



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I748146 B

(45)公告日：中華民國 110 (2021) 年 12 月 01 日

(21)申請案號：107145790

(22)申請日：中華民國 107 (2018) 年 12 月 19 日

(51)Int. Cl. : C12Q1/686 (2018.01)

C12Q1/6869 (2018.01)

G01N33/574 (2006.01)

(71)申請人：高雄醫學大學(中華民國) KAOHSIUNG MEDICAL UNIVERSITY (TW)

高雄市三民區十全一路 100 號

(72)發明人：余明隆 YU, MING LUNG (TW)；王述綺 WANG, SHU CHI (TW)；戴嘉言 DAI, CHIA-YEN (TW)；莊萬龍 CHUANG, WAN LUNG (TW)

(74)代理人：林文杰

(56)參考文獻：

MA X et al., "DANCR Acts as a Diagnostic Biomarker and Promotes Tumor Growth and Metastasis in Hepatocellular Carcinoma", ANTICANCER RESEARCH, vol36, p.6389-6398, 2016

Klingenberg M et al., "Non-coding RNA in hepatocellular carcinoma: Mechanisms, biomarkers and therapeutic targets", Journal of Hepatology, vol. 67, p.603-618, 2017

Zheng H et al., "Alcohol and hepatitis virus-dysregulated lncRNAs as potential biomarkers for hepatocellular carcinoma", Oncotarget, vol.9, no.1, p.224-235, 2017/12/05

Sun L et al., "Serum and exosome long non coding RNAs as potential biomarkers for hepatocellular carcinoma", Journal of Cancer, vol. 9, vol.15, p.2631-2639, 2018/06/23

Yu ML et al., "Long non-coding RNA DANCR correlated to prognosis of Hepatitis C Virus-related hepatocellular carcinoma", HEPATOLOGY, vol.66,no.S1,p.130-131A, 2017/10/31

審查人員：施雅儀

申請專利範圍項數：4 項 圖式數：6 共 23 頁

(54)名稱

以胞外噬體內 lnc-DANCR 量預測 C 型肝炎相關肝癌術後之復發

(57)摘要

本文提供了用於癌症(包括但不限於肝細胞癌(HCC))診斷、預後及監測的生物標記之長鏈非編碼 DANCR(lnc-DANCR)。在一些實施例中，評估對象中肝細胞癌(HCC)預後的方法包含：從對象的生物樣品中分離出至少一種 lnc-DANCR 轉錄物；測量該至少一種 lnc-DANCR 轉錄物的測試表現量；及根據該測試表現量與該至少一種 lnc-DANCR 轉錄物的對照表現量的比較結果來評估該對象的肝細胞癌預後。在一些實施例中，用於評估對象中肝細胞癌(HCC)預後的套組包含針對至少一種 lnc-DANCR 轉錄物的結合分子，其中該至少一種 lnc-DANCR 轉錄物係胞外噬體 lnc-DANCR。

Long non-coding DANCR (lnc-DANCR) as biomarker for the diagnosis, prognosis and monitor of cancer, including but not limited to hepatocellular carcinoma (HCC) is provided herein. In some

embodiments, the method of evaluating the prognosis of hepatocellular carcinoma (HCC) in a subject comprises: isolating at least one transcript of lnc-DANCR from a biological sample of a subject; measuring the test expression level of the at least one transcript of lnc-DANCR; and evaluating the prognosis of hepatocellular carcinoma of the subject according to the comparison of the test expression level to a control expression level of the at least one transcript of lnc-DANCR. In some embodiments, a kit for evaluating the prognosis of hepatocellular carcinoma (HCC) in a subject comprises binding molecules to at least one transcript of lnc-DANCR, wherein the at least one transcript of lnc-DANCR is exosomal lnc-DANCR.

指定代表圖：

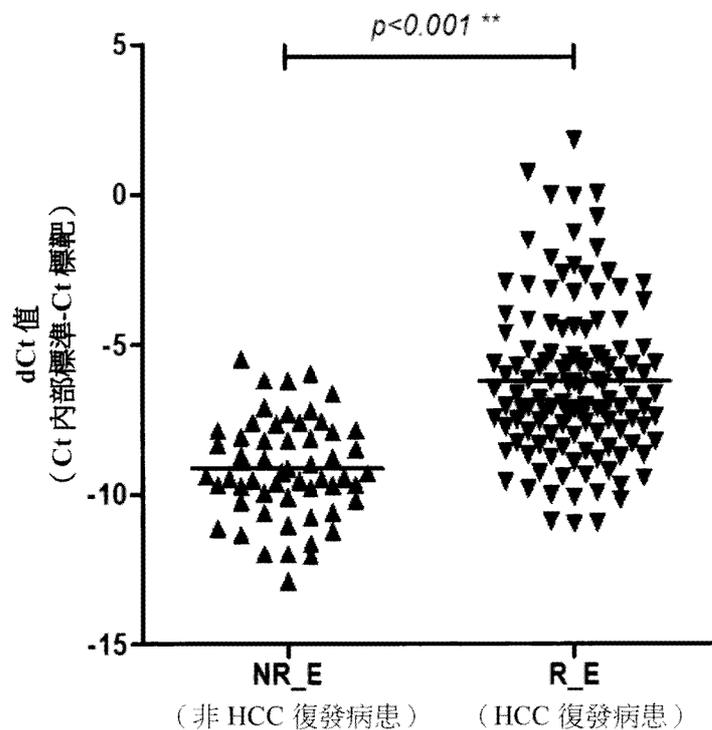


圖 1

發明摘要

【發明名稱】(中文/英文)

以胞外噬體內 lnc-DANCR 量預測 C 型肝炎相關肝癌術後之復發 /
PREDICTION OF HCV-RELATED HCC RECURRENCE BY EXOSOMAL
LNC-DANCR LEVELS

【中文】

本文提供了用於癌症（包括但不限於肝細胞癌（HCC））診斷、預後及監測的生物標記之長鏈非編碼 DANCR（lnc-DANCR）。在一些實施例中，評估對象中肝細胞癌（HCC）預後的方法包含：從對象的生物樣品中分離出至少一種 lnc-DANCR 轉錄物；測量該至少一種 lnc-DANCR 轉錄物的測試表現量；及根據該測試表現量與該至少一種 lnc-DANCR 轉錄物的對照表現量的比較結果來評估該對象的肝細胞癌預後。在一些實施例中，用於評估對象中肝細胞癌（HCC）預後的套組包含針對至少一種 lnc-DANCR 轉錄物的結合分子，其中該至少一種 lnc-DANCR 轉錄物係胞外噬體 lnc-DANCR。

