



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105497900 A

(43) 申请公布日 2016. 04. 20

(21) 申请号 201510216684. 3

(22) 申请日 2015. 04. 30

(71) 申请人 苏州大学

地址 215000 江苏省苏州市工业园区仁爱路  
199 号

(72) 发明人 张熠 杨金铭 杨伟琼 镇学初

(74) 专利代理机构 苏州市新苏专利事务有限  
公司 32221

代理人 杨晓东 朱亦倩

(51) Int. Cl.

A61K 45/06(2006. 01)

A61P 35/00(2006. 01)

C12Q 1/68(2006. 01)

C12Q 1/02(2006. 01)

权利要求书1页 说明书5页  
序列表1页

(54) 发明名称

一种抗未分化甲状腺癌耐药靶点及其应用

(57) 摘要

本发明公开了一种抗未分化甲状腺癌耐药靶点及其应用,本发明中揭示了 microRNA-30d 对未分化甲状腺药物治疗的影响,并由此提供了 microRNA-30d 模拟剂在降低或消除未分化甲状腺癌化疗耐药性的药物中的用途、它作为未分化甲状腺癌耐药标志物及其作为耐药肿瘤预测、诊断以及耐药肿瘤药物设计和筛选的靶点的应用。本发明为克服肿瘤耐药、提高疗效提供新的机理,为抗肿瘤耐药提供新的靶点。

1. 一种抗未分化甲状腺癌耐药靶点,其特征在于,所述靶点为miR-30d和/或其参与的自噬途径。

2. 一种miR-30d模拟剂在降低和/或消除肿瘤治疗中的耐药性的药物中的应用。

3. 根据权利要求2所述的miR-30d模拟剂在降低和/或消除肿瘤治疗中的耐药性的药物中的应用,其特征在于,所述miR-30d模拟剂包括:miR-30d表达分子、miR-30d介导的自噬途径抑制剂。

4. 根据权利要求3所述的miR-30d模拟剂在降低和/或消除肿瘤治疗中的耐药性的药物中的应用,其特征在于,所述miR-30d表达分子,其表达的碱基序列为

GUUGUUGUAMCAUCCCCGACUGGCGUGMGACACAGCUMGCUUUCAGUCAGAUGUUUGCUGCUAC。

5. 一种药物组合物,其特征在于,包括:如权利要求2所述的miR-30d模拟剂、肿瘤治疗剂以及药学上能够接受的载体。

6. 根据权利要求5所述的药物组合物,其特征在于,所述肿瘤治疗剂包括,顺铂、阿霉素、紫杉醇、卡铂等、考布他汀A-4、厄洛替尼、手霉素或索拉非尼中的一种或几种。

7. 根据权利要求5所述的药物组合物,其特征在于,所述药学上能够接受的载体包括:盐水、缓冲液、葡萄糖、水、甘油或乙醇中的一种或几种。

8. 一种筛选抗耐药的肿瘤治疗药物的方法,其特征在于,包括:

提供未分化甲状腺癌肿瘤细胞系、肿瘤培养物或荷瘤动物;

将候选药物与提供的肿瘤细胞系、肿瘤培养物或荷瘤动物接触,作为给药组;

检测给药组中miR-30d的表达水平,并与未给予候选药物的对照肿瘤细胞系、肿瘤培养物或荷瘤动物的miR-30d表达水平进行比较,如果检测结果显示,给药组miR-30d的表达水平显著高于对照组,则表明该候选药物是抗耐药的肿瘤治疗药物。

## 一种抗未分化甲状腺癌耐药靶点及其应用

### 技术领域

[0001] 本发明属于分子生物学和肿瘤防治领域,更具体而言,本发明涉及预测、诊断和治疗肿瘤耐药性领域。

### 背景技术

[0002] 未分化甲状腺癌是甲状腺癌中恶性程度最高的一种,发病率约占全部甲状腺癌的10-15%,该类肿瘤生长快,早期即可发生浸润和全身转移,恶性程度高,预后差。未分化甲状腺癌通常具有很难预先诊断的特征,因为它对已知治疗手段具有耐受性。理解导致这类肿瘤耐药性的分子机制,以最终开发逆转耐药的新治疗方法是当前未分化甲状腺癌防治研究领域的重点和难点。

