



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 117757795 A

(43) 申请公布日 2024.03.26

(21) 申请号 202410174429.6

(51) Int.Cl.

(22) 申请日 2017.03.07

C12N 15/113 (2010.01)

(30) 优先权数据

A61K 31/7088 (2006.01)

62/304,844 2016.03.07 US

A61P 35/00 (2006.01)

(62) 分案原申请数据

201780027750.X 2017.03.07

(71) 申请人 美国政府(由卫生和人类服务部的
部长所代表)

地址 美国马里兰

申请人 米雷楚莱股份有限公司

(72) 发明人 A·D·萨利赫 C·万韦斯 Z·陈
H·程

(74) 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司
72002

专利代理人 王健 林晓红

权利要求书2页 说明书87页
序列表(电子公布) 附图39页

(54) 发明名称

微小RNA及其使用方法

(57) 摘要

本文中公开了治疗对象的肿瘤的方法,包括向对象施用一种或多种在肿瘤中表达改变的miRNA核酸或其变体(如模拟物或拟似物)。本文中还公开了包括一种或多种miRNA核酸的组合物。在一些实例中,miRNA核酸是例如修饰的miRNA,及包括一个或多个修饰的核苷酸和/或5'端和/或3'端修饰的miRNA核酸。在具体实例中,修饰的miRNA核酸是miR-30a核酸。本文中还公开了将对象诊断为患有具有一种或多种miRNA核酸表达改变的肿瘤的方法。在一些实施方案中,所述方法包括检测来自对象的样品中一种或多种miRNA的表达并将来自对象的样品中的表达与对照相比较。

1. 一种用于治疗患有癌症的对象的方法中的组合物,所述方法包括向所述对象施用有效量的分离的微小RNA (miRNA) 核酸或表达载体,从而治疗所述对象的癌症,其中所述miRNA 核酸包含miR-30-5p核酸或miR-30-5p模拟或拟似核酸,其中所述模拟或拟似核酸包含一种或多种修饰的核酸、5'端修饰和/或3'端修饰,其中所述模拟或拟似核酸包含2'-0-甲基修饰的核苷酸、2'-甲氧基乙氧基修饰的核苷酸、2'-二甲基氨基乙氧基修饰的核苷酸、2'-氨基丙氧基修饰的核苷酸及2'-氟修饰的核苷酸中的一种或多种,和/或其中所述模拟或拟似核酸包含5'-氨基C3修饰、5'-氨基C6修饰或5'-氨基C12修饰,所述表达载体包含所述miR-30-5p核酸或所述miR-30-5p模拟或拟似核酸,其中所述癌症包含头颈部鳞状细胞癌或子宫颈鳞状细胞癌。

2. 根据权利要求1所述的组合物,其中所述miR-30-5p核酸和/或其模拟物或拟似物使表6至9中所列一种或多种mRNA的表达减少。

3. 根据权利要求1或2所述的组合物,其中所述miR-30-5p核酸是miR-30a-5p核酸、miR-30b-5p核酸、miR-30c-5p核酸、miR-30d-5p核酸、miR-30e-5p核酸或其模拟物或拟似物。

4. 根据权利要求1至3任一项所述的组合物,其中所述miR-30-5p核酸和/或其模拟物或拟似物包含SEQ ID NO:1-5、37-53、73-91的任一种,SEQ ID NO:41和55的双链体,SEQ ID NO:42和56的双链体,SEQ ID NO:42和57的双链体,SEQ ID NO:50和61的双链体,SEQ ID NO:73和61的双链体,SEQ ID NO:74和61的双链体,或选自SEQ ID NO:37-61和73-92的引导链和过客链的双链体。

5. 根据权利要求1至4任一项所述的组合物,其中所述方法进一步包括向所述对象施用有效量的分离的微小RNA (miRNA) 核酸,所述miRNA核酸包含miR-26a-5p核酸,miR-26b-5p核酸,miR-145-5p核酸,miR-338-3p核酸,miR-205-5p核酸,miR-375核酸,miR-29核酸,miR-27核酸,miR-101核酸,其任一的模拟物或拟似物,或其任意两种或更多种的组合。

6. 根据权利要求5所述的组合物,其中所述miR-26a-5p核酸包含SEQ ID NO:12,所述miR-26b-5p核酸包含SEQ ID NO:15,所述miR-145-5p核酸包含SEQ ID NO:18,所述miR-338-3p核酸包含SEQ ID NO:21,所述miR-375核酸包含SEQ ID NO:17,或其模拟物和/或拟似物。

7. 根据权利要求1至6任一项所述的组合物,其中所述方法包括施用有效量的所述miR-30-5p核酸,所述miR-26a-5p核酸,所述miR-145-5p核酸,和所述miR-375核酸,或其模拟物和/或拟似物。

8. 根据权利要求1至7任一项所述的组合物,其中所述一种或多种分离的miRNA核酸以脂质体组合物施用。

9. 根据权利要求8所述的组合物,其中所述脂质体还包含一个或多个使所述脂质体靶向所述癌症的分子。

10. 根据权利要求9所述的组合物,其中所述靶向分子包含抗转铁蛋白受体抗体或其片段。

11. 根据权利要求1至10中任一项所述的组合物,其中所述方法还包括施用一种或多种另外的疗法。

12. 根据权利要求11所述的组合物,其中所述一种或多种另外的疗法包含手术、放射疗法和化学疗法。

13. 根据权利要求1至12中任一项所述的组合物,其中所述有效量为在患有癌症的对象中100 μ g/kg至10mg/kg。

微小RNA及其使用方法

[0001] 本申请是2017年3月7日提交的题为“微小RNA及其使用方法”的中国专利申请201780027750.X的分案申请。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本申请要求2016年3月7日提交的美国临时申请第62/304,844号的权益,所述临时申请以引证的方式纳入本文中。

技术领域

[0004] 本公开内容涉及癌症的治疗和/或诊断,特别是利用微小RNA的方法。

背景技术

[0005] 微小RNA (miR) 表达失调已经成为异常表达的mRNA的潜在重要贡献驱动因素,所述异常表达的mRNA介导癌症的复杂恶性表型 (Stahlhut和Slack,《基因组医学 (Genome Med.)》5:111, 2013)。哪些miR共调控不同途径和基因程序内调整恶性表型的关键mRNA靶还不太清楚。由于单一miR可同时靶向多个mRNA,故基于miR的治疗剂可帮助减轻使用选择性较高的小分子或生物疗法靶向癌症中的单一癌基因或途径所观察到的内在或获得性抗性。

发明内容

[0006] 本文中公开了在癌症中表达增加或减少的miRNA。所公开的miRNA或其模拟物 (mimics) 和/或拟似物 (mimetics) 可以用于治疗和/或诊断患有癌症 (如恶性肿瘤) 的对象的方法中。

[0007] 本文中公开了治疗患有癌症的对象的方法。所述方法包括向对象施用一种或多种在肿瘤中表达改变的miRNA核酸 (或其模拟物或拟似物)。在一些实例中,所述方法包括向患有癌症的对象施用有效量的miR-30核酸、miR-26a-5p核酸、miR-26b-5p核酸、miR-145-5p核酸、miR-338-3p核酸、miR-375核酸、miR-29核酸、miR-27核酸、miR-101核酸、其模拟物或拟似物,与miR-30、miR-26a-5p、miR-26b-5p、miR-145-5p、miR-338-3p、miR-375的任一互补的miR,或其中任何两种或更多种的组合。在具体实例中,对象患有鳞状细胞癌,如头颈部鳞状细胞癌 (HNSCC)。在其它实例中,所述方法包括向对象施用有效量的表1、表3、表4、表5、表18、表20、表21及表23任一个中所列miRNA核酸的至少一种、其模拟物或拟似物、互补寡核苷酸,或其中任何两种或更多种的组合。在一些实例中,miRNA核酸以双链体miRNA核酸和/或被包括在载体中施用。在一些实例中,miRNA核酸和/或其模拟物或拟似物使表6至14中所列一种或多种mRNA的表达减少。

[0008] 本文中还公开了包括一种或多种miRNA核酸,如表1、表3、表4、表5、表18、表20、表21及表23任一个中所列miRNA的至少一种的组合物。在一些实例中,miRNA核酸是修饰的miRNA,例如包括一个或多个序列修饰、修饰的核苷酸,和/或5'端和/或3'端修饰的miRNA核酸。在具体实例中,修饰的miRNA核酸是miR-30a核酸,包括但不限于在本文中以SEQ ID NO: 37-61提供的修饰的miRNA。在其它实例中,修饰的miRNA核酸包括本文中以SEQ ID NO:62-

67提供的miRNA核酸。在又其它实例中,修饰的miRNA核酸包括本文中以SEQ ID NO:73-158提供的miRNA核酸。在一些实例中,miRNA核酸包括双链体miRNA核酸和/或被包括在载体中。

[0009] 本文中还公开了将对象诊断为患有具有一种或多种miRNA核酸表达改变的肿瘤的方法。在一些实施方案中,所述方法包括检测来自对象的样品中表1、3、4、5、18及20任一个中所列一种或多种miRNA的表达,并将来自对象的样品中的表达与对照相比较。在一些实例中,miRNA表达量相较于对照有改变,指示对象患有肿瘤。在一些实例中,所述方法包括检测miR-30-核酸、miR-26a-5p核酸、miR-26b-5p核酸、miR-145-5p核酸、miR-338-3p核酸或miR-375核酸中的一种或多种的表达,并且如果所述miRNA中的一种或多种的表达相较于对照减少,则确定对象患有肿瘤(包括但不限于,鳞状细胞癌肿瘤)。在一些实施方案中,所述方法还包括向对象施用一种或多种miRNA核酸,如miR-30核酸、miR-26a-5p核酸、miR-26b-5p核酸、miR-145-5p核酸、miR-338-3p核酸、miR-375核酸或其模拟物或拟似物中的一种或多种。

[0010] 本公开内容的前述的和其它特征将因以下详细描述而变得更加明显,以下详细描述参照附图进行。

附图说明

[0011] 图1是显示用于筛选和验证HNSCC中miR-30的表达和功能的示例性方法的图式。

[0012] 图2A和2B是显示当与粘膜对照相比较时TCGA(图2A)和UMSC(图2B)HNSCC肿瘤队列中由SAMseq鉴定为差异表达的33个miRNA的一对图。对于各图,左侧:肿瘤与粘膜之间中值表达的倍数变化,以线性标度呈现。右侧:以 \log_{10} RPM表示的粘膜和肿瘤的中值表达分布的箱须图。中值是由中间的粗黑线表示,条柱表示第25和第75个百分点,并且离群值是以个别点展示。FDR ≤ 0.05 。

[0013] 图2C和2D是显示TCGA(图2C)和UMSC(图2D)HNSCC队列中表达减少的九个miRNA的一对图。肿瘤与粘膜对照之间中值表达的倍数变化展示于各图的左侧。粘膜和肿瘤的中值表达分布的箱须图以 \log_{10} RPM(每百万个碱基对的reads)呈现于各图的右侧。中值是由中间的粗黑线表示,条柱表示第25和第75个百分点,离群值是以个别点展示。

[0014] 图3A-3D是显示表达减少的miRNA对HNSCC增殖的影响的一系列图。在HNSCC细胞系UM-SCC-1中进行的体外全基因组RNAi筛选中,微小RNA展示抗增殖活性。散点图展示使用TCGA(图3A)和UMSC(图3B)表达数据,差异表达的微小RNA(在y轴中 \log_2 肿瘤对比粘膜)随增殖分数统计分布(绝对中位差(MAD))的变化。图中左下方部分中的框表示在RNAi筛选中因抗增殖活性(x轴)而受到抑制的微小RNA表达比率(y轴)。miR-30-5p家族成员以红色标记。图3C是显示在UM-SCC-1中转染之后96小时,miRNA模拟物的抗增殖性的图,以miRNA模拟物对照的百分比呈现。图3D显示在来自TCGA队列的粘膜和肿瘤试样中hsa-miR-30-5p家族成员的表达。条柱表示SEM并且*表示($q < 0.2$ samseq工具)。miR-30a-5p和miR-30e-5p是粘膜试样中表达量最高的家族成员并且在肿瘤试样中展示最大程度的减少。

[0015] 图4是显示来自HNSCC TCGA数据集并且针对含有预测的miR-30结合位点的mRNA过滤的miR-30a-5p的表达(\log_{10} RPM,x轴)对比mRNA表达(\log_{10} RSEM(期望最大化RNA-Seq),y轴)的一系列图。呈现了指定mRNA的线性回归散点图和p值。

[0016] 图5是显示用miR阴性对照(neg Con)、miR-30a或抗miR-30a对照寡核苷酸转染72小时的UM-SCC-46细胞中所选miR-30靶基因的qRT-PCR测量的一对图。所有数据都表示三次

独立实验的平均值并且误差条表示SEM。*p值<0.05,由student's T-检验测定。

[0017] 图6A-6E是显示HNSCC细胞系中miR-30a预测靶的验证的一系列图。图6A显示由Mfold(可见于万维网unafold.rna.albany.edu/?q=mfold)预测的miR-30a(SEQ ID NO:1)与靶mRNA EGFR(SEQ ID NO:68)、IGF1R(SEQ ID NO:69)、MET(SEQ ID NO:70)及IRS-1(SEQ ID NO:71)的3'UTR的碱基配对。呈红色的碱基描绘种子序列的结合。mRNA中加下划线的碱基在突变型3'UTR对照报告基因中缺失。图6B显示在用miR30a或抗30a和含有野生型3'UTR(左)或突变型3'UTR(右)克隆于海肾(Renilla)荧光素酶基因后的载体共转染UM-SCC-46细胞之后48小时测量的相对荧光素酶活性。还展示了含有5×miR-30结合位点的阳性对照载体(Pos Con)和阴性GAPDH 3'UTR对照。所有数据都表示三次独立实验的平均值并且误差条表示SEM。(*)表示p值<0.05,由student's t检验测定。图6C和6D是蛋白质印迹的图像,显示了在用miR-30a、抗30a或阴性对照miR(NC)寡核苷酸转染之后72小时,使用来自人类口腔角化细胞(HOK)或UM-SCC-46细胞的全细胞裂解产物得到的miR-30靶的表达(图6C)和下游信号传导分子的磷酸化(图6D)。图6E是显示由三个重复实验分析的miR-30-5p靶的蛋白质含量的图。

[0018] 图7A-7I是显示miR-30a模拟物对HNSCC细胞增殖、集落形成、顺铂敏感性及细胞活力的影响的一系列图。图7A是显示在用对照(NC)或miR-30a模拟物转染原代人类口腔角化细胞(HOK)和十个HNSCC细胞系之后第5天,在6个重复实验中由XTT分析测量的增殖的图。图7B是显示当处于对数生长期时,由qRT-PCR测量的HOK细胞和十个HNSCC细胞系中miR-30a的基础表达水平的图。相对miR-30a表达水平针对细胞系的平均表达归一化。

[0019] 图7C是显示在用miR-30a或抗miR30a寡核苷酸转染48小时之后UM-SCC-46细胞的集落形成分析的图。对三个孔中的集落计数并在三次独立实验中重复进行。图7D是显示用miR-30a-5p模拟物转染48小时并用2μM顺铂处理3小时且接着洗涤的UM-SCC-46细胞的图。在顺铂处理之后72小时,通过XTT分析测量细胞密度。至少三个实验的平均值±SEM,*表示p<0.05,由student's t检验测定。

[0020] 图7E是在用miR30a和抗miR-30a寡核苷酸转染48小时之后UM-SCC-46细胞的集落形成的图。对三个孔中的集落计数并在三个独立实验中重复进行。图7F是显示用miR-30a模拟物转染48小时并用2μM顺铂处理三小时且接着洗涤的UM-SCC-46细胞的细胞密度的图。在顺铂处理之后72小时,通过XTT分析测量细胞密度。所有数据都表示至少三个实验的平均值并且误差条表示SEM。图7G是显示用对照(Neg con)、miR-30a或抗miR-30a双链体转染的UM-SCC-46细胞的细胞活力的图。*p值<0.05,由student's t检验测定。

[0021] 图7H是显示在用对照、miR-30a-5p或抗30a转染下集落形成分析的代表性图像的数字图像。图7I是显示在用对照、miR-30a-5p或其抗miR转染,或在IC50剂量与顺铂处理联用之后第0天、第1天、第3天及第5天,通过XTT分析测定的6个重复实验中UM-SCC-46细胞的增殖的一对图。

[0022] 图8A-8D是显示miR-30a对HNSCC细胞活动性和侵袭力的影响的一系列图。在产生伤口之前,用miR-30a或抗miR寡核苷酸转染UM-SCC-1(左)和UM-SCC-6细胞(右)48小时。跟踪细胞迁移,直至对照组中伤口闭合。呈现了伤口愈合的代表性光学显微镜检图像(100×)(图8A)。UM-SCC-1,左图,时间0;右图,时间20小时。UM-SCC-6,左图,时间0;右图,时间60小时。定量随时间推移的细胞迁移情况(图8B)。图8C是UM-SCC-1的侵入膜(100×)的代表性光

学显微镜检图像。图8D是UM-SCC-1 (左) 和UM-SCC-46 (右) 的侵袭细胞的相对定量的图。所有数据都表示至少三个实验的平均值并且误差条表示SEM。(*) 表示p值<0.05,由student' s t检验测定。

[0023] 图9A-9E是显示miR-30a-5p模拟物对体内HNSCC异种移植肿瘤的影响的一系列图。图9A是来自肌肉内注射UM-SCC-46细胞的无胸腺nu/nu雌性小鼠的肿瘤和器官的一系列图像。使肿瘤生长至约300mm³,接着对小鼠静脉内(IV)注射100 μ g (约5mg/kg)复合的FITC标记的对照寡核苷酸或对照媒剂。注射之后24小时,处死小鼠,以收集肿瘤和器官。图9B是连续3周在星期一、星期三和星期五(MWF)静脉内注射九剂60 μ g (约3mg/kg)复合的封装于纳米粒子中的miR-30a模拟物(miR-30a-scL)的带有约150mm³的UM-SCC-46异种移植肿瘤的小鼠中肿瘤生长的图。图中展示每组的平均肿瘤体积并且误差条表示SEM。图9C中显示了对照和miR-30a-scL处理的小鼠在第24天处理结束时肿瘤尺寸的代表性图像(顶图)及治疗期间小鼠的体重(底图)。图9D显示用对照或miR-30a-scL处理的小鼠之间的卡普兰-迈耶存活分析(Kaplan-Meier survival analysis)。图9E显示带有生长至约150mm³的HPV+UM-SCC-47异种移植肿瘤并按MWF时程静脉内注射四剂60 μ g miR-30a-scL或对照的小鼠中平均肿瘤体积。最后一次处理之后24小时,处死小鼠并收集肿瘤组织用于分子分析。误差条表示SEM,并且(*) 表示p值<0.05,由student' s t检验测定。

[0024] 图10A是显示植入UM-SCC-46异种移植肿瘤并按MWF时程静脉内注射四剂60 μ g对照miR-ScL或miR-30a-ScL的小鼠中miR-30a-5p靶mRNA的定量实时PCR的图。数据表示3只动物的平均值,误差条表示SEM,并且(*) 表示p值<0.05,由student' s t检验测定。

[0025] 图10B是显示在对照miR-scL或miR-30a-scL处理之后从异种移植肿瘤收集的冷冻切片中EGFR和MET的免疫荧光染色的一系列数字图像。比例尺,20 μ m。图10C是显示UM-SCC-46 (左) 和UM-SCC-47 (右) 细胞中的六个独立40 \times 视场定量的平均荧光强度的一对图。误差条表示 \pm SEM,并且(*) 表示p值<0.05,由student' s t检验测定。

[0026] 图10D是通过Ingenuity Pathway Analysis将miR30靶向分子与报导的涉及增殖和迁移的相互作用和功能相关联的途径图。以红色显示的分子是miR-30a-5p靶基因,其与miR-30a表达成反比关系。以蓝色显示的分子是展现与红色分子相关联的结合或信号传导相互作用的分子。

[0027] 图10E是通过免疫组织化学法针对Ki-67染色的UM-SCC-46异种移植肿瘤的代表性数字图像和定量。值表示由六个独立的20 \times 视场定量的平均强度并且误差条表示 \pm SEM, (*) 表示p<0.05,由student' s t检验测定。图10F显示通过免疫荧光法针对miR-30靶基因EGFR或MET染色的UM-SCC-47异种移植肿瘤的代表性图像。

[0028] 图11A-11F是显示miR-30家族成员的拷贝数变异(CNV)、甲基化和表达与HNSCC临床特征的关联的一系列图。图11A和11B是展示在与MIR30A/C2(图11A)和MIR30E/C1(图11B)基因重叠的染色体位置上纯合性和杂合性缺失的频率的交互式基因组浏览器(Interactive Genome Viewer, IGV; Broad Institute)图。蓝色表示拷贝数减少且红色表示拷贝数增加。样品是基于CNV值排序。图11C和11D显示来自分列展示并且通过miR30A启动子的DNA甲基化(图11C)或CNV或miR30E(图11D)分选的TCGA(n=260)的HNSCC样品。相应地,对临床特征(有色条柱,顶部四行)和基因特征(热图,底部三行)进行分类。观察到在miR-30e-5p的CNV与表达之间(图11E)以及miR-30a-5p的甲基化与低表达之间(图11F)存在显著

相关性。miR-30a-5p的低表达与口腔中发生的肿瘤显著相关,并且miR-30e-5p的低表达与喉中发生的HPV阴性肿瘤显著相关。

[0029] 图11G和11H是显示有关通过中值表达分成高表达和低表达的miR-30a-5p(图11G)和miR-30e-5p(图11H)的存活分析的一对图。卡普兰-迈耶曲线和对数秩检验p值比较疾病特异性存活。

[0030] 图12A和12B是一系列卡普兰-迈耶存活曲线,显示miR-30e的较低表达与较低的总体存活相关(图12A,左图),MIR30E基因座的CNV损失与较低的总体存活相关(图12A,中图)以及有关在口咽中发生的低水平或高水平表达miR-30e-5p的肿瘤的存活分析揭示存活差异,由此miR-30e-5p的高表达预示较佳预后(图12A,右图)并且miR-26a-5p(图12B,顶图)及miR-26b-5p(图12B,底图)的较低表达与较低总体存活相关。

[0031] 图13是显示通过XTT分析测量的用miR-30a转染的非HNSCC癌细胞系的细胞活力的图。数据表示6个重复实验的平均值并且误差条表示SEM.*,p<0.05

[0032] 图14A-14B是显示修饰的miR-30a寡核苷酸对UMSCC-46异种移植模型的影响的一系列图。图14A显示对照小鼠、用放射疗法(RT)处理的小鼠、用miR-30a-scl处理的小鼠及用miR-30a-006-scl和放射疗法(M006-scl+RT)处理的小鼠的肿瘤生长。图14B是对照、放射处理(RT)、M-miR-006(M-006)、M-006加放射、及顺铂处理的小鼠的卡普兰-迈耶存活曲线。

[0033] 图15是显示miR组合处理对指定细胞系的细胞密度的影响的图。用miR-30a-014(G11+P12表示)、miR-145、miR-26a及miR-375的组合转染细胞。数据表示6个重复实验的平均值并且误差条表示SD。

[0034] 图16A-16D是显示个别miRNA或miRNA对针对UM-SCC108细胞(图16A)、UM-SCC-22B细胞(图16B)、UM-SCC-47细胞(图16C)及UM-SCC-1G细胞(图16D)的细胞密度的影响的图。NT,未转染;NC,阴性对照;145,miR-145-5p;375,miR-375;m16,M-miR30a-016;26a,miR-26a-5p;30a,miR-30a-5p。

[0035] 图17A和17B是显示用miR-27-5p或miR-26b-1-5p双链体转染的UM-SCC-1(图17A)或UM-SCC-46(图17B)细胞的细胞活力的图。数据表示六个重复实验的平均值。误差条表示SEM.*p<0.05,由student's T检验测定。

[0036] 图18是显示在48小时期间,血清中miR-30a和修饰的模拟物(M-006、M-018及M-019)的稳定性的一系列数字图像。

[0037] 图19是显示miRNA对针对UM-SCC-46细胞的细胞密度的影响的图。NT,未转染;NC,阴性对照;miRNA对是如表19和22中所示。误差条表示SD。

[0038] 序列表

[0039] 本文或所附序列表中列出的任何核酸和氨基酸序列都是使用37C.F.R. §1.822中定义的核苷酸碱基和氨基酸的标准字母缩写显示。在至少一些情形中,仅显示每一核酸序列的一条链,但应理解互补链包括在所提到的任何所展示的链内。

[0040] SEQ ID NO:1-36是示例性成熟miRNA的核苷酸序列。

[0041] SEQ ID NO:37-53是修饰的miR-30a引导链核苷酸序列。

[0042] SEQ ID NO:54-61是修饰的miR-30a过客链核苷酸序列。

[0043] SEQ ID NO:62和63分别是修饰的miR-375引导链和过客链。

[0044] SEQ ID NO:64和65分别是修饰的miR-26a-5p引导链和过客链。

- [0045] SEQ ID NO:66和67分别是修饰的miR-145-5p引导链和过客链。
- [0046] SEQ ID NO:68是表皮生长因子受体(EGFR)3'非翻译区(UTR)核苷酸序列。
- [0047] SEQ ID NO:69是胰岛素生长因子-1受体(IGFR1)3'UTR核苷酸序列。
- [0048] SEQ ID NO:70是MET 3'UTR核苷酸序列。
- [0049] SEQ ID NO:71是胰岛素受体底物1(IRS-1)3'UTR核苷酸序列。
- [0050] SEQ ID NO:72是示例性miR-30a过客链核苷酸序列。
- [0051] SEQ ID NO:73-92是另外的示例性修饰的miR-30a引导链和过客链。
- [0052] SEQ ID NO:93-104是另外的示例性修饰的miR-375引导链和过客链。
- [0053] SEQ ID NO:105-115是另外的示例性修饰的miR-26引导链和过客链。
- [0054] SEQ ID NO:116-125是另外的示例性修饰的miR-145-5p引导链和过客链。
- [0055] SEQ ID NO:126-135是另外的示例性修饰的miR-101引导链和过客链。
- [0056] SEQ ID NO:136-146是另外的示例性修饰的miR-29引导链和过客链。
- [0057] SEQ ID NO:147-158是另外的示例性修饰的miR-27引导链和过客链。

具体实施方式

[0058] 全基因组表达谱研究展示了在原发性肿瘤和细胞系中mRNA和miR表达的广泛失调和异质性。这强调了从数百个候选物中鉴定出对于恶性表型和治疗抗性至关重要的miR和mRNA的复杂性和挑战。然而,在近期公开的由癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA) (Cancer Genome Atlas Network,《自然(Nature)》517:576-582,2015;Hoadley等人,《细胞(Cell)》158:929-944,2014)进行的头颈部和泛癌症分析之前,还未能从此类大型数据集得到来自多个平台的全面数据以比较和鉴定变化最显著的miR、成反比表达的mRNA及驱动其表达的基因组改变的贡献。

[0059] 替代地,采用miR文库的功能筛选已鉴定出引起HNSCC恶性表型的不同特征的miR (Lindenbergh-van der Plas等人,《临床癌症研究(Clin.Cancer Res.)》19:5647-5657,2013)。不过,优先排序很难实现并且通过肿瘤表达谱或体外筛选鉴定的许多候选miR通常不能转变为体内治疗活性。迄今为止,通过整合的基因组和功能分析鉴定出的由基因和表观遗传改变驱动的肿瘤抑制性miR很少。经显示,调控不同mRNA程序并且涉及HNSCC的恶性表型、临床特征或治疗抗性的miR甚至更少。

[0060] 本文中公开了可以用于治疗或抑制癌症(例如一种或多种miRNA的表达改变的癌症)和/或诊断对象的癌症的miR。为了鉴定在癌症中可能具有调控、生物和/或治疗作用的miR,本发明人采用了组合结构和功能基因组分析的整合方法。本发明人将有关TCGA以及HNSCC肿瘤的验证数据集中miR和呈逆相关的mRNA的表达分析与针对抗增殖性miR的体外功能筛选相比较。将TCGA中来自279份HNSCC肿瘤试样的数据与781个miR的文库的功能筛选整合在一起,揭露出九个低表达的抑制性miR,其中有四个是miR-30-5p家族的成员。确切地说,本发明人确定,miR-30a表达减少与涉及HNSCC生物学和临床特征的一系列生长因子受体、信号传导和转移性mRNA的过表达呈反比关系。如本文所公开,miR-30-5p在肿瘤抑制中的作用在集中于生长因子受体酪氨酸激酶、信号传导和转移的若干经典致癌基因的调控中得到证实。最后,本文中公开了当递送于HNSCC异种移植肿瘤模型中时可以延迟肿瘤生长的合成miR-30a-5p模拟物配制物。

- [0061] I. 缩写
- [0062] CNV 拷贝数变异
- [0063] HNSCC 头颈部鳞状细胞癌
- [0064] miRNA或miR微小RNA
- [0065] RPM 每百万个碱基对的reads
- [0066] RSEM 期望最大化RNA-Seq
- [0067] SCC 鳞状细胞癌
- [0068] TCGA 癌症基因组图谱
- [0069] XTT 3'-[1-(苯基氨基羰基)-3,4-四唑]-双(4-甲氧基-6-硝基)苯磺酸钠水合物
- [0070] II术语
- [0071] 除非另外指出,否则技术性术语是根据常规用法使用。分子生物学中常见术语的定义可以见于Lewin,《基因VII(Genes VII)》,Oxford University Press出版,2000 (ISBN 019879276X) ;Kendrew等人(编),《分子生物学百科全书(The Encyclopedia of Molecular Biology)》,Blackwell Publishers出版,1994 (ISBN 0632021829) ;和Robert A.Meyers(编),《分子生物学与生物技术:综合案头参考书(Molecular Biology and Biotechnology:a Comprehensive Desk Reference)》,Wiley,John&Sons,Inc.出版,1995 (ISBN0471186341) ;以及其它类似参考文献。
- [0072] 除非上下文另外明确规定,否则如本文所使用,单数形式的术语“一/一个”和“该”包括复数形式的参考物。类似地,除非上下文另外明确规定,否则词语“或”一字打算包括“和”。另外,如本文所使用,术语“包含”意思是“包括”。因此,“包含A或B”意思是包括A、B、或A和B。还应理解,关于核酸或多肽提供的所有碱基尺寸或氨基酸尺寸以及所有分子量或分子质量值都是近似值,并且提供用于说明目的。尽管可以在本发明的实践或测试中使用与本文中所述的那些方法和材料类似或等价的方法和材料,但以下描述适合的方法和材料。本文中所提到的所有出版物、专利申请、专利以及其它参考文献都以引证的方式整体纳入。在有矛盾的情况下,将以本说明书(包括术语的解释)为准。材料、方法和实施例仅是说明性的并且不打算作为限制。
- [0073] 为便于评述本公开内容的各种实施方案,提供特定术语的以下解释:
- [0074] 改变的表达:miR核酸表达的改变是指在生物样品中可检测到的miR核酸的水平例如相对于对照的变化或差异,如增加或减小。表达“改变”包括表达增加(上调)或表达减少(下调)。在一些实例中,所述差异是相对于对照或参考值,如来自一个健康对照对象或一组健康对照对象的样品中微小RNA的表达量。
- [0075] 癌症:经历特有的退行性变化并伴随分化丧失、生长速率增加、侵入周围组织并且能够转移的恶性赘生物(例如肿瘤)。转移性癌症是在身体中除作为转移性癌症衍生的原始(原发性)癌症的起源部位外的一个或多个部位处的癌症。在一些实例中,癌症是赘生物中一种或多种miRNA的表达相较于相同组织类型的正常或健康组织有所改变(例如增加或减少)的一种病况。示例性癌症包括但不限于鳞状细胞癌(如HNSCC)。
- [0076] 对照:“对照”是指用于与测试样品相比较的样品或标准,如从一个健康对象(或一组健康对象)获得的样品。在一些实施方案中,对照是从一个健康对象(或一组健康对象)获得的样品或从来自同一对象并与癌症相同的组织学类型的非恶性组织获得的样品(在本文

中又称为“正常”对照)。在一些实施方案中,对照是历史对照或标准值(例如表示基线或正常值的一个或一组先前测试过的对照样品,如健康对象的基线或正常值)。在一些实例中,对照是表示从多个样品获得的平均值(或平均值范围)(如来自正常对象的一种或多种miR核酸的表达的平均值或平均值范围)的标准值。

[0077] 有效量:足以产生所需反应,如减少或抑制与病况或疾病相关的一种或多种病征或症状的药剂(如一种或多种miRNA)的量。在一些实例中,“有效量”是治疗或抑制肿瘤的一种或多种病征或症状的量。在一些实例中,“有效量”是治疗有效量,其中单独所述药剂或所述药剂与一种或多种另外的疗法诱导所需的反应,如对象体内的肿瘤尺寸减小、对象体内的肿瘤数量减小、对象体内肿瘤转移的尺寸或数量减小,和/或对象的生存(如无疾病生存、无转移生存或总体生存)增加。

[0078] 分离的:“分离的”生物组分(如核酸分子、蛋白质或细胞)已大体上从其它生物组分(例如在生物体的细胞或组织,或生物体本身中,其中所述组分是天然存在的,如其它染色体和染色体外DNA和RNA、蛋白质及细胞)分离或纯化出来。已经“分离的”核酸分子和蛋白质包括通过标准纯化方法纯化的核酸分子和蛋白质。所述术语也包含通过在宿主细胞中重组表达而制备的核酸分子(包括微小RNA)和蛋白质以及以化学方式合成的核酸分子和蛋白质。

[0079] 微小RNA(miRNA):调控基因表达的单链、小非编码RNA分子。miRNA长度一般是约16-27个核苷酸。miRNA典型地通过促进靶mRNA切割或通过阻断细胞转录物的翻译来调节基因表达(例如增加或减少翻译)。miRNA从称为pri-miRNA的初级转录物加工成称为前体(pre)-miRNA的短茎环结构,且最后加工功能成熟miRNA。成熟miRNA分子与一种或多种信使RNA分子部分地互补,并且其主要功能是下调基因表达。如本文所用,“miR核酸”或“miRNA核酸”是指任意的pri-miRNA、pre-miRNA、miRNA双链体或成熟miRNA。

[0080] miRNA序列是公开可获得的。例如,miRBase (mirbase.org) 包括了注释的miRNA序列的可检索数据库。miRNA序列也可通过本领域的普通技术人员已知的其它数据库得到,包括美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information) (ncbi.nlm.nih.gov)。本领域的普通技术人员还可以利用公共数据库和算法,例如在MicroCosm Targets (ebi.ac.uk/enright-srv/microcosm/htdocs/targets/)、TargetScan (targetscan.org) 和PicTar (pictar.mdc-berlin.de) 鉴定出特定miRNA的靶。基于来自一种生物体(如小鼠)的miRNA序列,本领域的普通技术人员可以利用可用数据库确定来自另一生物体(如人类)的相应miRNA。

[0081] miRNA模拟物或拟似物:miRNA拟似物包括具有与天然或野生型miRNA相同的序列,但具有修饰的主链、修饰的碱基和/或5'或3'端修饰的miRNA。在一些实例中,miRNA拟似物可能不太易受降解或核酸酶活性影响。miRNA模拟物是具有至少一个序列修饰并且与天然或野生型miRNA具有75%或更高序列相同性,而且还可以与野生型或天然miRNA类似的亲和力结合至相同mRNA的miRNA。所公开的miRNA还可以是miRNA拟似物和miRNA模拟物两种,例如相对于野生型miRNA具有至少一个序列修饰(例如与野生型miRNA具有75%或更高序列相同性)并且还具有修饰的主链、碱基和/或末端修饰的miRNA。

[0082] 样品(或生物样品):在一些实例中,从对象获得的含有DNA、RNA(包括mRNA)、蛋白质或其组合的试样。实例包括但不限于外周血、尿液、唾液、组织活检样品、细针抽吸物、手

术试样及尸检材料。在一些实例中,样品包括肿瘤样品,如新鲜的、冷冻的或固定的肿瘤样品。

[0083] 对象:活的多细胞脊椎动物生物体,类别包括人类和非人类哺乳动物(如实验室或兽医学对象)。

[0084] 载体:允许插入外源核酸而不破坏载体在宿主细胞中复制和/或整合的能力的核酸分子。载体可以包括允许其在宿主细胞中复制的核酸序列,如复制起点。载体还可以包括一个或多个可选择标记物基因和/或其它遗传元件。表达载体是含有所需调控序列以允许插入的(一个或多个)核酸转录和翻译的载体。在本文的一些实施方案中,载体是质粒载体。在其它实施方案中,载体是病毒载体。

[0085] III.miRNA

[0086] 本文中公开了在癌症,包括但不限于鳞状细胞肿瘤中差异地调控的miRNA。这些miRNA可以用于治疗肿瘤的方法中,并且还可以用于诊断方法中。还公开了修饰的miRNA,这些miRNA也可以用于治疗的组合物和方法中。

[0087] miRNA是调控基因表达的小非编码RNA分子。成熟miRNA长度一般是约17-25个核苷酸。miRNA典型地通过促进靶mRNA切割或通过阻断细胞转录物的翻译来调节基因表达(例如增加或减少翻译)。miRNA从称为“pri-miRNA”的初级转录物加工成称为“前体(pre)-miRNA”的短茎环结构。pre-miRNA被加工成miRNA双链体,并且最后加工成功能性成熟单链miRNA。在miRNA双链体加工过程中,一条链(称为“过客”链)被降解,而另一条链(“引导”链)是成熟miRNA分子。成熟miRNA分子与一种或多种信使RNA分子部分地互补,并且其主要功能是下调基因表达。如本文所公开,miRNA核酸包括前体miRNA,以及加工的或成熟的miRNA核酸。例如,miRNA核酸可以是pri-miRNA、pre-miRNA、miRNA双链体或成熟miRNA核酸。

[0088] miRNA序列是公开可获得的。本领域的普通技术人员可以例如利用公开可得的数据库鉴定miRNA前体,以及加工的或成熟的miRNA。例如,miRBase (mirbase.org) 包括了注释的miRNA序列的可检索数据库。miRNA序列也可通过本领域的普通技术人员已知的其它数据库得到,包括美国国家生物技术信息中心(ncbi.nlm.nih.gov)。本领域的普通技术人员还可以利用公共数据库和算法,例如在MicroCosm Targets (ebi.ac.uk/enright-srv/microcosm/htdocs/targets/)、TargetScan (targetscan.org) 和PicTar (pictar.mdc-berlin.de) 鉴定出特定miRNA的靶。基于来自一种生物体(如小鼠)的miRNA序列,本领域的普通技术人员可以利用可用数据库确定来自另一生物体(如人类)的相应miRNA。

[0089] 在一些实例中,微小RNA通过活化靶mRNA或非编码RNA的切割或不稳定起作用,这可以通过RT-PCR、原位杂交、FRET、RNA印迹(northern blot)或测序检测。它还可以通过抑制靶mRNA翻译成蛋白质起作用,这可以通过蛋白质印迹(Western blot)、免疫印迹、荧光偏振分析、酶活性分析、FRET、免疫荧光法、免疫组织化学法、ELISA或质谱法检测。由此引起的靶mRNA或非编码RNA的表达变化可导致抑制多种癌症相关表型,包括细胞增殖、抵抗细胞死亡、促炎性过程、迁移和侵袭增加、血管生成、免疫破坏逃避、无限复制、基因组稳定性降低、细胞能量异常和/或影响肿瘤生长和进展的表观遗传过程失调。

[0090] 在一些实例中,用于本文所公开的组合物和方法中的miRNA核酸包括表1中所列的成熟miRNA。在其它实例中,miRNA核酸包括与表1中所列核酸具有至少75%序列相同性的miRNA核酸(例如miRNA模拟物),只要此类修饰的miRNA保持未修饰miRNA的一种或多种功能

即可。例如,miRNA核酸包括与表1中所列miRNA之一的核酸序列至少75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同的核酸序列,或由与表1中所列miRNA之一的核酸序列至少75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同的核酸序列组成。用于所公开的组合物和方法中的另外的miRNA核酸包括表18、20、21及23中所示的修饰的miRNA(包括引导链和/或过客链),或与表18、20、21及23中所示的核酸具有至少75%序列相同性(例如至少75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同性)的miRNA(例如miRNA拟似物和/或模拟物),只要此类修饰的miRNA保持未修饰miRNA的一种或多种功能即可。在一些实例中,与表1、表18、表20、表21或表23中所示的具有至少75%序列相同性的miRNA包括至少一个(如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个)非天然存在的核苷酸。

[0091] 表1.在肿瘤中差异表达的示例性成熟人类miRNA

人类 miRNA	序列	SEQ ID NO:
hsa-miR-30a-5p	UGUAAACAUCCUCGACUGGAAG	1
hsa-miR-30b-5p	UGUAAACAUCCUACACUCAGCU	2
hsa-miR-30c-5p	UGUAAACAUCCUACACUCUCAGC	3
hsa-miR-30d-5p	UGUAAACAUCCCCGACUGGAAG	4
hsa-miR-30e-5p	UGUAAACAUCCUUGACUGGAAG	5
hsa-miR-30a-3p	CUUUCAGUCGGAUGUUUGCAGC	6
hsa-miR-30b-3p	CUGGGAGGUGGAUGUUUACUUC	7
hsa-miR-30c-1-3p	CUGGGAGAGGGUUGUUUACUCC	8
hsa-miR-30c-2-3p	CUGGGAGAAGGCUGUUUACUCU	9
hsa-miR-30d-3p	CUUUCAGUCAGAUGUUUGCUGC	10
hsa-miR-30e-3p	CUUUCAGUCGGAUGUUUACAGC	11
hsa-miR-26a-5p	UUCAAGUAUCCAGGAUAGGCU	12
hsa-miR-26a-1-3p	CCUAUUCUUGGUUACUUGCACG	13
hsa-miR-26a-2-3p	CCUAUUCUUGAUUACUUGUUUC	14
hsa-miR-26b-5p	UUCAAGUAUUCAGGAUAGGU	15
hsa-miR-26b-3p	CCUGUUCUCCAUUACUUGGCUC	16

[0092]

人类 miRNA	序列	SEQ ID NO:
hsa-miR-375	UUUGUUCGUUCGGCUCGCGUGA	17
hsa-miR-145-5p	GUCCAGUUUUCCCAGGAAUCCCU	18
hsa-miR-145-3p	GGAUUCCUGGAAAUACUGUUCU	19
hsa-miR-338-5p	AACAAUAUCCUGGUGCUGAGUG	20
hsa-miR-338-3p	UCCAGCAUCAGUGAUUUUGUUG	21
hsa-miR-205-5p	UCCUCAUCCACCAGGAGUCUG	22
hsa-miR-205-3p	GAUUUCAGUGGAGUGAAGUUC	23
hsa-miR-29a-3p	UAGCACCAUCUGAAAUCGGUUA	24
hsa-miR-29b-3p	UAGCACCAUUUGAAAUCAGUGUU	25
hsa-miR-29c-3p	UAGCACCAUUUGAAAUCGGUUA	26
hsa-miR-29a-5p	ACUGAUUUCUUUUGGUGUUCAG	27
hsa-miR-29b-1-5p	GCUGGUUCAUAUUGGUGGUUAGA	28
hsa-miR-29b-2-5p	CUGGUUUCACAUGGUGGCUUAG	29
hsa-miR-29c-5p	UGACCGAUUUCUCCUGGUGUUC	30
hsa-miR-27a-5p	AGGGCUUAGCUGCUUGUGAGCA	31
hsa-miR-27a-3p	UUCACAGUGGCUAAGUUCCGC	32
hsa-miR-27b-5p	AGAGCUUAGCUGAUUGGUGAAC	33
hsa-miR-27b-3p	UUCACAGUGGCUAAGUUCUGC	34
hsa-miR-101-5p	CAGUUAUCACAGUGCUGAUGCU	35
hsa-miR-101-3p	UACAGUACUGUGAUACUGAA	36

[0093] 在其它实例中,miRNA核酸包括比本文所公开的miRNA核酸(如SEQ ID NO:1-67或72或73-158)中任一种的核苷酸序列略长或略短的miRNA核酸,只要所述miRNA核酸保持特定miRNA的功能,如与miRNA靶序列杂交或形成miRNA双链体即可。例如,miRNA核酸可以在本文所描述的miRNA的核苷酸序列的5'或3'端包括几个核苷酸缺失或添加,如在5'或3'端添加或缺失1、2、3、4或更多个核苷酸,或其组合(如在一端缺失和在另一端添加)。在具体实例中,本文所描述的修饰的miRNA包括在3'端处添加一个或多个核苷酸,如在miRNA过客链的3'端处添加一个或多个核苷酸(例如1、2、3或更多个核苷酸)。

[0094] 本公开内容还提供了包括miRNA序列变化(如SEQ ID NO:1-67或72或73-158的任一个中所显示的序列的变化)的miRNA,只要此类修饰的miRNA保持未修饰miRNA的一种或多种功能即可。在一些实例中,所述修饰使引导链-过客链双链体的稳定性增加。在一些实例中,所述修饰包括在miRNA中一个或多个核苷酸(如1、2、3、4、5或更多个核苷酸)处的取代。在具体实例中,所述修饰包括在miR-30过客链(如miR-30a-5p)中位置1、6和20中的一个或多个处的取代。

[0095] 还提供了miRNA拟似物,如包括一个或多个修饰的核苷酸或核酸类似物的miRNA核酸。在一些实施方案中,分离的miRNA包括至少一个核碱基修饰,例如以增加核酸酶抗性、增加半衰期和/或改善功效。适用于微小RNA的核碱基修饰是本领域中众所周知的(参见例如,美国专利申请公开第2010/0298407号、第2007/0213292号、第2006/0287260号、第2006/0035254号、第2006/0008822号及第2005/0288244号)。

[0096] 在一些实例中(例如为了增加核酸酶抗性和/或与靶核酸分子的结合亲和力),本公开内容的miRNA包括2'-0-甲基、2'-氟、2'-0-甲氧基乙基、2'-0-氨基丙基、2'-氨基糖修饰和/或硫代磷酸酯键。包括锁核酸(locked nucleic acid,LNA)、亚乙基核酸(ethylene nucleic acid,ENA)(例如2'-4'-亚乙基桥连核酸)及某些核碱基修饰也可以增加与靶的结

合亲和力。在寡核苷酸主链中包括吡喃糖也可以减少核酸内切酶切割。另外的修饰包括吗啉代化合物(morpholinos)、肽核酸(PNA)、解锁核酸(unlocked nucleic acid,UNA)、 α -L-LNA、4'-C-羟甲基-DNA、2'-N-金刚烷基甲基簇基-2'-氨基-LNA、2'-N-茈-1-基甲基-2'-氨基-LNA、E2'-氨基乙基、2'-胍基乙基、2'-氰基乙基、2'-氨基丙基、氧杂环丁烷LNA、2',4'-碳环-LNA-锁核酸、2',4'-碳环-ENA-锁核酸、2'-脱氧-2'-N,4'-C-亚乙基-LNA、阿卓糖醇核酸、己糖醇核酸、2'-氨基乙氧基甲基、及2'-氨基丙氧基甲基。

[0098] 另外的miRNA拟似物包括具有修饰的主链或非天然核苷间键的miRNA。具有修饰主链的寡聚物包括在主链中保持磷原子的寡聚物以及在主链中不具有磷原子的寡聚物。在核苷间主链中不具有磷原子的修饰的寡核苷酸在本领域中一般称为核碱基寡聚物。具有修饰的寡核苷酸主链的核碱基寡聚物包括例如硫代磷酸酯、手性硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、磷酸三酯、氨基烷基-磷酸三酯、甲基和其它烷基膦酸酯,包括3'-亚烷基膦酸酯和手性膦酸酯、亚膦酸酯、氨基磷酸酯、硫簇基氨基磷酸酯、硫簇基烷基膦酸酯、硫簇基烷基磷酸三酯及硼烷磷酸酯。各种盐、混合盐及游离酸形式也包括在内。

[0099] 具有修饰的寡核苷酸主链并且在主链中不包括磷原子的miRNA具有通过短链烷基或环烷基核苷间键、混合杂原子和烷基或环烷基核苷间键,或一个或多个短链杂原子或杂环核苷间键形成的主链。这些包括具有吗啉代键(部分地由核苷的糖部分形成)的那些;硅氧烷主链;硫化物、亚砜和砜主链;甲酰基(formacetyl)和硫代甲酰基(thioformacetyl)主链;亚甲基甲酰基(methylene formacetyl)和硫代甲酰基主链;含烯烃主链;氨基磺酸酯主链;亚甲基亚胺基(methyleneimino)和亚甲基肼基(methylenehydrazino)主链;磺酸酯和磺酰胺主链;酰胺主链;以及具有混合的N、O、S和 CH_2 组成部分的其它主链。

[0100] 在其它实例中,修饰的miRNA(例如miRNA拟似物)包括一个或多个被取代的糖部分。此类修饰包括2'-0-甲基、2'-甲氧基乙氧基、2'-二甲基氨基乙氧基、2'-氨基丙氧基及2'-氟修饰。还可以在寡核苷酸或其它核碱基寡聚物上的其它位置,特别是在3'末端核苷酸上的糖的3'位置进行修饰。核碱基寡聚物还可以具有糖拟似物,如环丁基部分代替戊呋喃糖基糖(pentofuranosyl sugar)。

[0101] 在其它实例中,修饰的miRNA(例如miRNA拟似物)包括在5'或3'端处的修饰。此类修饰包括在miRNA 5'端处的伯胺基(primary amino group)(例如具有碳间隔基,如氨基-C3、氨基-C6或氨基-C12)。另外的末端修饰包括UNA、甲基膦酸酯、phosphithorate、倒置碱基或N-甲基-G帽。

[0102] 在其它实施方案中,miRNA包括两个或更多个修饰,如选自以下的两个或更多个修饰:碱基取代、在核苷间键处的修饰、修饰的糖或在5'和/或3'端处的修饰。对于双链体miRNA分子,修饰可以存在于引导链、过客链或这两条链上。

[0103] 在一些实例中,本文所公开的修饰的(例如模拟或拟似)miRNA核酸包括5'端氨基修饰,如5'-氨基C6修饰(如5'-氨基C6修饰的过客链)。在其它实例中,修饰的(例如模拟或拟似)miRNA核酸包括具有2'修饰(如2'-0-Me)的一个或多个核苷酸(如1、2、3、4、5、6、7、8或更多个核苷酸)。2'修饰的核苷酸可以在miRNA内部(在5'或3'端核苷酸上无修饰)或可以包括5'和/或3'端核苷酸。在一些实例中,miRNA引导链包括具有2'修饰的一个或多个核苷酸(如3-10个、4-9个或5-8个核苷酸)。在具体实例中,引导链包括在一个或多个内部核苷酸上的2'修饰,且在一些实例中不在5'或3'端核苷酸上。在其它实例中,miRNA过客链包括具有

2'修饰的一个或多个核苷酸(如3-10个、4-8个或5-7个核苷酸)。在具体实例中,过客链包括在5'或3'端核苷酸上的2'修饰,而且还可包括一个或多个内部核苷酸的2'修饰。在具体的非限制性实例中,修饰的miRNA包括以下表18、20、21及23中所示的miRNA。

[0104] 在一些实施方案中,所公开的miRNA核酸或修饰的(例如拟似或模拟)miRNA核酸与可检测标记相联。在一些实例中,miRNA核酸被缀合至荧光标记(如异硫氰酸荧光素、香豆素、Cy3、Cy5、Cy7或AlexaFluor®染料)、半抗原(如地高辛(digoxigenin)或Myc)、或放射性标记。在其它实施方案中,miRNA核酸与肽或蛋白质(例如用以促进靶向递送),如tat、MACV GP1、叶酸受体或穿膜肽相联。本领域的技术人员可以根据具体情况选择另外的可检测标记或肽。

[0105] IV. 用于治疗或抑制癌症的方法和组合物

[0106] 本文中公开了在肿瘤中差异表达的miRNA。这些miRNA可以用于治疗或抑制对象的癌症的方法中。因此,本文中公开了治疗或抑制对象的癌症的方法,所述方法包括向对象施用有效量的一种或多种miRNA。在具体实例中,所述方法包括向患有癌症的对象施用一种或多种在患有肿瘤(如鳞状细胞癌)的对象的肿瘤中下调的miRNA。

[0107] 在一些实施方案中,所述方法包括向患有肿瘤的对象施用有效量的至少一种分离的miR-30核酸(如miR-30a-5p、miR-30b-5p、miR-30c-5p、miR-30d-5p或miR-30e-5p核酸)或其模拟物或拟似物,或编码miR-30核酸或其模拟物或拟似物的载体。miR-30核酸的具体非限制性实例包括本文所公开的SEQ ID NO:1-11和66。在其它实例中,所述方法包括向患有肿瘤的对象施用有效量的变体或修饰(例如模拟或拟似)的miR-30核酸。修饰的miR-30核酸可以包括引导链和过客链(例如选自SEQ ID NO:37-61和73-92)的miR-30双链体施用。在具体的非限制性实例中,修饰的miR-30核酸包括含SEQ ID NO:41和55的miR-30双链体、含SEQ ID NO:42和56的miR-30双链体、含SEQ ID NO:42和57的miR-30双链体、含SEQ ID NO:50和61的miR-30双链体、含SEQ ID NO:73和61的miR-30双链体或含SEQ ID NO:74和61的miRNA双链体。修饰的miR-30双链体的其它实例包括下表19和22中的那些。

[0108] 在其它实施方案中,所述方法包括向患有肿瘤的对象施用有效量的以下一种或多种:分离的miR-30(如miR-30a-5p、miR-30b-5p、miR-30c-5p、miR-30d-5p和/或miR-30e-5p)、miR-26a-5p、miR-26b-5p、miR-375、miR-145-5p、miR-338-3p、miR-27、miR-29或miR-101核酸、其中任一种的模拟物或拟似物,或其中任何两种或更多种的组合,包括一种或多种双链体miR核酸或编码miR核酸的载体。修饰的miR核酸可以包括引导链和过客链(例如选自SEQ ID NO:62-67和93-158)的miR双链体施用。

[0109] 在具体实例中,所述方法包括向患有肿瘤的对象施用有效量的miR-30、miR-145、miR-26a及miR-375核酸的组合。在具体的非限制性实例中,所述方法包括向对象施用miR-30a-014(SEQ ID NO:41和55)、miR-145、miR-26a及miR-375的组合。在其它实例中,所述方法包括施用至少2种(例如至少2种、至少3种、至少4种、至少5种、至少6种、至少7种、至少8种、至少9种、至少10种或更多种)来自表1、3、4、5、18、20、21及23任一个的miRNA(如2-10种、4-20种、6-30种、10-50种或更多种)。miRNA可以以单链miR核酸、双链体miR核酸(如含引导链和过客链的双链体)或包括miR核酸的载体施用。

[0110] 在其它实例中,所述方法包括向患有肿瘤的对象施用有效量的两种或更多种miR-30、miR-145、miR-375及miR-26a核酸。在一些实例中,所述方法包括向对象施用miR-30核酸

(如miR-30a-5p核酸或修饰的miR-30a核酸,如表18、19和21中的那些)和miR-145核酸。在其它实例中,所述方法包括向对象施用miR-145核酸和miR-375核酸。在其它实例中,所述方法包括向对象施用miR-30核酸(如miR-30a-5p核酸或修饰的miR-30a核酸,如表18和19中的那些)和miR-375核酸。在一些实例中,所述方法包括向对象施用miR-145核酸和miR-26a核酸。在其它实例中,所述方法包括向对象施用miR-26a核酸和miR-375核酸。在其它实例中,所述方法包括向对象施用miR-30核酸(如miR-30a-5p核酸或修饰的miR-30a核酸,如表18和19中的那些)和miR-26a核酸。