【英文】

Long non-coding DANCR (lnc-DANCR) as biomarker for the diagnosis, prognosis and monitor of cancer, including but not limited to hepatocellular carcinoma (HCC) is provided herein. In some embodiments, the method of evaluating the prognosis of hepatocellular carcinoma (HCC) in a subject comprises: isolating at least one transcript of lnc-DANCR from a biological

sample of a subject; measuring the test expression level of the at least one transcript of lnc-DANCR; and evaluating the prognosis of hepatocellular carcinoma of the subject according to the comparison of the test expression level to a control expression level of the at least one transcript of lnc-DANCR. In some embodiments, a kit for evaluating the prognosis of hepatocellular carcinoma (HCC) in a subject comprises binding molecules to at least one transcript of lnc-DANCR, wherein the at least one transcript of lnc-DANCR is exosomal lnc-DANCR.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（ 1 ）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無。

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無。

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

藉由胞外噬體的 LNC-DANCR 量來預測 HCV 相關的 HCC 復發 /
PREDICTION OF HCV-RELATED HCC RECURRENCE BY
EXOSOMAL LNC-DANCR LEVELS

【技術領域】

【0001】 本發明係關於一種評估癌症預後的方法，特別是一種使用 lnc-DANCR 作為生物標記來評估肝細胞癌 (HCC) 的方法。

【先前技術】

【0002】 C型肝炎病毒 (HCV) 感染是肝硬化及肝細胞癌 (HCC) 的主要病因之一。不僅僅是台灣，其對於世界各國之公共健康亦持續構成威脅，世界衛生組織 (WHO) 估計全球每年有300萬到400萬人感染C型肝炎病毒 (HCV)。在癌症切片與病例的對照研究中，與 HCV 陰性人群相比，HCV 感染與 HCC 風險增加15至20倍有關。大多數慢性感染 HCV 的患者多年來都沒有症狀，而發生 HCV 感染後發展出 HCC 的平均時間約為 28 年。

【0003】 現已證實，即使透過干擾素相關療法 (Interferon-based Therapy) 完全根除病毒後，仍可能發展出肝癌。因此，測定在經過此類治療後的患者中造成 HCC 發展的因素非常重要，特別是在以直接作用抗病毒藥物 (direct-acting antiviral agent, DAA) 治療為主的現代。近期研究亦指出，在具 HCC 治療史的患者中即使於 DAA 治療成功後，仍有高的腫瘤復發率。此外，儘管有著高齡及嚴重纖維化等會導致高肝癌發生風險的不

利條件，用 DAA 治療的患者仍然維持著超過90%的持續病毒學抑制反應（sustained virologic response, SVR）率。因此，在藉由 DAA 治療根除病毒後，鑑定 HCC 發展的風險因子並構建 HCC 患者的治療後監測系統是至關重要的。因此，該領域尚須能幫助預防和管理 HCV 相關的 HCC 的預後標記及/或標靶分子。

【0004】 長鏈非編碼 RNA (lncRNA) 係大小超過200個核苷酸的非蛋白質編碼轉錄物。它們傳統上被認為是雜訊 (noise)，現在則逐漸被視為是蛋白質合成、轉錄活化或抑制的關鍵，並且已經顯示出會影響 DNA 損傷反應 (DNA damage response)、細胞週期等過程。由於其在調節過程中的重要性，研究已發現 lncRNA 與不同類型的癌症相關，包括肝細胞癌 (HCC)。迄今為止，幾乎沒有關於 HCV 誘導的 HCC 中 lncRNA 具有差異的報導。因此，該領域仍然是一個未開發和未定義的領域，且尚須更好的治療標靶及更靈敏的診斷標記。

【發明內容】

【0005】 本文提供了長鏈非編碼 DANCR (lnc-DANCR)，其係作為用於癌症 (包括但不限於肝細胞癌 (HCC)) 診斷、預後及監測的生物標記。本說明書中提供的術語「預後」定義為診斷或預測某種疾病的發生、預測某種疾病的復發或測定被診斷患有某種疾病的對象的死亡率及復發率。

【0006】 在一些實施例中，所提供的是一種評估對象中肝細胞癌 HCC 預後的方法。該方法包含以下步驟：從對象的生物樣品中分離出至少一種 lnc-DANCR 轉錄物；測量該至少一種 lnc-DANCR 轉錄物的測試表現量；及根據該測試表現量與該至少一種 lnc-DANCR 轉錄物的對照表現

量的比較結果來評估該對象的肝細胞癌預後。

【0007】 在一些實施例中，在該評估對象中HCC預後的方法中分離出的該至少一種 lnc-DANCR 轉錄物係胞外噬體lnc-DANCR。該方法的該至少一種 lnc-DANCR 轉錄物具有選自由SEQ ID NO: 1、2、3及4所組成之群組的核苷酸序列。在一些實施例中，該方法中使用的生物樣品係血液、血清、血漿或至少一胞外噬體。在一些實施例中，該評估的肝細胞癌係與C型肝炎病毒相關的肝細胞癌。在一些實施例中，該至少一種 lnc-DANCR 轉錄物的測試表現量係使用即時定量PCR (qPCR)、反轉錄酶-聚合酶連鎖反應 (RT-PCR) 方法、微陣列、次世代RNA定序、基因表現連續分析 (SAGE) 或免疫測定來測量。

【0008】 在一些其他實施例中，所提供的是一種治療對象中 HCC 的方法。該方法包含以下步驟：從對象的生物樣品中分離出至少一種 lnc-DANCR 轉錄物；測量該至少一種 lnc-DANCR 轉錄物的測試表現量；根據該測試表現量與該至少一種 lnc-DANCR 轉錄物的對照表現量的比較結果來評估該對象的肝細胞癌預後；及如果該對象被診斷或確定為 HCC 復發，則用外科方法、化學療法、放射療法或抗病毒療法治療該對象。

【0009】 在一些實施例中，在該治療對象中 HCC 的方法中分離出的該至少一種 lnc-DANCR 轉錄物係胞外噬體 lnc-DANCR。在一些實施例中，該方法的該至少一種 lnc-DANCR 轉錄物具有選自由SEQ ID NO: 1、2、3及4所組成之群組的核苷酸序列。在一些實施例中，該方法中使用的生物樣品係血液、血清、血漿或至少一胞外噬體。在一些實施例中，該評估的肝細胞癌係與C型肝炎病毒相關的肝細胞癌。在一些實施例中，該至少一