[0003] 为了逆转未分化甲状腺癌耐药,提高化疗疗效,本领域迫切需要通过多种方式研究肿瘤耐药发生的机制、肿瘤耐药的关键基因靶点,并根据这些靶点设计治疗肿瘤耐药的新药,从而引导肿瘤耐药靶向性治疗。

[0004] miRNAs是一类长度为18~24个核苷酸的可调控基因表达的内源性非编码单链小分子RNA,通过与靶mRNA的3'非翻译区域即3'UTR特异性结合,引起靶mRNA降解或者翻译抑制,产生转录后基因沉默,目前研究证明,miRNA分子调控了人类基因组内约1/3的基因表达。大量研究已经证实miRNAs在恶性肿瘤的发生发展中发挥重要作用,其中包括调控细胞的增殖、分化、凋亡、侵袭和转移等。MiR-30d定位于人染色体8q24.22,作为miR-30家族中的重要一员在恶性肿瘤发生发展中的作用已受到广泛关注。研究报告miR-30d在前列腺癌、神经管细胞瘤、肝癌、乳腺癌等多种恶性肿瘤中表达上调。但是,miR-30d在未分化甲状腺癌中却呈现低表达状态,并参与未分化甲状腺癌恶性进展过程。

### 发明内容

[0005] 本部分的目的在于概述本发明的实施例的一些方面以及简要介绍一些较佳实施例。在本部分以及本申请的说明书摘要和发明名称中可能会做些简化或省略以避免使本部分、说明书摘要和发明名称的目的模糊,而这种简化或省略不能用于限制本发明的范围。

[0006] 鉴于上述和/或现有肿瘤药物及其应用中存在的问题,提出了本发明。

[0007] 因此,本发明的一个目的是提供一种肿瘤耐药的关键基因靶点及蛋白靶点,为逆转肿瘤耐药、提高化疗疗效提供更为有效的工具。

[0008] 为解决上述技术问题,本发明提供了如下技术方案:一种抗未分化甲状腺癌耐药靶点,所述靶点为miR-30d和/或其参与的自噬途径。

[0009] 本发明的另一个目的是提供一种miR-30d模拟剂在降低和/或消除肿瘤治疗中的耐药性的药物中的应用。

[0010] 作为本发明所述miR-30d模拟剂在降低和/或消除肿瘤治疗中的耐药性的药物中的应用的一种优选方案,其中:所述miR-30d模拟剂包括:miR-30d表达分子、miR-30d介导的自噬途径抑制剂。

[0011] 作为本发明所述miR-30d模拟剂在降低和/或消除肿瘤治疗中的耐药性的药物中的应用的一种优选方案,其中:

[0012] 所述 miR-30d 表达分子,其表达的碱基序列为 GUUGUUGUAMCAUCCCCGACUGGMCUGUMGACACAGCUMGCUUUCAGUCAGAUGUUUGCUGCUAC。

[0013] 本发明的还一个目的是提供一种药物组合物,其包括:采用miR-30d模拟剂、肿瘤治疗剂以及药学上能够接受的载体。

[0014] 作为本发明所述药物组合物的一种优选方案,其中:所述肿瘤治疗剂包括,顺铂、阿霉素、紫杉醇、卡铂等、考布他汀A-4、厄洛替尼、手霉素或索拉非尼中的一种或几种。

[0015] 作为本发明所述药物组合物的一种优选方案,其中:所述药学上能够接受的载体包括:盐水、缓冲液、葡萄糖、水、甘油或乙醇中的一种或几种。

[0016] 本发明的再一个目的是提供一种筛选抗耐药的肿瘤治疗药物的方法,其包括:提供未分化甲状腺癌肿瘤细胞系、肿瘤培养物或荷瘤动物;将候选药物与提供的肿瘤细胞系、肿瘤培养物或荷瘤动物接触,作为给药组;检测给药组中miR-30d的表达水平,并与未给予候选药物的对照肿瘤细胞系、肿瘤培养物或荷瘤动物的miR-30d表达水平进行比较,如果检测结果显示,给药组miR-30d的表达水平显著高于对照组,则表明该候选药物是抗耐药的肿瘤治疗药物。