[0111] 所公开的方法可以用于治疗或抑制对象的癌症。示例性癌症包括急性成淋巴细胞白血病(ALL)、急性髓细胞白血病(AML)、肾上腺皮质癌的癌症、AIDS相关癌症(例如卡波西氏肉瘤(Kaposi Sarcoma)、AIDS相关淋巴瘤、原发性CNS淋巴瘤)、肛门癌、阑尾癌、星形细胞瘤、非典型畸胎样/横纹肌样肿瘤、基底细胞癌、胆管癌、膀胱癌、骨癌(例如尤文氏肉瘤(Ewing Sarcoma)家族肿瘤、骨肉瘤及恶性纤维组织细胞瘤)、脑瘤(例如星形细胞瘤、脑干胶质瘤、中枢神经系统非典型畸胎样/横纹肌样肿瘤、中枢神经系统胚胎肿瘤、中枢神经系统生殖细胞肿瘤、颅咽管瘤、室管膜瘤)、乳癌、支气管肿瘤、伯基特氏淋巴瘤(Burkitt Lymphoma)、类癌肿瘤、心脏(心)肿瘤、中枢神经系统(例如非典型畸胎样/横纹肌样肿瘤、胚胎肿瘤、生殖细胞肿瘤、淋巴瘤、原发性)、子宫颈癌、胆管上皮癌、脊索瘤、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、慢性髓性白血病(CML)、慢性骨髓增生性赘生物、结肠癌、结肠直肠癌、皮肤T细胞淋巴瘤、原位导管癌(DCIS)、子宫内膜癌、室管膜瘤、食道癌、鼻腔神经胶质瘤、尤文氏肉瘤、颅外生殖细胞肿瘤、性腺外生殖细胞肿瘤、眼癌(例如眼内黑素瘤、成视网膜细胞瘤)、输卵管癌、胆囊癌、胃癌、胃肠类癌肿瘤、胃肠间质肿瘤(GIST)、生殖细胞肿瘤(例如颅外、性腺外、卵巢、睾丸)、妊娠性滋养细胞疾病、神经胶质瘤、毛细胞白血病、头颈癌、心癌症、肝细胞癌、霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin Lymphoma)、下咽癌、胰岛细胞瘤、胰腺神经内分泌肿瘤、卡波西氏肉瘤、肾(例如肾细胞癌、威尔姆斯氏肿瘤(Wilms Tumor))、兰格汉氏细胞(Langerhans Cell)组织细胞增多病、喉癌、毛细胞白血病、唇和口腔癌症、肝癌、肺癌(例如非小细胞肺癌、小细胞肺癌)、淋巴瘤(例如AIDS相关淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤、皮肤T细胞淋巴瘤、霍奇金氏淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤)、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症(Waldenstrom Macroglobulinemia)、梅克尔细胞癌(Merkel Cell Carcinoma)、间皮瘤、原发不明性转移性鳞状细胞颈癌(Metastatic Squamous Neck Cancer With Occult Primary)、涉及NUT基因的中线道癌(Midline Tract Carcinoma Involving NUT Gene)、口癌、多发性内分泌瘤形成综合征(Multiple Endocrine Neoplasia Syndromes)、多发性骨髓瘤/浆细胞赘生物、蕈样真菌病、骨髓发育不良综合征、骨髓发育不良/骨髓增生性赘生物、髓性白血病、多发性骨髓瘤、骨髓增生性赘生物、鼻腔和副鼻窦癌、鼻咽癌、神经母细胞瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、非小细胞肺癌、口腔癌、口咽癌、卵巢癌(例如上皮、生殖细胞肿瘤、低度恶性潜能肿瘤)、胰腺癌、胰腺神经内分泌肿瘤(胰岛细胞瘤)、乳头状瘤病、副神经节瘤、副鼻窦和鼻腔癌、副甲状腺癌、阴茎癌、咽癌、嗜铬细胞瘤、垂体肿瘤、浆细胞赘生物/多发性骨髓瘤、胸膜肺母细胞瘤、原发性中枢神经系统(CNS)淋巴瘤、原发性腹膜癌、前列腺癌、直肠癌、成视网膜细胞瘤、横纹肌肉瘤、唾液腺癌、肉瘤(例如尤文氏肉瘤、卡波西氏肉瘤、骨肉瘤、横纹肌肉瘤、软组织肉瘤、子宫肉瘤、血管肿瘤)、塞扎莱氏综合征(Sézary Syndrome)、皮肤癌(例如黑素瘤、梅克尔细胞癌、非黑素瘤)、小肠癌、

鳞状细胞癌、胃癌、皮肤T细胞淋巴瘤、睾丸癌、喉癌、胸腺瘤和胸腺癌、甲状腺癌、原发部位不明性癌(Unknown Primary Carcinoma)、不常见儿童癌症、尿道癌、子宫癌、子宫肉瘤、阴道癌、血管肿瘤、外阴癌或威尔姆斯氏肿瘤。

[0112] 在一些非限制性实施方案中,所述方法包括治疗或抑制鳞状细胞癌(SCC),如头颈部鳞状细胞癌、肺鳞状细胞癌或子宫颈鳞状细胞癌。SCC是可能在许多不同器官,包括皮肤、唇、口、食道、膀胱、前列腺、肺、阴道及子宫颈中发生的癌型癌症。它是鳞状上皮(显示鳞状细胞分化的上皮)的恶性肿瘤。在一些实例中,肿瘤是HNSCC,例如口腔鳞癌(如唇、舌、硬腭、口底或颊粘膜的肿瘤)、口咽鳞癌(如软腭、舌根或扁桃体区的肿瘤)、下咽鳞癌(如梨状窝、咽后壁或环状软骨后区的肿瘤)、鼻咽鳞癌(如上颌窦肿瘤)或喉鳞癌。在其它实例中,肿瘤是肺SCC或子宫颈SCC。在其它实例中,肿瘤是甲状腺鳞状细胞癌、食道SCC、皮肤鳞状细胞癌、乳房鳞状细胞癌或膀胱鳞状细胞癌。

[0113] 在其它非限制性实施方案中,所述方法包括治疗或抑制子宫颈腺癌、结肠直肠癌、前列腺癌、乳腺癌或胰腺癌。

[0114] 在一些实施方案中,向对象施用有效量的包括一种或多种本文所公开的miRNA或修饰的miRNA的组合物。取决于所选具体施用模式,包括本文所公开的miRNA中的一种或多种(如2、3、4、5或更多种miRNA)的药物组合物可以用适当的固体或液体载剂配制。可用于本公开内容中的药学上可接受的载剂和赋形剂是常规的。参见例如《雷明顿:药学科学和实践(Remington: The Science and Practice of Pharmacy)》,University of the Sciences in Philadelphia编辑,宾夕法尼亚州费城的Lippincott, Williams, & Wilkins,第21版(2005)。例如,肠胃外配制物通常包括可注射流体,所述可注射流体是药学上和生理学上可接受的流体媒剂,如水、生理盐水、其它平衡盐溶液、右旋糖水溶液、甘油等。对于固体组合物(例如粉末、丸剂、片剂或胶囊形式),常规的无毒固体载剂可以包括例如药物级甘露醇、乳糖、淀粉或硬脂酸镁。除生物中性载剂以外,待施用的药物组合物可以含有微量的无毒辅助物质,如润湿剂或乳化剂、防腐剂、pH缓冲剂等,例如乙酸钠或脱水山梨糖醇单月桂酸酯。可以包括的赋形剂是例如其它蛋白质,如人类血清白蛋白或血浆制剂。

[0115] 例如,考虑如所治疗肿瘤的类型、疾病进展的程度、对象的年龄、健康状况和性别、对象的体格(例如体重和/或身高)及施用途径等因素,本领域技术人员可以容易地确定施用给对象的所公开的miR核酸(或miR核酸的组合)的有效量。例如,有效量可以基于待治疗的对象的近似体重。此类有效量可以通过任何适合的途径施用。在一些实例中,施用给对象的miR核酸(或miR核酸的组合)的有效量范围是约5 μ g/kg至约100mg/kg体重,如约100 μ g/kg至约10mg/kg、约1mg/kg至约25mg/kg、约20mg/kg至约40mg/kg、约30mg/kg至约50mg/kg,或约40mg/kg至约100mg/kg。在一个非限制性实例中,施用量是约5mg/kg miR核酸(或miR核酸的组合)。

[0116] 在一些实施方案中,所述组合物是以单位剂量,例如适于独立施用具体剂量的单位剂量型施用。在一些实例中,单位剂量含有约1mg至约5g的一种或多种miR核酸分子(如约5mg至约50mg、约10mg至约200mg、约100mg至约2.5g、约250mg至约1g,或约500mg至约5g)。在一些实例中,单位剂量含有约1mg、5mg、10mg、25mg、50mg、100mg、250mg、500mg、750mg、1g、1.5g、2g、2.5g、3g、4g或5g的一种或多种miR核酸。

[0117] 本领域技术人员也可以容易地确定用于向对象施用所公开的miR核酸(或miR核酸

的组合)的适当剂量方案。例如,miR核酸可以一次性施用给对象(例如通过单次注射或沉积)或以重复剂量施用给对象。在一些实例中,视需要,miR核酸(或miR核酸的组合)是每天一次或两次、每周两次、每周三次、每周一次、两周一次或每月一次施用,持续较长时间段,以实现所希望的治疗结果(如肿瘤的一种或多种病征或症状减轻)。在其它实例中,miR核酸是以连续方式(例如使用泵、植入物或持续释放配制物)施用。

[0118] 治疗剂可以使用本领域中已知的任何适合的手段施用给需要治疗的对象。施用方法包括但不限于导管内、皮内、肌肉内、腹膜内、肠胃外、静脉内、皮下、阴道、直肠、鼻内、吸入、口或通过基因枪。鼻内施用是指通过一个或两个鼻孔将组合物递送至鼻和鼻腔通道中并且可以包含通过喷雾机制或滴液机制,或通过核酸气雾化递送。通过吸入剂施用组合物可以通过用喷雾或滴液机制经鼻或口递送施用。可以通过插管直接递送至呼吸系统的任何区域。肠胃外施用一般是通过注射实现。可注射剂可以制备成常规形式,如液体溶液或悬浮液、适合于在注射之前于液体中形成悬浮液的溶液的固体形式,或乳液形式。注射溶液和悬浮液可以由无菌粉末、颗粒剂和片剂制备。施用可以是全身或局部的。在具体的非限制性实例中,施用是静脉内施用。在其它实例中,施用是皮下、肌肉内或腹膜内施用。取决于治疗剂、所治疗的病况、对象的健康状况和治疗史及其它相关临床因素,本领域的技术人员可以选择适当的施用途径。

[0119] 治疗剂可以通过任何适合的方式,优选地与药学上可接受的载剂一起施用。药学上可接受的载剂部分地由所施用的具体组合物以及由用于施用组合物的具体方法决定。因此,存在多种适合的本公开内容的药物组合物的配制物。

[0120] 供肠胃外施用的制剂包括无菌水性或非水性溶液、悬浮液以及乳液。非水性溶剂的实例是丙二醇、聚乙二醇、植物油如橄榄油,以及可注射有机酯如油酸乙酯。水性载剂包括水、醇/水溶液、乳液或悬浮液,包括盐水和缓冲介质。肠胃外媒剂包括氯化钠溶液、林格氏右旋糖(Ringer's dextrose)、右旋糖以及氯化钠、乳酸林格氏液或不挥发性油。静脉内媒剂包括流体和营养补充剂、电解质补充剂(如基于林格氏右旋糖的补充剂)等。还可以存在防腐剂和其它添加剂,如抗微生物剂、抗氧化剂、螯合剂和惰性气体等。

[0121] 供表面施用的配制物可以包括软膏、洗剂、乳膏、凝胶、滴剂、栓剂、喷雾剂、液体以及粉末。常规的药物载体、水性、粉末或油性基质、增稠剂等可能是必需的或所希望的。

[0122] 供经口施用的组合物包括粉末或颗粒剂、在水性或非水性介质中的悬浮液或溶液、胶囊、药囊或片剂。增稠剂、调味剂、稀释剂、乳化剂、分散助剂或黏合剂可能是合乎需要的。

[0123] 一些组合物可以以药学上可接受的酸加成盐或碱加成盐施用,所述酸加成盐或碱加成盐是通过与以下各酸反应形成:无机酸,如盐酸、氢溴酸、过氯酸、硝酸、硫酸、硫氰酸、硫酸和磷酸;和有机酸,如甲酸、乙酸、丙酸、乙醇酸、乳酸、丙酮酸、草酸、丙二酸、琥珀酸、顺丁烯二酸和反丁烯二酸;或通过与以下各碱反应形成:无机碱,如氢氧化钠、氢氧化铵、氢氧化钾;和有机碱,如单烷基胺、二烷基胺、三烷基胺和芳基胺以及被取代的乙醇胺。

[0124] 在一些实施方案中,使用了脂质体将所公开的miR核酸或核酸的组合递送给对象。脂质体也可以增加基因产物的血液半衰期。适合用于本文所公开的组合物和方法中的脂质体可以由标准囊泡形成脂质形成,所述脂质一般包括中性或带负电的磷脂和固醇,如胆固醇。脂质的选择一般通过考虑若干因素,如所希望的脂质体尺寸和脂质体在血流中的半衰

期来指导。在一个具体实例中,脂质体是用一种或多种所公开的miR核酸和阳离子脂质如二油酰基三甲基磷酸铵(DOTAP)和二油酰基磷脂酰乙醇胺(DOPE)形成。

[0125] 本领域中已知多种用于制备脂质体的方法(参见例如,Szoka等人,《生物物理学与生物工程年评(Ann.Rev.Biophys.Bioeng.)》9:467,1980;以及美国专利第4,235,871号、第4,501,728号、第4,837,028号和第5,019,369号)。在一些实施方案中,可以使用聚合物将miR核酸递送给对象。可以用于递送治疗性RNA分子的阳离子脂质和聚合物已有描述(参见例如,Zhang等人,《控制释放杂志(J Control Release.)》123(1):1-10,2007;Vorhies等人,《分子生物学方法(Methods Mol.Biol.)》480:11-29,2009;以及美国专利申请公开第2009/0306194号)。在一些实例中,脂质体还包括增加复合物对肿瘤的靶向性的分子,例如结合至转铁蛋白受体的分子(如抗转铁蛋白受体抗体或其片段)。在一个实例中,脂质体包括抗转铁蛋白受体单链抗体片段(参见例如,Pirollo等人,《人类基因疗法(Hum.Gene Ther.)》17:117-124,2006;Pirollo等人,《癌症研究(Cancer Res.)》67:2938-2943,2007)。另外的靶向分子包括叶酸受体、EGFR、MET、ROR1、GLUT1、钙粘素、CD44、PSMA及MAGE。多肽载体也可以用于将miR核酸施用给对象(参见例如,Rahbek等人,《基因医学杂志(J.Gene Med.)》10:81-93,2008)。本领域的技术人员可以鉴定另外的靶向分子或多肽载体。

[0126] 在一些实施方案中,所述方法包括施用一种或多种编码所公开的miRNA核酸或其模拟物或拟似物(如SEQ ID NO:1-67和72、73-158的任一种,或其模拟物和/或拟似物)的载体。用于所公开的方法中的载体可以是非病毒(例如质粒)或病毒(例如腺病毒、腺相关病毒、逆转录病毒、疱疹病毒、牛痘病毒)起源的。适合载体,如基因疗法载体,是本领域中已知的。

[0127] 在一些实例中,miRNA核酸是使用任何适合启动子,从重组环形或线性DNA质粒表达。适合用于从质粒表达RNA的启动子包括例如U6或H1 RNA pol III启动子序列、巨细胞病毒启动子、SV40启动子或金属硫蛋白启动子。其它适合启动子的选择在本领域中的技能范围内。重组质粒还可以包含用于表达miR基因产物的诱导型或调控型启动子。

[0128] 在一个非限制性实施方案中,miRNA核酸从质粒表达为RNA前体分子形式,并且所述前体分子在靶细胞内被加工成功能性或成熟miRNA。适于表达miRNA的质粒的选择、用于将核酸序列插入质粒中以表达基因产物的方法及将重组质粒递送至感兴趣的细胞的方法在本领域中的技能范围内(参见例如,Zeng等人,《分子细胞(Mol.Cell)》9:1327-1333,2002;Tuschl,《自然·生物技术(Nat.Biotechnol.)》,20:446-448,2002;Brummelkarnp等人,《科学》296:550-553,2002;Miyagishi等人,《自然·生物技术》20:497-500,2002;Paddison等人,《基因与发育(Genes Dev.)》16:948-958,2002;Lee等人,《自然·生物技术》20:500-505,2002;以及Paul等人,《自然·生物技术》20:505-508,2002)。

[0129] 本公开内容还包括用一种或多种miRNA核酸的组合与用于治疗癌症的一种或多种其它药剂组合治疗对象的方法。例如,本公开内容的化合物可以与有效剂量的一种或多种肿瘤疗法组合施用,所述肿瘤疗法包括但不限于手术、化疗剂、放射、基因疗法、激素疗法、免疫疗法及反义寡核苷酸疗法。熟练的临床医师可以基于所治疗的肿瘤的类型、对象的临床史、总体状况及其它因素选择适当的疗法组合。术语“组合施用”或“共施用”是指同时和依序施用活性剂或疗法。

[0130] 化疗剂包括但不限于烷化剂,如氮芥类(例如苯丁酸氮芥(chlorambucil)、氮芥

(chlormethine)、环磷酰胺、异环磷酰胺(ifosfamide)和美法仑(melphalan)、亚硝基脲(例如卡莫司汀(carmustine)、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀(lomustine)及链脲霉素(streptozocin))、铂化合物(例如卡铂(carboplatin)、顺铂(cisplatin)、奥沙利铂(oxaliplatin)及BBR3464)、白消安(busulfan)、达卡巴嗪(dacarbazine)、甲氮芥(mechlorethamine)、丙卡巴肼(procarbazine)、替莫唑胺(temozolamide)、噻替派(thiotepa)及乌拉莫司汀(uramustine)；抗代谢物,如叶酸(例如甲氨蝶呤(methotrexate)、培美曲塞(pemetrexed)及雷替曲塞(raltitrexed))、嘌呤(例如克拉屈滨(cladribine)、氯法拉滨(clofarabine)、氟达拉宾(fludarabine)、巯基嘌呤及硫鸟嘌呤)、嘧啶(例如卡培他滨(capecitabine))、阿糖胞苷(cytarabine)、氟尿嘧啶及吉西他滨(gemcitabine)；植物碱,如鬼臼(例如依托泊苷(etoposide)和替尼泊苷(teniposide))、紫杉烷(例如多西他赛(docetaxel)和太平洋紫杉醇(paclitaxel))、长春花(vinca)(例如长春碱(vinblastine)、长春新碱(vincristine)、长春地辛(vindesine)及长春瑞宾(vinorelbine))；细胞毒性/抗肿瘤抗生素,如蒽环霉素(anthracycline)家族成员(例如道诺霉素(daunorubicin)、多柔比星(doxorubicin)、表柔比星(epirubicin)、伊达比星(idarubicin)、米托蒽醌(mitoxantrone)和伐柔比星(valrubicin))、博莱霉素(bleomycin)、羟基脲及丝裂霉素(mitomycin)；拓扑异构酶抑制剂,如拓朴替康(topotecan)和伊立替康(irinotecan)；单克隆抗体,如阿仑单抗(alemtuzumab)、贝伐单抗(bevacizumab)、西妥昔单抗(cetuximab)、吉妥珠单抗(gemtuzumab)、利妥昔单抗(rituximab)、帕尼单抗(panitumumab)及曲妥珠单抗(trastuzumab)；光敏剂,如氨基乙酰丙酸、甲基氨基乙酰丙酸酯(methyl aminolevulinate)、卟吩姆钠(porfimer sodium)及维替泊芬(verteporfin)；以及其它药剂,如亚利崔托宁(alitretinoin)、六甲蜜胺(altretamine)、安吖啶(amsacrine)、阿那格雷(anagrelide)、三氧化二砷、天冬酰胺酶、贝瑟罗汀(bexarotene)、硼替佐米(bortezomib)、塞内昔布(celecoxib)、地尼白介素(denileukin diftitox)、埃罗替尼(erlotinib)、雌莫司汀(estramustine)、吉非替尼(gefitinib)、羟基尿素、伊马替尼(imatinib)、喷司他汀(pentostatin)、马索罗酚(masoprocol)、米托坦(mitotane)、培门冬酶(pegaspargase)及维甲酸(tretinoin)。

[0131] 在一个具体实例中,如果对象患有HNSCC,则化疗剂包括顺铂、卡铂、西妥昔单抗、贝伐单抗、埃罗替尼、博莱霉素、太平洋紫杉醇/卡铂或其中两种或更多种的组合。在另一实例中,如果对象患有肺SCC,则化疗剂包括单独顺铂或卡铂,或顺铂或卡铂与依托泊苷、吉西他滨、太平洋紫杉醇、长春瑞宾、拓朴替康或伊立替康的组合。本领域的技术人员可以基于如癌症类型、癌症分期、癌症的分子谱以及对象的健康状况和治疗史等因素选择适当的另外的治疗(如化学疗法)。

[0132] V. 诊断肿瘤的方法

[0133] 本文中公开了诊断对象的肿瘤的方法。在一些实例中,所述方法包括通过检测来自对象的样品中一种或多种miRNA的量例如相较于对照的变化(如增加或减小)来鉴定对象的肿瘤。在一些实例中,所述方法还包括将治疗施用给被诊断患有肿瘤的对象。在一个实例中,对象被诊断为患有表达较低量的一种或多种miRNA(例如相较于对照)的肿瘤,并且向所述对象施用包括有效量的具有较低表达的一种或多种miRNA的组合物。

[0134] 用于本文所描述的方法中的样品,如组织或其它生物样品,可以使用本领域中已

知的任何方法制备。样品包括从对象获得、由对象排出或分泌的任何固体或流体样本。例如,样品可以是从例如血液、血浆、血清、尿液、胆汁、腹水、唾液、脑脊髓液、房水或玻璃体液,或任何身体分泌物、渗出液、渗出物(例如从脓肿或任何其它感染或炎症部位获得的流体)获得的生物流体,或从关节(例如正常关节或感染疾病的关节)获得的流体。样品也可以是从任何器官或组织获得的样品(包括活检或尸检试样,如肿瘤活检样品)或可以包括细胞(无论是原代细胞或培养的细胞)或通过任何细胞、组织或器官调节的介质。在特定实施方案中,样品包括肿瘤样品或血液样品。所述样品可以从常规筛选的对象或从疑似患有病症如肿瘤的对象获得。

[0135] 在一些实施方案中,所述方法包括检测来自对象的样品(如来自对象的肿瘤样品)中以下一种或多种的量:miR-30(如miR-30a-5p、miR-30b-5p、miR-30c-5p、miR-30d-5p或miR-30e-5p)、miR-26a-5p、miR-26b-5p、miR-145-5p、miR-338-3p、miR-375、miR-27、miR-29或miR-101。在其它实施方案中,所述方法包括检测下表1、3、4、5、18及20中所列一种或多种miRNA的量。在具体实例中,所述方法包括检测成熟形式miR或前体形式(例如pri-miRNA或pre-miRNA)miR的表达。典型地,miR检测方法涉及序列特异性检测,如通过RT-PCR或微阵列分析。可以使用本领域中已知的前体和成熟miR核酸序列(例如可在万维网mirbase.org得到),设计出miR-特异性引物和探针。

[0136] 在所述方法的一些实施方案中,来自对象的样品中一种或多种miR核酸的表达的变化(例如统计显著的表达增加或减少)是至少2倍,如至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少10倍,包括约3倍、约4倍、约5倍、约6倍、约7倍、约8倍、约9倍、约10倍、约30倍及约100倍。在一些实例中,检测到的变化是表达相较于对照如参考值或健康对照对象的增加或减少。在一些实例中,所检测到的增加或减少是相较于对照或标准增加或减少至少两倍。用于与样品比较、用于测定差异表达的对照或标准包括从一个健康对象(或一组健康对象)获得的样品或历史对照或标准值(例如表示基线或正常值,如健康对象的基线或正常值的先前测试过的一个或一组对照样品)。在一些实例中,对照是表示从多个样品获得的平均值(或平均值范围)(如来自正常对象的一种或多种miR核酸的表达的平均值或平均值范围)的标准值。

[0137] 在一些实施方案中,所述方法还包括向被诊断患有肿瘤的对象提供适当的疗法。在一些实例中,所述疗法包括施用抑制一种或多种miRNA核酸的表达的药剂,如抑制在来自对象样品中被鉴定为相对于对照上调的miR核酸的药剂。在其它实例中,所述疗法包括施用药剂,其包括施用一种或多种miR核酸,所述一种或多种miR核酸在来自对象的样品中被鉴定为相对于对照下调(例如,如第IV部分中所描述)。

[0138] 提供以下实施例以说明某些具体特征和/或实施方案。这些实施例不应解释为将本公开内容局限于所描述的具体特征或实施方案。

[0139] 实施例1

[0140] 材料与方法

[0141] HNSCC患者样品:从密歇根大学医疗中心(University of Michigan Medical Center)收集新鲜冷冻的HNSCC组织和粘膜样品作为IRB批准的方案的一部分。HNSCC患者的临床表征概述于表2中。将收集到的组织速冻并封片入OCT冷冻介质(Fisher)中,切成7微米的切片并通过H&E标准方法染色。使用SCANSCOPE图像捕捉装置(Aperio)扫描染色的载片,并用IMAGESCOPE软件(Aperio)检查以确保存在肿瘤或粘膜鳞状上皮。使用染色的载片宏观

解剖 (macrodissect) 组织块以获得各样品中最少70%的所希望的鳞状肿瘤或上皮细胞。

[0142] 表2. 人类HNSCC试样的肿瘤、治疗及结果特征

[0143]

试样	性别	年龄	原发部位	分期/TNM	分化	抽烟/包数	酒精/戒酒
2900	M	57	外侧舌	T2N0M0	中等	NA	NA
3100	M	75	前舌	T1N0M0	差	MD	MD
3300	F	60	外侧舌	T3N1M0	中等	NA	NA
4300	F	47	外侧舌	T3N0M0	良好	Y/14	NA
4500	F	25	前舌	T4N2cM0	中等	NA	NA
8200	M	72	扁桃体	T4N0M0	良好	Y/150	Y
8400	M	44	外侧舌	T2N0M0	良好	Y/20	Y/Y
8500	F	40	外侧舌	T2N0M0	良好	NA	NA
8800	M	47	口底	T4N2bM0	中等	Y/45	Y
4400	F	41	口底	T1N0M0	良好	Y/60	Y/Y
7300	M	55	口底	T4N2cM0	良好	Y/30	Y
7500	F	71	硬腭	T4N0M0	中等	NA	NA
7800	M	55	外侧舌	T4N2bM0	差	Y/60	Y/Y
8300	F	50	外侧舌	T2N0M0	良好	Y/28	NA

[0144] 口腔HNSCC肿瘤试样是从密歇根大学获得并且称为UMSC。原发部位,原发肿瘤的起源;TNM,肿瘤-淋巴结-转移(分期系统)。Y:是;NA:无法得到。

[0145] HNSCC样品中微小RNA的分离、文库制备及测序:使用mirVanaTM miRNA分离试剂盒 (Life Technologies),遵循改良的制造商方案纯化出大RNA和小RNA。使用TissueLyser II 组织粉碎机 (Qiagen),在1mL TRIZOL (Invitrogen) 中使十五至二十毫克冷冻组织均化。均化之后,使用标准苯酚-氯仿方法进行提取。向提取的水相中添加10%添加剂 (v/v),接着,根据标准制造商的方案进行大RNA和小RNA的分级分离。使用NANODROP光谱仪 (Thermo Scientific) 测定RNA浓度,并且在Bioanalyzer 2100仪器上,使用RNA 6000Nano试剂盒 (Agilent Technologies) 验证总RNA完整性。利用Bioanalyzer,使用小RNA试剂盒 (Agilent Technologies) 验证富集小RNA的样品中存在足量的微小RNA。

[0146] 使用SOLiDTM Total RNA-Seq试剂盒 (Life Technologies),根据制造商的方案构建小RNA测序文库。简单点说,使用1 μ g富集的小RNA (<200个碱基) 用于连接至测序接头中。逆转录cDNA文库,并且接着通过在变性尿素10% PAGE上分离来选择尺寸。切下对应于18-38个核苷酸的插入序列尺寸的条带。接着,通过凝胶内PCR扩增文库并加上条形码 (barcoded)。在Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies) 上,使用DNA 1000试剂盒验证文库尺寸。利用SOLiDTM 文库TAQMAN定量试剂盒,通过RT-PCR测定cDNA文库浓度。将等量的八个cDNA文库多重 (multiplexed) 在一起并且使用0.6pmol多重池,使用SOLiDTM EZ BeadTM 系统,以E20试剂进行乳液PCR。根据制造商的方案,进行乳化、扩增及珠粒富集。使用SOLiDTM pre-deposition plus试剂盒,根据制造商的方案对各池富集的珠粒进行3'标记。在6泳道流控芯片 (flow chip) 的每个泳道中沉积 4×10^8 个珠粒,接着在SOLiDTM 5500系统下一代测序仪上,用SOLiDTM Small RNA SP试剂盒 (Life Technologies) 对流控芯片进行测序。

[0147] 微小RNA映射 (mapping)、表达谱定量及差异丰度分析:使用LifeScopeTM 2 (Life

Technologies) 中的miRNA模块,将测序read映射于人类参考基因组Hg19。下游步骤主要是使用miRDeep2软件包进行(Friedländer等人,《自然·生物技术》26:407-415,2008)。简单点说,呈sam格式的映射结果转化成miRDeep2中使用的arf格式且随后使用miRDeep2.p1指令码,使用默认设置鉴定测序结果中所有已知的和新颖的miRNA。最后,基于指定的read编号对所有鉴定的miRNA进行定量并使用所述样品中每百万的总计数归一化。

[0148] 使用SAMseq (samr v2.0,R 3.0.2) 的二类别不成对分析,利用read计数输入矩阵和FDR阈值0.05,鉴定差异表达的miRNA。每次操作产生一对文件:基因“上调”和“下调”,接着通过基于中值的倍数变化对过滤的结果进行评级。

[0149] miRNA层次聚类分析:使用笔记本电脑中的Partek Genomics Suite 6.6对微小RNA表达进行层次聚类分析。通过正常和肿瘤样品中的变化对RPM(每百万个的reads)归一化的微小RNA表达进行评级并选出前50%变化最大的微小RNA以去除低表达者。比较肿瘤与粘膜试样之间差异表达的微小RNA并遵循双尾student's T检验,通过p值<0.05进行过滤。将表达数据缩放至平均表达,并且接着使用Pearson相关性算法,利用全联动(complete linkage)进行层次聚类。

[0150] 用以鉴定HNSCC TCGA数据中的miRNA-mRNA对的整合分析:从第3级数据(可见于万维网tcga-data.nci.nih.gov/docs/publications/hnsc_2014)提取279个肿瘤试样的miRNA和mRNA丰度。针对与miRBase注释的miRNA比对的RPM将5p和3p链的miRNA的reads计数归一化。通过所有样品的RPM变化对miRNA评级,并使用50%变化最大并且表达最少的至少50RPM进行整合分析。由RNA-Seq数据,利用RSEM v1.1.132计算基因表达,并且零替换为最小非零RSEM值(0.0033)。使用变化最大的50%基因进行整合分析。miRNA和mRNA表达数据都经历 \log_2 变换。

[0151] 应用多步骤方法鉴定miRNA-mRNA靶关系。使用线性回归法结合来自miRNA靶数据库的可用预测工具,逐对鉴定miRNA和mRNA表达的负相关性。生成整体miRNA-mRNA相互作用的高置信度数据集。

[0152] 拷贝数变异(CNV)数据分析:从第3级数据提取出279个肿瘤试样的拷贝数数据。与各基因有关的CNV数量定义为在相应基因组位置处的分段式GISTIC5值。使用整合基因组浏览器(IGV)观察拷贝数数据。应用线性回归法评估miRNA表达与CNV之间的相关性。

[0153] TCGA DNA甲基化数据分析:对于DNA甲基化数据分析,使用了来自TCGA(癌症基因组图谱,《自然》517:576-582,2015)的279个肿瘤试样的第3级DNA甲基化数据。这些数据由Illumina人类甲基化450k阵列表示为 β 值(β)。使用PROmiRNA(可见于万维网promirna.molgen.mpg.de;Marsico等人,《基因组生物学(Genome Biol.)》14:R84,2013)中转录起始位点(TSS)的坐标发现来自miR-30家族的miRNA的启动子区中的CpG探针。启动子区指定为距TSS+/-1500bp。对于每个CpG,使用t检验估计未甲基化样品($\beta<0.1$)与甲基化样品($\beta>0.3$)之间miRNA丰度的差异。使用由t检验得到的BH校正的P值(FDR),使用0.05作为阈值,发现未甲基化组与甲基化组之间显著差异表达的CpG探针。接着,对每个miR的显著探针的甲基化 β 值求平均值,并使用Spearman相关性测试,与相应miR表达相关联。

[0154] 存活分析:使用2.37-2版R存活统计软件包(R survival statistical package)(可见于万维网CRAN.R-project.org/package=survival)分析总体存活时间,产生卡普兰-迈耶曲线并计算对数秩检验p值。使用各miRNA的中值表达作为截止值,将对象对分为低

miRNA表达(<中值)和高miRNA表达(≥中值)。为了通过CNV比较总体存活时间,如果对象的GISTIC拷贝数值小于-0.1,则将其归类为具有MIR30E/A缺失,否则认为其不具有缺失。

[0155] miR-30基因改变和表达与TCGA数据集中HNSCC的分期、部位、吸烟和HPV状态的关联:使用Fisher精确检验评估miR-30a表达/甲基化与临床特征之间,或miR-30e表达/拷贝数损失与临床特征之间的关联。使用3.2.2版R软件进行统计分析。显著性定义为p<0.05。如果肿瘤样品来自以下解剖学细分部的任一个:颊粘膜、口底、硬腭、唇、口腔、口舌及牙槽脊,则肿瘤部位归为口腔;如果肿瘤样品来自扁桃体、舌根或口咽,则肿瘤部位归为口咽。

[0156] miR-30a表达与推定的靶基因的逆相关性:如先前所描述(癌症基因组图谱,《自然》517:576-582,2015)进行线性回归分析,使用HNSCC TCGA数据集评估miR-30a-5p的表达与其推定的靶基因之间的反比关系。由线性回归得到的P值度量反比关系的统计显著性。

[0157] HNSCC细胞系:从密歇根大学鳞状细胞癌(UM-SCC)系列获得一组10个HNSCC细胞系(Brenner等人,《头与颈(Head Neck)》32:417-426,2010)。如Brenner等人中所描述,通过用9个标记物进行基因分型来鉴定这些UM-SCC细胞系的起源。保藏的冷冻细胞系储备液在培养的三个月内使用。在补充有10%胎牛血清、青霉素和链霉素(100μg/mL)、MEM非必需氨基酸及丙酮酸钠(1mM)的最低必需培养基中培养UM-SCC细胞系。从Lonza购得来自口腔牙龈粘膜的人类原代口腔角化细胞(HOK),并用作对照细胞系。这些细胞在含补充剂的无血清口腔角质细胞培养基(Science Cell)中培养少于五代。

[0158] 体外微小RNA模拟物活力筛选:将细胞维持在含有10%热灭活胎牛血清(FBS)并补充有非必需氨基酸和丙酮酸钠的MEM中。在384孔板(Corning 3570)中进行转染。使用CELLTITER-GLO发光细胞活力分析(Promega)测量细胞活力。对于转染,将20μL含有LIPOFECTAMINE RNAiMax试剂(0.1μL)的无血清培养基添加至含有miRNA模拟物(0.8pmol)的孔中。使脂质和miRNA模拟物在环境温度形成复合物,保持45分钟,随后添加含1500个细胞的MEM、20% FBS,得到在MEM、10% FBS中含有20nM miRNA模拟物的最终转染混合物。

[0159] 对基于Sanger miRBase 13.0并且由约800种模拟物组成的miRNA模拟物文库(Qiagen)进行筛选操作。转染后72小时,在PerkinElmer Envision 2104多标记读板仪(CellTiter Glo, Promega)上分析活力。在所有筛选板上掺入Ambion SILENCER Select阴性对照#2用于归一化(16个孔/板;使用各板上的中值阴性对照值使样品孔归一化)。掺入Qiagen的A11Stars细胞死亡对照(Cell Death control)作为阳性转染对照(16个孔/板)。所有筛选板都展现大于0.6的分析z'因子。使用绝对中位差(MAD)将阴性对照归一化的活力数据转化成稳定z分数(Chung等人,《生物分子筛选杂志(J.Biomol.Screen)》13:149-158,2008)。

[0160] mRNA靶的RT-PCR验证:将 2×10^5 个UM-SCC-46细胞涂铺于6孔板的各个孔中。使用3.75μL LIPOFECTAMINE RNAiMAX(Life Technologies),根据标准制造商方案,以15nM mirVana微小RNA模拟物或抑制剂(Life Technologies)进行反向转染,保持48-72小时。接着,用标准培养基和PBS洗涤细胞,并收集于0.5mL TRIZOL试剂中。使用mirVana miRNA分离试剂盒(Ambion)纯化总RNA。使用高容量cDNA逆转录试剂盒(Applied Biosystems),遵循制造商的说明书逆转录2μg总RNA。通过实时PCR,使用TAQMAN基因表达分析(Applied Biosystems)评估mRNA表达量,并在各反应中使用40ng的cDNA。反应是在ABI 7900HT实时PCR机器上操作。将表达量针对作为内源性加载对照的18S RNA归一化。

[0161] 蛋白质印迹法:如上文所描述转染UM-SCC-46细胞,并且接着将其裂解于100 μ L SDS裂解缓冲液(1% SDS、50mM Tris pH 8.0、10mM EDTA、蛋白酶抑制剂(Roche)及Halt磷酸酶抑制剂(Thermo Scientific))中。在冰上,使用探针超声发生器对样品进行四次超声处理,每次持续5秒。通过在4°C 14,000 \times g离心10分钟使裂解产物变澄清。使用BCA蛋白质分析(Thermo Scientific)测定蛋白质浓度。在4-12%梯度的Bis-Tris凝胶(Invitrogen)上对25 μ g总蛋白质进行SDS-PAGE。使用XCELL转印系统(Invitrogen),将蛋白质转印至0.45 μ m PVDF IMMOBILON-FL膜(Millipore)上。用于探测的一抗列于下。使用适当IRDye荧光标记的二抗,在ODYSSEY®定量荧光成像仪上,使用标准制造商方案(LI-COR),以1:5000稀释度进行检测。使用3.0.30版Odyssey成像软件对各条带定量。

[0162] 一抗:EGFR 1:1000稀释(Cell Signaling Technology, #4405)、FRZD2 1:500稀释(Abcam, #52565)、IRS1 1:1000稀释(Cell Signaling Technology, #3407)、ITGA6 1:1000稀释(Cell Signaling Technology, #3750)、IGF1R 1:1000稀释(Cell Signaling Technology, #3018)、MET 1:1000稀释(Cell Signaling Technology, #8198)、Pan-AKT 1:1000稀释(Cell Signaling Technology, #2920)、pi-AKT Ser473 1:1000稀释(Cell Signaling Technology, #4060)、Src 1:1000稀释(Cell Signaling Technology, #2110)、pi-Src Tyr416 1:1000稀释(Cell Signaling Technology, #2101)、Stat3 1:1000稀释(Cell Signaling Technology, #9139)、pi-Stat3 Ser727 1:1000稀释(Cell Signaling Technology, #9134)。

[0163] 荧光素酶报导基因分析:编码克隆于海肾荧光素酶后的EGFR、IGF1R、MET和IRS1的野生型或突变型3'UTR的载体是从Switchgear Genomics购得。将细胞以每孔 1×10^4 个接种于白色底的96孔板中。次日,使用0.2 μ L DharmaFECT™Duo转染试剂(Thermo Scientific),用100ng载体和15nM微小RNA模拟物进行共转染。孵育细胞48小时。为使细胞数量归一化,将100 μ L CELLTITER-FLUOR细胞活力分析试剂(Promega)添加至各孔中,并在37°C孵育细胞30分钟。在505nm处读取荧光度以评估细胞活力。使用Renilla-Glo®荧光素酶分析系统(Promega),遵循制造商的说明书检测荧光素酶活性。相对荧光素酶活性是针对各孔的荧光活力读数归一化。所有测量值都表示在每一实验条件下6次重复实验的平均值。

[0164] XTT增殖分析:将细胞以 2×10^3 个细胞/孔接种于96孔板中并如上文所描述,在0.15 μ LRNAiMAX存在下,用15nM寡核苷酸反向转染48小时。转染之后,将200 μ L对照或含有2 μ M顺铂的培养基放在细胞上,保持3小时。用温热的培养基洗涤细胞,接着添加新鲜培养基。在指定日,用3'-[1-(苯基氨基脲基)3,4-四唑]-双(4-甲氧基-6-硝基)苯磺酸钠水合物(XTT)细胞增殖试剂盒(Roche Diagnostics),遵循制造商的说明书分析细胞增殖情况。添加XTT分析试剂保持4小时,之后进行分析。在每个时间点,在450nm和655nm处读取吸光度,并计算 Δ 吸光度。所有时间点都表示在每一实验条件下6次重复实验的平均值。

[0165] 迁移分析:将细胞以 4×10^5 个细胞/孔接种于6孔板中并如上文所描述,用15 μ M寡核苷酸反向转染48小时。转染之后,更换培养基并用p1000移液管尖在各孔中侧向和纵向产生无细胞的刮痕。在各种时间点,在100 \times 放大率下使各刮痕的四个标记的位置成像。使用ImageJ软件测定刮痕的面积(Schneider等人,《自然-方法(Nat. Methods)》9:971-675,2012),并计算随时间迁移至空区域中的百分比。

[0166] MATRIGEL侵袭分析:将细胞接种于6孔板中并如上文所描述,在RNAiMAX存在下,用

15μM寡核苷酸反向转染48小时。转染之后,以胰蛋白酶处理细胞并使其悬浮于不含添加剂的DMEM中。按照制造商的说明书,准备BioCoat™低生长因子侵袭小室(Growth Factor Reduced Invasion Chambers;BD Biosciences)。将 5×10^4 个细胞放入各小室的顶部中。将各小室的底面放入在DMEM中含有100ng/mL rEGF(Millipore)作为化学引诱剂的孔中。在37℃孵育各小室24小时。通过擦洗侵袭膜的顶部去除非侵袭细胞,并用0.05%结晶紫的甲醇溶液(Sigma)对侵袭细胞染色,保持1分钟。将侵袭膜安放在载玻片上并在100×放大率下对侵袭细胞计数。

[0167] 集落形成分析:将细胞接种于6孔板中并如上文所描述,在RNAiMAX存在下,用15μM寡核苷酸反向转染48小时。转染之后,以胰蛋白酶处理细胞并将其以不同密度再涂铺于6孔板中。孵育细胞11天,接着用0.1%结晶紫/甲醇溶液染色。在三个重复实验孔中对具有>50个细胞的集落进行计数,并计算存活细胞的分数。

[0168] 带有抗转铁蛋白受体单链抗体片段的miR30a纳米粒子的研究:由Tri link Biotechnologies合成荧光siRNA以测试纳米粒子的体内递送,并如先前所描述(Pirollo等人,《人类基因疗法(Hum. Gene Ther.)》17:117-124,2006;Pirollo等人,《癌症研究(Cancer Res.)》67:2938-2943,2007;Yu等人,《核酸研究(Nucleic Acids Res.)》32:e48,2004),将寡核苷酸配制于脂质体中。简单点说,使1:1摩尔比的各单链反义与同源有义寡核苷酸退火。通过乙醇注射,以1:1摩尔比制备阳离子脂质体(二油酰基三甲基磷酸铵(DOTAP)和二油酰基磷脂酰乙醇胺(DOPE),阿拉巴马州阿拉巴斯特(Alabaster, AL)的Avanti Polar Lipids) (Xu等人,《分子医学(Nol. Med.)》7:723-734,2001)。将抗转铁蛋白受体单链抗体片段(TfRscFv)与所述脂质体以先前确定的1:30(w/w)比率混合(Yu等人,《核酸研究》32:e48,2004)。随后,将miRNA分子以1μg siRNA/7nmol脂质体的比率添加至混合物中,随后利用Malvern Zetasizer 3000HS(英国伍斯特郡(Worcestershire, UK)的Malvern),通过动态光散射测定最终免疫脂质体配制物的尺寸并确定其纳米尺寸粒子分布。由Tri link Biotechnologies合成具有引导链序列5'-UGUAACAUCCUCGACUGGAAGCU-3'(SEQ ID NO:1)和过客链序列5'-AGCUUCCAGUCGGAUGUUACACG-3'(SEQ ID NO:72)的miR-30a模拟物寡核苷酸。退火之后,如上文所描述,配制模拟物。复合的miR30a模拟物称为miR-30a-scL。

[0169] 体内肿瘤靶向和生长分析:所有动物实验都是根据NIDCD动物护理和使用委员会(Animal Care and Use Committee)批准的方案进行,并且遵守美国国家科学委员会(National Research Council)的实验动物资源护理和使用指导(Guide for the Care and Use of Laboratory Animal Resource) (1996)。在六至八周龄的无胸腺nu/nu雌性小鼠(从NCI的Frederick Cancer Research and Development Center获得)的右腿皮下(s.c.)注射含 2×10^6 个UM-SCC-46细胞的100μL 30%第3型BME Cultrex(Trevigen)/MEM培养基。在肿瘤达到约100mm³后(注射之后约1周),将小鼠随机分入四个处理组(n=4-5只小鼠/组);对照和miR-30a-scL。连续三周,在星期一、星期三和星期五(MWF),通过尾静脉注射施用九剂3mg/kg miR-30a-scL,总计九次剂量。在MWF,用外部卡尺测量肿瘤尺寸,并用公式V=1/2L*W²计算体积。肿瘤生长以平均体积加平均值的标准误差报导。在GraphPad PRISM软件(v6.05)中进行卡普兰-迈耶存活分析。存活统计是使用对数秩(Mantel-Cox)检验进行,并且风险比是通过对数秩检验计算。

[0170] 免疫荧光法:将新鲜肿瘤包埋于OCT中,接着立即在干冰上冷冻。将肿瘤组织切成5

μm的切片。在-20°C用冰冷的甲醇(马萨诸塞州比尔里卡(Billerica, MA)的EMD Millipore Corporation)固定切片7分钟。接着,用PBS洗涤样品三次。通过在室温,在潮湿腔室中与阻断溶液1(含3% BSA+0.05% Tween 20的1×PBS)一起孵育一小时,随后与阻断溶液2(含10% NGS的1×PBS)一起孵育一小时来阻断切片。接着,在潮湿腔室中,将切片与在稀释溶液(含1% BSA+0.1% Tween 20的1×PBS)中稀释的一抗一起在4°C孵育过夜。用1×PBS洗涤细胞五次之后,在暗处,将载片用Vectashield封片介质和DAPI(加利福尼亚州伯林盖姆(Burlingame, CA)的Vector Laboratories Inc)封片。在LSM 780共聚焦显微镜(纽约州索恩伍德(Thornwood, NY)的Carl Zeiss Microimaging)上分析样品。使用Zen 2012SP1(黑色版)软件分析共聚焦数据并使用Zen 2012(蓝色版)软件确定颜色强度。

[0171] 实施例2

[0172] HNSCC组织中miR-30家族成员的表达减少

[0173] 为了检查在HNSCC组织中差异表达的miRNA(miR),对TCGA(癌症基因组图谱2015)公开的279个HNSCC和16个鳞状粘膜对照试样的miR测序数据进行分析。通过肿瘤与粘膜试样之间的差异表达分析,鉴定出129个miR,包括77个表达增加的miR和53个表达减少的miR(FDR<0.2;表3,图1;图2A和2B)。通过一组独立的来自口腔的13个HNSCC试样和来自密歇根大学的9个相配的粘膜样品的miR测序和表达分析来验证这些观察结果(表4)。逐对比较两个数据集中显著改变并且得到验证的miR,揭示了miR-30家族中表达减少的若干成员,及在先前研究中鉴定的若干miR(图2C和2D;表3和4)。值得注意的是,在两组中>70%的试样中,miR-30-5p家族成员展现至少2倍的表达减少。

[0174] 表3.HNSCC(TCGA集)中差异表达的miRNA

miRNA	MIMAT ID	Geneind	分数	倍数变化	qval
表达增加					
hsa-miR-21-5p	MIMAT0000076	12	1799.9	2.848	0
hsa-miR-196b-5p	MIMAT0001080	101	1719.9	6.054	0
hsa-miR-455-3p	MIMAT0004784	126	1714.45	5.598	0
hsa-miR-106b-3p	MIMAT0004672	150	1699.15	2.131	0

miRNA	MIMAT ID	Geneind	分数	倍数变化	qval
hsa-let-7d-3p	MIMAT0004484	142	1658.35	1.833	0
hsa-miR-151a-5p	MIMAT0004697	123	1634.75	2.301	0
hsa-miR-423-5p	MIMAT0004748	124	1620.05	2.205	0
hsa-miR-424-5p	MIMAT0001341	103	1554.25	2.837	0
hsa-miR-181b-5p	MIMAT0000257	43	1513.55	1.724	0
hsa-miR-1307-3p	MIMAT0005951	132	1488.5	1.985	0
hsa-miR-320a	MIMAT0000510	83	1418.85	1.965	0
hsa-miR-185-5p	MIMAT0000455	79	1402.75	1.853	0
hsa-let-7d-5p	MIMAT0000065	4	1402.05	1.483	0
hsa-miR-2355-5p	MIMAT0016895	133	1388.9	2.368	0
hsa-miR-193b-3p	MIMAT0002819	110	1374.6	3.458	0
hsa-miR-183-5p	MIMAT0000261	45	1361.35	2.469	0
hsa-miR-25-3p	MIMAT0000081	16	1347.85	1.547	0
hsa-miR-99b-3p	MIMAT0004678	151	1333.4	1.798	0
hsa-miR-181a-5p	MIMAT0000256	42	1325.4	1.582	0
hsa-miR-182-5p	MIMAT0000259	44	1308.85	2.178	0
hsa-miR-93-5p	MIMAT0000093	24	1282.15	2.317	0
hsa-miR-589-5p	MIMAT0004799	128	1276.8	1.686	0
hsa-miR-28-3p	MIMAT0004502	117	1236.75	1.574	0
hsa-miR-103a-3p	MIMAT0000101	30	1230.4	1.437	0
hsa-miR-92b-3p	MIMAT0003218	112	1223.3	2.018	0
hsa-miR-146b-5p	MIMAT0002809	109	1221.2	1.906	0
hsa-miR-944	MIMAT0004987	131	1211.9	1.928	0
hsa-miR-197-3p	MIMAT0000227	33	1171.35	1.551	0
hsa-miR-542-3p	MIMAT0003389	115	1155.65	1.97	0
hsa-miR-92a-3p	MIMAT0000092	23	1132.25	1.612	0
hsa-miR-423-3p	MIMAT0001340	102	1129.25	1.848	0
hsa-miR-708-5p	MIMAT0004926	130	1119.8	1.866	0
hsa-miR-15b-5p	MIMAT0000417	57	1097.6	1.473	0
hsa-miR-148b-3p	MIMAT0000759	99	1097.4	1.442	0
hsa-miR-484	MIMAT0002174	107	1084.6	1.556	0
hsa-miR-342-3p	MIMAT0000753	97	1063.8	1.875	0
hsa-let-7i-5p	MIMAT0000415	56	1049.75	1.504	0
hsa-miR-224-5p	MIMAT0000281	53	1038	2.3	0
hsa-miR-16-5p	MIMAT0000069	8	1025.6	1.404	0
hsa-miR-210-3p	MIMAT0000267	49	1022.25	2.406	0
hsa-miR-222-3p	MIMAT0000279	51	1021.1	1.716	0
hsa-miR-151a-3p	MIMAT0000757	98	1020.25	1.43	0
hsa-miR-181a-2-3p	MIMAT0004558	145	1015.45	1.452	0
hsa-miR-106b-5p	MIMAT0000680	86	993	1.334	0
hsa-miR-17-5p	MIMAT0000070	9	991.5	1.816	0
hsa-let-7e-5p	MIMAT0000066	5	983.4	1.6	0
hsa-miR-193a-5p	MIMAT0004614	121	929.5	1.591	0
hsa-miR-15a-5p	MIMAT0000068	7	929	1.501	0
hsa-miR-708-3p	MIMAT0004927	154	915.35	1.55	0
hsa-miR-132-3p	MIMAT0000426	63	898.15	1.336	0
hsa-miR-181a-3p	MIMAT0000270	136	878.8	1.372	0
hsa-miR-191-5p	MIMAT0000440	70	859.15	1.539	0
hsa-miR-9-5p	MIMAT0000441	71	810.95	2.349	0

[0176]

miRNA	MIMAT ID	Geneind	分数	倍数变化	qval
hsa-miR-99b-5p	MIMAT0000689	89	778.8	1.323	0
hsa-miR-574-3p	MIMAT0003239	113	738.3	1.38	0
hsa-miR-205-5p	MIMAT0000266	48	721.95	1.562	0
hsa-let-7i-3p	MIMAT0004585	146	708.95	1.506	0.113
hsa-miR-365a-3p	MIMAT0000710	92	695.85	1.406	0.212
hsa-miR-223-3p	MIMAT0000280	52	690	1.721	0.212
hsa-miR-20a-5p	MIMAT0000075	11	687.7	1.623	0.212
hsa-miR-425-5p	MIMAT0003393	116	678.25	1.683	0.212
hsa-miR-200c-3p	MIMAT0000617	84	667.55	1.401	0.212
hsa-miR-625-3p	MIMAT0004808	153	655.6	1.371	0.212
hsa-miR-155-5p	MIMAT0000646	85	631.85	1.358	0.311
hsa-miR-192-5p	MIMAT0000222	32	629.6	1.233	0.311
hsa-miR-21-3p	MIMAT0004494	143	615.1	1.748	0.406
hsa-miR-186-5p	MIMAT0000456	80	613.95	1.177	0.406
hsa-miR-23a-3p	MIMAT0000078	14	578.15	1.224	0.602
hsa-miR-200c-5p	MIMAT0004657	149	536.1	1.448	0.787
hsa-miR-98-5p	MIMAT0000096	25	525.65	1.1	0.787
hsa-miR-629-5p	MIMAT0004810	129	505.75	1.178	0.974
hsa-miR-24-3p	MIMAT0000080	15	482.85	1.075	1.311
hsa-miR-146a-5p	MIMAT0000449	76	477.95	1.237	1.311
hsa-miR-221-3p	MIMAT0000278	50	477	1.227	1.311
hsa-miR-142-3p	MIMAT0000434	66	430.8	1.419	1.838
hsa-miR-28-5p	MIMAT0000085	20	402.7	1.09	2.323
hsa-miR-22-3p	MIMAT0000077	13	391.85	1.163	2.479
表达减少					
hsa-miR-101-3p	MIMAT0000099	28	-1893.1	0.269	0
hsa-miR-100-5p	MIMAT0000098	27	-1867.35	0.259	0
hsa-miR-126-5p	MIMAT0000444	137	-1849.95	0.417	0
hsa-miR-375	MIMAT0000728	93	-1819.6	0.029	0
hsa-miR-99a-5p	MIMAT0000097	26	-1811.3	0.207	0
hsa-let-7c-5p	MIMAT0000064	3	-1629.3	0.286	0
hsa-miR-30a-5p	MIMAT0000087	22	-1600.15	0.391	0
hsa-miR-30e-5p	MIMAT0000692	90	-1598	0.522	0
hsa-miR-27b-3p	MIMAT0000419	59	-1545.15	0.414	0
hsa-miR-199b-5p	MIMAT0000263	46	-1544.4	0.398	0
hsa-miR-378a-5p	MIMAT0000731	139	-1537.6	0.396	0
hsa-miR-125b-5p	MIMAT0000423	61	-1530.95	0.467	0
hsa-miR-338-3p	MIMAT0000763	100	-1482.1	0.397	0
hsa-miR-29a-3p	MIMAT0000086	21	-1469.7	0.474	0
hsa-miR-29c-3p	MIMAT0000681	87	-1439.25	0.286	0
hsa-miR-30a-3p	MIMAT0000088	135	-1417.6	0.332	0
hsa-miR-26a-5p	MIMAT0000082	17	-1361.5	0.595	0
hsa-miR-140-3p	MIMAT0004597	119	-1347.05	0.579	0
hsa-miR-378a-3p	MIMAT0000732	94	-1330.5	0.489	0
hsa-miR-10b-5p	MIMAT0000254	40	-1282	0.485	0
hsa-miR-23b-3p	MIMAT0000418	58	-1268.4	0.656	0
hsa-miR-203a-3p	MIMAT0000264	47	-1176.7	0.409	0
hsa-miR-381-3p	MIMAT0000736	96	-1054.75	0.376	0

[0177]

miRNA	MIMAT ID	Geneind	分数	倍数变化	qval
hsa-miR-486-5p	MIMAT0002177	108	-983.9	0.474	0
hsa-miR-379-5p	MIMAT0000733	95	-980.65	0.527	0
hsa-miR-30e-3p	MIMAT0000693	138	-881.8	0.687	0
hsa-miR-26b-5p	MIMAT0000083	18	-879.55	0.691	0
hsa-miR-199a-3p	MIMAT0000232	35	-874.45	0.712	0
hsa-miR-199b-3p	MIMAT0004563	118	-869.1	0.71	0
hsa-miR-582-3p	MIMAT0004797	127	-720.2	0.693	0.964
hsa-miR-451a	MIMAT0001631	105	-692.2	0.458	1.299
hsa-miR-126-3p	MIMAT0000445	73	-639.75	0.709	2.003
hsa-miR-143-3p	MIMAT0000435	67	-633.15	0.651	2.003
hsa-miR-199a-5p	MIMAT0000231	34	-611.7	0.695	2.633
hsa-miR-29b-3p	MIMAT0000100	29	-580.2	0.837	2.633
hsa-miR-10a-5p	MIMAT0000253	39	-569.5	0.596	2.758
hsa-miR-206	MIMAT0000462	82	-535.9	0.05	2.88
hsa-miR-145-5p	MIMAT0000437	68	-535.8	0.793	2.88
hsa-miR-34a-5p	MIMAT0000255	41	-508.05	0.787	3.023
hsa-miR-127-5p	MIMAT0004604	120	-497.3	0.875	3.023
hsa-miR-127-3p	MIMAT0000446	74	-483.45	0.779	3.137
hsa-miR-30d-5p	MIMAT0000245	38	-475.45	0.846	3.274
hsa-miR-148a-3p	MIMAT0000243	36	-466.6	0.899	3.274
hsa-miR-144-5p	MIMAT0004600	148	-412.75	0.565	3.864
hsa-miR-30b-5p	MIMAT0000420	60	-404.5	0.895	3.992
hsa-miR-200b-3p	MIMAT0000318	54	-390.75	0.933	4.118
hsa-miR-17-3p	MIMAT0000071	134	-349.75	0.852	4.713
hsa-miR-374a-3p	MIMAT0004688	152	-314.95	0.808	5.143
hsa-miR-532-5p	MIMAT0002888	111	-276.15	0.894	5.982
hsa-miR-149-5p	MIMAT0000450	77	-271.75	0.823	5.982
hsa-miR-150-5p	MIMAT0000451	78	-195	0.779	7.762
hsa-let-7b-5p	MIMAT0000063	2	-184.35	0.97	8.004
hsa-let-7a-5p	MIMAT0000062	1	-174.75	0.898	8.242

