



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113564261 A

(43) 申请公布日 2021. 10. 29

(21) 申请号 202111126826.9

A61P 35/00 (2006.01)

(22) 申请日 2021.09.26

(71) 申请人 广州医科大学附属肿瘤医院

地址 510095 广东省广州市越秀区横枝岗路78号

(72) 发明人 曾丽斯 崔书中 王辉云 曾小慧 何庆军 刘畅 邹兆伟 巫诚 杨贤子 刘高杰 田云 廖权星 李广娥

(74) 专利代理机构 广州市诺丰知识产权代理事务所(普通合伙) 44714 代理人 许飞 马倩

(51) Int. Cl.

G12Q 1/6886 (2018.01)

A61K 45/00 (2006.01)

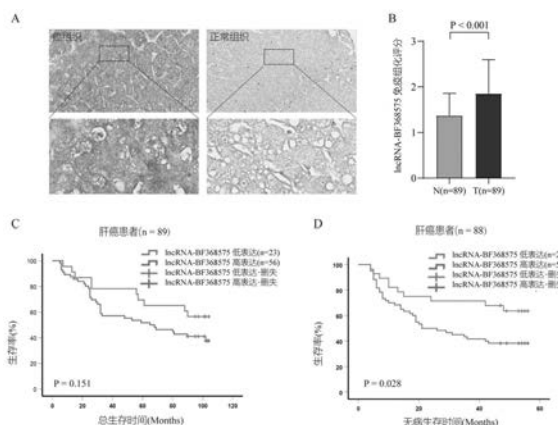
权利要求书1页 说明书9页 附图9页

(54) 发明名称

与肝细胞癌相关的lncRNA及其应用

(57) 摘要

本发明公开了用于肝癌患者预后预测及肝癌患者治疗的lncRNA。前期通过对肝癌中差异表达的lncRNA进行分析,发明人发现lncRNA-BF368575在肝癌组织和部分肝癌细胞系中高表达,其高表达与肝癌患者较短的DFS密切相关,lncRNA-BF368575表达越低预后越好,其表达水平与肝癌患者的预后明显相关,可用于预测肝癌预后。功能实验显示lncRNA-BF368575可通过直接与PI3K/AKT/mTOR信号通路磷酸化蛋白结合促进肝癌生长,其促癌作用可以被LY294002逆转,因此lncRNA-BF368575可作为治疗肝癌的一个新靶点。



1. lncRNA-BF368575表达量的定量试剂在制备肝细胞癌预后检测试剂中的应用。
2. 根据权利要求1所述的应用,其特征在于:所述定量试剂选自高通量lncRNA芯片、组织芯片或PCR试剂。
3. 根据权利要求1所述的应用,其特征在于:lncRNA-BF368575表达量显著升高时,判定为肝细胞癌治疗后复发。
4. 根据权利要求1所述的应用,其特征在于:所述定量试剂检测的样本为患者血清和/或组织。
5. 一种肝细胞癌预后分析系统,包括:
lncRNA表达量检测装置,用于检测样本中lncRNA-BF368575的表达量;
预后分析装置,基于lncRNA-BF368575的表达量,确定肝细胞癌预后;
结果输出装置,用于输出预后分析装置分析得到的结果。
6. 根据权利要求5所述的肝细胞癌预后分析系统,其特征在于:所述lncRNA表达量检测装置选自高通量lncRNA芯片、组织芯片或PCR试剂。
7. 根据权利要求5所述的肝细胞癌预后分析系统,其特征在于:lncRNA-BF368575表达量显著升高时,判定为肝细胞癌治疗后复发。
8. 根据权利要求5所述的肝细胞癌预后分析系统,其特征在于:所述lncRNA表达量检测装置分析的样本为患者血清和/或组织。
9. 抑制lncRNA-BF368575表达的试剂在制备肝细胞癌治疗药物中的应用。
10. 根据权利要求9所述的应用,所述试剂选自针对lncRNA-BF368575的miRNA、siRNA或shRNA、lncRNA-BF368575启动子抑制剂。

与肝细胞癌相关的lncRNA及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及肿瘤领域,具体涉及与肝细胞癌相关的lncRNA及其应用。

背景技术

[0002] 肝癌是全球性的重大公共卫生问题,是全球范围内最常见的恶性肿瘤之一,其发病率占全球恶性肿瘤发病率的第五位,死亡率高居第四位,且发病率逐年上升,2021年肝癌新增病例已经超过90万,到2025年预计每年新增病例数将超过100万,每年可导致83万名患者死亡。肝细胞癌(Hepatocellular carcinoma,HCC)是最常见的原发性肝癌,约占原发性肝癌的90%,下文中的肝癌均指肝细胞癌。HCC的危险因素包括长期饮酒、糖尿病或肥胖相关的非酒精性脂肪肝(non-alcoholic steatohepatitis,NASH)、HBV或HCV感染、黄曲霉毒素B1摄入、遗传性血色病等。虽然肝癌临床早期诊断和治疗有了很大提高,但因肝癌复发率高,患者的5年生存率仍偏低。因此迫切需要研究肝癌发生、发展的潜在分子机制,以便肝癌的诊断和治疗。

[0003] 发明人目前的研究发现,多种lncRNA在肝癌患者中表达异常,这些异常表达的lncRNA参与肝癌的发生、发展、复发及转移,因此这类lncRNA能够作为HCC诊断、治疗的潜在生物标志物。HULC是第一个被发现的,在肝癌组织中异常高表达的lncRNA。与正常组织相比,HULC在肝癌组织和肝结肠转移瘤中明显高表达,且HULC与肿瘤组织学分级和HBV感染程度呈正相关。对患者血浆样本进行分析,发现HULC在肝癌患者血浆中显著高表达。HULC可以被cAMP、CREB和IGF2等调节,从而促进肝癌细胞增殖、转移,体内实验也证实HULC能够促进裸鼠皮下移植瘤的生长。

[0004] 正常情况下,H19在胚胎发育期具有较高的表达丰度,而在成人肝脏中的表达量微乎其微。但是在肝组织再生和肝癌发生过程中,H19被重新活化,表达明显升高。深入研究表明,在肝癌中,H19有3个比较明显的甲基化表达位点,高甲基化与肝癌密切相关。基于上述H19的表达特性,有研究将H19纳为肝癌的特定治疗靶点。

[0005] MEG3在各类正常组织中均有表达,但是在某些肿瘤中,其表达会明显降低。在肝癌中,MEG3均存在不同程度的甲基化,进一步实验表明,MEG3的表达量降低的程度与甲基化程度呈正相关。而高甲基化的MEG3可以通过miR-29,调节肝癌的增殖。PTEN及同源的PTENP1,能够负向调控PI3K/AKT/mTOR信号通路,从而抑制肿瘤的发生发展。但是,在肝癌中,PTEN及同源的PTENP1的表达量明显降低。在肝癌细胞中,过表达PTENP1能显著抑制细胞的增殖、迁移、侵袭及远处转移。

[0006] XIST和FTX在肝癌组织中的表达明显低于正常肝组织。XIST能够通过抑制miR-92b的表达,从而抑制HCC的增殖和转移。FTX是XIST的调节因素,功能与XIST类似,能作用于Wnt/ β -catenin信号通路,减少EMT的表达,并与MCM2的复制起始段结合,影响MCM2的表达。XIST和FTX单独分析,与肝癌临床特征关联不大,但二者结合分析,能够较好地判断肝癌患者的预后,因此两者联合运用可能成为肝癌的潜在预后评估标志物。

[0007] 上述异常表达的lncRNA参与肝癌的发生发展,但其具体分子机制并未完全发掘,

因此它们作为肝癌诊断标志物或治疗靶点的可靠性有待进一步验证。LncRNA应用于临床,应该具有方便、低成本等特点,但上述lncRNA的检测很多包含多个蛋白分子,或DNA双链甲基化、转录起始位点等的检测,大部分医疗机构并不具备相关检测能力,且检测成本较为昂贵,因此其推广应用价值有限,也未能对肝癌患者分级及预后进行确切诊断。因此迫切需要寻找新型分子标记物,以提高肝癌诊断的灵敏性和预后判断的准确性,明确其在肝癌患者中的临床价值,这对于提高肝癌患者的生存率具有重大的临床意义。

[0008] LncRNA-BF368575是人们发现的众多lncRNA中的一条,有关其功能报导罕见,CN107460234A公开了由48个lncRNA组成的分子标签,可以高准确性地区分正常、慢性乙型肝炎、肝硬化和肝癌四个人群。lncRNA-BF368575是48个lncRNA组成的分子标签中的一条,其变化倍数(患者/HC)为7.7倍,处于中游,未有数据显示其单独具有何种效用。