種 lnc-DANCR 轉錄物的測試表現量係使用即時定量 PCR (qPCR)、反轉錄酶-聚合酶連鎖反應 (RT-PCR) 方法、微陣列、次世代 RNA 定序、基因表現連續分析 (SAGE) 或免疫測定來測量。

【0010】 在一些實施例中，該治療方法的外科方法係正位肝臟移植 (OLT)、經皮乙醇注射 (PEI)、射頻燒灼術 (RFA) 或選擇的經導管動脈化學栓塞 (TACE)。在一些實施例中，該放射療法係放射性栓塞 (radioembolization) 或選擇性內部放射療法。在一些實施例中，該治療方法的化學療法係靶向全身化學療法，其中該化學療法中使用的藥劑可阻斷包括血管內皮生長因子 (VEGF)、表皮生長因子、Ras 促分裂原活化蛋白激酶 (MAPK)、胰島素樣生長因子受體、肝細胞生長因子/c-MET、PI3K/PTEN/Akt/哺乳動物雷帕黴素標靶 (mTOR) 及 Wnt/ β -鏈蛋白 (β -Catenin) 路徑之一或多個路徑中的一或多個步驟。在一些實施例中，該治療方法的抗病毒療法係 DAA 治療。

【0011】 在一些另外的實施例中，所提供的是一種用於評估對象中肝細胞癌預後的套組，其包含針對至少一種 lnc-DANCR 轉錄物的結合分子。在一些實施例中，與該套組的該分子結合的該至少一種 lnc-DANCR 轉錄物係胞外噬體 lnc-DANCR。在一些實施例中，該至少一種 lnc-DANCR 轉錄物具有選自由 SEQ ID NO: 1、2、3及4所組成之群組的核苷酸序列。在一些實施例中，該評估的肝細胞癌係與C型肝炎病毒相關的肝細胞癌。在一些實施例中，該針對至少一種 lnc-DANCR 轉錄物的結合分子係用於生物晶片、微陣列、即時定量 PCR (qPCR)、反轉錄酶-聚合酶連鎖反應 (RT-PCR) 方法、次世代 RNA 定序、基因表現連續分析 (SAGE) 或免疫

測定。

【圖式簡單說明】

【0012】 圖1係在與 HCV 相關的 HCC 患者之間比較復發與非復發患者的胞外噬體 DANCR 量的散佈圖。

【0013】 圖2係胞外噬體DANCR表現量的ROC分析，其係用於 HCV-HCC 復發預測。

【0014】 圖3係具有高及低胞外噬體 DANCR 量的患者的累積 HCV-HCC 復發率的折線圖。

【0015】 圖4係具有高及低胞外噬體 DANCR 量的 HCV-HCC 患者在腫瘤手術後累積死亡率的折線圖。

【0016】 圖5係藉由 NanoSight NS300 對分離的胞外噬體大小及數量進行一組三重複分析。

【0017】 圖6係非腫瘤 DANCR 表現量、腫瘤 DANCR 表現量、腫瘤/非腫瘤 (T/NT) DANCR 表現量、 α -胎兒蛋白 (AFP) 表現量、及胞外噬體 DANCR 表現量的 ROC 分析，其係用於 HCV-HCC 復發預測。

【實施方式】

【0018】 應理解的是，實施例的詳細描述是為了說明本發明的較佳實施例，而非欲將本發明限制於某些實施例。應注意的是，本發明意在涵蓋所有在本發明相同精神和範圍內的替代實施例。

【0019】 本文提供了長鏈非編碼 DANCR (lnc-DANCR)，其係作為用於癌症(包括但不限於肝細胞癌(HCC))診斷、預後及監測的生物標記。在一較佳實施例中，作為液態生物檢體的循環胞外噬體中的 DANCR 表現

申請號：107145790

110年4月6日替換頁

量係藉由從目標對象的200uL血清中利用胞外噬體沉澱溶液（*exosome precipitation solution*）第一次提取的總胞外噬體來測定。在一些實施例中，血漿係用作生物樣品以提取胞外噬體。由於胞外噬體的穩定性及提取後可藉由冷凍保存更長時間的能力，其可作為較佳的液態生物檢體。在一些實施例中，藉由 NanoSight NS300 對分離的胞外噬體的大小及數量進行三重複分析。以圖5a-5d為例，其係為一病患 A 之200 μ L 血清檢體所得出之三重複分析結果，其中圖5a、5b、5c分別為實驗1、實驗2、實驗3；而其所得出之大小及數量分別為：圖5a（實驗1）大小為 160.0 ± 120.1 nm，數量為 $1.38\times 10^{13}/\text{ml}$ ；圖5b（實驗2）大小為 176.0 ± 140.8 nm，數量為 $1.42\times 10^{13}/\text{ml}$ ；圖5c（實驗3）大小為 182.1 ± 143.0 nm，數量為 $1.53\times 10^{13}/\text{ml}$ 。而圖5d則為實驗1-3之數量直方圖之比較。

【0020】 接著，藉由 Trizol 試劑從該些胞外噬體中分離出總胞外噬體 RNA 以進行 DANCR q-PCR。然後使用1 μ g 該分離出的 RNA與 cDNA 反轉錄套組來合成 cDNA。對每個樣品一式三份進行聚合酶連鎖反應（PCR），並使用 ABI Prism 7900快速檢測系統進行分析。使用管家基因將該些數據標準化，然後再使用 ABI 7900 系統軟體藉由門檻循環（Ct）方法分析擴增的轉錄物。在一較佳實施例中，該 PCR 中使用的 DANCR 引子具有選自由SEQ ID NO: 1、2、3及4所組成之群組的核苷酸序列。

【0021】 結果顯示胞外噬體 DANCR 表現量與 HCV-HCC 中的 HCC 復發相關，且循環的 lnc-DANCR 與 HCV 相關的 HCC 復發的臨床病理學特徵及死亡率相關。在圖1中，在與 HCV 相關的 HCC 患者之間比較復發與非復發患者的胞外噬體 DANCR 量的散佈圖顯示，與後者相比，