[0178] 表4.HNSCC (UMSC集) 中差异表达的miRNA的验证

miRNA	MIMAT ID	Geneind	分数	倍数变化	qval
表达增加					
hsa-miR-517a-3p	MIMAT0002852	1414	54.65	3.3E+09	0
hsa-miR-517c-3p	MIMAT0002866	1416	54.55	1.5E+09	0
hsa-miR-517b-3p	MIMAT0002857	1415	52.95	3.3E+09	0
hsa-miR-132-5p	MIMAT0004594	167	49.8	3.551	0
hsa-miR-542-5p	MIMAT0003340	1467	46.5	4.807	0
hsa-miR-223-5p	MIMAT0004570	365	45.5	10.963	0
hsa-miR-29b-1-5p	MIMAT0004514	415	45.35	4.115	0
hsa-miR-2355-5p	MIMAT0016895	373	42.1	2.314	4.332
hsa-miR-196a-5p	MIMAT0000226	292	41.3	11.348	4.332
hsa-miR-196b-5p	MIMAT0001080	294	41.15	14.732	4.332
hsa-miR-181a-3p	MIMAT0000270	241	40.4	4.319	5.56
hsa-miR-181a-2-3p	MIMAT0004558	242	39.3	4.229	5.56
hsa-miR-941	MIMAT0004984	1722	39.15	4.512	5.56
hsa-miR-503-5p	MIMAT0002874	1382	39.05	18.902	5.56

[0179] 表4.HNSCC (UMSC集) 中差异表达的miRNA的验证

miRNA	MIMAT ID	Geneind	分数	倍数变化	qval
hsa-miR-132-3p	MIMAT0000426	166	38.4	1.889	6.749
hsa-miR-520f-3p	MIMAT0002830	1445	36.75	2.5E+08	6.749
hsa-miR-9-5p	MIMAT0000441	1701	36.5	11.27	6.749
hsa-miR-519d-3p	MIMAT0002853	1434	35.95	3.7E+08	7.95
hsa-miR-515-3p	MIMAT0002827	1407	35.8	2.6E+08	7.95
hsa-miR-519e-3p	MIMAT0002829	1435	35.15	1.5E+08	7.95
hsa-miR-520g-3p	MIMAT0002858	1446	35.1	3.1E+08	7.95
hsa-miR-520h	MIMAT0002867	1447	35	4.2E+08	7.95
hsa-miR-301b-3p	MIMAT0004958	421	34.95	2.786	7.95
hsa-miR-424-5p	MIMAT0001341	825	34.75	3.119	7.95
hsa-miR-21-5p	MIMAT0000076	332	34.55	8.413	7.95
hsa-miR-455-5p	MIMAT0003150	1068	34.5	2.6	7.95
hsa-miR-542-3p	MIMAT0003389	1466	34.15	2.303	8.87
hsa-miR-185-5p	MIMAT0000455	254	33.75	2.669	9.747
hsa-miR-187-3p	MIMAT0000262	258	33.05	4.158	11.136
hsa-miR-28-3p	MIMAT0004502	400	32.15	2.285	11.764
hsa-miR-450b-5p	MIMAT0004909	1024	32.05	2E+08	11.764
hsa-let-7i-5p	MIMAT0000415	16	32	3.185	11.764
hsa-miR-455-3p	MIMAT0004784	1067	31.45	3.077	13.442
hsa-miR-1256	MIMAT0005907	92	31.1	2.352	15.247
hsa-miR-518d-5p	MIMAT0005456	1423	29.65	1.3E+08	20.059
hsa-miR-34c-5p	MIMAT0000686	614	29.6	2.194	20.059
hsa-miR-146a-3p	MIMAT0004608	203	29.3	3.4E+08	20.059
hsa-miR-214-5p	MIMAT0004564	347	29.15	2.011	20.059
hsa-miR-29a-5p	MIMAT0004503	413	29.15	1.772	20.059
表达减少					
hsa-miR-100-5p	MIMAT0000098	19	-53.5	0.548	0
hsa-miR-99a-5p	MIMAT0000097	1730	-52.65	0.408	0
hsa-miR-375	MIMAT0000728	741	-51.5	0.036	0
hsa-miR-204-5p	MIMAT0000265	319	-50.5	0.103	0
hsa-miR-92b-3p	MIMAT0003218	1710	-48.4	0.352	0
hsa-miR-423-5p	MIMAT0004748	824	-47.25	0.553	0
hsa-miR-1247-5p	MIMAT0005899	82	-46.75	0.092	0
hsa-miR-139-5p	MIMAT0000250	187	-46.15	0.344	0
hsa-miR-99a-3p	MIMAT0004511	1731	-45.75	0.267	0
hsa-miR-125b-2-3p	MIMAT0004603	99	-45.65	0.302	0
hsa-miR-30d-5p	MIMAT0000245	445	-44.15	0.318	0
hsa-miR-193a-3p	MIMAT0000459	284	-42.75	0.321	0
hsa-miR-365a-3p	MIMAT0000710	657	-42.4	0.393	0
hsa-miR-378b	MIMAT0014999	750	-40.9	0.307	0
hsa-miR-328-3p	MIMAT0000752	585	-40.35	0.42	0
hsa-miR-338-3p	MIMAT0000763	595	-40.1	0.276	0
hsa-miR-497-5p	MIMAT0002820	1368	-39.95	0.319	0
hsa-miR-92a-3p	MIMAT0000092	1707	-39.8	0.639	0
hsa-miR-378e	MIMAT0018927	753	-39.65	0.347	0
hsa-miR-30a-5p	MIMAT0000087	438	-39.4	0.452	0
hsa-miR-26a-5p	MIMAT0000082	391	-38.85	0.435	0
hsa-miR-195-5p	MIMAT0000461	290	-38.7	0.429	0

[0181]

[0182]

miRNA	MIMAT ID	Geneind	分数	倍数变化	qval
hsa-miR-30c-5p	MIMAT0000244	442	-37.9	0.386	0
hsa-miR-210-3p	MIMAT0000267	334	-37.3	0.477	2.822
hsa-miR-30e-5p	MIMAT0000692	447	-37.15	0.434	2.822
hsa-miR-423-3p	MIMAT0001340	823	-37.05	0.513	2.822
hsa-miR-30b-5p	MIMAT0000420	440	-36.8	0.488	2.822
hsa-miR-136-3p	MIMAT0004606	181	-35.4	0.319	2.822
hsa-miR-200b-5p	MIMAT0004571	313	-35.4	0.548	2.822
hsa-miR-24-1-5p	MIMAT0000079	381	-35.4	0.641	2.822
hsa-miR-378d	MIMAT0018926	752	-35.1	0.365	2.822
hsa-miR-378g	MIMAT0018937	755	-34.95	0.364	2.822
hsa-miR-887-3p	MIMAT0004951	1692	-34.85	0.249	2.822
hsa-miR-205-5p	MIMAT0000266	320	-34.5	0.405	2.822
hsa-miR-885-5p	MIMAT0004947	1691	-34.4	0	2.822
hsa-miR-211-5p	MIMAT0000268	335	-34	0.074	2.822
hsa-miR-378f	MIMAT0018932	754	-33.95	0.361	2.822
hsa-miR-222-3p	MIMAT0000279	362	-33.8	0.596	2.822
hsa-miR-23c	MIMAT0018000	379	-33.65	0.598	2.822
hsa-miR-378c	MIMAT0016847	751	-33.45	0.516	2.822
hsa-miR-376a-3p	MIMAT0000729	742	-32.85	0.483	4.58
hsa-miR-335-5p	MIMAT0000765	591	-32.75	0.218	4.58
hsa-miR-378i	MIMAT0019074	757	-32.5	0.558	4.58
hsa-miR-378a-3p	MIMAT0000732	748	-32.45	0.477	4.58
hsa-miR-378h	MIMAT0018984	756	-32.45	0.296	4.58
hsa-miR-125b-5p	MIMAT0000423	97	-32.4	0.624	4.58
hsa-miR-381-3p	MIMAT0000736	762	-32.35	0.129	4.58
hsa-miR-24-3p	MIMAT0000080	380	-32.3	0.856	4.58
hsa-miR-486-3p	MIMAT0004762	1351	-32.1	0.172	4.58
hsa-miR-664a-3p	MIMAT0005949	1647	-32.1	0.34	4.58
hsa-miR-532-3p	MIMAT0004780	1461	-32	0.37	4.58
hsa-miR-30a-3p	MIMAT0000088	439	-31.65	0.429	4.58
hsa-miR-95-3p	MIMAT0000094	1726	-31.5	0.444	5.174
hsa-miR-337-5p	MIMAT0004695	594	-30.9	0.251	5.478
hsa-miR-361-5p	MIMAT0000703	627	-29.85	0.601	7.87
hsa-miR-874-3p	MIMAT0004911	1683	-29.85	0.397	7.87
hsa-miR-200a-3p	MIMAT0000682	310	-29.55	0.326	8.977
hsa-miR-145-5p	MIMAT0000437	198	-29.25	0.65	9.861
hsa-miR-4284	MIMAT0016915	862	-28.7	0.281	10.464
hsa-miR-377-5p	MIMAT0004689	747	-28.65	0.133	10.464
hsa-miR-30e-3p	MIMAT0000693	448	-28.55	0.585	10.464
hsa-miR-33b-5p	MIMAT0003301	601	-28.2	0.313	10.746
hsa-miR-744-5p	MIMAT0004945	1666	-28.2	0.396	10.746
hsa-miR-186-5p	MIMAT0000456	256	-27.35	0.516	13.582
hsa-miR-499a-5p	MIMAT0002870	1372	-27	0	14.255
hsa-miR-141-3p	MIMAT0000432	190	-26.75	0.471	14.255
hsa-miR-26b-5p	MIMAT0000083	394	-26.7	0.667	14.255
hsa-miR-181c-5p	MIMAT0000258	244	-26.45	0.399	14.255
hsa-miR-133b	MIMAT0000770	173	-26.35	0.106	14.255
hsa-miR-203a-3p	MIMAT0000264	318	-26.3	0.51	14.255
hsa-miR-136-5p	MIMAT0000448	180	-26.25	0.628	14.968

miRNA	MIMAT ID	Geneind	分数	倍数变化	qval
hsa-miR-376c-3p	MIMAT0000720	745	-25.95	0.294	14.968
hsa-miR-3622a-5p	MIMAT0018003	647	-25.9	0	14.968
hsa-miR-154-5p	MIMAT0000452	226	-25.85	0.397	14.968
hsa-miR-133a-3p	MIMAT0000427	172	-25.75	0.099	14.968
hsa-miR-574-3p	MIMAT0003239	1543	-25.7	0.434	14.968
hsa-mir-1280	MIMAT0005946	132	-25.65	0.425	14.968
hsa-miR-149-5p	MIMAT0000450	214	-25.65	0.473	14.968
hsa-miR-214-3p	MIMAT0000271	346	-25.6	0.492	14.968
hsa-miR-1291	MIMAT0005881	146	-25.3	0	16.057
hsa-miR-126-5p	MIMAT0000444	101	-25.2	0.627	16.057
hsa-miR-484	MIMAT0002174	1348	-25.15	0.525	16.057
hsa-miR-23a-3p	MIMAT0000078	375	-24.9	0.79	16.057
hsa-miR-99b-5p	MIMAT0000689	1732	-24.9	0.676	16.057
hsa-miR-199b-5p	MIMAT0000263	304	-24.7	0.562	16.435
hsa-miR-1271-5p	MIMAT0005796	118	-24.45	0.624	16.686
hsa-miR-1268a	MIMAT0005922	111	-24.3	0	16.933
hsa-miR-186-3p	MIMAT0004612	257	-24.1	0.396	17.415
hsa-miR-3615	MIMAT0017994	635	-24.1	0.37	17.415
hsa-miR-422a	MIMAT0001339	822	-23.7	0	18.026
hsa-miR-1249-3p	MIMAT0005901	84	-23.4	0.287	18.627

[0183] 实施例3

[0185] miR-30家族成员抑制HNSCC增殖

[0186] 在将781个miR的文库转染至人类HNSCC细胞系UM-SCC-1中之后,进行独立的功能性基因组学筛选以鉴定出抑制增殖的候选miR(表5)。为了富集疾病生物学相关miR的筛选命中(hit),通过TCGA和UMSC验证数据集中的序列谱,针对展示表达减少的miR过滤展示高抗增殖活性(MAD分数<-1)的miR(图3A和3B)。鉴定出肿瘤试样中表达减少的九个miR,这些miR当在功能性基因组筛选过程中再表达时展示显著抑制活性(图3C)。值得关注的是,miR-30-5p家族的若干成员也存在于这一类高度选择的miR中,证实了miR-30-5p家族成员在HNSCC中的生物和功能重要性。其中,miR-30a-5p和miR-30e-5p在粘膜样品中最高表达,且在所有肿瘤试样中降低(图3D)。

[0187] 表5. 抑制HNSCC增殖的候选miRNA

基因	信号	MAD 分数	MIMAT ID
hsa-miR-29b-1-5p	4.187766	-2.2489101	MIMAT0004514
hsa-miR-593-5p	8.12201	-2.0705311	MIMAT0003261
hsa-miR-603	9.64568	-2.0014477	MIMAT0003271
hsa-miR-137	10.4889	-1.9632159	MIMAT0000429
hsa-miR-217	10.51062	-1.9622312	MIMAT0000274
hsa-miR-570-3p	10.55155	-1.9603754	MIMAT0003235
hsa-miR-27b-5p	13.10053	-1.8448044	MIMAT0004588
hsa-miR-216b-5p	13.18732	-1.8408692	MIMAT0004959
hsa-miR-589-5p	14.47781	-1.7823586	MIMAT0004799
hsa-miR-9-5p	14.53328	-1.7798433	MIMAT0000441
hsa-miR-145-5p	15.30917	-1.7446645	MIMAT0000437
hsa-miR-96-5p	15.68504	-1.7276227	MIMAT0000095
hsa-miR-657	15.87208	-1.7191421	MIMAT0003335

基因	信号	MAD 分数	MIMAT ID
hsa-miR-608	17.80167	-1.6316544	MIMAT0003276
hsa-miR-619-3p	18.3711	-1.6058364	MIMAT0003288
hsa-miR-548o-3p	18.76871	-1.5878087	MIMAT0005919
hsa-miR-26a-5p	18.84667	-1.584274	MIMAT0000082
hsa-miR-633	19.39796	-1.5592783	MIMAT0003303
hsa-miR-542-5p	19.68481	-1.5462724	MIMAT0003340
hsa-miR-330-3p	20.29708	-1.5185119	MIMAT0000751
hsa-miR-1272	20.4797	-1.5102322	MIMAT0005925
hsa-miR-136-5p	20.69347	-1.5005399	MIMAT0000448
hsa-miR-1236-3p	20.87731	-1.4922045	MIMAT0005591
hsa-miR-375	21.15436	-1.4796432	MIMAT0000728
hsa-miR-875-5p	21.1604	-1.4793693	MIMAT0004922
hsa-miR-802	21.51106	-1.4634702	MIMAT0004185
hsa-miR-1270	21.73955	-1.4531104	MIMAT0005924
hsa-miR-491-5p	21.80712	-1.4500466	MIMAT0002807
hsa-miR-548d-3p	21.98693	-1.441894	MIMAT0003323
hsa-miR-1201	22.4862	-1.4192573	死亡
hsa-miR-1826	22.56671	-1.4156069	死亡
hsa-miR-888-5p	22.91194	-1.3999539	MIMAT0004916
hsa-miR-513a-3p	23.13434	-1.3898705	MIMAT0004777
hsa-miR-612	23.63225	-1.367295	MIMAT0003280
hsa-miR-30c-5p	23.73198	-1.3627735	MIMAT0000244
hsa-miR-1299	23.87786	-1.356159	MIMAT0005887
hsa-miR-1975	24.18666	-1.3421584	死亡
hsa-miR-24-1-5p	24.37669	-1.3335424	MIMAT0000079
hsa-miR-340-5p	24.59735	-1.3235374	MIMAT0004692
hsa-miR-138-2-3p	24.66306	-1.320558	MIMAT0004596
hsa-miR-541-5p	24.8673	-1.3112979	MIMAT0004919
hsa-miR-142-3p	25.09606	-1.300926	MIMAT0000434
hsa-miR-544a	25.14354	-1.2987732	MIMAT0003164
hsa-miR-567	25.30231	-1.2915744	MIMAT0003231
hsa-miR-146a-5p	25.30952	-1.2912476	MIMAT0000449
hsa-miR-630	25.58343	-1.2788285	MIMAT0003299
hsa-miR-18a-5p	25.87251	-1.2657217	MIMAT0000072
hsa-miR-616-3p	25.9572	-1.2618816	MIMAT0004805
hsa-miR-215-5p	26.08764	-1.2559675	MIMAT0000272
hsa-miR-578	26.42948	-1.2404685	MIMAT0003243
hsa-miR-30b-5p	26.86759	-1.2206044	MIMAT0000420
hsa-miR-186-5p	27.10501	-1.2098401	MIMAT0000456
hsa-miR-590-5p	27.12312	-1.2090186	MIMAT0003258
hsa-miR-518c-5p	27.12724	-1.2088321	MIMAT0002847
hsa-miR-7-5p	27.31268	-1.200424	MIMAT0000252
hsa-miR-342-3p	27.32802	-1.1997288	MIMAT0000753
hsa-miR-30a-5p	27.47793	-1.1929316	MIMAT0000087
hsa-miR-30e-5p	27.52222	-1.1909236	MIMAT0000692
hsa-miR-153-3p	27.61561	-1.1866895	MIMAT0000439
hsa-miR-139-5p	27.66021	-1.1846672	MIMAT0000250
hsa-miR-421	27.67275	-1.1840984	MIMAT0003339

[0189]

基因	信号	MAD 分数	MIMAT ID
hsa-miR-522-3p	27.88499	-1.1744755	MIMAT0002868
hsa-miR-580-3p	27.89437	-1.1740503	MIMAT0003245
hsa-miR-642a-5p	28.16026	-1.1619948	MIMAT0003312
hsa-miR-200c-3p	28.36733	-1.152606	MIMAT0000617
hsa-miR-503-5p	28.56057	-1.1438447	MIMAT0002874
hsa-miR-17-5p	28.65503	-1.139562	MIMAT0000070
hsa-miR-125b-2-3p	28.79045	-1.1334221	MIMAT0004603
hsa-miR-20a-5p	28.9898	-1.1243834	MIMAT0000075
hsa-miR-205-5p	29.07725	-1.1204183	MIMAT0000266
hsa-miR-618	29.10751	-1.1190463	MIMAT0003287
hsa-miR-30e-3p	29.33285	-1.1088292	MIMAT0000692
hsa-miR-124-5p	29.93332	-1.0816041	MIMAT0004591
hsa-miR-29a-5p	30.21309	-1.0689194	MIMAT0004503
hsa-miR-129-2-3p	30.31542	-1.0642796	MIMAT0004605
hsa-miR-599	30.36961	-1.0618225	MIMAT0003267
hsa-miR-191-5p	30.40741	-1.0601087	MIMAT0000440
hsa-miR-548b-5p	30.48026	-1.0568057	MIMAT0004798
hsa-miR-1244	30.49915	-1.0559492	MIMAT0005896
hsa-miR-452-5p	30.56421	-1.0529995	MIMAT0001635
hsa-miR-664a-3p	30.57374	-1.0525673	MIMAT0005949
hsa-miR-1184	30.70965	-1.0464051	MIMAT0005829
hsa-miR-586	30.75168	-1.0444994	MIMAT0003252
hsa-miR-573	30.87112	-1.0390839	MIMAT0003238
hsa-miR-885-5p	30.99188	-1.0336087	MIMAT0004947
hsa-miR-548h-5p	31.03215	-1.031783	MIMAT0005928
hsa-miR-542-3p	31.06854	-1.0301329	MIMAT0003389
hsa-miR-338-3p	31.07923	-1.0296484	MIMAT0000763
hsa-miR-200b-3p	31.15171	-1.0263622	MIMAT0000318
hsa-miR-651-5p	31.20514	-1.0239397	MIMAT0003321
hsa-miR-155-5p	31.22419	-1.0230761	MIMAT0000646
hsa-miR-526b-5p	31.3515	-1.0173037	MIMAT0002835
hsa-miR-1178-3p	31.37379	-1.0162931	MIMAT0005823
hsa-miR-449b-5p	31.38433	-1.015815	MIMAT0003327
hsa-miR-216a-5p	31.44441	-1.0130911	MIMAT0000273
hsa-miR-224-5p	31.57519	-1.0071617	MIMAT0000281
hsa-miR-19b-3p	31.59959	-1.0060554	MIMAT0000074
hsa-miR-506-3p	31.61057	-1.0055571	MIMAT0002878
hsa-miR-30d-5p	31.62978	-1.0046861	MIMAT0000245
hsa-miR-26b-5p	31.69762	-1.0016106	MIMAT0000083

[0190]

实施例4

- [0191] miRNA的呈反比表达的靶与促生长信号传导和转移mRNA的相关性
- [0192] 为了鉴定HNSCC中由若干miRNA调控的靶mRNA的网络及其潜在功能, 分别分析miR-30a-5p、miR-30b-5p、miR-30d-5p、miR-30e-5p、miR-26a-5p、miR-26b-5p、miR-145-5p、miR-205-5p及miR-375表达减少与在癌症中可能存在生物重要性的mRNA的逆相关性。在各miRNA与通过对TCGA数据集中的279个HNSCC肿瘤试样进行RNA-Seq获得的全基因组mRNA表达水平之间进行线性回归分析。结果示于表6-14中。
- [0193] 举例来说, 使用FDR≤0.05, 检测出91个mRNA与miR-30a的表达成反比, 并且基于Ingenuity途径分析(IPA)微小RNA靶过滤器, 检测到其在3'UTR中含有预测或验证的miR-

30a-5p的结合位点(表6)。miR-30a-5p与若干代表性靶基因的显著逆相关性呈现于图4中。miR-30a-5p的表达与先前显示在HNSCC中过表达的若干致癌基因,包括EGFR、MET、ITGA6及SERPINE1展示反比关系(图4)(Van Waes等人,《癌症研究》55:5434-5444,1995;Van Waes等人,《国际放射肿瘤学、放射生物学、放射物理学杂志(Int.J.Radiat.Oncol.Biol.Phys.)》77:447-454,2010;Freudl Sperger等人,《治疗靶点专家观点(Expert Opin.Ther.Targets)》15:63-74,2011)。

[0195] 表6.表达呈反比并且含有预测或验证的miR-30a-5p的结合位点的mRNA

来源	置信度	符号	t.stat	p 值	q 值
TarBase,TargetScan Human	实验观察,高(预测)	NT5E	-2.67544	0.00785943	0.042443335
TarBase,TargetScan Human	实验观察,高(预测)	SLC7A11	-7.34317	1.8519E-12	2.47526E-10
TarBase	实验观察	WNT5A	-3.21244	0.00145446	0.011477956
TarBase	实验观察	MET	-4.49672	9.7643E-06	0.000186635
miRecords	实验观察	STX1A	-5.73134	2.3616E-08	1.04475E-06
TargetScan Human	高(预测)	ADAM12	-5.8907	1.0009E-08	4.93575E-07
TargetScan Human	高(预测)	ADAMTS14	-4.448	1.2095E-05	0.000223621
TargetScan Human	高(预测)	ADAMTS6	-3.11958	0.00198133	0.014647111
TargetScan Human	高(预测)	AFAP1L2	-3.57478	0.00040639	0.004129055
TargetScan Human	高(预测)	BCL11B	-7.45518	9.0434E-13	1.30665E-10
TargetScan Human	高(预测)	BNC1	-10.1613	3.9863E-21	3.3215E-18
TargetScan Human	高(预测)	CALB2	-2.60695	0.00957701	0.049262735
TargetScan Human	高(预测)	CAMK2N2	-4.33529	1.9703E-05	0.000337565
TargetScan Human	高(预测)	CBX2	-7.41229	1.1909E-12	1.66992E-10
TargetScan Human	中等(预测)	CCNA1	-3.39196	0.00078393	0.007013279
TargetScan Human	高(预测)	CCNE2	-3.58521	0.00039112	0.004002625
TargetScan Human	中等(预测)	CD80	-3.23442	0.00135044	0.010822133
TargetScan Human	高(预测)	CDCA7	-2.94594	0.00346369	0.022650361
TargetScan Human	中等(预测)	CDHR1	-3.55523	0.00043656	0.004375406
TargetScan Human	高(预测)	CELSR3	-4.19807	3.5211E-05	0.000549357
TargetScan Human	中等(预测)	CERS3	-6.93548	2.3632E-11	2.38628E-09
TargetScan Human	高(预测)	CHST1	-3.42212	0.00070477	0.006439431
TargetScan Human	高(预测)	CHST2	-6.88903	3.1387E-11	3.07078E-09
TargetScan Human	高(预测)	CNGB3	-4.62375	5.5397E-06	0.000115408
TargetScan Human	高(预测)	COL13A1	-6.52577	2.7564E-10	2.0983E-08
TargetScan Human	高(预测)	CTHRC1	-3.81302	0.00016563	0.001984823
TargetScan Human	高(预测)	DDIT4	-3.52927	0.00047985	0.004724036
TargetScan Human	中等(预测)	DSP	-5.75525	2.0785E-08	9.34316E-07
TargetScan Human	高(预测)	E2F7	-5.78932	1.7316E-08	7.96717E-07
TargetScan Human	高(预测)	EFNA3	-4.17635	3.8546E-05	0.000592557
TargetScan Human	中等(预测)	EGFR	-2.69295	0.00746753	0.040839291

[0196]

来源	置信度	符号	t.stat	p 值	q 值
TargetScan Human	高(预测)	EPB41L4B	-3.15221	0.00177887	0.013456245
TargetScan Human	高(预测)	FAM43A	-4.71164	3.7153E-06	8.21663E-05
TargetScan Human	高(预测)	FAP	-4.57488	6.8998E-06	0.000139116
TargetScan Human	高(预测)	FOXD1	-5.39201	1.3836E-07	4.85439E-06
TargetScan Human	高(预测)	FZD2	-5.21242	3.41E-07	1.05844E-05
TargetScan Human	高(预测)	GJA1	-6.45364	4.2012E-10	3.04202E-08
TargetScan Human	高(预测)	GLDC	-2.71789	0.00693956	0.038631316
TargetScan Human	中等(预测)	GNRHR	-4.11924	4.8817E-05	0.000721673
TargetScan Human	高(预测)	GRHL1	-2.67624	0.00784124	0.042369061
TargetScan Human	高(预测)	HEPHL1	-5.0097	9.1733E-07	2.48043E-05
TargetScan Human	高(预测)	HOXA11	-5.77494	1.8706E-08	8.52358E-07
TargetScan Human	高(预测)	HTRA3	-2.92943	0.00364778	0.023577439
TargetScan Human	高(预测)	IGF1R	-3.52927	0.00021693	0.000384284
TargetScan Human	高(预测)	IL1A	-6.20891	1.7114E-09	1.04732E-07
TargetScan Human	高(预测)	IL28RA	-4.58937	6.4663E-06	0.000131627
TargetScan Human	高(预测)	IRS1	-2.61196	0.00944086	0.048733913
TargetScan Human	高(预测)	IRX4	-4.38851	1.5668E-05	0.000278244
TargetScan Human	高(预测)	ITGA5	-5.94408	7.4786E-09	3.82354E-07
TargetScan Human	高(预测)	ITGA6	-6.76279	6.7415E-11	6.04954E-09
TargetScan Human	高(预测)	KIAA1804	-3.06917	0.00233624	0.016671132
TargetScan Human	高(预测)	KIF3C	-4.79377	2.5442E-06	5.94757E-05
TargetScan Human	高(预测)	LHX1	-7.00892	1.5048E-11	1.59942E-09
TargetScan Human	高(预测)	LOX	-3.09258	0.00216471	0.015701083
TargetScan Human	高(预测)	LRRC3	-4.33577	1.9662E-05	0.000336972
TargetScan Human	高(预测)	MAF	-3.14025	0.00185073	0.013882679
TargetScan Human	高(预测)	MFHAS1	-4.75352	3.065E-06	6.97331E-05
TargetScan Human	高(预测)	MYBL2	-7.83707	7.4462E-14	1.39556E-11
TargetScan Human	高(预测)	MYH10	-3.74269	0.00021693	0.002477083
TargetScan Human	中等(预测)	MYO1H	-2.68	0.00775571	0.042020701
TargetScan Human	高(预测)	NEFL	-5.76182	2.0067E-08	9.0609E-07
TargetScan Human	高(预测)	NID1	-4.56143	7.3271E-06	0.000146362
TargetScan Human	高(预测)	NOD2	-5.23065	3.115E-07	9.79208E-06
TargetScan Human	高(预测)	NREP	-3.09434	0.00215234	0.015631917
TargetScan Human	高(预测)	NTM	-3.79283	0.00017904	0.002115612
TargetScan Human	高(预测)	ONECUT2	-2.66567	0.0080862	0.043367382
TargetScan Human	高(预测)	OVOL1	-3.56263	0.0004249	0.00428063
TargetScan Human	高(预测)	PAG1	-3.29063	0.00111491	0.009292512
TargetScan Human	高(预测)	PCDH17	-2.62238	0.00916308	0.047653736
TargetScan Human	高(预测)	PDGFRB	-3.1546	0.00176483	0.013372471
TargetScan Human	中等(预测)	PHLDB2	-7.25139	3.3136E-12	4.15821E-10
TargetScan Human	中等(预测)	PNPLA1	-6.83038	4.4825E-11	4.20919E-09
TargetScan Human	高(预测)	PPFIA1	-3.44793	0.000643	0.005981654
TargetScan Human	高(预测)	PPP1R14C	-5.52887	6.8493E-08	2.63407E-06

[0197]

来源	置信度	符号	t.stat	p 值	q 值
TargetScan Human	高(预测)	PPP4R4	-2.9497	0.00342301	0.022444469
TargetScan Human	高(预测)	RAB38	-5.19914	3.6418E-07	1.11991E-05
TargetScan Human	高(预测)	RHEBL1	-2.87936	0.00426207	0.026591947
TargetScan Human	高(预测)	RTN4R	-5.76779	1.9436E-08	8.81367E-07
TargetScan Human	高(预测)	SCN8A	-3.00949	0.00283162	0.019369396
TargetScan Human	高(预测)	SERPINE1	-6.14674	2.4297E-09	1.4251E-07
TargetScan Human	高(预测)	SLC44A5	-4.0284	7.0695E-05	0.000981803
TargetScan Human	中等(预测)	SLCO6A1	-4.63823	5.189E-06	0.000109185
TargetScan Human	高(预测)	SNX10	-6.11018	2.9822E-09	1.70412E-07
TargetScan Human	高(预测)	SOCS1	-2.84294	0.00476672	0.028990247
TargetScan Human	中等(预测)	STAT1	-2.94123	0.0035153	0.022913435
TargetScan Human	高(预测)	THBS2	-3.48948	0.00055409	0.00530563
TargetScan Human	高(预测)	TMC7	-4.4635	1.1301E-05	0.000211182
TargetScan Human	中等(预测)	TNFSF9	-4.07698	5.8042E-05	0.000833474
TargetScan Human	高(预测)	TRIM9	-2.6338	0.00886708	0.046491218
TargetScan Human	高(预测)	TRPA1	-5.02466	8.5363E-07	2.33216E-05
TargetScan Human	高(预测)	WNT7B	-8.91065	4.4225E-17	1.68683E-14

[0199] 表7. 表达呈反比并且含有预测或验证的miR-30b-5p (MIMAT0000420) 的结合位点的mRNA

基因	β	t.stat	p 值	FDR
ABCA12	-0.003	-3.7	0.00024	0.0029
ABCA6	-0.0024	-3.2	0.0014	0.012
ADAM12	-0.0041	-4.6	7.70E-06	0.00019
ADAM19	-0.0016	-2.6	0.0095	0.048
ADAMTS14	-0.0026	-4	6.90E-05	0.0011
ADAMTS3	-0.0034	-4.1	4.80E-05	0.00083
ADAMTS5	-0.003	-4.3	2.50E-05	0.00049
ADAMTS9	-0.0018	-2.8	0.0058	0.033
ADRA2A	-0.0031	-2.7	0.0079	0.042
AFAP1L2	-0.0018	-3.6	0.00039	0.0043
AGAP2	-0.0014	-2.8	0.0049	0.03
AJAP1	-0.0042	-3.3	0.0012	0.01
ANGPT2	-0.0022	-4.1	5.70E-05	0.00094
ANTXR1	-0.0018	-3.7	0.00028	0.0033
APOL6	-0.0018	-3.3	0.0011	0.0095
ARHGAP29	-0.0016	-2.9	0.004	0.026
ARHGAP42	-0.0017	-3.2	0.0014	0.011
ARNTL2	-0.0018	-4.4	1.30E-05	0.00029
ARRDC4	-0.002	-3.9	0.00012	0.0017
ARSE	-0.0043	-4	8.30E-05	0.0013
ATP8B2	-0.0016	-3.2	0.0018	0.014
BCHE	-0.0039	-2.9	0.0047	0.029
BDKRB2	-0.0022	-4.8	3.40E-06	9.80E-05
BICD1	-0.0018	-4	8.10E-05	0.0012
BMP2	-0.0021	-3.2	0.0014	0.012

基因	β	t.stat	p 值	FDR
BNC1	-0.0021	-4.1	4.80E-05	0.00083
BNC2	-0.0022	-2.9	0.0041	0.026
BST1	-0.0014	-2.6	0.0092	0.047
CACNA1C	-0.003	-4.8	2.40E-06	7.50E-05
CALB2	-0.0049	-4.6	7.90E-06	0.00019
CALCR	-0.0042	-2.6	0.0098	0.049
CALD1	-0.0026	-5.6	5.10E-08	3.10E-06
CAMK2N1	-0.0019	-3.1	0.0023	0.017
CCNA1	-0.0048	-3.1	0.0021	0.016
CCRN4L	-0.0023	-4.9	1.90E-06	6.00E-05
CD248	-0.0018	-2.7	0.0078	0.042
CD84	-0.0023	-2.7	0.0083	0.044
CDH11	-0.0033	-3.9	0.00014	0.0019
CDH13	-0.0021	-3.5	0.00046	0.0049
CDK6	-0.0021	-4.5	1.10E-05	0.00026
CHN1	-0.0023	-4.2	4.50E-05	0.00078
CHST2	-0.0026	-3.4	0.00078	0.0073
CLCA2	-0.0034	-4.9	2.00E-06	6.50E-05
CLEC5A	-0.0019	-3.5	5.00E-04	0.0052
CLSTN2	-0.0041	-3.9	0.00011	0.0016
CNRIP1	-0.0019	-3.8	0.00022	0.0027
CNTN1	-0.0035	-2.9	0.0038	0.024
COL12A1	-0.004	-5.3	2.70E-07	1.30E-05
COL13A1	-0.002	-3.6	0.00042	0.0045
COL14A1	-0.0021	-3	0.0033	0.022
COL5A2	-0.0043	-5.2	3.40E-07	1.50E-05
COL8A1	-0.0039	-3.9	0.00014	0.0019
CPN2	-0.0088	-4.8	3.00E-06	8.80E-05
CSGALNACT1	-0.0021	-4.4	1.70E-05	0.00035
CTGF	-0.0022	-3.4	0.00093	0.0084
CTHRC1	-0.0029	-3.4	0.00087	0.0079
CTSK	-0.0037	-5.1	5.40E-07	2.20E-05
CYP8B1	-0.0044	-2.9	0.0046	0.028
DACT1	-0.003	-3.4	0.00092	0.0083
DAPP1	-0.0014	-2.7	0.0067	0.037
DCBLD1	-0.0025	-5	9.60E-07	3.50E-05
DDX60	-0.0028	-4.3	2.90E-05	0.00056
DENND2A	-0.0016	-2.9	0.0047	0.029
DENND2C	-0.0015	-2.9	0.0036	0.023
DGKI	-0.0032	-3.2	0.0016	0.013
DIO2	-0.0023	-3	0.0027	0.019
DLEU7	-0.0027	-3	0.0026	0.018
DLX1	-0.004	-3.2	0.0016	0.013
DNASE2B	-0.0065	-3	0.0034	0.023
DOCK10	-0.0016	-2.7	0.0077	0.041
DSC1	-0.0088	-5.7	2.50E-08	1.70E-06
DSC3	-0.0011	-2.7	0.0067	0.037
DSEL	-0.003	-4.7	5.00E-06	0.00013
DSP	-0.0015	-2.7	0.0073	0.04

[0201]

[0202]

基因	β	t.stat	p 值	FDR
ECM2	-0.0025	-4.1	4.90E-05	0.00084
EDIL3	-0.0042	-5.1	7.80E-07	3.00E-05
EDNRA	-0.0032	-5.6	4.70E-08	2.90E-06
EDNRB	-0.0017	-2.9	0.0036	0.024
EFCAB4B	-0.0019	-2.9	0.0036	0.023
ELFN2	-0.0038	-2.8	0.0047	0.029
EML1	-0.0026	-4.6	8.10E-06	2.00E-04
EML5	-0.0018	-2.7	0.0079	0.042
ENPEP	-0.0019	-3	0.0031	0.021
ENPP1	-0.0021	-2.8	0.0058	0.034
EPHA3	-0.0028	-3.2	0.0016	0.013
FAM124A	-0.0016	-2.8	0.0058	0.034
FAM155A	-0.0026	-3	0.0031	0.021
FAM20A	-0.0019	-2.8	0.0054	0.032
FAM26E	-0.0036	-5.5	7.80E-08	4.40E-06
FAM43A	-0.002	-4.1	5.50E-05	0.00092
FAP	-0.0042	-4.9	1.60E-06	5.30E-05
FBLN7	-0.0019	-3.3	0.0011	0.0096
FBXO39	-0.0023	-3.1	0.0025	0.018
FGD5	-0.0015	-2.9	0.0043	0.027
FGF5	-0.0064	-3.4	0.00072	0.0069
FIGN	-0.0033	-3.2	0.0014	0.011
FLVCR2	-0.0027	-5	9.70E-07	3.50E-05
FMN1	-0.0026	-3.3	0.0012	0.01
FRMD5	-0.0038	-3	0.0031	0.021
GALNT13	-0.0038	-2.7	0.0074	0.04
GALNT6	-0.0042	-5.6	5.60E-08	3.40E-06
GBP1	-0.0024	-3.2	0.0014	0.011
GCOM1	-0.0029	-3	0.0025	0.018
GFPT2	-0.0022	-3.2	0.0017	0.013
GJA1	-0.0032	-5.3	2.20E-07	1.10E-05
GOLGA6L1	-0.0061	-3	0.0031	0.021
GOLGA7B	-0.0037	-3.9	0.00011	0.0016
GPM6B	-0.0017	-3.3	0.00093	0.0084
GPR124	-0.0021	-3.7	0.00023	0.0029
GPR157	-0.0017	-3.2	0.0017	0.013
GPRIN3	-0.0021	-3.1	0.0019	0.015
GUCY1A2	-0.0029	-4	7.10E-05	0.0011
GUCY1A3	-0.0024	-3.7	0.00031	0.0036
GXYLT2	-0.002	-2.6	0.0091	0.047
HAPLN1	-0.0032	-3.1	0.0024	0.017
HAS2	-0.0035	-4.3	2.70E-05	0.00053
HECW1	-0.0034	-3.5	0.00046	0.0049
HEPHL1	-0.0063	-4.5	1.00E-05	0.00024
HGF	-0.0043	-4	7.30E-05	0.0012
HHIPL1	-0.003	-4.6	6.70E-06	0.00017
HMCN1	-0.0043	-5.2	4.90E-07	2.00E-05
HOXA1	-0.0023	-3.4	9.00E-04	0.0082
HS3ST3A1	-0.0026	-3.5	0.00056	0.0057

[0203]

基因	β	t.stat	p 值	FDR
HS3ST3B1	-0.0021	-3	0.0034	0.022
HTRA3	-0.0031	-3.8	0.00017	0.0022
IFIT1	-0.0036	-3.9	0.00014	0.002
IL1A	-0.0032	-3.2	0.0017	0.013
INHBA	-0.0041	-3.9	0.00013	0.0019
IRS1	-0.0021	-4	7.20E-05	0.0011
ITGA1	-0.0025	-4.2	3.60E-05	0.00065
ITGA5	-0.0024	-3.8	0.00018	0.0023
ITGA6	-0.0021	-3.7	0.00028	0.0033
ITGA8	-0.0038	-3.6	0.00041	0.0045
ITGA9	-0.0018	-2.7	0.0066	0.037
JAM2	-0.0022	-3.5	0.00063	0.0063
KCND2	-0.003	-3	0.0034	0.023
KCNJ15	-0.0028	-4.3	2.10E-05	0.00042
KIAA1024	-0.0015	-2.8	0.0055	0.032
KIAA1644	-0.0034	-4	9.80E-05	0.0015
KLF7	-0.0027	-5.6	5.70E-08	3.40E-06
KLHL4	-0.0036	-2.6	0.0087	0.045
KRT82	-0.0051	-2.7	0.0068	0.038
KRTAP1-5	-0.0054	-2.8	0.0057	0.033
LAMA1	-0.0042	-3.4	0.00078	0.0073
LAMA4	-0.003	-5.1	7.00E-07	2.70E-05
LAMC3	-0.0038	-4.9	1.80E-06	6.00E-05
LHX1	-0.0095	-4.1	5.50E-05	0.00092
LHX8	-0.0041	-2.9	0.0045	0.028
LHX9	-0.0059	-2.8	0.0057	0.033
LILRB2	-0.0022	-3	0.0032	0.021
LIPC	-0.0028	-3.1	0.0019	0.015
LOX	-0.0023	-3.5	0.00055	0.0056
LPAR3	-0.002	-3.3	0.00096	0.0086
LPPR4	-0.0018	-2.9	0.0043	0.027
LPPR5	-0.0078	-4	8.30E-05	0.0013
LRCH2	-0.0026	-3.4	0.00078	0.0073
LRRC15	-0.006	-5.2	4.50E-07	1.90E-05
LRRC17	-0.0033	-3.1	0.0022	0.016
LSAMP	-0.0028	-2.9	0.004	0.026
LTBP2	-0.0021	-3.8	0.00019	0.0024
MAF	-0.0014	-2.8	0.0048	0.029
MAN1A1	-0.0019	-3.5	5.00E-04	0.0052
MAP2	-0.004	-4.8	2.70E-06	8.00E-05
ME1	-0.0017	-2.7	0.0073	0.04
MFAP3L	-0.0024	-3.5	0.00047	0.005
MICAL2	-0.0022	-3.9	1.00E-04	0.0015
MME	-0.0045	-5.2	4.90E-07	2.00E-05
MMP16	-0.0055	-5.2	3.40E-07	1.50E-05
MOCS1	-0.0015	-3	0.0029	0.02
MPZL3	-0.0025	-4.8	2.30E-06	7.30E-05
MS4A7	-0.0024	-3.6	0.00044	0.0047
MXRA5	-0.0033	-4.6	6.20E-06	0.00016

[0204]

基因	β	t.stat	p 值	FDR
MYH10	-0.0025	-4.7	4.20E-06	0.00012
NAV3	-0.0042	-5.3	2.10E-07	1.00E-05
NEGR1	-0.0036	-3.8	2.00E-04	0.0026
NFASC	-0.0017	-3.1	0.0025	0.018
NHSL2	-0.0024	-2.7	0.0082	0.043
NID1	-0.0032	-4.9	1.70E-06	5.50E-05
NID2	-0.0033	-4.5	9.40E-06	0.00022
NIPAL1	-0.0025	-4.1	6.30E-05	0.001
NIPAL4	-0.0044	-4.3	2.10E-05	0.00043
NLRP3	-0.0017	-2.7	0.0083	0.044
NOD2	-0.0027	-5.2	4.40E-07	1.80E-05
NRG1	-0.0025	-3.2	0.0014	0.011
NT5E	-0.0033	-4.1	5.80E-05	0.00096
NTM	-0.0034	-4.9	2.10E-06	6.70E-05
NTNG1	-0.0051	-2.9	0.0039	0.025
OLFML2A	-0.0015	-2.9	0.004	0.026
PAG1	-0.0021	-4	8.40E-05	0.0013
PAQR5	-0.0036	-4.4	1.60E-05	0.00034
PCDH10	-0.0071	-3.9	0.00013	0.0018
PCDH17	-0.0025	-3.7	0.00023	0.0028
PDE3A	-0.0035	-4.5	1.10E-05	0.00025
PDE7B	-0.0022	-4	7.50E-05	0.0012
PDGFC	-0.0025	-4.5	9.10E-06	0.00022
PDGFRB	-0.0028	-4.2	3.60E-05	0.00065
PHLDB2	-0.0018	-3.2	0.0016	0.013
PI15	-0.0023	-2.9	0.0043	0.027
PLA2G4D	-0.0034	-2.7	0.0072	0.04
PLXDC1	-0.0018	-3.2	0.0015	0.012
PLXDC2	-0.0025	-4.5	1.20E-05	0.00027
PLXNC1	-0.0028	-3.7	0.00024	0.003
PNPLA1	-0.0065	-5.5	8.70E-08	4.90E-06
PPFIA2	-0.0049	-3.4	0.00076	0.0072
PPP1R14C	-0.0014	-2.9	0.0035	0.023
PRDM1	-0.0021	-4.9	2.00E-06	6.40E-05
PRDM5	-0.0023	-4	9.20E-05	0.0014
PREX2	-0.0022	-2.6	0.0098	0.049
PRICKLE1	-0.0027	-4.4	1.30E-05	3.00E-04
PRRG1	-0.0018	-3.8	0.00019	0.0024
PRRX1	-0.002	-2.9	0.0037	0.024
PTGDR	-0.0031	-4.1	6.30E-05	0.001
PTGER2	-0.0021	-2.9	0.0044	0.027
PTGER3	-0.0038	-4.4	1.40E-05	0.00031
PTGS1	-0.0021	-2.9	0.0043	0.027
PTPRB	-0.0016	-3.2	0.0014	0.012
PTPRD	-0.0058	-5.3	3.20E-07	1.40E-05
RAB27B	-0.0019	-3.5	5.00E-04	0.0052
RAB38	-0.0027	-4	9.40E-05	0.0014
RAB3B	-0.0057	-4.1	4.80E-05	0.00083
RAI14	-0.0013	-2.7	0.0076	0.041

[0205]

基因	β	t.stat	p 值	FDR
RASGRF2	-0.0027	-4.1	6.00E-05	0.00099
RECK	-0.0022	-3.9	0.00014	0.0019
RFTN2	-0.0016	-2.9	0.0046	0.028
RSAD2	-0.0035	-3.8	0.00019	0.0024
RUNX1T1	-0.0036	-3.6	0.00044	0.0047
S100A7A	-0.0065	-3.6	0.00032	0.0037
SAMHD1	-0.0022	-3.8	0.00019	0.0024
SDC2	-0.0023	-3.5	0.00062	0.0062
SDK2	-0.0026	-2.9	0.0038	0.024
SEC14L2	-0.0021	-3.6	0.00039	0.0043
SERpine1	-0.0032	-3.7	0.00032	0.0037
SERPING1	-0.0024	-4.1	6.20E-05	0.001
SGIP1	-0.0033	-4.7	5.30E-06	0.00014
SH3TC2	-0.002	-2.8	0.0052	0.031
SHROOM4	-0.0017	-3	0.0034	0.022
SLC10A6	-0.0034	-3.9	0.00012	0.0017
SLC16A10	-0.0018	-2.8	0.0054	0.032
SLC22A15	-0.0014	-2.8	0.0048	0.029
SLC24A2	-0.008	-4.7	4.60E-06	0.00013
SLC28A3	-0.0043	-5	8.70E-07	3.20E-05
SLC2A9	-0.0022	-4.7	4.30E-06	0.00012
SLC38A4	-0.0031	-3.9	0.00012	0.0017
SLC39A8	-0.0016	-3.6	0.00043	0.0046
SLC41A2	-0.003	-5.3	2.30E-07	1.10E-05
SLC44A5	-0.0026	-2.6	0.0097	0.049
SLC7A11	-0.0027	-2.9	0.0044	0.027
SNAI1	-0.0014	-2.8	0.0058	0.034
SNX10	-0.0021	-3.9	0.00011	0.0015
SPTLC3	-0.0061	-6.1	3.40E-09	3.30E-07
STC1	-0.002	-3	0.0025	0.018
SULF2	-0.0026	-4.4	1.40E-05	0.00031
TCHHL1	-0.0077	-3.4	0.00082	0.0076
TGFA	-0.0023	-5.2	4.30E-07	1.80E-05
TGM5	-0.0047	-4.3	2.50E-05	0.00049
THBS2	-0.0041	-5.2	4.10E-07	1.80E-05
TIMP2	-0.0035	-6	8.00E-09	6.70E-07
TIMP3	-0.0029	-4	7.80E-05	0.0012
TLL1	-0.0027	-2.8	0.0058	0.034
TLN2	-0.0015	-2.8	0.0051	0.03
TLR8	-0.0031	-3.6	0.00035	0.004
TM4SF18	-0.0019	-3.9	0.00014	0.0019
TM6SF2	-0.004	-3.2	0.0017	0.014
TMEM154	-0.0023	-4.2	4.50E-05	0.00079
TMEM26	-0.0025	-3.7	0.00028	0.0033
TMEM79	-0.0021	-3.4	7.00E-04	0.0067
TMEM86A	-0.0031	-5.5	9.80E-08	5.40E-06
TNFSF13B	-0.0019	-2.7	0.0073	0.04
TREML2	-0.0038	-4.3	2.80E-05	0.00053
TRPA1	-0.0047	-4.4	1.40E-05	0.00032

[0206]

基因	β	t.stat	p 值	FDR
TRPC6	-0.0019	-3.5	0.00059	0.0059
TRPS1	-0.0024	-4.8	3.40E-06	9.80E-05
TSHZ2	-0.0018	-2.8	0.0048	0.029
TSPAN11	-0.003	-4.1	5.90E-05	0.00097
TSPAN2	-0.0034	-4.1	5.80E-05	0.00095
UNC5C	-0.0041	-3.1	0.0022	0.016
UNC80	-0.0048	-2.8	0.005	0.03
USP2	-0.0025	-2.8	0.0047	0.029
VCAN	-0.0038	-4.4	1.90E-05	4.00E-04
VGLL3	-0.0036	-4.9	1.40E-06	4.80E-05
VIM	-0.0018	-3.7	0.00031	0.0036
WIPF1	-0.0014	-2.6	0.0092	0.047
WISP1	-0.0032	-3.8	2.00E-04	0.0026
WNT5A	-0.0034	-5.6	4.40E-08	2.80E-06
XYLT1	-0.0018	-2.7	0.0071	0.039
ZCCHC24	-0.0017	-3.7	0.00023	0.0028
ZDHHC21	-0.0015	-2.7	0.0076	0.041
ZNF208	-0.0035	-2.7	0.0084	0.044
ZNF365	-0.0052	-6.1	3.00E-09	3.00E-07
ZNF521	-0.0028	-4.2	4.30E-05	0.00076
ZNF681	-0.003	-2.9	0.0039	0.025

[0207]

表8. 表达呈反比并且含有预测或验证的miR-30d-5p (MIMAT0000245) 的结合位点的mRNA

[0208]

基因	β	t.stat	p 值	FDR
ABCC2	-0.00014	-3.3	0.0011	0.0095
ACTBL2	-0.00024	-2.9	0.0043	0.027
ADAM12	-0.00015	-3.2	0.0014	0.012
ADAMTS14	-0.00014	-4.2	4.10E-05	0.00073
AFAP1L2	-0.00012	-4.6	7.00E-06	0.00018
AJAP1	-0.00019	-2.8	0.005	0.03
ARNTL2	-8.20E-05	-4	9.00E-05	0.0014
ARRDC4	-7.50E-05	-2.7	0.0067	0.037
BDKRB2	-0.00011	-4.5	9.50E-06	0.00023
BNC1	-0.00014	-5.2	4.60E-07	1.90E-05
C6orf141	-0.00023	-5	1.20E-06	4.20E-05
CALD1	-1.00E-04	-4.2	3.10E-05	0.00059
CAMK2A	-0.00028	-4.6	5.30E-06	0.00014
CAMK2N1	-0.00011	-3.6	0.00044	0.0047
CCNA1	-0.00033	-4.2	3.30E-05	0.00062
CCRN4L	-0.00011	-4.5	8.60E-06	0.00021
CDH13	-0.00011	-3.7	0.00023	0.0029
CDK6	-0.00011	-4.6	6.60E-06	0.00017
CHST2	-0.00013	-3.2	0.0014	0.012
CLCA2	-0.00015	-4.1	5.50E-05	0.00092
CLCF1	-8.70E-05	-2.9	0.0039	0.025
COL12A1	-0.00017	-4.2	3.30E-05	0.00062
COL13A1	-8.80E-05	-3	0.0032	0.022

[0209]

基因	β	t.stat	p 值	FDR
COL5A2	-0.00017	-4	9.80E-05	0.0015
CTHRC1	-0.00013	-2.8	0.0051	0.031
DACT1	-0.00013	-2.8	0.0063	0.035
DCBLD1	-0.00016	-6.5	3.80E-10	5.20E-08
DDX60	-0.00012	-3.3	0.001	0.0089
DLX1	-0.00021	-3.3	0.001	0.0092
DNAH17	-2.00E-04	-3.4	0.00081	0.0075
DNMT3B	-1.00E-04	-3.7	0.00025	0.003
DSC1	-0.00029	-3.5	0.00049	0.0052
EDNRA	-9.10E-05	-3	0.0031	0.021
EML1	-8.60E-05	-2.9	0.0042	0.026
EPHB2	-1.00E-04	-2.6	0.0088	0.046
F3	-0.00012	-2.8	0.006	0.034
FAM26E	-0.00011	-3	0.0026	0.018
FAP	-0.00019	-4.2	4.00E-05	0.00072
FOXD1	-1.00E-04	-2.9	0.004	0.025
FOXL2	-0.00021	-2.9	0.0035	0.023
FZD2	-7.90E-05	-3	0.0026	0.018
GALNT6	-0.00023	-5.8	2.20E-08	1.60E-06
GBP1	-0.00013	-3.4	0.00073	0.007
GJA1	-0.00016	-5.1	6.20E-07	2.50E-05
GOLGA7B	-0.00024	-4.9	1.60E-06	5.40E-05
GPR39	-0.00015	-3	0.003	0.021
HAS2	-0.00013	-3.1	0.002	0.015
HECW1	-0.00013	-2.7	0.0082	0.043
HEPHL1	-0.00026	-3.6	0.00042	0.0046
HOXA1	-0.00014	-3.9	0.00011	0.0015
HSPB3	-3.00E-04	-3.2	0.0017	0.013
HTRA3	-0.00016	-3.8	0.00018	0.0024
IFFO2	-7.80E-05	-2.7	0.0082	0.043
IFIT1	-0.00018	-3.7	3.00E-04	0.0035
IL1A	-0.00019	-3.7	0.00024	0.003
INHBA	-0.00023	-4.2	4.00E-05	0.00071
IRS1	-9.10E-05	-3.3	0.00094	0.0084
ITGA5	-0.00016	-5	8.60E-07	3.20E-05
ITGA6	-1.00E-04	-3.5	0.00056	0.0057
KCNJ15	-0.00012	-3.5	0.00057	0.0057
KIAA1644	-0.00015	-3.4	0.00066	0.0064
KLF7	-0.00011	-4.3	2.20E-05	0.00045
KRT82	-0.00034	-3.5	0.00048	0.0051
LAMA1	-0.00019	-3	0.0032	0.022
LETM2	-1.00E-04	-3.4	0.00089	0.0081
LHX1	-0.00061	-5.2	4.70E-07	2.00E-05
LPCAT1	-9.50E-05	-4	6.80E-05	0.0011
LRRC17	-0.00015	-2.7	0.008	0.042
MAF	-8.20E-05	-3.2	0.0016	0.013
MELK	-6.40E-05	-2.9	0.0036	0.024
MICAL2	-1.00E-04	-3.6	0.00037	0.0041
MME	-0.00015	-3.3	0.0011	0.0097

基因	β	t.stat	p 值	FDR
MYH10	-1.00E-04	-3.7	0.00025	0.003
NAV3	-2.00E-04	-4.7	4.00E-06	0.00011
NEXN	-0.00015	-3.7	0.00029	0.0034
NIPAL4	-2.00E-04	-3.7	0.00023	0.0029
NNMT	-0.00012	-3.4	0.00088	0.008
NOD2	-1.00E-04	-3.7	0.00027	0.0032
NRG1	-0.00015	-3.8	2.00E-04	0.0026
NT5E	-0.00017	-4	8.60E-05	0.0013
PAQR5	-0.00015	-3.5	5.00E-04	0.0052
PDGFC	-0.00013	-4.4	1.40E-05	0.00031
PHLDB2	-1.00E-04	-3.6	0.00033	0.0037
PNPLA1	-2.00E-04	-3.2	0.0017	0.013
PPP1R14C	-0.00014	-6.3	1.50E-09	1.60E-07
PSMB9	-8.70E-05	-2.8	0.0056	0.032
PTGS1	-0.00011	-3	0.0028	0.02
PTPRD	-0.00019	-3.3	0.001	0.0091
RAB38	-0.00016	-4.6	7.60E-06	0.00019
RSAD2	-0.00014	-2.8	0.0051	0.03
S100A7A	-0.00026	-2.8	0.0057	0.033
SEC14L2	-0.00013	-4.4	1.60E-05	0.00035
SERPINA3	-0.00024	-3.8	0.00018	0.0023
SERPINE1	-0.00021	-4.7	5.00E-06	0.00014
SERPING1	-9.30E-05	-3	0.0034	0.023
SLC24A2	-0.00034	-3.7	0.00022	0.0027
SLC2A9	-8.60E-05	-3.4	0.00077	0.0072
SLC7A5	-8.00E-05	-2.8	0.0056	0.033
SNX10	-1.00E-04	-3.6	0.00039	0.0043
SPTLC3	-0.00017	-3.2	0.0018	0.014
SULF2	-0.00013	-4.3	2.50E-05	0.00049
SYNC	-0.00011	-3.2	0.0014	0.011
TGFA	-1.00E-04	-4.3	2.60E-05	0.00051
THBS2	-0.00013	-3	0.0028	0.019
TIMP3	-0.00012	-3.1	0.0021	0.016
TLL1	-0.00013	-2.7	0.0081	0.043
TLN2	-7.40E-05	-2.8	0.0061	0.035
TMEM86A	-8.60E-05	-2.9	0.0045	0.028
TNFSF9	-0.00012	-4	8.30E-05	0.0013
TRPA1	-0.00015	-2.7	0.0082	0.043
USP2	-0.00013	-2.8	0.0048	0.029
ZNF365	-0.00015	-3.2	0.0017	0.013

