202133854

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202133854 A

(43)公開日： 中華民國 110 (2021) 年 09 月 16 日

(21)申請案號：109138275 (22)申請日： 中華民國 109 (2020) 年 11 月 03 日

(51)Int. Cl.： *A61K31/519 (2006.01)* *A61K31/7088 (2006.01)*
A61K31/7125 (2006.01) *A61P35/02 (2006.01)*

(30)優先權：2019/11/04 美國 62/930,251

(71)申請人：美商傑龍公司 (美國) GERON CORPORATION (US)
美國
王 曉麗 (美國) WANG, XIAOLI (US)
美國

(72)發明人：黃 菲 HUANG, FEI (US) ；王 曉麗 WANG, XIAOLI (US)

(74)代理人：何愛文；王仁君

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：127 項 圖式數：12 共 86 頁

(54)名稱

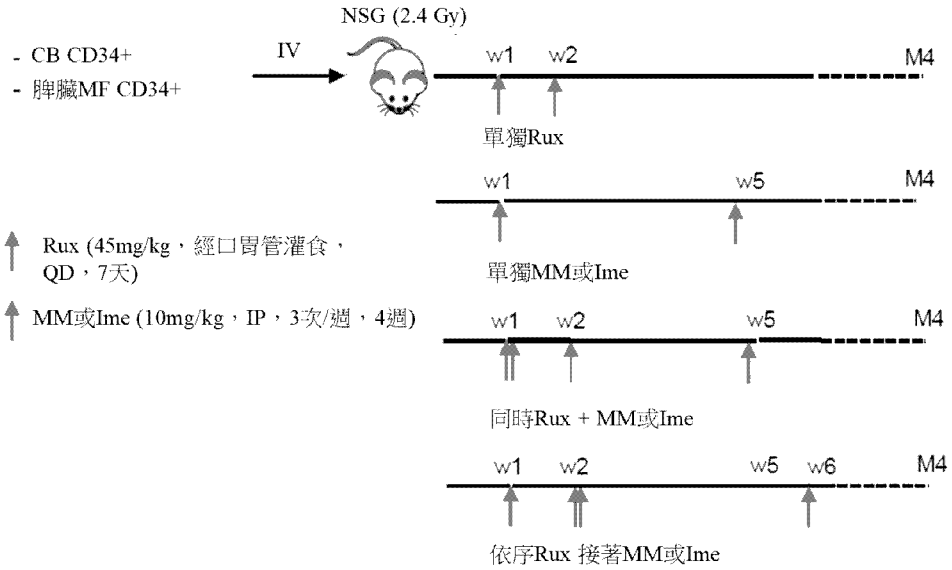
詹納斯(JANUS)激酶抑制劑及端粒酶抑制劑於治療骨髓增生性腫瘤之用途

(57)摘要

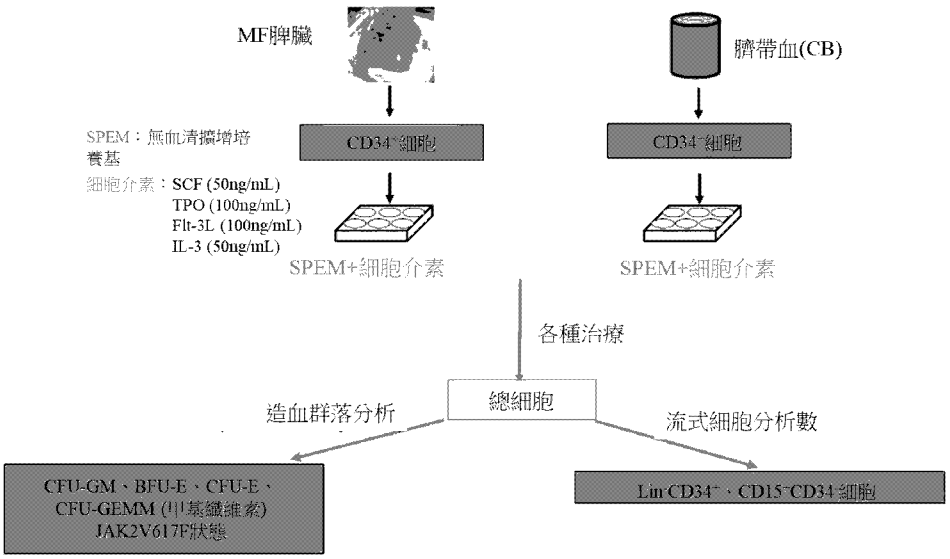
本發明之態樣包括治療骨髓增生性腫瘤的方法。依據某些態樣，方法包括向個體共投與詹納斯激酶(Janus kinase, JAK)抑制劑以及端粒酶抑制劑，該端粒酶抑制劑包含寡核苷酸與連接至寡核苷酸之 5’ 及/或 3’ 端的脂質部分。還描述了透過使細胞與足以誘導凋亡之量的 JAK 抑制劑和端粒酶抑制劑接觸來誘導骨髓增生性腫瘤細胞凋亡的方法。還提供了用於實施本發明方法的具有 JAK 抑制劑和端粒酶抑制劑的組成物。

Aspects of the disclosure include methods for treating a myeloproliferative neoplasm. Methods according to certain embodiments include co-administering to a subject a Janus kinase (JAK) inhibitor and a telomerase inhibitor comprising an oligonucleotide and a lipid moiety linked to the 5’ and/or 3’ end of the oligonucleotide. Methods for inducing apoptosis of a myeloproliferative neoplasm cell by contacting the cell with an amount of a JAK inhibitor and a telomerase inhibitor sufficient to induce apoptosis are also described. Compositions having a JAK inhibitor and a telomerase inhibitor for practicing the subject methods are also provided.

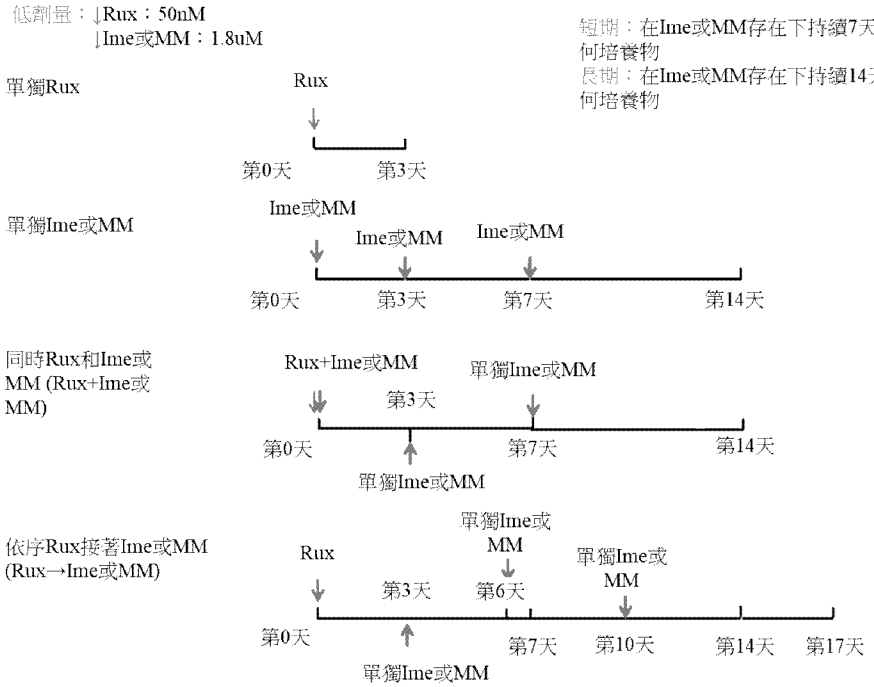
指定代表圖：


NSG (2.4 Gy)
- CB CD34+
- 脾臟MF CD34+
IV
w1
w2
M4
單獨Rux
w1
w5
M4
單獨MM或Ime
Rux (45mg/kg，經口胃管灌食，QD，7天)
MM或Ime (10mg/kg，IP，3次/週，4週)
w1
w2
w5
M4
同時Rux + MM或Ime
w1
w2
w5
w6
M4
依序Rux 接著MM或Ime

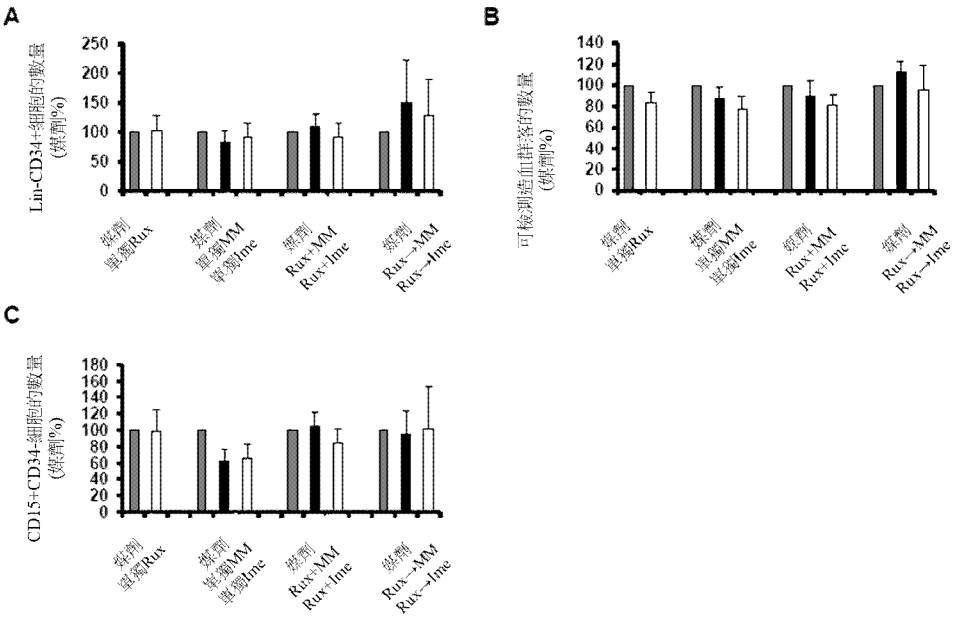
【圖1】


MF脾臟
臍帶血(CB)
SPEM：無血清擴增培養基
細胞介素：SCF (50ng/mL)
TPO (100ng/mL)
Flt-3L (100ng/mL)
IL-3 (50ng/mL)
CD34+細胞
CD34+細胞
SPEM+細胞介素
SPEM+細胞介素
各種治療
總細胞
造血群落分析
流式細胞分析數
CFU-GM、BFU-E、CFU-E、CFU-GEMM (甲氨蝶呤素)
JAK2V617P狀態
Lin-CD34+、CD15+CD34+細胞

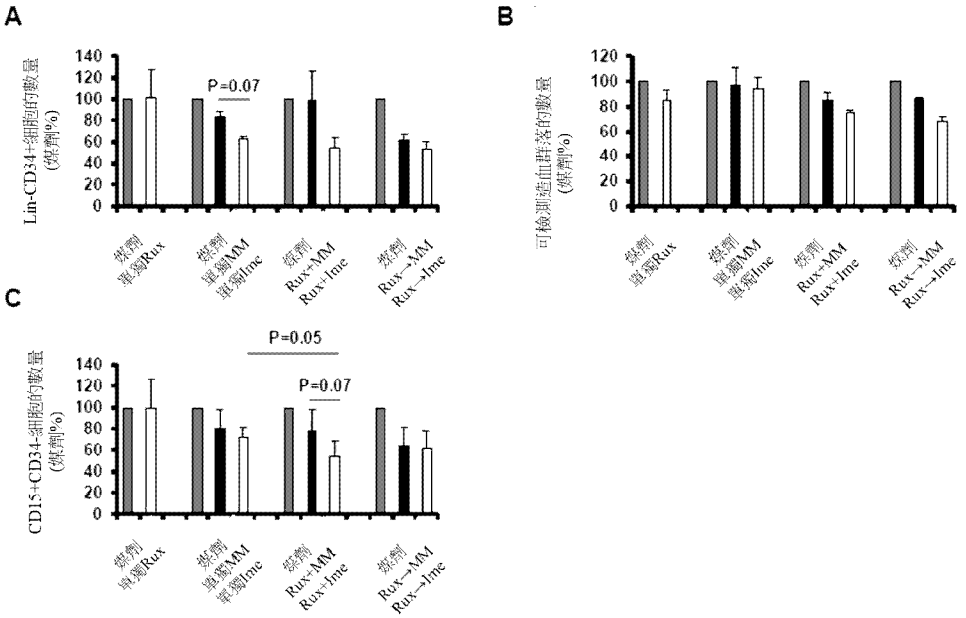
【圖 2】


低劑量：↓Rux：50nM
↓Ime或MM：1.8uM
短期：在Ime或MM存在下持續7天的任何培養物
長期：在Ime或MM存在下持續14天的任何培養物
單獨Rux
Rux
第0天
第3天
單獨Ime或MM
Ime或MM
Ime或MM
Ime或MM
第0天
第3天
第7天
第14天
同時Rux和Ime或MM (Rux+Ime或MM)
Rux+Ime或MM
單獨Ime或MM
第3天
第0天
第7天
第14天
單獨Ime或MM
依序Rux接著Ime或MM (Rux→Ime或MM)
Rux
單獨Ime或MM
第3天
第6天
單獨Ime或MM
第0天
第7天
第10天
第14天
第17天
單獨Ime或MM

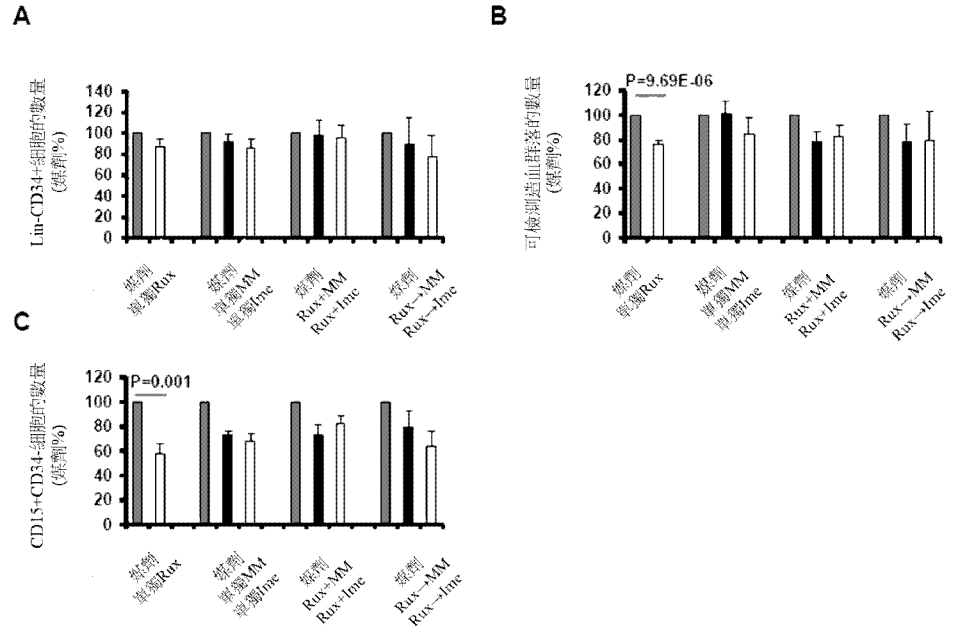
【圖 3】


A
Lin-CD34+細胞的數量 (媒劑%)
250
200
150
100
50
0
媒劑 單獨Rux
媒劑 單獨MM 單獨Ime
媒劑 Rux+MM Rux+Ime
媒劑 Rux→MM Rux→Ime
B
可檢測造血群落的數量 (媒劑%)
140
120
100
80
60
40
20
0
媒劑 單獨Rux
媒劑 單獨MM 單獨Ime
媒劑 Rux+MM Rux+Ime
媒劑 Rux→MM Rux→Ime
C
CD15+CD34+細胞的數量 (媒劑%)
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
媒劑 單獨Rux
媒劑 單獨MM 單獨Ime
媒劑 Rux+MM Rux+Ime
媒劑 Rux→MM Rux→Ime

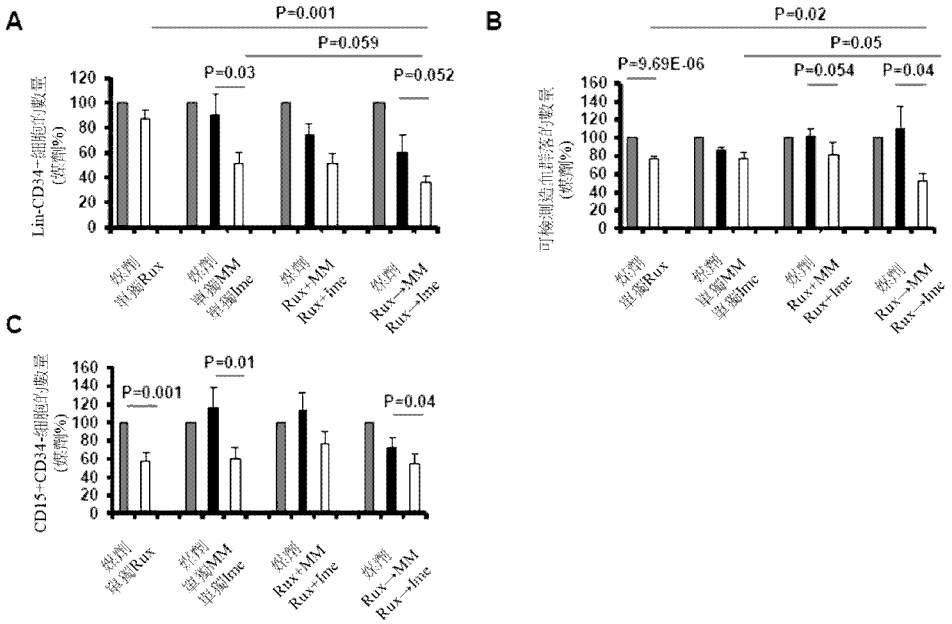
【圖 4】


A
Lin-CD34+細胞的數量
(媒劑%)
P=0.07
B
可檢測造血群落的數量
(媒劑%)
C
CD15+CD34-細胞的數量
(媒劑%)
P=0.05
P=0.07
媒劑
單獨Rux
單獨MM
單獨Ime
Rux+MM
Rux+Ime
Rux→MM
Rux→Ime

【圖 5】


A
Lin-CD34+細胞的數量
(媒劑%)
B
可檢測造血群落的數量
(媒劑%)
P=9.69E-06
C
CD15+CD34-細胞的數量
(媒劑%)
P=0.001
媒劑
單獨Rux
單獨MM
單獨Ime
Rux+MM
Rux+Ime
Rux→MM
Rux→Ime

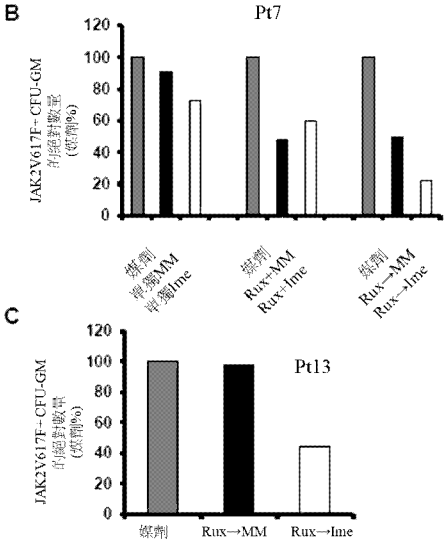
【圖 6】



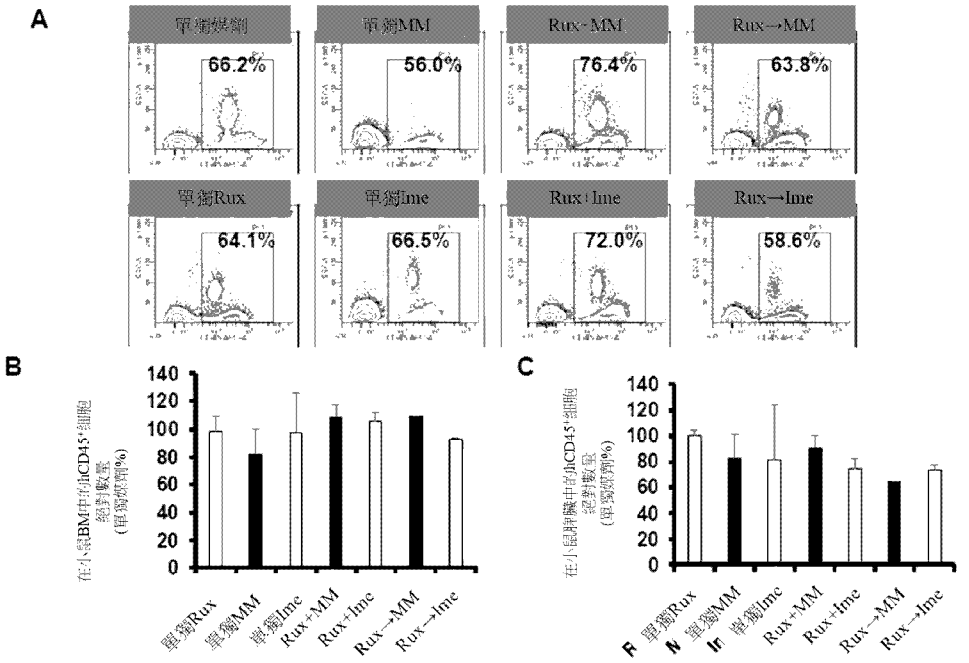
【圖 7】

A

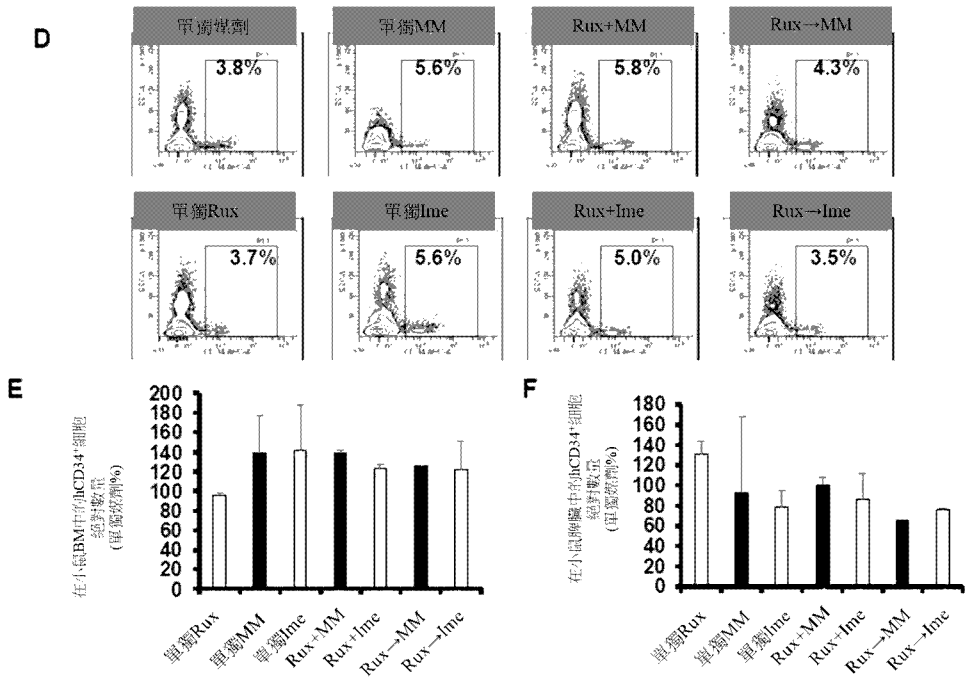
Pt#	治療	% JAK2V617F + CFU-GM
Pt 7	單獨媒劑	65.7
	單獨MM (14天)	86.5
	單獨Ime (14天)	68.6
	Rux (3天)+MM (14天)	79.3
	Rux (3天)+Ime (14天)	81.1
	單獨媒劑	94.2
	Rux (3天)+MM (14天)	88.9
	Rux (3天)+Ime (14天)	75
Pt 13	單獨媒劑	93.8
	Rux (3天)+MM (14天)	100
	Rux (3天)+Ime (14天)	100



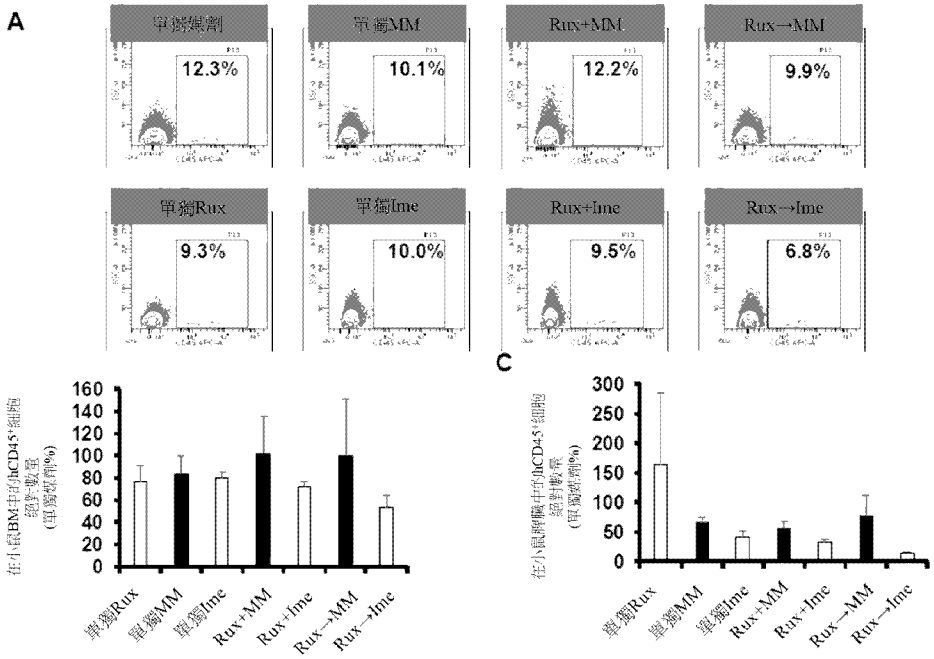
【圖 8】


A
單獨媒劑
66.2%
單獨MM
56.0%
Rux+MM
76.4%
Rux→MM
63.8%
單獨Rux
64.1%
單獨Ime
66.5%
Rux+Ime
72.0%
Rux→Ime
58.6%
B
在小鼠BM中的hCD45+細胞絕對數量（單獨媒劑%）
140
120
100
80
60
40
20
0
單獨Rux
單獨MM
單獨Ime
Rux+MM
Rux+Ime
Rux→MM
Rux→Ime
C
在小鼠脾臟中的hCD45+細胞絕對數量（單獨媒劑%）
140
120
100
80
60
40
20
0
單獨Rux
單獨MM
單獨Ime
Rux+MM
Rux+Ime
Rux→MM
Rux→Ime

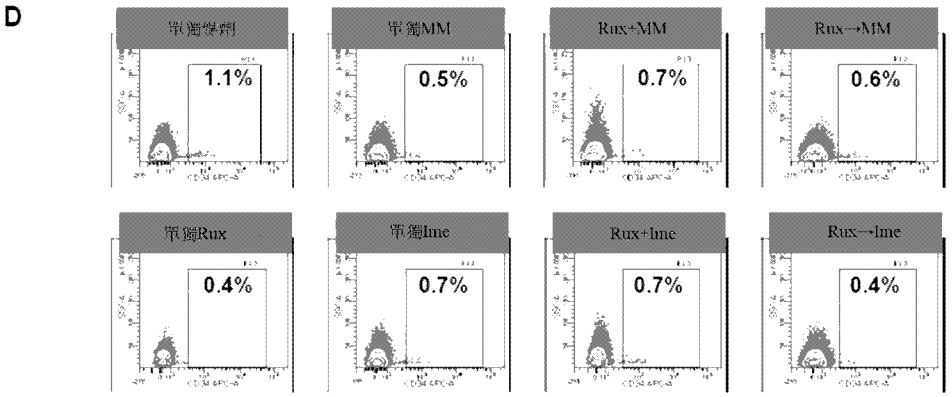
【圖 9】


D
單獨媒劑
3.8%
單獨MM
5.6%
Rux+MM
5.8%
Rux→MM
4.3%
單獨Rux
3.7%
單獨Ime
5.6%
Rux+Ime
5.0%
Rux→Ime
3.5%
E
在小鼠BM中的hCD34+細胞絕對數量（單獨媒劑%）
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
單獨Rux
單獨MM
單獨Ime
Rux+MM
Rux+Ime
Rux→MM
Rux→Ime
F
在小鼠脾臟中的hCD34+細胞絕對數量（單獨媒劑%）
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
單獨Rux
單獨MM
單獨Ime
Rux+MM
Rux+Ime
Rux→MM
Rux→Ime