[0017] 本发明的有益效果:

[0018] (1)揭示了miR-30d与未分化甲状腺癌耐药性之间的关系,为设计和筛选耐药肿瘤药物提供了新的途径和靶点;

[0019] (2)提供了通过上调miR-30d及其相关信号传导途径来提高未分化甲状腺癌对肿瘤治疗的敏感性的新方法,从而起到了提高肿瘤治疗效果、减少肿瘤治疗剂用量、缓解患者痛苦的积极作用,具有临床的实用性。

## 具体实施方式

[0020] 为使本发明的上述目的、特征和优点能够更加明显易懂,下面结合具体实施方式对本发明的具体实施方式做详细的说明。

[0021] 在下面的描述中阐述了很多具体细节以便于充分理解本发明,但是本发明还可以采用其他不同于在此描述的其它方式来实施,本领域技术人员可以在不违背本发明内涵的情况下做类似推广,因此本发明不受下面公开的具体实施例的限制。

[0022] 其次,此处所称的“一个实施例”或“实施例”是指可包含于本发明至少一个实现方式中的特定特征、结构或特性。在本说明书中不同地方出现的“在一个实施例中”并非均指同一个实施例,也不是单独的或选择性的与其他实施例互相排斥的实施例。

[0023] 本发明研究发现:miR-30d在未分化甲状腺癌组织中低表达,并通过体内、体外实验证实了miR-30d是未分化甲状腺癌发生化疗抵抗的关键分子。低表达的miR-30d可优先启动一系列抗凋亡生物过程,抑制细胞凋亡,引起肿瘤耐药。采用模拟剂上调miR-30d表达,可降低或消除肿瘤的耐药性。在此基础上,本发明人完成了本发明。

[0024] 本发明的主要目的之一就是为了提供一种未分化甲状腺癌耐药的关键基因靶点及蛋白靶点,为逆转未分化甲状腺癌耐药、提高化疗疗效提供更为有效的工具。

[0025] 本发明的另一个主要目的是根据这些靶点设计预测、诊断肿瘤耐药试剂盒、筛选

针对该小RNA及其相关分子信号通路的治疗肿瘤耐药的药物。

[0026] 本发明的目的之一是提供一种逆转未分化甲状腺癌耐药的关键靶点mir-30d,针对该靶点及其相关信号通路,如自噬激活抑制剂,设计药物和治疗方案,上调未分化甲状腺癌中mir-30d表达或抑制其功能,能够有效治疗耐药肿瘤。

[0027] 在本发明的一个实施方式中,所述mir-30d来自人或其它真核生物,例如小鼠、大鼠、牛或猴等,且它们之间具有高度的保守性。

[0028] 在本发明的一个实施方式中,所述模拟剂选自针对miR-30d的合成模拟物。

[0029] 在本发明的另一个实施方式中,所述模拟剂是针对miR-30d的表达质粒,更优选所述表达的序列为:

[0030] GUUGUUGUAMCAUCCCCGACUGGMGCUGUMGACACAGCUMGCUUUCAGUCAGAUGUUUGCUGCUAC。

[0031] 在本发明的另一个实施方式中,所述肿瘤为未分化甲状腺癌。

[0032] 在本发明的另一个实施方式中,所述肿瘤治疗所采用的治疗剂选自:烷化剂、抗代谢药、抗肿瘤抗生素、植物类抗癌药或免疫制剂。

[0033] 在在一个优选例中,所述治疗剂选自:顺铂、阿霉素、紫杉醇、卡铂等、考布他汀A-4、厄洛替尼、手霉素、索拉非尼。

[0034] 在另一个优选例中,所述治疗剂优选为铂类药物:顺铂或卡铂。

[0035] 在本发明的第二方面中,提供了一种药物组合物,所述药物组合物包含:

[0036] (i)miR-30d模拟剂;

[0037] (ii)肿瘤治疗剂;

[0038] (iii)药学上可接受的载体或赋形剂。

[0039] 在一个优选例中,所述肿瘤治疗剂是化疗剂。

[0040] 在本发明的第三方面中,提供了一种药盒,所述药盒包含:

[0041] (A)容纳有miR-30d模拟剂的容器;