[0211] 表9. 表达呈反比并且含有预测或验证的miR-30e-5p (MIMAT0000692) 的结合位点的mRNA

基因	β	t.stat	p 值	FDR
42433	-2.00E-04	-3.8	0.00017	0.0022
ABCA12	-0.00011	-3.3	0.0011	0.0093
ABCC11	-0.00013	-4.5	9.80E-06	0.00023
ABCC2	-0.00011	-3.4	0.00086	0.0079

[0213]

基因	β	t.stat	p 值	FDR
ACTBL2	-0.00018	-2.8	0.0056	0.033
ACTC1	-0.00032	-3	0.0029	0.02
ADAM12	-0.00023	-6.4	5.60E-10	7.20E-08
ADAMTS14	-0.00014	-5.4	1.80E-07	9.00E-06
ADAMTS5	-8.70E-05	-3	0.0033	0.022
ADRA1D	-0.00011	-2.8	0.0055	0.032
ANGPT2	-0.00012	-5.8	1.80E-08	1.30E-06
ANTXR2	-6.60E-05	-2.7	0.0078	0.042
ARRDC4	-7.10E-05	-3.2	0.0013	0.011
BAG2	-9.10E-05	-3.8	0.00015	0.002
BICD1	-9.00E-05	-4.8	2.90E-06	8.50E-05
BMP2	-9.50E-05	-3.6	0.00045	0.0048
BNC1	-9.70E-05	-4.6	8.20E-06	2.00E-04
BVES	-0.00012	-3.9	0.00014	0.002
C1QL1	-0.00015	-4	7.60E-05	0.0012
C3orf72	-0.00036	-5	1.20E-06	4.20E-05
C6orf141	-0.00013	-3.3	0.0011	0.0093
CALD1	-0.00012	-6.4	9.60E-10	1.10E-07
CAMK2A	-0.00017	-3.5	0.00064	0.0063
CCNA1	-0.00029	-4.7	4.30E-06	0.00012
CCRN4L	-9.40E-05	-4.9	1.90E-06	6.20E-05
CD248	-0.00012	-4.7	4.60E-06	0.00013
CDH11	-0.00014	-3.9	0.00011	0.0016
CDH13	-1.00E-04	-4.3	2.50E-05	0.00049
CDK6	-9.20E-05	-4.6	5.40E-06	0.00014
CHN1	-6.50E-05	-2.8	0.0056	0.033
CHST2	-0.00017	-5.5	1.00E-07	5.60E-06
CLCF1	-6.40E-05	-2.7	0.0081	0.043
CLSTN2	-0.00012	-2.8	0.0058	0.033
COL12A1	-0.00022	-7.4	2.00E-12	5.90E-10
COL13A1	-0.00013	-5.9	1.20E-08	9.10E-07
COL5A2	-0.00022	-6.6	1.90E-10	2.80E-08
COL8A1	-0.00016	-3.9	0.00011	0.0015
CSMD3	-0.00031	-3.2	0.0016	0.013
CTHRC1	-0.00018	-5.1	6.60E-07	2.60E-05
CTSK	-9.10E-05	-3	0.003	0.021
DACT1	-0.00017	-4.7	3.80E-06	0.00011
DCBLD1	-0.00013	-6.8	9.60E-11	1.60E-08
DCLK3	-8.70E-05	-3.2	0.0017	0.013
DDIT4	-8.20E-05	-3.6	0.00043	0.0046
DDX60	-8.70E-05	-3.1	0.002	0.015
DLX1	-0.00035	-7.3	4.80E-12	1.20E-09
DNAH17	-0.00014	-3	0.0032	0.022
DNMT3B	-0.00011	-4.8	2.30E-06	7.10E-05
DSC1	-0.00022	-3.3	0.0011	0.0098
DSG2	-5.90E-05	-3	0.0031	0.021
EBF2	-0.00014	-2.7	0.0081	0.043
EDIL3	-0.00011	-3.1	0.002	0.015
EDNRA	-9.80E-05	-4	7.20E-05	0.0011

[0214]

基因	β	t.stat	p 值	FDR
EGFR	-6.10E-05	-2.6	0.0088	0.045
EIF5A2	-7.80E-05	-3.7	0.00024	0.0029
ELAVL2	-0.00015	-2.6	0.0092	0.047
EML1	-9.70E-05	-4.1	4.90E-05	0.00084
ENPEP	-0.00015	-6	7.40E-09	6.30E-07
EPB41L4B	-7.00E-05	-3.4	0.00093	0.0084
EPHB2	-0.00011	-3.6	0.00038	0.0042
FADS1	-8.30E-05	-3.3	0.0011	0.0094
FAM26E	-0.00014	-5	8.50E-07	3.20E-05
FAP	-0.00023	-6.9	3.80E-11	7.20E-09
FGF5	-0.00044	-5.9	1.40E-08	1.10E-06
FOXD1	-1.00E-04	-3.6	0.00036	0.004
FOXL2	-0.00028	-5.1	6.30E-07	2.50E-05
FSD1L	-5.50E-05	-2.9	0.0036	0.023
FST	-0.00017	-5.8	1.60E-08	1.20E-06
FZD2	-0.00012	-6.3	1.00E-09	1.20E-07
GALNT6	-0.00018	-5.9	1.30E-08	1.00E-06
GFPT2	-8.80E-05	-3.1	0.0025	0.018
GJA1	-0.00015	-6.2	2.70E-09	2.70E-07
GOLGA7B	-0.00021	-5.4	1.20E-07	6.40E-06
GUCY1A2	-0.00014	-4.8	2.90E-06	8.80E-05
GXYLT2	-9.00E-05	-2.8	0.0059	0.034
HAPLN1	-0.00024	-5.6	4.80E-08	3.00E-06
HAS2	-0.00011	-3.1	0.0022	0.016
HDAC9	-7.50E-05	-2.7	0.0079	0.042
HECW1	-2.00E-04	-5	9.50E-07	3.50E-05
HEPHL1	-0.00016	-2.6	0.0097	0.049
HEYL	-0.00012	-5.1	6.80E-07	2.70E-05
HHIPL1	-9.10E-05	-3.3	0.001	0.009
HOXA1	-0.00011	-3.8	0.00021	0.0027
HOXA11	-0.00017	-2.7	0.0066	0.037
HOXD11	-0.00035	-6.5	5.30E-10	6.80E-08
HOXD8	-9.50E-05	-4.8	2.20E-06	6.80E-05
HSPB3	-0.00039	-5.5	1.20E-07	6.20E-06
HTRA3	-2.00E-04	-6.2	2.80E-09	2.80E-07
IFIT1	-0.00013	-3.3	0.00099	0.0088
IFIT1B	-0.00025	-3.1	0.0018	0.014
IL1A	-0.00012	-2.9	0.0044	0.027
INHBA	-0.00034	-8.5	2.10E-15	1.50E-12
IRS1	-7.50E-05	-3.5	0.00061	0.0061
IRX4	-0.00017	-3.4	0.00088	0.008
ITGA1	-1.00E-04	-4.1	6.50E-05	0.001
ITGA5	-2.00E-04	-8.5	1.70E-15	1.30E-12
ITGA6	-0.00011	-5	8.50E-07	3.20E-05
KCND2	-0.00016	-3.7	0.00026	0.0032
KCNJ15	-9.80E-05	-3.6	0.00046	0.0048
KIAA1644	-0.00013	-3.7	0.00026	0.0031
KIF3C	-0.00012	-6.4	8.20E-10	1.00E-07
KLF14	-0.00016	-2.7	0.0083	0.044

[0215]

基因	β	t.stat	p 值	FDR
KLF7	-0.00011	-5.6	5.70E-08	3.40E-06
KRT82	-0.00022	-2.8	0.0054	0.032
LAMA1	-0.00027	-5.4	1.30E-07	6.60E-06
LAMA4	-0.00011	-4.5	9.20E-06	0.00022
LAMC3	-9.70E-05	-2.9	0.0036	0.024
LETM2	-6.40E-05	-2.6	0.0095	0.048
LHX1	-0.00045	-4.7	4.40E-06	0.00012
LHX5	-0.00032	-4	7.10E-05	0.0011
LOX	-8.40E-05	-3	0.0028	0.019
LPAR3	-7.70E-05	-3.1	0.0021	0.016
LPCAT1	-9.00E-05	-4.9	1.90E-06	6.10E-05
LPPR5	-0.00025	-3.1	0.0025	0.018
LRRC15	-0.00017	-3.4	0.00067	0.0065
LRRC17	-0.00014	-3.2	0.0016	0.013
LRRC3	-6.40E-05	-2.8	0.005	0.03
LTBP2	-8.90E-05	-3.9	0.00011	0.0016
MAP2	-0.00011	-3	0.0027	0.019
MFAP3L	-7.80E-05	-2.7	0.0067	0.037
MICAL2	-0.00013	-6	7.90E-09	6.70E-07
MME	-0.00019	-5.2	3.50E-07	1.50E-05
MMP16	-0.00025	-5.7	2.80E-08	1.90E-06
MURC	-0.00017	-3.6	0.00034	0.0039
MXRA5	-9.70E-05	-3.3	0.0013	0.011
MYH10	-0.00013	-6	6.50E-09	5.60E-07
NAV3	-0.00017	-5	8.40E-07	3.10E-05
NCAM1	-0.00014	-2.9	0.0035	0.023
NEXN	-0.00014	-4.4	1.70E-05	0.00037
NID1	-0.00017	-6.6	2.80E-10	4.00E-08
NID2	-0.00016	-5.4	1.40E-07	7.30E-06
NIPAL4	-0.00014	-3.3	0.00096	0.0086
NNMT	-9.60E-05	-3.5	0.00057	0.0058
NRG1	-0.00012	-3.8	0.00021	0.0027
NT5E	-0.00018	-5.4	1.40E-07	7.10E-06
NTM	-0.00016	-5.7	4.00E-08	2.50E-06
NUAK1	-9.60E-05	-4.1	6.50E-05	0.0011
OLFML2A	-6.00E-05	-2.8	0.0052	0.031
PAQR5	-0.00011	-3.2	0.0016	0.013
PARVB	-7.80E-05	-4.1	5.20E-05	0.00088
PCDH17	-8.90E-05	-3.1	0.0018	0.014
PDE3A	-8.90E-05	-2.7	0.008	0.042
PDGFC	-1.00E-04	-4.3	2.60E-05	5.00E-04
PDGFRB	-0.00012	-4.4	1.60E-05	0.00035
PDZK1	-0.00011	-2.7	0.0084	0.044
PFN2	-9.10E-05	-3	0.0029	0.02
PHLDB2	-0.00015	-7.1	1.30E-11	3.00E-09
PI15	-0.00013	-4.2	3.30E-05	0.00062
PLEKHG4B	-0.00011	-2.7	0.0082	0.043
PNPLA1	-2.00E-04	-4.1	5.40E-05	9.00E-04
PPP1R14C	-1.00E-04	-5.4	1.30E-07	6.80E-06

[0216]

基因	β	t.stat	p 值	FDR
PRICKLE1	-7.20E-05	-2.8	0.0054	0.032
PRRG1	-5.30E-05	-2.7	0.0085	0.045
PTPRD	-0.00013	-2.8	0.0051	0.031
RAB38	-8.80E-05	-3.1	0.0022	0.016
RAB3B	-0.00016	-2.7	0.0065	0.036
RAI14	-6.40E-05	-3.1	0.0018	0.014
RASD2	-0.00011	-3.1	0.0022	0.016
RASL11B	-9.70E-05	-3	0.003	0.02
RHOBTB1	-8.30E-05	-3.9	1.00E-04	0.0015
RSAD2	-0.00013	-3.2	0.0013	0.011
RTN4R	-6.80E-05	-3.5	0.00053	0.0054
S100A7A	-2.00E-04	-2.7	0.0066	0.037
SAMD4A	-6.90E-05	-3.2	0.0015	0.012
SDC2	-9.50E-05	-3.5	0.00065	0.0064
SDK2	-0.00012	-3.3	0.0012	0.01
SEC14L2	-9.90E-05	-4.1	5.00E-05	0.00085
SERPINE1	-0.00027	-8.4	3.40E-15	2.30E-12
SGCD	-0.00013	-3.2	0.0017	0.013
SGIP1	-0.00014	-4.9	1.60E-06	5.30E-05
SLC16A10	-8.70E-05	-3.4	0.00087	0.008
SLC24A2	-0.00049	-7.3	2.90E-12	8.10E-10
SLC2A9	-7.30E-05	-3.6	0.00037	0.0041
SLC35F3	-0.00017	-3.3	0.0011	0.0097
SLC38A4	-9.30E-05	-2.8	0.0062	0.035
SLC7A5	-9.40E-05	-4.2	4.20E-05	0.00074
SNAI1	-6.10E-05	-2.8	0.0048	0.029
SNX10	-9.60E-05	-4.4	1.90E-05	4.00E-04
SOX11	-0.00036	-6.4	7.50E-10	9.30E-08
SPSB4	-0.00014	-2.9	0.0039	0.025
STAC	-0.00014	-3.6	0.00036	0.004
STC1	-0.00011	-4.2	3.30E-05	0.00061
SULF2	-1.00E-04	-4.2	3.50E-05	0.00064
SYNC	-0.00011	-4.1	6.10E-05	0.001
TCHHL1	-0.00028	-3	0.0031	0.021
TGFA	-7.10E-05	-3.8	0.00018	0.0023
THBS2	-2.00E-04	-6.4	9.00E-10	1.10E-07
TIMP2	-8.20E-05	-3.3	0.0013	0.011
TIMP3	-0.00013	-4.4	1.30E-05	3.00E-04
TLL1	-0.00012	-3	0.0035	0.023
TLN2	-8.30E-05	-3.9	0.00011	0.0016
TM6SF2	-0.00026	-5	9.00E-07	3.30E-05
TMC7	-8.40E-05	-3.8	2.00E-04	0.0025
TMEM26	-8.00E-05	-2.8	0.0056	0.033
TMEM86A	-7.90E-05	-3.3	0.0011	0.0095
TNFSF9	-7.90E-05	-3.2	0.0017	0.013
TRIB3	-1.00E-04	-5.4	1.20E-07	6.50E-06
TRIM9	-0.00013	-3.7	0.00031	0.0036
USP2	-0.00012	-3.5	6.00E-04	0.006
VCAN	-0.00016	-4.5	1.10E-05	0.00026

基因	β	t.stat	p 值	FDR
WISP1	-0.00011	-3.2	0.0017	0.013
WNT7B	-6.10E-05	-3.3	0.0011	0.0096

[0218] 表10. 表达呈反比并且含有预测或验证的miR-26a-5p (MIMAT0000082) 的结合位点的mRNA

基因	β	t.stat	p 值	FDR
ABCC11	-0.00033	-4.4	1.50E-05	0.00033
ABCC2	-0.00028	-3.3	0.00098	0.0088
ACVR1C	-0.00023	-4	8.10E-05	0.0012
ADAM12	-0.00034	-3.5	0.00051	0.0053
ADM	-3.00E-04	-5.3	3.10E-07	1.40E-05
ANO1	-0.00035	-3.7	0.00023	0.0028
ARRDC4	-0.00022	-3.9	0.00013	0.0018
ARSJ	-0.00018	-3	0.0026	0.018
BEND6	-2.00E-04	-3.1	0.0021	0.015
BICD1	-0.00017	-3.5	0.00057	0.0058
C19orf77	-0.00043	-2.9	0.0035	0.023
C3orf72	-0.00079	-4.2	3.00E-05	0.00057
CCRN4L	-0.00021	-4.3	2.60E-05	0.00051
CDK6	-0.00021	-4.1	6.40E-05	0.001
CHST2	-0.00034	-4.2	3.90E-05	0.00069
COL11A1	-0.00057	-3.3	0.00094	0.0085
COL12A1	-0.00035	-4.3	2.60E-05	0.00051
COL4A2	-0.00024	-3.7	0.00028	0.0033
COL5A1	-0.00032	-3.6	4.00E-04	0.0043
CT62	-0.00065	-3	0.0031	0.021
CYP27B1	-0.00022	-2.7	0.0066	0.037
DCBLD1	-0.00022	-4.1	6.00E-05	0.00099
DDIT4	-3.00E-04	-5.1	5.30E-07	2.20E-05
DNAH17	-0.00037	-3	0.003	0.021
DNAJB5	-2.00E-04	-3.8	0.00015	0.002
DNMT3B	-0.00027	-4.7	4.10E-06	0.00012
DSC3	-0.00015	-3.4	0.00093	0.0084
DSG2	-0.00017	-3.3	0.0012	0.01
EIF5A2	-0.00015	-2.7	0.0078	0.042
ENPEP	-0.00021	-3.2	0.0015	0.012
EREG	-4.00E-04	-2.6	0.0093	0.048
F2RL1	-0.00023	-3.3	0.0012	0.0099
FADS1	-0.00017	-2.6	0.0098	0.049
FAM83B	-0.00014	-2.7	0.008	0.042
FAM89A	-0.00025	-4.9	1.50E-06	4.90E-05
FAT1	-0.00019	-3.1	0.0019	0.015
FERMT1	-2.00E-04	-4	8.10E-05	0.0012
FHL2	-0.00015	-2.8	0.0049	0.03
FN1	-3.00E-04	-2.8	0.0061	0.035
FOXD1	-0.00023	-3.1	0.0022	0.016
GOLGA7B	-3.00E-04	-2.9	0.0038	0.024
GPSM1	-0.00019	-3.6	4.00E-04	0.0044

[0220]

基因	β	t.stat	p 值	FDR
HAPLN1	-0.00032	-2.9	0.0043	0.027
HAS3	-0.00019	-2.6	0.0088	0.045
HES2	-0.00029	-4.8	2.90E-06	8.60E-05
HHLA1	-0.00058	-2.9	0.0037	0.024
HIST1H3H	-0.00019	-2.9	0.0043	0.027
HMGA2	-0.00055	-4.6	5.60E-06	0.00015
HNF4A	-0.00065	-3	0.0026	0.018
HOXC9	-0.00043	-3.2	0.0014	0.011
HOXD13	-0.00057	-2.6	0.0095	0.048
HOXD8	-0.00018	-3.6	0.00034	0.0039
HOXD9	-0.00017	-3.4	0.00079	0.0074
HSD17B6	-0.00021	-4.3	2.20E-05	0.00045
HSPA12A	-0.00021	-2.9	0.0039	0.025
HTR2C	-0.0011	-3.9	0.00014	0.002
HTR7	-0.00038	-3.8	0.00015	0.002
INHBA	-0.00056	-5.1	8.20E-07	3.10E-05
ITGA3	-0.00021	-3.2	0.0015	0.012
ITGA5	-0.00033	-5.2	4.50E-07	1.90E-05
ITGA6	-0.00027	-4.5	8.70E-06	0.00021
KANK4	-0.00053	-3.9	0.00012	0.0017
KCNJ15	-0.00025	-3.6	0.00046	0.0048
KIF26B	-0.00023	-3.1	0.002	0.015
KIF3C	-0.00024	-4.6	7.10E-06	0.00018
KIRREL	-0.00018	-2.8	0.0052	0.031
KLF7	-0.00027	-5.1	5.50E-07	2.20E-05
LAMA1	-0.00058	-4.5	1.20E-05	0.00028
LHFPL5	-0.00052	-2.7	0.0073	0.04
LHX1	-7.00E-04	-2.8	0.0061	0.035
LHX9	-0.00085	-3.8	0.00016	0.0022
LMX1B	-0.00046	-3	0.0034	0.022
LOXL2	-0.00035	-4.6	6.70E-06	0.00017
LPAR3	-2.00E-04	-3.2	0.0017	0.013
LRP12	-0.00015	-2.9	0.0041	0.026
MAGEA9B	-0.00089	-2.8	0.0058	0.034
MEIS3	-0.00021	-2.9	0.0036	0.024
MET	-0.00019	-4	9.80E-05	0.0015
MFSD2A	-0.00016	-3.4	0.00088	0.0081
MME	-0.00029	-3	0.0033	0.022
MSX2	-0.00032	-4.1	4.80E-05	0.00082
MYH10	-0.00024	-4.2	3.80E-05	0.00068
NAGS	-0.00017	-3.3	0.0011	0.0095
NDRG1	-3.00E-04	-5.2	5.10E-07	2.10E-05
NID1	-0.00022	-3	0.0029	0.02
NKPD1	-0.00026	-3.1	0.0019	0.014
NOX5	-0.00036	-3.2	0.0013	0.011
OTUB2	-0.00017	-3.2	0.0018	0.014
PCSK9	-0.00031	-3.6	0.00042	0.0046
PHLDA1	-0.00014	-2.7	0.0079	0.042
PHLDB2	-0.00035	-6.3	1.40E-09	1.60E-07

基因	β	t.stat	p 值	FDR
[0221]	PNPLA3	-0.00037	-3.8	0.00019
	POPDC3	-0.00044	-3	0.0031
	PTPRH	-0.00036	-3.8	0.00017
	PYGL	-0.00034	-5.6	7.10E-08
	RBM44	-0.00032	-3.5	0.00049
	RGS20	-3.00E-04	-3.4	7.00E-04
	RNASE7	-0.00034	-2.6	0.0094
	SERPINA10	-0.00058	-2.8	0.0054
	SH2D5	-0.00048	-4.3	2.50E-05
	SHANK2	-0.00033	-2.8	0.0049
	SLC22A1	-0.00032	-2.7	0.0071
	SLC2A9	-0.00022	-4.3	2.60E-05
	SLC6A7	-0.00048	-2.9	0.0044
	SOX11	-0.00072	-4.8	2.50E-06
	STON2	-0.00023	-5.1	7.50E-07
	TFAP2E	-0.00029	-3.9	0.00014
	TMC7	-0.00024	-4.3	2.40E-05
	TNS4	-0.00026	-4	9.40E-05
	TRIP13	-0.00012	-2.7	0.0077
	TRPC4	-0.00024	-2.7	0.0078
	TRPV3	-0.00041	-4.1	4.80E-05
	ZIC5	-0.00057	-3.2	0.0017

[0222] 表11. 表达呈反比并且含有预测或验证的miR-26b-5p (MIMAT0000083) 的结合位点的mRNA

基因	β	t.stat	p 值	FDR
[0223]	ADAM12	-0.0015	-3.7	0.00023
	ADAMTS5	-0.00088	-2.8	0.0048
	ALX4	-0.0025	-3	0.0031
	APCDD1	-0.00068	-2.7	0.0069
	ARSJ	-0.00072	-3	0.0028
	ASPN	-0.0012	-2.7	0.0076
	AVPR1A	-0.00094	-2.7	0.0068
	BCAT1	-0.00093	-2.7	0.0067
	BEND6	-0.00069	-2.6	0.0091
	BICD1	-0.00057	-2.8	0.0051
	C14orf37	-0.00072	-2.7	0.0074
	C3orf72	-0.0021	-2.7	0.0076
	CACNA1C	-0.00081	-2.9	0.0036
	CALCRL	-0.00058	-2.7	0.0084
	CCRN4L	-0.00057	-2.8	0.0062
	CDH11	-0.001	-2.7	0.0066
	CLSTN2	-0.0016	-3.6	0.00034
	CNTNAP2	-0.0025	-3.8	0.00018
	COL10A1	-0.0019	-3.1	0.0022
	COL11A1	-0.0024	-3.5	0.00055
	COL12A1	-0.0012	-3.7	0.00026
	COL1A2	-0.0013	-3.3	0.0011

基因	β	t.stat	p 值	FDR
COL5A1	-0.0012	-3.1	0.002	0.015
CRISPLD2	-0.00084	-3.2	0.0014	0.011
DCBLD1	-0.00064	-2.9	0.0044	0.027
DCLK1	-0.0012	-2.6	0.0089	0.046
DNAH17	-0.0013	-2.6	0.009	0.046
EFCAB4B	-0.00086	-3.2	0.0017	0.013
EML5	-0.00084	-3	0.0032	0.022
ENPEP	-0.00084	-3.1	0.002	0.015
ENTPD3	-0.00081	-2.9	0.0037	0.024
F2RL1	-0.00082	-2.9	0.0047	0.029
FAM169A	-0.00068	-3	0.0032	0.021
FAM198B	-0.00083	-3	0.0028	0.019
FAM26E	-0.001	-3.4	0.00076	0.0072
FMN1	-0.00092	-2.7	0.0079	0.042
FN1	-0.0013	-3.1	0.0023	0.017
FNDC1	-0.0014	-3.1	0.0025	0.018
FOXD1	-0.00099	-3.3	0.0011	0.0093
GPC4	-0.001	-2.7	0.0079	0.042
GPC6	-0.0012	-2.8	0.0049	0.03
GPX8	-0.00068	-3.3	0.0012	0.01
GREB1	-0.00076	-2.9	0.0043	0.027
GUCY1A2	-0.00085	-2.7	0.0067	0.037
HOXA13	-0.0036	-4.3	2.80E-05	0.00054
HOXD8	-0.00069	-3.3	0.00099	0.0088
HS3ST3A1	-0.00085	-2.7	0.0084	0.044
HSD17B6	-0.00064	-3.2	0.0016	0.012
HTR7	-0.0011	-2.8	0.0053	0.031
INPP4B	-0.00094	-3.3	0.00097	0.0087
ITGA5	-0.00079	-2.9	0.0037	0.024
ITGA6	-0.00064	-2.6	0.0087	0.045
KCND2	-0.0014	-3.2	0.0013	0.011
KCNJ15	-0.00093	-3.2	0.0013	0.011
KIF26B	-0.0012	-3.9	0.00011	0.0016
KIRREL	-0.00072	-2.8	0.0061	0.035
KLK2	-0.0026	-2.7	0.0068	0.038
LAMA1	-0.0017	-3.1	0.0019	0.014
LHX9	-0.0024	-2.6	0.0094	0.048
LINGO1	-0.00075	-2.7	0.0074	0.04
LMX1B	-0.0019	-3	0.0033	0.022
LOX	-0.00093	-3.2	0.0014	0.012
LOXL2	-0.00094	-3	0.0033	0.022
LPAR3	-0.00074	-2.9	0.0046	0.028
LRP12	-0.00056	-2.6	0.0086	0.045
LUM	-0.00089	-2.6	0.0087	0.045
MFAP3L	-9.00E-04	-3.1	0.0024	0.018
MFAP5	-0.0017	-3.5	0.00047	0.005
MME	-0.0016	-4	7.30E-05	0.0011
MMP16	-0.0018	-3.9	0.00012	0.0017
MSX2	-0.0011	-3.5	0.00059	0.0059

[0224]

基因	β	t.stat	p 值	FDR
MYH10	-0.00086	-3.7	0.00026	0.0032
NDRG1	-0.00069	-2.8	0.0056	0.033
NID1	-0.0013	-4.6	5.30E-06	0.00014
OTUB2	-0.00063	-2.9	0.0041	0.026
PCDHB16	-0.001	-3.5	0.00049	0.0051
PDE3A	-0.001	-2.9	0.0036	0.023
PGM2L1	-0.00068	-2.8	0.0062	0.035
PHLDB2	-0.00075	-3.1	0.0018	0.014
PLOD2	-0.00075	-3.5	0.00052	0.0054
PRDM5	-0.00069	-2.7	0.0076	0.041
PRKG1	-0.00099	-3	0.0026	0.019
PRSS35	-0.0019	-2.8	0.0056	0.033
PTPRD	-0.0017	-3.5	0.00046	0.0049
RBMS3	-0.00088	-3	0.0029	0.02
RNF128	-0.0012	-2.7	0.0078	0.042
RNF152	-0.00066	-2.8	0.0062	0.035
SALL1	-0.0017	-2.6	0.0097	0.049
SEMA6D	-0.0011	-2.9	0.0037	0.024
SESN3	-0.001	-4	8.90E-05	0.0014
SFRP4	-0.0017	-2.7	0.0075	0.04
SHANK2	-0.0016	-3.4	0.00068	0.0066
SLC2A9	-0.00062	-2.9	0.0035	0.023
SNX10	-0.00066	-2.8	0.0052	0.031
SOX11	-0.0017	-2.7	0.0081	0.043
SPOCK1	-0.0013	-3.1	0.0021	0.015
ST6GALNAC5	-0.0013	-3.4	0.00078	0.0073
STON2	-0.00052	-2.8	0.0059	0.034
SULF1	-0.001	-2.9	0.0047	0.029
SYT13	-0.0033	-3.8	2.00E-04	0.0026
SYT14	-0.0025	-3.2	0.0016	0.013
TET1	-0.00077	-2.7	0.0084	0.044
TRPC4	-0.0011	-2.9	0.0046	0.028
TRPS1	-0.00063	-2.8	0.0055	0.032
VCAN	-0.0011	-3	0.0031	0.021
VEPH1	-0.0021	-3.9	0.00013	0.0018
VGLL3	-9.00E-04	-2.8	0.0062	0.035
WNT2	-0.0015	-2.8	0.0056	0.033
WNT5A	-0.00078	-2.9	0.0042	0.026
WT1	-0.0029	-3	0.003	0.02
ZFHX4	-0.0014	-4	9.50E-05	0.0014
ZNF469	-0.0011	-3	0.0032	0.021
ZNF704	-0.00093	-2.9	0.0035	0.023

[0226] 表12. 表达呈反比并且含有预测或验证的miR-145-5p (MIMAT0000437) 的结合位点的mRNA

基因	β	t.stat	p 值	FDR
APOL1	-0.00077	-3.3	0.001	0.0091
CCNA2	-0.00037	-3.2	0.0013	0.011

基因	β	t.stat	p 值	FDR
CMPK2	-0.00078	-3.2	0.0018	0.014
DDX60	-0.00066	-3	0.0031	0.021
DEPDC1B	-0.00039	-3	0.0027	0.019
ELOVL7	-7.00E-04	-4	9.20E-05	0.0014
EPHA4	-0.00049	-2.7	0.007	0.039
ESCO2	-0.00036	-2.6	0.0088	0.046
FAM169A	-0.00046	-2.6	0.0089	0.046
GCNT4	-0.00054	-2.9	0.004	0.026
GPR150	-0.0017	-2.8	0.0048	0.029
HOXA1	-0.00064	-2.8	0.0057	0.033
HS6ST2	-0.0012	-3	0.0033	0.022
IFI44L	-0.00094	-3	0.0029	0.02
KIAA0895	-0.00043	-2.7	0.0065	0.037
PBK	-0.00036	-2.7	0.0083	0.044
PHEX	-7.00E-04	-2.9	0.0042	0.027
PRF1	-0.00066	-2.7	0.007	0.038
RAB27B	-5.00E-04	-2.8	0.0057	0.033
SGPP2	-0.00058	-2.8	0.0059	0.034
SH2D4A	-0.00043	-2.6	0.0091	0.047
SPC24	-4.00E-04	-2.6	0.0087	0.045
TLX2	-0.0019	-2.8	0.005	0.03
ZIC2	-0.0013	-4	8.70E-05	0.0013
ZIC5	-0.0018	-3.3	0.001	0.0089
PLEKHH1	-0.00085	-5.2	4.40E-07	1.90E-05
GDPD4	-0.0027	-4.6	8.10E-06	2.00E-04
CAGE1	-0.0013	-4	7.40E-05	0.0012
C14orf73	-0.0016	-4	8.50E-05	0.0013
C9orf84	-0.00078	-3.8	0.00017	0.0023
C15orf42	-0.00054	-3.7	0.00023	0.0029
SEC16B	-0.00074	-3.6	0.00034	0.0039
SATL1	-0.00061	-3.6	0.00036	0.004
WARS	-0.00081	-3.6	4.00E-04	0.0044
POLQ	-0.00049	-3.6	0.00041	0.0044
CSAG3	-0.0027	-3.6	4.00E-04	0.0044
OR2A1	-0.001	-3.6	0.00044	0.0047
ZBP1	-0.0012	-3.5	0.00051	0.0053
KIAA0101	-0.00045	-3.5	0.00051	0.0053
NCRNA00114	-0.0017	-3.5	0.00057	0.0058
NEIL3	-0.00054	-3.5	0.00059	0.0059
CDCA2	-0.00045	-3.5	0.00064	0.0063
HIST1H2AJ	-0.0016	-3.4	0.00069	0.0066
C16orf75	-5.00E-04	-3.4	0.00072	0.0069
SLC44A5	-0.0011	-3.4	0.00092	0.0083
CASP5	-0.0013	-3.3	0.00097	0.0087
HERC5	-0.00073	-3.3	0.001	0.0089
ACE2	-0.00087	-3.3	0.001	0.0091
TTK	-0.00036	-3.3	0.0011	0.0093
RRM2	-0.00039	-3.3	0.0011	0.0098

[0228]

表13. 表达呈反比并且含有预测或验证的miR-205-5p (MIMAT0000266) 的结合位点的mRNA

基因	β	t.stat	p 值	FDR
BAI3	-9.90E-05	-4	8.20E-05	0.0013
42430	-5.30E-05	-6.1	4.10E-09	3.80E-07
A2M	-6.90E-05	-9.2	1.10E-17	1.50E-14
AASS	-2.40E-05	-3	0.0027	0.019
ABCA6	-9.40E-05	-8.8	1.90E-16	1.90E-13
ABCC12	-0.00012	-3.8	0.00016	0.0021
ABCD2	-9.50E-05	-5.3	2.30E-07	1.10E-05
ACACB	-5.40E-05	-5.8	2.30E-08	1.60E-06
ACSL5	-4.60E-05	-4.5	1.00E-05	0.00024
ACTC1	-0.00012	-2.9	0.0041	0.026
ADAM28	-5.20E-05	-3.7	0.00022	0.0028
ADAMTS16	-0.00012	-4.8	3.30E-06	9.70E-05
ADAMTS18	-0.00014	-6.4	8.40E-10	1.00E-07
ADAMTS4	-4.80E-05	-4.8	3.10E-06	9.20E-05
ADAMTS5	-8.20E-05	-7.9	7.20E-14	3.30E-11
ADAMTS9	-7.20E-05	-7.8	1.30E-13	5.70E-11
ADAMTSL1	-0.00011	-8.8	2.30E-16	2.20E-13
ADAMTSL2	-2.60E-05	-3.2	0.0013	0.011
ADCY2	-0.00011	-5.4	1.50E-07	7.50E-06
ADCYAP1	-9.20E-05	-4.7	3.50E-06	1.00E-04
ADCYAP1R1	-0.00011	-3.6	0.00046	0.0048
ADD2	-0.00011	-4.5	1.10E-05	0.00025
ADH1B	-0.00018	-4.8	2.30E-06	7.20E-05
ADORA3	-6.40E-05	-6.1	3.90E-09	3.70E-07
ADRA1B	-6.40E-05	-3.1	0.0019	0.014
AFF3	-8.80E-05	-5.5	1.00E-07	5.60E-06
AGTR1	-0.00019	-7.9	8.50E-14	3.80E-11
AKAP2	-7.00E-05	-6.8	9.10E-11	1.50E-08
AKAP7	-4.40E-05	-5.8	1.90E-08	1.40E-06
AKT3	-4.10E-05	-4.9	1.70E-06	5.70E-05
ALCAM	-2.70E-05	-2.7	0.0065	0.036
ALDH3B1	-4.50E-05	-6	5.20E-09	4.70E-07
ALPK3	-6.60E-05	-6.2	2.10E-09	2.20E-07
ALX4	-8.70E-05	-2.8	0.006	0.034
AMOT	-7.60E-05	-4.8	2.70E-06	8.20E-05
ANGPTL7	-0.00017	-5	1.30E-06	4.40E-05
ANK2	-0.00011	-8.7	3.60E-16	3.30E-13
ANTXR1	-4.00E-05	-5.2	3.40E-07	1.50E-05
APBA1	-2.50E-05	-3.2	0.0015	0.012
APLNR	-7.80E-05	-7.2	8.00E-12	1.90E-09
APOC4	-8.90E-05	-3	0.003	0.02
APOL6	-4.60E-05	-5.6	5.10E-08	3.10E-06
AQP1	-5.70E-05	-7.7	3.00E-13	1.10E-10
AQP9	-6.20E-05	-4	8.50E-05	0.0013
AR	-0.00012	-5.9	1.40E-08	1.10E-06

[0230]

基因	β	t.stat	p 值	FDR
ARHGAP15	-5.50E-05	-5.7	2.90E-08	2.00E-06
ARHGAP24	-3.80E-05	-4.2	3.90E-05	7.00E-04
ARHGAP26	-2.70E-05	-3.2	0.0018	0.014
ARHGAP31	-4.90E-05	-6.5	3.20E-10	4.50E-08
ARHGAP42	-3.30E-05	-3.9	0.00012	0.0017
ASPA	-0.00012	-5	1.00E-06	3.60E-05
ASTN1	-8.80E-05	-2.8	0.0053	0.031
ATP10A	-8.80E-05	-9.6	6.90E-19	1.30E-15
ATP6V0A4	-0.00011	-4.3	2.00E-05	0.00042
ATP8A1	-6.00E-05	-5.7	3.30E-08	2.20E-06
ATRNL1	-7.90E-05	-3.2	0.0014	0.011
AVPR1A	-5.00E-05	-4	7.50E-05	0.0012
AXIN2	-5.90E-05	-6.7	1.20E-10	1.90E-08
B3GALT5	-0.00012	-3.2	0.0014	0.011
B4GALT6	-3.70E-05	-4.1	6.00E-05	0.00099
BACH2	-3.60E-05	-3.6	0.00039	0.0043
BCAS1	-4.30E-05	-2.6	0.0097	0.049
BCL2	-4.50E-05	-4.5	8.60E-06	0.00021
BEND4	-0.00013	-4	9.20E-05	0.0014
BEST3	-9.70E-05	-2.9	0.0038	0.025
BHLHE41	-3.50E-05	-3.3	0.00098	0.0088
BICC1	-8.80E-05	-6.9	3.80E-11	7.40E-09
BICD1	-2.10E-05	-2.8	0.0053	0.031
BMF	-2.10E-05	-2.7	0.0073	0.04
BMP3	-0.00011	-2.9	0.0041	0.026
BMP6	-5.50E-05	-6.3	1.50E-09	1.60E-07
BMP8A	-3.10E-05	-2.7	0.0064	0.036
BMPER	-5.50E-05	-3.4	0.00073	0.007
BNC2	-9.10E-05	-8.2	8.90E-15	5.30E-12
BPI	-0.00012	-3.8	2.00E-04	0.0025
BST1	-7.00E-05	-9.2	1.60E-17	2.10E-14
BTLA	-7.20E-05	-4.5	9.00E-06	0.00022
BTN3A2	-3.00E-05	-3.5	0.00047	0.0049
C10orf10	-3.50E-05	-3.8	0.00017	0.0022
C10orf128	-8.30E-05	-6.1	4.90E-09	4.50E-07
C10orf131	-7.40E-05	-2.6	0.0089	0.046
C10orf71	-0.00015	-3.3	0.0013	0.011
C11orf21	-7.70E-05	-4.1	5.40E-05	9.00E-04
C12orf68	-4.30E-05	-4	8.00E-05	0.0012
C15orf52	-2.90E-05	-2.9	0.0044	0.027
C17orf72	-4.10E-05	-4.7	4.60E-06	0.00013
C17orf82	-6.20E-05	-3.3	0.0011	0.0093
C1QTNF3	-4.20E-05	-2.9	0.0035	0.023
C22orf34	-0.00012	-3.9	0.00013	0.0018
C3orf36	-4.70E-05	-3.9	0.00015	0.002
C4orf40	-9.20E-05	-3.3	0.001	0.0089
C6	-0.00022	-6.2	2.70E-09	2.70E-07
C7	-0.00016	-5.4	1.50E-07	7.60E-06
CA13	-3.50E-05	-3.5	0.00061	0.0061

[0231]

基因	β	t.stat	p 值	FDR
CA3	-0.00012	-4.3	2.70E-05	0.00052
CA8	-0.00013	-5.4	1.40E-07	7.10E-06
CABP4	-7.10E-05	-3.8	0.00019	0.0024
CACNA2D2	-4.40E-05	-4.4	1.90E-05	0.00039
CADM1	-6.80E-05	-6.1	3.30E-09	3.20E-07
CADPS2	-6.50E-05	-7.3	4.40E-12	1.20E-09
CALCRL	-4.70E-05	-6.2	2.50E-09	2.50E-07
CALN1	-1.00E-04	-3.1	0.0024	0.017
CAMK2A	-7.90E-05	-4.3	2.70E-05	0.00052
CAMK4	-6.00E-05	-4.4	1.50E-05	0.00032
CCDC141	-9.40E-05	-6.1	4.10E-09	3.90E-07
CCDC144A	-6.20E-05	-2.7	0.0085	0.045
CCDC152	-5.50E-05	-4.5	1.20E-05	0.00028
CCDC68	-7.20E-05	-3.9	1.00E-04	0.0015
CCDC80	-7.00E-05	-7.4	1.60E-12	4.90E-10
CCDC85A	-9.80E-05	-6.9	5.10E-11	9.40E-09
CCL13	-7.20E-05	-5	8.40E-07	3.20E-05
CCL21	-6.20E-05	-3.3	0.00098	0.0087
CCL22	-2.90E-05	-2.7	0.0076	0.041
CCR5	-6.40E-05	-5.4	1.20E-07	6.50E-06
CCR7	-4.30E-05	-3.3	0.0011	0.0098
CCR8	-4.60E-05	-2.7	0.0085	0.044
CD163L1	-6.30E-05	-5.9	1.30E-08	1.00E-06
CD180	-6.50E-05	-5.6	4.60E-08	2.90E-06
CD1D	-5.30E-05	-5.6	5.40E-08	3.30E-06
CD226	-6.90E-05	-4.7	4.90E-06	0.00013
CD28	-6.60E-05	-5.1	5.20E-07	2.10E-05
CD300E	-8.30E-05	-3.1	0.0025	0.018
CD4	-5.90E-05	-6.3	1.50E-09	1.70E-07
CD84	-8.70E-05	-6.8	8.00E-11	1.40E-08
CD93	-5.90E-05	-7.9	6.20E-14	2.90E-11
CDH11	-7.90E-05	-6	5.60E-09	5.00E-07
CDK14	-3.70E-05	-3.4	0.00077	0.0072
CECR1	-6.80E-05	-6.1	4.10E-09	3.80E-07
CERKL	-6.50E-05	-6.3	1.50E-09	1.70E-07
CES1	-9.70E-05	-3.9	0.00012	0.0017
CFL2	-3.20E-05	-4.6	5.80E-06	0.00015
CHN1	-4.70E-05	-5.4	1.30E-07	6.70E-06
CHRDL1	-0.00017	-6.2	2.00E-09	2.10E-07
CHRFAM7A	-4.30E-05	-3.3	0.00099	0.0088
CHRNA7	-8.00E-05	-3.6	0.00039	0.0043
CHRNB2	-6.10E-05	-2.8	0.005	0.03
CHST11	-2.60E-05	-2.8	0.0051	0.03
CHST6	-6.40E-05	-4.8	2.60E-06	7.90E-05
CIITA	-5.40E-05	-4.5	9.50E-06	0.00023
CLDN11	-8.70E-05	-7.7	3.10E-13	1.20E-10
CLEC10A	-6.90E-05	-5.1	7.80E-07	3.00E-05
CLIC5	-9.30E-05	-7	1.70E-11	3.60E-09
CMKLR1	-7.80E-05	-7.7	3.60E-13	1.30E-10

[0232]

[0233]

基因	β	t.stat	p 值	FDR
CMTM7	-4.10E-05	-4.8	2.30E-06	7.10E-05
CMYA5	-8.20E-05	-4.3	2.50E-05	0.00049
CNR1	-0.00011	-4.8	2.40E-06	7.40E-05
CNTNAP2	-8.70E-05	-3.6	0.00036	0.0041
COL14A1	-8.50E-05	-8.3	5.20E-15	3.40E-12
COL1A1	-7.20E-05	-4.7	4.40E-06	0.00012
CPE	-2.80E-05	-2.8	0.0055	0.032
CPEB1	-9.80E-05	-4.8	2.50E-06	7.70E-05
CREB5	-3.20E-05	-3.1	0.0022	0.016
CRISPLD2	-5.20E-05	-5.7	4.00E-08	2.60E-06
CRMP1	-3.80E-05	-3.5	0.00064	0.0063
CSF1	-3.80E-05	-5	1.30E-06	4.40E-05
CSMD2	-6.30E-05	-3.9	0.00011	0.0016
CTLA4	-3.60E-05	-2.6	0.0087	0.045
CTSO	-4.90E-05	-6.8	5.70E-11	1.00E-08
CXCL11	-8.90E-05	-4	9.90E-05	0.0015
CXCR5	-5.80E-05	-3.2	0.0018	0.014
CXorf21	-6.60E-05	-5.5	8.40E-08	4.80E-06
CXXC4	-9.50E-05	-3.2	0.0015	0.012
CYBB	-8.00E-05	-7	2.40E-11	4.90E-09
CYP19A1	-7.10E-05	-5.4	1.30E-07	6.70E-06
CYP21A2	-5.50E-05	-2.9	0.0046	0.028
CYP2A7	-8.30E-05	-2.9	0.0047	0.029
CYP4V2	-4.60E-05	-5.7	3.20E-08	2.10E-06
CYSLTR2	-9.20E-05	-6.1	5.00E-09	4.50E-07
CYTH4	-4.90E-05	-5.2	4.30E-07	1.80E-05
DAAM2	-7.20E-05	-7.4	1.50E-12	4.60E-10
DAB1	-0.00012	-4.2	3.60E-05	0.00065
DACH1	-8.90E-05	-6.7	1.20E-10	1.90E-08
DAGLA	-3.90E-05	-4.2	3.50E-05	0.00064
DBX2	-0.00014	-3.8	0.00019	0.0024
DCHS1	-5.60E-05	-5.9	1.10E-08	8.90E-07
DCHS2	-6.70E-05	-3.6	0.00036	0.004
DCLK3	-3.00E-05	-2.8	0.0048	0.029
DCN	-7.80E-05	-7.9	8.70E-14	3.90E-11
DDAH1	-5.10E-05	-5.6	5.10E-08	3.10E-06
DDN	-4.50E-05	-2.7	0.0067	0.037
DDR2	-8.20E-05	-7.1	1.30E-11	2.80E-09
DGKG	-5.20E-05	-3.8	0.00017	0.0023
DGKI	-8.30E-05	-5.5	1.10E-07	6.00E-06
DIO2	-7.10E-05	-6.2	1.80E-09	1.90E-07
DLC1	-4.60E-05	-5.5	8.30E-08	4.70E-06
DLG2	-7.70E-05	-3.4	0.00092	0.0083
DMD	-3.80E-05	-3.4	0.00081	0.0075
DNAH9	-5.70E-05	-3.1	0.002	0.015
DNM3	-4.10E-05	-4.6	6.30E-06	0.00016
DOCK3	-4.10E-05	-3.8	0.00016	0.0022
DOK6	-7.10E-05	-5.6	4.70E-08	2.90E-06
DPP4	-3.40E-05	-2.8	0.0057	0.033

[0234]

基因	β	t.stat	p 值	FDR
DPYSL3	-7.00E-05	-7	2.60E-11	5.30E-09
DUSP27	-0.00014	-3.3	0.0011	0.0093
DUSP4	-3.70E-05	-4	9.30E-05	0.0014
EBF1	-6.20E-05	-7.4	1.50E-12	4.70E-10
ECM2	-7.00E-05	-7.8	1.80E-13	7.20E-11
EDA2R	-0.00011	-11	8.70E-24	4.10E-20
EDIL3	-7.50E-05	-5.8	1.60E-08	1.20E-06
EDN3	-0.00019	-5.2	3.80E-07	1.70E-05
ELAVL4	-7.70E-05	-3.2	0.0014	0.011
ELFN2	-5.80E-05	-2.7	0.0079	0.042
ELOVL6	-3.30E-05	-3.7	3.00E-04	0.0035
ELTD1	-5.90E-05	-8.9	1.10E-16	1.10E-13
EMR2	-3.10E-05	-3.6	0.00035	0.004
EMX2	-6.20E-05	-3.3	0.0012	0.01
ENPP4	-9.40E-05	-8.2	9.20E-15	5.50E-12
ENPP5	-9.20E-05	-4	8.40E-05	0.0013
EPHA3	-8.70E-05	-6.5	3.90E-10	5.30E-08
EPHA7	-0.00014	-4.5	1.20E-05	0.00027
EPHX4	-7.50E-05	-4.4	1.50E-05	0.00032
EPS8	-6.90E-05	-6.8	6.00E-11	1.10E-08
ERBB4	-0.00016	-4.8	3.10E-06	9.20E-05
ERC2	-5.00E-05	-3.4	0.00071	0.0068
ERMN	-7.10E-05	-5	1.00E-06	3.70E-05
ESRRG	-0.00012	-4.2	4.40E-05	0.00077
ETV1	-6.50E-05	-6.2	2.80E-09	2.80E-07
ETV5	-4.30E-05	-4.9	1.50E-06	5.20E-05
ETV7	-2.80E-05	-2.7	0.0083	0.044
F2RL2	-6.40E-05	-4.6	6.10E-06	0.00016
FABP4	-9.80E-05	-3.9	0.00014	0.0019
FAM124A	-6.00E-05	-6.9	3.50E-11	6.80E-09
FAM124B	-7.60E-05	-7.5	1.00E-12	3.20E-10
FAM131B	-5.10E-05	-5.6	4.80E-08	3.00E-06
FAM134B	-5.60E-05	-5.3	2.80E-07	1.30E-05
FAM155A	-9.20E-05	-7	1.90E-11	4.10E-09
FAM169A	-2.60E-05	-3.1	0.0021	0.016
FAM174B	-4.80E-05	-6.5	3.80E-10	5.20E-08
FAM179A	-3.80E-05	-3.3	0.0012	0.01
FAM180A	-5.10E-05	-3.7	0.00029	0.0034
FAM19A5	-6.40E-05	-5	8.40E-07	3.10E-05
FAM26E	-6.80E-05	-6.6	1.80E-10	2.80E-08
FAM49A	-5.60E-05	-7	1.70E-11	3.70E-09
FAM78A	-4.90E-05	-6	5.40E-09	4.90E-07
FAR2	-4.40E-05	-5.6	4.80E-08	3.00E-06
FBN1	-8.50E-05	-7.1	1.50E-11	3.30E-09
FERMT2	-7.20E-05	-8.6	9.80E-16	7.80E-13
FETUB	-9.80E-05	-2.7	0.0067	0.037
FGF1	-4.50E-05	-4.4	1.30E-05	3.00E-04
FGF10	-0.00016	-5.2	4.90E-07	2.00E-05
FGF14	-0.00012	-8.4	3.90E-15	2.60E-12

[0235]

基因	β	t.stat	p 值	FDR
FGF2	-6.70E-05	-5.7	2.90E-08	2.00E-06
FGF7	-9.30E-05	-8.7	4.20E-16	3.80E-13
FGFR1	-6.00E-05	-6.7	1.20E-10	2.00E-08
FHL5	-8.70E-05	-5.4	1.30E-07	6.80E-06
FMN1	-4.80E-05	-3.9	0.00014	0.002
FMO2	-9.40E-05	-4.6	6.80E-06	0.00017
FNDC5	-5.30E-05	-3.4	0.00092	0.0083
FOXF1	-5.60E-05	-5.9	1.20E-08	9.40E-07
FOXI2	-9.30E-05	-2.8	0.0052	0.031
FPR1	-6.20E-05	-6.2	1.90E-09	2.00E-07
FREM2	-1.00E-04	-3	0.0032	0.022
FRY	-7.00E-05	-6.9	3.20E-11	6.30E-09
FSD2	-0.00012	-3.5	0.00048	0.005
FSTL1	-6.20E-05	-7.1	1.00E-11	2.40E-09
FXYD2	-7.60E-05	-4.7	4.80E-06	0.00013
FXYD6	-8.00E-05	-6.7	1.00E-10	1.70E-08
FZD3	-4.90E-05	-5.5	1.10E-07	5.90E-06
FZD8	-2.50E-05	-2.7	0.0077	0.041
GAB3	-4.90E-05	-5.6	5.00E-08	3.10E-06
GABRA4	-1.00E-04	-2.9	0.0035	0.023
GADD45G	-3.30E-05	-3.7	0.00025	0.003
GALNT13	-6.30E-05	-2.8	0.0048	0.029
GALNT5	-5.20E-05	-3.4	9.00E-04	0.0082
GCNT4	-3.90E-05	-4.4	1.70E-05	0.00036
GDF10	-0.00017	-7.3	4.80E-12	1.20E-09
GDPD1	-2.20E-05	-2.6	0.0095	0.048
GDPD5	-2.40E-05	-3	0.0033	0.022
GFRA1	-7.80E-05	-5	1.00E-06	3.70E-05
GFRA2	-6.30E-05	-5.6	6.40E-08	3.80E-06
GJA5	-6.00E-05	-6.2	2.20E-09	2.30E-07
GLDN	-5.10E-05	-4.8	2.30E-06	7.20E-05
GLIS3	-6.20E-05	-6	7.40E-09	6.30E-07
GLRB	-8.60E-05	-5	9.90E-07	3.60E-05
GNE	-2.30E-05	-2.8	0.0054	0.032
GNG2	-3.90E-05	-4.7	3.70E-06	0.00011
GNG7	-3.50E-05	-3.6	0.00032	0.0037
GOLM1	-4.80E-05	-6.2	2.00E-09	2.10E-07
GPC6	-0.00011	-7.6	5.40E-13	1.90E-10
GPM6A	-8.30E-05	-3	0.0034	0.022
GPR183	-5.70E-05	-6.2	2.60E-09	2.60E-07
GPR31	-9.40E-05	-3	0.0033	0.022
GPR4	-3.40E-05	-4.7	4.70E-06	0.00013
GPR88	-0.00015	-5.1	6.20E-07	2.50E-05
GPX8	-3.60E-05	-4.8	2.90E-06	8.60E-05
GRAMD1B	-4.30E-05	-3.8	0.00019	0.0025
GRAP2	-5.10E-05	-4.4	1.40E-05	0.00031
GRB14	-6.60E-05	-3.2	0.0017	0.013
GREB1	-3.50E-05	-3.6	0.00037	0.0041
GREM2	-0.00012	-5.6	4.50E-08	2.80E-06

[0236]

基因	β	t.stat	p 值	FDR
GRIA1	-0.00012	-3.7	3.00E-04	0.0035
GRID1	-4.60E-05	-4.5	8.80E-06	0.00021
GSG1L	-9.10E-05	-3	0.0031	0.021
GSR	-2.60E-05	-2.9	0.004	0.026
GUCA1A	-6.50E-05	-3.5	0.00055	0.0056
GUCY1A2	-4.80E-05	-4.3	2.60E-05	0.00051
HCN1	-9.90E-05	-3.2	0.0013	0.011
HDX	-8.00E-05	-6.3	1.30E-09	1.50E-07
HEYL	-4.10E-05	-4.4	1.80E-05	0.00038
HFE2	-0.00017	-3.6	4.00E-04	0.0043
HHIPL1	-5.30E-05	-5.2	4.30E-07	1.80E-05
HIST2H2BE	-2.20E-05	-2.6	0.0095	0.048
HLA-DPB1	-6.10E-05	-6.3	1.60E-09	1.80E-07
HLA-DQB1	-6.00E-05	-5.1	8.20E-07	3.10E-05
HS6ST3	-9.80E-05	-3	0.0032	0.021
HSD11B1	-9.10E-05	-6.5	3.70E-10	5.00E-08
HSPA12B	-6.10E-05	-8.4	2.70E-15	1.90E-12
HTR1F	-9.90E-05	-4.1	5.30E-05	9.00E-04
HUNK	-3.30E-05	-2.8	0.0051	0.031
ICA1L	-3.60E-05	-4.6	6.20E-06	0.00016
ICAM2	-3.90E-05	-5.4	1.90E-07	9.40E-06
IFI44L	-4.70E-05	-3.1	0.0021	0.016
IGFBPL1	-9.00E-05	-2.7	0.0071	0.039
IGLON5	-3.50E-05	-3.2	0.0017	0.013
IKZF1	-5.70E-05	-5	1.10E-06	3.90E-05
IKZF3	-6.70E-05	-3.5	0.00049	0.0051
IL15	-2.60E-05	-3.1	0.0025	0.018
IL16	-4.40E-05	-5.1	5.40E-07	2.20E-05
IL17D	-6.70E-05	-3.8	0.00018	0.0023
IL18BP	-2.70E-05	-3.2	0.0016	0.013
IL21R	-4.70E-05	-4	8.00E-05	0.0012
IL5RA	-1.00E-04	-3.2	0.0016	0.013
IL6ST	-3.40E-05	-4.3	2.90E-05	0.00055
IMPG2	-4.50E-05	-2.7	0.0069	0.038
IPCEF1	-4.40E-05	-4.2	3.40E-05	0.00063
IRAK3	-3.60E-05	-3.6	0.00036	0.0041
IRF1	-2.40E-05	-3	0.0033	0.022
ITGA11	-8.60E-05	-5.8	2.00E-08	1.50E-06
ITGA8	-7.80E-05	-4.7	5.20E-06	0.00014
ITGB1BP2	-5.90E-05	-4.1	6.20E-05	0.001
ITGB3	-6.20E-05	-5.8	1.50E-08	1.20E-06
JPH4	-7.10E-05	-6.8	6.50E-11	1.20E-08
KAL1	-4.30E-05	-3.7	0.00026	0.0031
KAT2B	-3.00E-05	-4	9.10E-05	0.0014
KBTBD11	-3.80E-05	-3.9	0.00015	0.002
KCNAB1	-2.40E-05	-3.3	0.0011	0.0094
KCNB1	-0.00018	-6.1	4.90E-09	4.40E-07
KCNC1	-8.70E-05	-3.3	0.0011	0.0095
KCND1	-2.70E-05	-3	0.0031	0.021