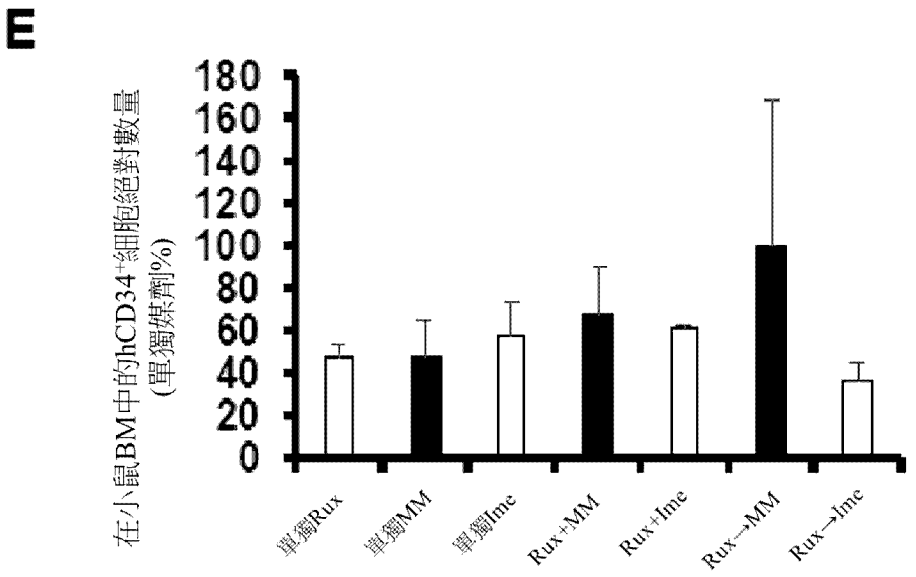
【圖 9】


A
單獨媒劑
12.3%
單獨MM
10.1%
Rux+MM
12.2%
Rux→MM
9.9%
單獨Rux
9.3%
單獨Ime
10.0%
Rux+Ime
9.5%
Rux→Ime
6.8%
B
在小鼠BM中的hCD45+細胞
絕對數量
(單獨媒劑%)
160
140
120
100
80
60
40
20
0
單獨Rux
單獨MM
單獨Ime
Rux+MM
Rux+Ime
Rux→MM
Rux→Ime
C
在小鼠脾臟中的hCD45+細胞
絕對數量
(單獨媒劑%)
300
250
200
150
100
50
0
單獨Rux
單獨MM
單獨Ime
Rux+MM
Rux+Ime
Rux→MM
Rux→Ime

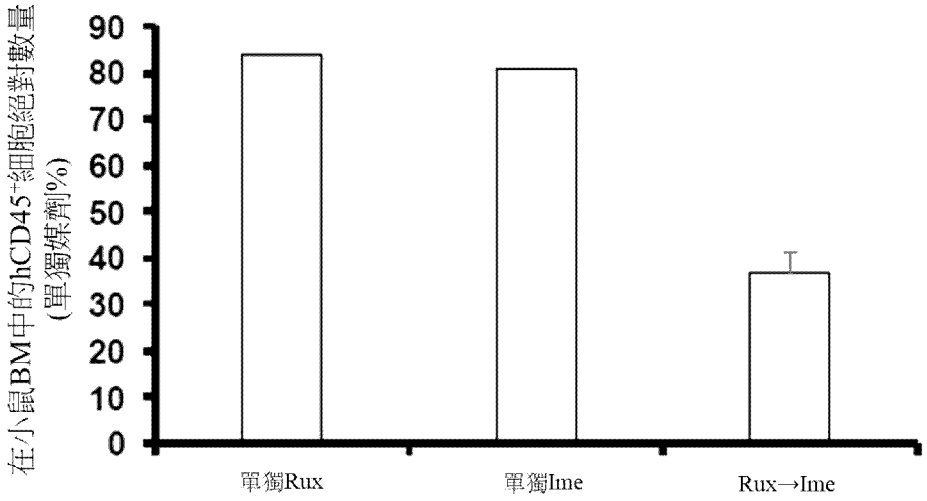
【圖 10】


D
單獨媒劑
1.1%
單獨MM
0.5%
Rux+MM
0.7%
Rux→MM
0.6%
單獨Rux
0.4%
單獨Ime
0.7%
Rux+Ime
0.7%
Rux→Ime
0.4%

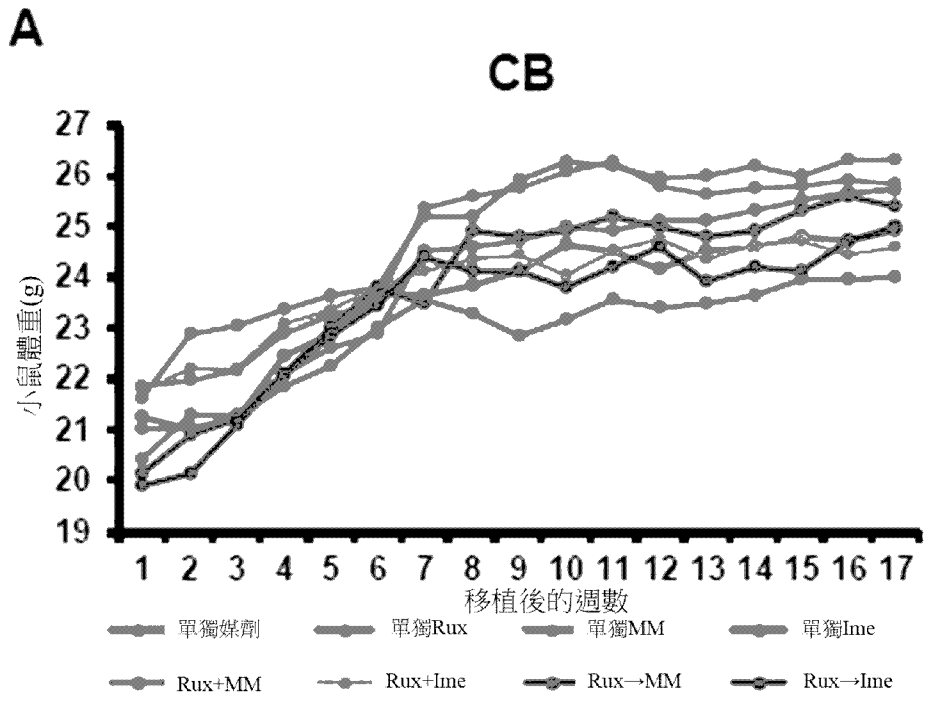
【圖 10】


E
在小鼠BM中的hCD34+細胞絕對數量
(單獨媒劑%)
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
單獨Rux
單獨MM
單獨Ime
Rux+MM
Rux+Ime
Rux→MM
Rux→Ime

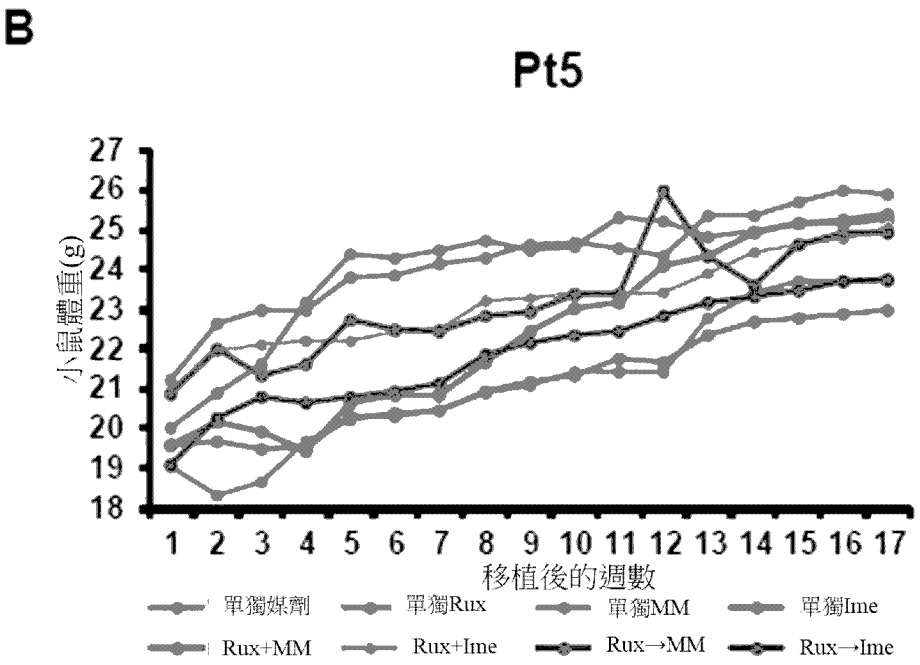
【圖 10】


在小鼠BM中的hCD45+細胞絕對數量
(單獨媒劑%)
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
單獨Rux
單獨Ime
Rux→Ime

【圖 11】


A
CB
小鼠體重(g)
27
26
25
24
23
22
21
20
19
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17
移植後的週數
單獨媒劑
單獨Rux
單獨MM
單獨Ime
Rux+MM
Rux+Ime
Rux→MM
Rux→Ime

【圖 12】


B
Pt5
小鼠體重(g)
27
26
25
24
23
22
21
20
19
18
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17
移植後的週數
單獨媒劑
單獨Rux
單獨MM
單獨Ime
Rux+MM
Rux+Ime
Rux→MM
Rux→Ime

【圖12】

202133854

【發明摘要】

【中文發明名稱】 詹納斯(JANUS)激酶抑制劑及端粒酶抑制劑於治療骨髓增生性腫瘤之用途

【英文發明名稱】 USE OF A JANUS KINASE INHIBITOR AND A TELOMERASE INHIBITOR FOR THE TREATMENT OF MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASMS

【中文】

本發明之態樣包括治療骨髓增生性腫瘤的方法。依據某些態樣，方法包括向個體共投與詹納斯激酶(Janus kinase, JAK)抑制劑以及端粒酶抑制劑，該端粒酶抑制劑包含寡核苷酸與連接至寡核苷酸之5'及/或3'端的脂質部分。還描述了透過使細胞與足以誘導凋亡之量的JAK抑制劑和端粒酶抑制劑接觸來誘導骨髓增生性腫瘤細胞凋亡的方法。還提供了用於實施本發明方法的具有JAK抑制劑和端粒酶抑制劑的組成物。

【英文】

Aspects of the disclosure include methods for treating a myeloproliferative neoplasm. Methods according to certain embodiments include co-administering to a subject a Janus kinase (JAK) inhibitor and a telomerase inhibitor comprising an oligonucleotide and a lipid moiety linked to the 5' and/or 3' end of the oligonucleotide. Methods for inducing apoptosis of a myeloproliferative neoplasm cell by contacting the cell with an amount of a JAK inhibitor and a telomerase inhibitor sufficient to induce apoptosis are also described. Compositions having a JAK inhibitor and a telomerase inhibitor for practicing the subject methods are also provided.

【指定代表圖】圖1至圖12B

【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 詹納斯(JANUS)激酶抑制劑及端粒酶抑制劑於治療骨髓增生性腫瘤之用途

【英文發明名稱】 USE OF A JANUS KINASE INHIBITOR AND A TELOMERASE INHIBITOR FOR THE TREATMENT OF MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASMS

【技術領域】

【0001】 本發明之態樣包括治療骨髓增生性腫瘤的方法。依據某些態樣，方法包括向個體共投與詹納斯激酶(Janus kinase, JAK)抑制劑以及端粒酶抑制劑，該端粒酶抑制劑包含寡核苷酸與連接至寡核苷酸之5'及/或3'端的脂質部分。還描述了透過使細胞與足以誘導凋亡之量的JAK抑制劑和端粒酶抑制劑接觸來誘導骨髓增生性腫瘤細胞凋亡的方法。還提供了用於實施本發明方法的具有JAK抑制劑和端粒酶抑制劑的組成物。

【先前技術】

【0002】 骨髓增生性腫瘤(MPN)是一群血液病症，其在身體製造過多白血球或紅血球或血小板時發生。骨髓中的這種血球過度生產會給血液流動帶來難題，並導致各種症狀。MPN可以由骨髓中的骨髓譜系前驅細胞產生。MPN的特徵在於骨髓增生、沒有發育不良，骨髓細胞過多且易形成血栓，出血和骨髓纖維化。

【0003】 伊美司他(imetelstat)或伊美司他鈉是端粒酶抑制劑，其以高親和力結合至端粒酶的RNA組分的模板區域。研究已證明，伊美司他或伊美司他鈉會抑制端粒酶活性，並在多種不同的癌細胞株和人類腫瘤中有效對抗細胞增生。伊美司他或伊美司他鈉已用於血液惡性病患者的臨床試驗中。帶有骨髓纖維化的患者的一項臨床試驗證明，伊美司他或伊美司他鈉在某些患者體內

能夠達到完全臨床緩解。在這些患者中，伊美司他導致骨髓纖維化逆轉，並導致形態學和生物學緩解。

【發明內容】

【0004】 本發明的態樣包括治療骨髓增生性腫瘤的方法。根據某些具體例，方法包括向個體共投與詹納斯激酶(JAK)抑制劑和端粒酶抑制劑，該端粒酶抑制劑包含寡核苷酸和連接至該寡核苷酸之5'及/或3'端的脂質部分。還描述了透過使細胞與足以誘導凋亡之量的JAK抑制劑和端粒酶抑制劑接觸來誘導骨髓增生性腫瘤細胞凋亡的方法。還提供了用於實施本發明方法的具有JAK抑制劑和端粒酶抑制劑的組成物。

【0005】 在一些具體例中，同時投與JAK抑制劑和端粒酶抑制劑。在其他具體例中，依序投與JAK抑制劑和端粒酶抑制劑。在一些情況下，在將JAK抑制劑投與給個體後，將端粒酶抑制劑投與給個體。在一些情況下，在將端粒酶抑制劑投與給個體後，將JAK抑制劑投與給個體。在一個實例中，端粒酶抑制劑是向個體投與JAK抑制劑的同一天被投與給個體。在另一個實例中，例如，在將最後一劑JAK抑制劑投與給個體後三天內投與端粒酶抑制劑。在一些情況下，在將端粒酶抑制劑投與給個體後13天內向個體投與JAK抑制劑。例如，在將最後一劑端粒酶抑制劑投與給個體後三天內投與JAK抑制劑，此後每天兩次。

【0006】 給藥是以JAK抑制劑和端粒酶抑制劑的投藥週期來投與。在一些具體例中，週期是21天，在一些情況下，週期是28天或更多天。投藥週期可以重複1、2、3、4、5、6、7、8或超過8個劑量週期，總期間為6個月或1年或2年或3年或4年或更久。

【0007】 在某些具體例中，以約10 mg/天至約40 mg/天的劑量向個體投與JAK抑制劑。可以每天一次或每天兩次向個體投與JAK抑制劑。在一些情況下，以一個週期每天一次或兩次向個體投與JAK抑制劑，持續時間為30天、29天、

28天、27天、26天、25天、24天、23天、22天、21天、20天、19天、18天、17天、16天、15天、14天、13天、12天、11天、10天、9天、8天、7天、6天、5天、4天，3天或2天或1天。在一些情況下，每天一次向個體投與JAK抑制劑，持續時間為約1天至約30天，諸如每天一次持續時間為約1天至約28天、1天至21天、7天至14天。在其他情況下，每天兩次向個體投與JAK抑制劑，持續時間為約1天至約30天，諸如每天兩次持續時間為約1天至約28天、1天至21天，7天至14天。

【0008】 在某些具體例中，JAK抑制劑選自由魯索替尼(ruxolitinib)、菲達替尼(fedratinib)，莫洛替尼(momelotinib)和帕瑞替尼(pacritinib)或其醫藥上可接受之鹽及其組合組成之群。在某些具體例中，JAK抑制劑是魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽。在某些具體例中，JAK抑制劑是菲達替尼或其醫學上可接受之鹽。在某些具體例中，JAK抑制劑是莫洛替尼或其醫藥上可接受之鹽。在某些具體例中，JAK抑制劑是帕瑞替尼或其醫藥上可接受之鹽。

【0009】 在一些具體例中，依據本發明的方法，投與給個體的JAK抑制劑劑量範圍可為諸如約5 mg/天至約500 mg/天。在某些具體例中，JAK抑制劑是魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽，且當個體的基線血小板計數少於約100×10^9/L血小板時，以每天兩次5 mg的劑量向個體投與；當個體的基線血小板計數為約100 x 10^9/L血小板至約200 x 10^9/L血小板時，每天兩次15 mg；而當個體的基線血小板計數大於約200 x 10^9/L血小板時，每天兩次20 mg。

【0010】 在某些具體例中，JAK抑制劑是菲達替尼或其醫藥上可接受之鹽，且當個體的基線血小板計數大於或等於約50 x 10^9/L時，以每天一次400 mg的劑量向個體投與。在某些情況下，以每天一次300 mg的劑量向個體投與菲達替尼或其醫藥上可接受之鹽。在其他情況下，以每天一次200 mg的劑量向個體投與菲達替尼或其醫藥上可接受之鹽。又在其他情況下，以每天一次100 mg的劑量向個體投與菲達替尼或其醫藥上可接受之鹽。在又其他情況下，以每天一次少於100 mg的劑量向個體投與菲達替尼或其醫藥上可接受之鹽。

【0011】 在其他具體例中，JAK抑制劑是莫洛替尼或其醫藥上可接受之鹽，且以每天一次400 mg的劑量向個體投與。在某些情況下，以每天一次300 mg的劑量向個體投與莫洛替尼或其醫藥上可接受之鹽。在其他情況下，以每天一次200 mg的劑量向個體投與莫洛替尼或其醫藥上可接受之鹽。在一些情況下，以每天兩次150 mg的劑量投與莫洛替尼或其醫藥上可接受之鹽。在一些情況下，以每天兩次100 mg的劑量投與莫洛替尼或其醫藥上可接受之鹽。

【0012】 在其他具體例中，JAK抑制劑是帕瑞替尼或其醫藥上可接受之鹽，且以每天一次約50 mg至約600 mg，諸如每天一次約100 mg至約500 mg、諸如每天一次約150 mg至約400 mg，且包括每天一次約200 mg至約350 mg的劑量向個體投與。在某些情況下，以每天兩次約50 mg至約600 mg，諸如每天兩次約100 mg至約500 mg、諸如每天兩次約150 mg至約400 mg，且包括每天兩次約200 mg至約350 mg的劑量向個體投與帕瑞替尼或醫藥上可接受之鹽。在其他情況下，以每天一次100 mg或每天兩次100 mg或每天兩次200 mg的劑量向個體投與帕瑞替尼或醫藥上可接受之鹽。

【0013】 根據某些具體例，方法還包括在向個體投與JAK抑制劑前，測定個體的基線血小板計數。在這些具體例中，方法可包括測定個體的基線血小板計數，並基於個體的基線血小板計數來確定投與給個體的JAK抑制劑數量。

【0014】 被投與給個體的端粒酶抑制劑的劑量範圍可為，諸如約4.0 mg/kg至約10 mg/kg、約7.5 mg/kg至9.4 mg/kg。在某些具體例中，以4.0 mg/kg、4.1 mg/kg、4.2 mg/kg、4.3 mg/kg、4.4 mg/kg、4.5 mg/kg、4.6 mg/kg、4.7 mg/kg、4.8 mg/kg、4.9 mg/kg、5.0 mg/kg、5.1 mg/kg、5.2 mg/kg、5.3 mg/kg、5.4 mg/kg、5.5 mg/kg、5.6 mg/kg、5.7 mg/kg、5.8 mg/kg、5.9 mg/kg、6.0 mg/kg、6.1 mg/kg、6.2 mg/kg、6.3 mg/kg、6.4 mg/kg、6.5 mg/kg、6.6 mg/kg、6.7 mg/kg、6.8 mg/kg、6.9 mg/kg、7.0 mg/kg、7.1 mg/kg、7.2 mg/kg、7.3 mg/kg、7.4 mg/kg、7.5 mg/kg、7.6 mg/kg、7.7 mg/kg、7.8 mg/kg、7.9 mg/kg、8.0 mg/kg、8.1 mg/kg、8.2 mg/kg、8.3 mg/kg、8.4 mg/kg、8.5 mg/kg、8.6 mg/kg、8.7 mg/kg、8.8 mg/kg、8.9 mg/kg、

9.0 mg/kg、9.1 mg/kg、9.2 mg/kg、9.3 mg/kg、9.4 mg/kg、9.5 mg/kg、9.6 mg/kg、9.7 mg/kg、9.8 mg/kg、9.9 mg/kg，10.0 mg/kg的劑量向個體投與端粒酶抑制劑。

【0015】 端粒酶抑制劑的劑量可以按週期被投與給個體，其中每週一次、每兩週(14天)一次、每三週(21天)一次或每四週(28天)一次、每6週一次、每8週一次、每10週一次、每12週一次投與端粒酶抑制劑。在某些具體例中，伊美司他或醫藥上可接受之鹽可以投與1、2、3、4、5、6、7、8或超過8個劑量週期。在某些具體例中，每個週期包括：每三週一次靜脈內投與約4-10 mg/kg伊美司他或醫藥上可接受之鹽、每四週一次靜脈內投與約4-10 mg/kg伊美司他或伊美司他鈉、每兩週一次靜脈內投與約4-10 mg/kg伊美司他或伊美司他鈉，或每三週一次靜脈投與約7.5-9.4 mg/kg伊美司他或伊美司他鈉。在某些情況下，每個劑量週期包括每四週一次靜脈內投與約7.5-9.4 mg/kg伊美司他或伊美司他鈉。在一些情況下，每個劑量週期包括約每三週一次靜脈內投與約9.4 mg/kg伊美司他或伊美司他鈉。

【0016】 在一些情況下，端粒酶抑制劑的寡核苷酸包括至少一個N3'→P5'硫代胺基磷酸酯(thiophosphoramidate)核苷間鍵聯。在一些情況下，端粒酶抑制劑的脂質部分經由連接子(諸如甘油或胺基甘油連接子)連接至寡核苷酸的5'及/或3'端。在一些情況下，端粒酶抑制劑的脂質部分是棕櫚醯基(C16)部分。在某些具體例中，端粒酶抑制劑是伊美司他或其醫藥上可接受之鹽，例如伊美司他鈉。

【0017】 在某些具體例中，治療骨髓增生性腫瘤包括以一個21天週期投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽和伊美司他或其醫藥上可接受之鹽來治療個體，其中方法包括每天一次或兩次投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽持續21天，並且在21天投藥週期的第一天向個體投與伊美司他或其醫藥上可接受之鹽(即，在21天週期的第一天，將魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽和伊美司他或其醫藥上可接受之鹽兩者都投與給個體)。在某些情況下，方法包括一個

投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽和伊美司他或其醫藥上可接受之鹽的21天週期，其中每天一次投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽持續21天，且在21天週期的第一天投與伊美司他或醫藥上可接受之鹽。在其他情況下，方法包括一個投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽和伊美司他或其醫藥上可接受之鹽的21天週期，其中每天兩次投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽持續21天，且在21天週期的第一天投與伊美司他或其醫藥上可接受之鹽。依據這些具體例，投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽和伊美司他或其醫藥上可接受之鹽的21天週期可重複1次或更多次，諸如2次或更多次、諸如3次或更多次、諸如4次或更多次、諸如5次或更多次、諸如6次或更多次、諸如7次或更多次、諸如8次或更多次、諸如9次或更多次且包括10次或更多次。在魯索替尼和伊美司他的21天投藥週期重複1次或更多次的情況下，每個21天投藥週期之間的持續時間可以是0天或更久，諸如1天或更久、諸如2天或更久、諸如3天或更久、諸如4天或更久、諸如5天或更久、諸如6天或更久且包括7天或更久。取決於所使用的魯索替尼和伊美司他的21天投藥週期數以及每個週期之間的持續時間，依據這些具體例的個體治療持續時間可以為約1.5個月或更久、諸如3個月或更久、諸如6個月或更久、諸如1年或更久、諸如2年或更久、諸如3年或更久、諸如4年或更久、諸如5年或更久、諸如6年或更久、諸如7年或更久、諸如8年或更久，諸如9年或更久且包括10年或更久。

【0018】 在某些具體例中，治療骨髓增生性疾病包括以一個28天週期投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽和伊美司他或其醫藥上可接受之鹽來治療個體。在這些具體例中，方法包括每天一次或兩次投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽持續28天，並且在28天週期的第一天向個體投與伊美司他或其醫藥上可接受之鹽(即，在28天週期的第一天，將魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽和伊美司他或其醫藥上可接受之鹽兩者都投與給個體)。在某些情況下，方法包括投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽和伊美司他或其醫藥上可接受之鹽的28天週期，其中每天一次投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽持續28天，

且在28天週期的第一天投與伊美司他或醫藥上可接受之鹽。在其他情況下，方法包括投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽和伊美司他或其醫藥上可接受之鹽的28天週期，其中每天兩次投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽持續28天，且在28天週期的第一天投與伊美司他或其醫藥上可接受之鹽。

【0019】 依據這些具體例，投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽和伊美司他或其醫藥上可接受之鹽的28天投藥週期可以重複1次或更多次，諸如2次或更多次、諸如3次或更多次、諸如4次或更多次、諸如5次或更多次、諸如6次或更多次、諸如7次或更多次、諸如8次或更多次、諸如9次或更多次且包括10次或更多次。在魯索替尼和伊美司他的28天投藥週期重複1次或更多次的情況下，每個28天投藥週期之間的持續時間可以是0天或更久，諸如1天或更久、諸如2天或更久、諸如3天或更久、諸如4天或更久、諸如5天或更久、諸如6天或更久並且包括7天或更久。取決於所使用的魯索替尼和伊美司他的28天投藥週期數以及每個週期之間的持續時間，依據這些具體例的個體治療持續時間可以為約2個月或更久、諸如4個月或更久、諸如6個月或更久、諸如1年或更久、諸如2年或更久、諸如3年或更久、諸如4年或更久、諸如5年或更久、諸如6年或更久、諸如7年或更久、諸如8年或更久，諸如9年或更久且包括10年或更久。

【0020】 在某些具體例中，治療骨髓增生性腫瘤包括以一個週期投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽和伊美司他或其醫藥上可接受之鹽來治療個體，其中就那個投藥週期來說，每天一次或兩次向個體投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽持續14天或21天，接著在投與最後一劑魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽後1天至7天向個體投與一或多劑伊美司他或其醫藥上可接受之鹽。在一個實例中，方法包括一個投藥週期，其中每天一次向個體投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽持續14天，接著在投與最後一劑魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽後1天至7天投與一或多劑伊美司他或其醫藥上可接受之鹽。在另一個實例中，方法包括一個投藥週期，其中每天一次向個體投與魯索替尼或其醫

藥上可接受之鹽持續21天，接著在投與最後一劑魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽後1天至7天投與一或多劑伊美司他或其醫藥上可接受之鹽。在又另一個實例中，方法包括一個投藥週期，其中每天兩次向個體投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽持續14天，接著在投與最後一劑魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽後1天至7天投與一或多劑伊美司他或其醫藥上可接受之鹽。在又另一個實例中，方法包括一個投藥週期，其中每天兩次向個體投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽持續21天，接著在投與最後一劑魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽後1天至7天投與一或多劑伊美司他或其醫藥上可接受之鹽。在這些具體例中，在投與最後一劑魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽後1天至7天向個體投與一或多劑伊美司他或其醫藥上可接受之鹽，諸如在投與最後一劑魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽後1天，諸如2天、諸如3天、諸如4天、諸如5天，諸如6天且包括7天投與一或多劑伊美司他或其醫藥上可接受之鹽。依據這些具體例，投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽和伊美司他或其醫藥上可接受之鹽的週期可以重複1次或更多次，諸如2次或更多次、諸如3次或更多次、諸如4次或更多次、諸如5次或更多次、諸如6次或更多次、諸如7次或更多次、諸如8次或更多次、諸如9次或更多次且包括10次或更多次。

