



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109844535 A

(43)申请公布日 2019.06.04

(21)申请号 201780052589.1

蔚山大学校产学协力团

(22)申请日 2017.07.03

(72)发明人 金圣勋 梁元硕 金敬坤 金元九

(30)优先权数据

10-2016-0083361 2016.07.01 KR

(74)专利代理机构 上海汉声知识产权代理有限公司

31236

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

代理人 庄文莉

2019.02.26

(51)Int.Cl.

(86)PCT国际申请的申请数据

G01N 33/574(2006.01)

PCT/KR2017/007042 2017.07.03

(87)PCT国际申请的公布数据

W02018/004321 KO 2018.01.04

(71)申请人 医药生命融合研究团

地址 韩国京畿道水原市灵通区逛桥路145,
次世代融合技术研究院B栋8层(二仪洞)

申请人 财团法人峨山社会福祉财团

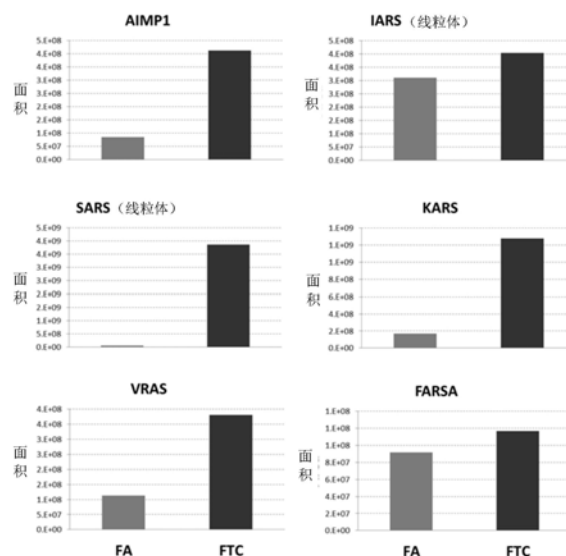
权利要求书2页 说明书15页 附图7页

(54)发明名称

利用氨基酰-tRNA合成酶相关蛋白表达水平的
甲状腺滤泡癌诊断标志物的检测方法

(57)摘要

本发明涉及一种用氨基酰-tRNA合成酶相关蛋白表达水平诊断甲状腺滤泡癌的标志物检测方法,更具体地说,为了提供诊断疑似甲状腺滤泡癌患者所需的信息,包括步骤:(a)提供源自疑似甲状腺滤泡癌的被检体样本;(b)检测上述样本中氨基酰-tRNA合成酶(aminoacyl-tRNA synthetase,ARS)或氨基酰-tRNA合成酶复合物-结合多功能蛋白(aminoacyl-tRNA synthetase complex-interacting multifunctional protein,AIMP)的蛋白表达水平;以及(c)一种检测甲状腺滤泡癌标志物的方法,包括将上述检测的蛋白表达水平与对照组进行比较,确定蛋白表达水平变化的被检体确诊为甲状腺滤泡癌。具体而言,本发明公开的蛋白质种类可简单准确地诊断甲状腺滤泡癌,并不需通过手术提取组织,其诊断灵敏度高且特异性强。



1. 一种检测甲状腺滤泡癌标志物的方法, 为了提供诊断甲状腺滤泡癌所需要的信息, 包括:

(a) 提供来自疑似甲状腺滤泡癌的被检体样本;

(b) 检测上述样本中氨基酰-tRNA合成酶或氨酰-tRNA合成酶复合多功能相互作用蛋白的蛋白表达水平; 和

(c) 将上述检测的蛋白表达水平与对照组进行比较, 确认了蛋白表达水平变化的被检体被判断为甲状腺滤泡癌的步骤。

2. 根据权利要求1所述的方法, 其特征是, 所述样本选自甲状腺组织、血液、血浆、血清、淋巴液和尿液组成的群。

3. 根据权利要求1所述的方法, 其特征是, 所述对照组是确诊了甲状腺滤泡性腺瘤的患者。

4. 根据权利要求1所述的方法, 其特征是, 所述蛋白表达水平的变化是选自氨酰tRNA合成酶复合多功能相互作用蛋白1、IRAS线粒体、SARS线粒体、赖氨酰-tRNA合成酶、缬氨酰-tRNA合成酶和 α 亚基苯丙氨酸-tRNA合成酶组成的群中一个以上蛋白质的表达水平增加。

5. 根据权利要求1所述的方法, 其特征是, 所述蛋白表达水平的变化是选自丙氨酰-tRNA合成酶、天冬氨酸-tRNA合成酶、双功能谷氨酰-脯氨酰-tRNA合成酶、色氨酰-tRNA合成酶、甘氨酰-tRNA合成酶、异亮氨酸tRNA合成酶胞质、酪氨酰-tRNA合成酶、门冬酰-tRNA合成酶、谷氨酰胺-tRNA合成酶、精氨酰-tRNA合成酶、丝氨酸-tRNA合成酶胞质及苏氨酰-tRNA合成酶组成的群中一个以上的蛋白质表达水平减少。

6. 根据权利要求1所述的方法, 其特征是, 所述检测蛋白表达水平包括选自蛋白质印迹法、斑点杂交、酶联免疫吸附测定、放射免疫分析法、放射免疫扩散法、奥克特洛尼双向免疫扩散法、火箭免疫电泳、免疫组织化学染色、免疫沉淀法、补体固定分析法、流式细胞荧光分选技术、蛋白质芯片、质谱分析组成的群中的任何一种方法。

7. 一种用于诊断甲状腺滤泡癌的组成物, 包括检测氨基酰-tRNA合成酶或氨酰-tRNA合成酶复合多功能相互作用蛋白的表达水平的制剂。

8. 根据权利要求7所述的组成物, 其特征是, 所述氨基酰-tRNA合成酶选自异亮氨酸-tRNA合成酶线粒体、丝氨酰-tRNA合成酶线粒体、赖氨酰-tRNA合成酶、缬氨酸-tRNA合成酶、 α 亚基苯丙氨酸-tRNA合成酶、丙氨酰tRNA合成酶、天冬氨酰tRNA合成酶、双功能谷氨酰-脯氨酰-tRNA合成酶、色氨酸tRNA合成酶、甘氨酰tRNA合成酶、异亮氨酸tRNA合成酶胞质、酪氨酰-tRNA合成酶、门冬酰-tRNA合成酶、谷氨酰胺-tRNA合成酶、精氨酰-tRNA合成酶、丝氨酸-tRNA合成酶胞质和苏氨酰-tRNA合成酶组成的群中的一个以上。