[0237]

基因	β	t.stat	p 值	FDR
KCND2	-0.00011	-7.5	9.00E-13	2.90E-10
KCNE4	-5.60E-05	-5.3	2.20E-07	1.00E-05
KCNH1	-6.50E-05	-3.1	0.0019	0.014
KCNJ16	-0.00013	-3.5	0.00047	0.0049
KCNJ5	-3.40E-05	-2.7	0.0079	0.042
KCNJ6	-9.20E-05	-3.2	0.0016	0.013
KCNJ8	-5.50E-05	-5.9	1.00E-08	8.40E-07
KCNK3	-9.70E-05	-5.6	5.20E-08	3.20E-06
KCNMB1	-3.70E-05	-5.1	5.70E-07	2.30E-05
KCNMB4	-4.20E-05	-3.5	0.00046	0.0049
KCNN3	-4.50E-05	-4.3	2.40E-05	0.00048
KCNQ1	-3.10E-05	-3.8	0.00016	0.0021
KCNQ3	-7.10E-05	-3.9	1.00E-04	0.0015
KCNT1	-0.00013	-4.1	6.10E-05	0.001
KCNT2	-0.00013	-7.8	1.60E-13	6.70E-11
KDELR3	-2.80E-05	-3.2	0.0016	0.012
KDR	-4.70E-05	-5.9	1.20E-08	9.50E-07
KIAA1024	-3.30E-05	-3.8	0.00021	0.0026
KIAA1199	-4.70E-05	-4.7	5.20E-06	0.00014
KIAA1324L	-5.00E-05	-5.5	1.10E-07	6.10E-06
KIAA1462	-6.50E-05	-7.5	8.80E-13	2.90E-10
KIF26B	-3.80E-05	-3.5	0.00058	0.0058
KIF5C	-5.30E-05	-5.5	1.10E-07	5.90E-06
KIF6	-7.10E-05	-3.6	0.00044	0.0047
KIT	-7.30E-05	-6.6	2.20E-10	3.20E-08
KLF12	-2.80E-05	-3.2	0.0015	0.012
KLF2	-3.20E-05	-4.2	4.10E-05	0.00072
KLF9	-4.20E-05	-6.1	4.30E-09	4.00E-07
KLHDC8A	-9.40E-05	-6	5.90E-09	5.20E-07
KLHL14	-1.00E-04	-3.9	0.00014	0.0019
KLHL6	-4.30E-05	-4.4	1.60E-05	0.00035
KLRB1	-5.70E-05	-4	8.80E-05	0.0013
KLRG1	-7.30E-05	-6.3	1.40E-09	1.60E-07
KLRK1	-7.40E-05	-5.3	2.50E-07	1.20E-05
KMO	-3.60E-05	-3.4	0.00089	0.0081
KRBA2	-3.00E-05	-2.9	0.0035	0.023
KSR2	-8.30E-05	-3.7	0.00022	0.0027
LAMA4	-5.80E-05	-6.3	1.40E-09	1.60E-07
LARGE	-2.50E-05	-2.9	0.0037	0.024
LAYN	-3.10E-05	-3.3	0.001	0.0091
LCA5	-2.00E-05	-2.8	0.0064	0.036
LCN6	-0.00014	-4.5	1.20E-05	0.00027
LCP2	-5.10E-05	-5.7	3.00E-08	2.00E-06
LEF1	-5.10E-05	-5.8	2.30E-08	1.60E-06
LGI2	-5.80E-05	-4.2	3.70E-05	0.00068
LIFR	-3.20E-05	-2.8	0.005	0.03
LILRA1	-9.30E-05	-4.1	4.90E-05	0.00084
LILRB1	-6.30E-05	-5.7	2.90E-08	2.00E-06
LILRB2	-6.70E-05	-6	7.10E-09	6.10E-07

[0238]

基因	β	t.stat	p 值	FDR
LIMCH1	-3.60E-05	-3.3	0.0012	0.01
LIMD2	-2.10E-05	-2.7	0.0074	0.04
LIMS2	-4.70E-05	-6.5	4.00E-10	5.40E-08
LIN7A	-7.30E-05	-4.1	6.10E-05	0.001
LMO3	-0.00014	-5	1.30E-06	4.40E-05
LMO7	-3.90E-05	-4.3	2.60E-05	0.00051
LMOD3	-0.00011	-3.2	0.0018	0.014
LMX1A	-0.00016	-5	9.30E-07	3.40E-05
LONRF2	-0.00012	-4.6	7.20E-06	0.00018
LONRF3	-8.90E-05	-5.9	1.10E-08	8.80E-07
LOX	-3.80E-05	-3.5	0.00046	0.0049
LPAR1	-5.50E-05	-6.9	3.10E-11	6.10E-09
LPPR4	-4.90E-05	-5.1	8.20E-07	3.10E-05
LRRC2	-0.00013	-5.6	5.90E-08	3.50E-06
LRRC4C	-0.00016	-6.4	6.10E-10	7.80E-08
LRRK2	-7.30E-05	-6.3	1.00E-09	1.20E-07
LRRN2	-8.20E-05	-5.9	9.20E-09	7.50E-07
LRRTM2	-6.40E-05	-4.3	2.50E-05	0.00049
LSAMP	-1.00E-04	-7.3	2.90E-12	8.10E-10
LTA	-5.00E-05	-3.5	0.00056	0.0057
LUZP2	-0.00013	-4.7	3.60E-06	1.00E-04
LYZ	-9.00E-05	-6.3	1.40E-09	1.60E-07
MAGI2	-2.80E-05	-3.3	0.0013	0.011
MAML3	-3.80E-05	-4.6	6.40E-06	0.00016
MAN1A1	-4.10E-05	-4.8	3.10E-06	9.20E-05
MAP2K6	-3.40E-05	-3.4	0.00074	0.007
MAP6	-5.20E-05	-3.9	0.00012	0.0017
MAP9	-5.80E-05	-4.6	5.90E-06	0.00015
MAPK4	-9.10E-05	-3.4	0.00088	0.008
MAT1A	-5.80E-05	-2.8	0.0052	0.031
MCOLN2	-2.80E-05	-3	0.0033	0.022
MDGA1	-3.00E-05	-2.6	0.0089	0.046
MEF2C	-7.40E-05	-6.5	4.00E-10	5.40E-08
MERTK	-6.40E-05	-6.3	1.20E-09	1.40E-07
MFNG	-3.80E-05	-4.7	3.90E-06	0.00011
MGAT4A	-6.40E-05	-8.1	1.70E-14	9.40E-12
MMP16	-9.10E-05	-5.5	9.50E-08	5.30E-06
MNDA	-5.70E-05	-5.5	7.20E-08	4.20E-06
MPP2	-4.20E-05	-3.7	0.00026	0.0031
MRGPRF	-5.50E-05	-6.2	2.30E-09	2.40E-07
MRO	-0.00013	-8.7	3.40E-16	3.00E-13
MURC	-7.30E-05	-4	7.50E-05	0.0012
MYEF2	-7.80E-05	-6	5.10E-09	4.60E-07
MYO1F	-5.30E-05	-6.1	4.70E-09	4.30E-07
MYOCD	-6.80E-05	-2.9	0.0045	0.028
MYOZ3	-7.10E-05	-3.7	0.00025	0.003
MYPN	-0.00013	-3.7	0.00029	0.0034
MYRIP	-9.00E-05	-4.8	2.80E-06	8.50E-05
NAP1L6	-1.00E-04	-3.1	0.0021	0.016

[0239]

基因	β	t.stat	p 值	FDR
NAT8L	-8.50E-05	-5	9.70E-07	3.50E-05
NCAM1	-9.00E-05	-5.2	4.10E-07	1.80E-05
NCAM2	-0.00013	-6.1	4.10E-09	3.80E-07
NEGR1	-0.00011	-7.9	8.50E-14	3.80E-11
NEK10	-5.70E-05	-3	0.0034	0.023
NEXN	-7.30E-05	-6.2	1.70E-09	1.90E-07
NHSL2	-8.60E-05	-6.5	5.40E-10	6.90E-08
NID2	-6.10E-05	-5.3	2.10E-07	1.00E-05
NIPSNAP3B	-3.10E-05	-3.6	0.00034	0.0038
NKX3-2	-7.00E-05	-3.5	0.00065	0.0064
NLGN4X	-5.20E-05	-3.1	0.002	0.015
NLRC3	-4.10E-05	-4.4	1.90E-05	0.00039
NOS1	-9.60E-05	-3.6	0.00043	0.0046
NOTCH4	-3.70E-05	-5.1	7.10E-07	2.80E-05
NPAS3	-8.10E-05	-5	1.00E-06	3.70E-05
NPHP1	-2.70E-05	-3.3	0.001	0.0092
NPTXR	-4.50E-05	-3.2	0.0014	0.011
NR3C2	-5.60E-05	-3.8	0.00015	0.0021
NR5A2	-5.00E-05	-6.6	3.10E-10	4.40E-08
NRG2	-0.00011	-5.1	5.90E-07	2.40E-05
NRIP2	-2.60E-05	-3.2	0.0015	0.012
NRXN3	-8.30E-05	-4.3	2.70E-05	0.00052
NT5C1A	-1.00E-04	-3.1	0.0025	0.018
NT5E	-3.60E-05	-2.7	0.0067	0.037
NTNG1	-0.00012	-4.4	1.50E-05	0.00033
NXPH3	-7.80E-05	-7.9	9.50E-14	4.20E-11
OGN	-0.00021	-8.4	4.00E-15	2.60E-12
ORAI2	-2.60E-05	-3.5	0.00057	0.0057
OTOF	-6.40E-05	-4.1	5.30E-05	9.00E-04
OTX2	-0.00011	-3	0.0028	0.019
P2RX7	-3.50E-05	-3	0.003	0.02
P2RY14	-5.20E-05	-5.1	5.40E-07	2.20E-05
PACSIN1	-8.00E-05	-5	9.60E-07	3.50E-05
PAK3	-0.00017	-6.2	2.40E-09	2.50E-07
PALM2	-6.00E-05	-6.2	2.00E-09	2.10E-07
PALM2-AKAP2	-5.20E-05	-6.5	4.80E-10	6.30E-08
PAQR8	-5.40E-05	-6.4	9.20E-10	1.10E-07
PARD3B	-5.10E-05	-4.6	7.50E-06	0.00019
PAX7	-0.00014	-3.4	0.00076	0.0072
PBX1	-3.50E-05	-2.7	0.0064	0.036
PCDH10	-9.10E-05	-3.1	0.0021	0.015
PCDH19	-9.50E-05	-4.1	6.00E-05	0.00099
PCDH20	-0.00011	-3.5	0.00052	0.0053
PCDHB16	-3.60E-05	-3.4	9.00E-04	0.0082
PCDHB5	-6.50E-05	-4.7	3.70E-06	0.00011
PCSK1	-4.30E-05	-3.2	0.0016	0.013
PCSK2	-0.00011	-3.1	0.0024	0.018
PCYT1B	-7.30E-05	-3.2	0.0014	0.012
PDE11A	-0.00014	-4.5	9.30E-06	0.00022

[0240]

基因	β	t.stat	p 值	FDR
PDE1C	-9.50E-05	-5.5	1.00E-07	5.60E-06
PDE3A	-7.20E-05	-5.9	1.10E-08	8.70E-07
PDE3B	-4.50E-05	-3.9	0.00012	0.0017
PDE5A	-3.10E-05	-3.7	0.00024	0.0029
PDE8B	-3.00E-05	-3.6	4.00E-04	0.0044
PDK4	-1.00E-04	-7.2	5.00E-12	1.30E-09
PDLIM3	-8.60E-05	-5.3	2.00E-07	9.60E-06
PEG10	-6.60E-05	-3.2	0.0015	0.012
PEG3	-1.00E-04	-6.2	2.40E-09	2.40E-07
PELI2	-4.80E-05	-4.4	1.90E-05	4.00E-04
PGM2L1	-3.00E-05	-3.4	0.00091	0.0083
PGPEP1	-3.10E-05	-3.9	1.00E-04	0.0015
PHACTR1	-4.80E-05	-5.2	4.40E-07	1.90E-05
PII5	-3.40E-05	-2.7	0.0072	0.039
PII6	-0.00017	-7	2.30E-11	4.70E-09
PIPOX	-5.50E-05	-4.7	4.70E-06	0.00013
PKD2L1	-9.10E-05	-4.1	6.60E-05	0.0011
PKHD1	-0.00011	-3.6	0.00038	0.0042
PKIA	-4.50E-05	-3.3	0.0011	0.0095
PLA2G16	-6.70E-05	-6.8	8.90E-11	1.50E-08
PLA2G2D	-0.00012	-4.4	1.30E-05	0.00029
PLA2G7	-6.40E-05	-5.5	7.90E-08	4.50E-06
PLCB1	-4.70E-05	-5.1	6.80E-07	2.70E-05
PLCL1	-3.90E-05	-4.9	2.00E-06	6.30E-05
PLCXD3	-0.00011	-3.6	0.00043	0.0046
PLEK	-5.10E-05	-4.6	6.10E-06	0.00016
PLEKHG1	-4.80E-05	-6	5.60E-09	5.00E-07
PLEKHH2	-3.00E-05	-3	0.0033	0.022
PLN	-0.00012	-6.9	3.50E-11	6.70E-09
PLP1	-7.90E-05	-2.8	0.0052	0.031
PLSCR4	-2.90E-05	-3.8	0.00016	0.0021
PLXDC2	-4.80E-05	-5.5	9.60E-08	5.30E-06
PLXNA4	-6.00E-05	-5	1.00E-06	3.80E-05
PLXNC1	-8.00E-05	-7.1	1.60E-11	3.60E-09
PNMA2	-8.80E-05	-6.9	3.50E-11	6.80E-09
PODXL	-3.70E-05	-5.1	7.30E-07	2.80E-05
POU6F1	-3.90E-05	-5.3	2.30E-07	1.10E-05
PPAPDC1A	-1.00E-04	-5	1.30E-06	4.50E-05
PPM1H	-5.90E-05	-4.6	6.50E-06	0.00017
PPM1L	-5.20E-05	-4.7	4.20E-06	0.00012
PPP1R3A	-0.00016	-3.5	0.00058	0.0059
PRDM16	-8.60E-05	-6.8	5.80E-11	1.00E-08
PREX2	-0.00011	-8.8	2.20E-16	2.10E-13
PRKAG3	-0.00011	-2.9	0.004	0.025
PRLR	-6.50E-05	-3.6	0.00036	0.004
PRND	-0.00014	-6.2	2.30E-09	2.40E-07
PROX1	-6.70E-05	-4.8	3.30E-06	9.70E-05
PRR15	-4.70E-05	-2.6	0.0088	0.046
PRR16	-5.70E-05	-5.4	1.20E-07	6.40E-06

[0241]

基因	β	t.stat	p 值	FDR
PRRG3	-0.00013	-3.8	0.00016	0.0021
PRRX1	-6.40E-05	-6.1	4.00E-09	3.80E-07
PRUNE2	-9.60E-05	-5.8	2.10E-08	1.50E-06
PSD	-3.60E-05	-4.5	1.20E-05	0.00027
PSD3	-2.10E-05	-2.6	0.0097	0.049
PTCHD1	-0.00014	-4.5	8.90E-06	0.00021
PTGER3	-7.60E-05	-5.7	3.90E-08	2.50E-06
PTGFR	-8.70E-05	-6.4	7.90E-10	9.60E-08
PTGIR	-3.70E-05	-4.4	1.90E-05	4.00E-04
PTPLAD2	-2.40E-05	-2.8	0.0064	0.036
PTPN7	-3.50E-05	-3.2	0.0015	0.012
PTPRB	-6.30E-05	-8.7	3.60E-16	3.30E-13
PTPRC	-6.60E-05	-5.7	4.10E-08	2.60E-06
PTPRD	-0.00014	-8.3	7.00E-15	4.30E-12
PTPRG	-2.60E-05	-3.4	0.00078	0.0074
PTPRJ	-4.20E-05	-5.3	2.70E-07	1.20E-05
PTPRM	-4.70E-05	-6.2	2.50E-09	2.60E-07
PTPRT	-0.00013	-4.1	6.50E-05	0.0011
PTX3	-1.00E-04	-5.2	3.90E-07	1.70E-05
PURG	-0.00011	-4.4	1.60E-05	0.00034
PVRL3	-4.40E-05	-3.5	0.00051	0.0053
PYGO1	-1.00E-04	-6	5.60E-09	5.00E-07
RAB15	-3.70E-05	-4.9	2.00E-06	6.30E-05
RAB19	-0.00013	-5.6	6.40E-08	3.80E-06
RAB3B	-8.00E-05	-3.6	4.00E-04	0.0044
RAB3C	-0.00012	-4	6.80E-05	0.0011
RAB6B	-3.90E-05	-3	0.0034	0.023
RAB9B	-0.00012	-5.5	9.80E-08	5.40E-06
RARRES3	-5.10E-05	-4.6	5.90E-06	0.00015
RASGRF2	-7.60E-05	-7.8	2.00E-13	8.20E-11
RASGRP1	-3.50E-05	-3	0.0027	0.019
RASL10B	-5.00E-05	-4.2	4.50E-05	0.00078
RASSF2	-5.90E-05	-6.7	1.20E-10	2.00E-08
RASSF4	-5.70E-05	-6.9	4.50E-11	8.50E-09
RASSF8	-3.50E-05	-4.3	2.10E-05	0.00043
RBMS3	-8.30E-05	-8.6	6.30E-16	5.30E-13
RBPM2	-5.90E-05	-6.4	6.50E-10	8.20E-08
RCAN2	-6.80E-05	-7.4	2.20E-12	6.40E-10
REEP2	-4.30E-05	-4.2	4.20E-05	0.00075
RELN	-0.00012	-5.8	1.60E-08	1.20E-06
RGAG4	-5.80E-05	-5.8	1.90E-08	1.40E-06
RGS18	-6.70E-05	-6.6	3.10E-10	4.30E-08
RGS5	-4.80E-05	-4.5	1.00E-05	0.00024
RGS8	-8.10E-05	-3.4	0.00089	0.0081
RHOH	-4.30E-05	-4.1	5.90E-05	0.00098
RHOU	-3.00E-05	-3.6	0.00033	0.0038
RIMKLA	-7.40E-05	-3.3	0.0012	0.01
RIMS4	-0.00018	-6.9	4.70E-11	8.80E-09
RLN2	-7.50E-05	-2.7	0.0073	0.04

[0242]

基因	β	t.stat	p 值	FDR
RNF150	-0.00011	-7.1	1.10E-11	2.60E-09
RNF152	-2.60E-05	-2.9	0.0035	0.023
RNF157	-6.10E-05	-6.8	5.50E-11	1.00E-08
RNF180	-8.00E-05	-7.2	7.70E-12	1.90E-09
ROR2	-6.00E-05	-4.7	4.10E-06	0.00012
RORA	-3.00E-05	-3.6	0.00042	0.0045
RPS6KA6	-0.00016	-4.7	4.90E-06	0.00013
RRAGD	-3.50E-05	-3.4	0.00067	0.0065
RSPO3	-0.00015	-11	5.90E-23	2.40E-19
RUNX1T1	-1.00E-04	-6.9	5.00E-11	9.20E-09
RUNX2	-3.10E-05	-4.4	1.90E-05	4.00E-04
S1PR1	-6.10E-05	-8.6	9.60E-16	7.70E-13
S1PR3	-6.80E-05	-8.3	4.90E-15	3.20E-12
SALL1	-7.70E-05	-3.1	0.0019	0.015
SALL2	-6.30E-05	-5.2	3.40E-07	1.50E-05
SAMD4A	-3.10E-05	-3.7	0.00023	0.0028
SAMD5	-6.40E-05	-4.5	1.20E-05	0.00028
SARDH	-4.20E-05	-4	7.40E-05	0.0012
SARM1	-6.00E-05	-6.8	9.50E-11	1.60E-08
SCAMP5	-2.70E-05	-3	0.0031	0.021
SCIN	-6.60E-05	-4.6	5.60E-06	0.00015
SCML4	-9.20E-05	-4.8	2.40E-06	7.40E-05
SCN3A	-0.00011	-6.8	7.90E-11	1.40E-08
SCN7A	-8.80E-05	-2.9	0.0047	0.029
SCN9A	-9.20E-05	-4.8	2.60E-06	7.80E-05
SCUBE1	-6.80E-05	-4.8	3.20E-06	9.40E-05
SELE	-9.40E-05	-5.7	3.90E-08	2.50E-06
SELP	-9.20E-05	-5.5	1.00E-07	5.70E-06
SELPLG	-4.40E-05	-5.3	3.00E-07	1.40E-05
SEMA3A	-5.90E-05	-4.4	1.60E-05	0.00034
SEMA3E	-0.00013	-3.6	0.00034	0.0039
SEMA7A	-2.60E-05	-3.5	0.00064	0.0063
SERPINA1	-5.90E-05	-5.6	5.20E-08	3.20E-06
SERPINA5	-0.00012	-5.7	4.20E-08	2.70E-06
SERPING1	-6.20E-05	-6.8	7.10E-11	1.20E-08
SFMBT2	-5.50E-05	-5.5	9.10E-08	5.10E-06
SGCD	-0.00011	-7.7	3.30E-13	1.20E-10
SGIP1	-5.00E-05	-4.5	1.10E-05	0.00025
SH2D1A	-8.70E-05	-5.8	1.80E-08	1.30E-06
SHE	-5.50E-05	-5.7	4.20E-08	2.60E-06
SHISA6	-0.00012	-3.4	0.00082	0.0076
SIDT1	-7.70E-05	-6	7.80E-09	6.60E-07
SIGLEC14	-9.00E-05	-4.2	4.40E-05	0.00078
SIGLEC8	-9.70E-05	-5.4	1.80E-07	9.00E-06
SIGLEC9	-6.50E-05	-7.5	1.10E-12	3.60E-10
SIM1	-0.00011	-3	0.0027	0.019
SLA	-5.40E-05	-5.7	2.90E-08	2.00E-06
SLAMF1	-4.70E-05	-3.9	0.00012	0.0017
SLC11A1	-4.60E-05	-4.5	9.00E-06	0.00022

[0243]

基因	β	t.stat	p 值	FDR
SLC12A3	-8.00E-05	-3.3	0.00095	0.0085
SLC16A10	-5.90E-05	-6.2	1.90E-09	2.00E-07
SLC1A2	-4.10E-05	-2.8	0.0056	0.033
SLC22A16	-6.40E-05	-2.7	0.0069	0.038
SLC24A2	-9.80E-05	-3.5	0.00051	0.0053
SLC2A5	-6.50E-05	-6.9	5.00E-11	9.20E-09
SLC39A14	-2.80E-05	-3.9	0.00013	0.0018
SLC46A2	-7.20E-05	-4.2	3.40E-05	0.00063
SLC4A4	-9.60E-05	-5	1.10E-06	3.80E-05
SLC6A1	-6.80E-05	-4.2	3.40E-05	0.00063
SLC6A20	-9.20E-05	-3.9	0.00011	0.0016
SLC6A4	-7.40E-05	-2.6	0.0094	0.048
SLC7A2	-4.20E-05	-2.9	0.004	0.025
SLC7A3	-0.00011	-3.8	0.00018	0.0023
SLC7A7	-6.70E-05	-7	1.80E-11	3.90E-09
SLC8A1	-5.90E-05	-6.8	5.40E-11	9.90E-09
SLC8A3	-0.00011	-5.3	3.20E-07	1.40E-05
SLC9A7	-3.90E-05	-4.4	1.30E-05	0.00029
SLC9A9	-3.20E-05	-3.2	0.0015	0.012
SLCO5A1	-5.40E-05	-4.6	6.80E-06	0.00017
SLFN12L	-3.30E-05	-3.4	0.00085	0.0078
SLIT2	-7.50E-05	-5.7	3.00E-08	2.00E-06
SLIT3	-7.20E-05	-6.2	2.50E-09	2.60E-07
SLITRK4	-0.00016	-6.5	4.30E-10	5.70E-08
SMOC1	-5.30E-05	-3.3	0.00096	0.0086
SMTNL1	-8.00E-05	-3.6	0.00037	0.0042
SMTNL2	-0.00014	-7.3	4.40E-12	1.10E-09
SNAP25	-6.70E-05	-4.8	3.20E-06	9.40E-05
SNED1	-8.70E-05	-8.6	5.70E-16	4.90E-13
SNX32	-7.10E-05	-3.1	0.0022	0.016
SORBS1	-7.20E-05	-7.3	2.80E-12	7.90E-10
SOX17	-6.00E-05	-7.5	1.10E-12	3.50E-10
SOX5	-0.00011	-7	2.10E-11	4.40E-09
SP6	-3.00E-05	-3.7	0.00026	0.0032
SPARC	-5.90E-05	-5.4	1.20E-07	6.30E-06
SPATA13	-6.60E-05	-6.4	8.60E-10	1.00E-07
SPN	-5.20E-05	-4.8	3.30E-06	9.60E-05
SPOCK2	-4.60E-05	-4.4	1.80E-05	0.00038
SRPX2	-5.50E-05	-7	2.30E-11	4.70E-09
SSC5D	-7.10E-05	-6.2	2.70E-09	2.70E-07
ST18	-9.10E-05	-3.8	0.00018	0.0023
ST3GAL1	-2.80E-05	-3.5	0.00062	0.0062
ST3GAL6	-2.20E-05	-3	0.003	0.021
ST6GAL1	-5.60E-05	-5	1.20E-06	4.20E-05
ST6GAL2	-0.00014	-6.3	1.30E-09	1.50E-07
ST6GALNAC3	-6.40E-05	-8.6	1.00E-15	8.00E-13
ST6GALNAC5	-8.00E-05	-6.1	3.30E-09	3.20E-07
ST8SIA4	-5.00E-05	-6.3	1.30E-09	1.50E-07
STARD13	-3.70E-05	-4.8	3.10E-06	9.10E-05

[0244]

基因	β	t.stat	p 值	FDR
STAT1	-3.20E-05	-3.6	0.00042	0.0045
STC1	-4.40E-05	-4.3	2.10E-05	0.00043
STEAP2	-5.00E-05	-5.6	5.00E-08	3.10E-06
SUCNR1	-5.20E-05	-3.3	0.001	0.0091
SULF1	-8.90E-05	-7.3	4.20E-12	1.10E-09
SV2B	-7.10E-05	-3.6	0.00033	0.0037
SVIP	-6.00E-05	-5.1	7.20E-07	2.80E-05
SYNPO2	-7.50E-05	-4.5	1.00E-05	0.00024
SYP	-4.50E-05	-4.7	3.90E-06	0.00011
SYPL2	-7.40E-05	-4.2	3.30E-05	0.00061
SYT13	-1.00E-04	-3.1	0.002	0.015
SYT9	-9.40E-05	-2.9	0.0039	0.025
SYTL4	-4.90E-05	-5.9	1.30E-08	1.00E-06
TBX15	-6.50E-05	-4.8	2.20E-06	6.90E-05
TBX21	-5.70E-05	-4.5	1.00E-05	0.00024
TCN2	-5.90E-05	-6.7	1.60E-10	2.50E-08
TDGF1	-0.00012	-3.9	0.00013	0.0019
TET1	-3.70E-05	-3.5	0.00054	0.0055
THBS1	-4.70E-05	-4.1	5.00E-05	0.00085
THSD7A	-0.00011	-8.6	1.10E-15	8.50E-13
TIMD4	-0.00019	-6.4	5.80E-10	7.40E-08
TIMP2	-7.30E-05	-8.3	5.60E-15	3.50E-12
TLR4	-8.60E-05	-9.5	1.80E-18	2.90E-15
TLR8	-8.70E-05	-6.8	9.20E-11	1.60E-08
TM4SF18	-4.50E-05	-6	7.70E-09	6.50E-07
TMEM156	-3.70E-05	-3.2	0.0018	0.014
TMEM170B	-7.00E-05	-8.3	5.70E-15	3.60E-12
TMEM182	-2.60E-05	-3.5	0.00064	0.0063
TMEM231	-3.90E-05	-4.3	2.90E-05	0.00056
TMEM26	-6.20E-05	-5.9	1.50E-08	1.10E-06
TMEM47	-6.10E-05	-6.8	8.50E-11	1.50E-08
TMEM86A	-2.60E-05	-2.8	0.0055	0.032
TMEM98	-4.10E-05	-4.9	1.70E-06	5.50E-05
TMTC1	-8.40E-05	-6.6	2.60E-10	3.70E-08
TNFSF11	-4.60E-05	-3.3	0.0011	0.0098
TNFSF15	-4.90E-05	-3.6	0.00045	0.0048
TNFSF4	-5.50E-05	-4.8	3.00E-06	9.00E-05
TNFSF8	-8.50E-05	-5.5	9.90E-08	5.40E-06
TNIK	-5.80E-05	-5.2	3.20E-07	1.40E-05
TNNI1	-7.10E-05	-3.5	0.00061	0.0061
TNR	-0.00012	-4.1	5.50E-05	0.00092
TNS3	-3.80E-05	-4.9	1.40E-06	4.90E-05
TOX	-4.70E-05	-4.2	4.00E-05	0.00071
TRAT1	-0.00011	-4.9	2.00E-06	6.30E-05
TREM2	-4.20E-05	-3.8	0.00015	0.0021
TREML2	-4.20E-05	-2.9	0.004	0.025
TRHDE	-0.00013	-3.9	0.00011	0.0016
TRIM2	-3.40E-05	-3.1	0.002	0.015
TRIM58	-8.40E-05	-3.3	0.001	0.009

[0245]

基因	β	t.stat	p 值	FDR
TRPC6	-3.00E-05	-3.5	0.00061	0.0061
TRPM8	-9.60E-05	-3.6	0.00041	0.0045
TRPS1	-2.30E-05	-2.8	0.0052	0.031
TSPAN11	-5.10E-05	-4.4	1.80E-05	0.00038
TSPAN18	-6.80E-05	-5.6	4.80E-08	3.00E-06
TSPAN5	-2.40E-05	-3	0.0031	0.021
TSPAN7	-6.90E-05	-4.6	6.50E-06	0.00017
TTC28	-4.00E-05	-4.4	1.80E-05	0.00037
TTLL7	-3.10E-05	-2.7	0.0077	0.041
TTYH2	-2.50E-05	-3.1	0.0021	0.015
TUB	-6.30E-05	-5.2	3.50E-07	1.50E-05
TWIST2	-4.40E-05	-4.4	1.90E-05	0.00039
TYRP1	-9.10E-05	-3.1	0.0024	0.017
UBE2QL1	-3.70E-05	-2.9	0.0041	0.026
UBXN10	-7.60E-05	-5.2	3.30E-07	1.50E-05
UGT2B4	-8.00E-05	-3	0.0032	0.021
UNC5C	-9.40E-05	-4.5	1.20E-05	0.00027
USP13	-3.90E-05	-5	1.30E-06	4.60E-05
VASH1	-5.10E-05	-7	2.10E-11	4.40E-09
VASH2	-5.10E-05	-4.3	2.20E-05	0.00044
VAT1L	-1.00E-04	-5.5	8.60E-08	4.80E-06
VENTX	-7.30E-05	-5.4	1.20E-07	6.60E-06
VGLL2	-0.00012	-2.9	0.0039	0.025
VGLL3	-7.00E-05	-6.2	2.00E-09	2.10E-07
VSIG10	-2.30E-05	-3	0.003	0.021
VWC2	-9.00E-05	-2.6	0.0098	0.049
WFIKKN2	-9.70E-05	-3	0.0034	0.022
WISP2	-0.00015	-8.6	1.00E-15	8.10E-13
WNT2	-9.20E-05	-4.8	2.90E-06	8.50E-05
WNT5A	-4.30E-05	-4.4	1.60E-05	0.00035
WNT5B	-3.50E-05	-3	0.003	0.02
XCR1	-9.00E-05	-3.8	0.00015	0.0021
XIRP1	-8.70E-05	-3.6	0.00043	0.0046
ZBTB10	-5.30E-05	-5.1	8.20E-07	3.10E-05
ZBTB16	-0.00012	-4.6	8.00E-06	2.00E-04
ZBTB20	-3.30E-05	-3.8	0.00016	0.0022
ZC4H2	-4.80E-05	-4.8	3.20E-06	9.40E-05
ZDHHC15	-0.00013	-6.6	2.80E-10	4.00E-08
ZEB1	-6.90E-05	-8.8	1.50E-16	1.50E-13
ZEB2	-6.80E-05	-8.4	3.80E-15	2.50E-12
ZFP82	-4.50E-05	-4.2	3.20E-05	6.00E-04
ZIK1	-3.20E-05	-3.7	0.00025	0.003
ZNF154	-5.00E-05	-5.7	3.00E-08	2.00E-06
ZNF208	-0.00013	-6.6	3.10E-10	4.30E-08
ZNF215	-7.00E-05	-4.5	8.50E-06	0.00021
ZNF280B	-7.30E-05	-3.9	0.00012	0.0017
ZNF287	-2.80E-05	-3	0.003	0.021
ZNF347	-4.10E-05	-3.4	0.00066	0.0065
ZNF366	-5.90E-05	-4.4	1.30E-05	3.00E-04

基因	β	t.stat	p 值	FDR
ZNF429	-3.70E-05	-2.9	0.0038	0.025
ZNF442	-2.60E-05	-3	0.0026	0.018
ZNF618	-3.30E-05	-3.9	0.00012	0.0017
ZNF701	-3.60E-05	-4	7.60E-05	0.0012
[0246]	ZNF781	-5.80E-05	-3.1	0.0024
	ZNF788	-3.60E-05	-3	0.0026
	ZNF793	-4.90E-05	-2.7	0.0068
	ZNF843	-2.40E-05	-3.3	0.0013
	ZNF844	-5.60E-05	-4.1	5.30E-05
	ZSCAN1	-8.90E-05	-3.1	0.002
				0.015

[0247] 表14. 表达呈反比并且含有预测或验证的miR-375 (MIMAT0000728) 的结合位点的 mRNA

基因	t.stat	p 值	p.adj
ACVR1C	-4.70738	3.79E-06	8.36E-05
ADAMDEC1	-2.85571	0.004584	0.028127
ADAMTS2	-8.00448	2.43E-14	5.11E-12
ADAMTS4	-5.61352	4.40E-08	1.79E-06
ADAMTS5	-4.36029	1.77E-05	0.000308
AFAP1L1	-5.85642	1.21E-08	5.81E-07
AFAP1L2	-3.94692	9.80E-05	0.001288
AK5	-3.22616	0.001389	0.011065
APBA2	-5.98525	5.96E-09	3.14E-07
ATP1B4	-2.80475	0.005354	0.0317
BAG2	-6.31936	9.12E-10	6.02E-08
BCAT1	-4.44925	1.20E-05	0.000223
BVES	-2.70341	0.007242	0.039902
C10orf55	-7.35354	1.73E-12	2.33E-10
C15orf54	-3.29027	0.001116	0.009302
C1orf180	-2.80204	0.005398	0.0319
C1S	-6.47289	3.76E-10	2.76E-08
C2orf48	-3.79852	0.000175	0.002078
C6orf141	-3.84998	0.000143	0.001764
C9orf84	-4.58988	6.45E-06	0.000131
CALB1	-3.21159	0.001459	0.011504
CCDC102B	-5.32761	1.92E-07	6.44E-06
CD84	-2.61675	0.009312	0.048237
CDH6	-3.95802	9.38E-05	0.001241
CDK14	-4.82222	2.23E-06	5.31E-05
CDK5R1	-2.75412	0.006233	0.035597
CDK6	-3.82156	0.00016	0.001932
CDYL2	-4.19285	3.60E-05	0.000559
CENPA	-7.27305	2.89E-12	3.68E-10
CENPF	-5.77959	1.82E-08	8.34E-07
CFHR3	-2.90338	0.003957	0.025106
CHST11	-7.11164	7.96E-12	9.07E-10
CLEC2B	-4.19326	3.59E-05	0.000559
CLEC5A	-2.80953	0.005277	0.031352

基因	t.stat	p 值	p.adj
CNGB1	-5.47185	9.20E-08	3.40E-06
COL16A1	-6.91676	2.65E-11	2.64E-09
COL27A1	-7.59153	3.74E-13	5.94E-11
COL5A1	-10.2428	2.13E-21	1.85E-18
COL5A2	-10.2511	2.00E-21	1.75E-18
COL5A3	-7.81021	8.90E-14	1.64E-11
CRISPLD2	-4.86085	1.86E-06	4.55E-05
CSAG1	-4.01632	7.42E-05	0.001022
CYSLTR2	-2.62634	0.00906	0.047249
DAB2	-3.593	0.00038	0.003911
DCLK3	-4.99615	9.79E-07	2.62E-05
DDX60L	-4.29871	2.30E-05	0.000385
DFNA5	-6.82695	4.58E-11	4.29E-09
DGKI	-3.21627	0.001436	0.01136
DKK3	-3.72321	0.000234	0.002631
DMBX1	-3.69276	0.000262	0.00289
DRP2	-3.04627	0.002516	0.017666
DUSP6	-3.0615	0.002395	0.016999
E2F7	-6.80262	5.30E-11	4.88E-09
ECM2	-3.70034	0.000255	0.002824
EIF5A2	-7.56276	4.51E-13	7.02E-11
EME1	-7.30865	2.31E-12	3.01E-10
ENPEP	-7.33148	1.99E-12	2.64E-10
ERCC6L	-5.24049	2.97E-07	9.39E-06
EXO1	-6.73046	8.19E-11	7.18E-09
FAM111B	-3.21279	0.001453	0.011467
FAM198B	-4.22428	3.16E-05	0.000501
FBLN7	-5.13553	4.98E-07	1.47E-05
FBN2	-5.49402	8.20E-08	3.08E-06
FCGR2A	-5.69769	2.82E-08	1.22E-06
FCGR3A	-5.97743	6.23E-09	3.26E-07
FERMT2	-2.76737	0.005991	0.034542
FJX1	-5.16984	4.21E-07	1.27E-05
FLRT2	-5.50011	7.95E-08	3.00E-06
FN1	-9.32549	2.16E-18	1.08E-15
FOXD1	-6.88267	3.26E-11	3.18E-09
FOXR2	-2.61614	0.009328	0.0483
FPR2	-3.97456	8.78E-05	0.001175
FSTL1	-4.56735	7.14E-06	0.000143
GAD1	-2.75515	0.006213	0.035514
GATA6	-2.95962	0.003318	0.021907
GDF6	-3.57806	0.000402	0.004089
GINS4	-4.29356	2.35E-05	0.000392
GLIPR1	-5.15516	4.52E-07	1.35E-05
GLIS3	-2.88323	0.004211	0.026349
GNGT2	-2.98368	0.003074	0.02065
GOLGA8F	-2.73345	0.006628	0.037306
GOLGA8G	-3.33689	0.00095	0.008182
GPR116	-3.23522	0.001347	0.010799

[0249]

[0250]

基因	t.stat	p 值	p.adj
GPR137C	-3.77558	0.000191	0.002234
GPR153	-2.70662	0.007174	0.039617
GPR39	-3.10237	0.002096	0.015314
GRM5	-2.83551	0.004876	0.029502
GRM8	-3.15477	0.001764	0.013367
GUCY1A2	-6.22001	1.61E-09	9.91E-08
GXYLT2	-4.60002	6.16E-06	0.000126
HAPLN1	-5.46562	9.50E-08	3.50E-06
HAS2	-4.90104	1.54E-06	3.87E-05
HELLS	-3.47233	0.000589	0.005576
HHIPL1	-5.11384	5.54E-07	1.61E-05
HIST1H2AG	-5.61991	4.26E-08	1.74E-06
HIST1H2BD	-3.40446	0.00075	0.00677
HIST1H2BO	-5.44492	1.06E-07	3.84E-06
HIST1H3B	-2.8217	0.005085	0.030472
HIST1H4E	-3.13256	0.001898	0.014162
HMX1	-3.92309	0.000108	0.001392
HOXA10	-6.33104	8.53E-10	5.68E-08
HOXB9	-4.93878	1.29E-06	3.32E-05
HOXC10	-6.03467	4.54E-09	2.47E-07
HOXC11	-7.25611	3.22E-12	4.05E-10
HOXC4	-6.45736	4.11E-10	2.98E-08
HOXD1	-4.49567	9.81E-06	0.000187
HOXD11	-7.56657	4.40E-13	6.87E-11
HOXD12	-3.76912	0.000196	0.002281
HSPA12A	-3.75646	0.000206	0.002373
HSPA2	-2.90069	0.00399	0.02527
IFI44L	-3.82079	0.000161	0.001936
IFIT2	-5.41764	1.21E-07	4.33E-06
IFNK	-2.63939	0.008725	0.04593
IGF2BP2	-4.72804	3.45E-06	7.71E-05
IGSF6	-3.83708	0.000151	0.001838
INHBA	-8.99561	2.40E-17	9.68E-15
ISL2	-2.64672	0.008543	0.045202
ITGA1	-7.22186	3.99E-12	4.90E-10
ITGA3	-4.64266	5.09E-06	0.000107
ITGB6	-3.35809	0.000883	0.007714
KANK4	-3.77904	0.000189	0.00221
KCNJ6	-3.19048	0.001566	0.012169
KCNMB3	-2.69746	0.007369	0.040435
KIAA1644	-4.81971	2.26E-06	5.37E-05
KIF4A	-7.37437	1.52E-12	2.07E-10
KIF4B	-6.56762	2.16E-10	1.69E-08
KLF7	-5.6146	4.38E-08	1.79E-06
KLHL6	-3.22736	0.001383	0.011029
KRT82	-3.0844	0.002223	0.016034
LAMP3	-3.2309	0.001367	0.010926
LHX9	-3.03305	0.002626	0.01826
LILRB4	-4.07083	5.95E-05	0.000851

[0251]

基因	t.stat	p 值	p.adj
LOX	-6.21364	1.67E-09	1.02E-07
LPAR4	-2.83169	0.004933	0.029767
LPPR5	-4.05481	6.35E-05	0.000898
LRP8	-2.72484	0.006799	0.038033
LTBP2	-5.09681	6.02E-07	1.73E-05
MAF	-3.81931	0.000162	0.001946
MATN3	-7.12045	7.54E-12	8.64E-10
MCTP1	-3.91447	0.000111	0.001432
MELK	-7.44867	9.43E-13	1.36E-10
MEST	-3.1584	0.001743	0.01324
MFRP	-5.76589	1.96E-08	8.89E-07
MKI67	-5.92945	8.10E-09	4.10E-07
MS4A14	-4.53705	8.17E-06	0.00016
MS4A7	-3.29782	0.001088	0.009112
MYL9	-3.42878	0.000688	0.006319
NAV3	-2.68239	0.007702	0.041798
NCAM1	-2.70794	0.007146	0.0395
NETO1	-3.66353	0.000292	0.003161
NEXN	-3.58178	0.000396	0.004044
NFE2L3	-3.94766	9.77E-05	0.001284
NLRP10	-2.86328	0.004479	0.027629
NOX5	-2.86268	0.004487	0.027669
NT5E	-4.87679	1.73E-06	4.27E-05
NTM	-5.75521	2.08E-08	9.34E-07
NTNG2	-3.39489	0.000776	0.006955
NXPH4	-3.73884	0.00022	0.002507
OLFML2A	-4.36198	1.76E-05	0.000306
OLR1	-4.27104	2.59E-05	0.000425
OPN1SW	-3.45766	0.000621	0.005817
PAG1	-3.60653	0.000362	0.003756
PALM2	-2.6554	0.008331	0.044352
PAPLN	-4.68802	4.14E-06	9.01E-05
PAPSS2	-3.26239	0.001228	0.010035
PCDH7	-3.59138	0.000382	0.00393
PDE3A	-2.95598	0.003356	0.022103
PDGFC	-2.97263	0.003184	0.021221
PDPN	-7.85634	6.55E-14	1.24E-11
PGM2L1	-2.79247	0.005556	0.032613
PIF1	-6.4856	3.49E-10	2.58E-08
PIPOX	-2.66955	0.007996	0.042999
PLEKHG4B	-2.97115	0.003199	0.021299
PPEF1	-9.09764	1.15E-17	4.96E-15
PRKG1	-2.84047	0.004803	0.029159
PRNT	-3.87715	0.000129	0.001617
PSMB9	-4.71989	3.58E-06	7.96E-05
PSTPIP1	-3.69793	0.000257	0.002845
RASSF4	-3.99371	8.13E-05	0.001103
RASSF8	-3.45857	0.000619	0.005802
RGS4	-6.88112	3.29E-11	3.20E-09

[0252]

基因	t.stat	p 值	p.adj
RRM2	-6.24961	1.36E-09	8.55E-08
RSAD2	-5.2935	2.28E-07	7.47E-06
S1PR5	-5.42557	1.17E-07	4.18E-06
SCARB1	-2.753	0.006253	0.035687
SCUBE3	-2.78515	0.00568	0.033164
SDK2	-3.22341	0.001402	0.011147
SEC16B	-3.16386	0.001711	0.013052
SEMA5B	-4.28609	2.43E-05	0.000403
SFRP4	-3.75325	0.000208	0.002397
SGCD	-2.89289	0.004087	0.025746
SGIP1	-6.2358	1.47E-09	9.16E-08
SH2D7	-3.07003	0.00233	0.016635
SHOX2	-8.26163	4.23E-15	1.06E-12
SIGLEC15	-5.56541	5.66E-08	2.23E-06
SKA3	-5.776	1.86E-08	8.48E-07
SLA	-2.83748	0.004847	0.029366
SLC16A1	-6.34778	7.75E-10	5.21E-08
SLC5A12	-2.75131	0.006285	0.035824
SLC8A1	-3.23799	0.001334	0.010719
SLFN11	-3.45125	0.000635	0.005925
SP110	-3.72725	0.00023	0.002598
SPOCK1	-3.93298	0.000104	0.001348
ST3GAL5	-4.39456	1.53E-05	0.000272
ST8SIA2	-5.50708	7.67E-08	2.91E-06
STAMBPL1	-2.89838	0.004018	0.025409
STARD13	-4.93888	1.29E-06	3.32E-05
STON1	-4.12629	4.74E-05	0.000704
STON2	-5.23961	2.98E-07	9.43E-06
SUCNR1	-3.03569	0.002603	0.01814
SULF1	-6.35395	7.48E-10	5.05E-08
SULF2	-6.02724	4.73E-09	2.56E-07
TBX18	-2.61611	0.009329	0.048302
TFRC	-2.73493	0.006598	0.037182
THBS2	-5.721	2.50E-08	1.10E-06
TLL1	-3.01924	0.002745	0.018902
TMED7-TICAM2	-4.38401	1.60E-05	0.000283
TMEM229B	-3.04848	0.002498	0.017568
TMEM26	-7.48025	7.70E-13	1.13E-10
TNC	-4.77772	2.74E-06	6.34E-05
TNFRSF9	-5.19521	3.71E-07	1.14E-05
TNS3	-4.86153	1.85E-06	4.54E-05
TOX2	-6.5378	2.57E-10	1.97E-08
TPM1	-4.57777	6.81E-06	0.000138
TRPC4	-5.32987	1.90E-07	6.38E-06
TSHZ3	-5.25058	2.82E-07	8.99E-06
TTC7B	-4.11374	4.99E-05	0.000735
TYMS	-5.38473	1.44E-07	5.01E-06
XAF1	-5.34345	1.77E-07	6.01E-06
XRCC2	-5.27422	2.51E-07	8.12E-06

基因	t.stat	p 值	p.adj
ZIC1	-2.82865	0.004979	0.029979
ZIC5	-6.58899	1.90E-10	1.51E-08
ZPLD1	-5.35131	1.70E-07	5.80E-06

[0254] 通过IPA的表达呈反比的靶基因的功能途径分析鉴定出两个最重要的癌症疾病功能,包括细胞增殖(21个mRNA, $p=8.95 \times 10^{-10}$)和转移(23个mRNA, $p=9.54 \times 10^{-12}$) (表15)。这些网络带有涉及癌症生长(EGFR、MET、IGF1R、PDGFRB、IRS1、SOCS1、CCNA1)、粘附、迁移和侵袭(MET、ITGA6、NT5E、SERPINE1)及分化(WNT7B/5A、FZD2、CELSR3、CTHRC1)的一组不同的重要分子。这些基因中大部分是miR-30的新颖靶并且先前未通过功能表征进行验证。

[0255] 表15. 癌症增殖和转移中所鉴定的与miR-30a-5p表达呈反比关系的mRNA

ID	数据集中的基因	预测(基于表达方向)	斜率	发现
增殖				
IRS1	IRS1	受影响	-2.612	受影响(1)
NT5E	NT5E	减少	-2.675	增加(3)
EGFR	EGFR	减少	-2.693	增加(33)
GLDC	GLDC	减少	-2.718	增加(2)
SOCS1	SOCS1	增加	-2.843	减少(3)
STAT1	STAT1	增加	-2.941	减少(5)
LOX	LOX	减少	-3.093	增加(3)
PDGFRB	PDGFRB	减少	-3.155	增加(2)
WNT5A	WNT5A	减少	-3.212	增加(7)
CD80	CD80	增加	-3.234	减少(1)
CCNA1	CCNA1	减少	-3.392	增加(5)
THBS2	THBS2	增加	-3.489	减少(2)
IGF1R	IGF1R	减少	-3.529	增加(6)
AFAP1L2	AFAP1L2	受影响	-3.575	受影响(1)
CTHRC1	CTHRC1	减少	-3.813	增加(1)
MET	MET	减少	-4.497	增加(17)
FAP	FAP	减少	-4.575	增加(1)
SERPINE1	SERPINE1	受影响	-6.147	受影响(5)
IL1A	IL1A	增加	-6.209	减少(10)
GJA1	GJA1	增加	-6.454	减少(2)
MYBL2	MYBL2	减少	-7.837	增加(1)
转移				
IRS1	IRS1	受影响	-2.612	受影响(1)
TRIM9	TRIM9	受影响	-2.634	受影响(1)
NT5E	NT5E	减少	-2.675	增加(7)
EGFR	EGFR	减少	-2.693	增加(92)
SOCS1	SOCS1	增加	-2.843	减少(1)
STAT1	STAT1	受影响	-2.941	受影响(1)
LOX	LOX	减少	-3.093	增加(1)
EPB41L4B	EPB41L4B	受影响	-3.152	受影响(2)

ID	数据集中的基因	预测(基于表达方向)	斜率	发现
[0257]	PDGFRB	PDGFRB	受影响	-3.155 受影响(37)
	WNT5A	WNT5A	增加	-3.212 减少(7)
	CD80	CD80	增加	-3.234 减少(1)
	CCNA1	CCNA1	减少	-3.392 增加(5)
	IGF1R	IGF1R	减少	-3.529 增加(1)
	CTHRC1	CTHRC1	减少	-3.813 增加(1)
	GNRHR	GNRHR	受影响	-4.119 受影响(15)
	MET	MET	减少	-4.497 增加(22)
	ITGA5	ITGA5	受影响	-5.944 受影响(8)
	SERPINE1	SERPINE1	增加	-6.147 减少(7)
	IL1A	IL1A	减少	-6.209 增加(1)
	GJA1	GJA1	增加	-6.454 减少(1)
	ITGA6	ITGA6	受影响	-6.763 受影响(2)
	SLC7A11	SLC7A11	受影响	-7.343 受影响(1)
	MYBL2	MYBL2	受影响	-7.837 受影响(1)

[0258] 为了验证成反比表达的mRNA的调控,检查miR-30a-5p(在UM-SCC-46中的表达量高于miR-30e-5p,图7C)或抗miR30a的异位表达对表达相对较少miR-30a-5p的HNSCC细胞系UM-SCC-46中可能作为靶的mRNA的影响。在miR-30a-5p表达之后,通过qRT-PCR观察到11个选定的mRNA的mRNA表达减少,而抗miR30a的表达并不抑制或增加这些靶基因的表达(图5)。生物信息学分析和实验数据都证实了miR30a对HNSCC发病机理中所涉及的若干靶基因具有抑制功能的假设。

[0259] 实施例5

[0260] miR-30a-5p直接调控靶基因表达的功能验证

[0261] 为了进一步验证miR-30-5p家族成员直接调控所选靶基因,利用含有EGFR、MET、IGF1R及IRS-1的3'UTR的荧光素酶构建体,所述3'UTR含有miR-30a-5p的靶结合位点(图6A)。还构建了在与miR-30a-5p的种子序列互补的结合位点中存在缺失的载体(图6A)。miR-30a-5p抑制报导基因活性,但抗miR30a不抑制,并且 Δ miR-30位点缺失会消除此抑制作用(图6B)。另外,通过蛋白质印迹法确定对生长信号传导(EGFR、MET、IGF1R、IRS1)、粘附(ITGA6)及分化(FZD2)所涉及的若干分子的表达的影响(图6C和6E)。由于这些生长因子受体刺激若干致癌信号传导途径,故检查miR30a-5p对PI3K/mTOR-AKT(Freudlsperger等人,《治疗靶点专家观点》15:63-74,2011)、SRC(Egloff等人,《肿瘤学文集(Semin.Oncol.)》35:286-297,2008)及STAT3信号传导(Mali,《口腔肿瘤学(Oral Oncol.)》51:565-569,2015)的功能影响。miR-30a-5p使这些信号传导分子的下游磷酸化减少(图6D)。这些数据显示了miR-30a-5p对过表达和HNSCC恶性表型中所涉及的生物靶的直接调控作用。

[0262] 实施例6

[0263] miR-30a抑制HNSCC细胞的细胞增殖、活动性及侵袭

[0264] 由于多个miR-30a靶可以调节细胞生长,故在一组11个HNSCC细胞系中确定hsa-miR-30a-5p的抗增殖作用。当与对照相比较时,四个细胞系(UM-SCC-11A、11B、46、47)展示出<50%的明显显著降低的细胞密度(图7A),这与miR-30a-5p在这些细胞系中的表达较低(图7B)对应,但在HOK细胞中未观察到生长抑制作用。通过qRT-PCR测量miR-30a-5p和miR-

30e-5p在UM-SCC-1和UM-SCC-46细胞中的基础表达水平(图7C)。另外,通过XTT分析测量UM-SCC-1或UM-SCC-46细胞的增殖。在各家族成员之间观察到类似的增殖抑制作用(图7D)。

[0265] miR-30a-5p也使UM-SCC-46细胞中集落形成抑制>50% (图7E和7H)。由于生长信号传导可以介导治疗抗性,故对miR-30a-5p是否能加强顺铂(最常见的用于治疗HNSCC的化疗药)的作用进行检查。miR-30a-5p的异位表达使得对顺铂的敏感性增强(图7F和图7I)。为了测试EGFR在miR-30a的抗增殖作用中的重要性,产生在UM-SCC-46中过表达EGFR编码序列但无其调控性3'UTR的稳定UM-SCC-46细胞系。这一细胞系展示miR-30a-5p对增殖的影响显著减小(图7G)。

[0266] HNSCC中的若干miR-30-5p家族靶也涉及细胞活动性和侵袭力,包括EGFR (Freudlsperger等人,《治疗靶点专家观点》15:63-74,2011)、MET (Dong等人,《癌症研究》61:5911-5918,2001)、ITGA6 (Carey等人,《细胞生物化学杂志(J. Cell Biochem.)增刊》17F:223-232,1993) 及Serpine1 (Karbriener等人,《RNA生物学(RNA Biol.)》8:850-860,2011)。hsa-miR-30a-5p的异位表达在迁移分析中使两个HNSCC细胞系的细胞活动性显著减慢(图8A和8B),并且在MATRIGEL涂布的transwell迁移分析中使EGF刺激的侵袭力显著减小(图8C和8D)。总体而言,miR-30a-5p的表达增加显著抑制HNSCC中的细胞增殖、集落形成、迁移及侵袭,并且增强化学敏感性。

[0267] 实施例7

[0268] miR-30a模拟物抑制人类HNSCC异种移植物的肿瘤生长

[0269] 将miR-30a-5p模拟物配制于带有单链抗体片段(TfRscFv)的阳离子脂质体纳米递送系统(scL)中,其靶向肿瘤细胞上过表达的转铁蛋白受体以递送(Pirolla等人,《癌症研究》68:1247-1250,2008;Pirolla等人,《人类基因疗法》17:117-124,2006)。当与肺或肝相比较时,含有FITC缀合的对照寡核苷酸的scL载剂优先被HNSCC异种移植物摄取,或通过肾排出(图9A)。在带有UM-SCC-46异种移植肿瘤的小鼠中在连续3周星期一、星期三及星期五(MWF)测试静脉内(IV)给与的9剂纳米脂质体粒子与修饰的miR-30a-5p模拟物的复合物(miR-30a-scL)或对照miR(60μg或约3mg/kg)。用miR-30a-scL处理观察到显著肿瘤生长延迟和存活期延长(图9B-D)。用miR-30a-scL处理不会引起体重的显著减轻,表明这种治疗是良好耐受的(图9C)。在呈HPV阳性的第二HNSCC异种移植模型UM-SCC47中观察到类似的体内肿瘤生长抑制作用(图9E)。