前者中存在顯著上調的 DANCR 表現 ($p < 0.001^*$)。

【0022】 圖2顯示了用於 HCV-HCC 復發預測的循環胞外噬體 DANCR 的 ROC 分析，其中藉由 ROC 曲線預測復發的截止值 (cutoff value) 係 $dCt > -7.5$ (IncDANCR-U6)。曲線下面積 (AUC) 為 0.83，靈敏度為 68.3，且特異性為 85.7。

【0023】 進一步使用 Kaplan-Meier 分析顯示，對於具有較高循環 DANCR 量的患者，HCV-HCC 復發率的 1 年、3 年、及 5 年累積發生率分別為 43.3%、75.6%、及 90.0%，相比之下，那些具有較低循環 DANCR 量的患者，其 HCV-HCC 復發率的 1 年、3 年、及 5 年累積發生率分別為 20.2%、34.8%、及 39.5% (風險比 (HR) = 3.80; 信賴區間 (CI): 2.52-5.84; $p < 0.001^*$)，如圖3及下面表1和表2中所示。

表1

低血清 DANCR 量的 HCC 復發 ($dCT < -7.5$, $n=89$)

年	1	3	5	8
累積的事件數量	16	30	41	82
累積的有風險數量	73	59	48	7
累積率(%)	20.2	34.8	39.5	49.8

表2

高血清 DANCR 的 HCC 量復發 ($dCT > -7.5$, $n=90$)

年	1	3	5	8
累積的有風險數量	35	67	81	88
累積的事件數量	55	23	9	2
累積率(%)	43.3	75.6	90.0	91.3

【0024】 對於具有較高循環 DANCR 量的患者，死亡率的1年、3年、及5年累積發生率分別為4.4%、22.4%、及37.7%，相比之下，那些具有較低循環 DANCR 量的患者，其死亡率的1年、3年、及5年累積發生率分別為3.4%、12.5%、及20.6%（HR=2.20; CI: 1.29-3.89; p=0.004*），如圖4及下面表3和表4中所示。

表3

低血清 DANCR 量的死亡率 (dCT < -7.5, n=89)

年	1	3	5	8
累積的事件數量	3	11	27	78
累積的有風險數量	86	78	62	11
累積率(%)	3.4	12.5	20.6	31.6

表4

高血清 DANCR 量的死亡率 (dCT > -7.5, n=90)

年	1	3	5	8
累積的事件數量	3	21	38	80
累積的有風險數量	87	69	52	10
累積率(%)	4.4	22.4	37.7	59.3

【0025】 此外，如下面表5所示，多變量Cox迴歸分析顯示出HCV-HCC復發的最強預測因子，在模型1中為腫瘤/相鄰的非腫瘤(T/ANT)之DANCR比率（HR=3.27；CI：1.92-6.03；p<0.0001*）及年齡>65歲（HR=1.47；CI：1.00-2.17；p=0.05*）及肝硬化（HR=1.53；CI：1.05-2.25；p=0.03*）。復發的HR在模型2及模型3中分別為腫瘤DANCR的2.34（CI：

1.58-3.45; $p < 0.0001^*$) 與肝硬化 (HR=1.71; CI: 1.17-2.52; $p = 0.005^*$) 及循環 DANCR 的 3.80 (CI: 2.52-5.84; $p < 0.0001^*$) 與年齡 >65 歲 (HR=1.67; CI: 1.12-2.49; $p = 0.011^*$)。模型 4 中所有 DANCR 的 HR 表明循環 DANCR (HR=3.36; CI: 2.02-5.20; $p < 0.0001^*$) 對於 HCV-HCC 復發具有最強的預測性，其次則為 T/NT DANCR 比率 (HR=2.70; CI: 1.53-5.08; $p = 0.0004^*$) 及高齡 (HR=1.64; CI: 1.00-2.45; $p = 0.015^*$)。

表5

特徵	模型 1		模型 2		模型 3		模型 4	
	HR (95% CI)	P 值						
年齡 >65 歲	1.47 (1.00-2.17)	0.05*	1.44 (0.98-2.13)	0.07	1.67 (1.12-2.49)	0.011*	1.64 (1.00-2.45)	0.015*
AFP 量 >100	1.09 (0.74-1.60)	0.66	1.14 (0.77-1.66)	0.51	1.13 (0.75-1.67)	0.56	1.04 (0.70-1.54)	0.85
肝硬化	1.53 (1.05-2.25)	0.03*	1.71 (1.17-2.52)	0.005*	1.40 (0.94-2.08)	0.10	1.43 (0.97-2.12)	0.07
病理分期 III, IV	1.17 (0.68-1.88)	0.58	1.25 (0.75-2.02)	0.38	1.29 (0.76-2.11)	0.34	1.29 (0.79-2.04)	0.74
BMI	1.02 (0.97-1.08)	0.37	1.03 (0.98-1.08)	0.26	1.03 (0.98-1.08)	0.22	1.04 (0.99-1.10)	0.10
白蛋白	0.80 (0.53-1.21)	0.28	0.95 (0.63-1.46)	0.81	0.81 (0.52-1.26)	0.35	0.85 (0.55-1.33)	0.48
DANCR 比率 T/NT >1.1	3.27 (1.92-6.03)	<0.0001*	-	-	-	-	2.70 (1.53-5.08)	0.0004*
腫瘤 DANCR dCT > -6.2	-	-	2.34 (1.58-3.45)	<0.0001*	-	-	1.31 (0.85-2.00)	0.22
循環 DANCR dCT > -7.5	-	-	-	-	3.80 (2.52-5.84)	<0.0001*	3.36 (2.20-5.20)	<0.0001*