【0021】 在某些具體例中，治療骨髓增生性腫瘤包括以一個21天週期投與伊美司他或其醫藥上可接受之鹽和魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽來治療個體，其中方法包括在21天投藥週期的第一天向個體投與伊美司他或其醫藥上可接受之鹽，之後在21天週期的每個次日每天一次或兩次投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽(即，在21天週期的第一天向個體投與伊美司他或其醫藥上可接受之鹽，並且在21天投藥週期的第2-21天每天一次或兩次投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽)。在某些情況下，方法包括在21天投藥週期的第一天向個體投與伊美司他或其醫藥上可接受之鹽，接著在21天週期的每個次日每天一次向個體投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽。在其他情況下，方法包括在21天投藥週期的第一天向個體投與伊美司他或其醫藥上可接受之鹽，接

著在21天週期的每個次日每天兩次向個體投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽。依據這些具體例，投與伊美司他或其醫藥上可接受之鹽接著魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽的21天投藥週期可重複1次或更多次，諸如2次或更多次、諸如3次或更多次、諸如4次或更多次、諸如5次或更多次、諸如6次或更多次、諸如7次或更多次、諸如8次或更多次、諸如9次或更多次且包括10次或更多次。在伊美司他和魯索替尼的21天投藥週期重複1次或更多次的情況下，每個21天投藥週期之間的持續時間可以是0天或更多，諸如1天或更久、諸如2天或更久、諸如3天或更久、諸如4天或更久、諸如5天或更久、諸如6天或更久並且包括7天或更多。取決於所使用的伊美司他和魯索替尼的21天投藥週期數以及每個週期之間的持續時間，依據這些具體例的個體治療持續時間可為約1.5個月或更久、諸如3個月或更久、諸如6個月或更久、諸如1年或更久、諸如2年或更久、諸如3年或更久、諸如4年或更久、諸如5年或更久、諸如6年或更久、諸如7年或更久、諸如8年或更久，諸如9年或更久且包括10年或更久。

【0022】 在其他具體例中，治療骨髓增生性腫瘤包括以一個28天週期投與伊美司他或其醫藥上可接受之鹽和魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽來治療個體，其中方法包括在28天投藥週期的第一天向個體投與伊美司他或其醫藥上可接受之鹽，之後在28天週期的每個次日每天一次或兩次投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽(即，在28天週期的第一天，向個體投與伊美司他或其醫藥上可接受之鹽，並且在28天投藥週期的第2-28天每天一次或兩次投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽)。在某些情況下，方法包括在28天投藥週期的第一天向個體投與伊美司他或其醫藥上可接受之鹽，接著在28天週期的每個次日每天一次向個體投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽。在其他情況下，方法包括在28天投藥週期的第一天向個體投與伊美司他或其醫藥上可接受之鹽，接著在28天週期的每個次日每天兩次向個體投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽。依據這些具體例，投與伊美司他或其醫藥上可接受之鹽接著魯索替尼

或其醫藥上可接受之鹽的28天投藥週期可以重複1次或更多次，諸如2次或更多次、諸如3次或更多次、諸如4次或更多次、諸如5次或更多次、諸如6次或更多次、諸如7次或更多次、諸如8次或更多次、諸如9次或更多次且包括10次或更多次。在伊美司他和魯索替尼的28天投藥週期重複1次或更多次的情況下，每個28天投藥週期之間的持續時間可以是0天或更久，諸如1天或更久、諸如2天或更久、諸如3天或更久、諸如4天或更久、諸如5天或更久、諸如6天或更久並且包括7天或更久。取決於所使用的伊美司他和魯索替尼的28天投藥週期數以及每個週期之間的持續時間，依據這些具體例的個體治療持續時間可以為約2個月或更久、諸如4個月或更久、諸如6個月或更久、諸如1年或更久、諸如2年或更久、諸如3年或更久、諸如4年或更久、諸如5年或更久、諸如6年或更久、諸如7年或更久、諸如8年或更久，諸如9年或更久且包括10年或更久。

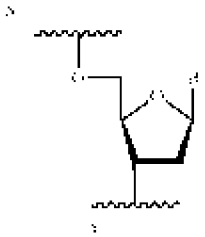
【0023】 在其他具體例中，方法包括投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽持續預定的持續時間(從1天至21天)，中斷投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽，並且在向個體投與最後一劑魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽的7天內(例如，2天內，1天內或在同一天)投與伊美司他。可以重複這個投藥週期，諸如2次或更多次、諸如3次或更多次、諸如4次或更多次、諸如5次或更多次、諸如6次或更多次、諸如7次或更多次、諸如8次或更多次、諸如9次或更多次且包括10次或更多次。

【0024】 在一些具體例中，骨髓增生性腫瘤是骨髓纖維化(MF)，諸如原發性骨髓纖維化，或先前ET或PV之後的骨髓纖維化(ET後MF或PV後MF)。在其他具體例中，骨髓增生性腫瘤包括原發性血小板增多症(ET)、真性紅血球增多症(PV)、慢性骨髓性白血病(CML)、慢性嗜中性球白血病、慢性嗜酸性球白血病和急性骨髓性白血病(AML)。在其他具體例中，骨髓增生性腫瘤是骨髓發育不良症候群(MDS)。在又其他具體例中，骨髓增生性腫瘤是骨髓發育不良症候群(MDS)伴隨單獨缺失(isolated del)(5q)。骨髓發育不良症候群

(MDS)包括諸如以下的疾病：難治性貧血、難治性貧血伴隨有核血球(blast)過多、難治性血球減少症伴隨多譜系發育不良、難治性血球減少症伴隨單譜系發育不良以及慢性骨髓單核細胞白血病(CMML)。依據某些具體例的方法還包括診斷個體患有骨髓增生性腫瘤。在一個實例中，方法包括診斷個體患有骨髓纖維化，諸如原發性骨髓纖維化。在一些具體例中，個體先前未被投與JAK抑制劑(即，是JAK抑制劑未施予(naïve))。在其他具體例中，個體先前未被投與端粒酶抑制劑(例如，是端粒酶抑制劑未施予)。在又其他具體例中，個體先前未被投與JAK抑制劑或端粒酶抑制劑(即，是既JAK抑制劑未施予和端粒酶抑制劑未施予)。

選擇定義

【0025】 術語「核苷」是指具有以下一般結構的部分：



其中B表示核鹼基，而2'碳可如下所述被取代。當併入寡聚物或聚合物中時，3'碳進一步連接至氧或氮原子。核苷可以包括2'-去氧和2'-羥基(即去氧核糖和核糖)的形式，及其類似物。在某些情況下，5'-NH基團可以代替5'-氧。提到核苷時，「類似物」尤其包括具有經修飾核鹼基部分(參見下文「核鹼基」的定義)及/或經修飾糖部分(諸如2'-氟糖)的合成核苷。通常將此等類似物設計成影響結合性質，例如穩定性、特異性或類似性質。術語核苷包括天然核苷，包括2'-去氧和2'-羥基形式(例如在Komberg and Baker, *DNA Replication,* 2nd Ed. (Freeman, San Francisco, 1992)中所描述者)以及類似物。提到核苷時，「類似物」包括具有經修飾核鹼基部分(參見下文「核鹼基」的定義)及/或經修飾糖部分的合成核苷，例如大體由Scheit, *Nucleotide Analogs* (John Wiley, New York, 1980)所描述。這樣的類似物包括被設計成增強結合性

質(例如穩定性，特異性或類似性質)的合成核苷，諸如由Uhlmann和Peyman在Chemical Reviews 90：543-584, 1990揭示的。包含此類核苷並且通常含有耐核酸酶的合成核苷間鍵聯的寡核苷酸本身可被稱為「類似物」。

【0026】「多核苷酸」或「寡核苷酸」是指具有約2個至約200個連續次單位的核糖及/或去氧核糖核苷次單位聚合物或寡聚物。核苷次單位可以由各種不同的次單位間鍵聯所連接，包括但不限於磷酸二酯、磷酸三酯、甲基膦酸酯、P3'→N5'胺基磷酸酯、N3'→P5'胺基磷酸酯，N3→P5'硫代胺基磷酸酯和硫代磷酸酯鍵聯。該術語還包括具有修飾的此類聚合物或寡聚物，諸如對糖(例如2'取代)，鹼基以及3'和5'端的修飾。在寡核苷酸部分包括多個次單位間鍵聯的具體例中，每個鍵聯可以使用相同的化學形成，或者可以使用鍵聯化學的混合物。當寡核苷酸以字母序列(諸如「ATGUCCTG」)表示時，應理解核苷酸從左至右為5'→3'順序。以這種方式表示寡核苷酸的鹼基序列並不意味著在寡核苷酸中使用任何特定類型的核苷間次單位。

【0027】「核鹼基」包括(i)天然DNA和RNA核鹼基(尿嘧啶、胸腺嘧啶、腺嘌呤，鳥嘌呤和胞嘧啶)、(ii)經修飾核鹼基或核鹼基類似物(例如5-甲基胞嘧啶，5-溴尿嘧啶或肌苷)以及(iii)核鹼基類似物。核鹼基類似物是一種化合物，其分子結構擬似典型DNA或RNA鹼基的結構。

【0028】術語「脂質」在本文中被廣泛地用來含括可溶於有機溶劑但幾乎不溶於水的物質。術語脂質包括，但不限於烴、油、脂質(諸如脂肪酸和甘油酯)、固醇，類固醇和這些化合物的衍生物形式。在一些具體例中，脂質是脂肪酸及其衍生物，烴及其衍生物和固醇(諸如膽固醇)。脂肪酸通常在直鏈中包含偶數個碳原子(通常為12-24個碳)，並可以是飽和或不飽和的，且可以包含或被修飾成包含各種取代基基團。為了簡明起見，術語「脂肪酸」還含括脂肪酸衍生物，諸如脂肪或酯。在一些具體例中，術語「脂質」還包括含有脂質和親水性部分的兩親化合物。

【0029】「個體(individual)」或「患者」或「個體(subject)」可以是哺乳動物，諸如任何常見的實驗室模型生物。哺乳動物包括，但不限於人類和非人類靈長類動物、農場動物、運動動物、寵物、小鼠，大鼠和其他嚙齒類動物。在一些具體例中，個體或患者或個體是人類。在某些具體例中，個體或患者在某些具體例之前先前未接受過JAK抑制劑治療及/或端粒酶抑制劑治療，這樣的患者分別是「JAK抑制劑未施予的」或「端粒酶抑制劑未施予的」。

【0030】「有效量」或「治療有效量」或「臨床有效量」是指治療化合物(諸如JAK抑制劑或端粒酶抑制劑)以單劑量或以連續劑量的一部份被投與給哺乳動物個體時的數量，該量可有效產生所需的治療效果。本發明的一個優點在於，端粒酶抑制劑當與JAK抑制劑組合投藥時，可以比單藥劑劑量更低的劑量來投藥，因此降低了該化合物的副作用和整體毒性，同時實現可相比擬或優越的治療效果。在某些具體例中，當端粒酶抑制劑與JAK抑制劑依據本文所述具體例共投與時，實現治療有效反應所需的JAK抑制劑數量以重量計可降低達1%或更多，諸如以重量計達2%或更多、諸如以重量計達3%或更多、諸如以重量計達5%或更多、諸如以重量計達10%或更多、諸如以重量計達15%或更多、諸如以重量計達25%或更多，並且包括實現治療有效反應所需的JAK抑制劑數量以重量計可降低達50%或更多。換句話說，與實現治療有效反應所需的單獨JAK抑制劑數量相比，實現治療有效反應所需的JAK抑制劑數量以重量計降低達1%或更多。在其他具體例中，當JAK抑制劑與端粒酶抑制劑依據本文所述具體例共投藥時，實現治療有效反應所需的端粒酶抑制劑數量以重量計可降低達1%或更多，諸如以重量計達2%或更多、諸如以重量計達3%或更多、諸如以重量計達5%或更多、諸如以重量計達10%或更多、諸如以重量計達15%或更多、諸如以重量計達25%或更多，並且包括實現治療有效反應所需的端粒酶抑制劑數量以重量計可降低達50%或更多。換句話說，與實現治療有效反應所需的單獨端粒酶抑制劑數量相比，實現治療有效反應所需的端粒酶抑制劑數量以重量計降低達1%或更多，諸如以重量計達2%或更多、諸

如以重量計達3%或更多、諸如以重量計達5%或更多、諸如以重量計達10%或更多、諸如以重量計達15%或更多，諸如以重量計達25%或更多且包括以重量計達50%或更多。

【0031】 如本文所用，「癌細胞」是指展現出相對自主生長的細胞，從而它們展現出異常生長表型，特徵在於明顯失去對細胞增生的控制。癌細胞包含可以主動複製或處於暫時非複製靜止狀態(G_1或G_0)的細胞；類似地，癌細胞可包含具有充分分化表型細胞，低分化表型細胞或兩種類型細胞的細胞。因此，並非所有的癌細胞都必須在給定的時間點複製。「癌細胞」含括良性腫瘤中的此等細胞和惡性腫瘤中的細胞。

【0032】 如本文所用，「癌前驅細胞」是指能成為癌的細胞組成的細胞。

【0033】 如本文所用，術語「腫瘤」或「腫瘤形成(neoplasia)或「腫瘤(neoplastic)」是指異常的新細胞生長。與增生不同，即使在沒有原始刺激的情況下，腫瘤增生仍持續著。

【0034】 除非另外指明，否則如本文所用的單數指涉對象「一(a、an)」，和「該」包括複數指涉對象。

【0035】 本說明書通篇給出的每個最大數值限制意欲包括每個更低的數值限制，好像這些更低的數值限制在本文中明確寫出一樣。本說明書通篇給出的每個最小數值限制將包括每個更高的數值限制，好像這些更高的數值限制在本文中明確寫出一樣。本說明書通篇給出的每個數值範圍將包括落入該較寬數值範圍內的每個較窄數值範圍，就好像這些較窄數值範圍均在本文中明確寫出一樣。

【0036】 在進一步說明本發明之前，應當理解，本發明不限於所描述的特定具體例，因為它們理所當然會有變化。還應理解，本文中使用的術語僅出於說明特定具體例為目的，而不希望具有限制性，因為本發明的範疇僅受所附申請專利範圍所囿限。

【0037】 在提供數值範圍的情況下，應理解，除非上下文另有明確指明，否則範圍的上限和下限間的每個中間值與所述範圍內的任何其他所述值或中間值，乃至下限值的十分之一均含括在本發明內。這些較小範圍的上限和下限可以獨立地含括在較小範圍內，並且也含括在本發明內，但要遵循所述範圍內任何經明確排除者。在所述範圍包括一或兩個限制的情況下，排除那些所含括限制中的一者或兩者的範圍也包括在本發明中。

【0038】 應理解，為清楚起見，在個別具體例上下文中所描述的本發明的某些特徵也可以在單個具體例中以組合的方式提供。相反，為簡潔起見，在單個具體例上下文中所描述的本發明的各種特徵也可以個別地或以任何合適子組合的方式來提供。關於本發明的具體例的所有組合都被本發明具體涵括，並且揭示於本文中，就好像各個與每個組合都被單獨地並且明確地揭示一樣，在某種程度上，這些組合包括發明標的，其為例如以下化合物：是穩定的化合物(即可以被製造，分離，特徵鑑定和測試生物學活性的化合物)。另外，本發明還明確涵括了不同具體例及其元素的所有子組合(例如，描述此類變量的具體例中列出的化學基團的元素)，並且揭示於本文中，就好像各個和每個此類子組合都被本文單獨且明確地揭示一樣。

【0039】 除非另有定義，否則本文使用的所有技術和科學術語具有與本發明所屬領域的通常技術者普遍所理解的相同含義。儘管與本文描述的那些類似或等同的任何方法和材料也可以用於實施或測試本發明，但是現將描述感興趣的方法和材料。本文提及的所有出版物以引用的方式併入本文，以便揭示且說明與引用出版物相關的方法及/或材料。

【0040】 必須注意，如本文和申請專利範圍中所使用的，單數形式「一(a，an)」和「該」包括複數指涉對象，除非上下文另有明確指出。還應注意，申請專利範圍可以被草擬成排除任何視情況選用的要素。因此，這樣的陳述旨在作為與引用請求要素相關的排他性術語(諸如「唯一」，「僅」以及類似術語)，或使用「負面」限制要件的前置基礎。

【0041】 應理解，為清楚起見，在個別具體例上下文中所描述的本發明的某些特徵也可以在單個具體例中以組合的方式提供。相反，為簡潔起見，在單個具體例上下文中所描述的本發明的各種特徵也可以個別地或以任何合適子組合的方式來提供。

【0042】 本文中所討論的出版物僅是因為其在本申請案提申日期之前的揭示而提供。本文中的任何內容均不得解釋為承認本發明無權憑藉在先發明而早於此等出版物。此外，提供的公開日期可能與實際公開日期有所不同，實際公開日期可能需要獨立確認。

【0043】 如本文所述的化合物可以藉由技藝中已知的任何方法來純化，包括層析方法，諸如高效液相層析法(HPLC)、製備型薄層層析法、驟沸管柱層析法和離子交換層析法。可以使用任何合適的固定相，包括正相和逆相以及離子型樹脂。參見，例如Introduction to Modern Liquid Chromatography, 2nd Edition, ed. L. R. Snyder and J. J. Kirkland, John Wiley and Sons, 1979；以及Thin Layer Chromatography, ed E. Stahl, Springer-Verlag, New York, 1969。

【0044】 本文所述的化合物可含有一或多個手性中心及/或雙鍵，並因此可作為立體異構體存在，諸如雙鍵異構體(即幾何異構體)，對映異構體或非對映異構體。因此，化合物的所有可能對映異構體和立體異構體(包括立體異構純形式(例如，幾何上純，對映異構上純或非對映異構上純))以及對映異構體和立體異構體的混合物都包括在本文化合物的描述中。對映異構體和立體異構體混合物可以使用習於技藝者熟知的分離技術或手性合成技術解析成它們的組分對映異構體或立體異構體。化合物也可以幾種互變異構形式存在，包括烯醇形式，酮形式及其混合物。因此，本文所述的化學結構涵蓋了所示化合物的全部可能互變異構形式。所述化合物還包括經同位素標記的化合物，其中一或多個原子的原子質量與自然界中通常發現的原子質量不同。可以併入本文揭示之化合物中的同位素實例包括，但不限於^{2}H、^{3}H、^{11}C、^{13}C、^{14}C、^{15}N、^{18}O、^{17}O等。化合物可以非溶劑化形式以及溶劑化形式存在，包括水合形式。

一般來說，化合物可以被水合或溶劑化。某些化合物可以多種結晶或無定形形式存在。通常，所有物理形式對於本文所預期的用途是等同的，並且意欲在落入本發明的範疇內。

【圖式簡單說明】

【0045】 圖1描繪依據某些具體例，用伊美司他組合魯索替尼治療的活體內治療設計。

【0046】 圖2描繪依據某些具體例，在活體外用伊美司他組合魯索替尼治療的造血前驅細胞(HPC)分析。

【0047】 圖3描繪依據某些具體例，用伊美司他組合魯索替尼治療的活體外治療設計。

【0048】 圖4描繪依據某些具體例，在活體外用伊美司他和魯索替尼短期組合治療正常$CD34^+$細胞。如正文中所述，正常CB $CD34^+$細胞用單獨媒劑、單獨魯索替尼(Rux，50nM)，錯配寡核苷酸(MM，1.8uM)或單獨伊美司他(Ime，1.8uM)，Rux和MM或Ime同時與依序治療。將細胞暴露於Rux持續3天，以及暴露於MM或Ime持續7天。對培養物中產生的細胞進行表型鑑定，並分析HPC。顯示在暴露於各種治療的正常$CD34^+$細胞培養物中，所產生的Lin-$CD34^+$細胞(圖4，A區)、所有類型的可檢測HPC (圖4，B區)，以及$CD15^+CD34^-$ (圖4，C區)的絕對數量相對於暴露於單獨相應媒劑的培養物中所產生者的百分比。n＝3。P全部>0.05，含單獨媒劑的培養物相對含Rux的培養物；含MM的培養物相對含Ime的相應培養物。

【0049】 圖5描繪依據某些具體例，在活體外用伊美司他和魯索替尼長期組合治療所觀察到的對抗正常HSC/HPC的加成抑制作用。如正文中所述，正常CB $CD34^+$細胞用單獨媒劑、單獨魯索替尼(Rux，50nM)，錯配寡核苷酸(MM，1.8uM)或單獨伊美司他(Ime，1.8uM)，Rux和MM或Ime同時與依序治療。將細胞暴露於Rux持續3天，以及暴露於MM或Ime持續14天。顯示在暴露於各種

治療的正常$CD34^+$細胞培養物中，所產生的Lin-$CD34^+$細胞(圖5，A區)、所有類型的可檢測HPC (圖5，B區)，以及$CD15^+CD34^-$(圖5，C區)細胞的絕對數量相對於暴露於單獨相應媒劑的培養物中所產生者的百分比。n＝3。P全部>0.05，僅含媒劑的培養物相對含Rux的培養物；含MM的培養物相對含Ime的相應培養物，除非有指明。

【0050】 圖6描繪依據某些具體例，因為在活體外用伊美司他和魯索替尼同時或依序短期組合治療對MF HSC/HPC缺乏加成抑制作用。MF脾臟$CD34^+$細胞以與CB $CD34^+$細胞相同的方式用兩種藥物治療。將細胞暴露於Rux持續3天，以及暴露於MM或Ime持續7天。對培養後產生的細胞進行表型鑑定，並分析HPC。顯示在暴露於各種治療的MF脾臟$CD34^+$細胞培養物中，所產生的Lin-$CD34^+$細胞(圖6，A區)、所有類型的可檢測HPC (圖6，B區)，以及$CD15^+CD34^-$(圖6，C區)細胞的絕對數量相對於暴露於單獨相應媒劑的培養物中所產生者的百分比。JAK2V617F+MF，n=3；JAK2V617F-MF，n＝4。P全部>0.05，僅含媒劑的培養物相對含Rux的培養物；含MM的培養物相對含有Ime的相應培養物，除非有指明。

【0051】 圖7描繪依據某些具體例，因為在活體外用伊美司他和魯索替尼依序長期組合治療對MF HSC/HPC的加成抑制活性。MF脾臟$CD34^+$細胞以與CB $CD34^+$細胞相同的方式用兩種藥物單獨和以組合的方式治療。將細胞暴露於Rux持續3天，以及暴露於MM或Ime持續14天。對培養後產生的細胞進行表型鑑定，並分析HPC。顯示在暴露於各種治療的MF脾臟$CD34^+$細胞培養物中，所產生的Lin-$CD34^+$細胞(圖7，A區)、所有類型的可檢測HPC (圖7，B區)，以及$CD15^+CD34^-$(圖7，C區)細胞的絕對數量相對於暴露於單獨相應媒劑的培養物中所產生者的百分比。JAK2V617F$^+$MF，n=3；JAK2V617F$^-$MF，n＝4。P值如所示，否則P>0.05，A區：媒劑相對單獨Rux，Rux+MM相對Rux+Ime；C區：Rux+MM相對Rux+Ime。

【0052】 圖8描繪依據某些具體例，在活體外用依美司他和魯索替尼依序長期組合治療下，JAK2V617F$^+$造血前驅細胞減少。(圖8，A區)摘出2名暴露於各種治療的JAK2V617F$^+$ MF患者的單獨群落(CFU-GM)，並使用巢式對偶基因特異性聚合酶鏈反應(PCR)對JAK2V617F進行基因分型。然後確定JAK2V617F$^+$ CFU-GM的百分比。(圖8，B區和C區) JAK2V617F$^+$ CFU-GM的絕對數量是藉由將每個培養物中產生的CFU-GM總數量乘以A區中所示JAK2V617F$^+$ CFU-GM百分比來算出。用Rux接著伊美司他依序長期組合治療兩名患者的脾臟CD34$^+$細胞對惡性MF HPC具有加成抑制活性。

【0053】 圖9描繪依據某些具體例，因為在活體內用伊美司他和魯索替尼的同時或依序組合治療對正常NSG再增殖細胞(SRC)缺乏作用。(圖9，A區和D區)代表性FACS圖顯示在小鼠骨髓中產生的人類(h) CD45$^+$細胞嵌合(圖9，A區)和hCD34$^+$細胞(圖9，D區)。(圖9，B-C區；圖9，E-F區)移植後4個月，在NSG小鼠骨髓(圖9，B和E區)及脾臟(圖9，C和F區)中產生的hCD45$^+$絕對數量(圖9，B-C區)與hCD34$^+$細胞絕對數量(圖9，E-F區)。將NSG小鼠移植正常CB CD34$^+$細胞，並在移植後一週單獨或以組合方式使用各種藥物進行治療。這些治療導致hCD45+細胞嵌合和hCD34+細胞在受體小鼠的骨髓和脾臟中生成的程度降低(脾臟中的hCD45$^+$細胞：Rux+Ime；脾臟中的hCD34+細胞：單獨Ime，Rux+Ime)。

【0054】 圖10描繪依據某些具體例，在活體內用伊美司他和魯索替尼組合治療對消耗骨髓纖維化NSG再增殖細胞(SRC)的加成作用。(圖10，A區和D區)FACS圖顯示在小鼠骨髓中產生的人類(h) CD45$^+$細胞嵌合(圖10，A區)和hCD34$^+$細胞(圖10，D區)。(圖10，B-C區；圖10，E區)移植後4個月，在NSG小鼠骨髓(圖9，B和E區)及脾臟(圖9，C區)中產生的hCD45$^+$絕對數量(圖10，B-C區)與hCD34$^+$細胞絕對數量(圖9，E區)。顯示在接受各種藥物治療的小鼠的骨髓和脾臟中產生的hCD45$^+$細胞和hCD34$^+$細胞的絕對數量相對於僅接受單獨媒劑的小鼠中所產生者的百分比。如正文所述，NSG小鼠移植有Pt5的脾

臟CD34$^+$細胞，並在移植後一週後以各種藥物單獨或以組合方式進行治療。用Rux接著伊美司他依序治療在消耗Pt5的MF長期SRC方面具有加成活性。

【0055】 圖11描繪依據某些具體例，在活體內用伊美司他和魯索替尼組合治療對消耗骨髓纖維化NSG再增殖細胞(SRC)的協同活性。NSG小鼠移植有Pt10的脾臟CD34+細胞，並且因為此名患者的CD34+細胞可利用性有限，因此僅用單獨Rux，單獨Ime以及Rux接著伊美司他治療。顯示接受藥物治療的小鼠骨髓中偵測到的hCD45+細胞絕對數量相對於接受單獨媒劑的小鼠所產生者。用Rux接著依美司他依序治療在消耗Pt10的MF長期SRC方面具有協同活性。

【0056】 圖12A和12B描繪依據某些具體例，伊美司他和魯索替尼的活體內組合治療與單獨伊美司他的副作用比較。(圖12A，圖12B) NSG小鼠移植有正常CB (圖12A)或MF (圖12B)脾臟CD34$^+$細胞。移植後一週，小鼠開始單獨用媒劑治療，用單獨45mg/kg Rux治療持續7天，或用單獨10mg/kg MM或伊美司他治療持續4週，或同時或依需用Rux和MM或伊美司他組合治療。移植後4個月(W17)犧牲小鼠。與同等10mg/kg劑量的單獨伊美司他治療相比，依序組合治療接受正常CB (圖12A)或MF (圖12B)脾臟CD34$^+$細胞的小鼠不會造成小鼠體重進一步減輕。此外，在犧牲移植有MF脾臟CD34$^+$細胞(Pt5)的小鼠時，接受依序45mg/kg Rux和10mg/kg劑量伊美司他的小鼠(6.5%)的體重減輕程度少於等劑量單獨伊美司他(9.6%)或單獨30mg/kg劑量伊美司他(13.1%)。X軸表示移植後的週數。

【實施方式】

【0057】 本發明的態樣包括治療骨髓增生性腫瘤的方法。依據某些具體例，方法包括向個體共投與詹納斯激酶(JAK)抑制劑和端粒酶抑制劑，端粒酶抑制劑包含寡核苷酸和連接至該寡核苷酸之5'及/或3'端的脂質部分。在一些情況下，治療骨髓增生性腫瘤包括誘導骨髓增生性腫瘤細胞凋亡，諸如在活體外