9. 根据权利要求7所述的组成物, 其特征是, 上述氨酰-tRNA合成酶复合多功能相互作用蛋白是氨酰-tRNA合成酶复合多功能相互作用蛋白1。

10. 根据权利要求7所述的组成物, 其特征是, 上述诊断是区分甲状腺滤泡癌和滤泡性腺瘤的。

11. 根据权利要求7所述的组成物, 其特征是, 检测上述蛋白质的制剂是具有与上述蛋白质特异结合域的肽、抗体或适体。

12. 一种用于诊断甲状腺滤泡癌的套件, 包括权利要求7的组成物。

13. 根据权利要求1所述的方法, 其特征是, 所述氨基酰-tRNA合成酶选自异亮氨酸-

tRNA合成酶线粒体,GenBank数据库序列编号94730583、丝氨酰-tRNA合成酶线粒体,GenBank数据库序列编号23822219、赖氨酰-tRNA合成酶,GenBank数据库序列编号20178333、缬氨酸-tRNA合成酶,GenBank数据库序列编号1194845281、 α 亚基苯丙氨酸-tRNA合成酶,GenBank数据库序列编号12643946、丙氨酰tRNA合成酶,GenBank数据库序列编号115502460、天冬氨酰tRNA合成酶,GenBank数据库序列编号20178330、双功能氨基酰基-tRNA合成酶,GenBank数据库序列编号288558855、色氨酸tRNA合成酶,GenBank数据库序列编号135191、甘氨酰tRNA合成酶,GenBank数据库序列编号313104283、异亮氨酸tRNA合成酶胞质,GenBank数据库序列编号239938717、酪氨酰-tRNA合成酶,GenBank数据库序列编号13638438、门冬酰-tRNA合成酶,GenBank数据库序列编号3915059、谷氨酰胺-tRNA合成酶,GenBank数据库序列编号1351170、精氨酰-tRNA合成酶,GenBank数据库序列编号20178331、丝氨酸-tRNA合成酶胞质,GenBank数据库序列编号19860217和苏氨酰-tRNA合成酶,GenBank数据库序列编号60267755组成的群中的一个以上。

14. 根据权利请求项1所述的方法,其特征是,上述氨酰-tRNA合成酶复合多功能相互作用蛋白是氨酰-tRNA合成酶复合多功能相互作用蛋白1,AIMP 1,GenBank数据库序列编号215490009。

15. 一种检测氨基酰tRNA合成酶或氨酰-tRNA合成酶复合多功能相互作用蛋白的表达水平的制剂在制备诊断甲状腺滤泡癌的制剂中的用途。

16. 一种诊断甲状腺滤泡癌的方法,其特征是,检测被检体样本中的氨基酰tRNA合成酶或氨酰-tRNA合成酶复合多功能相互作用蛋白的表达水平。

利用氨基酰-tRNA合成酶相关蛋白表达水平的甲状腺滤泡癌 诊断标志物的检测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种利用氨基酰-tRNA合成酶相关蛋白表达水平的甲状腺滤泡癌(follicular thyroid carcinoma)诊断标志物的检测方法,具体而言有关一种检测甲状腺滤泡癌标志物的方法,为了提供诊断疑似甲状腺滤泡癌患者甲状腺滤泡癌所需的信息,包括步骤:(a)提供来自疑似甲状腺滤泡癌被检体样本;(b)检测上述样本中氨基酰-tRNA合成酶(aminoacyl-tRNA synthetase)或氨基酰-tRNA合成酶复合多功能相互作用蛋白(aminoacyl-tRNA synthetase complex-interacting multifunctional protein)的蛋白表达水平;以及(c)将上述检测的蛋白表达水平与对照组进行比较,判断蛋白表达水平变化的被检体患有甲状腺滤泡癌。

背景技术

[0002] 本申请主张2016年7月1日申请的大韩民国专利申请第10-2016-00883361号的优先权,上述说明书全文作为本专利申请的参考文献。

[0003] 在所有甲状腺癌中约20%的甲状腺滤泡癌(follicular thyroid carcinoma, FTC)多发生在女性身上,属于预后良好分化的甲状腺癌。和占甲状腺癌多数的甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma)相比不同的是,甲状腺滤泡癌主要出现在年龄较大的人群中,甲状腺乳头状癌主要通过淋巴结发生转移,而甲状腺滤泡癌却是通过血管发生转移。另一方面,甲状腺乳头状癌可以在观察特异核的形态之后比较容易地通过微针吸入检查进行诊断,但甲状腺滤泡癌并没有确立明确的标准,因此很难准确诊断。特别是甲状腺良性肿瘤-滤泡性腺瘤(follicular adenoma)的20%~30%无法通过细针吸入检查与甲状腺滤泡癌识别,所以有时会发生将甲状腺滤泡癌归类为滤泡性腺瘤的情况。

[0004] 目前,为了确诊甲状腺滤泡癌,几乎唯一的方法是通过手术提取甲状腺组织以确认组织内病理。诸如此类包括手术在内的病理检查首先通过手术切除一半被发现了结节的甲状腺,然后进行组织检查,之后诊断为甲状腺滤泡癌,除了预后良好的早期癌症以外,还要再次通过手术切除剩下的另一半,所以这是一种非常繁琐的方法。因此,有必要研发一种生物标志物,能从细针吸取检查时获得的甲状腺组织或血液中区分甲状腺滤泡癌和滤泡性腺瘤,确诊甲状腺滤泡癌。尤其是一旦开发出以蛋白质为基础的生物标志物,就可以利用抗体等检测相应标志物的表达水平,从而可以迅速获得诊断所需的信息,不需要通过手术进行病理检查。

[0005] 被提议作为甲状腺滤泡癌生物标志物的BRAF、RET/PTC、RAS、Pax8/PPA gamma、P53等基因的突变发生率不高,事实上无法在诊断中实际应用。此外,与滤泡性腺瘤组织相比,确认ELM01、EMCN、ITIH5、KCNAB1、SLC02A1等5种基因的表达水平在甲状腺滤泡癌组织中下降的研究虽然公开了可能研发出区分甲状腺滤泡癌和滤泡性腺瘤的标志物,但是这必须经过从组织中提取mRNA这一过程才能用作标志物,所以存在很大限制(Pfeifer et al. BMC Medical Genomics, 2013, 6:380)。判断甲状腺癌的各种蛋白质标志物等虽被用于免疫组化