发明内容

[0009] 本发明的目的在于提供基于lncRNA-BF368575的新应用。

[0010] 本发明所采取的技术方案是:

发明人通过lncRNA表达谱芯片筛选出BF368575,通过qRT-PCR技术检测了16对肝癌临床组织样本及相应的正常肝组织中lncRNA-BF368575的表达情况,结果显示lncRNA-BF368575在肝癌组织中的表达水平高于正常组织。后又通过人肝癌组织芯片(HLivH180Su15)对lncRNA-BF368575表达进行验证,证实lncRNA-BF368575不仅在肝癌组织中高表达,且其表达量与肝癌患者的病理分级呈正相关。进一步分析lncRNA-BF368575与患者生存期,发现lncRNA-BF368575高表达患者的无疾病生存期(DFS)明显短于低表达患者,单因素分析表明lncRNA-BF368575与肝癌患者总生存期(OS)和无疾病生存期(DFS)密切相关,提示lncRNA-BF368575可能是肝癌发生发展中的重要调控因子。

[0011] 接着,发明人对lncRNA-BF368575进行了体外细胞功能学的研究,进一步的实验研究表明,与对照组细胞株相比,高表达lncRNA-BF368575的肝癌细胞株具有更强的增殖能力。沉默内源性lncRNA-BF368575表达后,MHCC97H和SNU-423肝癌细胞株增殖能力减弱,过表达lncRNA-BF368575后,HepG2和BEL7402肝癌细胞株增殖能力明显增强。体内实验证实,过表达lncRNA-BF368575能有效促进裸鼠皮下成瘤。由此可见,lncRNA-BF368575在肝癌中起着促进肿瘤发生发展的作用。进一步的机制研究表明,lncRNA-BF368575可能通过上调PI3K/AKT/mTOR信号通路关键蛋白的磷酸化水平,激活PI3K/AKT/mTOR信号通路,进而促进肝癌细胞增殖。而lncRNA-BF368575的促癌作用可以被靶向药物LY294002抑制,这表明lncRNA-BF368575可以作为肿瘤抑制剂等相关药物的作用靶点。RNA结合蛋白免疫共沉淀实验(RIP)证实lncRNA-BF368575可与p-mTOR(Ser2448)、p-AKT(Thr308)和p-4E-BP1(Thr37/46)直接结合,从而抑制磷酸化蛋白降解。

[0012] 本发明的第一个方面,提供:

lncRNA-BF368575表达量的定量试剂在制备肝细胞癌预后检测试剂中的应用。

[0013] 在一些实例中,所述定量试剂选自高通量lncRNA芯片、组织芯片或PCR试剂。

[0014] 在一些实例中,lncRNA-BF368575表达量显著升高时,判定为肝细胞癌治疗后复发。

[0015] 在一些实例中,所述定量试剂检测的样本为患者血清和/或组织。

[0016] 本发明的第二个方面,提供:

一种肝细胞癌预后分析系统,包括:

lncRNA表达量检测装置,用于检测样本中lncRNA-BF368575的表达量;

预后分析装置,基于lncRNA-BF368575的表达量,确定肝细胞癌预后;

结果输出装置,用于输出预后分析装置分析得到的结果。

[0017] 在一些肝细胞癌预后分析系统的实例中,所述lncRNA表达量检测装置选自高通量lncRNA芯片、组织芯片或PCR试剂。

[0018] 在一些肝细胞癌预后分析系统的实例中,lncRNA-BF368575表达量显著升高时,判定为肝细胞癌治疗后复发。

[0019] 在一些肝细胞癌预后分析系统的实例中,所述lncRNA表达量检测装置分析的样本为患者血清和/或组织。

[0020] 本发明的第三个方面,提供:

抑制lncRNA-BF368575表达的试剂在制备肝细胞癌治疗药物中的应用。

[0021] 在一些实例中,所述试剂选自针对lncRNA-BF368575的miRNA、siRNA或shRNA、lncRNA-BF368575启动子抑制剂。

[0022] 本发明的有益效果是:

本发明通过lncRNA表达谱芯片筛选出BF368575,并检测肝癌组织中lncRNA-BF368575表达情况,发现肝癌组织中lncRNA-BF368575高表达,且lncRNA-BF368575的表达水平与肝癌患者的预后明显相关。本发明的一些实例,通过检测肝癌患者lncRNA-BF368575的表达量,可以有效预测肝癌患者的预后,明确患者肝癌复发的风险,可以更好地进行个性化用药,提高患者的生存质量。

[0023] 本发明对lncRNA-BF368575进行细胞功能学的研究,发现高表达lncRNA-BF368575的肝癌细胞具有更强的增殖能力,而沉默内源性lncRNA-BF368575表达后,肝癌细胞增殖能力减弱。本发明的一些实例,通过抑制lncRNA-BF368575的表达,有望辅助肝癌的治疗。

附图说明

[0024] 图1是lncRNA-BF368575在肝癌组织和肝癌细胞中的表达量;

图2是lncRNA-BF368575表达量及与预后相关的结果;

图3、4、5、6是lncRNA-BF368575促进肝癌细胞增殖的结果;

图7是lncRNA-BF368575促进裸鼠皮下成瘤的结果;

图8、9是lncRNA-BF368575正向调节PI3K/AKT/mTOR信号通路;

图10 是LY294002能部分逆转lncRNA-BF368575的促癌作用;

图11是lncRNA-BF368575能与p-mTOR(Ser2448)、p-AKT(Thr308)和p-4E-BP1(Thr37/46)相互结合。

具体实施方式

[0025] 下面结合实验数据,进一步说明本发明的技术方案。

[0026] 研究表明lncRNA-BF368575在肝癌组织和大部分肝癌细胞系中高表达:

首先,采用qRT-PCR检测了16对肝癌临床组织样本和相应的正常肝组织中lncRNA-

BF368575的表达情况,结果显示肝癌组织中lncRNA-BF368575的表达水平高于正常组织(图1A)。qRT-PCR检测4株肝癌细胞和1株正常肝细胞系,发现lncRNA-BF368575在MHCC97H、SNU-423、HepG2高表达(图1B)。

[0027] 由于lncRNA的生物学功能与其细胞内定位密切相关,因此发明人对HepG2细胞进行核质RNA分离后,逆转录成cDNA,并进行qPCR及DNA凝胶电泳,结果显示lncRNA-BF368575在细胞质中明显高表达(图1C和1D)。上述实验表明,lncRNA-BF368575在肝癌组织和大部分肝癌细胞系中高表达,且lncRNA-BF368575在肝癌细胞细胞质中的表达量明显高于其在细胞核中的表达量。

[0028] 研究表明lncRNA-BF368575表达水平与肝癌的发展相关:

为了探讨lncRNA-BF368575在HCC中的临床意义,发明人从芯超生物技术公司获得了人肝癌组织芯片(HLivH180Su15)。对上述获得的人肝癌组织芯片进行原位杂交,结果显示lncRNA-BF368575在肝癌组织与癌旁组织的表达存在显著差异(表2、图2A和2B)。

[0029] 接下来发明人分析了lncRNA-BF368575表达水平与肝癌患者临床病理特征的相关性(表1),结果显示lncRNA-BF368575表达水平与肿瘤分级密切相关。

[0030] 肿瘤分级是判断肝癌预后的重要标志,生存分析结果提示低表达lncRNA-BF368575是患者无疾病生存期(DFS)的有利预后因素(图2C和2D)。

[0031] 从lncRNA-BF368575对肝癌患者总生存期影响的单因素和多因素分析看,lncRNA-BF368575的表达量与肝癌患者的总生存期并未存在明显相关性(表3)。

[0032] 上述实验及分析表明,lncRNA-BF368575在肝癌组织中显著高表达,高表达lncRNA-BF368575严重影响了肝癌患者的无病生存期,且与肝癌病理分级较高密切相关。

[0033] 表1、lncRNA-BF368575与肝癌患者临床病理特征的关系

	变量	lncRNA-BF368575 表达量		总计	χ^2	p 值
		低	高			
年龄(岁)	≤50	13	27	40	0.036	0.849
	>50	15	34	49		
性别	女性	2	8	10	0.686	0.407
	男性	26	53	79		
Grade	1/2	18	21	39	6.950	0.008
	3	10	40	50		
T 分期	T1	19	38	57	0.258	0.612
	T2/T3	9	23	32		
TNM 分期	I	19	38	57	0.258	0.612
	II/III	9	23	32		
肝硬化	阴性	3	6	9	0.011	0.918