誘導骨髓增生性腫瘤細胞凋亡。在其他情況下，治療骨髓增生性腫瘤包括在個體體內誘導骨髓增生性腫瘤細胞凋亡。在一些具體例中，骨髓增生性腫瘤細胞是惡性造血幹細胞(HSC)。在其他具體例中，骨髓增生性腫瘤細胞是惡性造血前驅細胞(HPC)。依據本發明方法治療的骨髓增生性腫瘤可包括例如骨髓纖維化(MF)，諸如原發性骨髓纖維化，或先前ET或PV之後的骨髓纖維化(ET後MF或PV後MF)。在其他具體例中，骨髓增生性腫瘤包括原發性血小板增多症(ET)、真性紅血球增多症(PV)、慢性骨髓性白血病(CML)、慢性嗜中性球白血病、慢性嗜酸性球白血病和急性骨髓性白血病(AML)。在其他具體例中，骨髓增殖性腫瘤是骨髓發育不良症候群(MDS)。在又其他具體例中，骨髓增生性腫瘤是骨髓發育不良症候群(MDS)伴隨單獨缺失(5q)。骨髓發育不良症候群(MDS)包括諸如以下的疾病：難治性貧血、難治性貧血伴隨有核血球(blast)過多、難治性血球減少症伴隨多譜系發育不良、難治性血球減少症伴隨單譜系發育不良以及慢性骨髓單核細胞白血病(CMML)。

【0058】 在一些具體例中，共投與JAK抑制劑和端粒酶抑制劑包括同時投與JAK抑制劑和端粒酶抑制劑。在同時投與JAK抑制劑和端粒酶抑制劑的一些情況下，JAK抑制劑和端粒酶抑制劑是共調配(例如，組合成單一劑型，諸如錠劑、可注射劑、凍乾物、靜脈內流體等)並以單一劑量投與給個體。在同時投與JAK抑制劑和端粒酶抑制劑的其他情況下，將JAK抑制劑和端粒酶抑制劑調配成兩種不同的組成物，並於同一時間投與給個體。

【0059】 在其他具體例中，共投與JAK抑制劑和端粒酶抑制劑包括依序投與JAK抑制劑和端粒酶抑制劑。在一些具體例中，首先對個體投與JAK抑制劑，接著向個體投與端粒酶抑制劑。在一個實例中，端粒酶抑制劑是在向個體投與JAK抑制劑的同一天被投與給個體。在另一個實例中，端粒酶抑制劑是在向個體投與JAK抑制劑後13天內被投與給個體。舉例來說，端粒酶抑制劑是在向個體投與最後一劑JAK抑制劑後三天內投與。

【0060】 在具體例中，端粒酶抑制劑可以在投與JAK抑制劑後約14天內被投與給個體，諸如端粒酶抑制劑在投與JAK抑制劑後約0天至約13天被投與給個體，端粒酶抑制劑在投與JAK抑制劑後諸如約1天至約12天、諸如約2天至約11天、諸如約3天至約10天、諸如約4天至約9天、諸如約5天至約10天，並包括約6天至約7天被投與給個體。在一些具體例中，端粒酶抑制劑在投與JAK抑制劑後3天內被投與。在某些情況下，JAK抑制劑以預定的持續時間(例如0天至7天的持續時間，如以下更詳細描述的那樣)被投與給個體，且最後一劑JAK抑制劑後約14天內向個體投與端粒酶抑制劑，諸如端粒酶抑制劑在最後一劑JAK抑制劑後約0天至約13天被投與給個體，端粒酶抑制劑在投與最後一劑JAK抑制劑後諸如約1天至約12天、諸如約2天至約11天、諸如約3天至約10天、諸如約4天至約9天、諸如約5天至約8天，並包括約6天至約7天被投與給個體。在某些情況下，在最後一劑JAK抑制劑後3天內投與端粒酶抑制劑。

【0061】 在一些具體例中，首先向個體投與端粒酶抑制劑，接著向個體投與JAK抑制劑。在一些情況下，向個體投與端粒酶抑制劑後13天內，向個體投與JAK抑制劑。例如，向個體投與最後一劑端粒酶抑制劑後三天內投與JAK抑制劑，此後每天兩次。

【0062】 給藥是以投與JAK抑制劑和端粒酶抑制劑為週期來投與。在一些具體例中，週期是21天，在一些情況下，週期是28天或更多天。投藥週期可以重複1、2、3、4、5、6、7、8或超過8個劑量週期，總期間為6個月或1年或2年或3年或4年或更久。

【0063】 在某些具體例中，治療骨髓增生性腫瘤包括以一個21天週期投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽和端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽來治療個體，其中方法包括每天一次或兩次投與JAK抑制劑持續21天，並且在21天投藥週期的第一天向個體投與端粒酶抑制劑(即，在21天週期的第一天，將JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽和端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽兩者都投與給個體)。在某些情況下，方法包括一個投與JAK抑制劑或其醫藥

上可接受之鹽和端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽的21天週期，其中每天一次投與JAK抑制劑持續21天，且在21天週期的第一天投與端粒酶抑制劑。在其他情況下，方法包括一個投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽和端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽的21天週期，其中每天兩次投與JAK抑制劑持續21天，且在21天週期的第一天投與端粒酶抑制劑。依據這些具體例，投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽和端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽的21天投藥週期可以重複1次或更多次，諸如2次或更多次、諸如3次或更多次、諸如4次或更多次、諸如5次或更多次、諸如6次或更多次、諸如7次或更多次、諸如8次或更多次、諸如9次或更多次且包括10次或更多次。在JAK抑制劑和端粒酶抑制劑的21天投藥週期重複1次或更多次的情況下，每個21天投藥週期之間的持續時間可以是0天或更久，諸如1天或更久、諸如2天或更久、諸如3天或更久、諸如4天或更久、諸如5天或更久、諸如6天或更久並且包括7天或更久。取決於所使用的JAK抑制劑和端粒酶抑制劑的21天投藥週期數以及每個週期之間的持續時間，依據這些具體例的個體治療持續時間可以為約1.5個月或更久、諸如3個月或更久、諸如6個月或更久、諸如1年或更久、諸如2年或更久、諸如3年或更久、諸如4年或更久、諸如5年或更久、諸如6年或更久、諸如7年或更久、諸如8年或更久，諸如9年或更久且包括10年或更久。

【0064】 在某些具體例中，治療骨髓增生性腫瘤包括以一個28天週期投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽和端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽來治療個體，其中方法包括每天一次或兩次投與JAK抑制劑持續28天，並且在28天投藥週期的第一天向個體投與端粒酶抑制劑(即，在28天週期的第一天，將JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽和端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽兩者都投與給個體)。在某些情況下，方法包括一個投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽和端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽的28天週期，其中每天一次投與JAK抑制劑持續28天，並且在28天週期的第一天投與端粒酶抑制劑。在其他情況下，方法包括一個投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽和

端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽的28天週期，其中每天兩次投與JAK抑制劑持續28天，並且在28天週期的第一天投與端粒酶抑制劑。依據這些具體例，投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽和端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽的28天投藥週期可以重複1次或更多次，諸如2次或更多次、諸如3次或更多次、諸如4次或更多次、諸如5次或更多次、諸如6次或更多次、諸如7次或更多次、諸如8次或更多次，諸如9次或更多次且包括10次或更多次。在JAK抑制劑和端粒酶抑制劑的28天投藥週期重複1次或更多次的情況下，每個28天投藥週期之間的持續時間可以是0天或更久，諸如1天或更久、諸如2天或更久、諸如3天或更久、諸如4天或更久、諸如5天或更久，諸如6天或更久並且包括7天或更久。取決於所使用的JAK抑制劑和端粒酶抑制劑的28天投藥週期數以及每個週期之間的持續時間，依據這些具體例的個體治療持續時間可以為約2個月或更久、諸如4個月或更久、諸如6個月或更久、諸如1年或更久、諸如2年或更久、諸如3年或更久、諸如4年或更久、諸如5年或更久、諸如6年或更久、諸如7年或更久、諸如8年或更久，諸如9年或更久且包括10年或更久。

【0065】 在某些具體例中，治療骨髓增生性腫瘤包括以一個週期投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽和端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽來治療個體，其中就那個投藥週期來說，每天一次或兩次向個體投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽持續14天或21天，接著在投與最後一劑JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽後1天至7天的期間內向個體投與一或多劑端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽。在一個實例中，方法包括一個投藥週期，其中每天一次向個體投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽持續14天，接著在投與最後一劑JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽後1天至7天的期間內投與一或多劑端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽。在另一個實例中，方法包括一個投藥週期，其中每天一次向個體投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽持續21天，接著在投與最後一劑JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽後1天至7天的期間內投與

一或多劑端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽。在又另一個實例中，方法包括一個投藥週期，其中每天兩次向個體投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽持續14天，接著在投與最後一劑JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽後1天至7天的期間內投與一或多劑端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽。在又另一個實例中，方法包括一個投藥週期，其中每天兩次向個體投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽持續21天，接著在投與最後一劑JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽後1天至7天的期間內投與一或多劑端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽。在這些具體例中，在投與最後一劑JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽後1天至7天向個體投與一或多劑端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽，諸如在投與最後一劑JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽後1天、諸如2天、諸如3天、諸如4天、諸如5天，諸如6天且包括7天。依據這些具體例，投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽和端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽的週期可以重複1次或更多次，諸如2次或更多次、諸如3次或更多次、諸如4次或更多次、諸如5次或更多次、諸如6次或更多次、諸如7次或更多次、諸如8次或更多次，諸如9次或更多次且包括10次或更多次。

【0066】 在某些具體例中，治療骨髓增生性腫瘤包括以一個21天週期投與端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽和JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽來治療個體，其中方法包括在21天投藥週期的第一天向個體投與端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽，接著在21天週期的每個次日每天一次或兩次向個體投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽(即，在21天週期的第一天，將端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽投與給個體，並且在21天投藥週期的第2-21天每天一次或兩次投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽)。在某些情況下，方法包括在21天投藥週期的第一天向個體投與端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽，接著在21天週期的每個次日每天一次向個體投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽。在其他情況下，方法包括在21天投藥週期的第一天向個體投與端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽，接著在21天週期的每個次日每天兩次

向個體投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽。在21天週期中，不論是一天一次或兩次，投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽可在投藥之前延遲1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13天。依據這些具體例，投與端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽接著JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽的21天投藥週期可以重複1次或更多次，諸如2次或更多次、諸如3次或更多次、諸如4次或更多次、諸如5次或更多次、諸如6次或更多次、諸如7次或更多次、諸如8次或更多次，諸如9次或更多次且包括10次或更多次。在端粒酶抑制劑和JAK抑制劑的21天投藥週期重複1次或更多次的情況下，每個21天投藥週期之間的持續時間可以是0天或更久，諸如1天或更久、諸如2天或更久、諸如3天或更久、諸如4天或更久、諸如5天或更久，諸如6天或更久且包括7天或更久。取決於所使用的端粒酶抑制劑和JAK抑制劑的21天投藥週期數以及每個週期之間的持續時間，依據這些具體例的個體治療持續時間可以為約1.5個月或更久，諸如3個月或更久、諸如6個月或更久、諸如1年或更久、諸如2年或更久、諸如3年或更久、諸如4年或更久、諸如5年或更久、諸如6年或更久、諸如7年或更久、諸如8年或更久，諸如9年或更久且包括10年或更久。

【0067】 在某些具體例中，治療骨髓增生性腫瘤包括以一個28天週期投與端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽和JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽來治療個體，其中方法包括在28天投藥週期的第一天向個體投與端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽，接著在28天週期的每個次日每天一次或兩次向個體投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽(即，在28天週期的第一天，將端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽投與給個體，並且在28天投藥週期的第2-28天每天一次或兩次投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽)。在某些情況下，方法包括在28天投藥週期的第一天向個體投與端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽，接著在28天週期的每個次日每天一次向個體投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽。在其他情況下，方法包括在28天投藥週期的第一天向個體投與端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽，接著在28天週期的每個次日每天兩次

向個體投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽。在28天週期中，不論是一天一次或兩次，投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽可在投藥之前延遲1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13天。依據這些具體例，投與端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽接著JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽的28天投藥週期可以重複1次或更多次，諸如2次或更多次、諸如3次或更多次、諸如4次或更多次、諸如5次或更多次、諸如6次或更多次、諸如7次或更多次、諸如8次或更多次，諸如9次或更多次且包括10次或更多次。在端粒酶抑制劑和JAK抑制劑的28天投藥週期重複1次或更多次的情況下，每個28天投藥週期之間的持續時間可以是0天或更久，諸如1天或更久、諸如2天或更久、諸如3天或更久、諸如4天或更久、諸如5天或更久，諸如6天或更久並且包括7天或更久。取決於所使用的端粒酶抑制劑和JAK抑制劑的28天投藥週期數以及每個週期之間的持續時間，依據這些具體例的個體治療持續時間可為約2個月或更久，諸如4個月或更久、諸如6個月或更久、諸如1年或更久、諸如2年或更久、諸如3年或更久、諸如4年或更久、諸如5年或更久、諸如6年或更久、諸如7年或更久、諸如8年或更久，諸如9年或更久且包括10年或更久。

【0068】 在其他具體例中，方法包括投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽持續預定的持續時間(1天至21天)，中斷投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽，並且在向個體投與最後一劑JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽的7天內(例如，2天內，1天內或在同一天)投與端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽。投藥週期可以重複，諸如2次或更多次、諸如3次或更多次、諸如4次或更多次、諸如5次或更多次、諸如6次或更多次、諸如7次或更多次、諸如8次或更多次，諸如9次或更多次且包括10次或更多次。

【0069】 如本文所用的術語詹納斯激酶(JAK)抑制劑是指抑制一或多種詹納斯激酶之活性的化合物，詹納斯激酶為諸如詹納斯激酶1 (JAK1)、詹納斯激酶2 (JAK2)，詹納斯激酶3 (JAK3)和酪胺酸激酶2 (TYK2)。在某些具體例中，感興趣的JAK抑制劑干擾詹納斯激酶/信號轉導因子和轉錄活化因子

(JAK-STAT)途徑。JAK抑制劑的實例包括，但不限於魯索替尼((3R)-3-環戊基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)吡唑-1-基]丙腈)、託法替尼(tofacitinib)(3-[((3R,4R)-4-甲基-3-[甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基]胺基]哌啶-1-基]-3-]側氧基丙腈)、奧拉西替尼(oclacitinib)(N-甲基{反-4-[甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)胺基]環己基}甲磺醯胺)、巴利替尼(baricitinib)(2-[1-乙基磺醯基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)吡唑-1-基]氮雜環丁-3-基]乙腈)、哌非替尼(peficinitib)(4-[[((1R,3S)-5-羥基-2-金剛烷基]胺基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-甲醯胺)、菲達替尼(N-第三丁基-3-{5-甲基-2-[4-(2-吡咯啶-1-基-乙氧基)-苯基胺基]-嘧啶-4-基胺基}-苯磺醯胺)、烏帕替尼(upadacitinib)((3S,4R)-3-乙基-4-(3H-咪唑并[1,2-a]吡咯并[2,3-e]吡嗪-8-基)-N-(2,2,2-三氟乙基)吡咯啶-1-甲醯胺)、菲爾替尼(filgotinib)(N-[5-[4-[(1,1-二側氧基-1,4-噻嗪烷-4-基)甲基]苯基]-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-2-基]環丙烷甲醯胺)、色達拉替尼(cerdulatinib)(4-(環丙基胺基)-2-[4-(4-乙基磺醯基哌嗪-1-基)苯胺基]嘧啶-5-甲醯胺)、甘多替尼(gandotinib)(3-(4-氯-2-氟苯甲基)-2-甲基-N-(5-甲基)-1H-吡唑-3-基)-8-(嗎啉基甲基)咪唑并[1,2-b]噠嗪-6-胺)、來他替尼(lestaurtinib)((5S,6S,8R)-6-羥基-6-(羥基甲基)-5-甲基-7,8,14,15-四氫-5H-16-氧雜-4b,8a,14-三氮雜-5,8-甲橋二苯并[b,h]環辛并[jkl]環戊并[e]-as-茚滿-13(6H)-酮)、莫洛替尼(N-(氰基甲基)-4-{2-[4-(嗎啉-4-基)苯胺基]嘧啶-4-基}苯甲醯胺)和帕瑞替尼((16E)-11-[2-(1-吡咯啶基)乙氧基]-14,19-二氧雜-5,7,26-三氮雜四環[19.3.1.12,6.18,12]二十七-1(25),2(26),3,5,8,10,12(27),16,21,23-癸烯)及其醫藥上可接受之鹽。在某些具體例中，JAK抑制劑選自由魯索替尼、菲達替尼，莫洛替尼和帕瑞替尼或其醫藥上可接受之鹽及其組合組成之群。在某些具體例中，JAK抑制劑是魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽。在某些具體例中，JAK抑制劑是菲達替尼或其醫藥上可接受之鹽。在某些具體例中，JAK抑制劑是莫洛替尼或其醫藥上可接受之鹽。在某些具體例中，JAK抑制劑是帕瑞替尼或其醫藥上可接受之鹽。

【0070】 在具體例中，如本文所用的術語端粒酶抑制劑是指能夠在哺乳動物細胞中降低或抑制端粒酶逆轉錄酶活性的化合物。在一些情況下，感興趣的端粒酶抑制劑包括hTR模板抑制劑，其包括寡核苷酸。「hTR模板抑制劑」是阻斷人類端粒酶之RNA組分的模板區域並且可以抑制酶活性的化合物。在一些具體例中，寡核苷酸包括有效地雜交至此區域之更為特定部分的序列，其具有序列5'-CUAACCCUAAC-3'。

【0071】 感興趣的端粒酶抑制劑包括寡核苷酸和連接至該寡核苷酸的5'及/或3'端的脂質部分。在一些具體例中，端粒酶抑制劑包括具有「抗核酸酶基鍵聯」的寡核苷酸，其具有帶次單位鍵聯的骨架，次單位鍵聯在非雜交或雜交形式下對那些對細胞外核酸酶與細胞內核酸酶的核酸酶切割基本上具抗性。在一些情況下，寡核苷酸在生理條件下顯示很少或沒有核酸酶切割。

【0072】 在一些具體例中，靶向hTR序列的治療性寡核苷酸的區域與相應hTR序列互補。在某些具體例中，寡核苷酸的鹼基序列包括與hTR目標互補的5個或更多個核苷酸的序列，諸如括與hTR目標互補的8個或更多個核苷酸、諸如10個或更多個核苷酸、諸如12個或更多個核苷酸、諸如15個或更多個核苷酸。在某些具體例中，在本發明端粒酶抑制劑中的寡核苷酸與hTR目標序列完全互補，諸如其中寡核苷酸的整個長度與hTR目標序列互補。

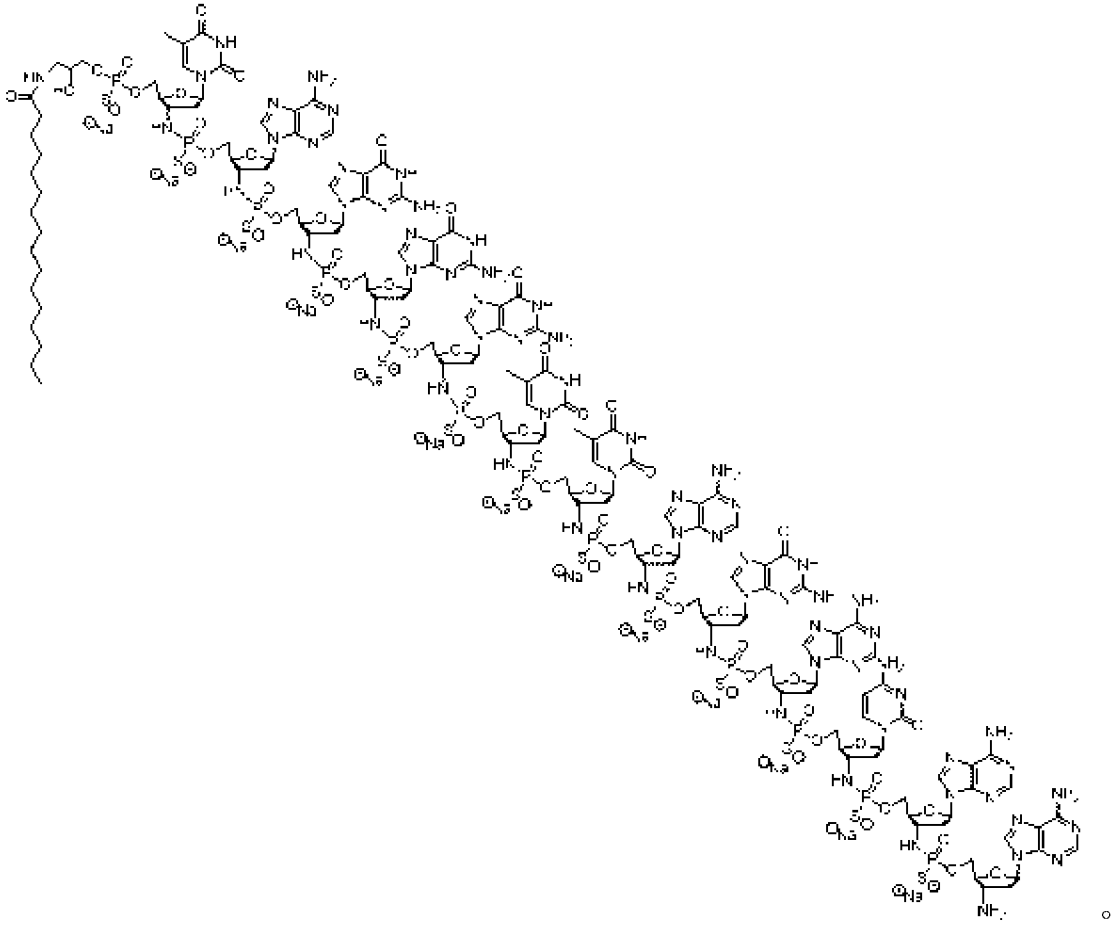
【0073】 端粒酶抑制劑包括核苷間鍵聯，諸如磷酸二酯、磷酸三酯、甲基膦酸酯、P3'→N5'胺基磷酸酯、N3'→P5'胺基磷酸酯，N3'→P5'硫代胺基磷酸酯和硫代磷酸酯鍵聯。在某些具體例中，感興趣的端粒酶抑制劑包括至少一個N3'→P5'胺基磷酸酯(NP)或N3'→P5'硫代胺基磷酸酯(NPS)鍵聯，該鍵聯可以由以下結構表示：3'-(-NH--P(＝O)(--XR)-O-)-5′，其中當XR為OH或SH時，X是O或S，且R選自由氫，烷基和芳基組成之群；及其醫藥上可接受之鹽。在其他具體例中，寡核苷酸包括所有NP，或在一些具體例中，包括所有NPS鍵聯。在一個具體例中，hTR模板抑制劑寡核苷酸的序列是與SEQ ID NO：1的核苷酸42-54的序列互補：

(GGGUUGCGGAGGGUGGGCCUGGGAGGGGUGGUGGCCAUUUUUUGU
CUAACCCUAACUGAGAAGGGCGUAGGCGCCGUGCUUUUGCUCCCCGC
GCGCUGUUUUUCUCGCUGACUUUCAGCGGGCGGAAAAGCCUCGGCCU
GCCGCCUUCCACCGUUCAUUCUAGAGCAAACAAAAAAUGUCAGCUGC
UGGCCCGUUCGCCUCCCGGGGACCUGCGGCGGGUCGCCUGCCCAGCC
CCCGAACCCCCGCCUGGAGCCGCGGUCGGCCCGGGGCUUCUCCGGAGG
CACCCACUGCCACCGCGAAGAGUUGGGCUCUGUCAGCCGCGGGUCUC
UCGGGGGCGAGGGCGAGGUUCACCGUUUCAGGCCGCAGGAAGAGGA
ACGGAGCGAGUCCCGCCGCGGCGCGAUUCCCUGAGCUGUGGGACGUG
CACCCAGGACUCGGCUCACACAUGCAGUUCGCUUUCCUGUUGGUGGG
GGGAACGCCGAUCGUGCGCAUCCGUCACCCCUCGCCGGCAGUGGGGG
CUUGUGAACCCCCAAACCUGACUGAC UGGGCCAGUGUGCU)。在某些具體例中，寡核苷酸包括與具有序列5'-CUAACCCUAAC-3'的11個核苷酸區域的一些部分互補或接近互補的序列。具有此序列的寡核苷酸(TAGGGTTAGACAA；SEQ ID NO：12)和N3'→P5'硫代胺基磷酸酯(NPS)鍵聯在本文中被指定為GRN163。參見例如Asai et al., *Cancer Research* 63:3931-3939 (2003)以及Gryaznov et al., *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* 22(5-8):577-81 (2003)。另一個目標區域是橫跨hTR的核苷酸137-179的區域(參見Pruzan et al., *Nucl. Acids Research*, 30:559-568, 2002)。在這個區域內，橫跨141-153的序列是較佳的目標。PCT公開案WO 98/28442描述了使用長度為至少7個核苷酸的寡核苷酸來抑制端粒酶，其中寡核苷酸被設計成與模板區域外部的hTR序列的可觸及部分互補，包括hTR的核苷酸137-196、290-319和350-380。較佳的hTR靶向序列提供於下文，並由SEQ ID NO：2-22標識。在某些具體例中，端粒酶抑制劑的寡核苷酸具有靶向人類端粒酶RNA (hTR)的序列，包括但不限於以下序列：

hTR靶向序列	SEQ ID NO:1的區域	SEQ ID NO:1
ACATTTTTTGTTTGCTCTAG	160-179	2
GCTCTAGAATGAACGGTGGAAGGCGGCAGG	137-166	3
GTGGAGGCGGCAGG	137-151	4
GGAAGGCGGCAGG	137-149	5
GTGGAAGGCGGCA	139-151	6
GTGGAAGGCGG	141-151	7
CGGTGGAAGGCGG	141-153	8
ACGGTGGAAGGCG	142-154	9
AACGGTGGAAGGCGGC	143-156	10
ATGAACGGTGGAAGGCGG	144-161	11
TAGGGTTAGACAA	42-54	12
CAGTTAGGGTTAG	46-58	13
TAGGGTTAGACA	42-53	14
TAGGGTTAGAC	42-52	15
GTTAGGGTTAG	46-56	16
GTTAGGGTTAGAC	46-56	17
GTTAGGGTTAGACAA	42-56	18
GGGTTAGAC	44-52	19
CAGTTAGGG	50-58	20
CCCTTCTCAGTT	54-65	21
CGCCCTTCTCAG	56-67	22

【0074】 本發明的端粒酶抑制劑包括連接至寡核苷酸的5'及/或3'端的脂質部分。在一些情況下，結構基團提供了優異的細胞攝取性質，從而與未經修飾的形式相比，使用較少量的經接合寡核苷酸就可以獲得相同的生物學效果。脂質部分可以是脂族烴或脂肪酸，諸如烴和脂肪酸的衍生物。例如，脂質部分可以是具有14-20個碳的飽和直鏈化合物，諸如肉荳蔻(十四烷)酸、棕櫚(十六烷)酸和硬脂(十八烷)酸，及其對應的脂族烴形式(十四烷、十六烷和十八烷)。其他脂質部分的實例包括固醇(諸如膽固醇)，和經取代脂肪酸與烴，特別是這些基團的多氟化特別形式。在某些具體例中，脂質部分包括脂質部分的一或多種衍生物，諸如胺、醯胺，酯和胺基甲酸酯衍生物。在一個實例中，脂質部分是棕櫚醯基(C16)部分，諸如棕櫚醯胺。脂質部分可以經由連接子(諸如甘油或胺基甘油連接子)接合至寡核苷酸。

【0075】 在一些具體例中，端粒酶抑制劑是如美國專利第9,375,485號中所述的化合物，其揭示內容以引用的方式併入本文。在某些具體例中，端粒酶抑制劑是伊美司他(由序列5'-TAGGGTTAGACAA-3'組成的5'經棕櫚醯化13-員硫代胺基磷酸酯寡核苷酸)或其醫藥上可接受之鹽，諸如伊美司他鈉(GRN163L)：