法 (immunohistochemistry) (怀斯曼SM等人, Annals of Surgical Oncology, 2008, 15: 2811-2826), 但是特异性低, 几乎没有用于区分甲状腺滤泡癌和滤泡性腺瘤的可能。

[0006] 鉴此, 迫切需要开发一种可以明确区分甲状腺滤泡癌和滤泡性腺瘤等良性肿瘤的生物标志物。

发明内容

[0007] 【技术课题】

[0008] 本发明的发明者们从确认了甲状腺滤泡癌和滤泡性腺瘤的患者中提取病理组织后通过质谱分析来分析广泛蛋白水平, 结果确认大多数氨基酰-tRNA合成酶 (aminoacyl-tRNA synthetase) 相关蛋白水平在甲状腺滤泡癌和滤泡性腺瘤组织中显现出差异, 从而完成了本发明。

[0009] 因此, 本发明的目的是为了提供诊断甲状腺滤泡癌 (follicular thyroid carcinoma) 所需的信息, 提供一种检测甲状腺滤泡癌的标志物的方法, 包括:

[0010] (a) 提供来自疑似甲状腺滤泡癌的被检体样本;

[0011] (b) 检测上述样本中氨基酰-tRNA合成酶 (aminoacyl-tRNA synthetase, ARS) 或氨基酰-tRNA合成酶复合多功能相互作用蛋白 (aminoacyl-tRNA synthetase complex-interacting multifunctional protein, AIMP) 的蛋白表达水平; 和

[0012] (c) 将上述检测的蛋白表达水平与对照组进行比较, 确认了蛋白表达水平变化的被检体被判断为甲状腺滤泡癌的步骤。

[0013] 【技术解决方式】

[0014] 为了达到上述目的, 本发明为了提供诊断甲状腺滤泡癌 (follicular thyroid carcinoma) 所需的信息, 提供一种检测甲状腺滤泡癌的标志物的方法, 包括:

[0015] (a) 提供来自疑似甲状腺滤泡癌的被检体样本;

[0016] (b) 检测上述样本中氨基酰-tRNA合成酶 (aminoacyl-tRNA synthetase, ARS) 或氨基酰-tRNA合成酶复合多功能相互作用蛋白 (aminoacyl-tRNA synthetase complex-interacting multifunctional protein, AIMP) 的蛋白表达水平; 和

[0017] (c) 将上述检测的蛋白表达水平与对照组进行比较, 确认了蛋白表达水平变化的被检体被判断为甲状腺滤泡癌的步骤。

[0018] 以下将对本发明进行详细说明。

[0019] 本发明为了提供诊断甲状腺滤泡癌 (follicular thyroid carcinoma) 所需的信息, 提供一种检测甲状腺滤泡癌的标志物的方法, 包括的步骤:

[0020] (a) 提供来自疑似甲状腺滤泡癌的被检体样本;

[0021] (b) 检测上述样本中氨基酰-tRNA合成酶 (aminoacyl-tRNA synthetase, ARS) 或氨基酰-tRNA合成酶复合多功能相互作用蛋白 (aminoacyl-tRNA synthetase complex-interacting multifunctional protein, AIMP) 的蛋白表达水平; 和

[0022] (c) 将上述检测的蛋白表达水平与对照组进行比较, 确认了蛋白表达水平变化的被检体被判断为甲状腺滤泡癌。

[0023] 上述 (a) 步骤是根据本发明的方法提供被检体样本, 以提供诊断甲状腺滤泡癌所需的信息。

[0024] 在本发明中,“诊断”是指确认病理状态的存在或特征。本发明中的诊断是指通过检测氨基酰-tRNA (ARS) 或氨基酰-tRNA合成酶复合多功能相互作用蛋白 (AIMP) 的表达水平来判断甲状腺滤泡癌的发生,尤其是与滤泡腺瘤等良性肿瘤区分开来确诊为甲状腺滤泡癌。

[0025] “甲状腺滤泡癌 (follicular thyroid cancer, FTC)”是在甲状腺上产生恶性肿瘤,主要发生在与甲状腺激素的产生有关的腺组织中,是甲状腺分化癌的一种,具有通过血液转移到其他组织的特征。甲状腺滤泡癌主要通过体检时的超声波检查或触诊等发现,在无疼痛的情况下偶然被发现为甲状腺结节。甲状腺癌通过甲状腺超声检查确定甲状腺肿瘤的大小、位置、形状等,通过超声波进行诊断,一边观察甲状腺,一边通过细针刺入甲状腺取出甲状腺细胞来确定细胞形状,从而确定细胞形状 (细针吸取细胞检查, fine needle aspiration cytology), 甲状腺滤泡癌的细胞形状与滤泡腺瘤 (follicular adenoma, FA) 等良性肿瘤相同,所以难以区分。因此,目前的诊断方法是采取外科的方法提取病理组织,通过组织检查最终确定,即使在无法确认是恶性肿瘤的情况下也必须进行手术,一旦确定是恶性肿瘤,还需要重新进行手术来彻底切除肿瘤,因此十分低效。

[0026] 本发明的方法旨在提供一种新型的诊断标志物和方法,在甲状腺中发现肿瘤或结节后,对需要确诊肿瘤是否恶性的患者可以用非外科的方法明确地诊断甲状腺滤泡癌。

[0027] 在一个实施例中,本发明的发明者们在甲状腺滤泡癌和滤泡性腺瘤组织中用质谱分析 (MS) 和蛋白测序共鉴定了4,000多种蛋白质的生物类别,并比较分析两个病理组织中的蛋白水平。基因本体的分析结果显示,在滤泡性腺瘤中与氧化/还原、蛋白质定位、细胞内转运有关的蛋白质非常突出,而甲状腺滤泡癌中与蛋白质分解、大分子分解过程、RNA加工和细胞周期相关的蛋白质较占优势。

[0028] 特别是上述经鉴定的蛋白质的生物类别,对氨基酰-tRNA合成酶及与其相关的蛋白质用MS峰面积进行量化分析,结果显示大多数蛋白质在甲状腺滤泡癌和滤泡性腺瘤中的存在水平确实互不相同。具体来说,观察到与滤泡性腺瘤相比, AARS、DARS、EPRS、WARS、GARS、IARS细胞质、YARS、NARS、QARS、RARS、SARS细胞质、TARS在甲状腺滤泡癌中的蛋白水平有所下降,反之,证实了AIMP1、IRS线粒体、SARS线粒体、KARS、VARS、FARSA在甲状腺滤泡癌中具有较高的蛋白水平。