[0042] (B)容纳肿瘤治疗剂的容器和(C)使用说明书。

[0043] 在一个优选例中,本发明的药物组合物或药盒中所包含的模拟剂选自:针对miR-30d的表达分子、自噬抑制剂氯喹。

[0044] 在另一个优选例中,本发明的药物组合物或药盒中所述模拟剂是针对miR-30d的表达分子,更优选所述表达序列为:

[0045] GUUGUUGUAMCAUCCCCGACUGGMGCUGUMGACACAGCUMGCUUUCAGUCAGAUGUUUGCUGCUAC。

[0046] 在另一个优选例中,所述的自噬抑制剂氯喹作用于miR-30d低表达介导的自噬激活信号通路。

[0047] 在另一个优选例中,所述肿瘤选自未分化甲状腺癌。

[0048] 在另一个优选例中,所述治疗剂选自:顺铂、阿霉素、紫杉醇、卡铂等、考布他汀A-4、厄洛替尼、手霉素、索拉非尼。

[0049] 在本发明的第四方面中,提供了一种筛选抗耐药的未分化甲状腺癌治疗药物的方法,所述方法包括:

[0050] (a)提供未分化甲状腺癌肿瘤细胞系、肿瘤培养物或荷瘤动物;

[0051] (b)将候选药物与步骤(a)中提供的肿瘤细胞系、肿瘤培养物或荷瘤动物接触,作为给药组;

[0052] (c)检测给药组中miR-30d的表达水平,并与未给予候选药物的对照肿瘤细胞系、肿瘤培养物或荷瘤动物的miR-30d的表达水平进行比较;

[0053] 如果检测结果显示,给药组的miR-30d的表达水平显著高于对照组,则表明该候选药物是抗耐药的肿瘤治疗药物。

[0054] 在一个优选例中,所述方法用于筛选不会对患有肿瘤的个体产生肿瘤治疗耐药性的肿瘤治疗药物。

[0055] 本发明中首次揭示了miR-30d是一种未分化甲状腺癌耐药相关蛋白,其在肿瘤组织中异常低表达,优先启动一系列抗凋亡蛋白过程,抑制细胞凋亡,引起肿瘤耐药。

[0056] 基于本发明的上述发现,本领域普通技术人员可将miR-30d或其参与的自噬途径作为靶点,设计或筛选抗耐药的肿瘤药物。例如,本领域普通技术人员可根据已知的miR-30d序列设计或筛选出miR-30d模拟剂,将其与化疗药物共同给予肿瘤患者,从而改善肿瘤对治疗药物的耐药性、提高肿瘤治疗的成功率、减少肿瘤治疗药物的用量、以及减轻患者的痛苦。

[0057] miR-30d模拟剂包括但不限于:miR-30d表达分子、miR-30d介导的自噬途径抑制剂。例如本发明实施例中提供针对miR-30d表达的碱基序列: GUUGUUGUAMCAUCCCCGACUGGMGCUGUMGACACAGCUMGCUUCAGUCAGAUGUUUGCUGCUAC。

[0058] 就miRNAs模拟剂而言,随着miRNAs研究的深入,已有公司可商业化提供miRNAs的设计和合成服务

[0059] 显然,通过上述的商业途径和服务,本领域研究人员只需提供靶基因序列,就可以获得高质量的miR-30d模拟剂。

[0060] 此外,本领域普通技术人员也可采用本领域中已知的方法和软件来自行设计和筛选miRNA模拟剂。

[0061] 因此,只要本领域普通技术人员获知了靶基因miR-30d的序列,他们就可以通过商业途径很容易地获得针对该小RNA的表达分子,也可以根据本领域中已知的原理,采用已知的软件和方法来获得针对该小RNA的表达分子。

[0062] 药物组合物和药盒

[0063] 本发明提供了一种药物组合物,它含有有效量的所述miR-30d模拟物,以及药学上可接受的载体。本发明的药物组合物可用于通过表达miR-30d或与自噬抑制剂结合,改善未分化甲状腺癌耐药性,提高肿瘤治疗药物在肿瘤治疗中的有效性。