【0076】 在實施本發明方法時，被投與給個體的JAK抑制劑或醫藥上可接受之鹽的數量可以在約1 mg/天至約600 mg/天範圍內變化，諸如約10 mg/天至約550 mg/天、諸如10 mg/天至約400 mg/天、諸如約15 mg/天至約300 mg/天、諸如約20 mg/天至約200 mg/天、諸如約25 mg/天至約100 mg/天，並且包括約30 mg/天至約35 mg/天。在某些具體例中，被投與給個體的JAK抑制劑的數量是約10 mg/天至約400 mg/天。

【0077】 被投與給個體的魯索替尼或醫藥上可接受之鹽的各個劑量可以在約5 mg至約40 mg範圍內變化，諸如約7.5 mg至約27.5 mg、諸如約10 mg至約

25 mg、諸如約12.5 mg至約22.5 mg，並包括約15 mg至約20 mg。在某些具體例中，被投與給個體的JAK抑制劑的劑量為5.0 mg、5.1 mg、5.2 mg、5.3 mg、5.4 mg、5.5 mg、5.6 mg、5.7 mg、5.8 mg、5.9 mg、6.0 mg、6.1 mg、6.2 mg、6.3 mg、6.4 mg、6.5 mg、6.6 mg、6.7 mg、6.8 mg、6.9 mg、7 mg、7.1 mg、7.2 mg、7.3 mg、7.4 mg、7.5 mg、7.6 mg、7.7 mg、7.8 mg 、7.9 mg、8 mg、8.1 mg、8.2 mg、8.3 mg、8.4 mg、8.5 mg、8.6 mg、8.7 mg、8.8 mg、8.9 mg、9 mg、9.1 mg、9.2 mg、9.3 mg、9.4 mg、9.5 mg、9.6 mg、9.7 mg、9.8 mg、9.9 mg、10 mg、10.1 mg、10.2 mg、10.3 mg、10.4 mg、10.5 mg、10.6 mg、10.7 mg、10.8 mg、10.9 mg、11 mg、11.1 mg、11.2 mg、11.3 mg、11.4 mg、11.5 mg、11.6 mg、11.7 mg、11.8 mg、11.9 mg、12 mg、12.1 mg、12.2 mg、12.3 mg、12.4 mg、12.5 mg、12.6 mg、12.7 mg、12.8 mg 、12.9 mg、13 mg、13.1 mg、13.2 mg、13.3 mg、13.4 mg、13.5 mg、13.6 mg、13.7 mg、13.8 mg、13.9 mg、14 mg、14.1 mg、14.2 mg、14.3 mg、14.4 mg、14.5 mg、14.6 mg、14.7 mg、14.8 mg，14.9 mg或15 mg。

【0078】 在某些具體例中，按下列劑量向個體投與JAK抑制劑魯索替尼：當個體的基線血小板計數少於約100 x 10^{9}/L血小板時，每天兩次5 mg；當個體的基線血小板計數為約100 x 10^{9}/L血小板至約200 x 10^{9}/L血小板時，每天兩次15 mg；而當個體的基線血小板計數大於約200 x 10^{9}/L血小板時，每天兩次20 mg。

【0079】 在某些具體例中，當個體的基線血小板計數大於或等於約50 x 10^{9}/L血小板時，以每天一次400 mg的劑量投與JAK抑制劑菲達替尼或其醫藥上可接受之鹽。在某些情況下，以每天一次300 mg的劑量向個體投與菲達替尼或其醫藥上可接受之鹽。在其他情況下，以每天一次200 mg的劑量向個體投與菲達替尼或其醫藥上可接受之鹽。在又其他情況下，以每天一次100 mg的劑量向個體投與菲達替尼或其醫藥上可接受之鹽。在又其他情況下，以每天一次少於100 mg的劑量向個體投與菲達替尼或其醫藥上可接受之鹽。

【0080】 在其他具體例中，JAK抑制劑是莫洛替尼或其醫藥上可接受之鹽，並且以每天一次400 mg的劑量被投與給個體。在某些情況下，以每天一次300 mg的劑量向個體投與莫洛替尼或其醫藥上可接受之鹽。在其他情況下，以每天一次200 mg的劑量向個體投與莫洛替尼或其醫藥上可接受之鹽。在一些情況下，以每天兩次150 mg的劑量投與莫洛替尼或其醫藥上可接受之鹽。在又其他情況下，以每天一次100 mg的劑量向個體投與莫洛替尼或其醫藥上可接受之鹽。

【0081】 在其他具體例中，JAK抑制劑是帕瑞替尼或其醫藥上可接受之鹽，並且以每天一次約50 mg至約600 mg的劑量被投與給個體，諸如每天一次約100 mg至約500 mg、諸如每天一次約150 mg至約400 mg，並包括每天一次約200 mg至約350 mg。在某些情況下，以每天兩次約50 mg至約600 mg的劑量向個體投與帕瑞替尼或醫藥上可接受之鹽，諸如每天兩次約100 mg至約500 mg，諸如每天兩次約150 mg至約400mg，並包括每天兩次約200 mg至約350 mg。在其他情況下，以每天一次100mg，或每天兩次約100 mg或每天兩次200 mg的劑量向個體投與帕瑞替尼或醫藥上可接受之鹽。

【0082】 依據某些具體例，方法還包括在向個體投與JAK抑制劑前，測定個體的基線或治療前血小板計數。在這些具體例中，方法可以包括測定個體的基線或治療前血小板計數，並且基於個體的基線或治療前血小板計數確定用於投與給個體的JAK抑制劑數量。可以使用任何便利的血液學程序來測定個體的基線或治療前血小板計數，諸如使用手動或自動血液學分析儀或使用血球計。依據本文所述方法的具體例，可以在向個體投與JAK抑制劑劑量前1分鐘或更久測定個體的基線或治療前血小板計數(以及待投與的JAK抑制劑數量)，在向個體投與JAK抑制劑前諸如2分鐘或更久、諸如5分鐘或更久、諸如10分鐘或更久、諸如15分鐘或更久、諸如30分鐘或更久、諸如60分鐘或更久、諸如2小時或更久、諸如3小時或更久、諸如6小時或更久、諸如12小時或更久，且包括24小時測定個體的基線或治療前血小板計數。

【0083】 可以向個體投與各個劑量的JAK抑制劑每天一或多次，諸如每天兩次、諸如每天三次並包括每天四次。在某些具體例中，方法包括每天一次向個體投與JAK抑制劑。在其他具體例中，方法包括每天兩次向個體投與JAK抑制劑。在一些情況下，在一個週期中每天一或多次向個體投與JAK抑制劑，持續時間為30天、29天、28天、27天、26天、25天、24天、23天、22天、21天、20天、19天、18天、17天、16天、15天、14天、13天、12天、11天、10天、9天、8天、7天、6天、5天、4天，3天或2天或1天。在一些情況下，每天一次向個體投與JAK抑制劑，持續約1天至約30天，諸如每天一次，持續時間為約1天至約28天、1天至21天、7天至14天。在其他情況下，每天兩次向個體投與JAK抑制劑，持續時間為約1天至約30天，諸如每天一次，持續時間為約1天至約28天、1天至21天、7天到14天。

【0084】 可以每天一或多次向個體投與JAK抑制劑，持續時間為約1天至約21天，諸如2天至約20天、諸如約3天至約19天、諸如約4天至約18天、諸如約5天至約17天、諸如約6天至約16天並包括約7天至約14天。在一個實例中，方法包括每天一次向個體投與JAK抑制劑，持續時間為約1天至約21天，諸如2天至約20天、諸如約3天至約19天、諸如約4天至約18天、諸如約5天至約17天、諸如約6天至約16天並包括每天一次向個體投與JAK抑制劑，持續時間約7天至約14天。在另一個實例中，方法包括每天兩次向個體投與JAK抑制劑，持續時間為約1天至約21天，諸如2天至約20天、諸如約3天至約19天、諸如約4天至約18天、諸如約5天至約17天、諸如約6天至約16天，並包括每天兩次向個體投與JAK抑制劑，持續時間為約7天至約14天。在某些具體例中，當個體的基線血小板計數少於約100×10^{9}/L血小板時，以每天兩次約5 mg的劑量向個體投與JAK抑制劑；當個體的基線血小板計數為約100 x 10^{9}/L血小板至約200 x 10^{9}/L血小板時，每天兩次約15 mg；或當個體的基線血小板計數大於約200 x 10^{9}/L血小板時，每天兩次約20 mg 。

【0085】 被投與給個體的端粒酶抑制劑(諸如伊美司他或伊美司他鈉)劑量可能會有所變化，範圍從約4 mg/kg至約15 mg/kg，諸如約4.0 mg/kg至約10 mg/kg、諸如約6 mg/kg至約14 mg/kg、諸如約7 mg/kg至約13 mg/kg、諸如約8 mg/kg至約12 mg/kg、諸如約7.5 mg/kg至9.4 mg/kg，並包括約9 mg/kg至約11 mg/kg。在一些具體例中，被投與給個體的端粒酶抑制劑劑量為約7.5 mg/kg至約9.4 mg/kg。例如，端粒酶抑制劑的劑量可以是4.0 mg/kg、4.1 mg/kg、4.2 mg/kg、4.3 mg/kg、4.4 mg/kg、4.5 mg/kg、4.6 mg/kg、4.7 mg/kg、4.8 mg/kg、4.9 mg/kg、5.0 mg/kg、5.1 mg/kg、5.2 mg/kg、5.3 mg/kg、5.4 mg/kg、5.5 mg/kg、5.6 mg/kg、5.7 mg/kg、5.8 mg/kg、5.9 mg/kg、6.0 mg/kg、6.1 mg/kg、6.2 mg/kg、6.3 mg/kg、6.4 mg/kg、6.5 mg/kg、6.6 mg/kg、6.7 mg/kg、6.8 mg/kg、6.9 mg/kg、7 mg/kg、7.1 mg/kg、7.2 mg/kg、7.3 mg/kg、7.4 mg/kg、7.5 mg/kg、7.6 mg/kg、7.7 mg/kg、7.8 mg/kg、7.9 mg/kg、8 mg/kg、8.1 mg/kg、8.2 mg/kg、8.3 mg/kg、8.4 mg/kg、8.5 mg/kg、8.6 mg/kg、8.7 mg/kg、8.8 mg/kg、8.9 mg/kg、9 mg/kg、9.1 mg/kg、9.2 mg/kg、9.3 mg/kg、9.4 mg/kg、9.5 mg/kg、9.6 mg/kg、9.7 mg/kg、9.8 mg/kg、9.9 mg/kg、10 mg/kg、10.1 mg/kg、10.2 mg/kg、10.3 mg/kg、10.4 mg/kg、10.5 mg/kg、10.6 mg/kg、10.7 mg/kg、10.8 mg/kg、10.9 mg/kg、11 mg/kg、11.1 mg/kg、11.2 mg/kg、11.3 mg/kg、11.4 mg/kg、11.5 mg/kg、11.6 mg/kg、11.7 mg/kg、11.8 mg/kg、11.9 mg/kg、12 mg/kg、12.1 mg/kg、12.2 mg/kg、12.3 mg/kg、12.4mg/kg、12.5 mg/kg、12.6 mg/kg、12.7 mg/kg、12.8 mg/kg、12.9 mg/kg、13 mg/kg。在某些具體例中，被投與給個體的端粒酶抑制劑劑量為約9.4 mg/kg。

【0086】 可在一個週期中每週一次、每兩週(14天)一次、每三週(21天)一次或每四週(28天)一次、每6週一次、每8週一次、每10週一次、每12週一次向個體投與端粒酶抑制劑(諸如伊美司他或伊美司他鈉)的劑量。在方法的某些具體例中，投與伊美司他持續1、2、3、4、5、6、7、8或超過8個劑量週期，每個週期包括：每三週一次靜脈內投藥約4-10 mg/kg伊美司他、每四週一次靜脈內投

藥約4-10 mg/kg伊美司他、每兩週一次靜脈內投藥約4-10 mg/kg伊美司他，或每三週一次靜脈內投藥約7.5-9.4 mg/kg伊美司他。在某些情況下，每個劑量週期包含每四週一次靜脈內投藥約7.5-9.4 mg/kg伊美司他。在一些情況下，每個劑量週期包含每三週一次靜脈內投藥約9.4 mg/kg伊美司他。

【0087】 在一些具體例中，被投與給個體的端粒酶抑制劑(諸如伊美司他或伊美司他鈉)的數量為約0.5至約5 mg、約5至約10 mg、約10至約15 mg、約15至約20 mg、約20至約25 mg、約20至約50 mg、約25至約50 mg、約50至約75 mg、約50至約100 mg、約75至約100 mg、約100至約125 mg、約125至約150 mg、約150至約175 mg、約175至約200 mg、約200至約225 mg、約225至約250 mg、約250至約300 mg、約300至約350 mg，約350至約400 mg，約400至約450 mg或約450至約500 mg。在一些具體例中，以有效量被投與給個體的端粒酶抑制劑數量(例如，單位劑型)範圍為約5 mg至約500 mg，諸如約30 mg至約300 mg或約50 mg至約200 mg。在一些具體例中，被投與給個體的端粒酶抑制劑的濃度是稀的(約0.1 mg/ml)或濃的(約180 mg/ml)，包括例如以下中的任一者：約0.1至約200 mg/ml、約0.1至約180 mg/ml、約0.1至約160 mg/ml、約0.1至約140 mg/ml、約0.1至約120 mg/ml、約0.1至約100 mg/ml、約0.1至約80 mg/ml、約0.1至約60 mg/ml、約0.1至約40 mg/ml、約0.1至約20 mg/ml、約0.1至約10 mg/ml、約2至約40 mg/ml、約4至約35 mg/ml、約6至約30 mg/ml、約8至約25 mg/ml、約10至約20 mg/ml、約12至約15 mg/ml，或以下中的任一者：約0.1 mg/ml、0.2 mg/ml、0.3 mg/ml、0.4 mg/ml、0.5 mg/ml、0.6 mg/ml、0.7 mg/ml、0.8 mg/ml、0.9 mg/ml、1 mg/ml、1.1 mg/ml、1.2 mg/ml、1.3 mg/ml、1.4 mg/ml、1.5 mg/ml、1.6 mg/ml、1.7 mg/ml、1.8 mg/ml、1.9 mg/ml、2 mg/ml、2.1 mg/ml、2.2 mg/ml、2.3 mg/ml，2.4 mg/ml或2.5 mg/ml。在一些具體例中，端粒酶抑制劑的濃度為至少以下中的任一者：約0.1 mg/ml、0.2 mg/ml、0.3 mg/ml、0.4 mg/ml、0.5 mg/ml、1.3 mg/ml、1.5 mg/ml、2 mg/ml、3 mg/ml、4 mg/ml、5 mg/ml、6 mg/ml、7 mg/ml、8 mg/ml、9 mg/ml、10 mg/ml、11 mg/ml 、12 mg/ml、13

mg/ml、14 mg/ml、15 mg/ml、16 mg/ml、17 mg/ml、18 mg/ml、19 mg/ml、20 mg/ml、21 mg/ml 、22 mg/ml、23 mg/ml、24 mg/ml、25 mg/ml、26 mg/ml、27 mg/ml、28 mg/ml、29 mg/ml、30 mg/ml、31 mg/ml、32 mg/ml、33 mg/ml、33.3 mg/ml、34 mg/ml、35 mg/ml、36 mg/ml、37 mg/ml、38 mg/ml、39 mg/ml、40 mg/ml、50 mg/ml、60 mg/ml、70 mg/ml、80 mg/ml、90 mg/ml、100 mg/ml、110 mg/ml、120 mg/ml、130 mg/ml、140 mg/ml、150 mg/ml、160 mg/ml、170 mg/ml、180 mg/ml、190 mg/ml、200 mg/ml、210 mg/ml、220 mg/ml、230 mg/ml、240 mg/ml，或250 mg/ml。

【0088】 在具體例中，每七天或更久一次向個體投與各個劑量的端粒酶抑制劑，諸如每10天或更久一次、諸如每14天或更久一次、諸如每21天或更久一次、諸如每28天或更久一次，並包括每35天或更久一次。在一些具體例中，每兩週一次向個體投與端粒酶抑制劑。在其他具體例中，每三週一次向個體投與端粒酶抑制劑。在又其他具體例中，每4週一次投與端粒酶抑制劑。在一些情況下，在約0.1小時至約6小時，諸如約0.5小時至約5小時、諸如約1小時至約4小時的持續時間內，並包括約2小時至約3小時的持續時間內向個體投與端粒酶抑制劑的各個劑量。在某些情況下，在約2小時的持續時間內向個體投與端粒酶抑制劑。

【0089】 在一些具體例中，治療骨髓增生性腫瘤的方法包括向個體投與JAK抑制劑持續預定的持續時間；暫停JAK抑制劑的投藥；以及於最後一劑JAK抑制劑後在預定期間內向個體投與端粒酶抑制劑。在這些具體例中，可以投與JAK抑制劑約0天至約28天的持續時間，諸如約1天至約21天、諸如約2天至約14天並包括約2天至約7天。可以每天一次、每天兩次，每天三次或每天四次投與JAK抑制劑。在最後一劑JAK抑制劑的7天內，中斷JAK抑制劑投藥後諸如6天內、諸如5天內、諸如4天內並包括3天內向個體投與端粒酶抑制劑。

【0090】 在一些具體例中，治療骨髓增生性腫瘤的方法包括向個體投與端粒酶抑制劑持續預定的持續時間；中斷端粒酶抑制劑的投藥；以及在中斷投與

端粒酶抑制劑後的預定期間內向個體投與JAK抑制劑。在這些具體例中，可以投與JAK抑制劑約0天至約28天的持續時間，諸如約1天至約21天、諸如約2天至約14天並包括約2天至約7天。可以每天一次、每天兩次，每天三次或每天四次投與JAK抑制劑。這個循環可以重複2、3、4、5、6次或更多次。

【0091】 在某些具體例中，方法包括每天一次向個體投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽，持續0天至14天；以及在投與最後一劑魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽後3天內(例如2天內，1天內或同一天)，向個體投與伊美司他或其醫藥上可接受之鹽。在這些具體例中，接著可以每兩週一次、每三週一次或每四週一次投與伊美司他或其醫藥上可接受之鹽。

【0092】 每種醫藥組成物的投藥可以延長時間段(諸如在維持治療期間)，例如從約一個月至多約七年。在一些具體例中，JAK抑制劑組成物和端粒酶抑制劑組成物中的一或多者可以在約2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、18、24、30、36、48、60、72或84個月中任一者的期間內投與。在其他具體例中，在個體的餘生投與JAK抑制劑組成物和端粒酶抑制劑組成物中的一或多者。

【0093】 在具體例中，可以將適於實施本發明方法的JAK抑制劑組成物和端粒酶抑制劑組成物調配成適於口服、靜脈內、皮下、肌肉內、局部、腹膜內、鼻內，吸入或眼內投藥中的一或多者。在某些具體例中，用於投與JAK抑制劑組成物和端粒酶抑制劑組成物的預期方案以及如本文所述的合適劑量可以由合格的健康照護專業人員(例如醫師)來決定。

【0094】 醫藥組成物可以包括一或多種醫藥上可接受之載劑。醫藥上可接受之賦形劑已在各種出版物中充分描述，包括例如，A. Gennaro (2000) "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 20th edition, Lippincott, Williams, & Wilkins；Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (1999) H. C. Ansel et al., eds 7th ed., Lippincott, Williams, & Wilkins；以及 Handbook of Pharmaceutical Excipients (2000) A. H. Kibbe et al., eds., 3rd ed.

Amer. Pharmaceutical Assoc。例如，一或多種賦形劑可包括蔗糖、澱粉、甘露醇、山梨醇、乳糖、葡萄糖、纖維素、滑石、磷酸鈣或碳酸鈣、黏合劑(例如纖維素、甲基纖維素、羥甲基纖維素、聚丙基吡咯啶酮、聚乙烯吡咯啶酮、明膠、阿拉伯膠、聚乙二醇，蔗糖或澱粉)、崩解劑(例如澱粉、羧甲基纖維素、羥丙基澱粉、低取代的羥丙基纖維素、碳酸氫鈉，磷酸鈣或檸檬酸鈣)、潤滑劑(諸如硬脂酸鎂、輕質無水矽酸，滑石或十二烷基硫酸鈉)、調味劑(例如檸檬酸，薄荷醇，甘胺酸或橙粉)、防腐劑(例如苯甲酸鈉、亞硫酸氫鈉、對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯)、穩定劑(例如檸檬酸，檸檬酸鈉或乙酸)，懸浮劑(例如甲基纖維素，聚乙烯吡咯啶酮或硬脂酸鋁)、分散劑(例如羥丙基甲基纖維素)、稀釋劑(例如水)與底蠟(例如可可脂，白凡士林或聚乙二醇)。

【0095】 在一些具體例中，感興趣的組成物包括水性緩衝劑。合適的水性緩衝劑包括，但不限於強度在約5 mM至約100 mM內變化的乙酸鹽、琥珀酸鹽，檸檬酸鹽和磷酸鹽緩衝劑。在一些具體例中，水性緩衝劑包括提供等滲溶液的試劑。這些試劑包括，但不限於氯化鈉；和糖，例如甘露醇、右旋糖、蔗糖與類似物。在一些具體例中，水性緩衝劑進一步包括非離子性表面活性劑，諸如聚山梨醇酯20或80。在一些情況下，感興趣的組成物進一步包含防腐劑。合適的防腐劑包括但不限於苯甲醇、苯酚、氯丁醇、苯扎氯銨與類似物。在許多情況下，組成物儲存在約4℃下。調配物也可以凍乾，在這種情況下，它們通常包括冷凍保護劑，諸如蔗糖、海藻糖、乳糖、麥芽糖、甘露醇與類似物。凍乾調配物即使在環境溫度下也可以長時間保存。

【0096】 在一些具體例中，組成物包括其他添加劑，諸如乳糖、甘露醇、玉米澱粉或馬鈴薯澱粉；與黏合劑，諸如結晶纖維素、纖維素衍生物、阿拉伯膠，玉米澱粉或明膠；與崩解劑，諸如玉米澱粉，馬鈴薯澱粉或羧甲基纖維素鈉；與諸如滑石粉或硬脂酸鎂的潤滑劑一起使用；且如果需要的話，還可以與稀釋劑、緩衝劑、潤濕劑，防腐劑和調味劑一起使用。

【0097】 當調配用於注射的組成物時，可以藉由將JAK抑制劑或端粒酶抑制劑溶解，懸浮或乳化在水性或非水性溶劑(諸如植物油或其他類似的油，合成脂族酸甘油酯，較高級脂肪酸的酯或丙二醇)中來調配組成物；且如果需要的話，可與習知添加劑一起使用，諸如增溶劑、等滲劑、懸浮劑、乳化劑，穩定劑和防腐劑。

實例

【0098】 提出以下實例以向那些習於技藝者提供如何製造和使用本發明的完整揭示和說明，並且既無意限制發明人所認定的發明範圍，也不希望表示以下實驗是全部或僅有的實施實驗。已盡力確保所用數字(例如數量，溫度等)的準確性，但應考慮會有一些實驗誤差和偏差。除非另有指明，否則份是重量份，分子量是重量平均分子量，溫度是攝氏度，壓力是大氣壓或接近大氣壓。「平均值」是指算術平均值。可以使用標準縮寫，例如bp，鹼基對；kb，千鹼基；pl，皮升；s或sec，秒；min，分；h或hr，小時；aa，胺基酸；kb，千鹼基；bp，鹼基對；nt，核苷酸；i.m.，肌肉內(地)；i.p.，腹膜內(地)；s.c.，皮下(地)；以及類似者。

材料與方法

【0099】 化合物。伊美司他鈉(GRN163L)是由序列5'-TAGGGTTAGACAA-3'組成之5'經棕櫚醯化的13-員硫代胺基磷酸酯寡核苷酸。錯配寡核苷酸(MM)是由序列5'-TAGGTGTAAGCAA-3'組成之5'經棕櫚醯化的13-員硫代胺基磷酸酯寡核苷酸。兩種化合物均由Janssen Research & Development, LLC (Raritan, NJ, USA)提供。魯索替尼((3R)-3-環戊基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基l)吡唑-1-基]丙腈)是購自Selleck Chemicals LLC (Houston, TX, USA)。

【0100】 患者試樣和細胞製備。由13名帶有需治療性脾臟切除術的晚期MF的患者的經手術切除脾臟來製備單細胞懸浮液(表1)。這些患者中，每一位的JAK2，CALR和MPL突變都顯示在表1中。臍帶血(CB)收集物是由紐約血液中心提供。使用$CD34^+$細胞選擇套組(StemCell Technologies, Vancouver, BC,

Canada)從單核細胞選出$CD34^+$細胞。在每個實驗中，使用FACSCanto流式細胞儀分析純度≥90%的$CD34^+$細胞。

表1

患者	性別	年齡	診斷	JAK2V617F對偶基因負荷(%)*	CALR狀態*	MPL突變*
1	F	70	PV- MF	85.0	N/A	WT
2	M	64	PMF	0	WT	WT
3	M	79	PMF	2.4	WT	WT
4	M	67	PMF	0	46-bp缺失	WT
5	F	45	PV- MF	90.0	WT	WT
6	F	64	PV- MF	78.0	WT	WT
7	M	76	PMF	24.9	WT	WT
8	M	73	PMF	85.1	WT	WT
9	F	52	ET-MF	0	缺失	WT
10	M	58	PV-MF	0	WT	N/A
11	M	66	PMF	0	WT	WT
12	F	73	ET-MF	0.3	WT	WT
13	M	51	PMF	28.0	N/A	WT

*藉由使用即時對偶基因特異性聚合酶鏈反應(AS-PCR)分析來分析PB顆粒球，確定每位MF患者的*JAK2V617F*狀態。藉由對DNA區域定序來對CALR進行突變分析，其中先前已經描述了*CALR*中的已知突變。藉由AS-PCR偵測*MPLW515L/K*突變。WT：野生型。N/A：不可用。

【0101】直接用各種藥物單獨與以組合的方式來治療經移植正常或MF脾臟CD34+細胞的NOD/SCID/IL2R剔除(NSG)小鼠。為了確定NSG小鼠耐受，並且對正常$CD34^+$細胞的行為影響最小的單獨伊美司他劑量，集中了八至十位捐贈者的CB $CD34^+$細胞(n=3)並經由尾靜脈移植(5×10^5/小鼠)至八至九週大經亞致死劑量輻照(240 cGy)的NSG小鼠。然後在移植後一週，每週三次向這些小鼠腹膜內(IP)注射5、15、30 mg/kg伊美司他或MM，持續4-8週。中斷伊美

司他或MM投藥後兩到三個月，犧牲小鼠並從股骨、脛骨，肱骨的骨髓(BM)回收細胞。藉由mAb染色和流式細胞計數分析來確定人類(h) $CD45^+$、$CD41a^+$和$CD34^+$細胞的存在。

【0102】 為了檢查伊美司他對MF HSC的作用，顯示了MF脾臟$CD34^+$細胞(3-5×10^5/小鼠，n＝3)在其移植到NSG小鼠中後4個月達到了顯著程度的人類細胞嵌合。將這些脾臟的$CD34^+$細胞移植到NSG小鼠中，一週後用伊美司他或MM以15 mg/kg的劑量治療持續4週。中斷藥物治療後三個月，對受體小鼠的BM中屬於各種人類造血細胞譜系的細胞的存在進行了定量。另外，使用FACSAria細胞分選儀選擇受體小鼠BM中的$hCD45^+$細胞。使用定量即時(RT)聚合酶鏈反應(PCR)以及對偶基因鑑別方法，測定接受帶有顆粒球*JAK2V617F*對偶基因負荷之患者的接受脾臟$CD34^+$細胞的小鼠的選定$hCD45^+$細胞的基因體DNA中，所存在的*JAK2V617F*/*JAK2*總百分比為85.1%。如果$hCD45^+$細胞在鼠類BM中存在≥0.1%有核細胞，則表明在NSG小鼠中已經發生了人類植入。