表6

特徵	模型 1		模型 2		模型 3		模型 4	
	HR (95% CI)	P 值	HR (95% CI)	P 值	HR (95% CI)	P 值	HR (95% CI)	P 值
年齡 >65 歲	1.39 (0.82-2.37)	0.22	1.38 (0.82-2.36)	0.23	1.42 (0.84-2.43)	0.19	1.64 (1.10-2.45)	0.02*
AFP 量 >100	1.26 (0.76-2.09)	0.37	1.22 (0.73-2.03)	0.44	1.28 (0.75-2.15)	0.36	1.04 (0.70-1.54)	0.85
肝硬化	1.31 (0.79-2.21)	0.29	1.44 (0.87-2.42)	0.16	1.31 (0.78-2.25)	0.31	1.43 (0.97-2.12)	0.07
病理分期 III, IV	1.78 (0.93-3.21)	0.08	2.01 (1.05-3.65)	0.04*	2.02 (1.05-3.69)	0.046*	1.09 (0.64-1.80)	0.74
BMI	1.00 (0.93-1.07)	0.92	1.00 (0.94-1.06)	0.95	0.99 (0.94-1.06)	0.86	1.00 (0.94-1.07)	0.10
白蛋白	0.77 (0.44-1.36)	0.36	0.86 (0.48-1.55)	0.60	0.77 (0.43-1.42)	0.40	0.87 (0.48-1.59)	0.48
DANCR 比率 T/NT >1.1	3.23 (1.50-8.43)	0.0017*	-	-	-	-	2.72 (1.55-5.09)	0.0004*
腫瘤 DANCR dCT > -6.2	-	-	2.20 (1.32-3.65)	0.003*	-	-	1.35 (0.90-2.01)	0.22
循環 DANCR dCT > -7.5	-	-	-	-	2.20 (1.29-3.89)	0.004*	3.01 (2.02-4.55)	<0.0001*

【0026】 另外，如上面表6所示，模型4中 HCV-HCC 死亡率的 HR 也顯示出循環 DANCR 中是最強的預測因子（HR=3.01; CI: 2.02-4.55; $p<0.0001^*$ ），其次則為腫瘤/非腫瘤（T/NT）DANCR 比率（HR=2.72; CI: 1.55-5.09; $p=0.0004^*$ ）及高齡（HR=1.64; CI: 1.10-2.45; $p=0.02^*$ ）。T/NT DANCR 比率、腫瘤 DANCR、及循環 DANCR 的死亡率 HR 分別為3.23（CI: 1.50-8.43; $p=0.0017^*$ ）、2.20（CI: 1.32-3.65; $p=0.003^*$ ）與病理III/IV期（HR=2.01; CI: 1.05-3.65; $p=0.04^*$ ）、及2.20（CI: 1.29-3.89; $p=0.004^*$ ）與病理III/IV期（HR=2.02; CI: 1.05-3.69; $p=0.046^*$ ）。

【0027】 藉由計算 ROC 曲線下的面積來進行肝臟和循環 DANCR 對 HCV-HCC 復發的診斷評估。如圖6所示，循環 DANCR 的 AUC 為 0.831，其高於肝組織 DANCR 的表現量，不論是腫瘤內 DANCR 量（AUC=0.694）或 T/NT DANCR 比率（AUC=0.739）。循環 DANCR 的 AUC 也明顯高於已知為 HCC 診斷之有用因子的 AFP（AUC = 0.419）。

表7

復發	AUC	截止值	靈敏度(%)	專一性(%)	陽性預測值	陰性預測值	準確度	P 值 卡方(chiSquare)
非腫瘤	0.531	-8	54.0 (44.9-62.9)	64.9 (51.1-77.1)	77.3 (69.8-83.4)	39.0 (32.8-45.5)	57.4 (49.9-64.6)	0.61
腫瘤	0.694	-6.2	42.9 (34.1-52.0)	91.2 (80.7-97.1)	91.5 (82.0-96.2)	41.9 (37.8-46.2)	57.9 (50.4-65.2)	<0.0001*
T/NT 比率	0.739	1.1	88.9 (82.1-93.8)	49.1 (35.6-62.7)	79.4 (74.8-83.4)	66.7 (53.3-77.8)	76.5 (69.7-82.4)	<0.0001*
胞外體	0.831	-7.5	68.3 (59.3-76.4)	85.7 (73.8-93.6)	91.3 (84.5-95.3)	55.2 (48.2-62.0)	73.7 (66.7-80.0)	<0.0001*
AFP	0.419	3986	97.6	8.93	70.7	62.5	70.3	0.09

【0028】 在復發的ROC分析的最佳截止值，循環DANCR及肝腫瘤 DANCR的專一性分別為85.7%及91.2%，而陽性預測值（PPV）分別為91.3

%及91.5%，如表7所示。

【0029】 總的來說，結果表明循環的胞外噬體lncRNA係一種理想的液態生物檢體，可用作HCV-HCC手術切除後HCC復發的預後生物標記。

【符號說明】

【0030】 10...具有高胞外噬體 DANCR 表現量患者的 HCC 復發
累積比率曲線

【0031】 12...具有低胞外噬體 DANCR 表現量患者的 HCC 復發
累積比率曲線

【0032】 20...具有高胞外噬體 DANCR 表現量患者的死亡率累積比
率曲線

【0033】 22...具有低胞外噬體 DANCR 表現量患者的死亡率累積比
率曲線

【0034】 30.....胞外體 DANCR ROC 曲線

【0035】 32.....T/NT 比率 DANCR ROC 曲線

【0036】 34.....腫瘤 DANCR ROC 曲線

【0037】 36.....非腫瘤 DANCR ROC 曲線

【0038】 38.....AFP DANCR ROC 曲線

申請號：107145790
109年3月23日替換頁

【序列表】

<110> 高雄醫學大學
<120> 以胞外噬體內 Inc-DANCR 量預測 C 型肝炎相關肝癌術後之復發
<160> 4
<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 20
<212> DNA
<213> 智人 (Homo sapiens)
<400> 1
tgcagctgcc tcagttctta 20

<210> 2
<211> 20
<212> DNA
<213> 智人 (Homo sapiens)
<400> 2
acctgtaca ctgccctgtt 20

<210> 3
<211> 20
<212> DNA
<213> 智人 (Homo sapiens)
<400> 3
gccacaggag ctagagcagt 20

<210> 4
<211> 20
<212> DNA
<213> 智人 (Homo sapiens)
<400> 4
cggtagca agtctggtga 20

