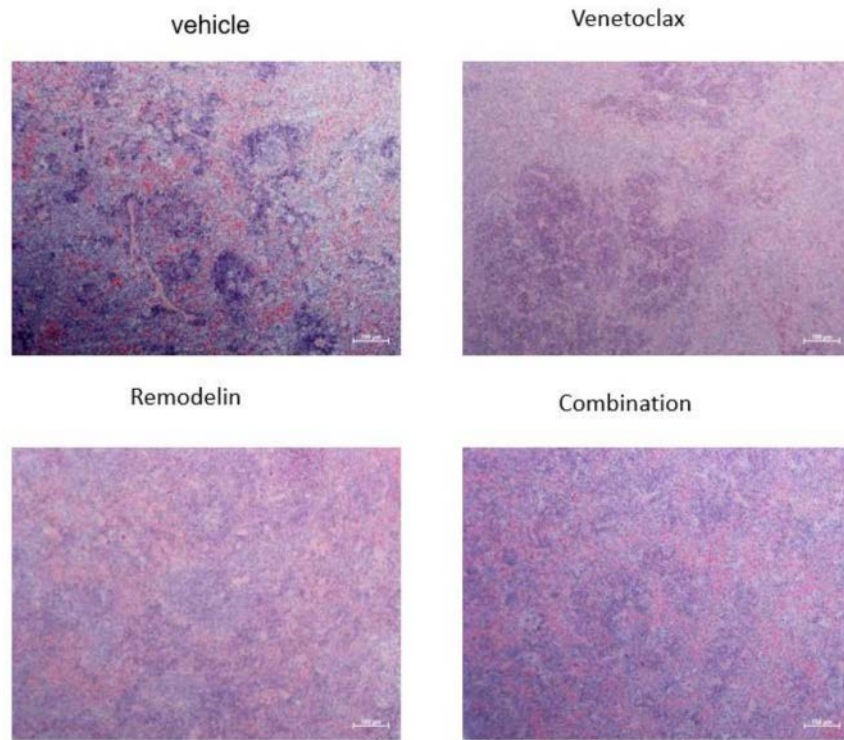


图9