【0103】 單獨與以組合的方式使用Rux和伊美司他進行活體內研究，如圖1所示。已評估接受單獨伊美司他治療對MF HSC之影響的12位捐贈者的CB $CD34^+$細胞(n=1)(2.5×10^5/小鼠)或2位患者的MF脾臟$CD34^+$細胞(3-5×10^5/小鼠)經由尾靜脈移植到了八到九週大經亞致死劑量輻照(240 cGy)的NSG小鼠中。移植後一週，將移植小鼠隨機分為8個治療組，每組2-3隻小鼠，並按以下進行治療：第1組：單獨Rux；第2組：單獨伊美司他或MM；第3組：同時Rux和伊美司他或MM (Rux+Ime)；第4組：Rux，接著伊美司他或MM (Rux→Ime或MM)；第5組：單獨媒劑。每天一次以45 mg/kg的劑量藉由經口胃管灌食法投與Rux持續1週，而一週三次以10 mg/kg藉由I.P.注射投與伊美司他或MM持續4週。以10 mg/kg的劑量注射4週。移植後四個月，如上所述犧牲小鼠並進行分析。

【0104】 西方墨點法。溶解初代CB和脾臟MF $CD34^+$細胞。然後如先前所述藉由4-20% SDS-PAGE分析蛋白質溶解產物。兔抗hTERT和相應HRP接合二級

抗體是購自Cell Signaling Technology, Inc., (Danvers, MA)。藉由增強化學發光偵測(ECL, Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ)使蛋白質可視。

【0105】 端粒酶活性(TA)分析。定量端粒酶偵測套組用於測量TA。藉由在端粒特異性序列寡核苷酸受質存在下監測端粒重複序列合成，在0.01-0.1 μg細胞溶解產物中測量TA。然後藉由PCR偵測新合成的DNA。將結果繪製為偵測到因為結合至所生成PCR產物而產生的SYBR綠色螢光所需的即時PCR閾值循環數(C_T)。在每個實驗條件下，將熱不活化端粒酶用作細胞萃取物的陰性對照。TA增加與雙股DNA合成增加有關，而雙股DNA的合成需要更少的PCR週期(C_T)(例如C_T數越低，TA越高)。

【0106】 端粒酶長度分析。為了分析端粒長度，使用Telomere PNA套組/用於流式細胞分析術的FITC進行流式螢光原位雜交(Flow-FISH)。在無FITC結合肽核酸(PNA)端粒探針的雜交溶液存在下，或在含有該探針的雜交溶液中，將等量的初代MF或正常CB $CD34^+$細胞重新懸浮在微量離心管中。將試管放在預熱的加熱組中，調節至82℃持續10分鐘，以使樣品DNA變性。然後將試管在室溫(RT)下於黑暗中放置過夜，以使探針與TTAGGG端粒重複序列雜交。雜交後，在40℃下用洗滌溶液進行兩次10分鐘的雜交後洗滌。在最後的洗滌步驟後，將細胞用CD34和CD38 mAb染色，並與DNA溶液培育2-3小時，然後進行流式細胞分析分析。每個樣品的$CD34^+$、$CD34^+CD38^-$和$CD34^+CD38^+$細胞的端粒螢光強度(TFI)計算如下：TFI =帶有探針的FITC-PNA的平均螢光強度(MFI)-不帶有探針的FITC-PNA的MFI。TFI越高，端粒越長。

【0107】 單獨或以組合的方式使用數種劑量Rux和伊美司他來治療MF和正常$CD34^+$細胞。活體外研究指出，在用各種劑量的Rux (50-500nM)治療後，CB $CD34^+$細胞的數量僅減少至有限的程度，而MF脾臟$CD34^+$細胞的絕對數量卻以劑量依賴的方式減少。藉由使用150nM Rux對MF $CD34^+$細胞增殖和CFU-GM形成的抑制達到了50%。基於這些觀察結果和伊美司他的活體外研究結果，選出50nM Rux和1.8μM伊美司他來確定這兩種藥物的依序或同時組

合對MF HSC/HPC是否具有加成或協同作用。圖2描繪了活體外組合研究設計的示意圖，而圖3顯示藥物治療策略。簡而言之，於單獨Rux (50nM)存在下持續3天，或單獨伊美司他(1.8uM)存在下持續7天(短期治療)或14天(長期治療)，將CB (n=3)或MF (JAK2V617F$^+$，n=3；JAK2V617F$^-$，n=4)(2.5×10^4/mL) CD34$^+$細胞培育在補充有50 ng SCF、100 ng/ml FLT-3配體(FLT-3L)，100 ng/ml TPO和50 ng/ml IL-3(Gemini Bio-Products)的無血清擴增培養基(SFEM, StemCell Technologies)中。關於同時組合治療，將CD34$^+$細胞暴露於Rux和伊美司他持續3天，然後洗滌。然後將細胞再次暴露於伊美司他又4天或11天。關於依序組合治療，將CD34$^+$細胞在單獨存在Rux的情況下培育3天，然後在單獨伊美司他中培育7或14天。關於含伊美司他的三種治療策略，將細胞施加伊美司他共計3次。單獨使用Rux治療後三天和每次使用伊美司他治療後7或14天，對細胞進行計數並用CD34，譜系混合物和CD15 mAb染色，且進行流式細胞分析術分析。藉由將總活細胞數乘以CD34$^+$Lin$^-$和CD15$^+$CD34$^-$細胞的百分比來計算培養物中產生的Lin$^-$CD34$^+$(表型定義的HSC/HPC)和CD15$^+$CD34$^-$(骨髓)的絕對數目。另外，進行了單獨添加MM或媒劑的並行培養。

【0108】 HPC分析。還根據製造商的說明(StemCell Technologies)，在添加細胞介素混合物的甲基纖維素中分析從上述培養物中收取的一部分細胞。培育12至14天後計數群落的數量。摘出單個CFU-GM群落(20-38個群落/治療組/患者)，並使用巢式對偶基因特異性PCR分析*JAK2V617F*的存在。然後確定*JAK2V617F*$^+$ CFU-GM的百分比。

【0109】 統計分析。結果報告為平均值±SD。統計顯著性使用雙尾司徒登氏t檢定來確定。所有*P*值均為兩端的，且*P*值小於0.05視為顯著。

結果與討論

【0110】 伊美司他組合Rux的依序治療對MF HSC和HPC具有加成抑制活性。如圖4-5所示，單獨Rux (50 nM)、單獨伊美司他(1.8 μM)，這些藥物組合的同時或依序短期(圖4)或長期(圖5)給藥，均未影響正常表型定義的CB HSC

和功能定義的HPC產生以及正常骨髓細胞生成的數量。對MF HSC/HPC評估這兩種藥物單獨或以組合的方式的效果。如圖6-7中所示，單獨Rux減少了在脾臟MF $CD34^+$細胞培養物中產生的可測定HPC數量(CFU-GM + BFU-E + CFU-GEMM，P=9.69E-06，圖6-7，B區)和成熟骨髓細胞數量(圖6-7，C區，P=0.001)。然而，短期單獨伊美司他或短期同時或依序藥物組合治療均不會影響表型定義的MF HSC，所產生之功能定義的HPC和骨髓細胞生成的數量。相比之下，用50nM劑量的Rux和1.8μM劑量的伊美司他依序長期治療脾臟MF $CD34^+$細胞，可顯著減少Lin^-CD34^+細胞，可檢測HPC和成熟骨髓細胞的數量(圖7)。這樣的依序組合治療抑制了MF Lin^-CD34^+細胞的產生(P=0.001對單獨Rux；P=0.059對單獨伊美司他，圖7，A區)和可檢測HPC (P=0.02對單獨Rux；P=0.05對單獨伊美司他，圖7，B區)比單獨任何一種藥物的治療程度都更高。在培養物中，暴露於Rux和伊美司他組合的依序長期治療所產生的$CD15^+CD34^-$細胞數量的降低程度與單獨Rux或單獨伊美司他存在的情況下相似(圖6，C區，圖7，C區)。但是，在接受相同藥物組合長期同時治療的培養物中未觀察到對Lin^-CD34^+細胞和可檢測HPC的抑制作用(圖7)。這些發現表明，用Rux接著伊美司他進行依序治療可導致對錶型定義的MF HSC和功能定義的MF HPC的加成抑制作用，但不影響其正常相對物。為了確定這種組合治療是否選擇性地影響突變MF HPC，選出產生的單獨CFU-GM群落並對其*JAK2V617F*的存在進行基因分型。如圖8中所示，用Rux和伊美司他對SP7 $CD34^+$細胞進行依序長期組合治療導致$JAK2V617F^+$骨髓前驅細胞的百分比(單獨媒劑：94.2%；Rux→MM：88.9%；Rux→伊美司他：75%，圖8，A區)和絕對數量(相對於單獨媒劑：Rux→MM：50.3%；Rux→伊美司他：22.7%，圖8，B區)這兩者降低，甚至低於單獨依美司他治療(相對於單獨賦形劑：72.4%，圖8，B區)或同時組合治療(相對於單獨媒劑：60.3%，圖8，B區)。用另一種患者細胞也觀察到$JAK2V617F^+$骨髓前驅細胞的絕對數量減少(Pt13，相對於單獨媒劑的絕對數量：Rux→MM：97.5%；Rux→伊美司他：44.1%，圖

8，C區)。這些發現表明，藉由用Rux接著伊美司他依序治療，可以實現針對抗惡性MF HPC的加成抑制活性。

【0111】 伊美司他和Rux的依序組合治療對抗MF SRC具有加成抑制活性。藉由使移植了CB或MF $CD34^+$細胞的NSG小鼠與伊美司他(10 mg/kg)和Rux(45 mg/kg)直接接觸，評估這兩種藥物的組合治療對正常或MF HSC是否具有加成作用。圖9，A區和D區顯示了經移植CB $CD34^+$細胞的小鼠用這些藥物單獨或組合治療後，骨髓中存在的$hCD45^+$(圖9，A區)和$hCD34^+$細胞(圖9，D區)的FACS圖。在接受正常CB移植物之受體小鼠的骨髓(圖9，B區、E區)和脾臟(圖9，C區、F區)中，這些治療並未或僅只導致$hCD45^+$細胞嵌合和$hCD34^+$細胞生成的程度輕度降低。相反地，與任一單獨藥物治療相比，用等劑量Rux和伊美司他同時和依序組合治療經移植Pt5脾臟$CD34^+$細胞的小鼠均導致骨髓(圖10，B區)和脾臟(圖10，C區)的$hCD45^+$細胞絕對數量減少更多。此外，依序組合治療導致$hCD45^+$細胞數量減少更甚於同時組合治療(圖10，B-C區)。此外，在經移植Pt 5 $CD34^+$細胞的小鼠的骨髓中，與任一單獨藥物治療相比，依序而非同時組合治療觀察到$hCD34^+$細胞的絕對數量大幅減少(圖10，E區)。由於在經移植Pt 5移植物的小鼠脾臟中未偵測到$hCD34^+$細胞，因此無法評估這些治療對移植小鼠脾臟中$hCD34^+$細胞的影響。在接受另一位患者Pt10的脾$CD34^+$細胞的小鼠中，也透過依序組合治療消除了MF SRC (圖11)，而單獨用任一種藥物治療對該患者的MF SRC的抑制作用卻有限。這些發現暗示著，投用Rux接著伊美司他進行依序治療對MF長期HSC的消耗至少具有加成作用。這個相同的依序藥物方案並未影響正常的HSC功能。另外，如圖12A至圖12B中所示，與接受相同給藥(10mg/kg)的小鼠相比，在接受正常(圖12A)或MF脾臟$CD34^+$細胞(圖12B)的小鼠中，每種藥物投用的依序組合治療導致體重有相似降低。整體來說，這些觀察結果表明，用Rux接著伊美司他進行依序治療代表了一種有效的治療策略，該策略能夠在毒性概況可接受的情況下消除MF幹細胞。

【0112】出於清楚了解為目的，儘管已透過圖示和實例的方式對前述發明進行了詳細描述，但是根據本發明的教示內容，對於技藝中具有普通技術者來說，在不偏離隨附申請專利範圍的精神或範疇的情況下，可以對本發明進行某些變更和修改是顯而易見的。

【0113】因此，前面僅說明了本發明的原理。應理解，儘管在這裡沒有明確描述或顯示，但那些習於技藝者將能夠想出各種排列，具體表現本發明的原理並且被包括在本發明的精神和範疇內。此外，本文列舉的所有實例和條件語言主要旨在幫助讀者理解本發明的原理和發明人為進一步發展本技藝所做出的構思，並且應解釋為不侷限於這種具體列舉的實例和條件。再者，本文中引用本發明的原理，態樣和具體例及其特定實例的所有陳述旨在涵蓋其結構和功能上的等效物。另外，預期這樣的等效物包括當前已知的等效物和未來被開發出的等效物，即，被開發成執行相同功能的任何元件，而與結構無關。而且，無論在申請專利範圍中是否明確記載，本文所揭示的任何內容都不旨在獻給公眾。

【0114】因此，本發明的範疇並非旨在限於本文所示和所述的例示性具體例。相反地，本發明的範疇和精神由隨附申請專利範圍具體表現。在申請專利範圍中，只有當精確短語「用於...的方法」或精確短語「用於...的步驟」在申請專利範圍以這種特徵開頭引用時，35 USC§112(f)或35 USC§112(6)被明確地定義為為訴求申請專利範圍的一種特徵；如果在申請專利範圍中未以特徵使用這樣的確切短語，則不會訴求35 USC§112(f)或35 USC§112(6)。

序列表

<110> 美商傑龍公司(Geron Corporation)
Wang, Xiaoli
Huang, Fei

<120> 詹納斯(JANUS)激酶抑制劑及端粒酶抑制劑於治療骨髓增生性腫瘤之用途

<130> GERN-196WO

<140> PCT/US20/58718
<141> 2020-11-03

<150> US 62/930,251
<151> 2019-11-04

<160> 24

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 554
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 1
ggguugcgga ggguggccu gggaggggug guggccauuu uuugucuaac ccuaacugag 60

aagggcguag gcgccgugcu uuugcucccc gcgcgcuguu uuucucgcug acuuucagcg 120

ggcggaaaag ccucggccug ccgccuucca ccguucauuc uagagcaaac aaaaaauguc 180

agcugcuggc ccguucgccu cccggggacc ugcggcgggu cgccugccca gcccccgaac 240

cccgccugga gccgcggucg gcccggggcu ucuccggagg cacccacugc caccgcgaag 300

aguuugggcuc ugucagccgc gggucucucg ggggcgaggg cgagguucac cguuucaggc 360

cgcaggaaga ggaacggagc gagucccgcc gcggcgcgau ucccugagcu gugggacgug 420

cacccaggac ucggcucaca caugcaguuc gcuuuccugu ugguggggggg aacgccgauc 480

gugcgcaucc gucaccccuc gccggcagug ggggcuugug aacccccaaa ccugacugac 540

ugggccagug ugcu 554

<210> 2
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 2
acatttttg tttgctctag 20

<210> 3
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 3
gctctagaat gaacggtgga aggcggcagg 30

<210> 4
<211> 14

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 4
gtggaggcgg cagg 14

<210> 5
<211> 13
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 5
ggaaggcggc agg 13

<210> 6
<211> 13
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 6
gtggaaggcg gca 13

<210> 7
<211> 11
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 7
gtggaaggcg g 11

<210> 8
<211> 13
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 8
cggtggaagg cgg 13

<210> 9
<211> 13
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 9
acggtggaag gcg 13

<210> 10
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 10
aacggtggaa ggcggc 16

<210> 11
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 11
atgaacggtg gaaggcgg 18

<210> 12
<211> 13
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 12
tagggttaga caa 13

<210> 13
<211> 13
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 13
cagttagggt tag 13

<210> 14
<211> 12
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 14
tagggttaga ca 12

<210> 15
<211> 11
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 15
tagggttaga c 11

<210> 16
<211> 11
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 16
gttagggtta g 11

<210> 17
<211> 13
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 17
gttagggtta gac 13

<210> 18
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 18
gttagggtta gacaa 15

<210> 19
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 19
gggttagac 9

<210> 20
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 20
cagttaggg 9

<210> 21
<211> 12
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 21
cccttctcag tt 12

<210> 22
<211> 12
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 22
cgcccttctc ag 12

<210> 23
<211> 11

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 23
cuaacccuaa c 11

<210> 24
<211> 13
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 24
taggtgtaag caa 13

【發明申請專利範圍】

【請求項1】　一種治療具有骨髓增生性腫瘤之個體的方法，該方法包含向個體共投與詹納斯激酶(JAK)抑制劑和端粒酶抑制劑，該端粒酶抑制劑包含寡核苷酸和連接至該寡核苷酸之5'及/或3'端的脂質部分。

【請求項2】　如請求項1之方法，其中同時投與JAK抑制劑和端粒酶抑制劑。

【請求項3】　如請求項1之方法，其中依序投與JAK抑制劑和端粒酶抑制劑。

【請求項4】　如請求項3之方法，其中在投與JAK抑制劑後，投與端粒酶抑制劑。

【請求項5】　如請求項3之方法，其中在端粒酶抑制劑後，投與JAK抑制劑。

【請求項6】　如請求項3至5中任一項之方法，其中端粒酶抑制劑是向個體投與JAK抑制劑的同一天被投與給個體。

【請求項7】　如請求項3至4中任一項之方法，其中在將JAK抑制劑投與給個體後約0天至約13天，向個體投與端粒酶抑制劑。

【請求項8】　如請求項3之方法，其中該方法包含：

在第一天投與一劑JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽，以及一劑端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽；並且

在第一天後每天一次或兩次投與一劑JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽，持續約20天至約27天的持續期間。

【請求項9】　如請求項8之方法，其中在第一天後每天一次投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽，持續約20天至約27天的持續期間。

【請求項10】　如請求項8之方法，其中在第一天投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽兩次。

【請求項11】　如請求項10之方法，其中在第一天後每天兩次投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽，持續約20天至約27天的持續期間。

【請求項12】　如請求項8至11中任一項之方法，其中該方法包含21天。

【請求項13】　如請求項8至11中任一項之方法，其中該方法包含28天。

【請求項14】　如請求項8至13中任一項之方法，其中該方法重複1次或更多次。

【請求項15】　如請求項8至13中任一項之方法，其中該方法重複5次或更多次。

【請求項16】　如請求項3之方法，其中該方法包含：

每天一次或兩次向個體投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽，持續約14天至約21天的持續期間；並且

在投與最後一劑魯索替尼(ruxolitinib)或其醫藥上可接受之鹽後約1天至約7天的期間內投與該個體一或多劑端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽。

【請求項17】　如請求項16之方法，其中每天一次向個體投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽。

【請求項18】　如請求項16之方法，其中每天兩次向個體投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽。

【請求項19】　如請求項16至18中任一項之方法，其中向個體投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽持續14天。

【請求項20】　如請求項16至18中任一項之方法，其中向個體投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽持續21天。

【請求項21】　如請求項16至20中任一項之方法，其中該方法重複1次或更多次。

【請求項22】　如請求項16至20中任一項之方法，其中該方法重複5次或更多次。

【請求項23】　如請求項3之方法，其中該方法包含：

在第一天投與一劑端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽；並且

在第一天後每天一次或兩次投與一劑JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽，持續約20天至約27天的持續期間。

【請求項24】　如請求項23之方法，其中在第一天後每天一次投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽，持續約20天至約27天的持續期間。

【請求項25】　如請求項23之方法，其中在第一天後每天兩次投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽，持續約20天至約27天的持續期間。

【請求項26】　如請求項23至25中任一項之方法，其中該方法包含21天。

【請求項27】　如請求項23至25中任一項之方法，其中該方法包含28天。

【請求項28】　如請求項23至27中任一項之方法，其中該方法重複1次或更多次。

【請求項29】　如請求項23至27中任一項之方法，其中該方法重複5次或更多次。

【請求項30】　如請求項1至29中任一項之方法，其中以約5 mg/天至約600 mg/天的劑量向個體投與JAK抑制劑。

【請求項31】　如請求項30之方法，其中以約10 mg/天至約400 mg/天的劑量向個體投與JAK抑制劑。

【請求項32】　如請求項1至31中任一項之方法，其中以約4 mg/kg至約10 mg/kg的劑量向個體投與端粒酶抑制劑。

【請求項33】　如請求項32之方法，其中以約7.5mg/kg至約9.4 mg/kg的劑量向個體投與端粒酶抑制劑。

【請求項34】　如請求項33之方法，其中以約9.4 mg/kg的劑量向個體投與端粒酶抑制劑。

【請求項35】　如請求項32至34中任一項之方法，其中在約1小時至約3小時的持續時間內藉由靜脈內輸注向個體投與端粒酶抑制劑。

【請求項36】　如請求項35之方法，其中在約2小時的持續時間內藉由靜脈內輸注向個體投與端粒酶抑制劑。

【請求項37】　如請求項1至36中任一項之方法，其中每天一次向個體投與JAK抑制劑。

【請求項38】　如請求項37之方法，其中每天一次向個體投與JAK抑制劑，持續約1天至約21天的持續時間。

【請求項39】　如請求項38之方法，其中每天一次向個體投與JAK抑制劑，持續約7天至約14天的持續時間。

【請求項40】　如請求項1至7中任一項之方法，其中每天兩次向個體投與JAK抑制劑。

【請求項41】　如請求項40之方法，其中每天兩次向個體投與JAK抑制劑，持續約1天至約21天的持續時間。

【請求項42】　如請求項41之方法，其中每天兩次向個體投與JAK抑制劑，持續約7天至約14天的持續時間。

【請求項43】　如請求項1至42中任一項之方法，其中JAK抑制劑選自由魯索替尼(ruxolitinib)、菲達替尼(fedratinib)，莫洛替尼(momelotinib)、帕瑞替尼(pacritinib)或其醫藥上可接受之鹽組成之群。

【請求項44】　如請求項43之方法，其中JAK抑制劑是魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽。

【請求項45】　如請求項44中任一項之方法，其中按以下劑量向個體投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽：

當個體的基線血小板計數少於約100×10^9/L血小板時，每天兩次5 mg；

當個體的基線血小板計數為約100 x 10^9/L血小板至約200 x 10^9/L血小板時，每天兩次15 mg；以及

當個體的基線血小板計數大於約200 x 10^9/L血小板時，每天兩次20 mg。

【請求項46】　如請求項1至7中任一項之方法，其中每3週一次向個體投與端粒酶抑制劑。

【請求項47】　如請求項1至7中任一項之方法，其中每4週一次向個體投與端粒酶抑制劑。

【請求項48】　如請求項1至47中任一項之方法，其中端粒酶抑制劑的寡核苷酸包含至少一個N3'→P5'硫代胺基磷酸酯(thiophosphoramidate)核苷間鍵聯。

【請求項49】　如請求項1至48中任一項之方法，其中端粒酶抑制劑的脂質部分經由連接子連接至寡核苷酸的5'及/或3'端。

【請求項50】　如請求項49之方法，其中該連接子為甘油或胺基甘油連接子。

【請求項51】　如請求項1至50中任一項之方法，其中端粒酶抑制劑的脂質部分為棕櫚醯基(C16)部分。

【請求項52】　如請求項1至51中任一項之方法，其中端粒酶抑制劑為伊美司他(imetelstat)或其醫藥上可接受之鹽。

【請求項53】　如請求項52之方法，其中端粒酶抑制劑為伊美司他鈉。

【請求項54】　如請求項1之方法，其中該方法包含：

每天一次或兩次向個體投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽，持續0天至21天的持續期間；並且

在投與最後一劑魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽7天內，向個體投與一或多劑伊美司他或其醫藥上可接受之鹽。

【請求項55】　如請求項54之方法，其中每天一次向個體投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽。

【請求項56】　如請求項54之方法，其中每天兩次向個體投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽。

【請求項57】　如請求項54至56中任一項之方法，其中每三週一次投與伊美司他或其醫藥上可接受之鹽。

【請求項58】　如請求項54至56中任一項之方法，其中每四週一次投與伊美司他或其醫藥上可接受之鹽。

【請求項59】　如請求項1至58中任一項之方法，其中骨髓增生性腫瘤是選自骨髓纖維化(MF)、骨髓發育不良症候群(MDS)、原發性血小板增多症(ET)、

真性紅血球增多症(PV)、慢性骨髓性白血病(CML)、慢性嗜中性球白血病、慢性嗜酸性球白血病和急性骨髓性白血病(AML)。

【請求項60】　如請求項59之方法，其中骨髓增生性腫瘤是骨髓纖維化。

【請求項61】　如請求項60之方法，其中骨髓增生性腫瘤是原發性骨髓纖維化。

【請求項62】　如請求項1至61中任一項之方法，其進一步包含診斷個體帶有骨髓增生性腫瘤。

【請求項63】　如請求項62之方法，其中該方法包含診斷個體帶有骨髓纖維化。

【請求項64】　如請求項63之方法，其中該方法包含診斷個體帶有原發性骨髓纖維化。

【請求項65】　一種誘導骨髓增生性腫瘤細胞凋亡的方法，該方法包含使細胞與足以誘導凋亡之量的詹納斯激酶(JAK)抑制劑以及端粒酶抑制劑接觸，該端粒酶抑制劑包含寡核苷酸與連接至該寡核苷酸之5’及/或3’端的脂質部分。

【請求項66】　如請求項65之方法，其中骨髓增生性腫瘤細胞是骨髓纖維化造血幹細胞(HSC)或惡性造血前驅細胞(HPC)。

【請求項67】　如請求項65至66中任一項之方法，其中詹納斯激酶(JAK)抑制劑和端粒酶抑制劑在活體外與骨髓增生性腫瘤細胞接觸。

【請求項68】　如請求項65至66中任一項之方法，其中詹納斯激酶(JAK)抑制劑和端粒酶抑制劑在個體體內與與骨髓增生性腫瘤細胞接觸，且該方法包含向個體共投與詹納斯激酶(JAK)抑制劑和端粒酶抑制劑。

【請求項69】　如請求項68之方法，其中同時投與JAK抑制劑和端粒酶抑制劑。

【請求項70】　如請求項68之方法，其中依序投與JAK抑制劑和端粒酶抑制劑。

【請求項71】　如請求項70之方法，其中在投與JAK抑制劑後，投與端粒酶抑制劑。

【請求項72】　如請求項70之方法，其中在投與端粒酶抑制劑後，投與JAK抑制劑。

【請求項73】　如請求項70至72中任一項之方法，其中端粒酶抑制劑是向個體投與JAK抑制劑的同一天被投與給個體。

【請求項74】　如請求項70至72中任一項之方法，其中端粒酶抑制劑是向個體投與JAK抑制劑後約1天至約13天被投與給個體。

【請求項75】　如請求項70之方法，其中該方法包含；

在第一天投與一劑JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽以及一劑端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽；並且

在第一天後每天一次或兩次投與一劑JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽，持續約20天至約27天的持續期間。

【請求項76】　如請求項75之方法，其中在第一天後每天一次投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽，持續約20天至約27天的持續期間。

【請求項77】　如請求項75之方法，其中在第一天投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽的劑量兩次。

【請求項78】　如請求項77之方法，其中在第一天後每天兩次投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽，持續約20天至約27天的持續期間。

【請求項79】　如請求項75至78中任一項之方法，其中該方法包含21天。

【請求項80】　如請求項75至78中任一項之方法，其中該方法包含28天。

【請求項81】　如請求項75至80中任一項之方法，其中該方法重複1次或更多次。

【請求項82】　如請求項75至80中任一項之方法，其中該方法重複5次或更多次。

【請求項83】　如請求項70之方法，其中該方法包含；

每天一次或兩次向個體投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽，持續約14天至約21天的持續期間；並且

在投與最後一劑魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽約1天至約7天的期間內，向個體投與一或多劑端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽。

【請求項84】 如請求項83之方法，其中每天一次向個體投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽。

【請求項85】 如請求項83之方法，其中每天兩次向個體投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽。

【請求項86】 如請求項83至85中任一項之方法，其中向個體投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽持續14天。

【請求項87】 如請求項83至85中任一項之方法，其中向個體投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽持續21天。

【請求項88】 如請求項83至87中任一項之方法，其中該方法重複1次或更多次。

【請求項89】 如請求項83至87中任一項之方法，其中該方法重複5次或更多次。

【請求項90】 如請求項70之方法，其中該方法包含：

在第一天投與一劑端粒酶抑制劑或其醫藥上可接受之鹽；並且

在第一天後每天一次或兩次投與一劑JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽，持續約20天至約27天的持續期間。