HBsAg	阳性	25	54	79	0.282	0.595
	阴性	7	12	19		
HBcAb	阳性	21	48	69	0.368	0.544
	阴性	3	4	7		
AntiHCV	阳性	25	54	79	0.488	0.485
	阴性	28	57	85		
TB	阳性	0	1	1	1.836	0.175
	阴性	23	41	64		
ALT	阳性	5	19	24	0.458	0.498
	阴性	18	34	52		
AFP	阳性	10	26	36	0.176	0.674
	阴性	13	25	38		
GGT	阳性	15	35	50	2.308	0.129
	阴性	11	34	45		
PDL1	阳性	17	26	43	0.448	0.503
	阴性	14	37	51		
CTA4	阳性	11	21	32	0.799	0.371
	阴性	9	24	33		
	阳性	18	31	49		
	阳性	18	31	49		

*统计学显著 ($p < 0.05$)。

[0034] 表2、lncRNA-BF368575在肝癌组织和癌旁组织的表达量

	n	lncRNA-BF368575 表达量		Chi-square 值	p 值
		高(%)	低(%)		
肝癌	89	61(68.5%)	28(31.5%)	17.67376	2.62E-05
癌旁组织	89	33(37.1%)	56(62.9%)		

表3、lncRNA-BF368575对肝癌患者总生存期影响的单因素和多因素分析

变量	单变量分析			多变量分析		
	HR	95%CI	p 值	HR	95%CI	p 值
总生存数						
lncRNA-BF368575						
表达量	2.133	1.059-4.296	0.034	1.706	0.820-3.550	0.153
性别	1.321	0.474-3.677	0.594			
Grade	2.147	1.207-3.817	0.009	1.753	0.955-3.217	0.070
年龄	1.545	0.861-2.774	0.145			
T 分期	1.622	1.000-2.629	0.050	0.883	0.118-6.601	0.903
TNM 分期	1.686	1.000-2.845	0.050	1.827	0.215-15.550	0.581
PDL1	0.999	0.550-1.815	0.999			
CTA4	0.817	0.445-1.501	0.515			
无病生存数						
lncRNA-BF368575						
表达量	2.461	1.079-5.614	0.032	0.459	0.2-1.055	0.067
性别	1.105	0.339-3.598	0.869			
Grade	2.369	1.168-4.803	0.017	0.468	0.230-0.955	0.037
年龄	1.146	0.594-2.211	0.684			
T 分期	1.719	1.018-2.903	0.043	2.028	0.572-7.192	0.485

*统计学显著 ($p < 0.05$)。

[0035] 研究表明lncRNA-BF368575在HCC中促进肝癌细胞增殖：

鉴于lncRNA-BF368575在肝癌组织中高表达，并与肝癌患者预后密切相关。为研究lncRNA-BF368575在肝癌发生发展中的作用，发明人构建了lncRNA-BF368575稳定过表达和敲降细胞株。在HepG2和BEL-7402细胞中稳定过表达lncRNA-BF368575，在SNU-423和MHCC97H稳定敲降lncRNA-BF368575。构建完成后，提取肝癌细胞RNA，并用qRT-PCR进行检测，发现lncRNA-BF368575在HepG2和BEL-7402的稳定过表达(图3A)，以及在SNU-423和MHCC97H的稳定敲降(图3B)，均符合预期，表明lncRNA-BF368575稳定过表达和敲降细胞株构建成功。

[0036] 过表达或敲降lncRNA-BF368575后，用CCK-8试剂对4株肝癌细胞的增殖能力进行检测，发现过表达lncRNA-BF368575能显著促进肝癌细胞的增殖，而敲降lncRNA-BF368575则抑制肝癌细胞的增殖(图4)。

[0037] 为进一步验证lncRNA-BF368575对肝癌细胞增殖的影响，对稳定过表达和敲降lncRNA-BF368575的肝癌细胞株进行平板克隆实验。实验结果表明过表达lncRNA-BF368575能显著促进肝癌细胞的克隆形成能力(图5)，而敲降lncRNA-BF368575则显著抑制肝癌细胞的克隆形成能力(图6)。

[0038] 上述实验结果表明，过表达lncRNA-BF368575可促进肝癌细胞的增殖，而抑制lncRNA-BF368575则发挥抑制肝癌细胞增殖的作用。

[0039] 研究表明lncRNA-BF368575在裸鼠皮下成瘤模型中促进肝癌细胞的肿瘤形成：

为进一步确定lncRNA-BF368575在体内是否也具有促进肝癌细胞增殖的作用，发

明人将lncRNA-BF368575高表达的HepG2细胞注射到裸鼠皮下,并设置对照组。

[0040] 与对照组相比,lncRNA-BF368575过表达组可以显著促进裸鼠皮下肿瘤的生长,肿瘤出现的时间较对照组提前了近一周(图7B)。过表达lncRNA-BF368575的HepG2细胞,裸鼠皮下肿瘤体积明显较大(图7A和B),肿瘤重量显著增加(图7C)。从裸鼠肿瘤组织中提取RNA,并进行qRT-PCR检测,发现裸鼠肿瘤组织中lncRNA-BF368575表达显著上升(图7D),表明裸鼠皮下成瘤源于稳定过表达lncRNA-BF368575的HepG2细胞,且在成瘤过程中,lncRNA-BF368575一直发挥作用。

[0041] 上述实验结果说明,lncRNA-BF368575过表达能有效促进裸鼠皮下成瘤。

[0042] 研究表明lncRNA-BF368575通过正向调控PI3K/AKT/mTOR信号通路促进肝癌细胞生长:

为探究lncRNA-BF368575促进肝癌发生发展的分子机制,对稳定过表达lncRNA-BF368575的HepG2和BEL-7402细胞以及稳定敲降lncRNA-BF368575的SNU-423和MHCC97H细胞中的PI3K/AKT/mTOR信号通路的关键蛋白PI3K、p-PI3K(Tyr607)、AKT、p-AKT(Thr308)、mTOR、p-mTOR(Ser2448)、4E-BP1、p-4E-BP1(Thr37/46)、S6和p-S6(Ser235/236)进行蛋白印迹检测,并计算灰度值,进行统计学分析。

[0043] 结果显示在过表达lncRNA-BF368575的HepG2和BEL-7402肝癌细胞中,PI3K/AKT/mTOR信号通路的关键蛋白的总量并未发生明显改变,但关键蛋白的磷酸化水平显著升高(图8A、图9A和B);而在敲降lncRNA-BF368575的SNU-423和MHCC97H细胞中,PI3K/AKT/mTOR信号通路的关键蛋白的总量也未发生明显改变,但关键蛋白的磷酸化水平显著降低(图8B、图9C和D)。

[0044] 上述实验结果表明,lncRNA-BF368575可能通过PI3K/AKT/mTOR信号通路促进肝癌细胞的增殖。

[0045] 研究表明LY294002能逆转lncRNA-BF368575的促癌作用:

在稳定过表达lncRNA-BF368575的HepG2和BEL-7402细胞中,加入一定浓度的LY294002,能逆转过表达lncRNA-BF368575导致的细胞增殖能力增强(图10A)。采用软琼脂成球实验,对LY294002拮抗lncRNA-BF368575的作用进行进一步验证。

[0046] 结果显示LY294002可以逆转lncRNA-BF368575对肝癌细胞HepG2和BEL-7402的促生长作用(图10B)。蛋白印迹检测结果显示LY294002能够逆转过表达lncRNA-BF368575导致的PI3K/AKT/mTOR信号通路关键蛋白的磷酸化,尤其是p-PI3K(Tyr607)、p-AKT(Thr308)和p-S6(Ser235/236)这三个蛋白的磷酸化(图10C)。

[0047] 上述实验结果表明,LY294002能逆转lncRNA-BF368575在肝癌细胞中的促癌作用。

[0048] 研究表明lncRNA-BF368575通过直接与PI3K/AKT/mTOR信号通路磷酸化蛋白结合,发挥促癌作用:

上述实验结果表明,lncRNA-BF368575可以影响PI3K/AKT/mTOR信号通路的关键蛋白的磷酸化水平,为了进一步探究两者之间的具体作用机制,发明人进行了RNA结合蛋白免疫共沉淀实验(RIP)。采用p-mTOR(Ser2448)、p-AKT(Thr308)和p-4E-BP1(Thr37/46)对RNA进行沉淀,逆转录扩增后对DNA进行凝胶电泳检测。电泳结果发现,p-mTOR(Ser2448)、p-AKT(Thr308)和p-4E-BP1(Thr37/46)均能从细胞裂解产物中结合lncRNA-BF368575,其中p-AKT(Thr308)和p-4E-BP1(Thr37/46)结合的lncRNA-BF368575最多(图11)。探究lncRNA-