[0029] 因此可理解为,本发明的发明者们可以利用上述查明的氨基酰-tRNA合成酶相关蛋白质的水平差异,即选择以上记载的一种或多种蛋白质来检测被检体样本中的蛋白水平,从而研发出能够区分细胞学上难以辨别的甲状腺滤泡癌和滤泡性腺瘤的诊断标志物。

[0030] 如前所述,本发明所涉及的方法中的被检体可能是甲状腺滤泡癌疑似患者。即,在甲状腺上发现肿瘤或结节,需要分辨肿瘤或结节是恶性甲状腺滤泡癌还是良性滤泡性腺瘤的患者成为被检体。

[0031] 另外,为了实施本发明的方法,样本可能来自甲状腺组织、血液、血浆、血清、淋巴液和尿液组成的群组。上述样本可按照常规方法从被检体中适当采集,可按照蛋白质检测方法进行必要的预处理过程。

[0032] 上述 (b) 步骤是检测 (a) 步骤中采集的 (分离的) 被检体样本中氨基酰-tRNA合成酶 (aminoacyl-tRNA synthetase, ARS) 或氨基酰-tRNA合成酶复合多功能相互作用蛋白 (aminoacyl-tRNA synthetase complex-interacting multifunctional protein, AIMP) 的蛋白表达水平。

[0033] 在本发明中,“蛋白质”是兼容使用“多肽(polypeptide)”或“肽(peptide)”,例如,在自然状态的蛋白质中常见的氨基酸残基聚合物。

[0034] 在本发明中,“氨基酰-tRNA合成酶(aminoacyl-tRNA synthetase或aminoacyl-tRNA ligase,ARS)”是将氨基酸结合到对应转运RNA(tRNA)的氨基酰化(aminoacylation)反应的介导酶。也称为tRNA结合酶(tRNA ligase)。在20种氨基酸中,谷氨酸(glutamic acid)和脯氨酸(proline)在细胞质中通过一个ARS连接到tRNA,称为双功能氨基酰-tRNA合成酶(bifunctional aminoacyl-tRNA synthetase)或双功能谷氨酰-脯氨酰-tRNA合成酶(bifunctional glutamyl-prolyl-tRNA synthetase)。ARS主要分为tRNA的腺苷核苷酸的2'-OH末端介导氨基化反应的I类和介导3'-OH末端氨基化反应的II类这两大类。I类有精氨酸(arginine)、半胱氨酸(cysteine)、谷氨酸(glutamic acid)、谷氨酰胺(glutamine)、异亮氨酸(isoleucine)、亮氨酸(leucine)、蛋氨酸(methionine)、色氨酸(tryptophan)等tRNA合成酶,II类有丙氨酸(alanine)、天冬氨酸(aspartic acid)、天冬酰胺酸(asparagine)、甘氨酸(glycine)、组氨酸(histidine)、赖氨酸(lysine)、苯基丙氨酸(phenylalanine)、脯氨酸(proline)、苏氨酸(threonine)、丝氨酸(serine)等tRNA合成酶。

[0035] 此外,根据细胞内的分布位置,有存在于细胞质(cytoplasmic)或线粒体(mitochondrial)的形态,在本说明书中是指存在于细胞质中的形态,除非另有说明。

[0036] 从本发明的观点来看,ARS作为诊断甲状腺滤泡癌的生物标志物,具体来说,可以是选自异亮氨酸-tRNA合成酶线粒体(isoleucyl-tRNA synthetase mitochondrial,IARS mitochondrial)、丝氨酰-tRNA合成酶线粒体(seryl-tRNA synthetase mitochondrial,SARS mitochondrial)、赖氨酰-tRNA合成酶(lysyl-tRNA synthetase,KARS)、缬氨酰-tRNA合成酶(valyl-tRNA synthetase,VARs)、 α 亚基苯丙氨酸-tRNA合成酶(phenylalanyl-tRNA synthetase,FARS α subunit(FARSA))、丙氨酰tRNA合成酶(alanyl-tRNA synthetase,AARS)、天冬氨酰tRNA合成酶(aspartyl-tRNA synthetase,DARS)、双功能氨基酰基-tRNA合成酶或双功能谷氨酰-脯氨酰-tRNA合成酶(bifunctional aminoacyl-tRNA synthetase或glutamyl-prolyl-tRNA synthetase,EPRS)、色氨酸tRNA合成酶(tryptophanyl-tRNA synthetase,WARS)、甘氨酰tRNA合成酶(glycyl-tRNA synthetase,GARS)、异亮氨酸tRNA合成酶胞质(isoleucyl-tRNA synthetase cytoplasmic,IARS cytoplasmic)、酪氨酰-tRNA合成酶(tyrosyl-tRNA synthetase,YARS)、门冬酰-tRNA合成酶(asparagyl-tRNA synthetase,NARS)、谷氨酰胺-tRNA合成酶(glutaminyl-tRNA synthetase,QARS)、精氨酰-tRNA合成酶(arginyl-tRNA synthetase,RARS)、丝氨酸-tRNA合成酶胞质(seryl-tRNA synthetase cytoplasmic,SARS cytoplasmic)和苏氨酰-tRNA合成酶(threonyl-tRNA synthetase,TARS)中一个以上的蛋白质。上述各ARS均来源于人类,它们的具体排序不限,但也可以参考本说明书列表5中所记载的序列信息。

[0037] 本发明中氨基酰-tRNA合成酶复合多功能相互作用蛋白(aminoacyl-tRNA synthetase complex-interacting multifunctional protein,AIMP)”是一种已知的和多-tRNA合成酶复合体(multi-tRNA synthetase complex,MSC)结合后增加多-tRNA合成酶的催化活性(catalytic active)的蛋白质,人类已知的有氨基酰tRNA合成酶复合多功能相互作用蛋白1(aminoacyl-tRNA synthetase complex-interacting multifunctional protein 1,AIMP1)、氨基酰tRNA合成酶复合多功能相互作用蛋白2(aminoacyl-tRNA

synthetase complex-interacting multifunctional protein 2,AIMP2)、氨酰tRNA合成酶复合多功能相互作用蛋白3(aminoacyl-tRNA synthetase complex-interacting multifunctional protein 3,AIMP3)等。更具体的,本发明中的AIMP也有可能是已知为p43的AIMP1。上述AIMP(特别是AIMP1)来自于人类,对其具体排序并无特别限制,但也可以参考本说明书表5所记载的序列信息。