申請專利範圍

1. 一種評估一對象中與C型肝炎病毒相關的肝細胞癌（HCV-HCC）預後的方法，包含：
提供分離自該對象血清之至少一胞外噬體；
測量該胞外噬體中之至少一種胞外噬體 lnc-DANCR的測試表現量；以及
根據該至少一種胞外噬體 lnc-DANCR 的測試表現量與一對照組的 lnc-DANCR 的測試表現量的比較結果來評估該對象與C型肝炎病毒相關的肝細胞癌的預後，當該對象血清之至少一種胞外噬體 lnc-DANCR 的測試表現量高於對照組的 lnc-DANCR 的測試表現量時，表示該對象之與C型肝炎病毒相關的肝細胞癌（HCV-HCC）的預後不良，
其中，該lnc-DANCR 係透過一PCR步驟所獲得之 lnc-DANCR 轉錄物，
且該 lnc-DANCR 轉錄物具有選自由 SEQ ID NO: 1、2、3及4所組成之群組的核苷酸序列。
2. 根據申請專利範圍第1項之方法，其中該至少一種胞外噬體 lnc-DANCR 的測試表現量係使用即時定量 PCR（qPCR）、反轉錄酶-聚合酶連鎖反應（RT-PCR）方法、微陣列、次世代 RNA 定序、基因表現連續分析（SAGE）或免疫測定來測量。
3. 一種用於評估一對象中與C型肝炎病毒相關的肝細胞癌（HCV-HCC）預後的套組，其包含針對至少一種胞外噬體 lnc-DANCR 轉錄物的一結合分子，其中該至少一種胞外噬體係分離自該對象之血清，其中該結合分子係選自由 SEQ ID NO: 1、2、3及4所組成之群組且係用於生物晶片、

微陣列、即時定量PCR (qPCR)、反轉錄酶-聚合酶連鎖反應 (RT-PCR) 方法、次世代RNA定序、基因表現連續分析 (SAGE) 或免疫測定的核苷酸序列。