BF368575与p-mTOR (Ser2448)、p-AKT (Thr308)和p-4E-BP1 (Thr37/46) 相结合的方式,明确lncRNA-BF368575对下游蛋白的影响,能进一步阐明lncRNA-BF368575发挥促癌作用的分子机制,为肝癌的防治提供新的方向。

[0049] 总结:

综上所述,发明人的研究发现了一个新的lncRNA-BF368575,它在肝癌组织和大部分肝癌细胞系中高表达,高表达lncRNA-BF368575与肝癌患者较短的DFS密切相关,lncRNA-BF368575表达越低预后越好。功能实验显示lncRNA-BF368575在体内外均能促进肝癌细胞的增殖。机制上lncRNA-BF368575可能通过PI3K/AKT/mTOR信号通路发挥促癌作用。鉴于lncRNA-BF368575的表达水平与肝癌患者的预后明显相关,因此lncRNA-BF368575可用于预测肝癌预后。鉴于lncRNA-BF368575可通过直接与PI3K/AKT/mTOR信号通路磷酸化蛋白结合促进肝癌生长,且其促癌作用可以被LY294002逆转,因此lncRNA-BF368575可作为治疗肝癌的一个新的治疗靶点。

[0050] 以上是对本发明所作的进一步详细说明,不可视为对本发明的具体实施的局限。对于本发明所属技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明构思的简单推演或替换,都在本发明的保护范围之内。

[0051] 参考文献:

[1] Llovet J M, Kelley R K, Villanueva A, et al. Hepatocellular carcinoma[J]. Nat Rev Dis Primers. 2021, 7(1): 6.

[2] Sung H, Ferlay J, Siegel R L, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries[J]. CA Cancer J Clin. 2021, 71(3): 209-249.

[3] Torre L A, Bray F, Siegel R L, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin. 2015, 65(2): 87-108.

[4] Forner A, Llovet J M, Bruix J. Hepatocellular carcinoma[J]. Lancet. 2012, 379(9822): 1245-1255.

[5] Llovet J M, Zucman-Rossi J, Pikarsky E, et al. Hepatocellular carcinoma[J]. Nat Rev Dis Primers. 2016, 2: 16018.

[6] Li Z, Zhang J, Liu X, et al. The LINC01138 drives malignancies via activating arginine methyltransferase 5 in hepatocellular carcinoma[J]. Nat Commun. 2018, 9(1): 1572.

[7] Panzitt K, Tschernatsch M M, Guelly C, et al. Characterization of HULC, a novel gene with striking up-regulation in hepatocellular carcinoma, as noncoding RNA[J]. Gastroenterology. 2007, 132(1): 330-342.

[8] Xie H, Ma H, Zhou D. Plasma HULC as a promising novel biomarker for the detection of hepatocellular carcinoma[J]. Biomed Res Int. 2013, 2013: 136106.

[9] Matouk I J, Abbasi I, Hochberg A, et al. Highly upregulated in liver cancer noncoding RNA is overexpressed in hepatic colorectal metastasis [J]. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2009, 21(6): 688-692.

[10] Xie H, Ma H, Zhou D. Plasma HULC as a promising novel biomarker for the detection of hepatocellular carcinoma[J]. *Biomed Res Int.* 2013, 2013: 136106.

[11] Du Y, Kong G, You X, et al. Elevation of highly up-regulated in liver cancer (HULC) by hepatitis B virus X protein promotes hepatoma cell proliferation via down-regulating p18[J]. *J Biol Chem.* 2012, 287(31): 26302-26311.

[12] Czarny M J, Babcock K, Baus R M, et al. Hepatocellular carcinomas of the albumin SV40 T-antigen transgenic rat display fetal-like re-expression of *lgf2* and deregulation of *H19*[J]. *Mol Carcinog.* 2007, 46(9): 747-757.

[13] Wu J, Qin Y, Li B, et al. Hypomethylated and hypermethylated profiles of *H19*DMR are associated with the aberrant imprinting of *IGF2* and *H19* in human hepatocellular carcinoma[J]. *Genomics.* 2008, 91(5): 443-450.

[14] Gofrit O N, Benjamin S, Halachmi S, et al. DNA based therapy with diphtheria toxin-A BC-819: a phase 2b marker lesion trial in patients with intermediate risk nonmuscle invasive bladder cancer[J]. *J Urol.* 2014, 191(6): 1697-1702.

[15] Zhou Y, Zhang X, Klibanski A. *MEG3* noncoding RNA: a tumor suppressor[J]. *J Mol Endocrinol.* 2012, 48(3): R45-R53.

[16] Braconi C, Kogure T, Valeri N, et al. microRNA-29 can regulate expression of the long non-coding RNA gene *MEG3* in hepatocellular cancer[J]. *Oncogene.* 2011, 30(47): 4750-4756.

[17] Hollander M C, Blumenthal G M, Dennis P A. *PTEN* loss in the continuum of common cancers, rare syndromes and mouse models[J]. *Nat Rev Cancer.* 2011, 11(4): 289-301.

[18] Chen C L, Tseng Y W, Wu J C, et al. Suppression of hepatocellular carcinoma by baculovirus-mediated expression of long non-coding RNA *PTENP1* and MicroRNA regulation[J]. *Biomaterials.* 2015, 44: 71-81.

[19] Liu F, Yuan J H, Huang J F, et al. Long noncoding RNA *FTX* inhibits hepatocellular carcinoma proliferation and metastasis by binding *MCM2* and *miR-374a*[J]. *Oncogene.* 2016, 35(41): 5422-5434.