[0270] 进行六个miR-30a-5p靶基因的定量RT-PCR,并且在用四剂miR-30a-scL纳米粒子处理之后观察到基因表达大体上减少(图10A和10F)。在体内处理之后从异种移植肿瘤收集的冷冻切片中通过免疫荧光染色也观察到EGFR和MET表达减少(图10B和10C)。通过在体外和体内确定miR-30a-5p的若干靶基因,构建出通过Ingenuity途径分析所预测的连接报导的相互作用和涉及增殖和迁移的功能的途径图(图10D)。确定了miR-30a-5p家族的抗增殖作用,还观察到Ki-67染色减少(图10E)。

[0271] 实施例8

[0272] 与HNSCC临床特征相关的miR-30家族成员的基因改变

[0273] 如果miR-30家族成员表达的损失对于HNSCC的发病机理至关重要,则在基因组水平上,可能存在针对缺失或表观遗传沉默的选择性压力。为了解决这一问题,分析来自HNSCC TCGA数据集的miR-30家族成员的拷贝数变异(图11A和11B)。MIR30A和MIR30C2基因

一起从集于染色体6上,并且MIR30E和MIR30C1基因一起聚类于染色体1上,其中分别有19.7%和14.7%在这些基因座处至少展示杂合性损失。整合分析证实杂合拷贝数损失与miR-30a ($p=0.15$,图11A和11C) 和miR-30e ($p=0.0006$,图11B和11D) 的表达减少的趋向或显著相关性。进一步分析所观察到的miR-30a/e的更广泛表达减少是否与推定的启动子的甲基化有关,并比较沿MIR30A/C2启动子和编码区的平均DNA甲基化(表16)。观察到MIR30A启动子的DNA甲基化增加与一小组肿瘤试样中表达减少之间存在相关性 ($p=0.00057$,图11C和11F)。

[0274] 高百分比的口腔肿瘤 ($n=87$) 展示miR-30a-5p表达减少,并且通过Spearman相关性检验与MIR30A启动子中CPZG位点的MIR30A超甲基化显著相关 (p 值 $6.15E-07$,图11C和11F;表17)。miR-30e-5p的表达减少与HPV阴性状态相关。此外,在喉部发生的肿瘤与miR-30e-5p表达减少和MIR30E拷贝数缺失显著相关(图11E和表17)。

[0275] 表16.miR-30家族的表达与甲基化的相关性

探针	基因	在未甲基化组中的平均表达	在甲基化组中的平均表达	tstat	p值	调整的p值	在未甲基化组中的平均甲基化	在甲基化组中的平均甲基化	Spearman校正
cg20815778	hsa-mir-30a MIMAT0000087	4.634	5.119	-0.227	8.34E-01	8.52E-01	0.086	0.441	-0.064
cg10039188	hsa-mir-30a	6.584	3.957	3.84	1.61E-04	1.23E-03	0.031	0.459	-0.225
cg25210451	hsa-mir-30a	6.567	3.892	3.938	1.11E-04	1.09E-03	0.04	0.499	-0.184
cg15045441	hsa-mir-30a	6.814	4.003	3.79	2.01E-04	1.23E-03	0.052	0.435	-0.225
cg26162616	hsa-mir-30a	6.931	3.977	3.824	1.79E-04	1.23E-03	0.04	0.421	-0.23
cg23281154	hsa-mir-30a	6.685	4.174	3.361	1.02E-03	3.85E-03	0.033	0.382	-0.24
cg22300282	hsa-mir-30a	8.386	3.984	2.256	2.87E-02	5.86E-02	0.077	0.518	-0.199
cg11574469	hsa-mir-30a	8.278	4.066	2.359	2.20E-02	5.10E-02	0.078	0.428	-0.244
cg25141674	hsa-mir-30a	7.363	4.151	2.842	5.35E-03	1.62E-02	0.063	0.495	-0.23
cg24772267	hsa-mir-30a	6.694	4.29	2.359	1.98E-02	4.84E-02	0.077	0.472	-0.122
cg00920327	hsa-mir-30a	7.006	4.052	3.642	3.52E-04	1.92E-03	0.058	0.465	-0.247
cg03318695	hsa-mir-30a	7.396	4.395	1.562	1.25E-01	1.92E-01	0.075	0.487	-0.221
cg20815778	hsa-mir-30a MIMAT0000088	1.936	1.845	0.081	9.40E-01	9.40E-01	0.086	0.441	-0.073
cg10039188	hsa-mir-30a	2.331	1.351	4.494	1.19E-05	1.46E-04	0.031	0.459	-0.196
cg25210451	hsa-mir-30a	2.303	1.3	4.876	2.52E-06	8.69E-05	0.04	0.499	-0.181
cg15045441	hsa-mir-30a	2.44	1.361	4.62	7.85E-06	1.28E-04	0.052	0.435	-0.216
cg26162616	hsa-mir-30a	2.451	1.336	4.778	3.55E-06	8.69E-05	0.04	0.421	-0.232
cg23281154	hsa-mir-30a	2.386	1.481	3.61	5.22E-04	2.32E-03	0.033	0.382	-0.243
cg22300282	hsa-mir-30a	2.752	1.385	3.396	1.24E-03	4.35E-03	0.077	0.518	-0.222
cg11574469	hsa-mir-30a	2.69	1.43	3.335	1.38E-03	4.50E-03	0.078	0.428	-0.218
cg25141674	hsa-mir-30a	2.602	1.479	3.423	8.09E-04	3.30E-03	0.063	0.495	-0.243
cg24772267	hsa-mir-30a	2.37	1.637	2.132	3.70E-02	7.26E-02	0.077	0.472	-0.138
cg00920327	hsa-mir-30a	2.445	1.454	3.589	4.74E-04	2.32E-03	0.058	0.465	-0.219
cg03318695	hsa-mir-30a	2.521	1.585	2.307	2.41E-02	5.14E-02	0.075	0.487	-0.222
cg22904815	hsa-mir-30b MIMAT0000420	0.266	0.174	2.449	2.29E-02	5.10E-02	0.078	0.326	-0.151
cg10039188	hsa-mir-30c-2	0.316	0.26	1.875	6.36E-02	1.20E-01	0.031	0.459	-0.132
cg25210451	hsa-mir-30c-2	0.316	0.26	1.814	7.29E-02	1.31E-01	0.04	0.499	-0.034
cg15045441	hsa-mir-30c-2	0.321	0.271	1.451	1.51E-01	2.18E-01	0.052	0.435	-0.095

探针	基因	在未甲基化组中的平均表达	在甲基化组中的平均表达	tstat	p 值	调整的 p 值	在未甲基化组中的平均甲基化	在甲基化组中的平均甲基化	Spearman 校正	
[0277]	cg26162616	hsa-mir-30c-2	0.323	0.27	1.69	9.38E-02	1.48E-01	0.04	0.421	-0.072
	cg23281154	hsa-mir-30c-2	0.316	0.259	1.438	1.58E-01	2.21E-01	0.033	0.382	-0.109
	cg22300282	hsa-mir-30c-2	0.272	0.256	0.438	6.62E-01	7.05E-01	0.077	0.518	-0.025
	cg11574469	hsa-mir-30c-2	0.325	0.257	1.726	8.78E-02	1.43E-01	0.078	0.428	-0.099
	cg25141674	hsa-mir-30c-2	0.306	0.262	1.368	1.74E-01	2.36E-01	0.063	0.495	-0.084
	cg24772267	hsa-mir-30c-2	0.286	0.255	0.801	4.27E-01	4.98E-01	0.077	0.472	-0.016
	cg00920327	hsa-mir-30c-2	0.327	0.246	2.55	1.23E-02	3.36E-02	0.058	0.465	-0.101
	cg03318695	hsa-mir-30c-2	0.317	0.279	0.871	3.87E-01	4.74E-01	0.075	0.487	-0.077
	cg22904815	hsa-mir-30d MIMAT0000245	5.321	4.432	1.504	1.48E-01	2.18E-01	0.078	0.326	-0.137
	cg16167741	hsa-mir-30e MIMAT0000692	4.234	4.02	0.571	5.69E-01	6.19E-01	0.07	0.549	0.03
	cg26783428	hsa-mir-30e	5.041	4.302	0.634	5.68E-01	6.19E-01	0.089	0.519	0.016
	cg27386837	hsa-mir-30e	4.655	3.407	2.447	1.69E-02	4.36E-02	0.086	0.46	-0.151
	cg13735974	hsa-mir-30e	4.383	3.508	1.82	7.74E-02	1.31E-01	0.085	0.502	-0.149
	cg10336144	hsa-mir-30e	4.597	3.372	2.827	5.61E-03	1.62E-02	0.082	0.489	-0.117
	cg14796708	hsa-mir-30e	3.92	3.828	0.213	8.32E-01	8.52E-01	0.082	0.429	0.018
	cg16167741	hsa-mir-30e MIMAT0000693	5.153	4.779	0.987	3.25E-01	4.09E-01	0.07	0.549	-0.072
	cg26783428	hsa-mir-30e	6.638	5.117	0.957	4.07E-01	4.86E-01	0.089	0.519	-0.034
	cg27386837	hsa-mir-30e	5.98	4.76	1.794	7.75E-02	1.31E-01	0.086	0.46	-0.184
	cg13735974	hsa-mir-30e	5.932	4.931	1.244	2.22E-01	2.94E-01	0.085	0.502	-0.157
	cg10336144	hsa-mir-30e	5.534	4.884	1.131	2.63E-01	3.40E-01	0.082	0.489	-0.189
	cg14796708	hsa-mir-30e	4.657	5.054	-0.77	4.43E-01	5.05E-01	0.082	0.429	0.027

[0278] 表17.TCGA数据集中miR30A/E的拷贝数变异、甲基化和表达与HNSCC的临床特征的关联

临床特征	miR30 改变		P 值
	miR30A 甲基化		
肿瘤部位	超甲基化	低甲基化	
口腔	58	115	6.15E-07*
非口腔	9	97	
HPV 状态			
HPV(+)	3	26	0.0686
HPV(-)	52	163	
	miR30A 表达		
肿瘤部位	低	高	
口腔	87	68	0.00822*
非口腔	35	54	
HPV 状态			
HPV(+)	11	18	0.117
HPV(-)	111	104	
	miR30E 拷贝数变异		
肿瘤部位	缺失	非缺失	

临床特征	miR30 改变		P 值
喉部	18	46	0.00184*
非喉部	20	160	
HPV 状态			
HPV(+)	0	29	0.00527*
HPV(-)	38	177	
miR30E 表达			
肿瘤部位	低	高	
喉部	28	36	0.154
非喉部	94	86	
HPV 状态			
HPV(+)	5	24	0.000121*
HPV(-)	117	98	

[0280] [0281] 由于HPV+和口咽癌症的预后优于HPV-和喉HNSCC,故对miR-30a/e表达与预后差异的关联进行检查。miR-30e的较低表达与总体存活降低显著相关(图12A,左图),这符合与HPV-肿瘤的关联。在展示MIR30E基因座拷贝数损失的一亚组患者中也观察到存活降低的趋势,证实基因组拷贝改变在一亚组肿瘤中引起miR30e表达减少(图12A,中图)。意外的是,有关肿瘤亚部位的存活分析披露,miR-30e-5p的低表达与口咽癌的最差预后有关(图12A,右图),所述口咽癌主要呈HPV+并且就这一点来说,与较差预后有关的基因组改变和治疗靶尚未得到明确定义。这一数据集展示了低miR-30a-5p表达与较差的疾病特异性存活之间的强相关性(p值0.024,图11G)并且miR-30e-5p存在类似趋势(p值0.113,图11H)。这些数据表明,miR-30a/e表达减少与HNSCC的基因或表观遗传改变、HNSCC肿瘤亚部位、HPV状态及临床相关预后有关。此外,miR-26a-5p和miR-26b-5p的较低表达与较低的总体存活相关(图12B)。

[0282] 实施例9

[0283] miR-30a在癌症细胞系中的抗增殖活性

[0284] 在ME180(子宫颈鳞状细胞癌)、HeLa(子宫颈腺癌)、HCT116(结肠直肠癌)、DU-145(前列腺癌)、PC3(前列腺癌)、MDA-MB-231(乳腺癌)及Panc1(胰腺癌)细胞系上测试miR-30a对其它类型癌症的增殖的影响。将细胞以 2×10^3 个细胞/孔接种于96孔板中并在0.15 μ l RNAiMAX存在下,用15nMmiR-30a双链体反向转染48小时。转染之后,更换培养基并孵育细胞5天。孵育之后,通过XTT分析测量细胞活力。miR-30a使所有测试细胞系的细胞活力降低(图13)。

[0285] 实施例10

[0286] 修饰的miR-30a miRNA

[0287] 设计并合成若干修饰的前体hsa-miR-30a模拟物和/或拟似物。示例性修饰的miR-30a核酸显示于表18中。

[0288] 使过客链的碱基1、6和20突变以增加所得双链体的稳定性。为了使RISC的链选择偏向引导链,将两个碱基的突出放在过客链的3'端。为了进一步使链选择偏向,也对过客链5'端处的5'氨基C6修饰进行测试。已知在寡核苷酸中个别核酸的2'位的修饰可以提高与互补链的亲和力并且还赋予核酸酶抗性。不过,这些修饰对微小RNA功能有什么影响尚不了

解。为了测试这一点,合成在过客链(过客链7)的两端处含有三个碱基的2'修饰的寡核苷酸。也对独立寡核苷酸(引导链1-5)中7位与18位之间的连续碱基进行修饰。这些链杂交以产生可能偏向5p链成熟的六种不同的miR-30a双链体模拟物。

[0289] 另外,测试链长度对活性的影响。合成引导链11,该引导链比引导链5少两个碱基,但具有与引导链5相同碱基的2'修饰;以及合成过客链12,该过客链比过客链6少两个碱基,但仍在寡核苷酸的3'和5'端含有3个碱基的2'修饰。组合所有链以产生六种新的模拟物(010-015)。

[0290] 表18.修饰的miR-30构建体

寡核苷酸	序列(5'-3')*	SEQ ID NO:
引导链 1 (G1)	UGUAAACAU <u>CCUCGACUGGAAG</u> CU	37
引导链 2 (G2)	UGUAAACAU <u>CCUCGACUGGAAG</u> CU	38
引导链 3 (G3)	UGUAAACAU <u>CCUCGACUGGAAG</u> CU	39
引导链 4 (G4)	UGUAAACAU <u>CCUCGACUGGAAG</u> CU	40
引导链 5 (G5)	UGUAAACAU <u>CCUCGACUGGAAG</u> CU	41
引导链 11 (G11)	UGUAAACAU <u>CCUCGACUGGAAG</u>	42
引导链 13 (G13)	UGUAAACAU <u>CCUCGACUGGA</u> ApsG	43
引导链 15 (G15)	UGUAAACAU <u>CCUCGACUGG</u> ApsApsG	44
引导链 16 (G16)	UGUAAACAU <u>CCUCGACUGG</u> AAd-mpG	45
引导链 17 (G17)	UGUAAACAU <u>CCUCGACUGG</u> Ad-mpAd-mpG	46
引导链 18 (G18)	UGUAAACAU <u>CCUCGACUGGAAG</u>	47
引导链 19 (G19)	UGUAAACAU <u>CCUCGACUGG</u> ApsApsG	48
引导链 20 (G20)	UGUAAACAU <u>CCUACACUCUCAGC</u>	49
引导链 21 (G21)	UGUAAACAU <u>CCUACACUCUCAGC</u>	50
引导链 22 (G22)	UGUAAACAU <u>CCUACACUCUCAGC</u>	51
引导链 23 (G23)	UGUAAACAU <u>CCUACACUCUC</u> ApsGpsC	52
引导链 24 (G24)	Uf <u>GUAAACAUCCUACACUCUC</u> ApsGpsC	53
过客链 6 (P6)	氨基 C6-AGCUUCCAGUCGGAU <u>GUUUACACG</u>	54
过客链 7 (P7)	氨基 C6-AGCUUCCAGUCGGAU <u>GUUUACACG</u>	55
过客链 12 (P12)	氨基 C6-CUCCAGUCGGAU <u>GUUUACACG</u>	56
过客链 14 (P14)	氨基 C6- <u>UCCAGUCGGAU</u> GUUUACA	57
过客链 25 (P25)	氨基 C6- <u>UCCAfGUfCGfGAfUGfUUfUAfCA</u>	58
过客链 26 (P26)	氨基 C6- <u>UCCAfGUfCGfGAfUGfUUfUAf</u> CpsA	59
过客链 27 (P27)	氨基 C6- <u>UCCAfGUfCGfGAfUGfUUfUAf</u> Cd-mpA	60
过客链 28 (P28)	氨基 C6- <u>UGAGAGUAGGAUGUUUACA</u>	61

[0292] *加下划线的残基具有2'OMe修饰;ps-硫代磷酸酯;mp-甲基膦酸酯;d-2'脱氧;f-2'氟;突变的碱基以粗体和斜体显示。

[0293] 评估用修饰的miR-30a模拟物转染的UM-SCC-46细胞的细胞活力。将UMSCC-46细胞以 2×10^3 个细胞/孔接种于96孔板中并在0.15 μ l RNAiMAX存在下,用15nM双链体反向转染48小时。转染之后,更换培养基并孵育细胞5天。孵育之后,通过XTT分析测量细胞活力。数据表示6个重复实验的平均值。M-miR30a-006 (G5+P7)、M-miR30a-014 (G11+P12) 及M-miR-30a-016 (G11+P14) 对细胞活力具有最大影响(表19)。

[0294] 表19.修饰的miR-30a模拟物对UMSCC-46细胞活力的影响

模拟物名称	链	%活力对照(15 nM)	SEM
[0295]	未修饰的 miR30a	0.7545821	0.114837
	M-miR30a-001	0.634257	0.138051
	M-miR30a-002	0.680829	0.164553
	M-miR30a-003	0.773038	0.113855
	M-miR30a-004	0.690925	0.066221
	M-miR30a-005	0.681762	0.152425
	M-miR30a-006	0.331135	0.046659
	M-miR30a-007	na	na
	M-miR30a-008	na	na
	M-miR30a-009	na	na
	M-miR30a-010	0.363122	0.048457
	M-miR30a-011	0.49771	0.035976
	M-miR30a-012	0.385692	0.030329
	M-miR30a-013	0.433616	0.038817
	M-miR30a-014	0.255287	0.043365
	M-miR30a-015	0.424858	0.032783
	M-miR30a-016	0.256281	0.028257

[0296] 另外,在小鼠UMSCC-46异种移植肿瘤模型中测试M-miR30a-006寡核苷酸。连续3周,在MWF,对带有约 100mm^3 UMSCC-46异种移植肿瘤的小鼠IV注射九剂 $60\mu\text{g}$ (约 $3\text{mg}/\text{kg}$)的复合miR-30a模拟物或对照媒剂。从第24天开始,每天用 $10 \times 2\text{Gy}$ 部分的放射疗法(总计 20Gy)处理小鼠(图14A-14B)。

[0297] 实施例11

[0298] 组合miRNA处理对细胞增殖的影响

[0299] 评估用四个miRNA的混合物-M-miR30a-014、miR-145-5p、miR-26a-5p及miR-375以 7.5nM 或 15nM 总双链体(各双链体分别为 1.875nM 或 3.75nM)转染的九个HNSCC肿瘤细胞系的细胞活力。在其它实验中,用 7.5nM 或 15nM 总双链体的miRNA对转染细胞。将细胞以 $1.5-2 \times 10^3$ 个细胞/孔接种于96孔板中并在 $0.15\mu\text{l}$ RNAiMAX存在下,用混合物反向转染48小时。转染过夜之后,更换培养基并孵育细胞4-5天。孵育之后,如实施例1中所描述,通过XTT分析测量细胞活力。

[0300] 四个miRNA的混合物使所有细胞系的细胞密度降低(图15),特别是在 15nM 浓度。类似地,两个miRNA的组合也降低细胞密度(图16A-16D)。

[0301] 实施例12

[0302] 另外的miRNA对细胞活力的影响

[0303] 评估用miR27-5p或miR-2b-1-5p双链体转染的UM-SCC-1或UM-SCC-46细胞的细胞活力。将UM-SCC-1细胞以 1.5×10^3 个细胞/孔接种且UM-SCC-46细胞以 2×10^3 个细胞/孔接种于96孔板中并在 $0.15\mu\text{L}$ RNAiMAX存在下,用 7.5nM 或 15nM 双链体反向转染48小时。转染之后,更换培养基并孵育细胞5天。通过XTT分析测量细胞活力。

[0304] miR-27b-5p和miR-29-b-1-5p降低UM-SCC-1和UM-SCC-46细胞的细胞密度(图17A和17B)。

[0305] 实施例13

[0306] 修饰的miRNA

[0307] 设计若干miR模拟物和/或拟似物。示例性miR模拟物和/或拟似物显示于表20中。

[0308] 表20. 修饰的miR

寡核苷酸	序列(5'-3')	SEQ ID NO:
hsa-miR-375 模拟物/拟似物		
引导链(G29)	UUU GUU CG <u>U</u> UCG GCU CGC GUG A	62
过客链(P30)	氨基 C6- <u>AC</u> GCG AGC <u>CGA</u> ACG AAC <u>AAA</u>	63
miR-26a-5p 模拟物/拟似物		
引导链 31 (G31)	UUC AAG UAA UCC <u>AGG</u> AUA GGC U	64
过客链(P32)	氨基 C6- <u>CCU</u> AUC CCU <u>GGA</u> UUA CUU <u>GAA</u>	65
miR-145-5p 模拟物/拟似物		
引导链(G33)	GUC CAG UUU UCC <u>CAG</u> GAA UCC CU	66
过客链(P34)	氨基 C6- <u>GGA</u> UUC CUG GAA AUA CUG <u>GAC</u>	67

[0310] 加下划线的残基具有2'OMe修饰;突变的碱基以粗体和斜体显示。

[0311] 实施例14

[0312] 头颈部鳞状细胞癌的治疗

[0313] 本实施例描述了可以用于治疗或抑制对象的HNSCC的方法。不过,本领域技术人员基于本文中的教导应了解,也可以使用不同于这些特定方法的方法成功地治疗HNSCC。本领域的技术人员还应认识到,这些方法也可以用于治疗或抑制对象的其它癌症。

[0314] 在一个实例中,选择患HNSCC(或另一类型的肿瘤)的对象。在一些实例中,对象患有HNSCC肿瘤。在其它实例中,对象患有被确定一种或多种miRNA(如miR-30a家族成员、miR-26家族成员、miR-145-5p、miR-338-3p及miR-375中的一种或多种)具有较低表达的HNSCC肿瘤。在其它实例中,对象患有在编码一种或多种miRNA的DNA(如MIR30基因、MIR26基因、MIR145基因、MIR338基因及MIR375基因中的一种或多种)中具有缺失的肿瘤。在其它实例中,对象患有启动子或编码一种或多种miRNA的DNA(如MIR30基因、MIR26基因、MIR145基因、MIR338基因及MIR375基因中的一种或多种)中的甲基化增加的肿瘤。

[0315] 在选择对象之后,将有效量的miRNA核酸(如miR-30a-5p或其模拟物或拟似物)或miRNA核酸混合物(如miR-30a、miR-145、miR-26a及miR-375或其一种或多种的模拟物或拟似物的混合物)施用给对象。施用给对象的组合物的量取决于所治疗的对象、肿瘤的严重程度(如TNM分期)及组合物的施用方式。理想的情况是,(一种或多种)miRNA的有效量是足以减少对象的HNSCC的一种或多种病征和症状,同时不会在对象中引起明显细胞毒性作用的量。

[0316] 在一些实施例中,肿瘤的数量和/或尺寸减小、转移的数量和/或尺寸减小、疾病进展减慢(或停止)、存活(如无疾病存活、无进展存活和/或无转移存活)增加或其中两种或更多种的组合指示治疗的有效性。

[0317] 实施例15

[0318] 另外的miR-30模拟物的设计和测试

[0319] 设计另外的修饰的miR-30-5p引导链和过客链并显示于表21中。

[0320] 表21. 修饰的miR-30-5p miRNA

寡核苷酸	序列(5'→ 3')	SEQ ID NO:
[0321]	引导链 35 (G35) UGUAAACAUCCUACACUCUCAGC	50
	引导链 36 (G36) UfGUfAAfACfAUfCCfUAfCAfCUfCAfpsGpsCf	73
	引导链 37 (G37) UGfUAAAfCAUfCCfUAfCAfCUfCAfpsGpsCf	74
	过客链 28 (P28) 氨基 C6-UGAGAGUAGGAUGUUUACA	61

[0322] f, 2'-氟;加下划线, 2'-OME;ps, 硫代磷酸酯;突变的碱基以粗体和斜体显示。

[0323] 如实施例11中所描述, 评估用修饰的miR-30a模拟物转染的UM-SCC-46细胞的细胞活力。数据表示6个重复实验的平均值(表22)。测试模拟物在血清中的稳定性(图18)。在M-miR30-018和M-miR30-019中掺入化学修饰赋予针对核酸酶的长期抗性并且使在人类血清中的稳定性增加>50×(图18)。如实施例11中所描述, 评估用指定miRNA双链体(7.5nM或15nM总双链体)转染的UM-SCC-46细胞的细胞活力(图19)。M-miR30-018和M-miR30-019仍维持与M-006相同的抑制癌细胞增殖的效力, 所述效力相对于生物微小RNA大幅改善(图19和表22)。

[0324] 表22. 修饰的miR-30a模拟物对UMSCC-46细胞活力的影响

模拟物名称	链	%活力对照(15nM)	SEM
M-miR30-017	G35+P28	0.281711	0.038428
M-miR30-018	G36+P28	0.363828	0.024757
M-miR30-019	G37+P28	0.457675	0.100329

[0326] 实施例16

[0327] 另外的miR模拟物

[0328] 设计另外的miR模拟物和/或拟似物。示例性miR模拟物和/或拟似物显示于表23中。

[0329] 表23. 修饰的miR

寡核苷酸	序列(5'-3')	SEQ ID NO:
miR-30 模拟物		
引导链 39 (G39)	UfGUf AAA CAUfCCfU CfGAfCUfG GfApsAfpsG	75
引导链 40 (G40)	UfGUf AAA CAUfCCfU CGA CUG GApssApsG	76
引导链 41 (G41)	UfGUf AAAf CAUfCCfU CfGAfCUfG GfApsAfpsG	77
引导链 42 (G42)	UfGUf AAfA CfAUfCCfU CfGAfCUfG GfApsAfpsG	78
引导链 43 (G43)	UfGUf AAfAf CAUfCCfU CfGAfCUfG GfApsAfpsG	79
引导链 44 (G44)	UfGUf AAfA CfAUfCCfU CGA CUG GfApsAfpsG	80
引导链 45 (G45)	UfGUf AAA CAUfCCfU CGA CUG GfApsAfpsG	81
引导链 46 (G46)	UfGUf AAfA CfAUfCCfU CGA CUG GApssApsG	82
引导链 47 (G47)	UfGUf AAA CAUCCU CGA CUG GApssApsG	83
引导链 48 (G48)	UfGUf AAA CAUCCU CGA CUG GApssAfpsG	84
引导链 49 (G49)	UfGUf AAA CAUCCU CGA CUG GApssApsGf	85
引导链 50 (G50)	UfGU AAA CAUCCU CGA CUG GApssApsGf	86
引导链 51 (G51)	UfGU AAA CAUCCU CGA CUG GApssAfpsG	87
引导链 52 (G52)	UfGU AAA CAUCCU CGA CUG GApssApsGf	88
引导链 53 (G53)	UfGU AAA CAUfCCU CGA CUG GApssApsGf	89
引导链 54 (G54)	UfGU AAA CAUfCCU CGA CUG GApssApsGf	90

寡核苷酸	序列(5'-3')	SEQ ID NO:
引导链 55 (G55)	Uf <u>GUf AAA CAU CCFU CfGAf CUfG GfApsAfpsG</u>	91
过客链 56 (P56)	氨基 C6- <u>UCCAfGUfCGfGAUGUfUUfACA</u>	92
miR-375 模拟物		
引导链 57 (G57)	Uf <u>UUf GUU CGU UCG GCU CGC GUpsGfps A</u>	93
引导链 58 (G58)	Uf <u>UU GUU CGU UCG GCU CGC GUpsGfps A</u>	94
引导链 59 (G59)	Uf <u>UUf GUU CGU UCG GCU CGC GfUpsGfps A</u>	95
引导链 60 (G60)	Uf <u>UUf GUfU CGU UCG GCU CGC GfUpsGfps A</u>	96
引导链 61 (G61)	Uf <u>UUf GUfU CGU UCG GCU CGfC GfUpsGfps A</u>	97
引导链 62 (G62)	Uf <u>UUf GUfU CfGU UCG GCU CGfC GfUpsGfps A</u>	98
引导链 63 (G63)	Uf <u>UUf GUU CGU UCG GCU CGfC GfUpsGfps A</u>	99
引导链 64 (G64)	UUU GUU CGU UCG GCU CGfC GfUpsGfps A	100
引导链 65 (G65)	UUU GUU CGU UCG GCU CGfC GfUpsGfps A	101
引导链 66 (G66)	Uf <u>UUf GUfU CfGUfUCfG GfCUfCGfC GfUpsGfps A</u>	102
引导链 67 (G67)	Uf <u>UUf GUU CGU UCfG GfCUfCGfC GfUpsGfps A</u>	103
过客链 68 (P68)	氨基 C6- <u>AC GfG AfGf CGA ACfG AfACf AAA</u>	104
miR-26 模拟物		
引导链 69 (G69)	Uf <u>UCf AAG UAA UCC AGG AUA GGpsCfps U</u>	105
引导链 70 (G70)	Uf <u>UC AAG UAA UCC AGG AUA GGpsCfps U</u>	106
引导链 71 (G71)	Uf <u>UCf AAG UAA UCC AGG AUA GfGpsCfps U</u>	107
引导链 72 (G72)	Uf <u>UCf AAG UAA UCC AGG AUA GfGpsCfps U</u>	108
引导链 73 (G73)	Uf <u>UCf AAfG UAA UCC AGG AUA GfGpsCfps U</u>	109
引导链 74 (G74)	Uf <u>UCf AAfG UAA UCC AGG AUAf GfGpsCfps U</u>	110
引导链 75 (G75)	Uf <u>UCf AAfG UfAA UCC AGG AUAf GfGpsCfps U</u>	111
引导链 76 (G76)	Uf <u>UCf AAfG UfAA UCC AGG AUAf GfGpsCfps U</u>	112
引导链 77 (G77)	Uf <u>UCf AAfG UfAA UCC AGG AfUAf GfGpsCfps U</u>	113
引导链 78 (G78)	Uf <u>UCf AAfG UfAAf UCfC AfGGf AUfA GfGpsCfps U</u>	114
过客链 79 (P79)	氨基 C6- <u>CCU AfUCfCCfU GGA UufA CfUUf GAA</u>	115
miR-145-5p 模拟物		
引导链 80 (G80)	Gf <u>UC CAG UUU UCC CAG GAA UCCps CfpsU</u>	116
引导链 81 (G81)	Gf <u>UCf CAG UUU UCC CAG GAA UCCps CfpsU</u>	117
引导链 82 (G82)	Gf <u>UCf CAG UUU UCC CAG GAA UCfCps CfpsU</u>	118
引导链 83 (G83)	Gf <u>UCf CAfG UUU UCC CAG GAA UCfCps CfpsU</u>	119
引导链 84 (G84)	Gf <u>UCf CAfG UUU UCC CAG GAAf UCfCps CfpsU</u>	120
引导链 85 (G85)	Gf <u>UCf CAfG UfUU UCC CAG GAAf UCfCps CfpsU</u>	121
引导链 86 (G86)	Gf <u>UCf CAfG UfUU UCC CAG GfAAf UCfCps CfpsU</u>	122
引导链 87 (G87)	Gf <u>UCf CAfG UfUUf UCfC CfAGf GfAAf UCfCps CfpsU</u>	123
引导链 88 (G88)	Gf <u>UCf CAfG UfUUf UCfC CfAGf GAfA UfCCfps CfpsUf</u>	124
过客链 89 (P89)	氨基 C6- <u>GGA UfUCf CUfG GAA AUfA CfUGf GAC</u>	125
miR-101 模拟物		
引导链 89 (G89)	UAC AGU ACU GUG AUA ACU GAA	126
引导链 90 (G90)	Uf <u>AC AGU ACU GUG AUA ACU GpsAfpsA</u>	127
引导链 91 (G91)	Uf <u>ACf AGU ACU GUG AUA ACU GpsAfpsA</u>	128

[0331]

寡核苷酸	序列(5'-3')	SEQ ID NO:
引导链 92 (G92)	Uf <u>ACf</u> <u>AGU ACU GUC GUG AUA ACU</u> f <u>GpsAfp</u> sA	129
引导链 93 (G93)	Uf <u>ACf</u> <u>AGfU ACU GUC GUG AUA ACU</u> f <u>GpsAfp</u> sA	130
引导链 94 (G94)	Uf <u>ACf</u> <u>AGfU ACU GUC GUG AUA Af</u> f <u>GpsAfp</u> sA	131
引导链 95 (G95)	Uf <u>ACf</u> <u>AGfU AfCU GUC GUG AUA Af</u> f <u>GpsAfp</u> sA	132
引导链 96 (G96)	Uf <u>ACf</u> <u>AGfU Af</u> f <u>CuG AfUAf ACfU</u> f <u>Gfp</u> sAfpA	133
过客链 97 (P97)	氨基 C6- <u>CAG</u> UUA UCA CAG UAC <u>UGUA</u>	134
过客链 98 (P98)	氨基 C6- <u>CAG</u> Uf <u>UAf</u> f <u>UcfA</u> CAG <u>UAfC</u> Uf <u>GU</u> A	135
miR-29 模拟物		
引导链 99 (G99)	GCU GGU <u>UUC</u> AUA UGG UGG UUU AGA	136
引导链 100 (G100)	Gf <u>CU</u> GGU <u>UUC</u> AUA UGG UGG UUU ApsGfpA	137
引导链 101 (G101)	Gf <u>CfU</u> GGU <u>UUC</u> AUA UGG UGG UUU ApsGfpA	138
引导链 102 (G102)	Gf <u>CfU</u> GGU <u>UUC</u> AUA UGG UGG UUU f <u>ApsGfp</u> sA	139
引导链 103 (G103)	Gf <u>CfU</u> <u>GGfU</u> <u>UUC</u> AUA UGG UGG UUU f <u>ApsGfp</u> sA	140
引导链 104 (G104)	Gf <u>CfU</u> <u>GGfU</u> <u>UUC</u> AUA UGG UGG Uf <u>Uf</u> f <u>ApsGfp</u> sA	141
引导链 105 (G105)	Gf <u>CfU</u> <u>GGfU</u> Uf <u>UC</u> AUA UGG UGG Uf <u>Uf</u> f <u>ApsGfp</u> sA	142
引导链 106 (G106)	Gf <u>CfU</u> <u>GGfU</u> Uf <u>UC</u> AUA UGG UGf <u>G</u> Uf <u>Uf</u> f <u>ApsGfp</u> sA	143
引导链 107 (G107)	Gf <u>CfU</u> <u>GGfU</u> Uf <u>UC</u> AUA UGG UGf <u>G</u> Uf <u>Uf</u> f <u>ApsGfp</u> sA	144
引导链 107 (G107)	Gf <u>CfU</u> <u>GGfU</u> Uf <u>UCf</u> Af <u>UA</u> Uf <u>GGf</u> UGf <u>G</u> Uf <u>Uf</u> f <u>ApsGfp</u> sA	145
过客链 108 (P108)	氨基 C6- <u>UAA</u> ACC ACC AUA <u>A</u> UGA AAC CAG <u>C</u>	146
miR-27 模拟物		
引导链 109 (G109)	AGA GCU <u>UAG</u> CUG AUU GGU GAA C	147
引导链 110 (G110)	Af <u>GA</u> GCU <u>UAG</u> CUG AUU GGU GApAfpC	148
引导链 111 (G111)	Af <u>GAf</u> GCU <u>UAG</u> CUG AUU GGU GApAfpC	149
引导链 112 (G112)	Af <u>GAf</u> GCU <u>UAG</u> CUG AUU GGU GfApAfpC	150
引导链 112 (G112)	Af <u>GAf</u> <u>GCfU</u> <u>UAG</u> CUG AUU GGU GfApAfpC	151
引导链 113 (G113)	Af <u>GAf</u> <u>GCfU</u> <u>UAG</u> CUG AUU GGUf GfApAfpC	152
引导链 114 (G114)	Af <u>GAf</u> <u>GCfU</u> Uf <u>AG</u> CUG AUU GGf GfApAfpC	153
引导链 115 (G115)	Af <u>GAf</u> <u>GCfU</u> Uf <u>AG</u> CUG AUU Gf <u>GUf</u> GfApAfpC	154
引导链 116 (G116)	Af <u>GAf</u> <u>GCfU</u> Uf <u>AGf</u> f <u>Cu</u> f <u>G AfUf</u> Gf <u>GU</u> GfApAfpCf	155
过客链 117 (P117)	氨基 C6- <u>GUU</u> CAC <u>CAA</u> UCA <u>GCU</u> AAG <u>CUC</u> U	156
过客链 118 (P118)	氨基 C6- <u>GUU</u> Cf <u>Ac</u> f <u>CAfA</u> UCA Gf <u>CfU</u> f <u>AfG</u> Cf <u>UC</u> U	157
过客链 119 (P119)	氨基 C6- <u>UAA</u> Af <u>CCf</u> Ac <u>fc</u> AUA Uf <u>Gaf</u> f <u>AfC</u> Cf <u>AG</u> C	158

[0332]

f, 2'-氟; 加下划线, 2'-OME; ps, 硫代磷酸酯。突变的碱基以粗体和斜体显示。

[0334] 鉴于可应用本公开内容原理的许多可能实施方案, 应认识到所说明的实施方案仅为示例性的, 并且不应被视为限制本发明的范围。实际上, 本发明的范围由所附权利要求书限定。因此, 我们要求在这些权利要求的范围和精神内的所有内容作为我们的发明。