4. 根據申請專利範圍第3項之套組，其中該至少一種胞外噬體 lnc-DANCR 轉錄物具有選自由 SEQ ID NO: 1、2、3及4所組成之群組的核苷酸序列。

圖式

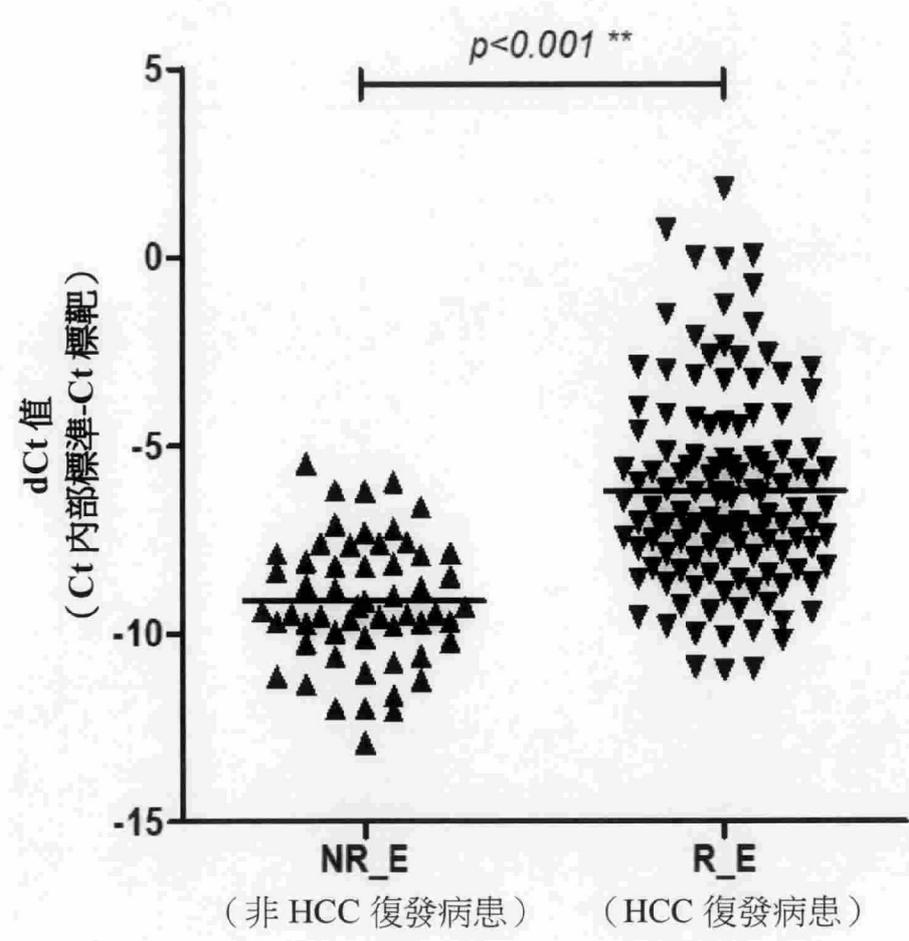


圖 1

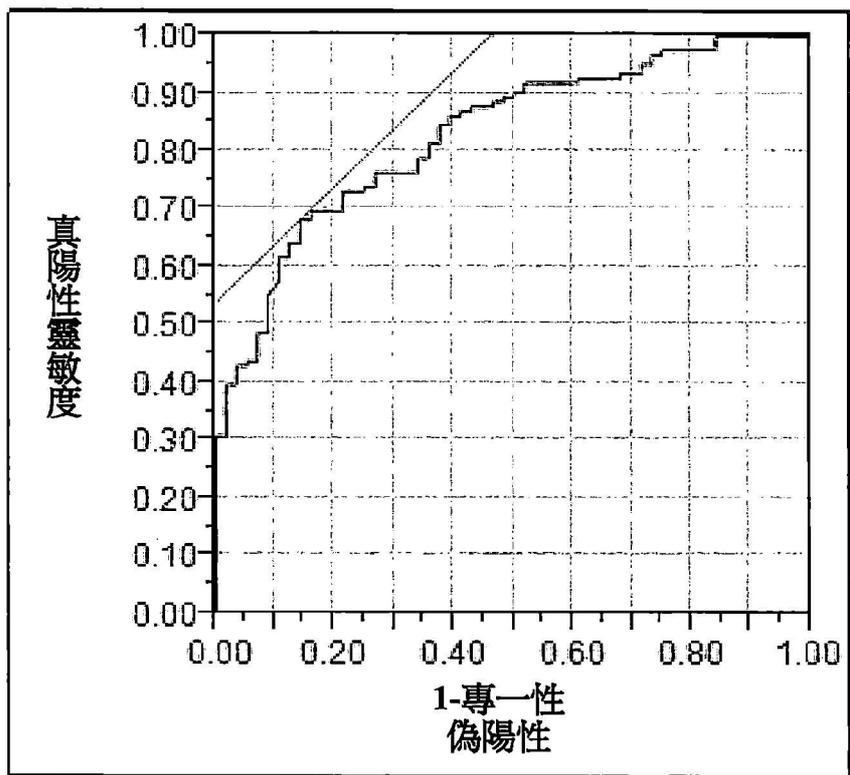


圖 2

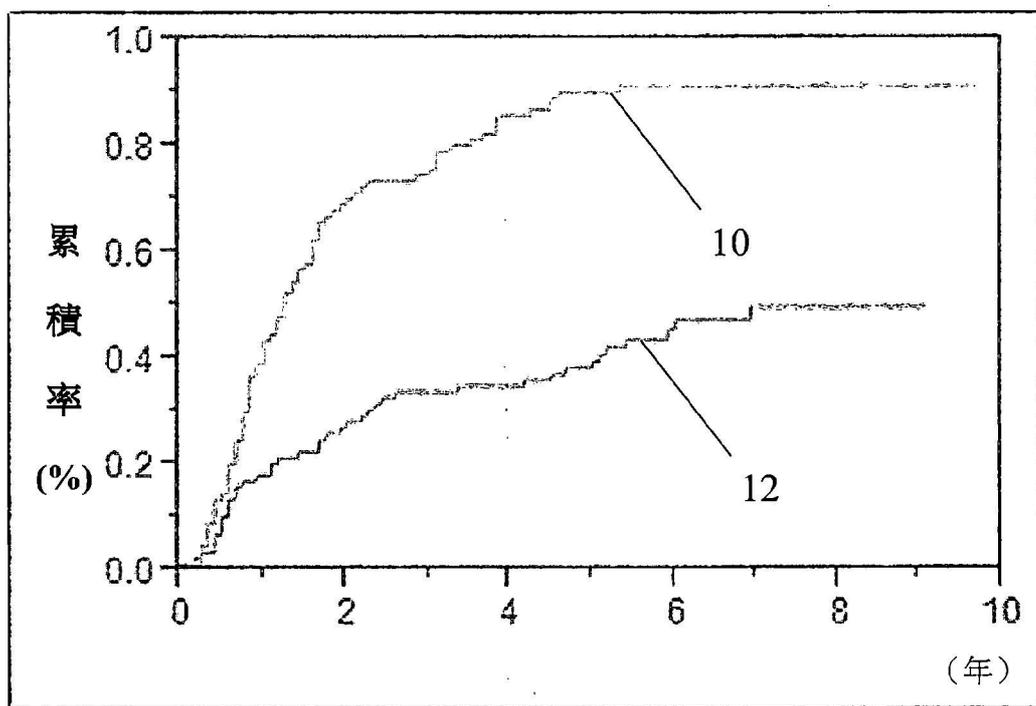


圖 3

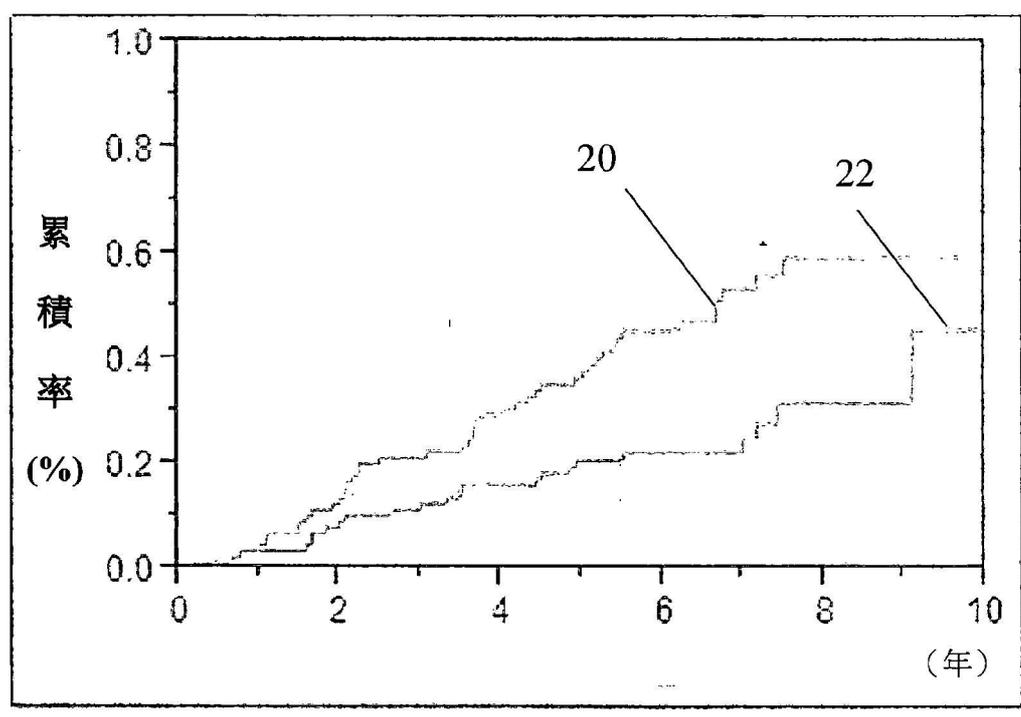