[0064] 本发明的药物组合物中药学上可接受的载体,包括(但不限于):盐水、缓冲液、葡萄糖、水、甘油、乙醇、及其组合。通常药物制剂应与给药方式相匹配,本发明的药物组合物可以被制成针剂形式,例如用生理盐水或含有葡萄糖和其他辅剂的水溶液通过常规方法进行制备。所述的药物组合物宜在无菌条件下制造。活性成分的给药量是治疗有效量。本发明的药物制剂还可制成缓释制剂。

[0065] 本发明药物组合物中抑制剂的有效量可随给药的模式和待治疗的疾病的严重程度等而变化。优选的有效量的选择可以由本领域普通技术人员根据各种因素来确定(例如通过临床试验)。所述的因素包括但不限于:本发明抑制剂配合使用的肿瘤治疗剂的种类和用量;抑制剂的药代动力学参数例如生物利用率、代谢、半衰期等;患者所要治疗的疾病的严重程度、患者的体重、患者的免疫状况、给药的途径等。例如,由治疗状况的迫切要求,可

每天给予若干次分开的剂量,或将剂量按比例地减少。

[0066] 本发明药物组合物的给药方式没有特别的限制,可以是全身的或局部的。优选的,本发明的药物组合物可通过静脉注射的方式给予对象。也可直接将模拟剂通过诸如注射等方法给药于受试者;或者,可通过一定的途径将携带miR-30d表达单位(比如表达载体或病毒等)递送到靶点上,并使之表达活性miR-30d。

[0067] 可将肿瘤治疗药物与本发明的模拟剂配制在同一药物组合物中,或以单独的形式提供于药盒中。治疗药物与本发明的模拟剂在联合使用时可产生协同效果,例如miR-30d与顺铂的联合使用可对未分化甲状腺癌治疗产生协同作用。本领域普通技术人员可根据本发明中的常规手段(例如参考本发明实施例中所揭示的方法)对这些组合进行筛选。

[0068] 筛选抗耐药的肿瘤治疗药物的方法

[0069] 本发明中还提供了一种以miR-30d为靶点,筛选抗耐药的未分化甲状腺癌治疗药物(例如肿瘤治疗药物)的方法,所述方法包括:(a)提供未分化甲状腺癌肿瘤细胞系、肿瘤培养物或荷瘤动物;(b)将候选药物与步骤(a)中提供的肿瘤细胞系、肿瘤培养物或荷瘤动物接触,作为给药组;(c)检测给药组中miR-30d的表达水平,并与未给予候选药物的对照肿瘤细胞系、肿瘤培养物或荷瘤动物的miR-30d表达水平进行比较;如果检测结果显示,给药组miR-30d的表达水平显著高于对照组,则表明该候选药物是抗耐药的肿瘤治疗药物。

[0070] 本发明的方法可用于从化合物库中筛选出针对肿瘤的非耐药性抗肿瘤药物,可作为化合物筛选评估的一个重要指标。本发明的方法也可用于临床中对肿瘤患者的个性化治疗的预测和诊断中,筛选出针对个体具有最佳肿瘤治疗效果的抗肿瘤药物。

[0071] 由此可见,本发明中提供了一种新的肿瘤耐药标志物:在未分化甲状腺癌组织中低表达并导致肿瘤耐药的microRNA-30d,将该小RNA作为靶点,可设计出针对该小RNA及其相关分子的预测、诊断肿瘤耐药试剂盒、筛选针对该小RNA及其相关分子的治疗未分化甲状腺癌耐药的药物。

[0072] 应说明的是,以上实施例仅用以说明本发明的技术方案而非限制,尽管参照较佳实施例对本发明进行了详细说明,本领域的普通技术人员应当理解,可以对本发明的技术方案进行修改或者等同替换,而不脱离本发明技术方案的精神和范围,其均应涵盖在本发明的权利要求范围当中。

---

	<110> 苏州大学	
	<120> 一种抗未分化甲状腺癌耐药靶点及其应用	
	<160> 1	
	<210> 1	
	<211> 66	
[0001]	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 1	
	GUUGU UGUAM CAUCC	15
	CCGAC UGGMG CUGUM	30
	GACAC AGCUM GCUUU	45
	CAGUC AGAUG UUUGC	60
	UGCUA C	66