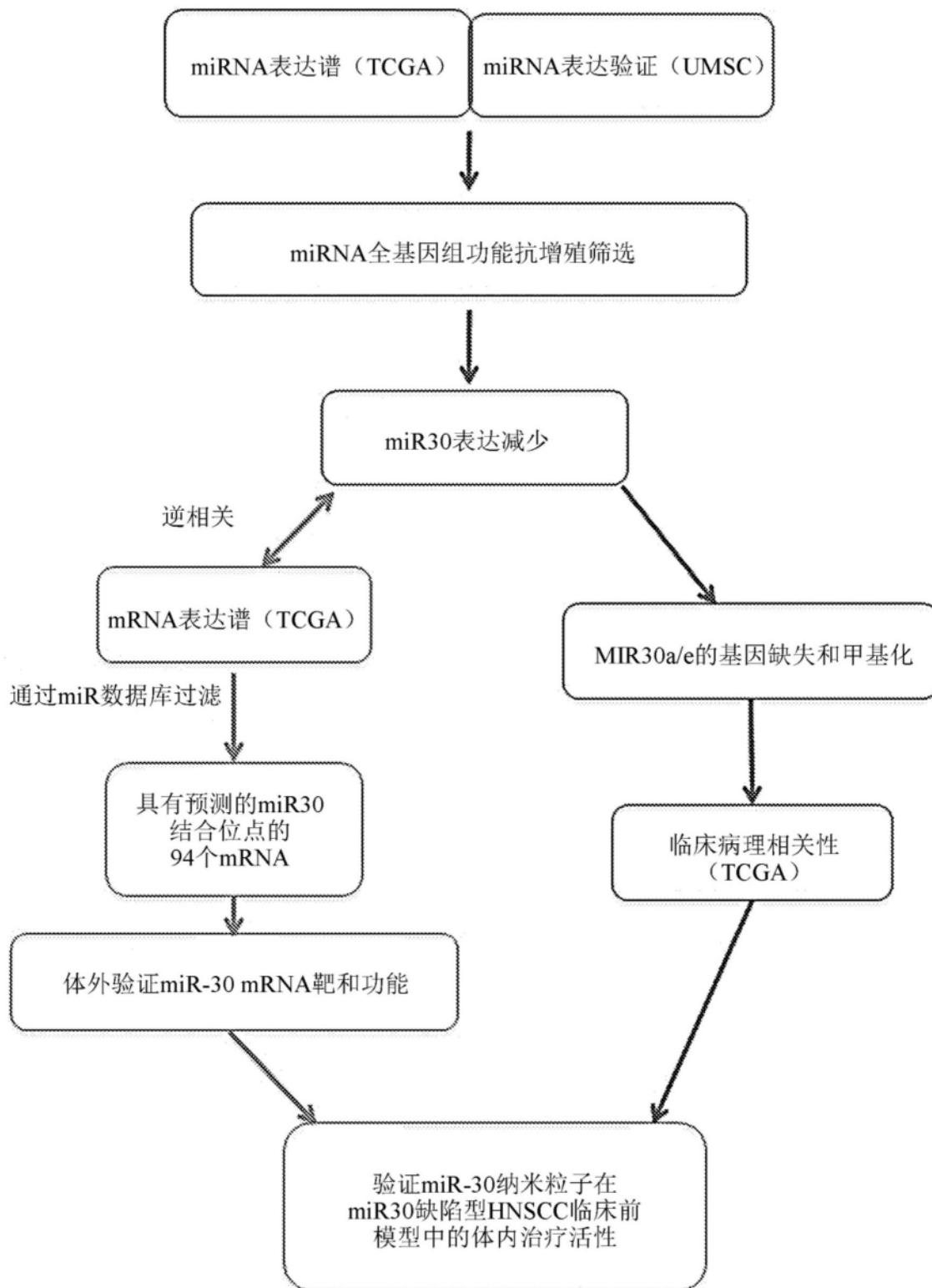


图1

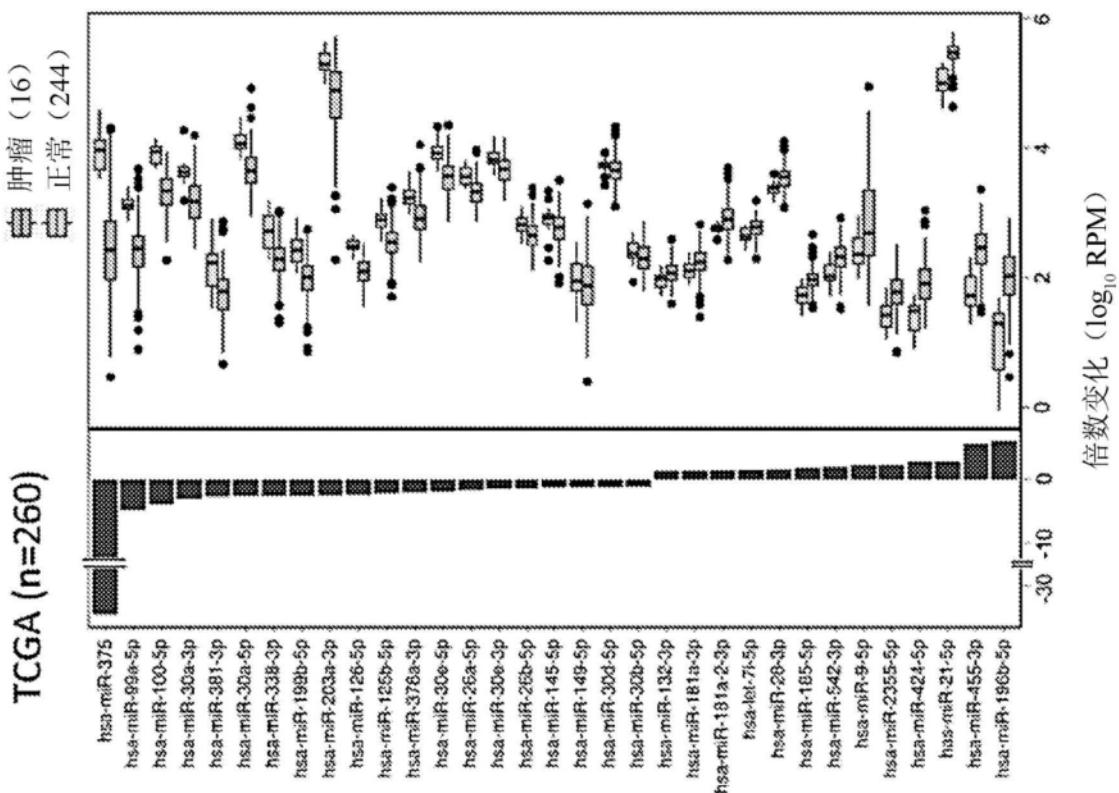


图2A

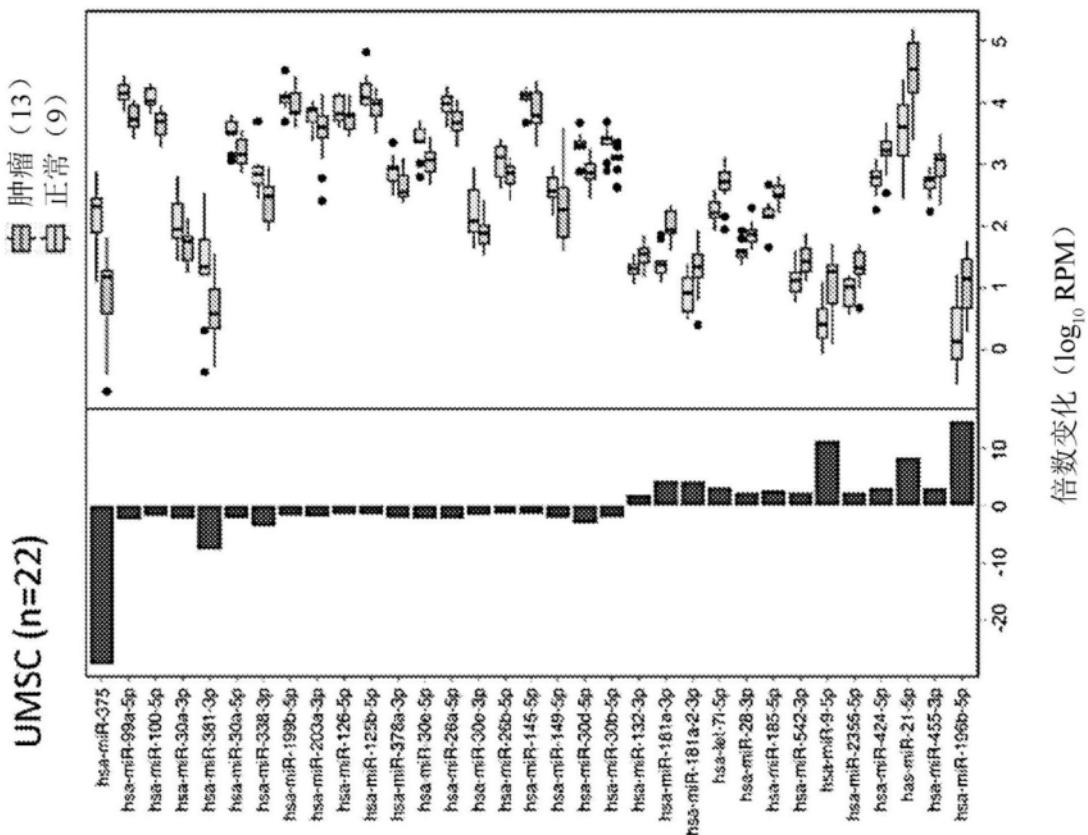


图2B

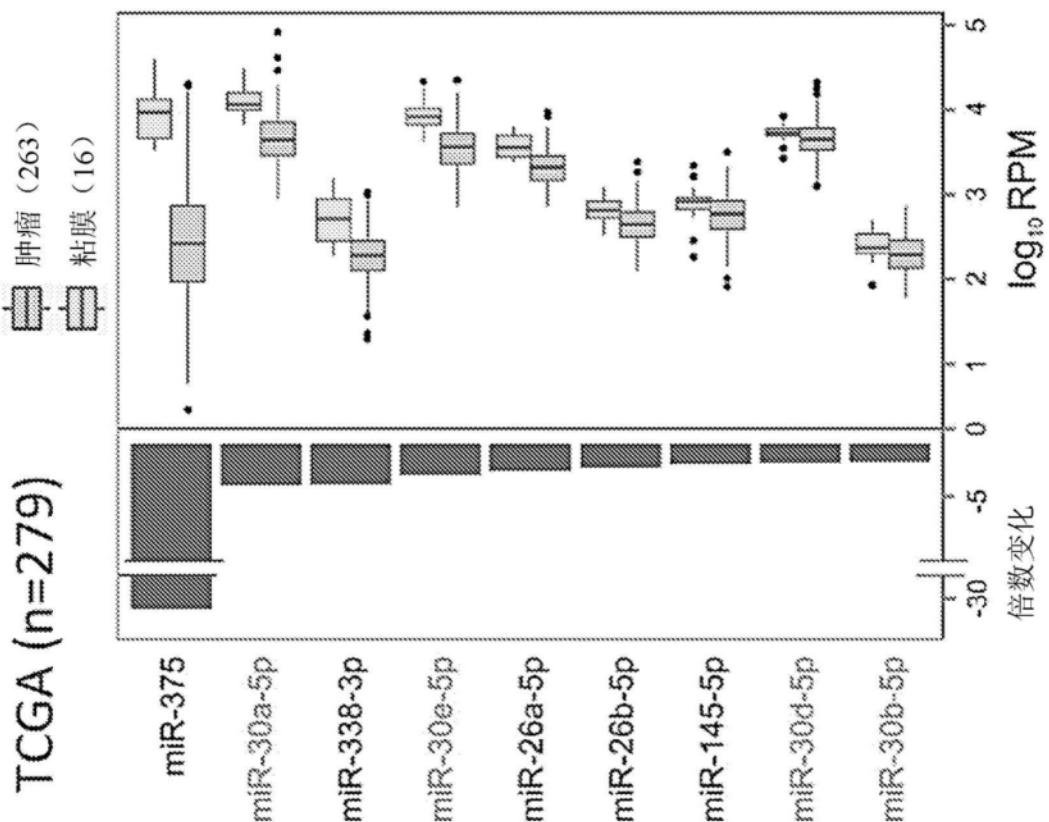


图2C

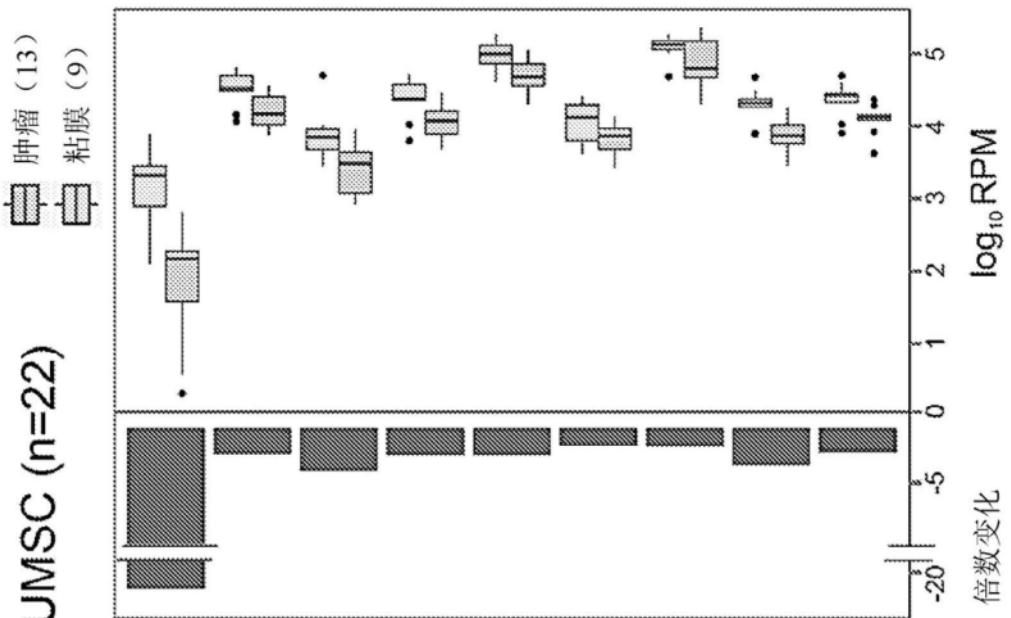


图2D

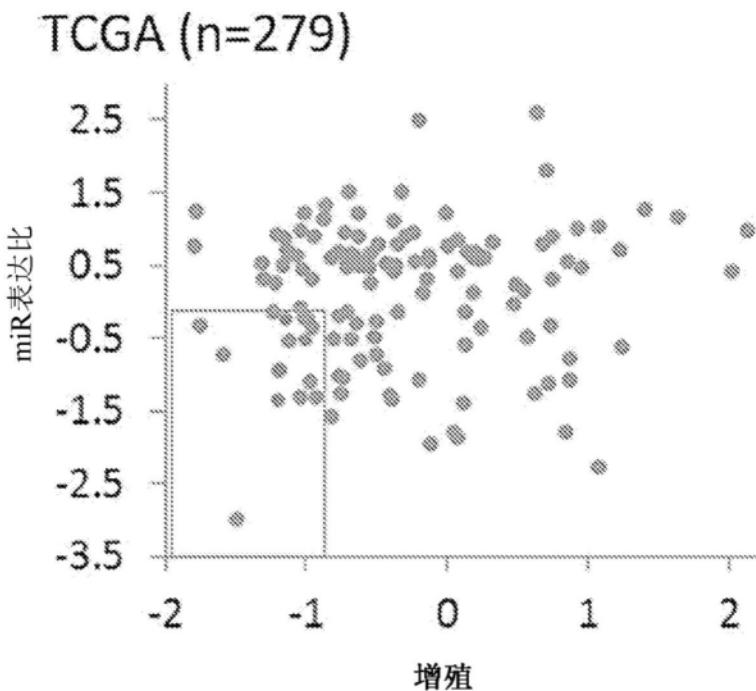


图3A

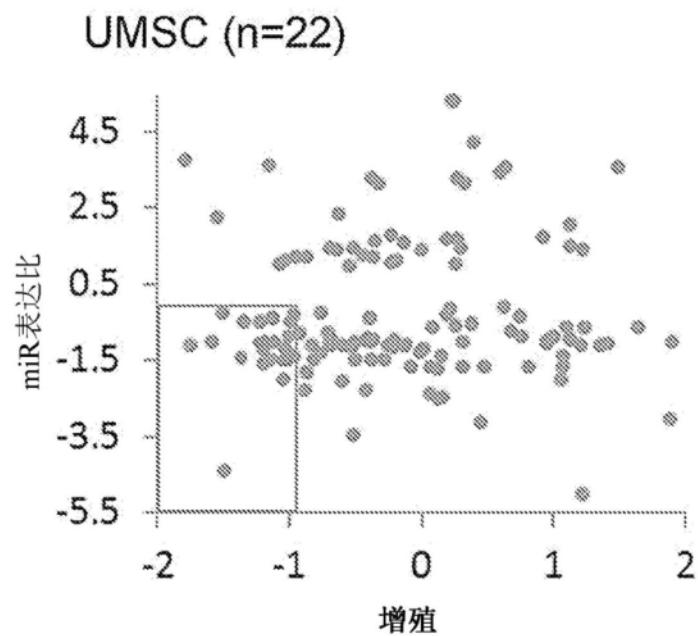


图3B

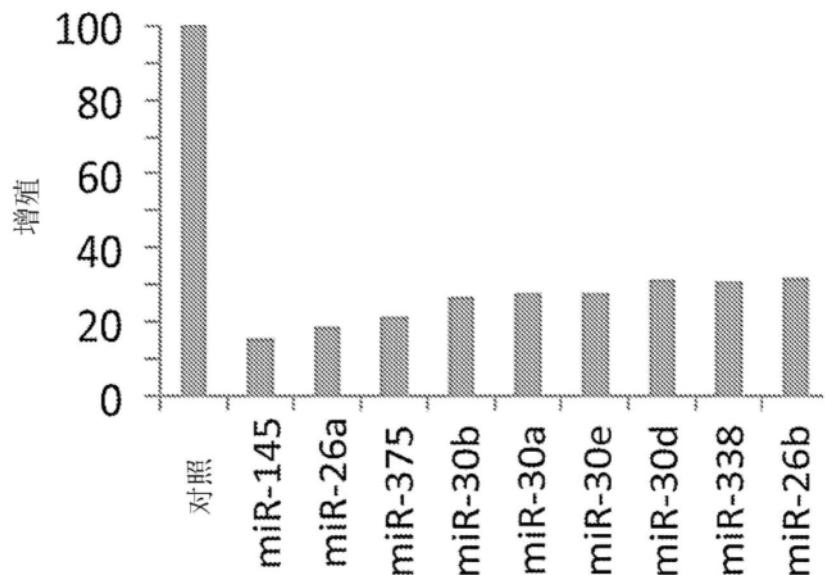


图3C

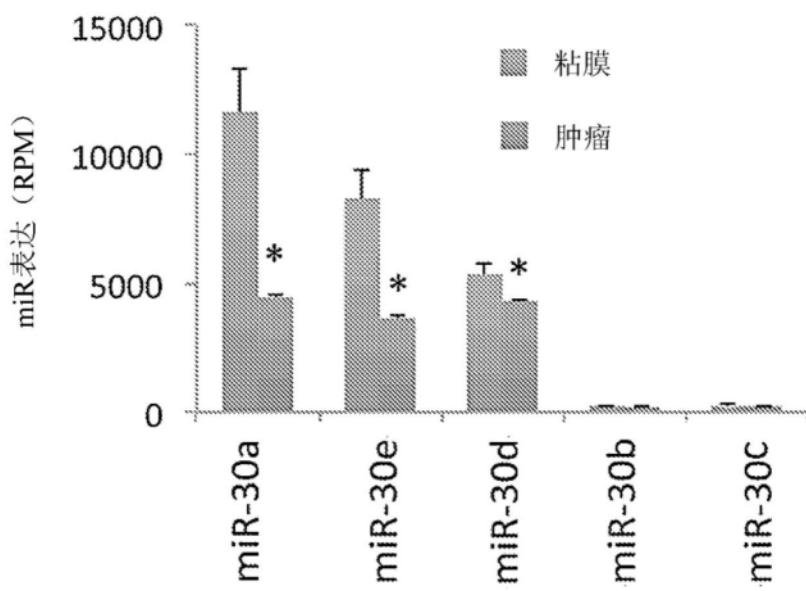


图3D

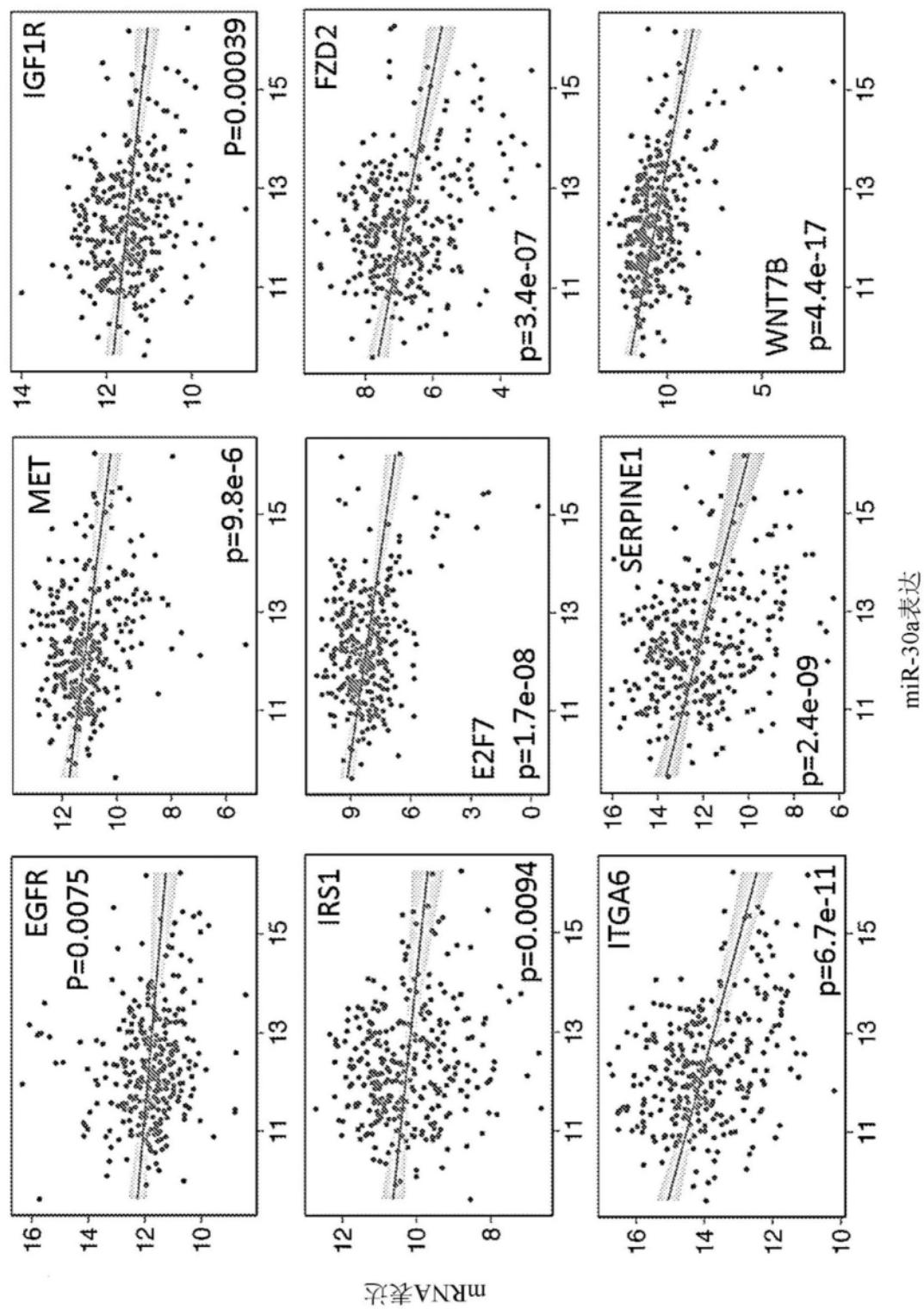


图4

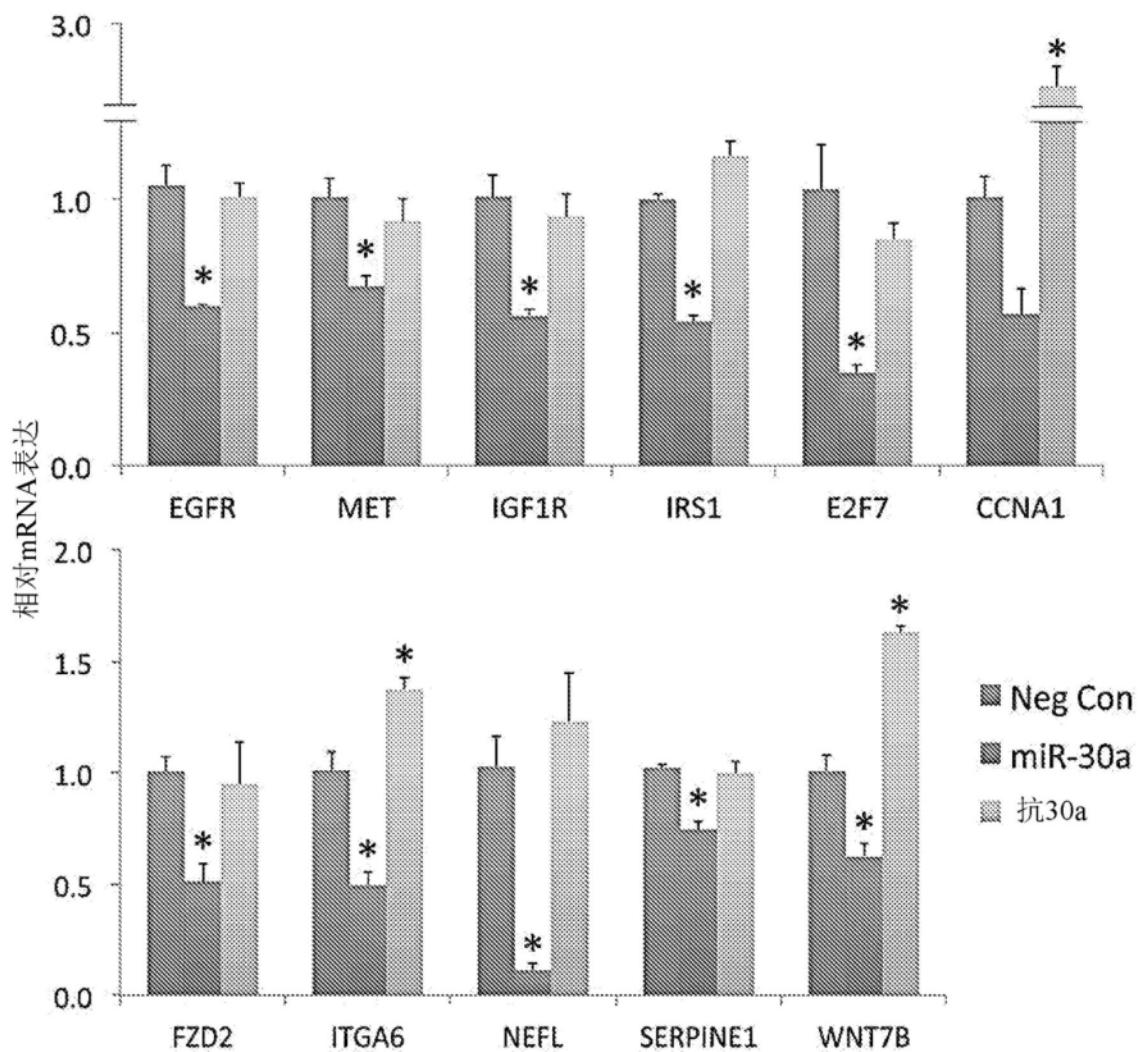


图5

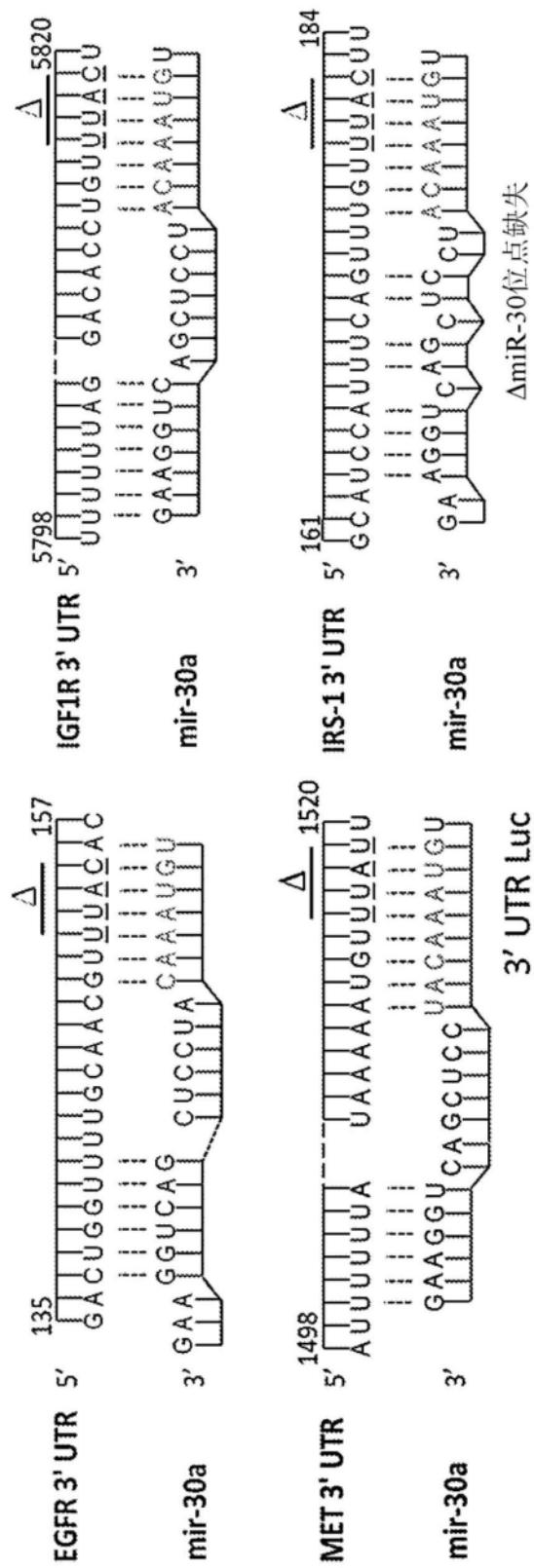


图6A

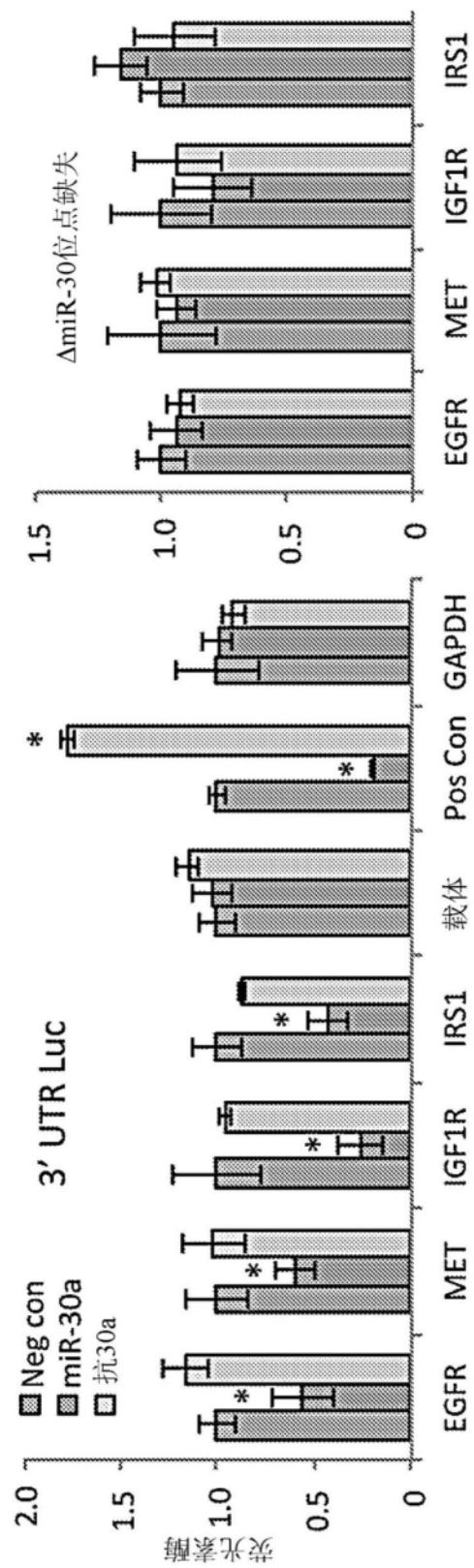


图6B

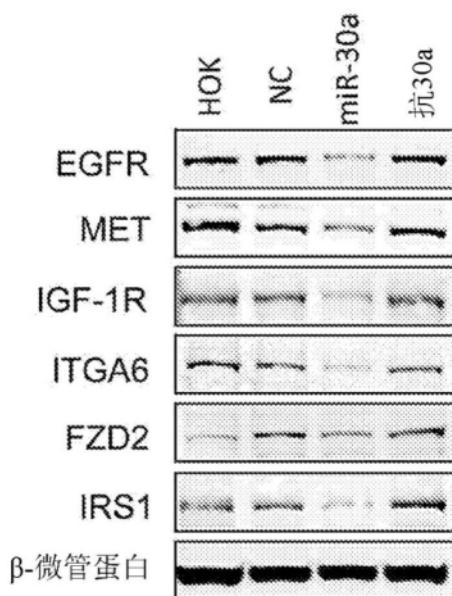


图6C

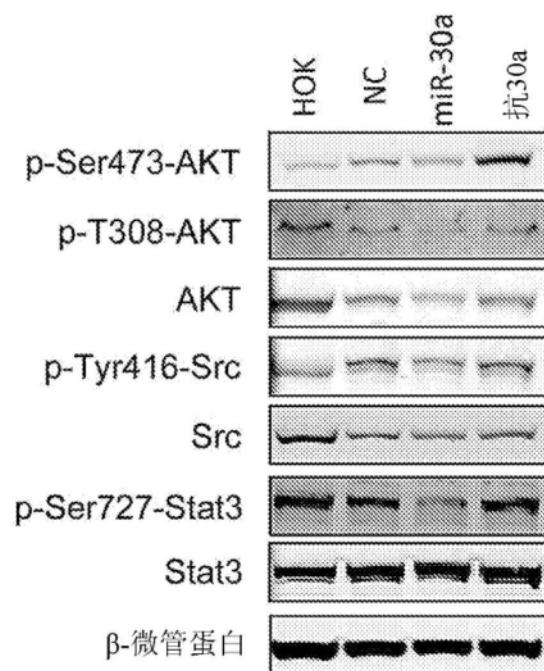


图6D

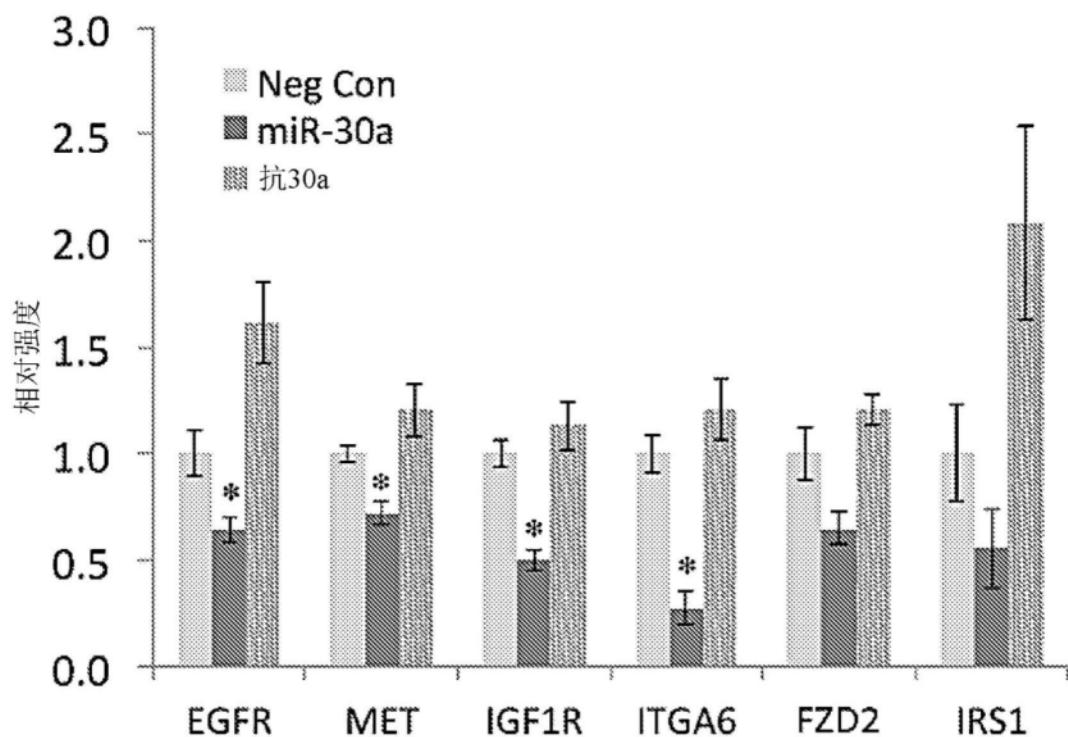


图6E

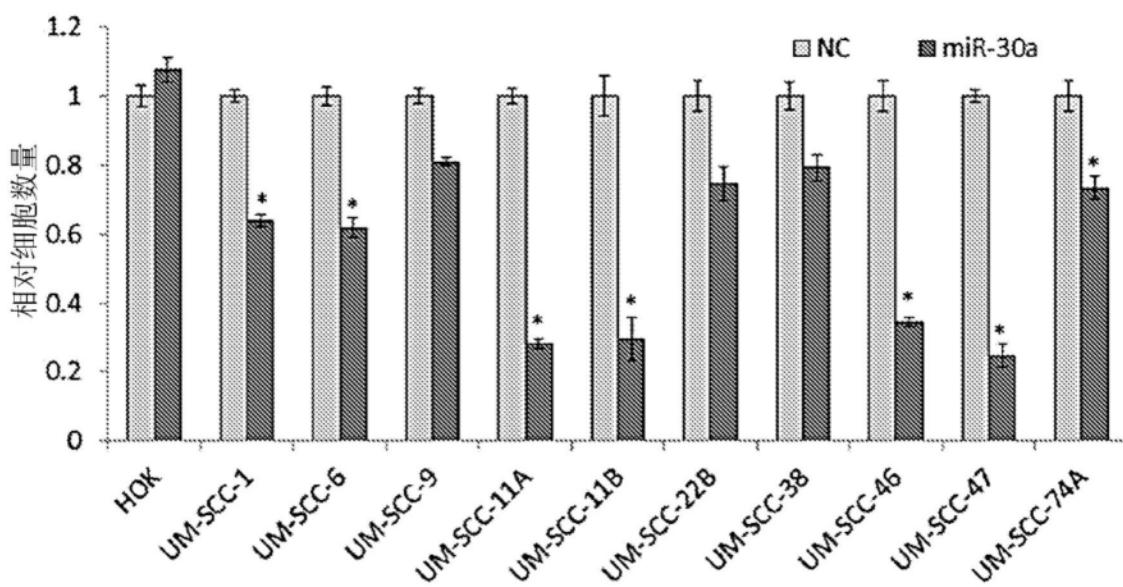


图7A

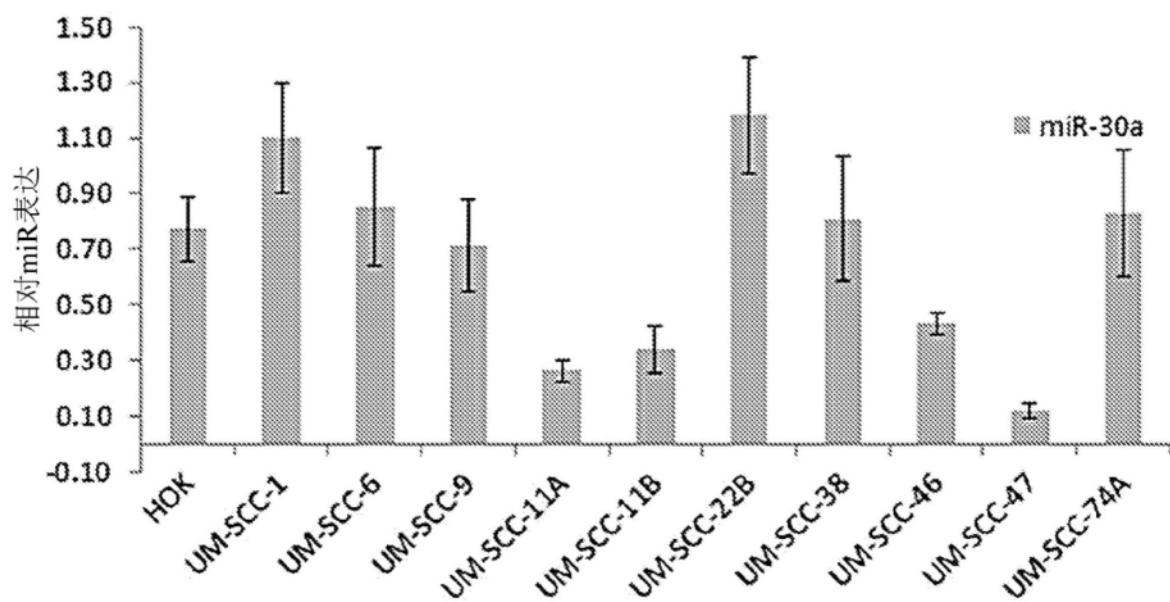


图7B

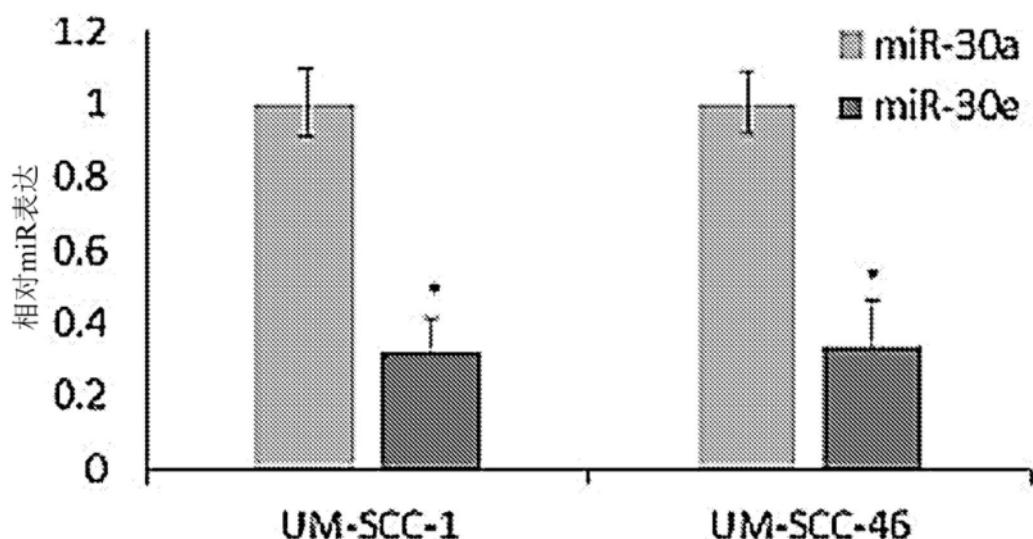


图7C

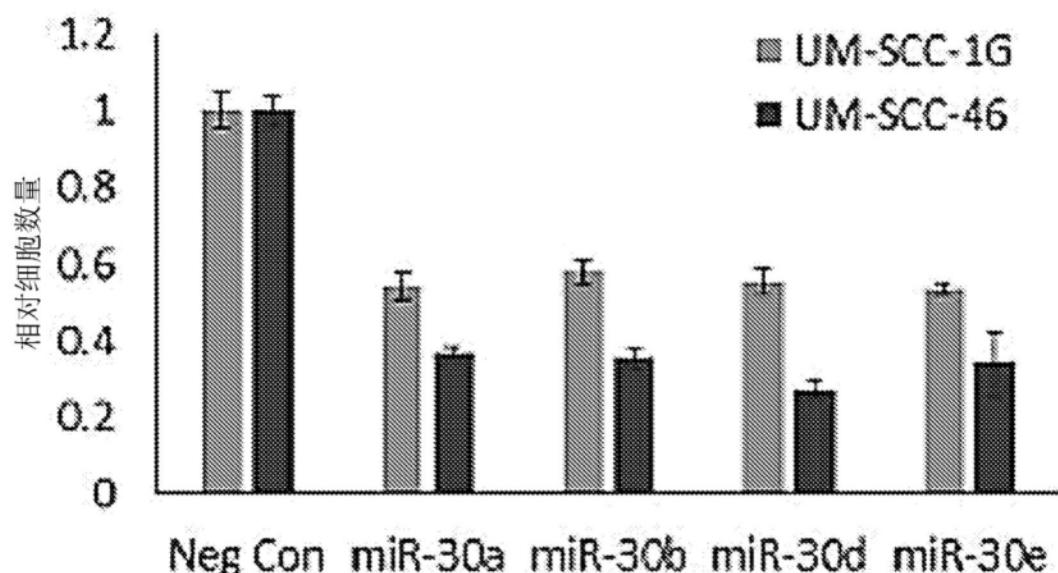


图7D

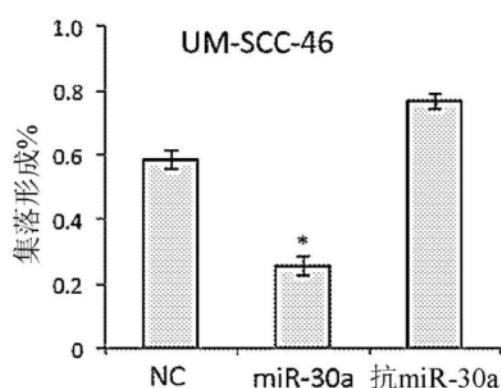


图7E

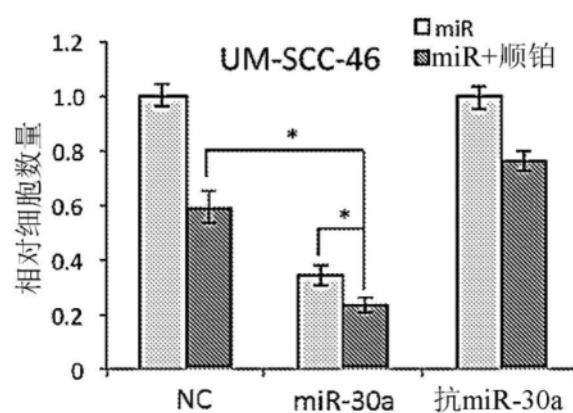


图7F

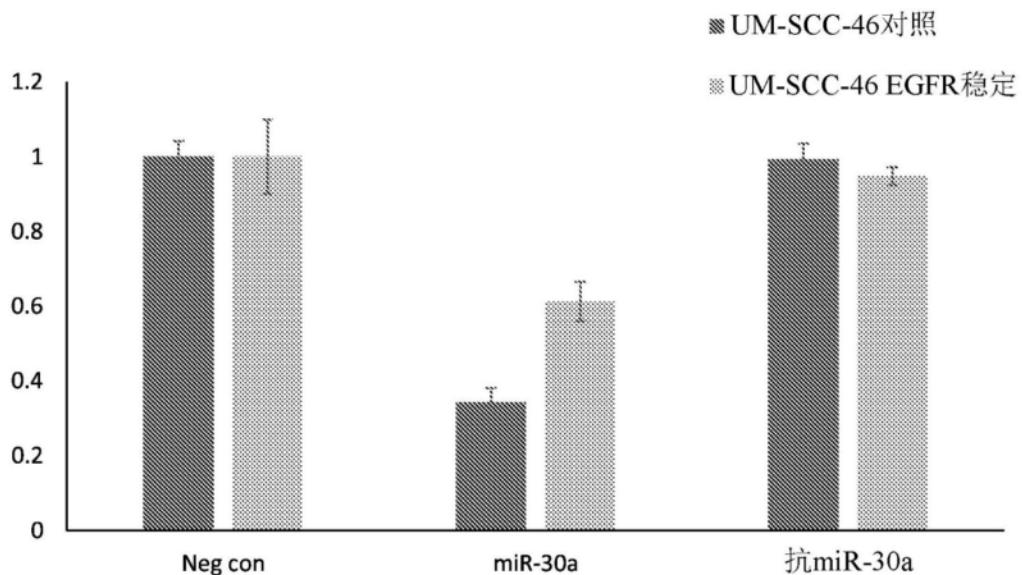


图7G

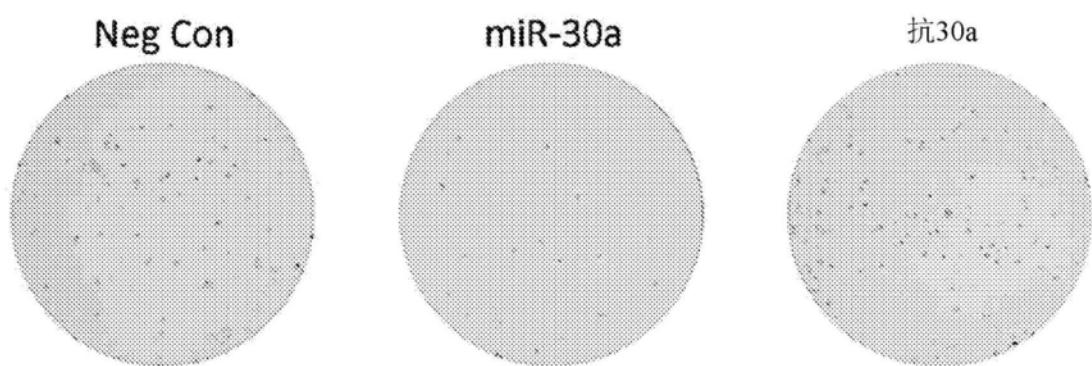


图7H

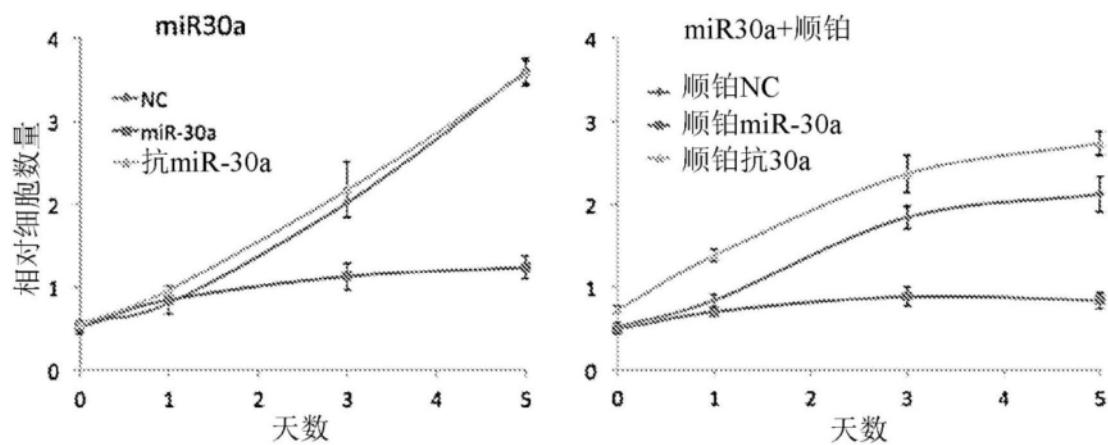


图7I

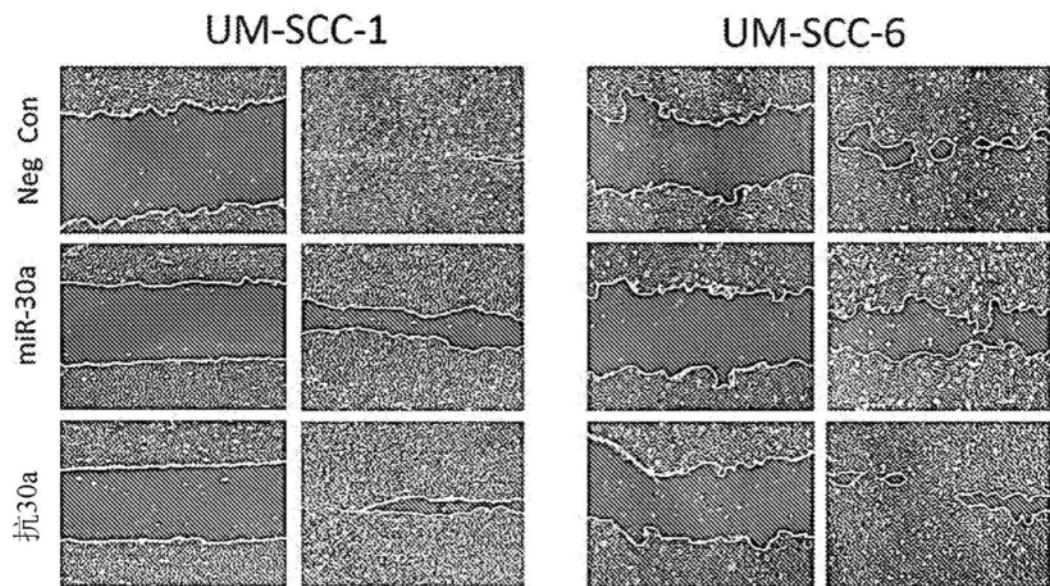


图8A

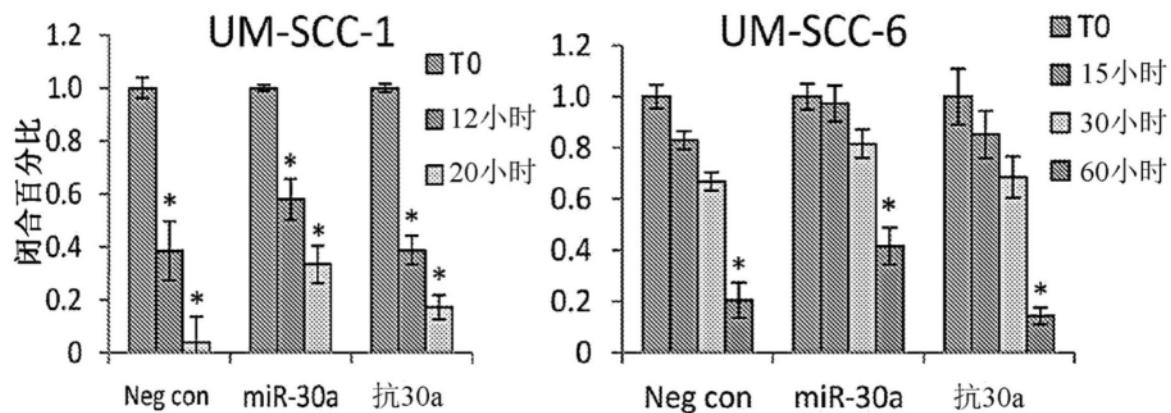


图8B

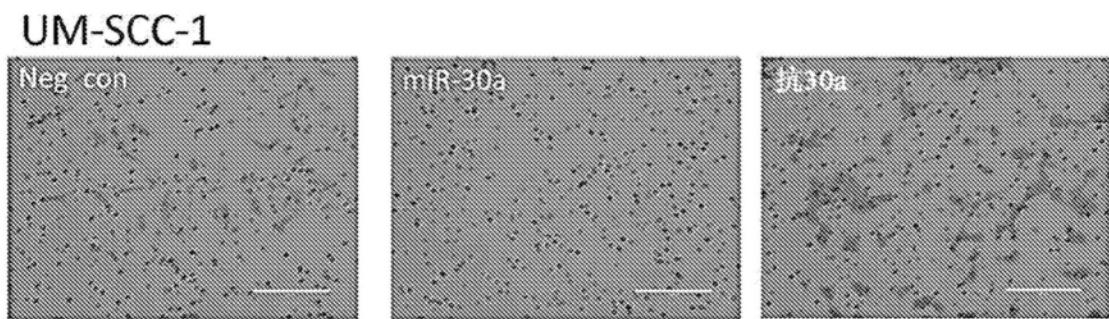


图8C

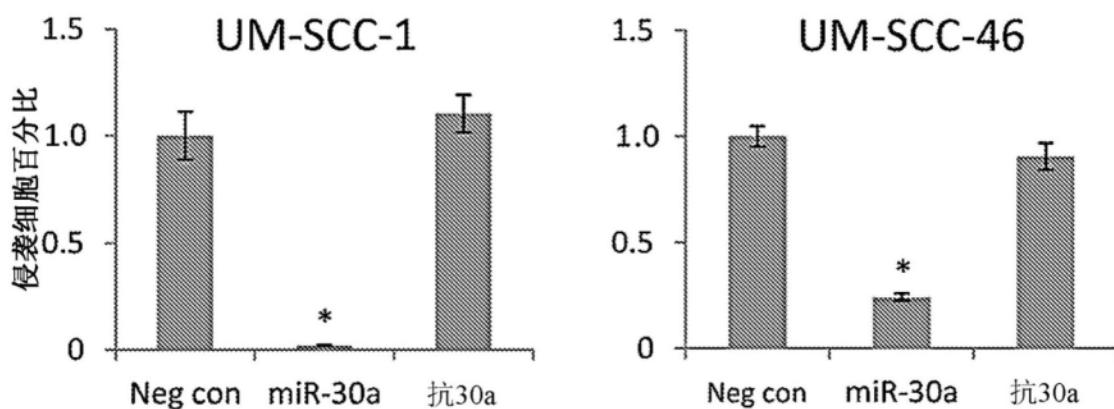


图8D

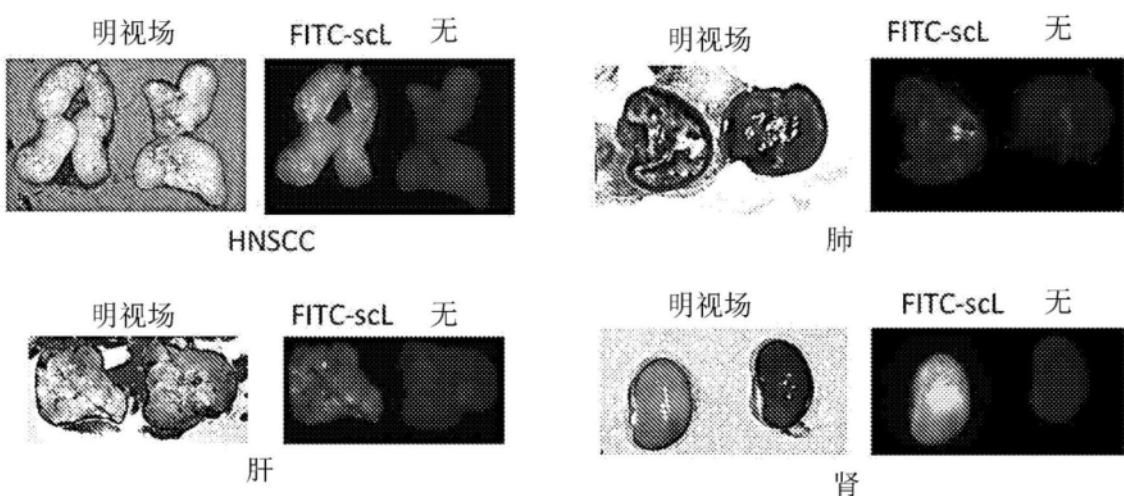


图9A

UM-SCC-46

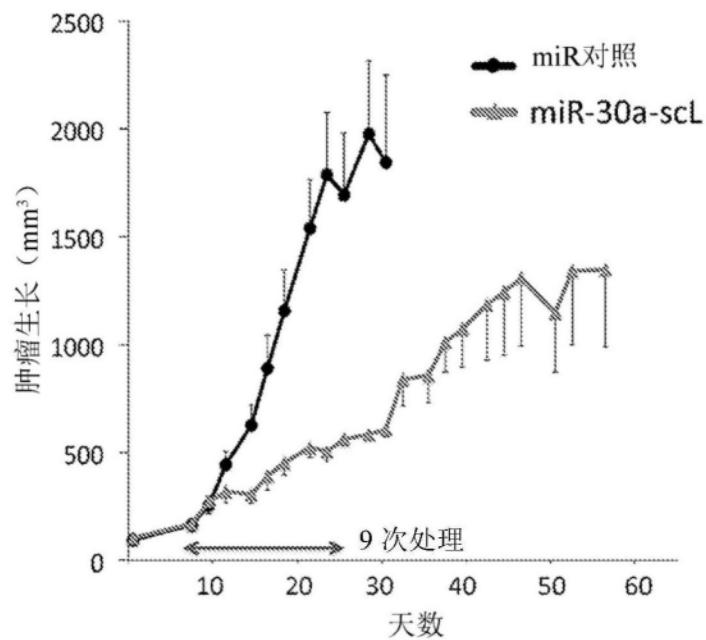


图9B

miR对照

miR-30-scl

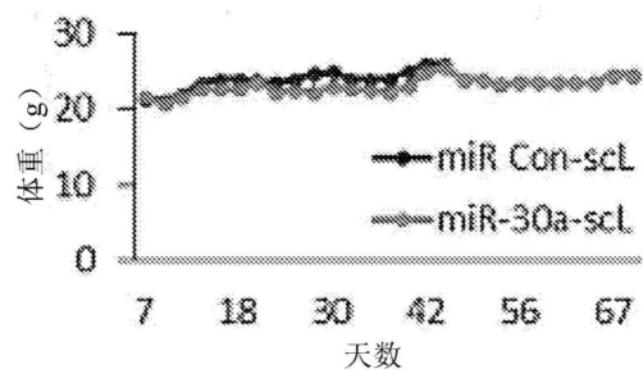
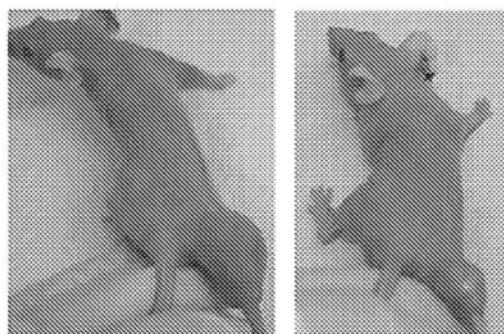