[0038] 在本发明中,“表达(expression)”是指细胞中生成蛋白质或核酸。在本发明中,检测蛋白表达水平的方法可以合理地选择并采取常规方法。例如,蛋白质印迹法(western blotting)、斑点杂交(dot blotting)、酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay,ELISA)、放射免疫分析法(RIA)、放射免疫扩散法、奥克特洛尼双向免疫扩散法、火箭免疫电泳、免疫组织化学染色、免疫沉淀法(immunoprecipitation)、补体固定分析法、流式细胞荧光分选技术(FACS)、蛋白质芯片(chip)、质谱分析(mass spectrometry)等方法等,但并不仅限于这些。最优选的是可用质谱分析方法在样本中检测蛋白质水平。

[0039] 上述(c)步骤是将上述检测的蛋白表达水平与对照组进行对比,经确认蛋白表达水平变化的被检体被判断患上甲状腺滤泡癌。

[0040] 将甲状腺滤泡癌疑似被检体中检测到的ARS或AIMP的表达水平与对照组进行对比;氨酰tRNA合成酶复合多功能相互作用蛋白1(AIMP1)、IRAS线粒体(IRAS mitochondrial)、SARS线粒体(SARS mitochondria)、赖氨酰-tRNA合成酶(KARS)、缬氨酰-tRNA合成酶(VARS)和 α 亚基苯丙氨酸-tRNA合成酶(FARSA)中的一个以上的蛋白水平增加的情况;以及/或丙氨酰-tRNA合成酶(AARS)、天冬氨酸-tRNA合成酶(DARS)、双功能谷氨酰-脯氨酰-tRNA合成酶(EPRS)、色氨酰-tRNA合成酶(WARS)、甘氨酰-tRNA合成酶(GARS)、异亮氨酸tRNA合成酶胞质(IARS cytoplasmic)、酪氨酰-tRNA合成酶(YARS)、门冬酰-tRNA合成酶(NARS)、谷氨酰胺-tRNA合成酶(QARS)、精氨酰-tRNA合成酶(RARS)、丝氨酸-tRNA合成酶胞质(SARS cytoplasmic)及苏氨酰-tRNA合成酶(TARS)中的一个以上的蛋白质水平减少的情况下;

[0041] 可判断被检体患上甲状腺泡癌,或被检体上发现的甲状腺肿瘤或结节是甲状腺滤泡癌。

[0042] 上述对照组最好是甲状腺中存在肿瘤或结节,所述肿瘤或结节被确认为良性肿瘤的滤泡性腺瘤(FA)的患者。实施本发明的方式是:在这种情况下,在检测出被检体中甲状腺滤泡癌的标志物之前,事先对多数FA患者进行ARS或氨酰tRNA合成酶复合多功能相互作用蛋白(AIMP)的检测,导出被确诊为FA的患者预期的蛋白质水平的范围或标准值,然后与甲状腺滤泡癌疑似被检体中检测的蛋白水平进行比较,判断两者之间的差异。

[0043] 将上述疑似甲状腺滤泡癌的被检体的ARS或AIMP的表达水平与对照组进行比较的步骤是利用本发明所涉及的标志物蛋白质准确判断FTC和FA的方法,可毫无限制地使用并实施。例如,正如本说明书的一实施例中描述的,比较对象群中检测出的ARS蛋白质或AIMP蛋白表达水平所显现的数值,即可以直接比较在组织样本中检测出的标志物蛋白质的浓度或用质谱分析导出的标志物蛋白质的离子峰面积等的数值。另外,与“FA患者群和FTC患者群的ARS或AIMP蛋白表达水平的比例”等也可以作为比较对象群之间的相对数值的判断尺度。

[0044] 另外,上述列举的ARS或AIMP标志物蛋白质体现出了区分FA或FTC的特定的表达模

式,因此为诊断甲状腺滤泡癌,可选择多个标志物蛋白质检测表达水平,导出表达模式后在此基础上诊断FTC。上述表达模式是指检测并同时比较多个标志物蛋白质的表达水平后所观察到的表达方式和各种标志物蛋白质的表达排序等指标的表现,体现了表达的真实特点。

[0045] 另外,本发明还提供了一种用于诊断甲状腺滤泡癌的组成物,包括检测氨基酰-tRNA合成酶(aminoacyl-tRNA synthetase,ARS)或氨基酰-tRNA合成酶复合多功能相互作用蛋白(aminoacyl-tRNA synthetase complex-interacting multifunctional protein,AIMP)的表达水平的制剂。

[0046] 另外,本发明还提供了检测氨基酰-tRNA合成酶(aminoacyl-tRNA synthetase,ARS)或氨基酰-tRNA合成酶复合多功能相互作用蛋白(aminoacyl-tRNA synthetase complex-interacting multifunctional protein,AIMP)的表达水平的制剂的用途。

[0047] 上述本发明所涉及的用于诊断甲状腺滤泡癌的组成物最好是用于区分甲状腺滤泡癌和滤泡性腺瘤的组成物,具体有ARS和AIMP的种类等、它们的检测特性等可参考前述内容加以理解。

[0048] 本发明中检测ARS和AIMP的表达水平的制剂是与前述具体的蛋白质特殊结合的配体,对其种类并无特别限制,举例来说可以是与上述蛋白质具有特殊结合域的肽、抗体或适体,但并不限于此。

[0049] 上述“抗体”是相应技术领域的常规用语,是指能对抗原性部位发出指令的特殊免疫球蛋白。通过上述一种或多种蛋白质注入而制备的或是在市面上销售购买的都可以使用。另外,上述抗体包括能与多克隆抗体、单克隆抗体、嵌合抗体以及抗原决定基结合的片段等。

[0050] 上述“肽”是指虽然不具有完整的抗体结构,但是具有对抗原性部位指示的特异性抗原结合部位(结合域)的多肽。所述多肽包括抗体分子的功能性片段,而不是具备2个轻链和2个重链的完整形态的抗体。抗体分子的功能性片段是指至少具有抗原结合功能的片段。所述多肽的长度没有特别的限制,例如包括2至100个氨基酸的,最好是包括5至50个氨基酸的。

[0051] 上述“适体”是指与既定的目标分子相结合的具有活性的寡核苷酸分子。上述适体可能是RNA、DNA、修饰(modified)核酸或是它们的混合物,形态可能是链状或环状。

[0052] 另外,本发明还提供了一种用于诊断甲状腺滤泡癌的试剂套件,包括检测所述氨基酰-tRNA合成酶(aminoacyl-tRNA synthetase,ARS)或氨基酰-tRNA合成酶复合多功能相互作用蛋白(aminoacyl-tRNA synthetase complex-interacting multifunctional protein,AIMP)的表达水平的制剂。