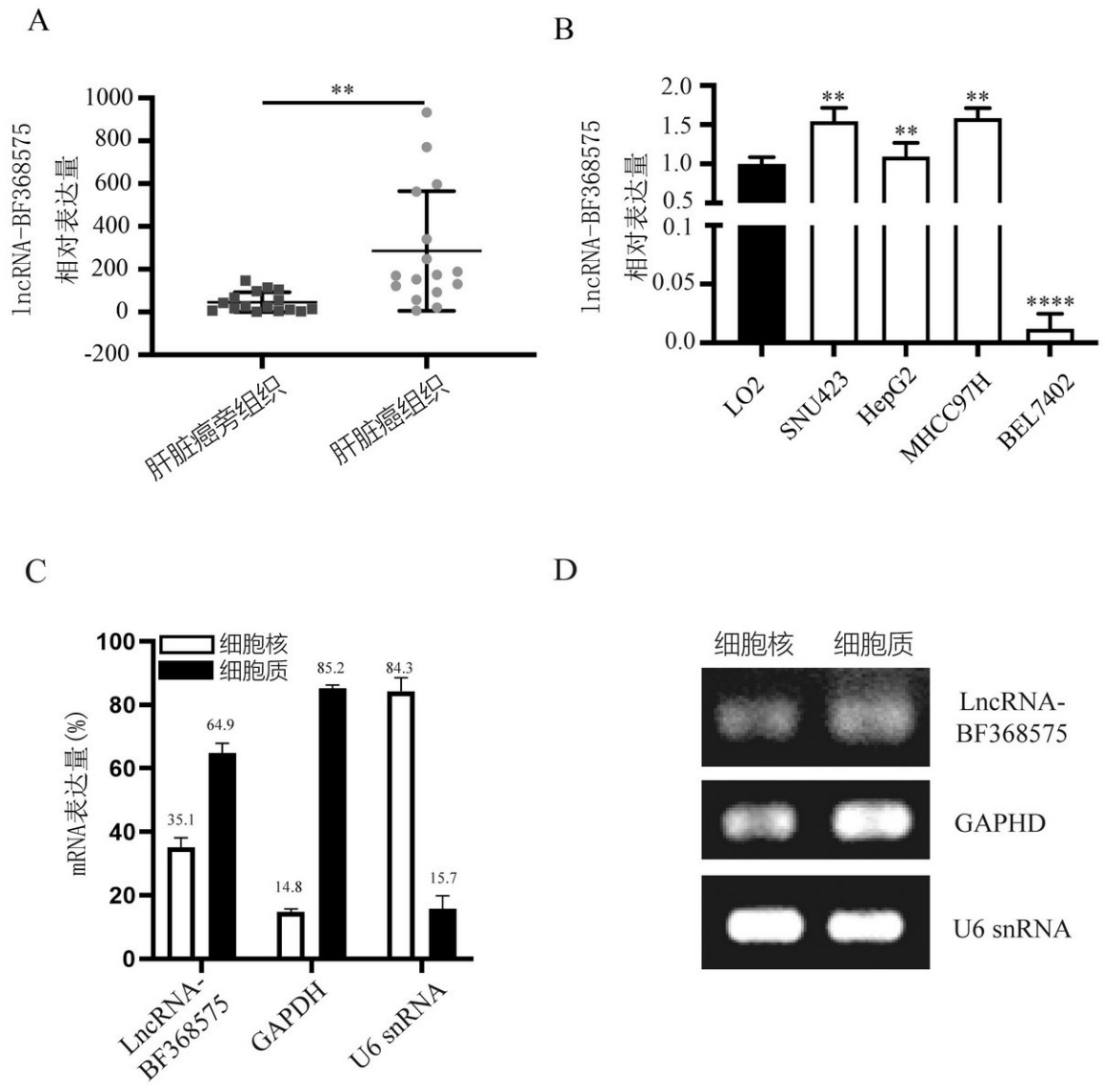


图 1

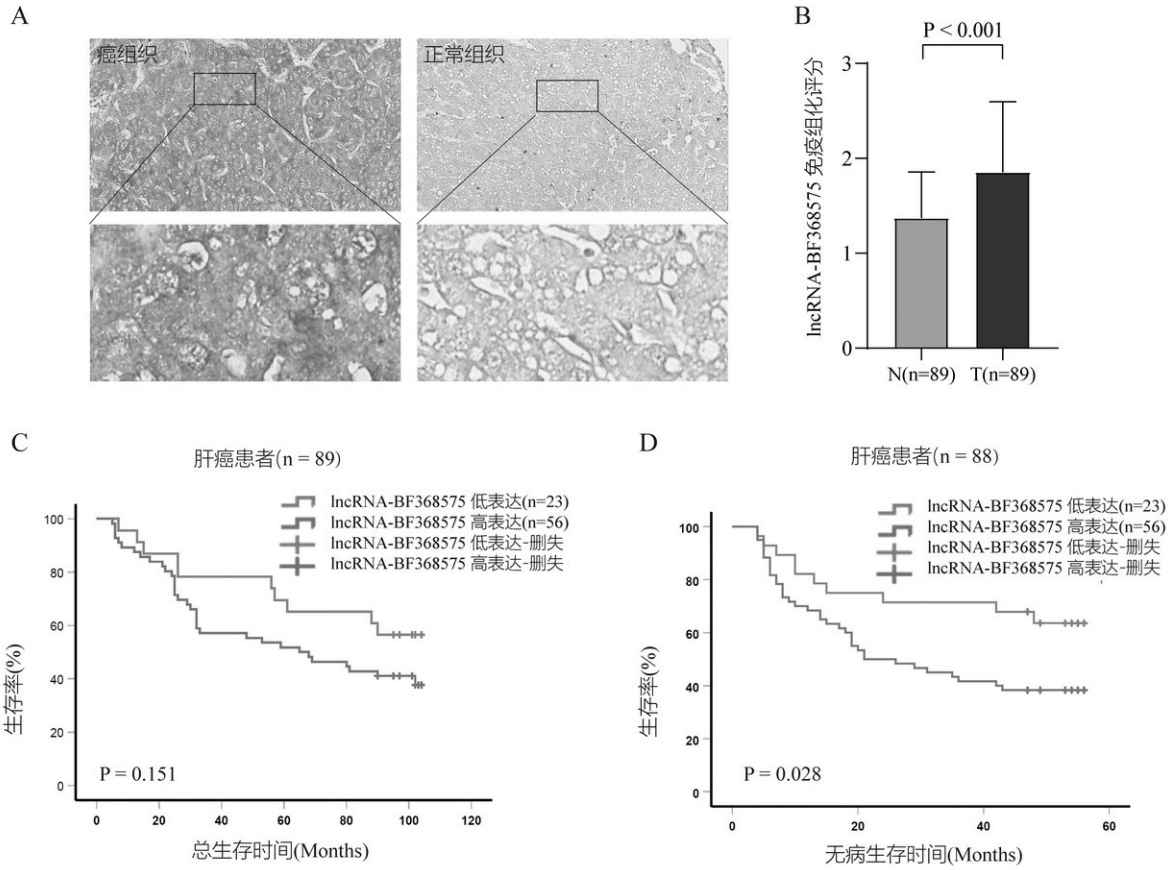


图 2

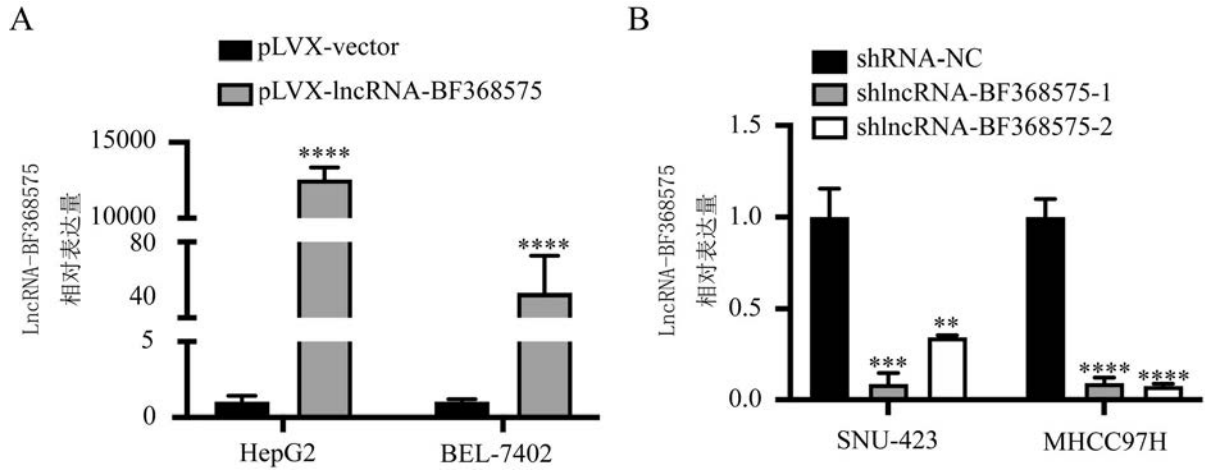


图3