图9C

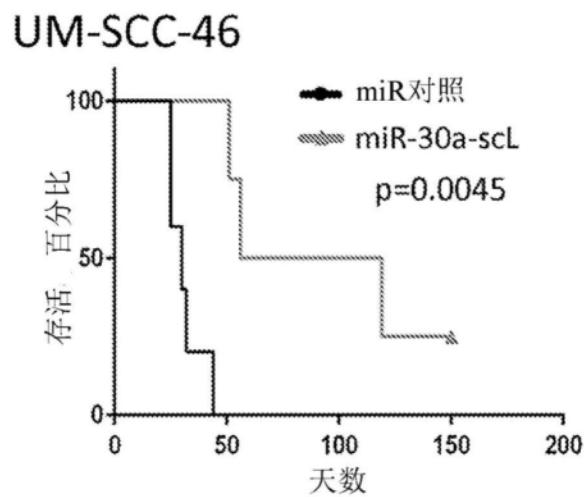


图9D

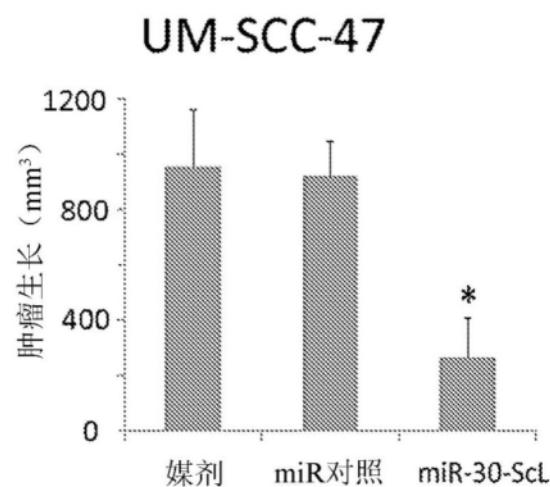


图9E

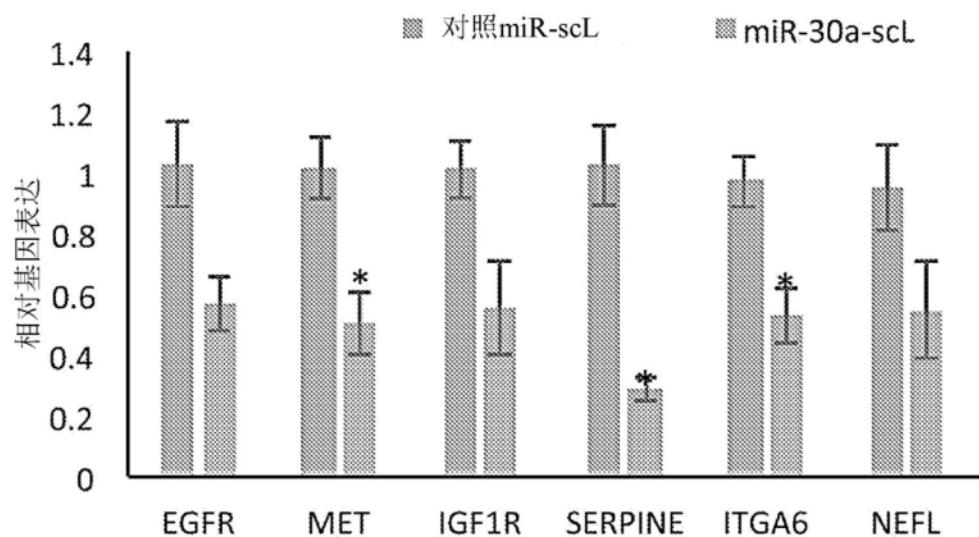


图10A

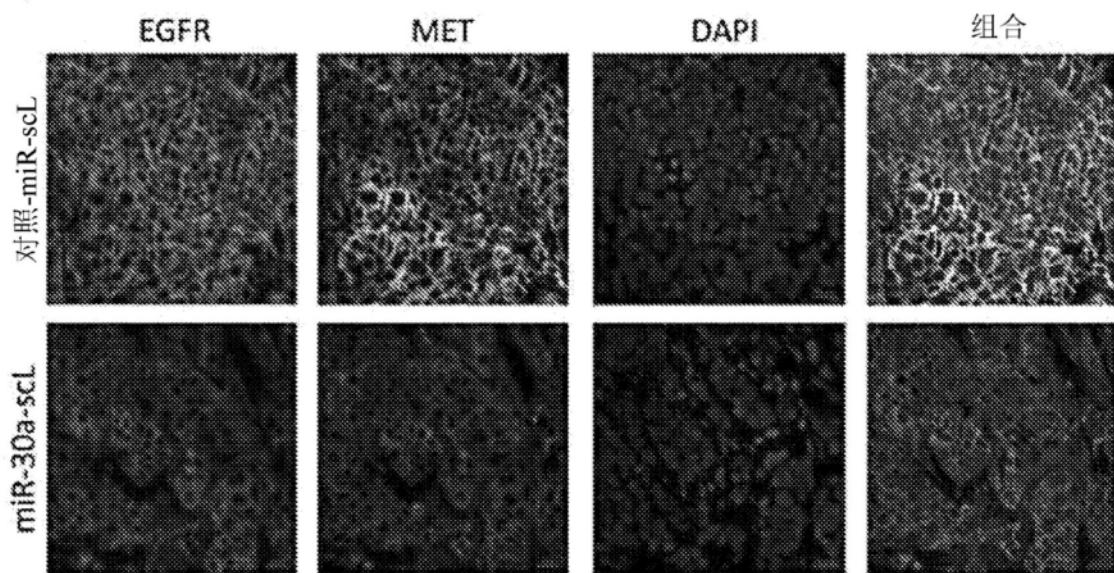


图10B

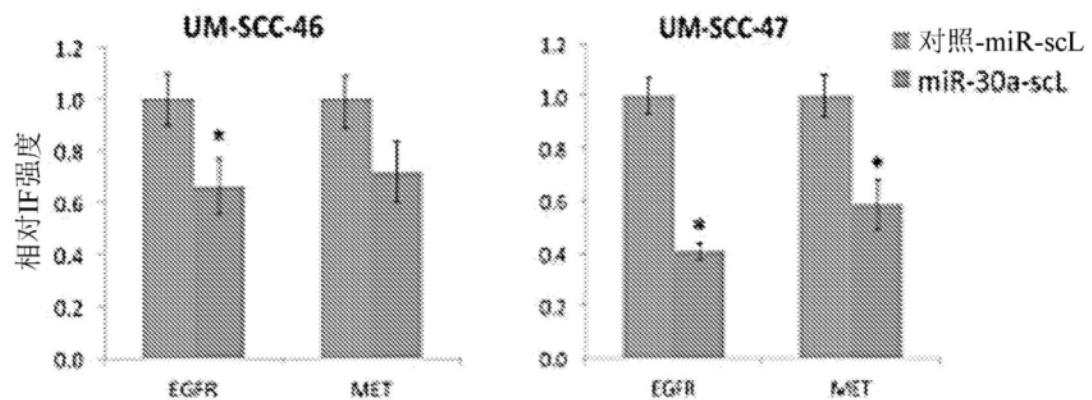


图10C

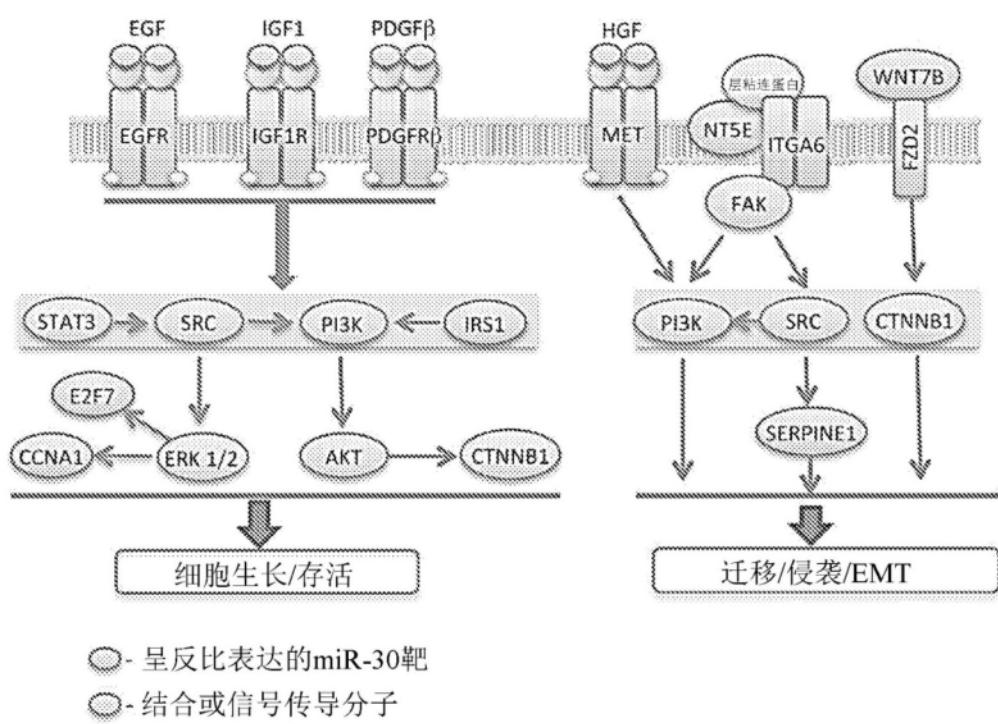


图10D

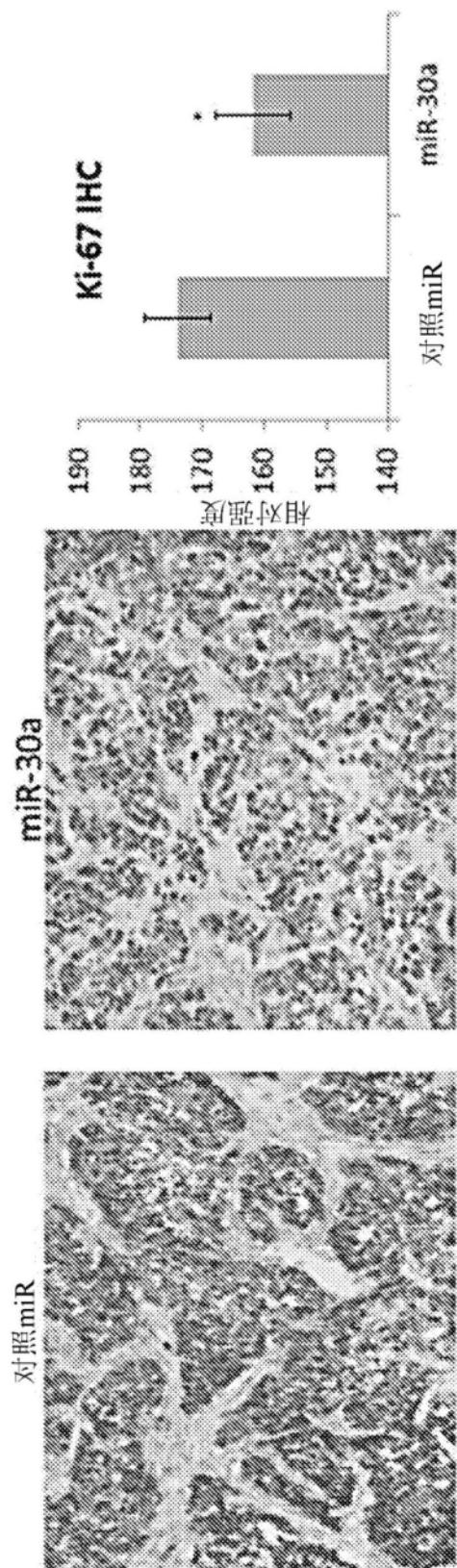


图10E

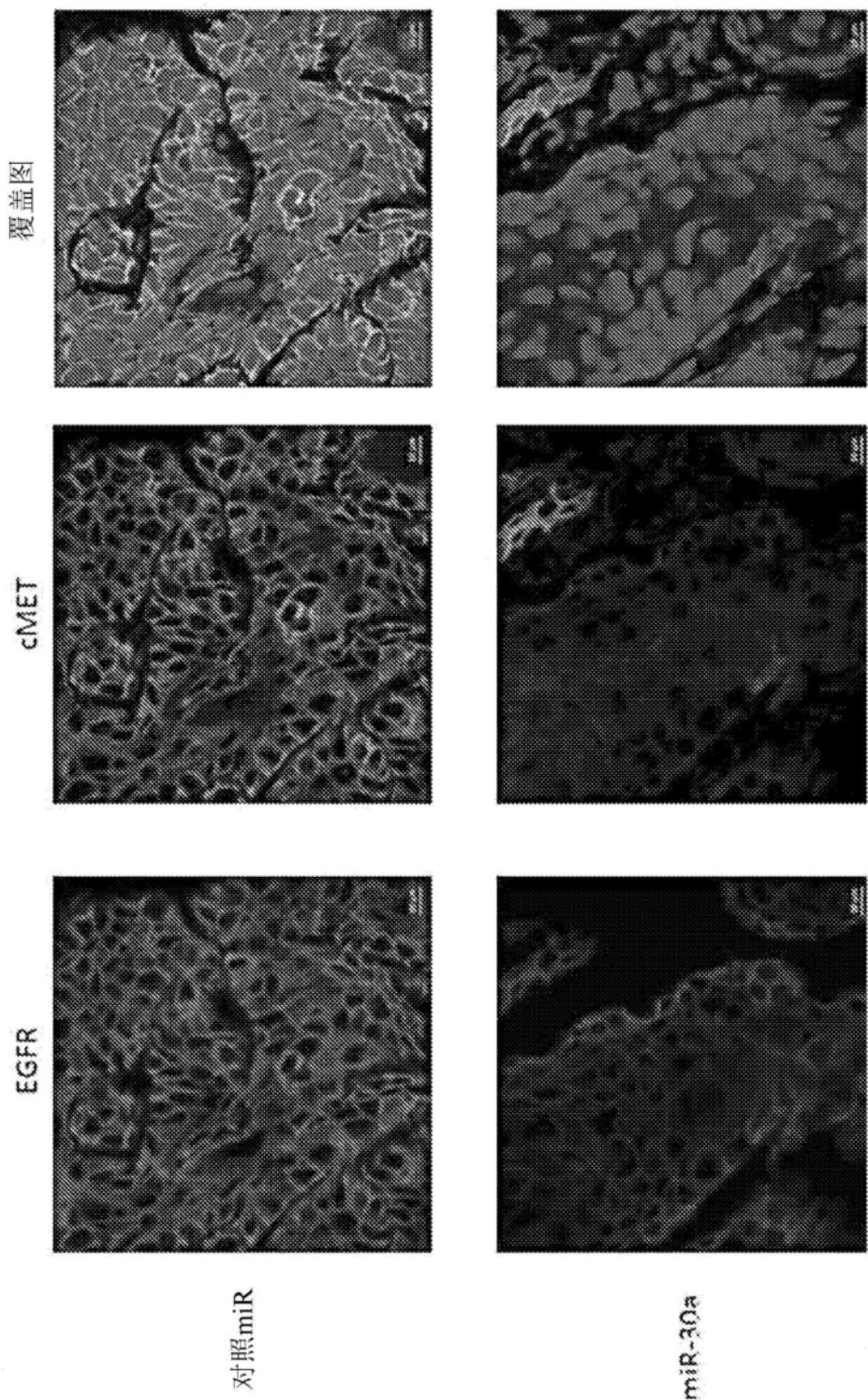


图10F

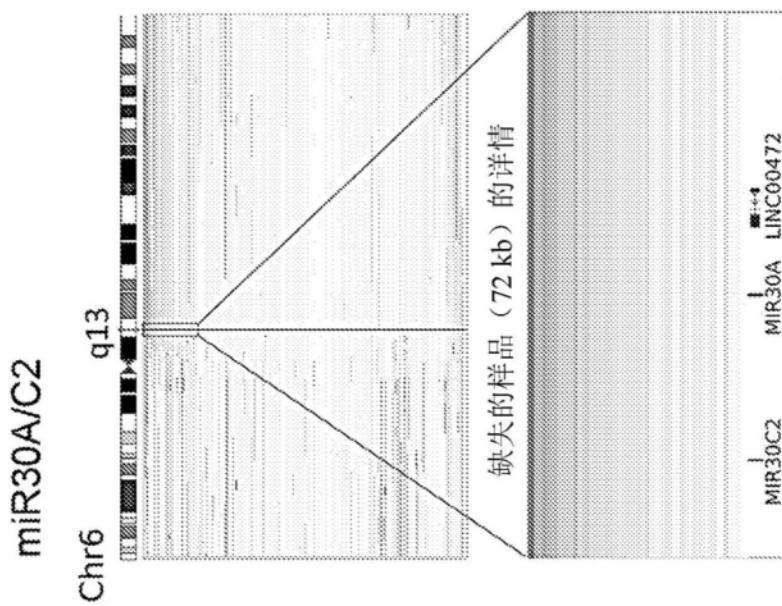


图11A

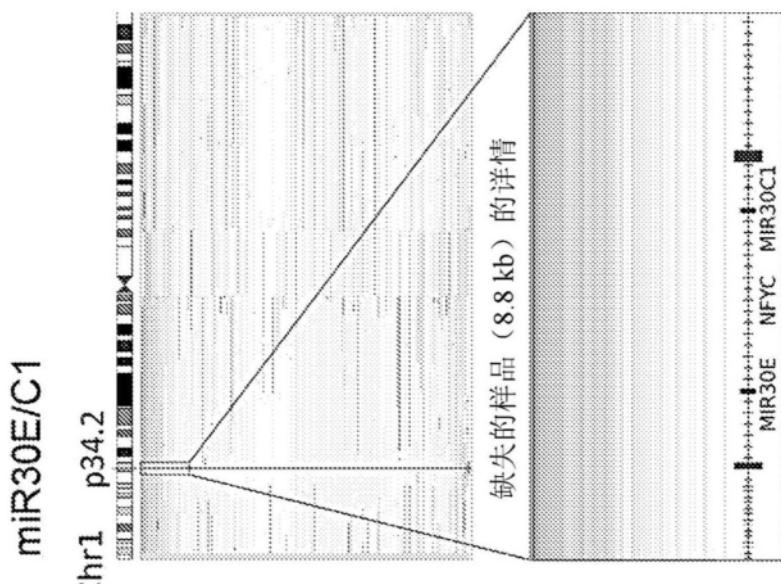


图11B

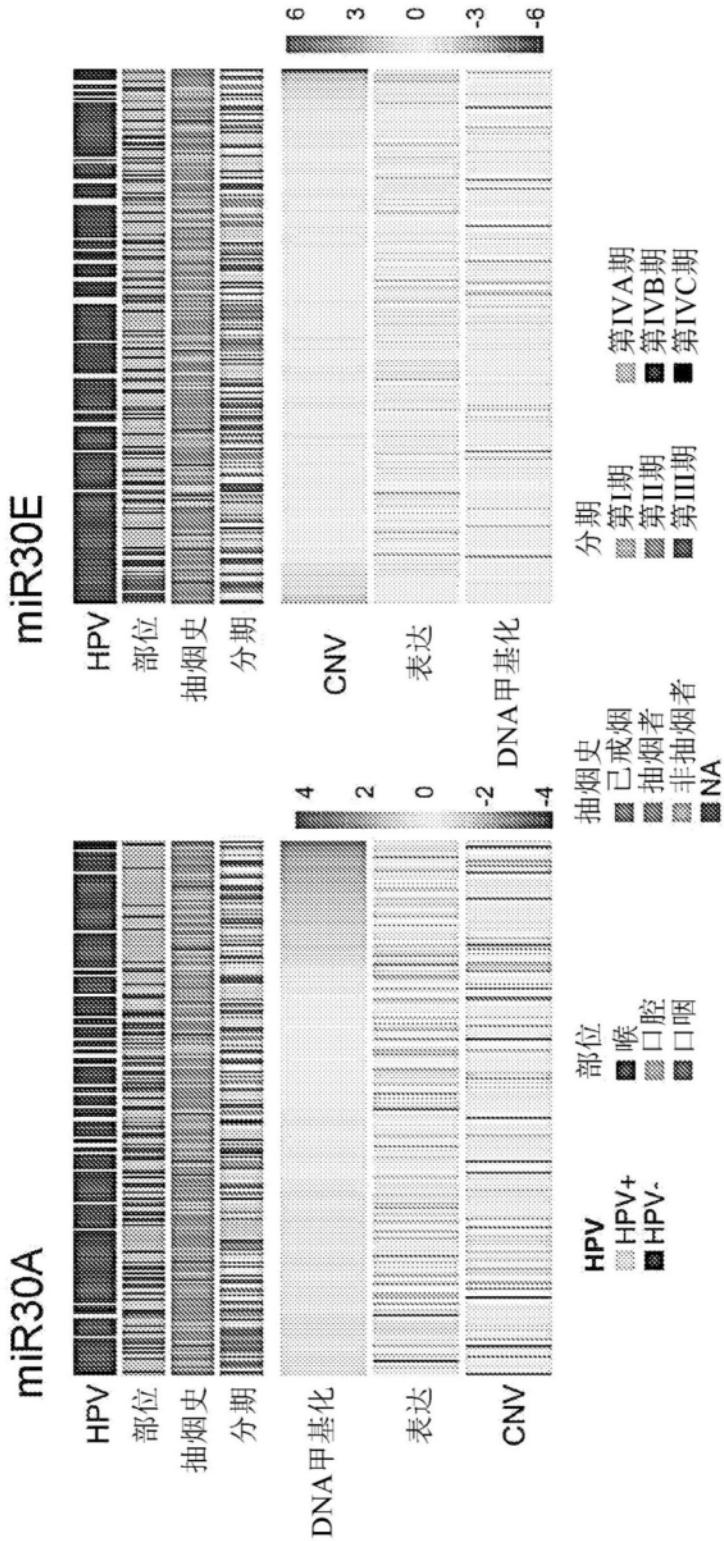


图 11C

图 11D

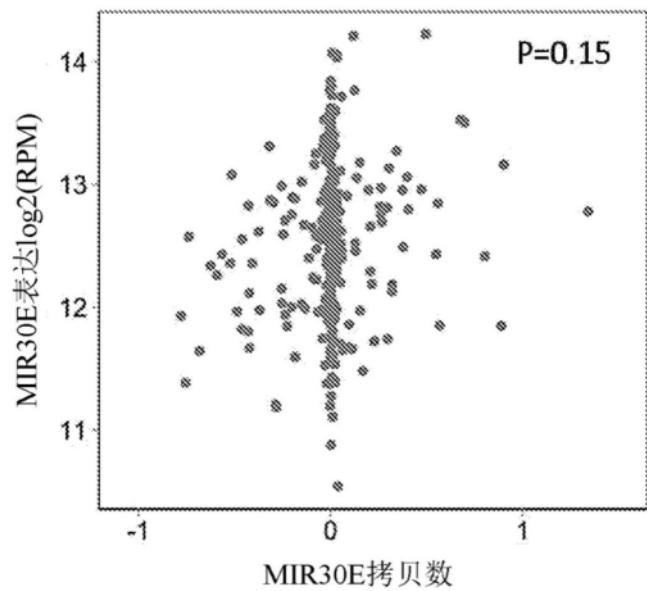


图11E

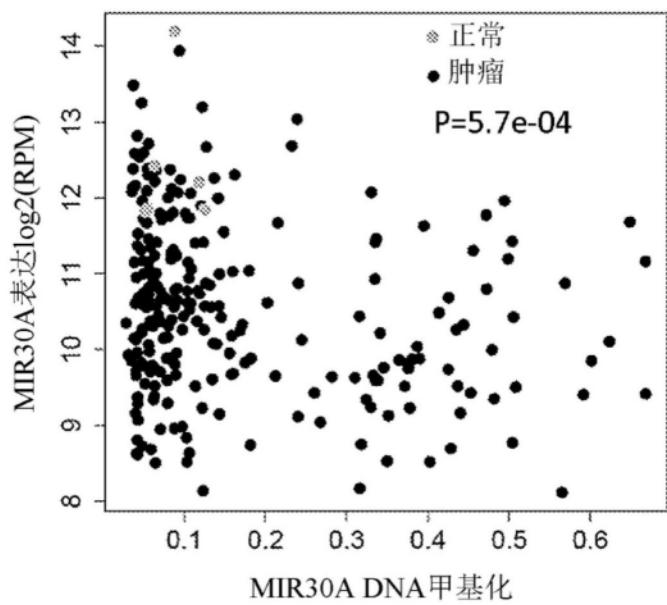


图11F

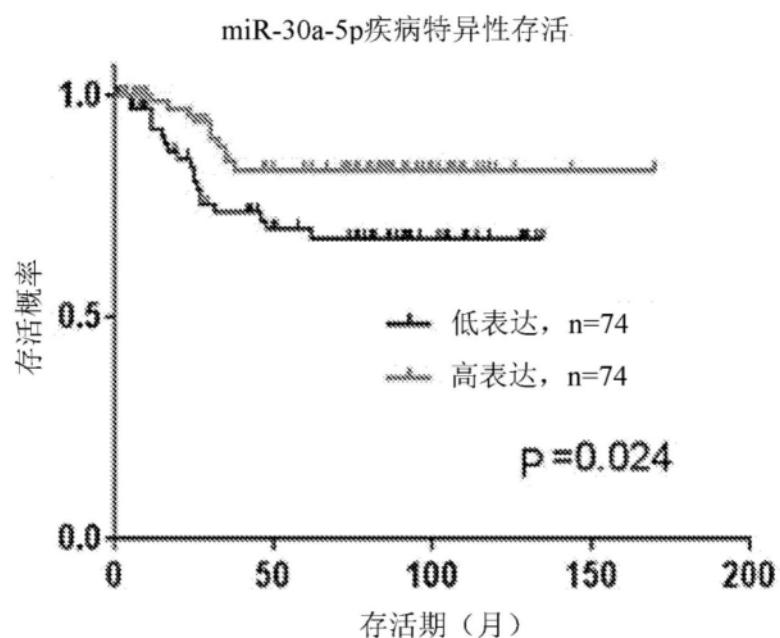


图11G

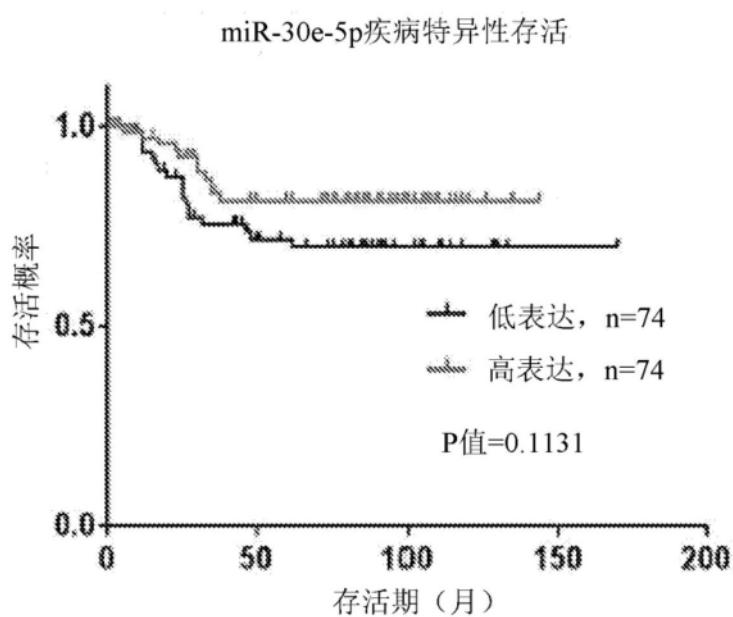


图11H

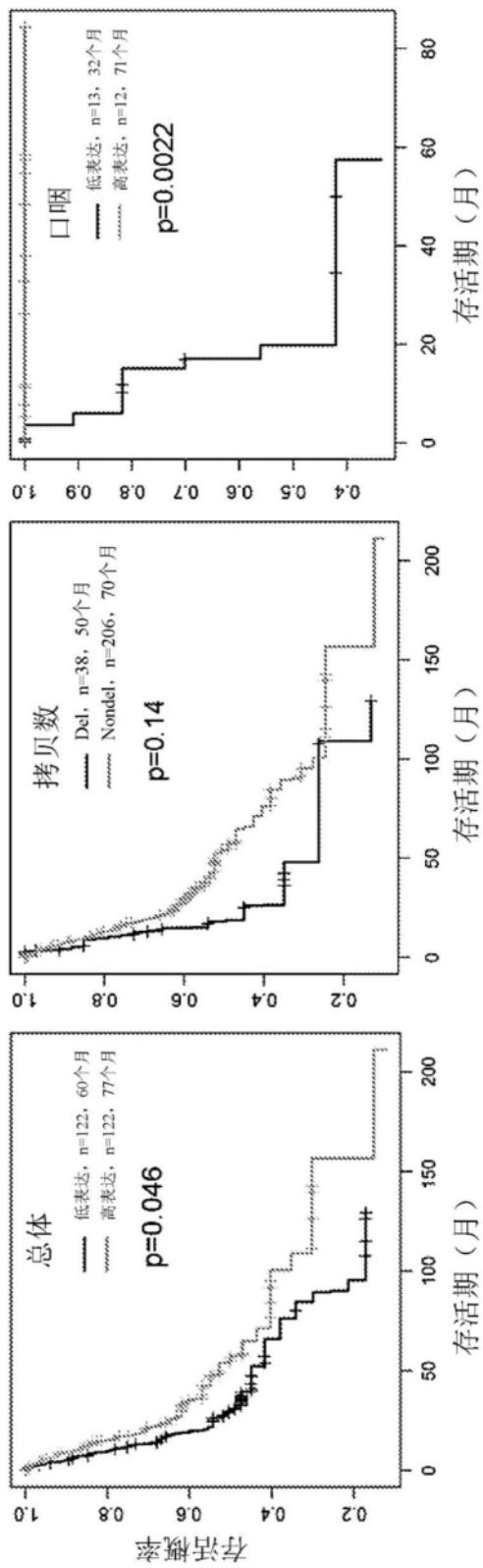


图12A

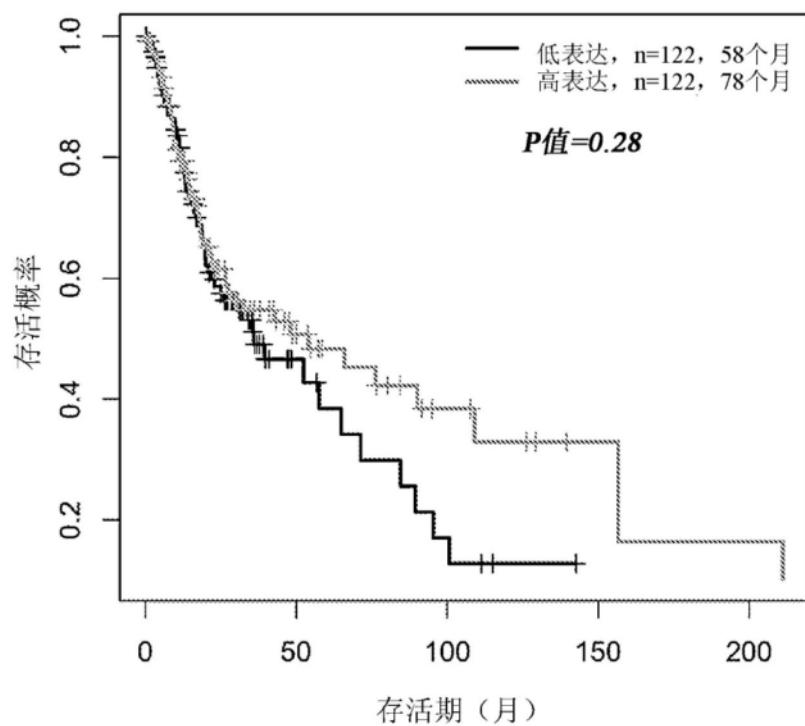
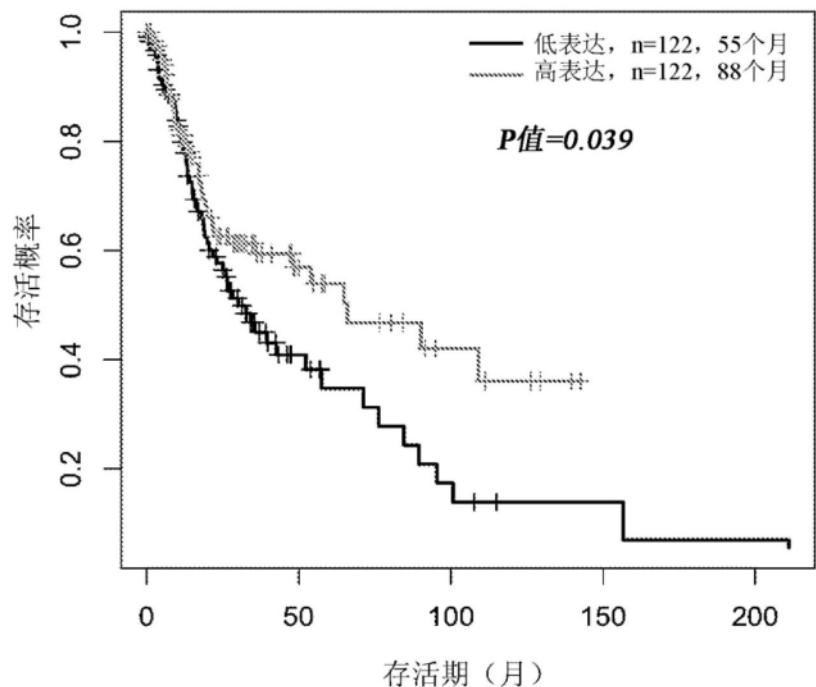


图12B

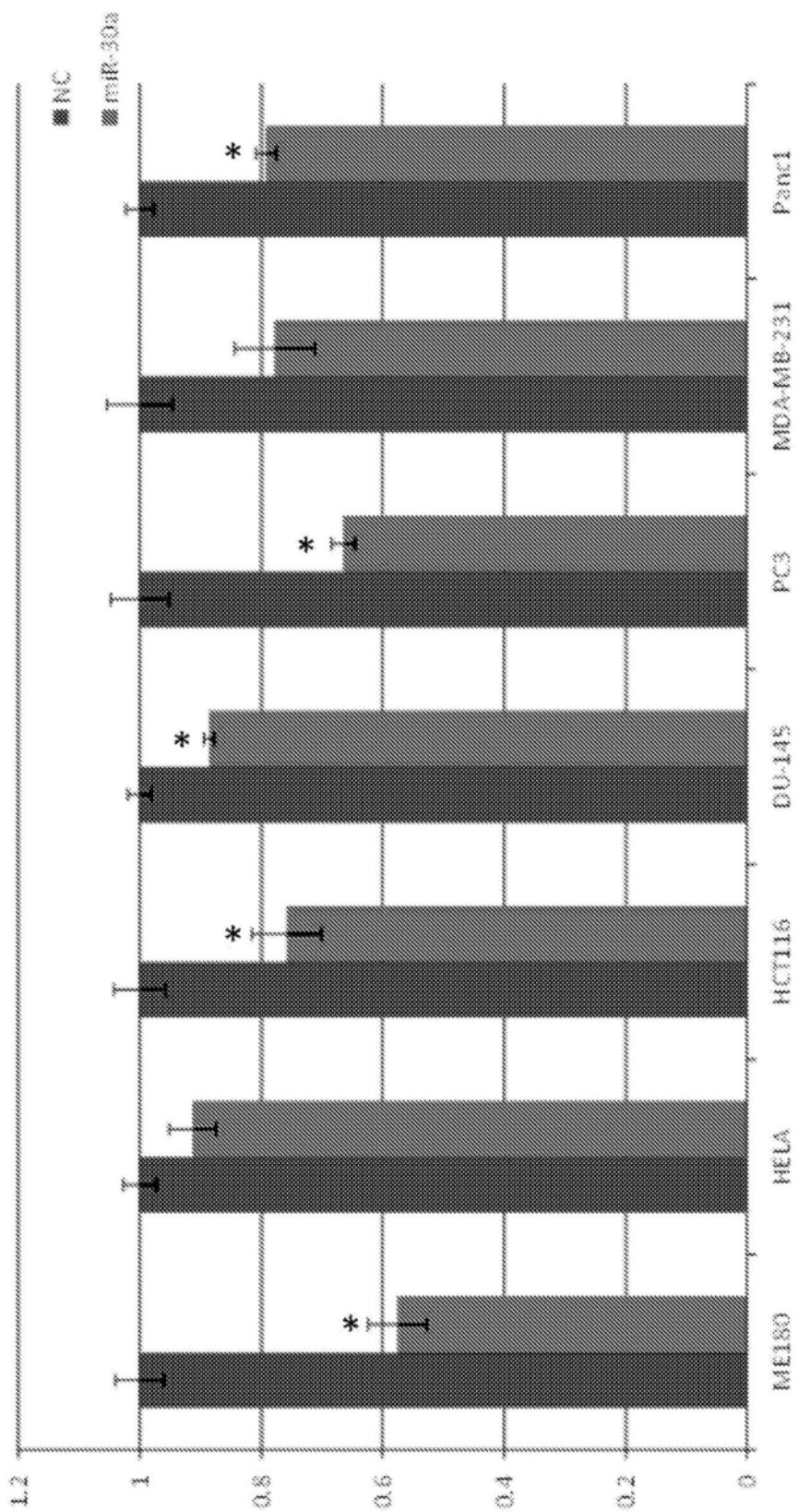


图13

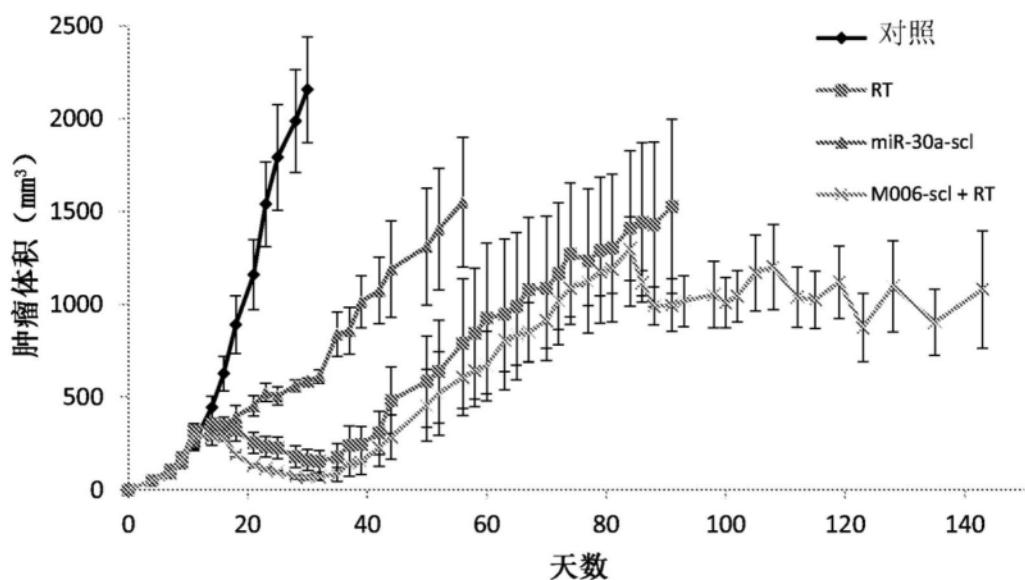


图14A

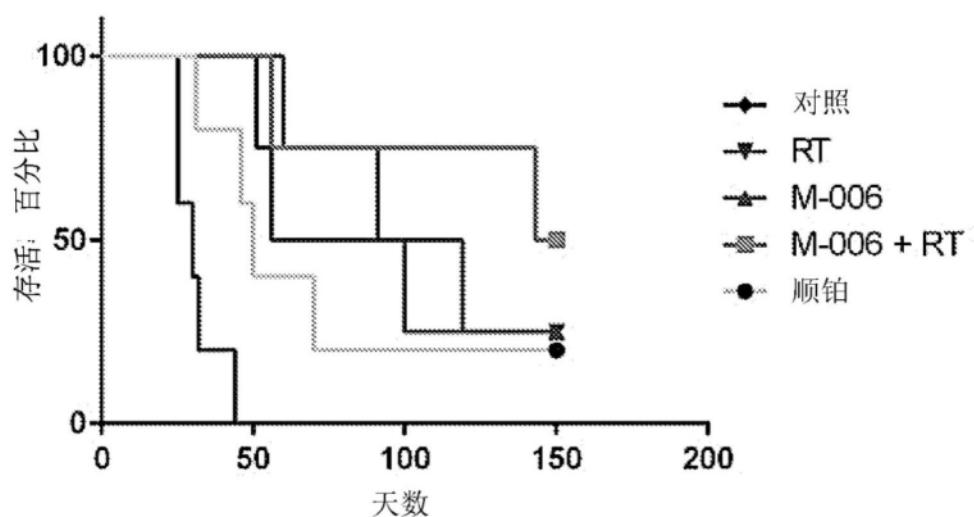


图14B

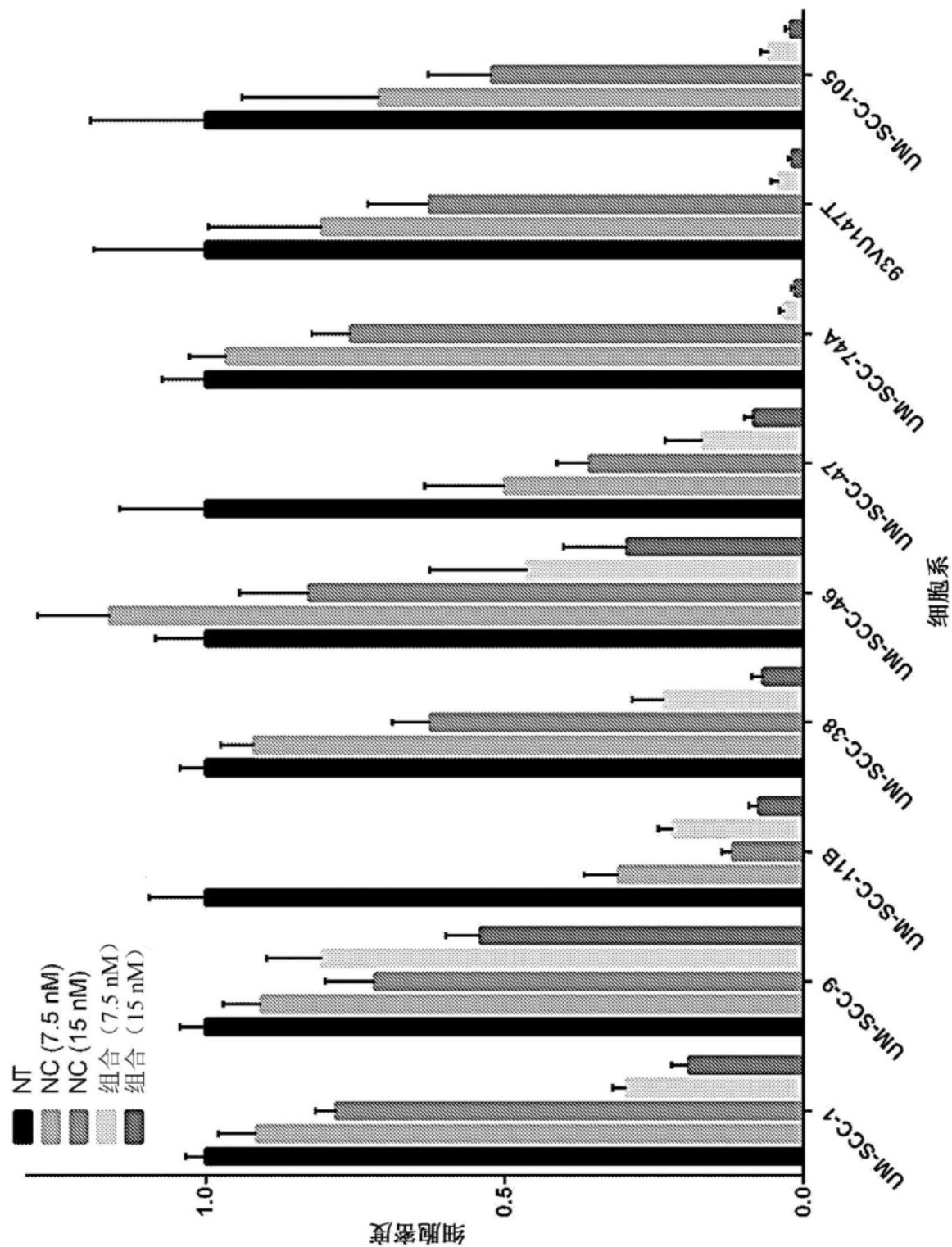


图15

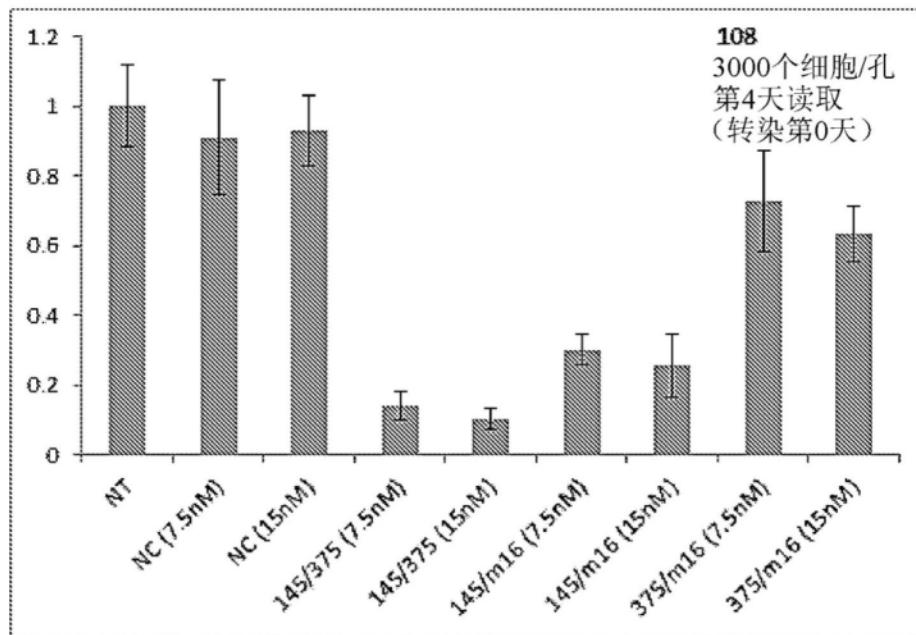
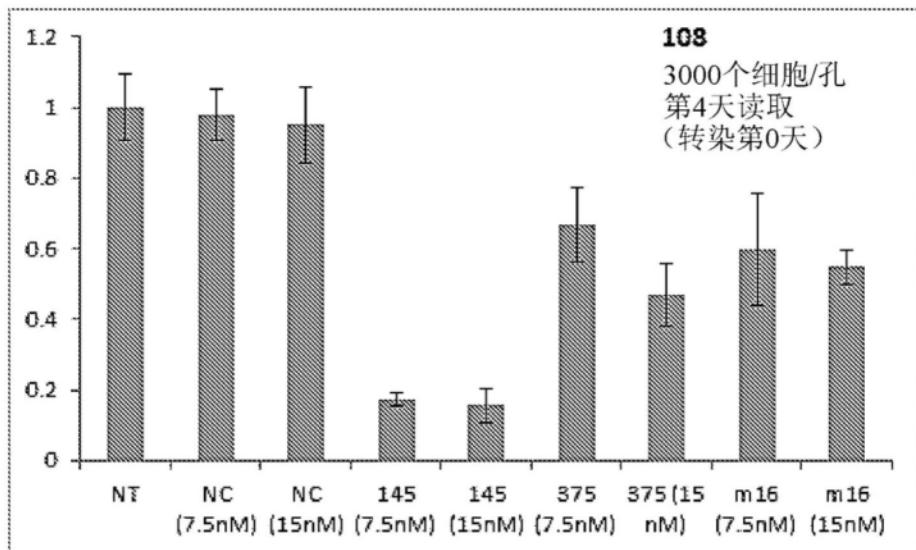


图16A

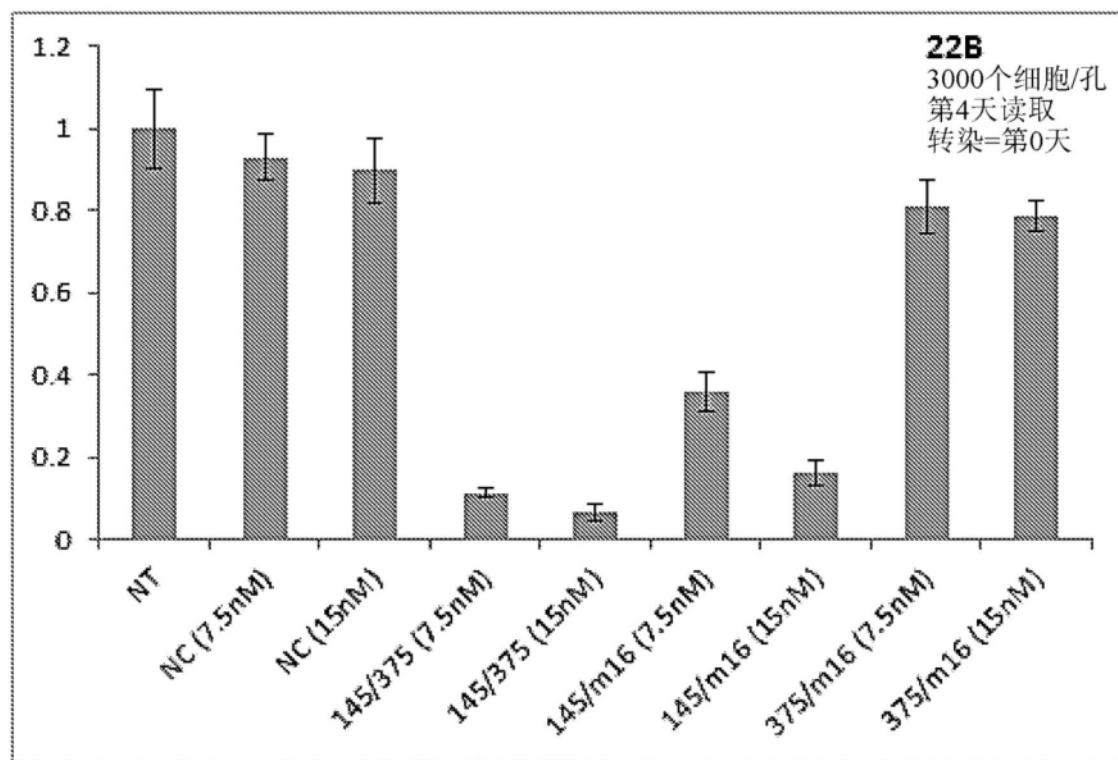
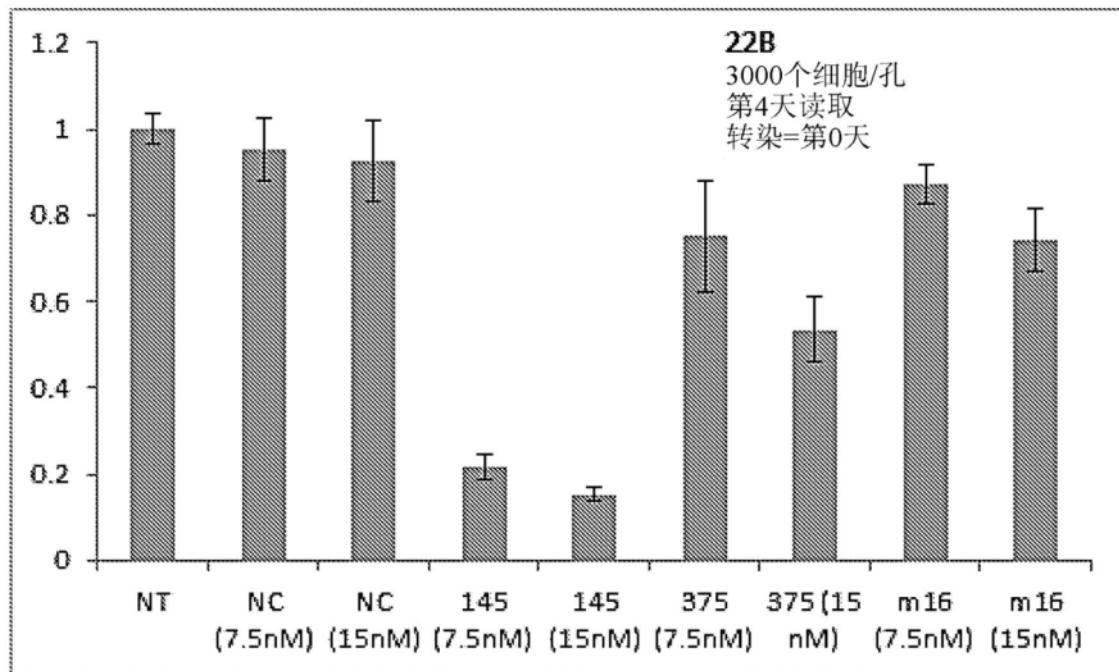


图16B

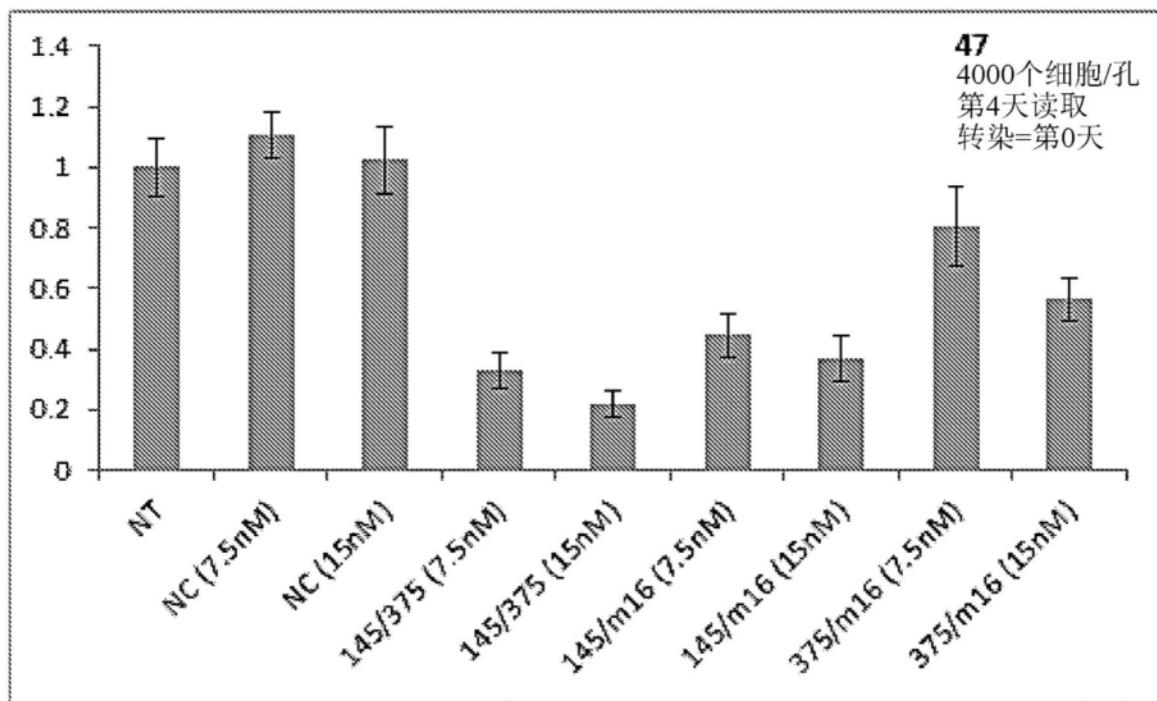
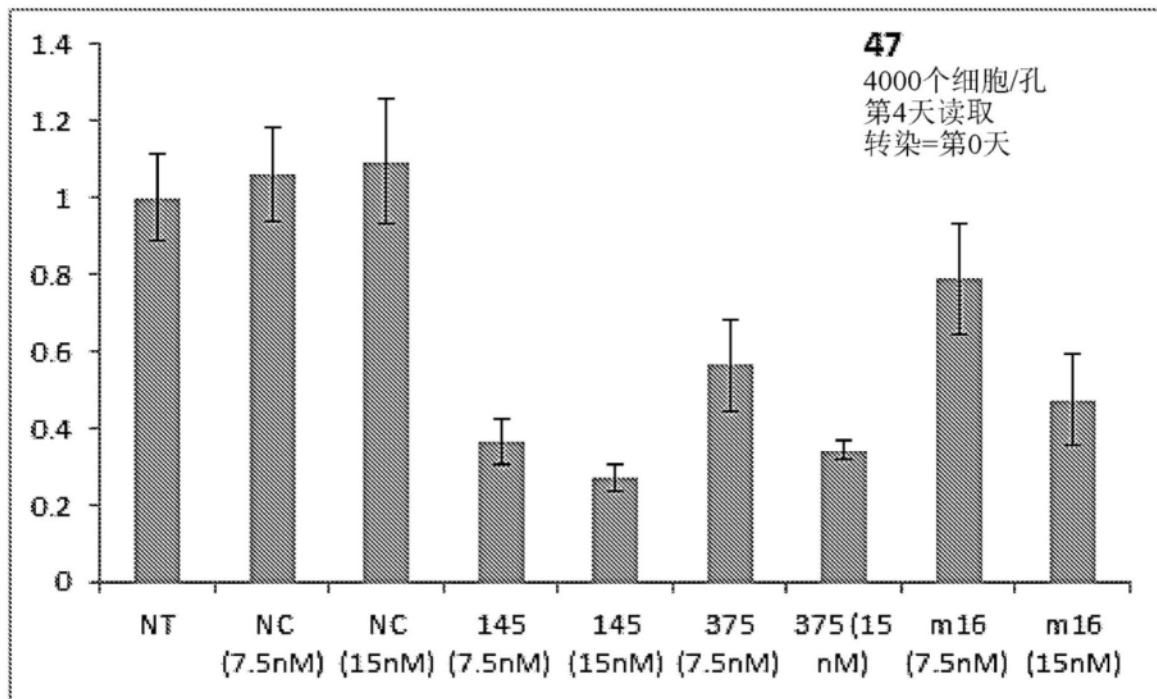


图16C

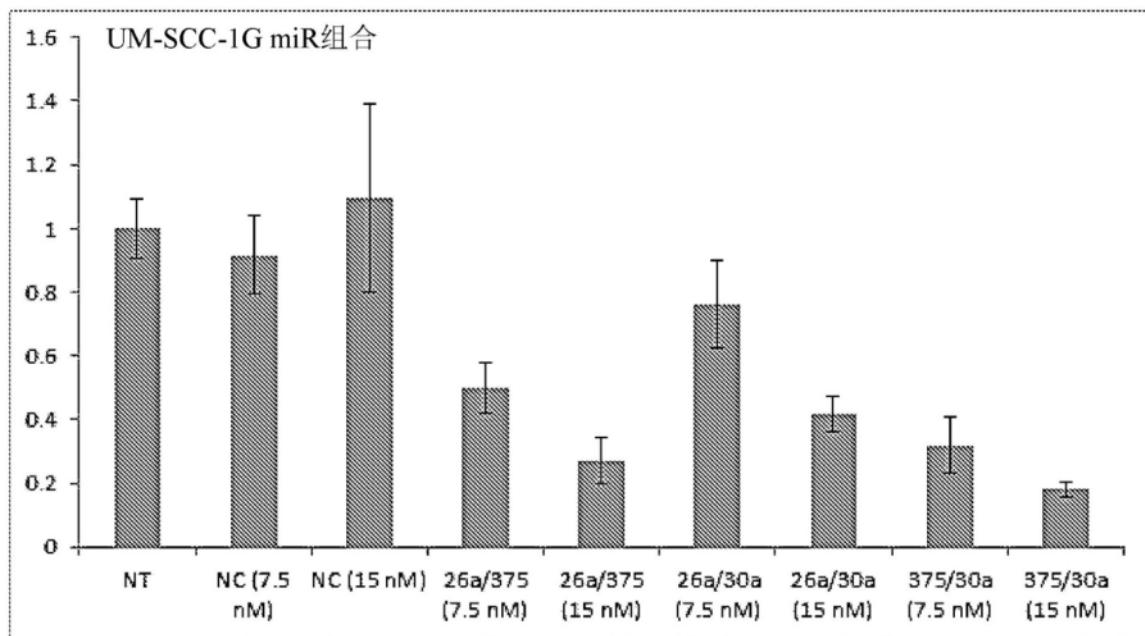
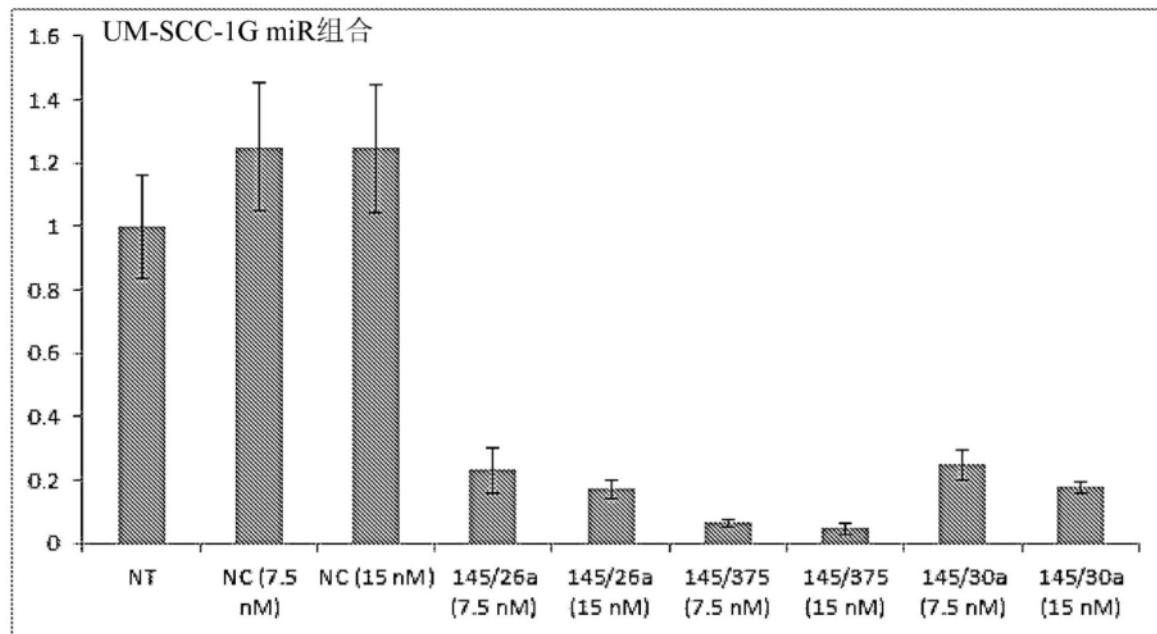


图16D

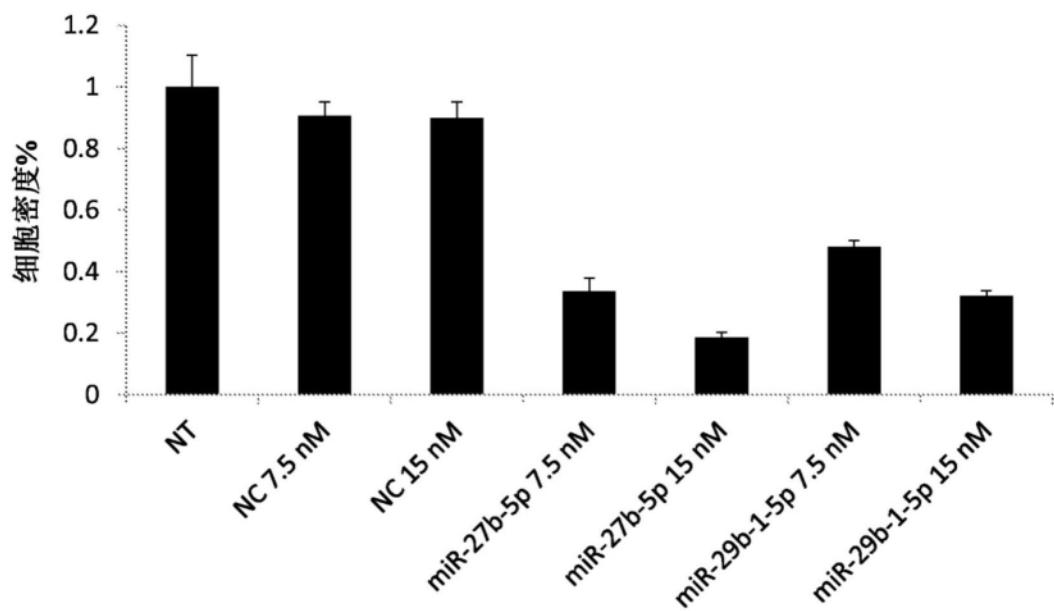


图17A

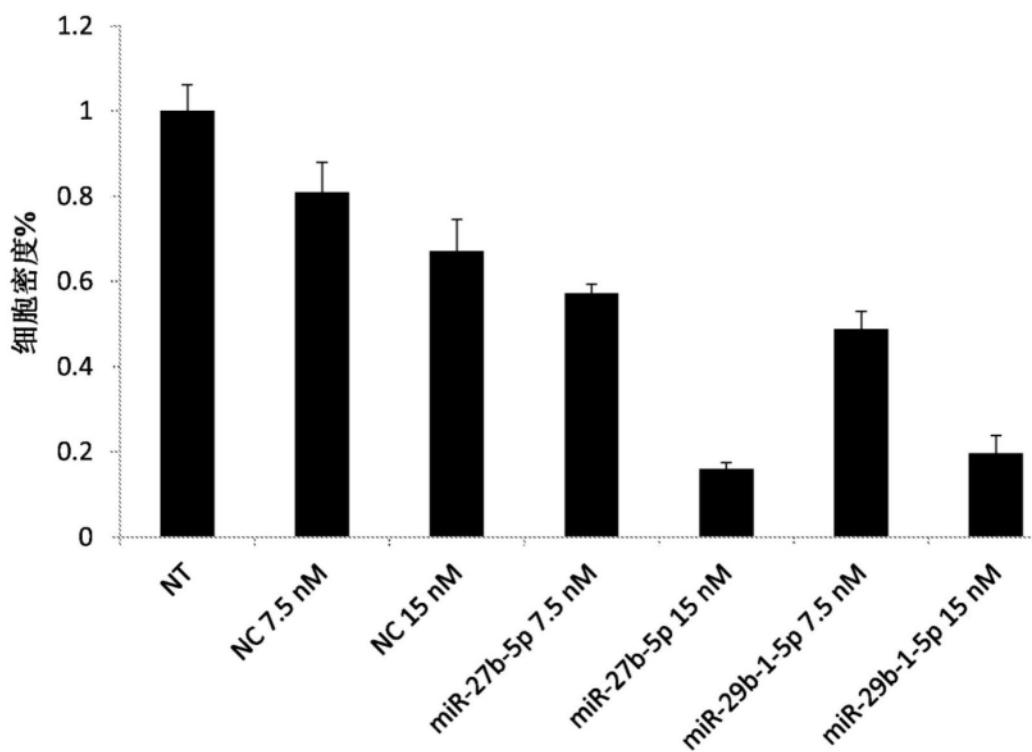


图17B

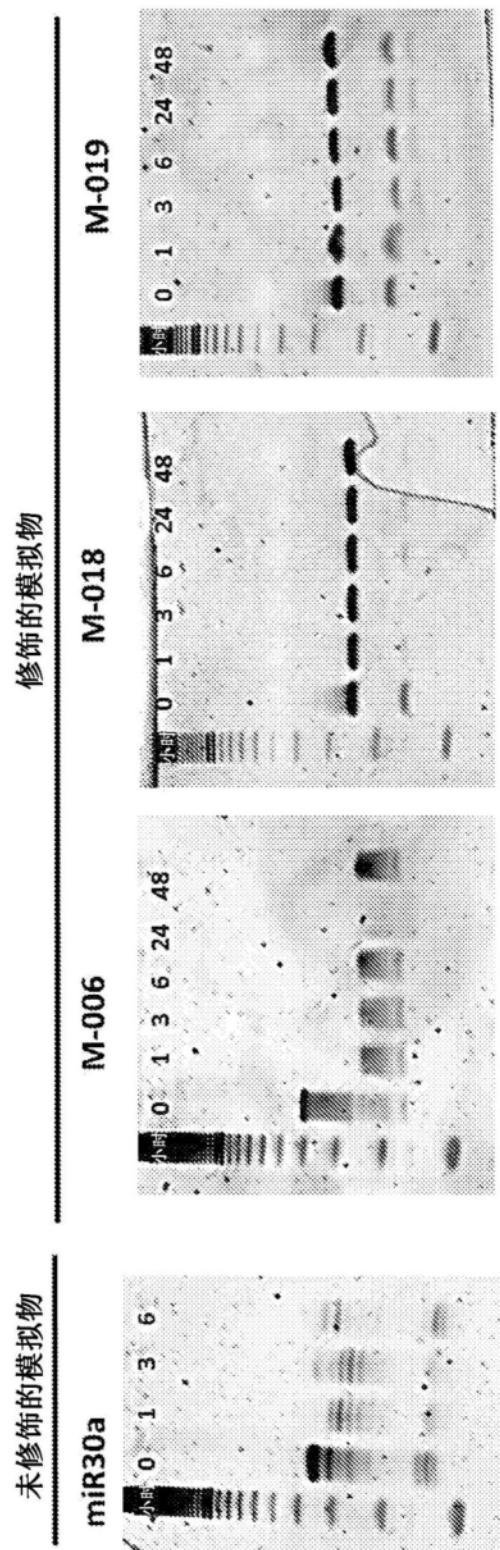


图18

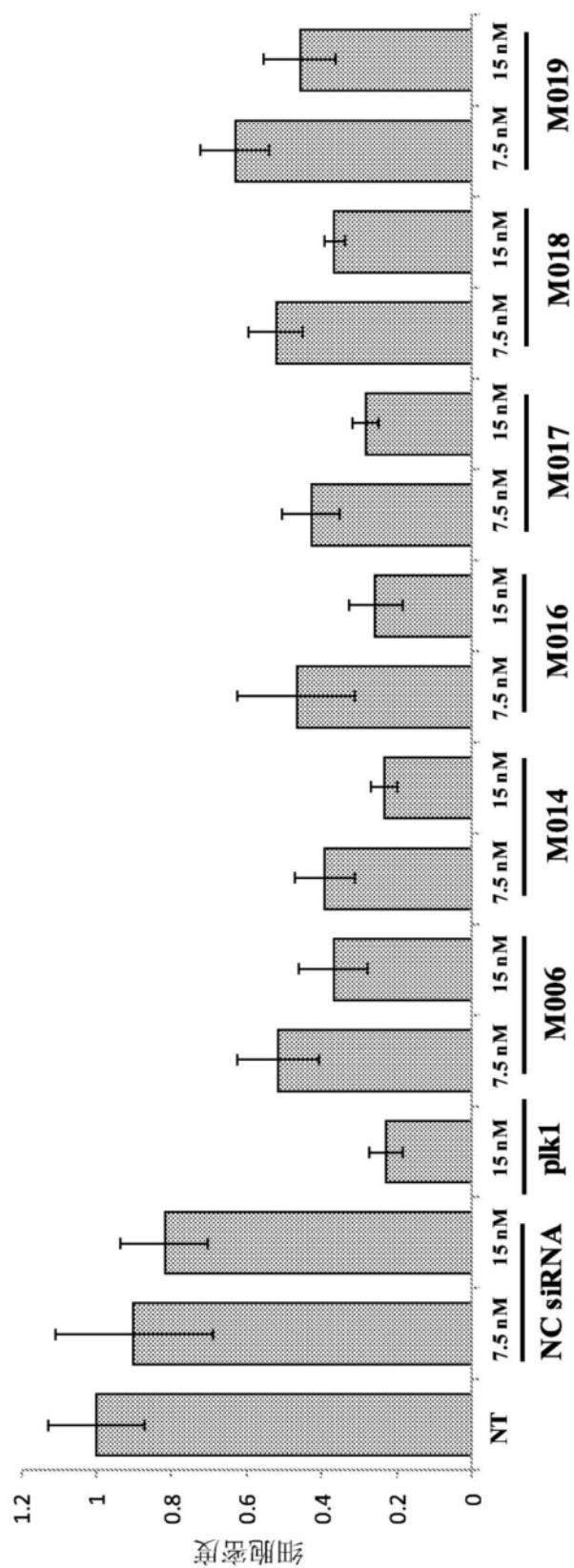


图19