圖 4

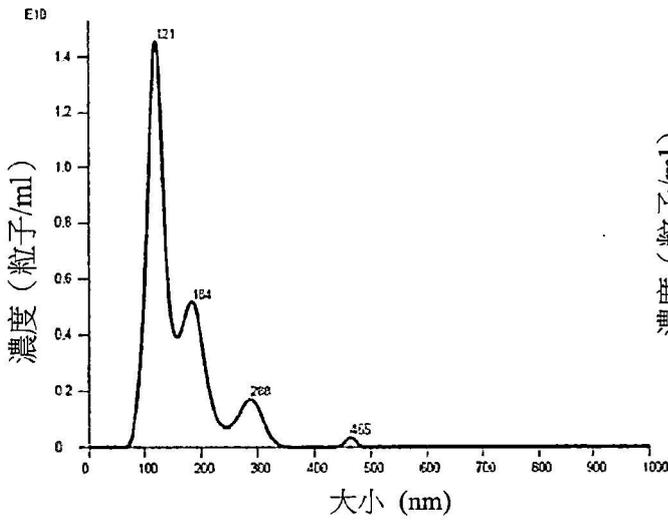


圖 5a

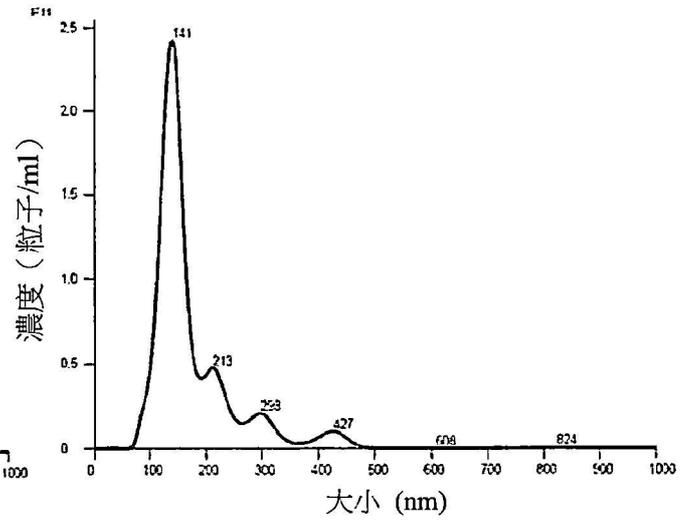


圖 5b

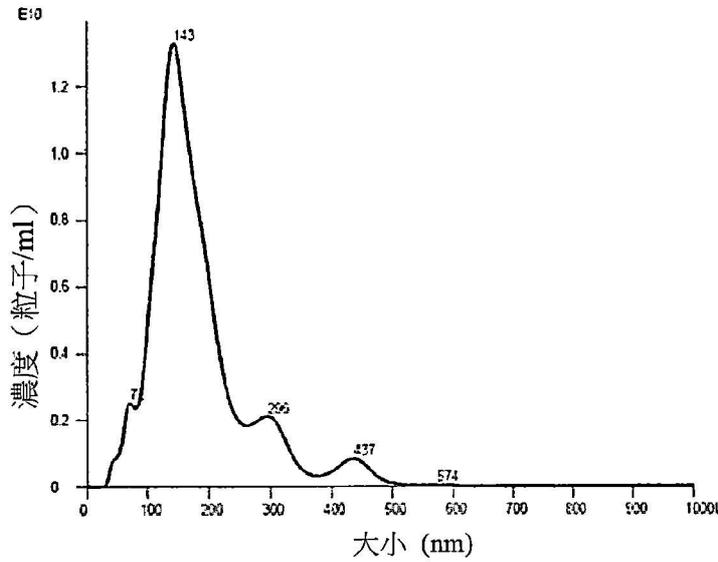


圖 5c

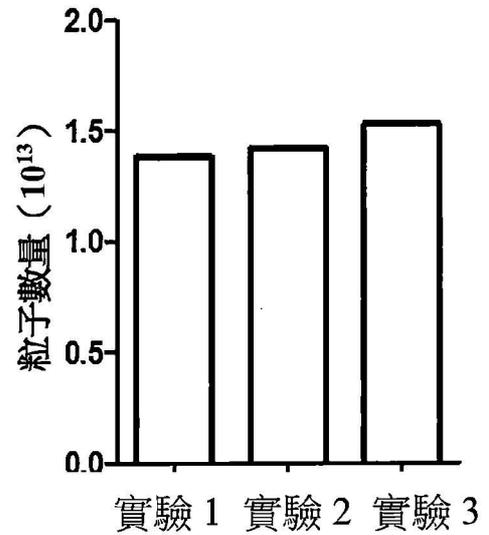


圖 5d

申請號：107145790
110年4月6日替換頁

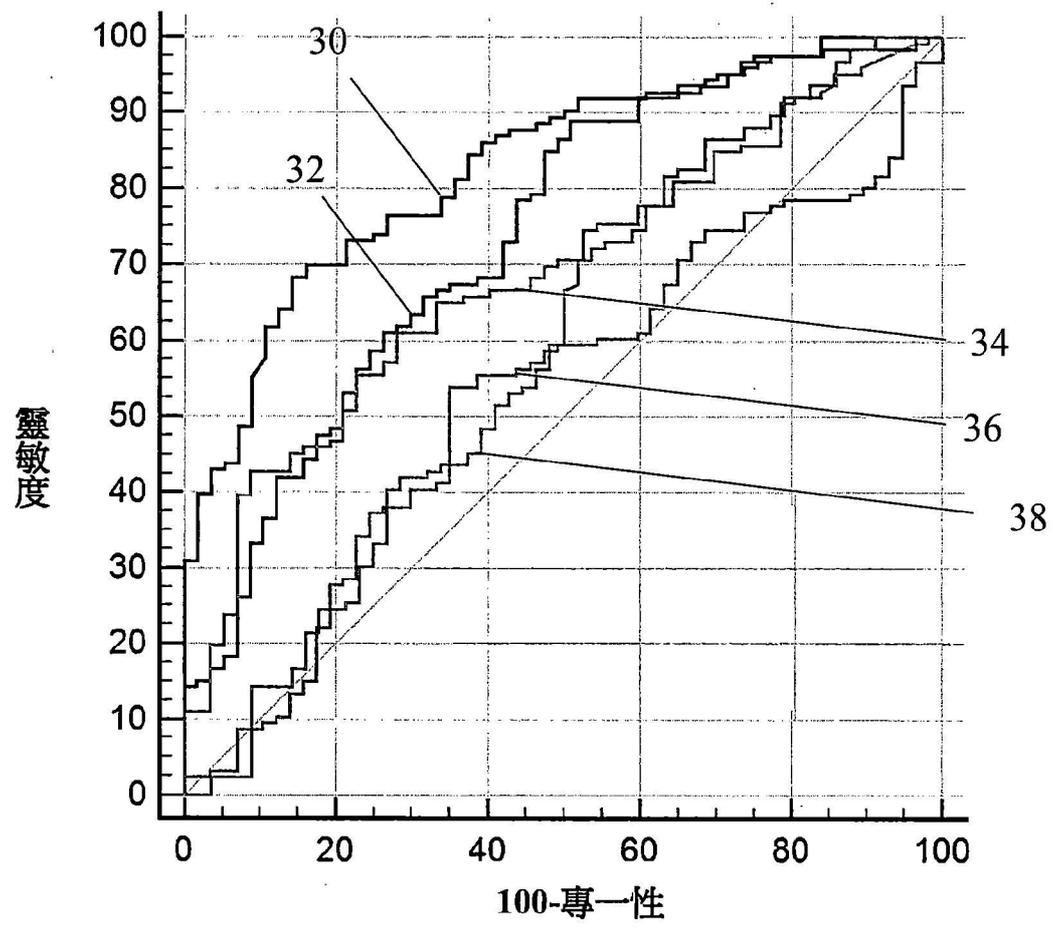


圖 6