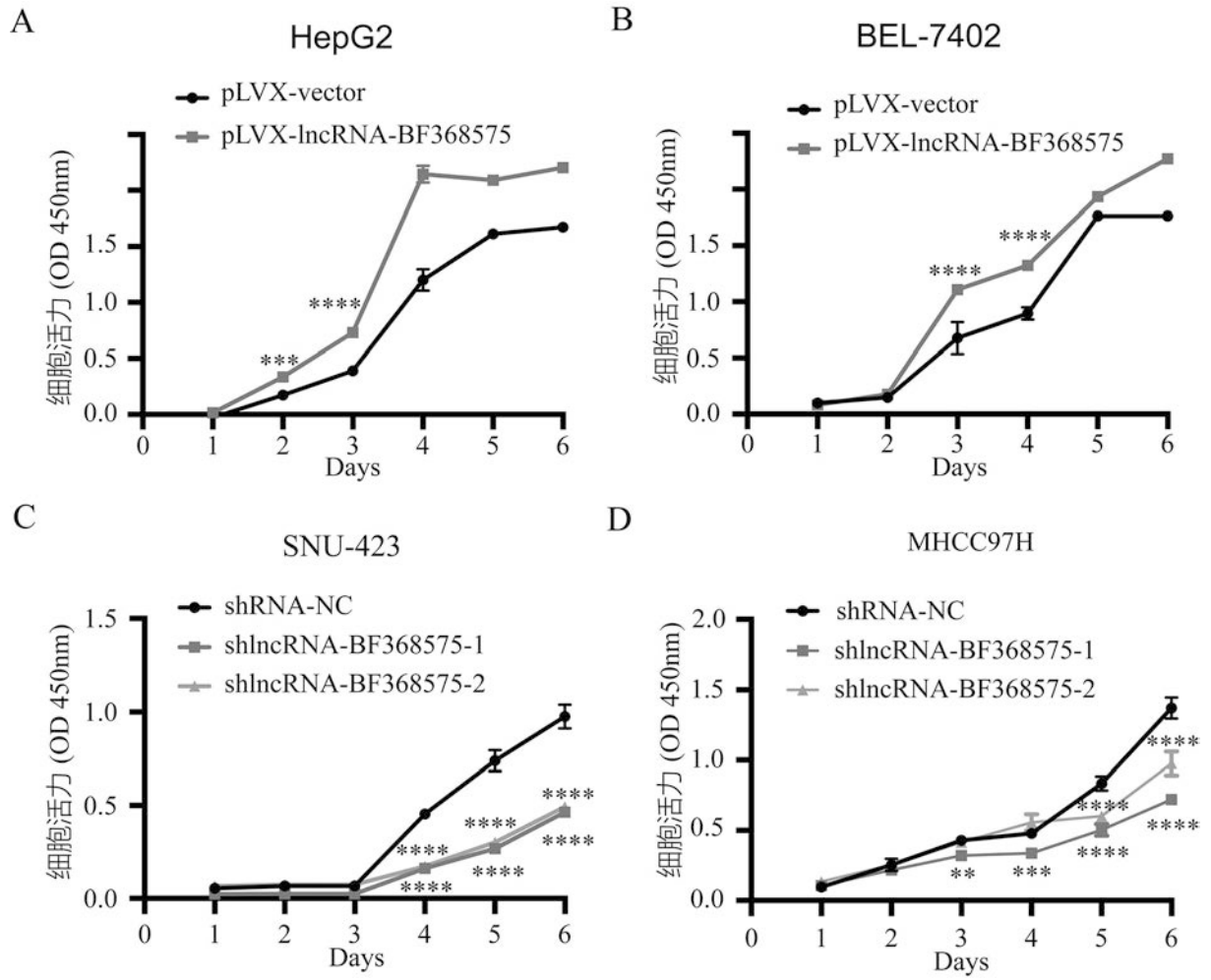
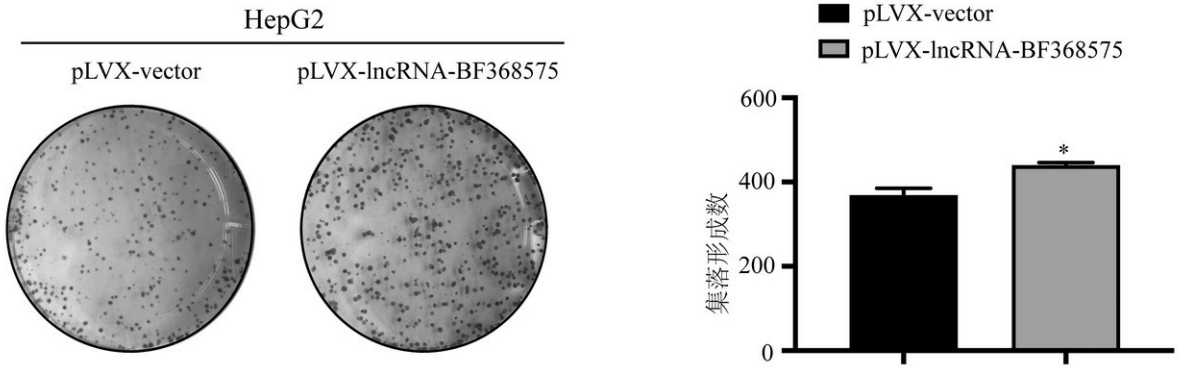


图4

A



B

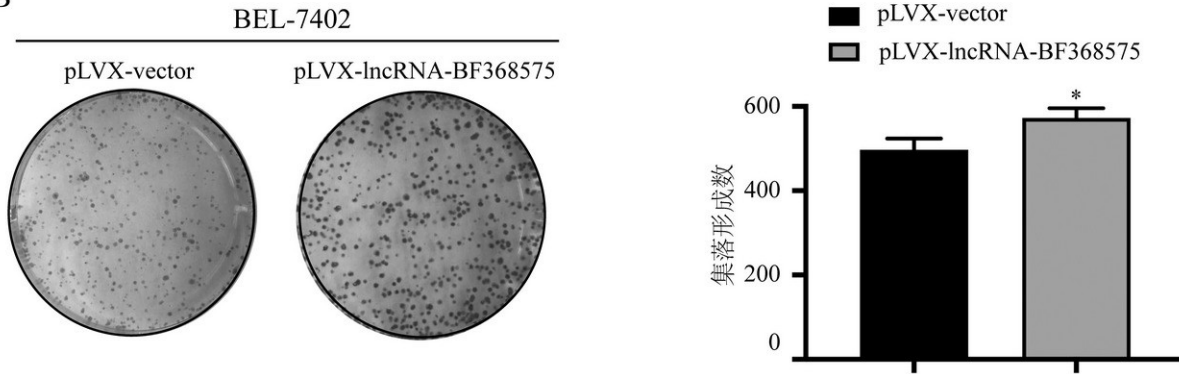
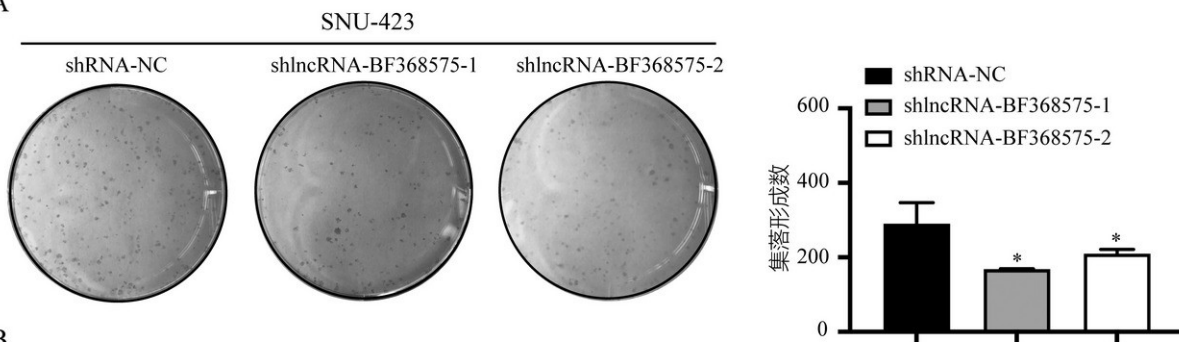