【請求項91】 如請求項90之方法，其中在第一天後每天一次投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽，持續約20天至約27天的持續期間。

【請求項92】 如請求項90之方法，其中在第一天後每天兩次投與JAK抑制劑或其醫藥上可接受之鹽，持續約20天至約27天的持續期間。

【請求項93】 如請求項90至92中任一項之方法，其中該方法包含21天。

【請求項94】 如請求項90至92中任一項之方法，其中該方法包含28天。

【請求項95】 如請求項90至94中任一項之方法，其中該方法重複1次或更多次。

【請求項96】 如請求項90至94中任一項之方法，其中該方法重複5次或更多次。

【請求項97】 如請求項65至96中任一項之方法，其中以約5 mg/天至約600 mg/天的劑量向個體投與JAK抑制劑。

【請求項98】 如請求項97之方法，其中以約10 mg/天至約400 mg/天的劑量向個體投與JAK抑制劑。

【請求項99】 如請求項65至96中任一項之方法，其中以約4 mg/kg至15 mg/kg的劑量向個體投與端粒酶抑制劑。

【請求項100】 如請求項99之方法，其中以約7.5 mg/kg至約9.4 mg/kg的劑量向個體投與端粒酶抑制劑。

【請求項101】 如請求項100之方法，其中以約9.4 mg/kg的劑量向個體投與端粒酶抑制劑。

【請求項102】 如請求項99至101中任一項之方法，其中在約1小時至約3小的持續時間內藉由靜脈內輸注向個體投與端粒酶抑制劑。

【請求項103】 如請求項102之方法，其中在約2小的持續時間內藉由靜脈內輸注向個體投與端粒酶抑制劑。

【請求項104】 如請求項65至74中任一項之方法，其中每天一次向個體投與JAK抑制劑。

【請求項105】 如請求項104之方法，其中每天一次向個體投與JAK抑制劑，持續約1天至約21天的持續期間。

【請求項106】 如請求項105之方法，其中每天一次向個體投與JAK抑制劑，持續約7天至約14天的持續期間。

【請求項107】 如請求項65至74中任一項之方法，其中每天兩次向個體投與JAK抑制劑。

【請求項108】 如請求項107之方法，其中每天兩次向個體投與JAK抑制劑，持續約1天至約21天的持續期間。

【請求項109】 如請求項108之方法，其中每天兩次向個體投與JAK抑制劑，持續約7天至約14天的持續期間。

【請求項110】 如請求項65至74中任一項之方法，其中按以下劑量向個體投與魯索替尼：

當個體的基線血小板計數少於約100×10^9/L血小板時，每天兩次5 mg；

當個體的基線血小板計數為約100 x 10^9/L血小板至約200 x 10^9/L血小板時，每天兩次15 mg；以及

當個體的基線血小板計數大於約200 x 10^9/L血小板時，每天兩次20 mg。

【請求項111】 如請求項65至74中任一項之方法，其中每3週一次向個體投與端粒酶抑制劑。

【請求項112】 如請求項65至74中任一項之方法，其中每4週一次向個體投與端粒酶抑制劑。

【請求項113】 如請求項65至112中任一項之方法，其中端粒酶抑制劑的寡核苷酸包括至少一個N3'→P5'硫代胺基磷酸酯核苷間鍵聯。

【請求項114】 如請求項65至113中任一項之方法，其中端粒酶抑制劑的脂質部分經由連接子連接至寡核苷酸的5'及/或3'端。

【請求項115】 如請求項114之方法，其中該連接子為甘油或胺基甘油連接子。

【請求項116】 如請求項65至115中任一項之方法，其中端粒酶抑制劑的脂質部分為棕櫚醯基(C16)部分。

【請求項117】 如請求項65至116中任一項之方法，其中端粒酶抑制劑為伊美司他或其醫藥上可接受之鹽。

【請求項118】 如請求項117之方法，其中端粒酶抑制劑為伊美司他鈉。

【請求項119】 如請求項65之方法，其中該方法包含：

每天一次或兩次向個體投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽，持續0天至21天的持續期間；並且

在投與最後一劑魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽7天內，向個體投與伊美司他或其醫藥上可接受之鹽。

【請求項120】 如請求項119之方法，其中每天一次向個體投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽。

【請求項121】 如請求項119之方法，其中每天兩次向個體投與魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽。

【請求項122】 如請求項119至121中任一項之方法，其中每三週一次投與伊美司他或其醫藥上可接受之鹽。

【請求項123】 如請求項119至121中任一項之方法，其中每四週一次投與伊美司他或其醫藥上可接受之鹽。

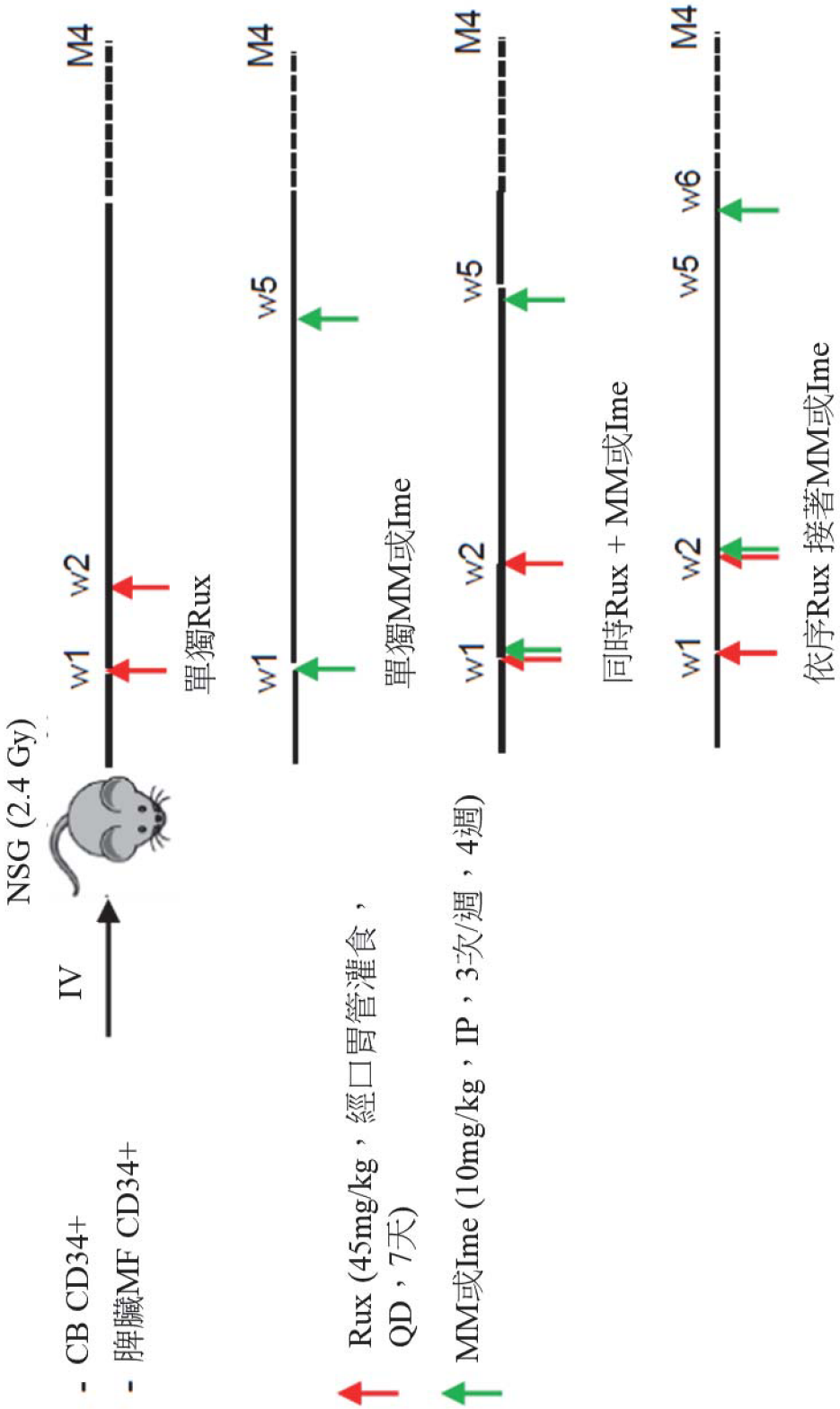
【請求項124】 一種如請求項1至123中任一項之方法使用的組成物，該組成物包含JAK抑制劑及端粒酶抑制劑。

【請求項125】 如請求項124之組成物，其中JAK抑制劑為魯索替尼或其醫藥上可接受之鹽。

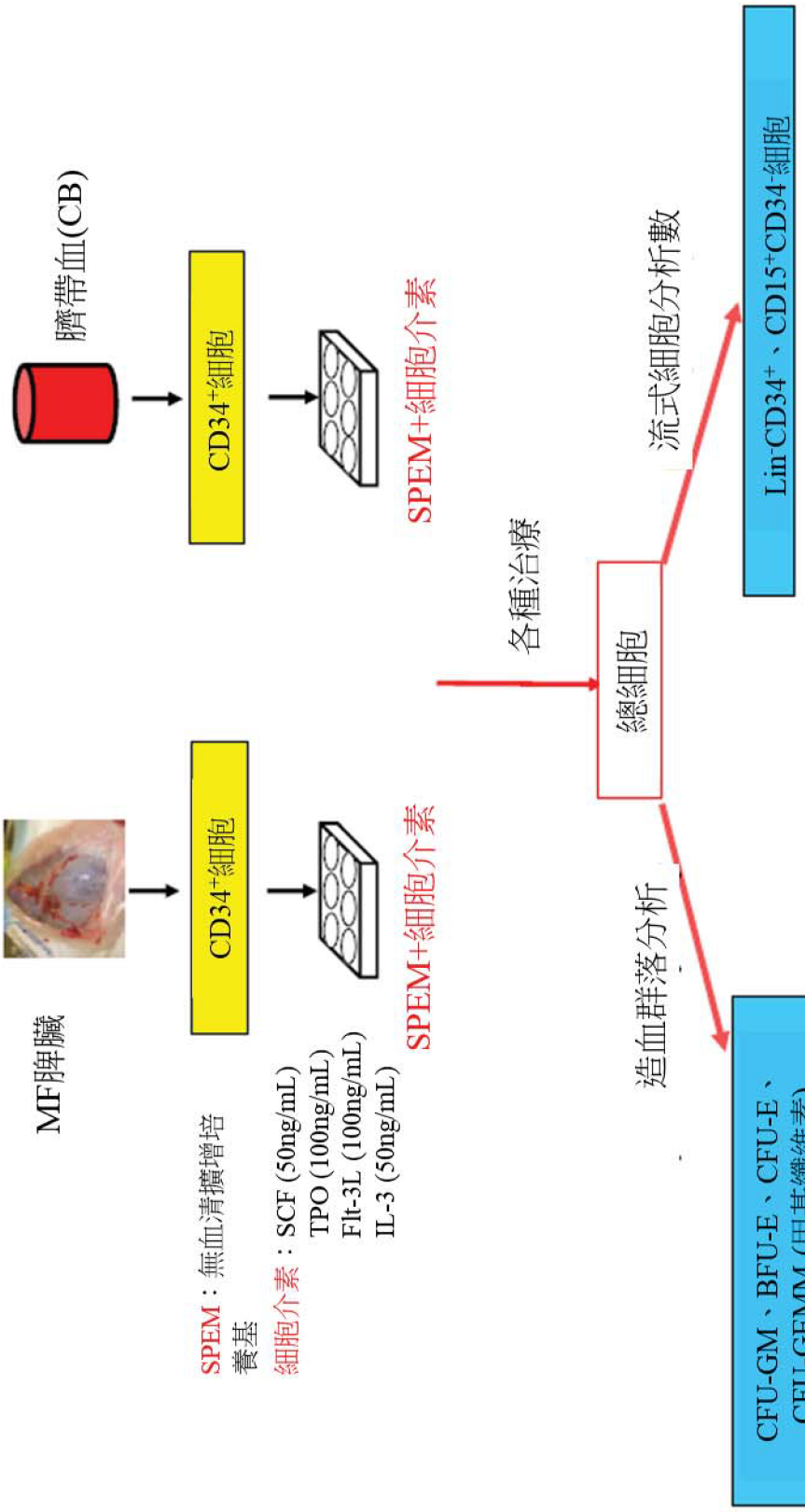
【請求項126】 如請求項124至125中任一項之組成物，其中端粒酶抑制劑為伊美司他或其醫藥上可接受之鹽。

【請求項127】 如請求項126之組成物，其中端粒酶抑制劑為伊美司他鈉。

【發明圖式】


NSG (2.4 Gy)
IV
- CB CD34+
- 脾臟MF CD34+
w1
w2
M4
單獨Rux
w1
w5
M4
單獨MM或Ime
w1
w2
w5
M4
同時Rux + MM或Ime
w1
w2
w5
w6
M4
依序Rux 接著MM或Ime
Rux (45mg/kg，經口胃管灌食，QD，7天)
MM或Ime (10mg/kg，IP，3次/週，4週)

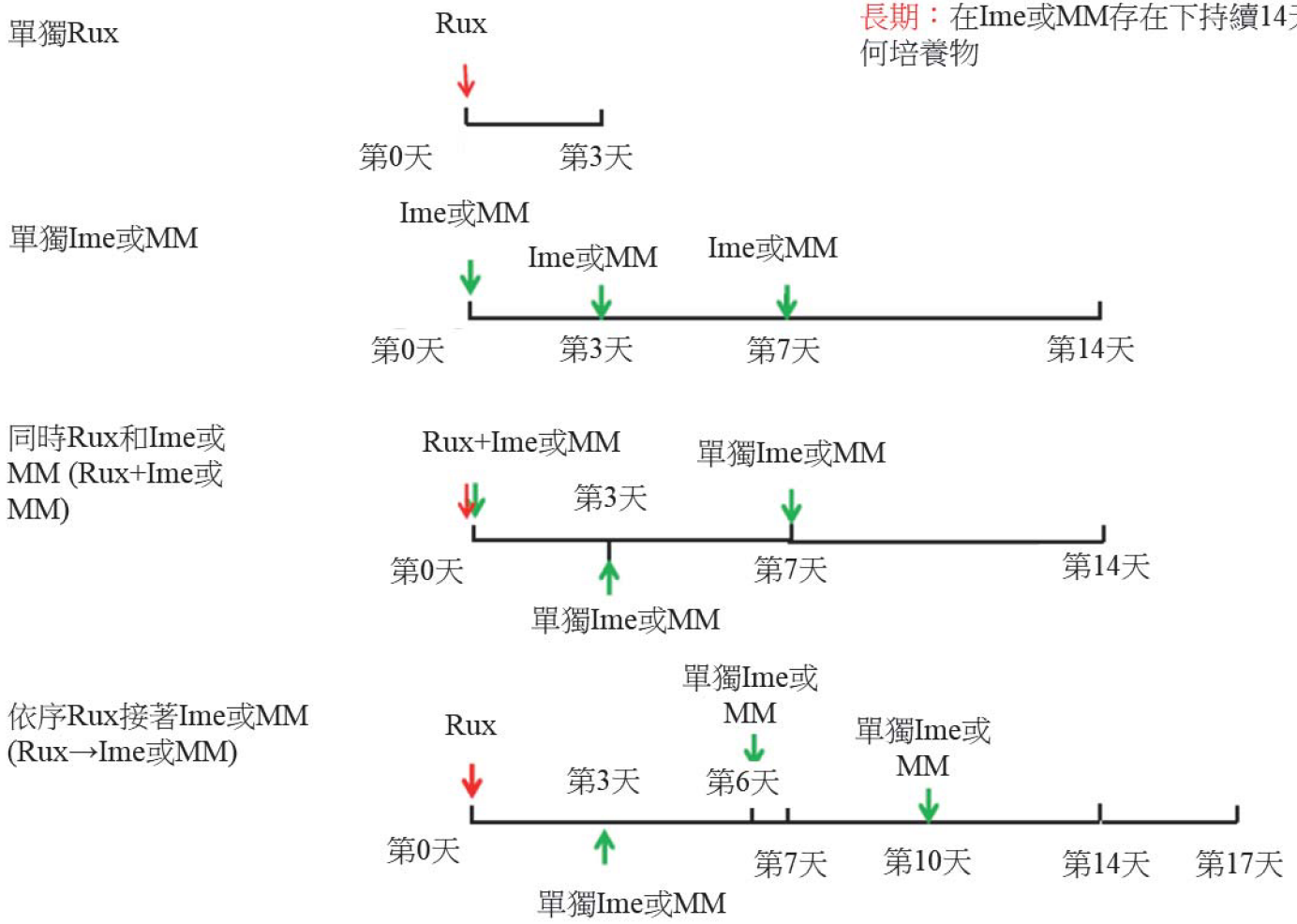
【圖1】


MF脾臟
CD34+細胞
SPEM：無血清擴增培養基
細胞介素：SCF (50ng/mL)
TPO (100ng/mL)
Flt-3L (100ng/mL)
IL-3 (50ng/mL)
SPEM+細胞介素
臍帶血(CB)
CD34+細胞
SPEM+細胞介素
各種治療
總細胞
造血群落分析
CFU-GM、BFU-E、CFU-E、CFU-GEMM (甲基纖維素)
JAK2V617F狀態
流式細胞分析數
Lin-CD34+、CD15+CD34-細胞

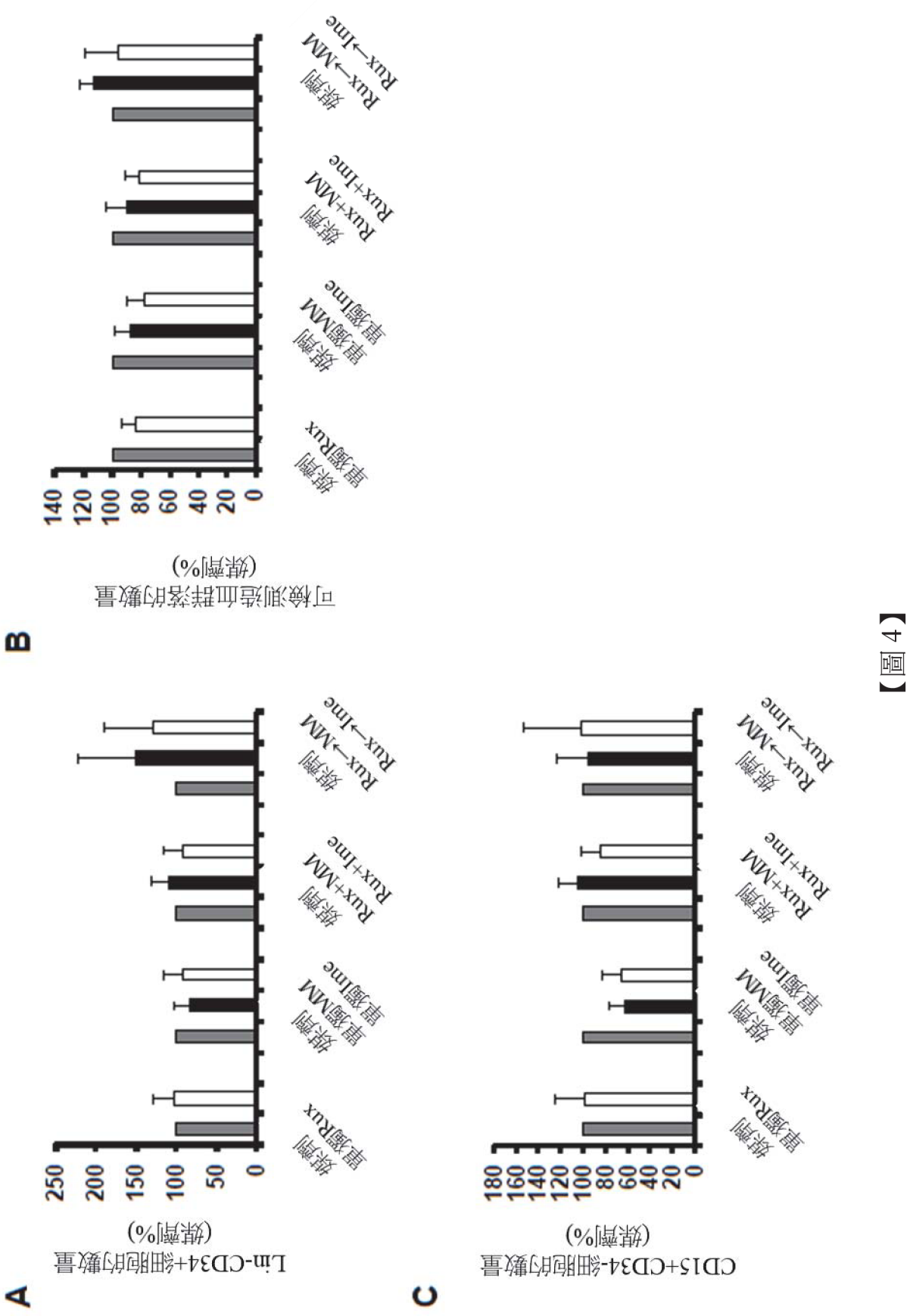
【圖 2】

低劑量：↓Rux：50nM
↓Ime或MM：1.8uM

短期：在Ime或MM存在下持續7天的任何培養物
長期：在Ime或MM存在下持續14天的任何培養物



【圖 3】


A
Lin-CD34+細胞的數量
(媒劑%)
250
200
150
100
50
0
媒劑
單獨Rux
媒劑
單獨MM
媒劑
單獨Ime
媒劑
Rux+MM
媒劑
Rux+Ime
媒劑
Rux→MM
媒劑
Rux→Ime
B
可檢測造血群落的數量
(媒劑%)
140
120
100
80
60
40
20
0
媒劑
單獨Rux
媒劑
單獨MM
媒劑
單獨Ime
媒劑
Rux+MM
媒劑
Rux+Ime
媒劑
Rux→MM
媒劑
Rux→Ime
C
CD15+CD34-細胞的數量
(媒劑%)
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
媒劑
單獨Rux
媒劑
單獨MM
媒劑
單獨Ime
媒劑
Rux+MM
媒劑
Rux+Ime
媒劑
Rux→MM
媒劑
Rux→Ime

【圖 4】

A
Lin-CD34+細胞的數量
(媒劑%)
P=0.07
140
120
100
80
60
40
20
0
媒劑
單獨Rux
媒劑
單獨MM
單獨Ime
媒劑
Rux+MM
Rux+Ime
媒劑
Rux→MM
Rux→Ime
B
可檢測造血群落的數量
(媒劑%)
120
100
80
60
40
20
0
C
CD15+CD34-細胞的數量
(媒劑%)
P=0.05
P=0.07
140
120
100
80
60
40
20
0

【圖 5】

A
Lin-CD34+細胞的數量
(媒劑%)
140
120
100
80
60
40
20
0
單獨Rux
媒劑
單獨MM
媒劑
單獨Ime
媒劑
Rux+MM
媒劑
Rux+Ime
媒劑
Rux→MM
媒劑
Rux→Ime
B
可檢測造血群落的數量
(媒劑%)
P=9.69E-06
120
100
80
60
40
20
0
單獨Rux
媒劑
單獨MM
媒劑
單獨Ime
媒劑
Rux+MM
媒劑
Rux+Ime
媒劑
Rux→MM
媒劑
Rux→Ime
C
CD15+CD34-細胞的數量
(媒劑%)
P=0.001
120
100
80
60
40
20
0
單獨Rux
媒劑
單獨MM
媒劑
單獨Ime
媒劑
Rux+MM
媒劑
Rux+Ime
媒劑
Rux→MM
媒劑
Rux→Ime

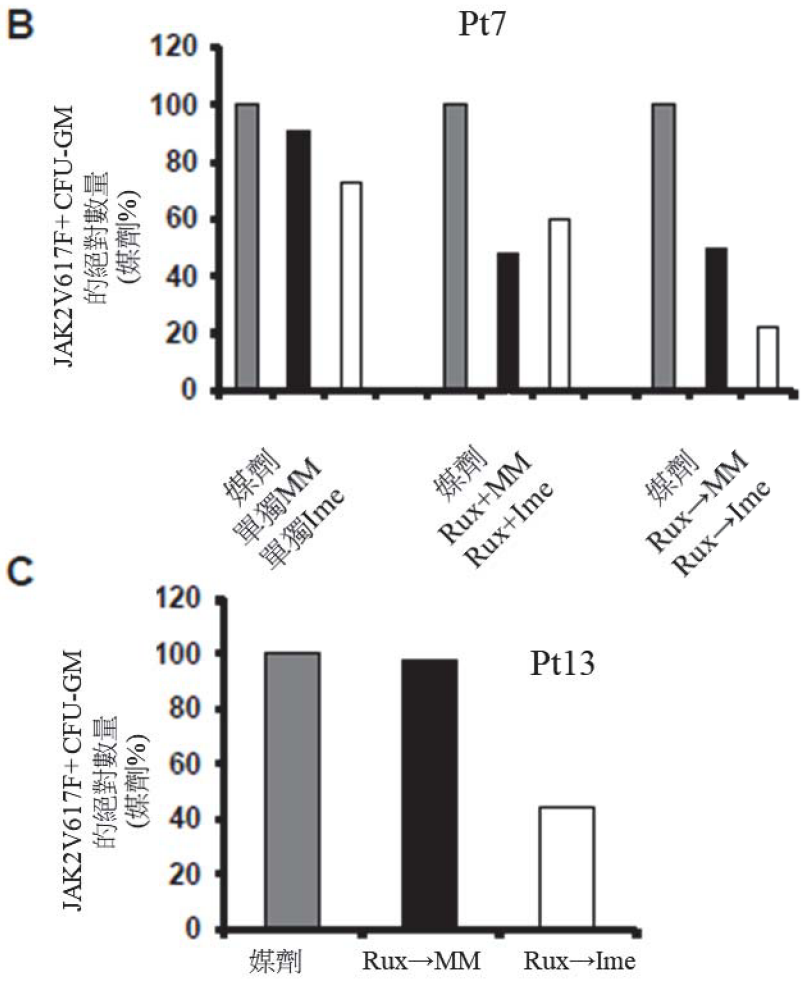
【9圖】

A
Lin-CD34+細胞的數量
(媒劑%)
120
100
80
60
40
20
0
P=0.001
P=0.059
P=0.03
P=0.052
媒劑
單獨Rux
媒劑
單獨MM
媒劑
Rux+MM
媒劑
Rux→MM
Rux→time
B
可檢測造血群落的數量
(媒劑%)
160
140
120
100
80
60
40
20
0
P=0.02
P=0.05
P=0.054
P=0.04
P=9.69E-06
媒劑
單獨Rux
媒劑
單獨MM
媒劑
Rux+MM
媒劑
Rux→MM
Rux→time
C
CD15+CD34-細胞的數量
(媒劑%)
160
140
120
100
80
60
40
20
0
P=0.04
P=0.01
P=0.001
媒劑
單獨Rux
媒劑
單獨MM
媒劑
Rux+MM
媒劑
Rux→MM
Rux→time