[0053] 本发明涉及的用于诊断的试剂套件不仅包括用来检测ARS或AIMP表达水平的可选的通过标志物识别各所述蛋白质的肽、抗体、适体,还可包括适合于分析方法的一种或一种以上的其他结构组成物{能检测出抗体的试剂、例如经标识的二次抗体、显色团(chromophores)、酵素(在与抗体结合的形态下)及其基质或能与抗体结合的其他物质、与酵素起发色反应的基质以及除了未结合的蛋白质等之外只具备结合了蛋白质标志物的清洗液或洗脱液等}、溶液或装备。

[0054] 另外,本发明提供了一种诊断甲状腺滤泡癌的方法,以检测被检体样本内的氨基

酰-tRNA合成酶 (aminoacyl-tRNA synthetase,ARS) 或氨酰-tRNA合成酶复合多功能相互作用蛋白 (aminoacyl-tRNA synthetase complex-interacting multifunctional protein, AIMP) 的表达水平为特征。所述诊断甲状腺癌滤泡癌的方法还可以包括和滤泡性腺瘤患者比较上述ARS或AIMP的表达水平,其表达水平变化了的被检体被判断为滤泡癌的步骤。至于ARS或AIMP的具体种类及表达情况则与前述相同。

[0055] 本发明所述被检体是动物,优选哺乳动物,尤其是包括人类在内的动物,更为优选的是需要进行诊断的人或患者 (patient)。至于被检体则与前述相同。

[0056] 本发明中的术语“包含~ (comprising)”在使用时和“含有”或“以...为特征的”相同,提到组成物或方法并不排除未提及的其他成分要素或方法步骤等。术语“由~组成的 (consisting of)”是指除了其他要素、步骤或成分等之外未记载的。术语“必需构成的 (essentially consisting of)”是指包括所记载的成分要素或步骤以及它们的基本特性不对组成物或方法的范围产生实质性影响的成分要素或步骤等。

[0057] 【发明的效果】

[0058] 因此,本发明提供了一种利用氨酰-tRNA合成酶相关蛋白表达水平的甲状腺滤泡诊断标志物的检测方法。本发明的发明者们确认了甲状腺的良性肿瘤-滤泡性腺瘤和甲状腺滤泡癌组织中多数的氨酰tRNA合成酶相关蛋白的水平是有差别的,具体来说本发明公开的各种蛋白质不需要通过手术提取组织,可以既简单又准确地诊断甲状腺滤泡癌,诊断的灵敏度高且特异性强。

附图说明

[0059] 图1显示的是用滤泡性腺瘤 (FA) 和甲状腺滤泡癌 (FTC) 组织的蛋白质体分析结果经过生物类别鉴定的蛋白质的数量;

[0060] 图2显示的是比较滤泡性腺瘤 (FA) 和甲状腺滤泡癌 (FTC) 组织中AIMP1、IARS线粒体、SARS线粒体、KARS、VARS、FARSA (FARS α 亚基) 的蛋白水平的MS (质谱分析仪) 实验结果。坐标的Y轴表示用质谱分析仪检测的构成相应各蛋白质的各种肽的离子峰面积,可用作定量值 (quantitative value);

[0061] 图3显示的是比较滤泡性腺瘤 (FA) 和甲状腺滤泡癌 (FTC) 组织中AARS、DARS、EPRS、GARS、GARS、IARS细胞质的蛋白水平的MS (质谱分析仪) 实验结果。坐标的Y轴表示用质谱分析仪检测的构成相应各蛋白质的各种肽的离子峰面积,可用作定量值 (quantitative value);

[0062] 图4是比较滤泡性腺瘤 (FA) 和甲状腺滤泡癌 (FTC) 组织中YARS、NARS、QARS、RARS、SARS细胞质、TARS的蛋白水平的MS (质谱分析仪) 实验结果。坐标的Y轴表示用质谱分析仪检测的构成相应各蛋白质的各种肽的离子峰面积,可用作定量值 (quantitative value);

[0063] 图5显示的是滤泡性腺瘤 (Follicular adenoma) 和甲状腺滤泡癌 (Follicular thyroid carcinoma) 组织中的AIMP1蛋白水平用蛋白质印迹法比较的结果;

[0064] 图6显示的是在滤泡性腺瘤 (Follicular adenoma) 和甲状腺滤泡癌 (Follicular thyroid carcinoma) 组织中用蛋白质印迹法确认AIMP1蛋白水平,然后根据蛋白质印迹法导出波段强度 (Band intensity) 并进行接收器工作特性 (曲线) (Receiver Operating Characteristic,ROC) 分析,计算出ROC曲线下面积 (Area Under Curve,AUC);

[0065] 图7显示的是通过AIMP1蛋白水平检测来区分滤泡性腺瘤 (FA) 和甲状腺滤泡癌 (FTC) 的交互式绘图分析 (Interactive plot ing) 的结果,从而确认AIMP1区分甲状腺滤泡癌和滤泡性腺瘤的灵敏度为90%、特异性为70%。

具体实施方式

[0066] 以下将对本发明进行详细说明。

[0067] 但是,下述实施例只是本发明所举的例子,本发明的内容并不仅限于下述实施例。

[0068] <实验方法>

[0069] 1. 临床样本

[0070] 所使用的甲状腺组织是签写了首尔峨山医院的细胞组织资源中心用于研究的遗体捐赠同意书后捐赠的检体。与研究相关的协议得到了首尔峨山医院临床伦理审议委员会 (批准编号:2013-0539) 的批准。在本研究使用了10例从甲状腺滤泡癌 (FTC) 患者身上提取的甲状腺组织以及10例从滤泡性腺瘤 (FA) 患者身上提取的甲状腺组织作为组织样本。为了使人为偏倚 (artificial bias) 最小化,选择目标患者时采取随机选择年龄和性别。

[0071] 2. 蛋白质分析

[0072] 将FTC和FA患者身上提取的甲状腺组织分别进行组织均匀化 (tissue homogenization),并用1%的SDS和添加了蛋白酶/磷酸酶抑制剂混合物的RIPA裂解液 (RIPA buffer) 提取蛋白质 (protein extraction)。所提取的蛋白质进行BCA蛋白定量后,取每一个患者的样本100μg混合在一起后制备池集 (pooling set),用超滤辅助样品制备 (filter-aided sample preparation, FASP) 法制备肽 (peptide),并用Nano LC-Q Exactive质谱分析仪 (mass spectrometry) 进行了蛋白质分析。具体实验方法如下:

[0073] -用20厘米的C18毛细管柱 (外径360μm,内径75μm) 分级分离120分钟;

[0074] -进行80分钟的梯度 (5~45%乙腈和0.1%甲酸溶液) 分离;

[0075] -对强度排名前5的在数据相关采集 (DDA) 模式下收集数据后;

[0076] -将收集的数据用蛋白质组学1.4软件 (proteim discoverer 1.4) 与序列数据库进行比较,分析峰面积。另外还进行了大卫遗传学 (DAVID gene ontology) 分析。

[0077] 3. 蛋白质印迹分析

[0078] 取10例FTC和10例FA患者中提取的甲状腺组织裂解液20ug进行SDS PAGE电泳。经过电泳的PAGE凝胶用聚偏二氟乙烯 (polyvinlylidene difluoride, PVDF) 膜 (密理博) 转移蛋白质后,再用牛血清白蛋白 (Bovine sreum album) 进行分组。初级反应采用的是单克隆小鼠抗人AIMP1抗体 (1:500) 和小鼠抗人β-肌动蛋白 (beta actin) (1:1000) 抗体,在4摄氏度下反应6小时后用山羊抗鼠HRP-结合二级抗体 (1:4000) 进行印迹检验。波段强度 (band Intensity) 使用ImageJ (1.48版本) 进行检测,而受试者工作特征曲线 (Receiver Operating Characteristics, ROC) 分析和ROC曲线下面积 (Area Under Curve, AUC) 以及交互式绘图 (Intelactive plot) 分析则使用MedCalc (17.6版本) 进行。

[0079] <实施例1>

[0080] 甲状腺组织蛋白生物类别鉴定

[0081] 在滤泡性腺瘤组织中共鉴定了2,909种蛋白质类别,在甲状腺滤泡癌组织中分别鉴定了2,739种蛋白质类别,共对4,162种蛋白质 (图1) 进行了生物类别鉴定。这是迄今为止

学术界史无前例的,是最广泛的关于甲状腺癌的蛋白质分析的结果。

[0082] <实施例2>

[0083] 基因本体分析

[0084] 基因本体分析结果显示,滤泡性腺瘤患者组样本中与氧化/还原、蛋白质定位、细胞内转运相关的各种蛋白质的功能分类显而易见(列表2),但是甲状腺滤泡癌患者组中,蛋白质分解、大分子分解过程、RNA加工以及细胞周期有关的蛋白质的功能分类却各不相同(列表1)。

[0085] 【列表1】

	RT	Genes	Count	%	P-Value	Benjamini
蛋白质降解	RI		65	8.9	4.9E-3	1.9E-1
蛋白质定位	RI		59	8.0	1.3E-3	6.4E-2
蛋白质定位的建立	RI		56	7.6	2.3E-4	1.6E-2
细胞内运转	RI		55	7.5	6.2E-6	6.2E-4
蛋白质运转	RI		54	7.4	5.8E-4	3.4E-2
高分子分解代谢过程	RI		54	7.4	1.0E-3	5.3E-2
RNAi 加工	RI		50	6.8	1.6E-6	2.1E-4
细胞周期	RI		50	6.8	6.4E-3	2.1E-1
大分子代谢过程的负调控	RI		49	6.7	3.6E-3	1.5E-1
大分子代谢过程的正调控	RI		49	6.7	4.9E-2	5.9E-1

[0086]

FTC 特异表达的蛋白质群组

功能注解 (FTC 特异表达蛋白质组)

[0087] 【列表2】

[0088]

FA 特异表达蛋白质组

功能注解 (FA 特异表达蛋白质组)

Term	RT	Genes	Count	%	P-Value	Benjamini
<u>氧化还原作用</u>	RT		56	7.1	4.0E-6	5.3E-3
<u>蛋白质定位</u>	RT		54	6.8	2.3E-2	6.2E-1
<u>细胞内运转</u>	RT		52	6.6	1.4E-4	3.9E-2
<u>蛋白质运转</u>	RT		50	6.3	9.1E-3	4.5E-1
<u>蛋白质定位的建立</u>	RT		50	6.3	1.1E-2	4.7E-1
<u>磷酸化</u>	RT		48	6.1	4.3E-2	7.0E-1
<u>运转</u>	RT		45	5.7	1.5E-10	3.9E-7
<u>生物黏附</u>	RT		45	5.7	1.9E-2	5.9E-1
<u>细胞黏附</u>	RT		45	5.7	2.0E-2	5.9E-1
<u>囊泡介导转运</u>	RT		44	5.5	1.0E-3	1.5E-1

[0089] 尤其是在甲状腺滤泡癌甲状腺组织中特异表达的蛋白质中,与黏附斑相关的蛋白质的增加比滤泡性腺瘤甲状腺组织更加显著。另外还显示了与剪接体有关的蛋白质在甲状

腺滤泡癌中也特别增加。

[0090] <实施例3>

[0091] 氨基酰- tRNA合成酶 (aminoacyl-tRNA synthetase,ARS) 相关蛋白表达倾向分析

[0092] 用分析结果进行了生物类别鉴定的蛋白质中,识别与ARS相关的蛋白质后,根据峰面积进行无标半定量分析。结果显示,滤泡性腺瘤组织中20个、甲状腺滤泡癌组织中21个ARS和AIMP经过了确认,定量分析结果如下表所示 (列表3、列表4)。