图 5

A



B

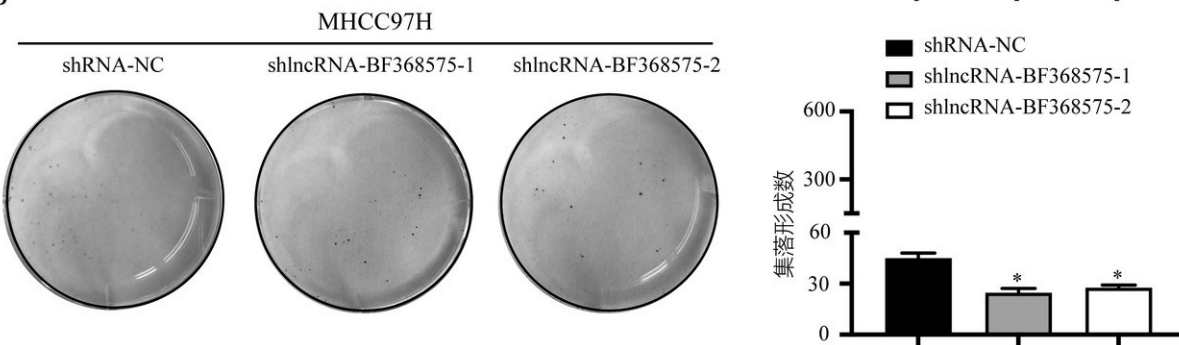


图 6

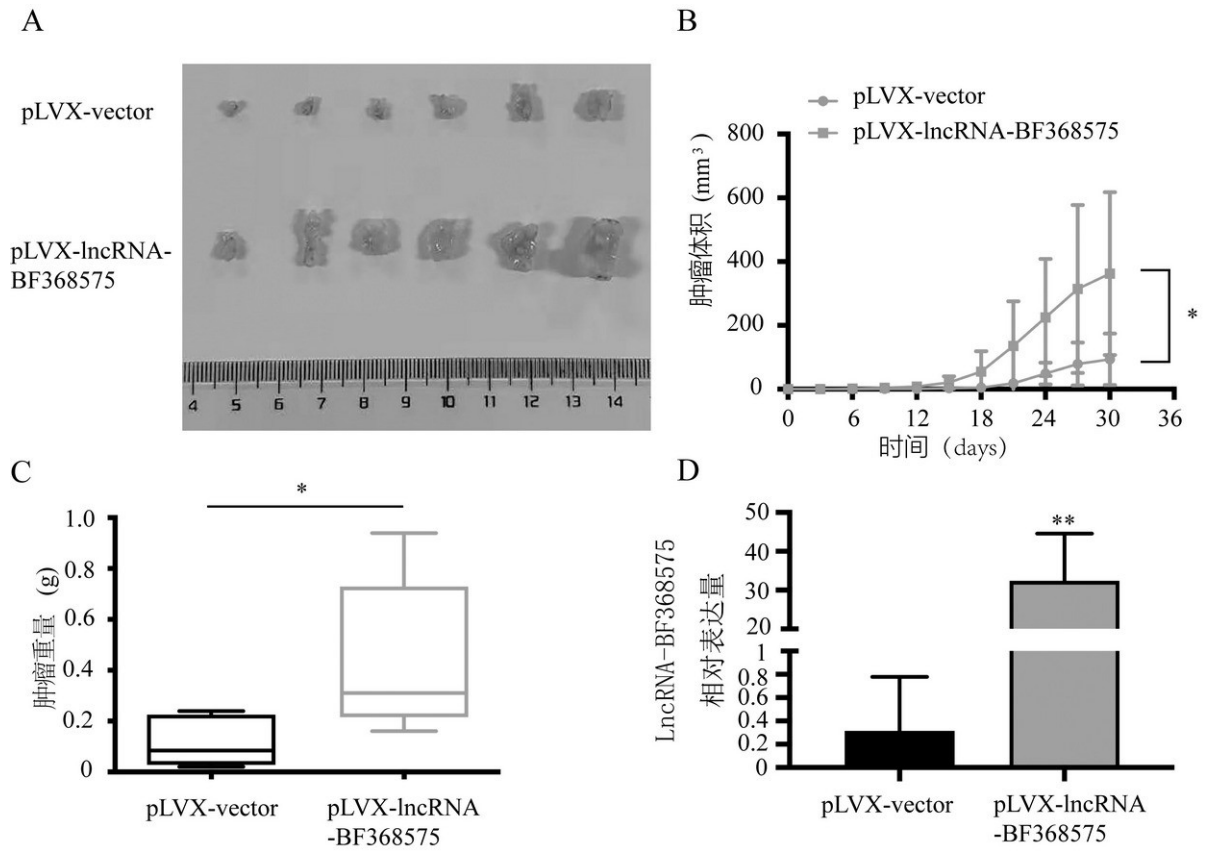
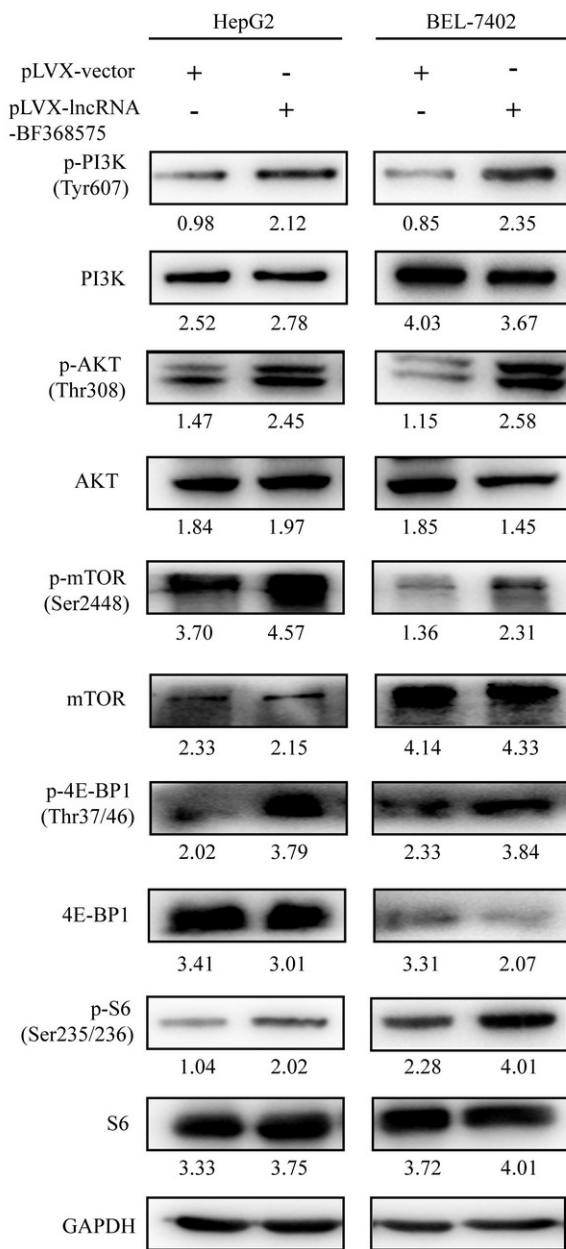