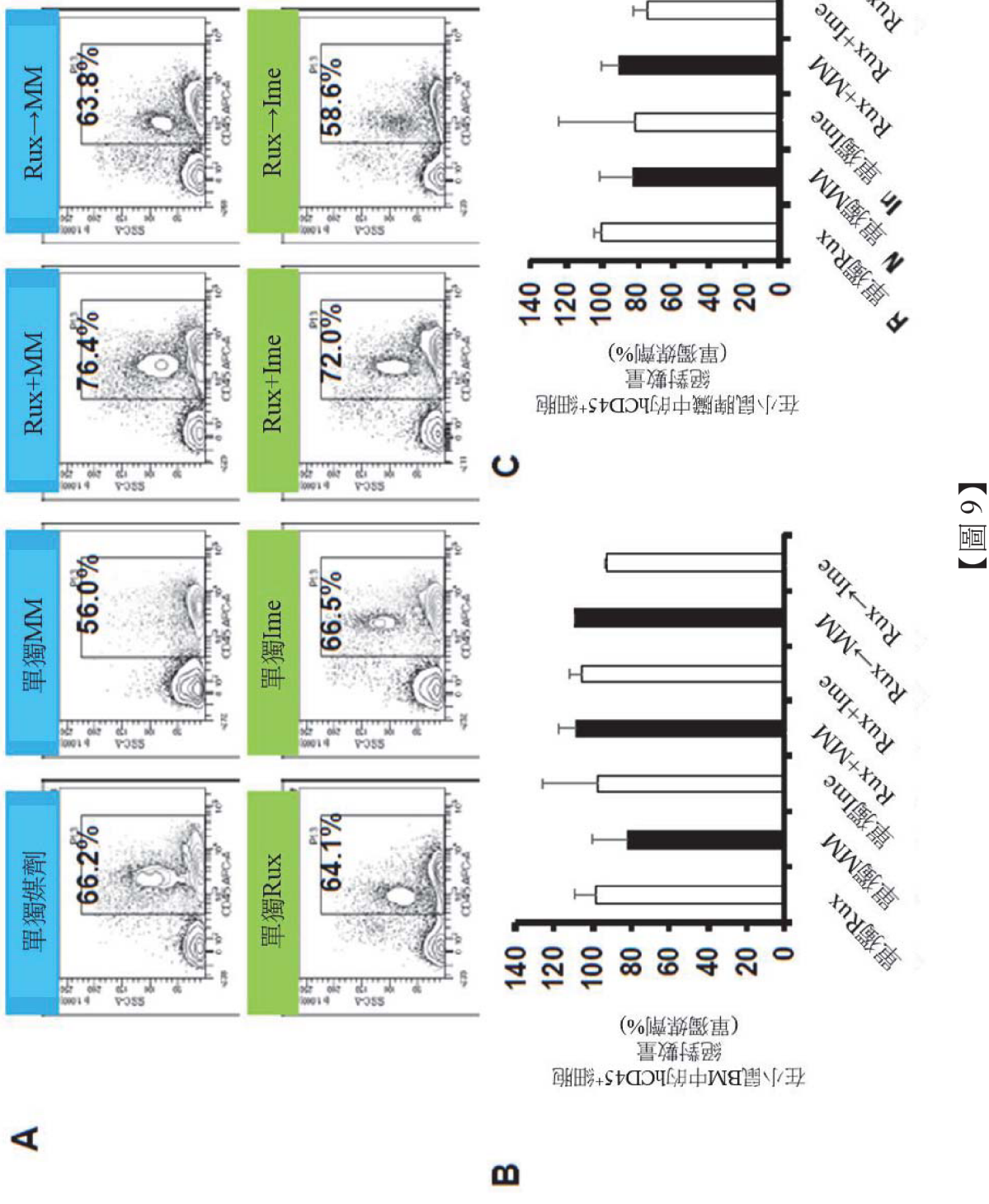
【圖7】

A

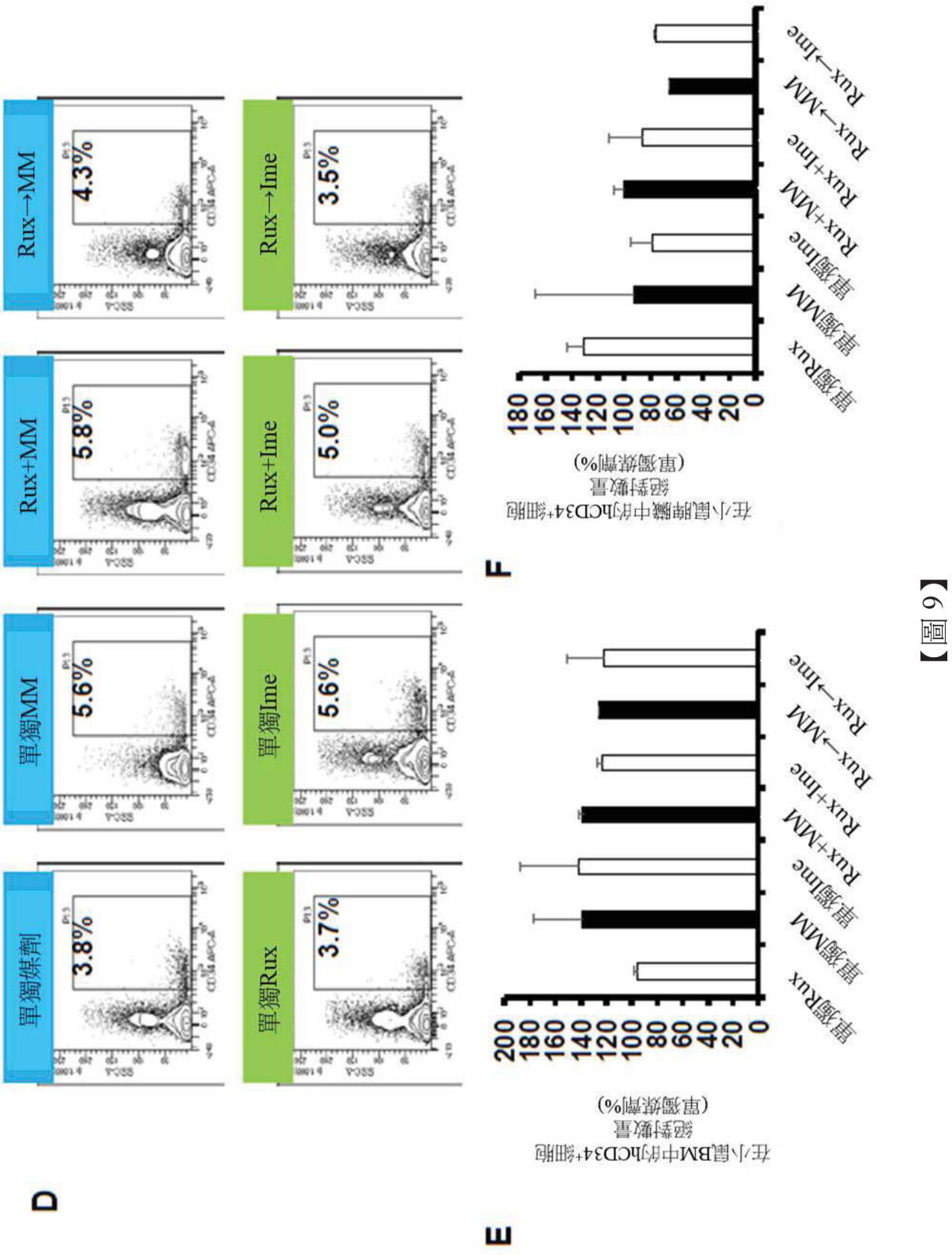
Pt#	治療	% JAK2V617F + CFU-GM
Pt 7	單獨媒劑	65.7
	單獨MM (14天)	86.5
	單獨Ime (14天)	68.6
	Rux (3天)+MM (14天)	79.3
	Rux (3天)+Ime (14天)	81.1
	單獨媒劑	94.2
	Rux (3天)+MM (14天)	88.9
	Rux (3天)+Ime (14天)	75
Pt 13	單獨媒劑	93.8
	Rux (3天)+MM (14天)	100
	Rux (3天)+Ime (14天)	100



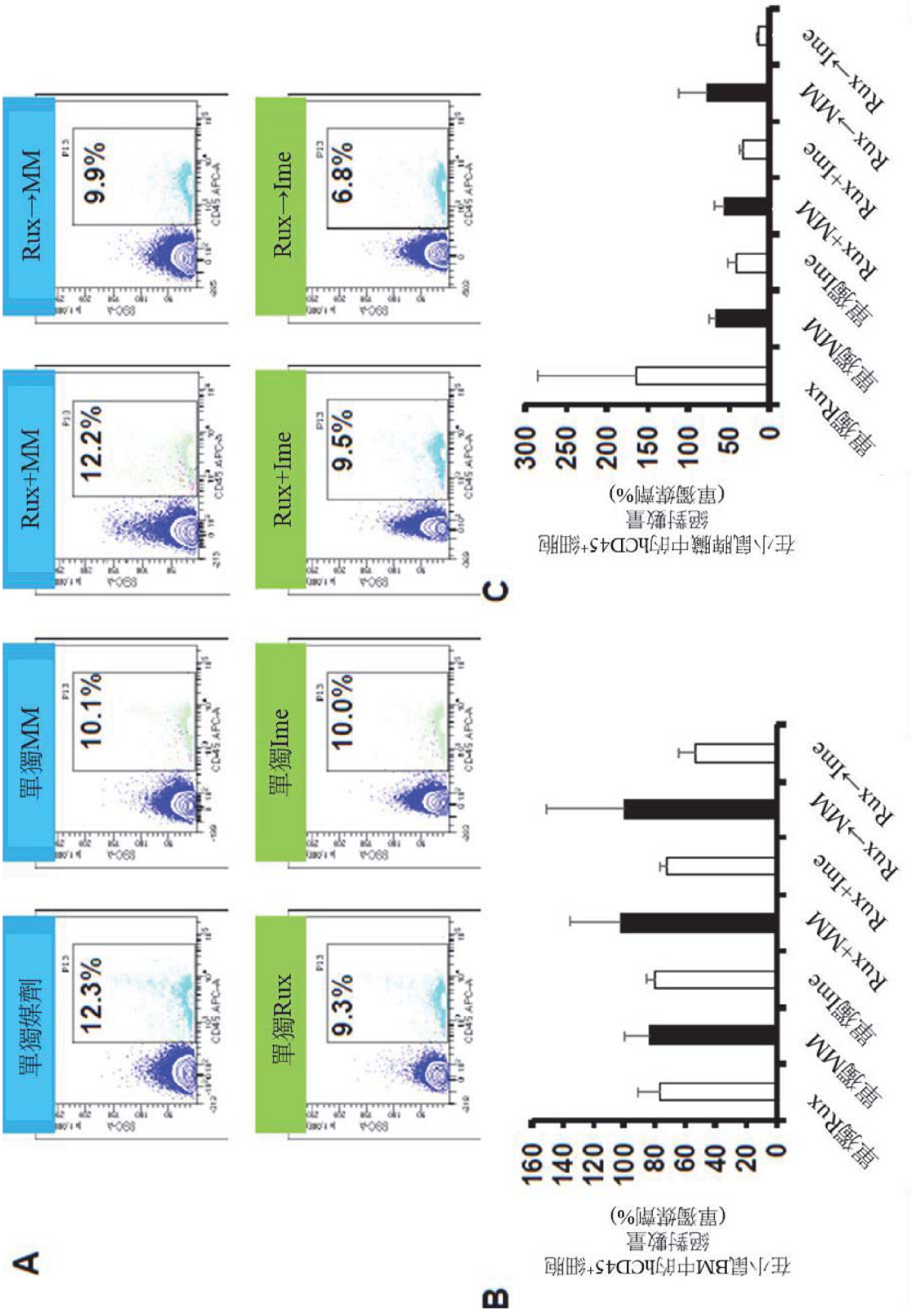
【圖 8】


A
單獨媒劑
66.2%
單獨MM
56.0%
單獨Rux
64.1%
單獨Ime
66.5%
Rux+MM
76.4%
Rux+Ime
72.0%
Rux→MM
63.8%
Rux→Ime
58.6%
B
在小鼠BM中的hCD45+細胞
絕對數量
(單獨媒劑%)
140
120
100
80
60
40
20
0
單獨Rux
單獨MM
單獨Ime
Rux+MM
Rux+Ime
Rux→MM
Rux→Ime
C
在小鼠脾臟中的hCD45+細胞
絕對數量
(單獨媒劑%)
140
120
100
80
60
40
20
0
單獨Rux
單獨MM
單獨Ime
Rux+MM
Rux+Ime
Rux→MM
Rux→Ime

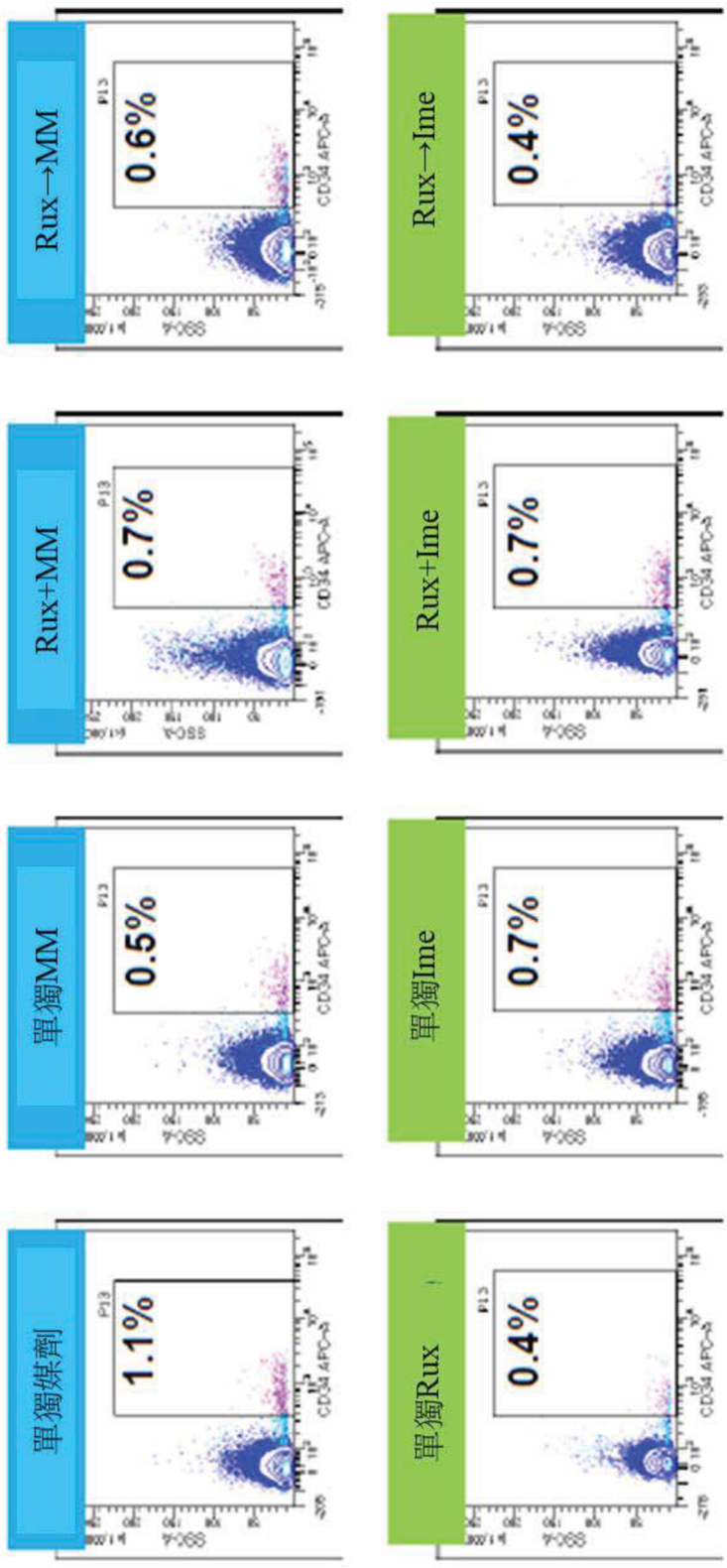
【圖 9】


D
單獨媒劑
3.8%
單獨MM
5.6%
單獨Rux
3.7%
單獨Ime
5.6%
Rux+MM
5.8%
Rux+Ime
5.0%
Rux→MM
4.3%
Rux→Ime
3.5%
E
在小鼠BM中的hCD34+細胞
絕對數量
(單獨媒劑%)
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
單獨Rux
單獨MM
單獨Ime
Rux+MM
Rux+Ime
Rux→MM
Rux→Ime
F
在小鼠脾臟中的hCD34+細胞
絕對數量
(單獨媒劑%)
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
單獨Rux
單獨MM
單獨Ime
Rux+MM
Rux+Ime
Rux→MM
Rux→Ime

【圖 9】


A
單獨媒劑
12.3%
單獨MM
10.1%
單獨Rux
9.3%
單獨Ime
10.0%
Rux+MM
12.2%
Rux→MM
9.9%
Rux+Ime
9.5%
Rux→Ime
6.8%
B
在小鼠BM中的hCD45+細胞
絕對數量
(單獨媒劑%)
160
140
120
100
80
60
40
20
0
單獨Rux
單獨MM
單獨Ime
Rux+MM
Rux+Ime
Rux→MM
Rux→Ime
C
在小鼠脾臟中的hCD45+細胞
絕對數量
(單獨媒劑%)
300
250
200
150
100
50
0
單獨Rux
單獨MM
單獨Ime
Rux+MM
Rux+Ime
Rux→MM
Rux→Ime

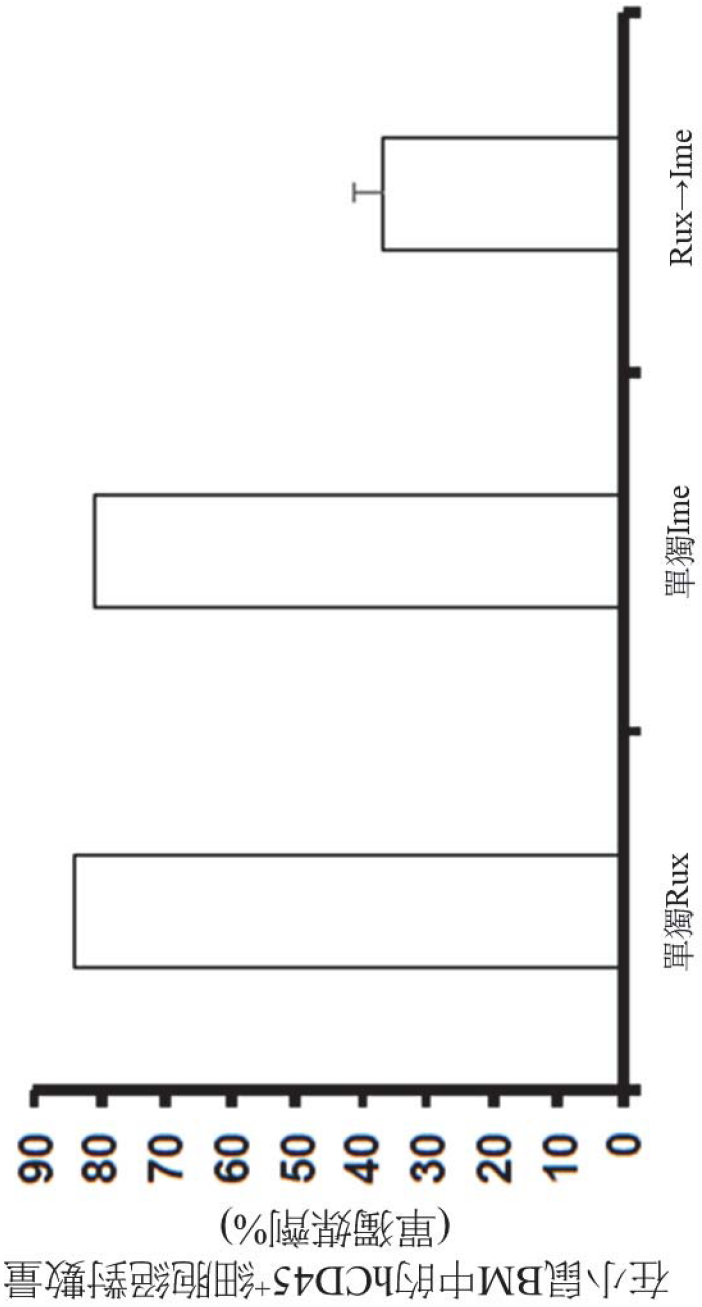
【圖 10】


D
單獨媒劑
1.1%
單獨Rux
0.4%
單獨MM
0.5%
單獨Ime
0.7%
Rux+MM
0.7%
Rux+Ime
0.7%
Rux→MM
0.6%
Rux→Ime
0.4%
SSC-A
CD34 APC-A
P13

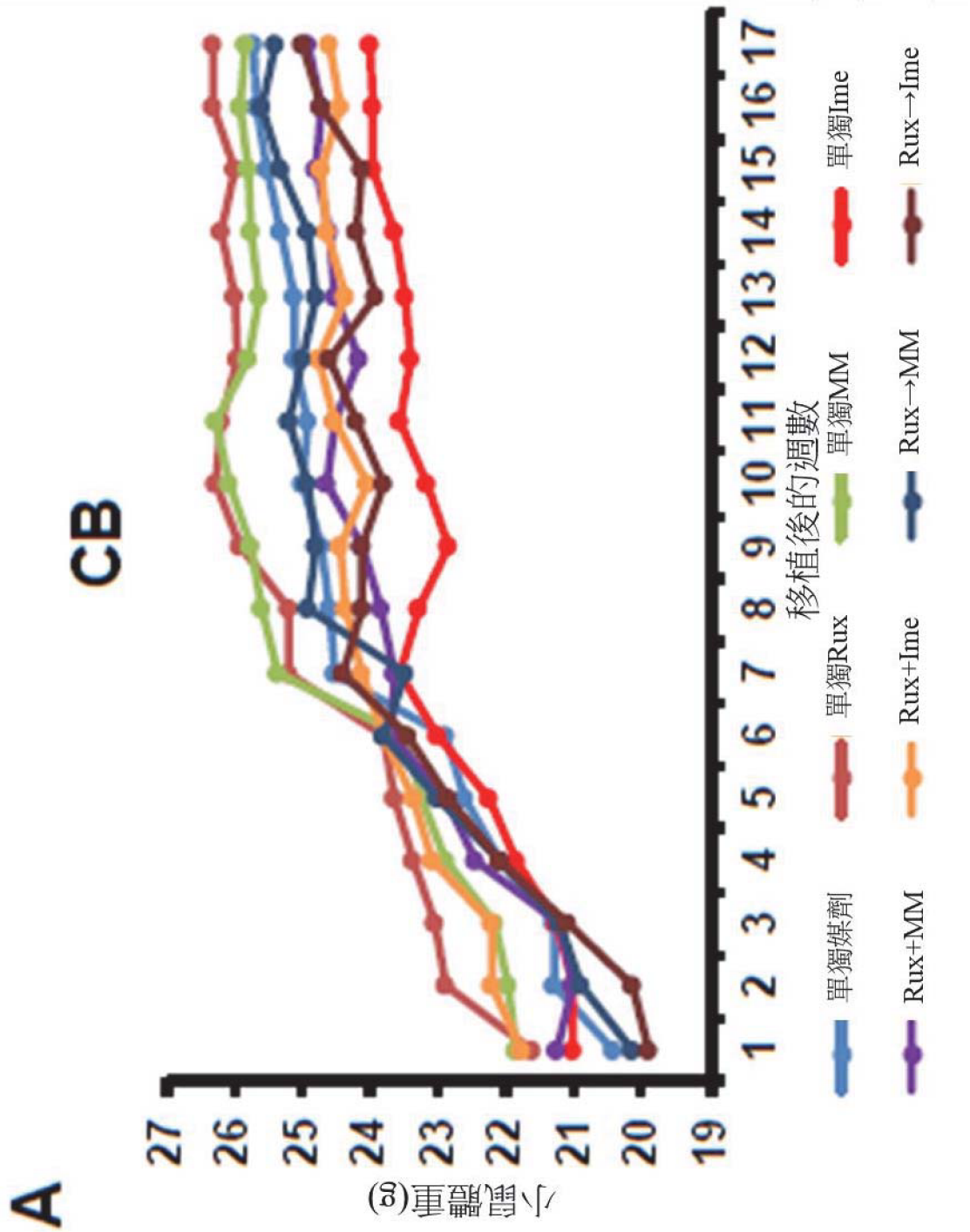
【圖 10】

在小鼠BM中的hCD34+細胞經對數量
(單獨媒劑%)
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
單獨Rux
單獨MM
單獨Time
Rux+MM
Rux+Time
Rux→MM
Rux→Time

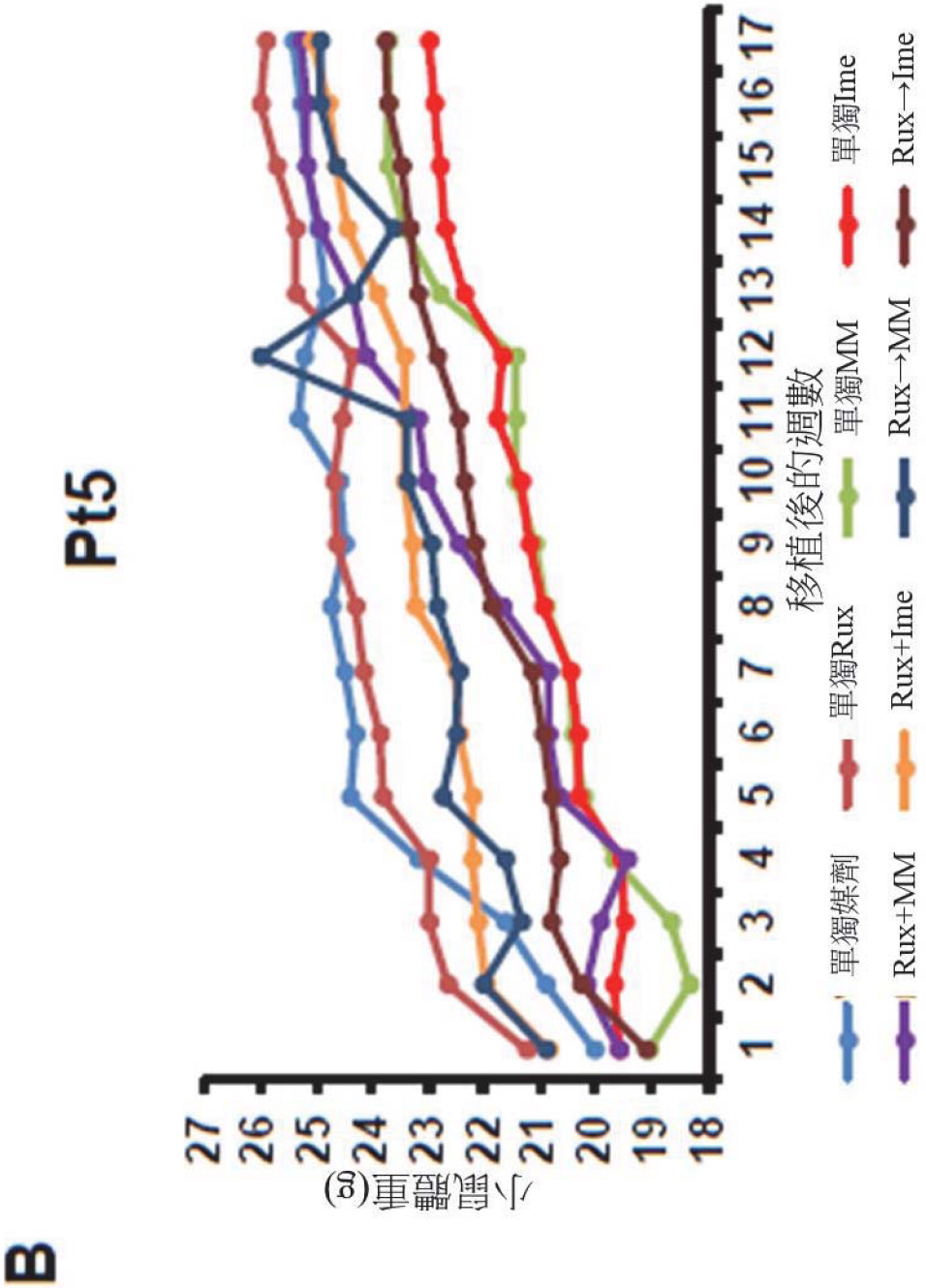
【圖 10】


在小鼠BM中的hCD45+細胞絕對數量
(單獨媒劑%)
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
單獨Rux
單獨Ime
Rux→Ime

【圖 11】


A
CB
小鼠體重(g)
27
26
25
24
23
22
21
20
19
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17
移植後的週數
單獨媒劑
單獨Rux
單獨MM
單獨Ime
Rux+MM
Rux+Ime
Rux→MM
Rux→Ime

【圖 12】


B
Pt5
小鼠體重(g)
27
26
25
24
23
22
21
20
19
18
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17
移植後的週數
單獨媒劑
單獨Rux
單獨MM
單獨Ime
Rux+MM
Rux+Ime
Rux→MM
Rux→Ime

【圖12】