图 7

A



B

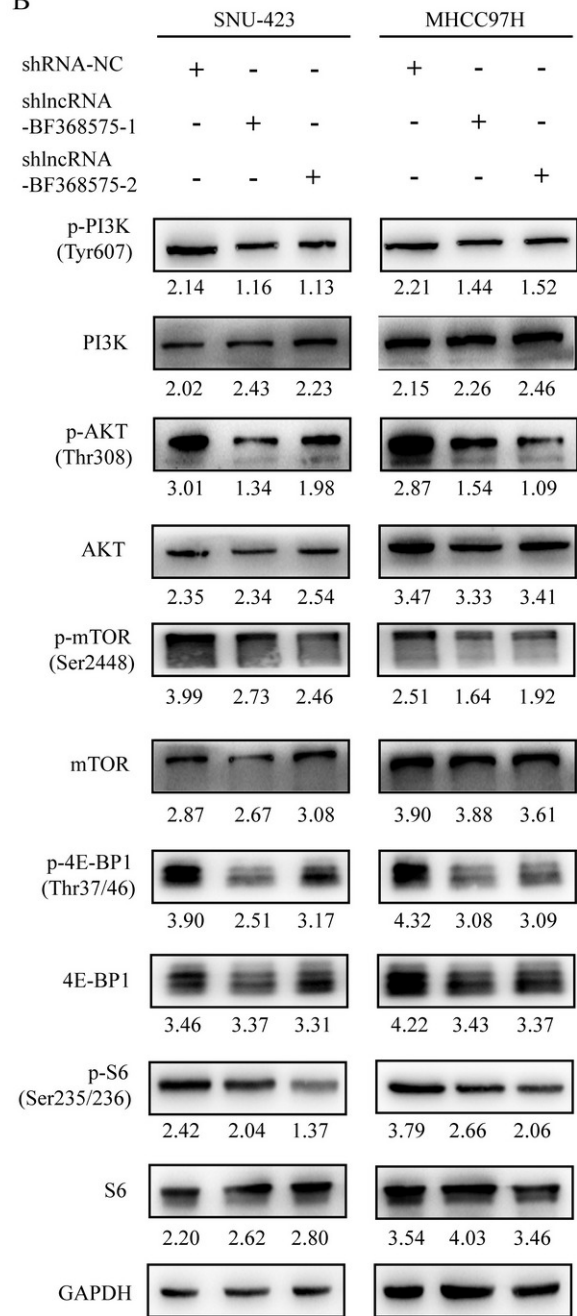


图8

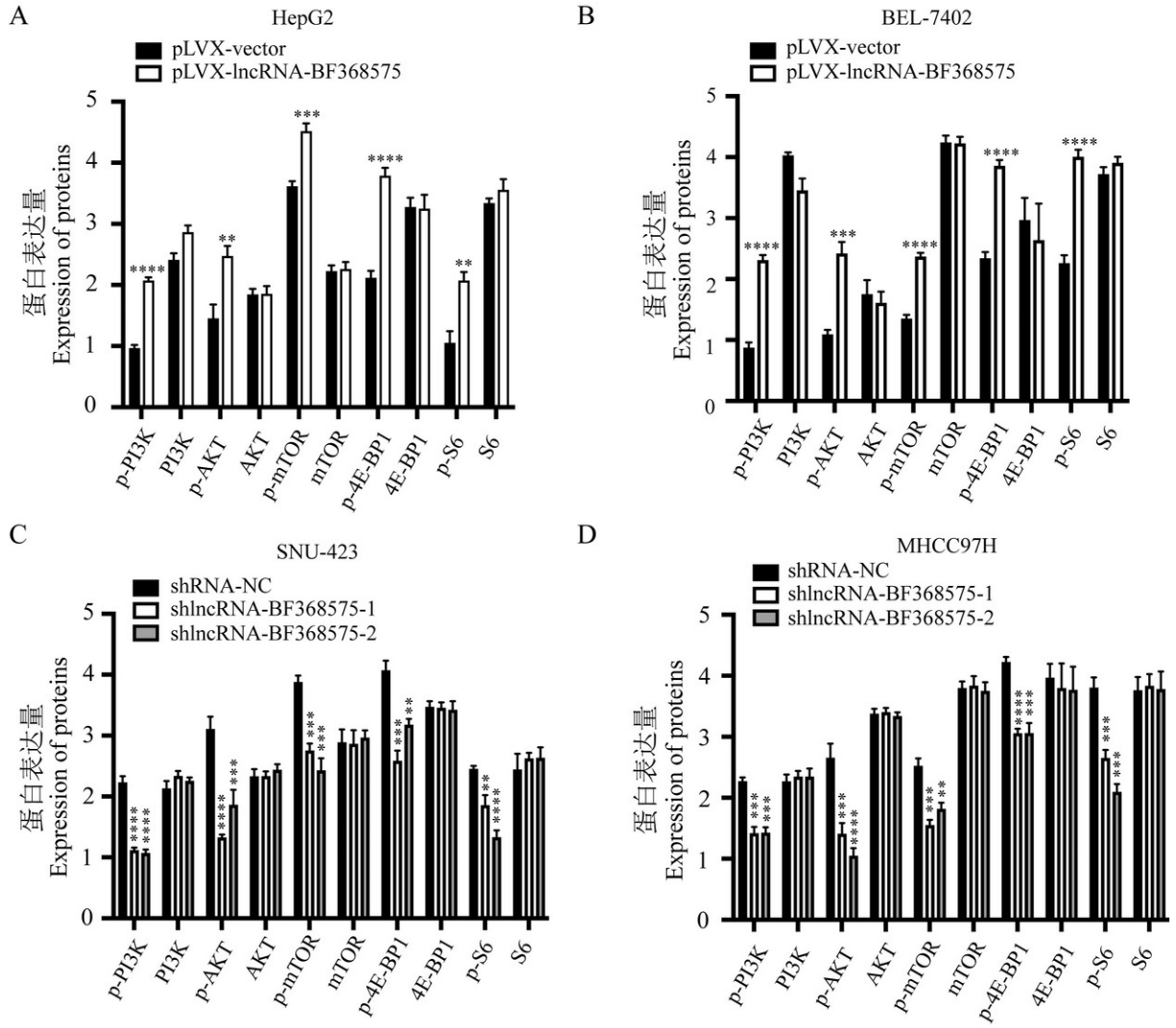


图 9

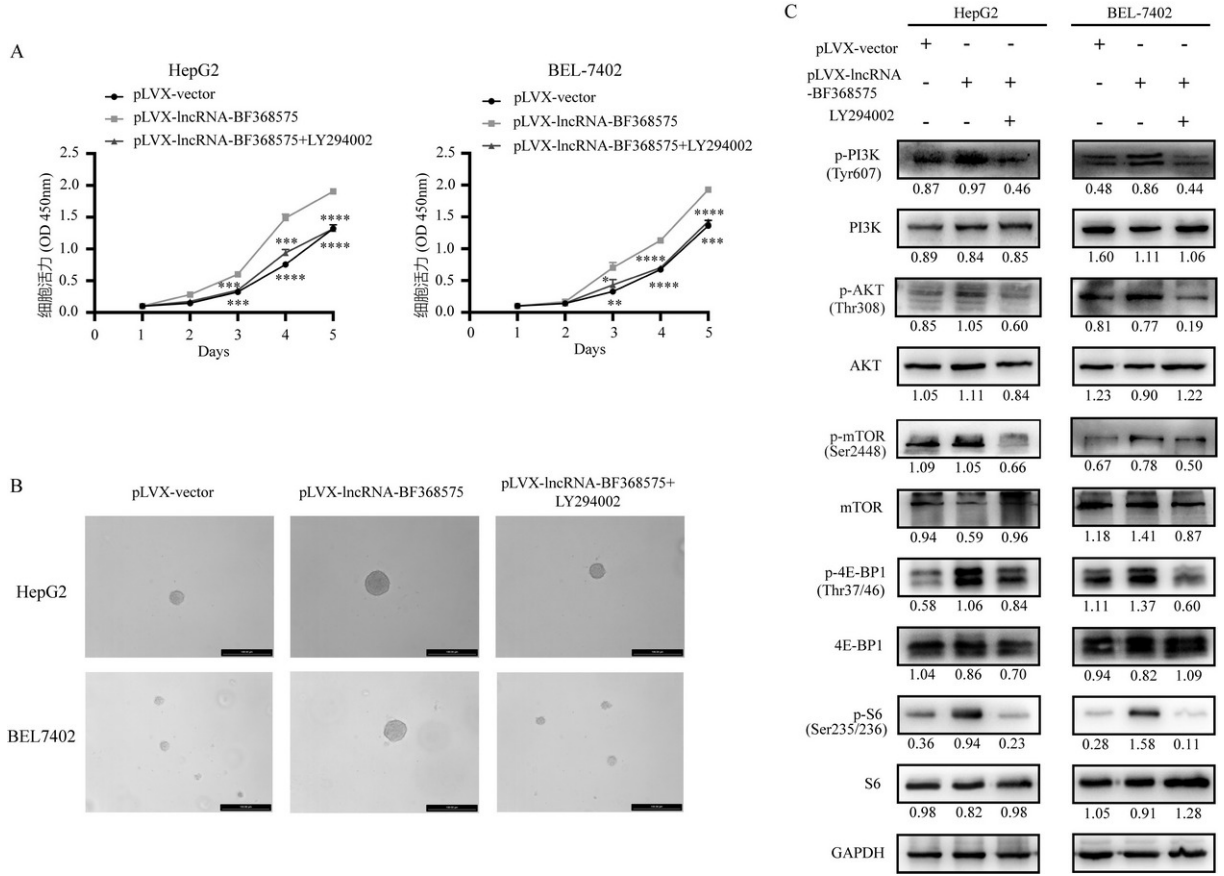


图 10

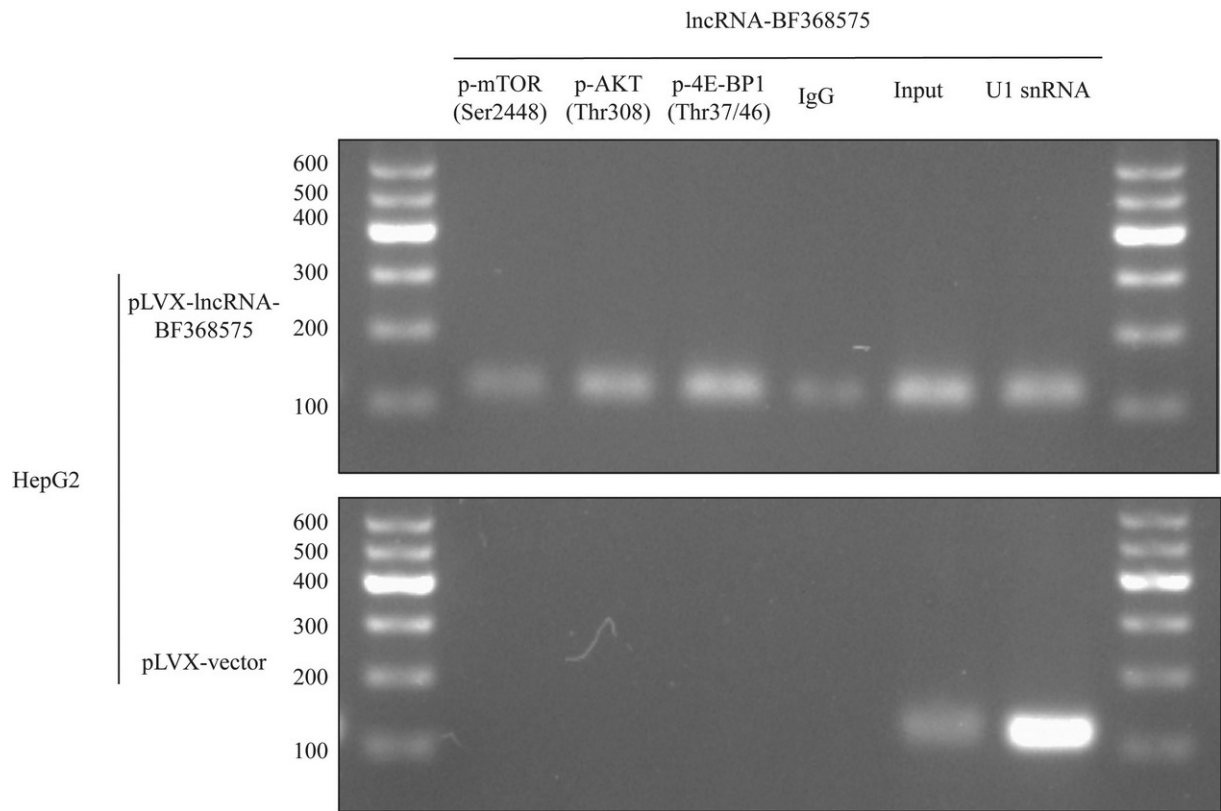


图 11