[0093] 【列表3】

类别	基因符号	数据库 ID	峰面积
Alanine-tRNA ligase, cytoplasmic	AARS	SYAC_HUMAN	1125849500
Aminoacyl tRNA synthase complex-interacting multifunctional protein 1	AIMP1	AIMP1_HUMAN	85053716
Aminoacyl tRNA synthase complex-interacting multifunctional protein 2	AIMP2	AMU58_HUMAN	71773240
Arginine-tRNA ligase, cytoplasmic	RARS	SYRC_HUMAN	661244666
Asparagine-tRNA ligase, cytoplasmic	NARS	SYNC_HUMAN	943432533
Aspartyl-tRNA synthetase, isoform CRA	DARS	D3DP78_HUMAN	796052746
Bifunctional glutamate/proline-tRNA ligase	EPRS	SYEP_HUMAN	1905052478
Glycine-tRNA ligase	GARS	SYG_HUMAN	289437841
Isoleucine-tRNA ligase, cytoplasmic	IARS	J3KR24_HUMAN	543348221
Isoleucine-tRNA ligase, mitochondrial	IARS2	SYIM_HUMAN	310599507
Lysine-tRNA ligase	KARS	SYK_HUMAN	171681552
Phenylalanine-tRNA ligase alpha subunit	FARS	B4E363_HUMAN	91568703
QARS protein (Fragment)	QARS	Q96AW5_HUMAN	382807833
Serine-tRNA ligase, cytoplasmic	SARS	SYSC_HUMAN	13939590732
Serine-tRNA ligase, mitochondrial	SARS2	SYSM_HUMAN	54572943
Threonine-tRNA ligase, cytoplasmic	TARS	SYTC_HUMAN	366450168
Tryptophan-tRNA ligase, cytoplasmic	WARS	SYWC_HUMAN	1005292231
Tyrosine-tRNA ligase, cytoplasmic	YARS	SYYC_HUMAN	2381826769
Tyrosine-tRNA ligase, mitochondrial	YARS2	SYYM_HUMAN	78858264
Valyl-tRNA synthetase (Fragment)	VARs	A2BEY0_HUMAN	112446540

[0094]

FA 中特异表达的 ARS 和 AIMP 蛋白质

小叶腺瘤组织中的 ARSs

[0095] 【列表4】

[0096]

FTC 中特异表达的 ARS 和 AIMP 蛋白质
小叶甲状腺癌组织中的 ARSs

类别	基因符号	数据库 ID	峰面积
Aspartate-tRNA ligase, cytoplasmic	DARS	SYDC_HUMAN	676501313
Isoleucine-tRNA ligase, mitochondrial	IARS2	SYIM_HUMAN	405032150
Serine-tRNA ligase, cytoplasmic	SARS	Q5T5C7_HUMAN	6841913593
Alanine-tRNA ligase, cytoplasmic	AARS	SYAC_HUMAN	259092335
Asparagine-tRNA ligase, cytoplasmic	NARS	SYNC_HUMAN	699339102
Tryptophan-tRNA ligase, cytoplasmic	WARS	SYWC_HUMAN	488259749
Tyrosine-tRNA ligase, cytoplasmic	YARS	SYYC_HUMAN	289391829
Valine-tRNA ligase	VARS	BOV043_HUMAN	380930687
Phenylalanine-tRNA ligase alpha subunit	FARSA	SYFA_HUMAN	116709397
Histidine-tRNA ligase, cytoplasmic	HARS	J3KNE5_HUMAN	244441275
Threonine-tRNA ligase, cytoplasmic	TARS	B4DEG8_HUMAN	226134539
FARSB protein (Fragment)	FARSB	Q9BR63_HUMAN	209463210
Cysteine-tRNA ligase, cytoplasmic	CARS	B4DKY1_HUMAN	64458226
Glutamine-tRNA ligase	QARS	SYQ_HUMAN	293130531
Serine-tRNA ligase, mitochondrial	SARS2	SYSM_HUMAN	3864844815
Glycine-tRNA ligase	GARS	SYG_HUMAN	276263425
Isoleucine-tRNA ligase, cytoplasmic	IARS	J3KR24_HUMAN	229288160
Aminoacyl tRNA synthase complex-interacting multifunctional protein 1	AIMP1	AIMP1_HUMAN	412726062
Lysine-tRNA ligase	KARS	SYK_HUMAN	1278127747
Bifunctional glutamate/proline-tRNA ligase	EPRS	SYEP_HUMAN	399164615
Arginine-tRNA ligase, cytoplasmic	RARS	SYRC_HUMAN	196971392

[0097] 特别是,在甲状腺滤泡癌组织中,与比对对象滤泡性腺瘤组织相比,AARS (Alanine-tRNA ligase)减少,AIMP1(aminoacyl-tRNA synthetase complex-interacting

multifunctional protein 1)、KARS (lysine-tRNA ligase) 和VARS (valine-tRNA ligase) 增加(图2、图3)。通过本研究首次证实,与良性肿瘤-滤泡性腺瘤相比,在甲状腺滤泡癌组织中AIMP1和KARS增加。

[0098] 此外还观察到与在滤泡性腺瘤中相比,包括AARS在内的天冬氨酸-tRNA合成酶(aspartate-tRNA ligase,DARS)、双功能谷氨酸/脯氨酸-tRNA连接酶(bifunctional glutamate/proline-tRNA ligase,EPRS)、色氨酰-tRNA合成酶(tryptophan-tRNA ligase,WARS)、甘氨酸-tRNA合成酶(glycine-tRNA ligase,GARS)、异亮氨酸tRNA合成酶胞质(isoleucine-tRNA ligase cytoplasmic,IARS cytoplasmic)、酪氨酰-tRNA合成酶(tyrosine-tRNA ligase,YARS)、门冬酰-tRNA合成酶(asparagine-tRNA ligase,NARS)、谷氨酰胺-tRNA合成酶(glutamine-tRNA ligase,QARS)、精氨酰-tRNA合成酶(arginine-tRNA ligase,RARS)、丝氨酸-tRNA合成酶胞质(serine-tRNA ligase cytoplasmic,SARS cytoplasmic)、苏氨酰-tRNA合成酶(threonine-tRNA ligase,TARS)等在甲状腺滤泡癌中的蛋白水平减少(图3、图4),与此相反,包括AIMP1在内的IARS线粒体(isoleucine-tRNA ligase mitochondrial)、SARS线粒体(serine-tRNA ligase mitochondrial)、赖氨酰-tRNA合成酶(lysine-tRNA ligase,KARS)、缬氨酰-tRNA合成酶(valine-tRNA ligase,VARS)、 α 亚基苯丙氨酸-tRNA合成酶(phenylalanine-tRNA ligase alpha subunit,FARS alpha subunit)等呈现出相反的倾向(图2)。显示出这些差异的蛋白质可用作从滤泡性腺瘤中区分甲状腺滤泡癌的生物标志物,下述列表5中提供本发明所发现的生物标志物的序列信息。

[0099] 【列表5】

[0100]

分类	基因符号	参考序列号 (GenBank 数据库序列编号)
上	AIMP1	215490009
	IARS mitochondrial	94730583
	SARS mitochondria	23822219
	KARS	20178333
	VARS	1194845281
	FARSA	12643946
下	AARS	115502460
	DARS	20178330
	EPRS	288558855
	WARS	135191
	GARS	313104283
	IARS cytoplasmic	239938717
	YARS	13638438
	NARS	3915059
	QARS	1351170
	RARS	20178331
	SARS cytoplasmic	19860217
	TARS	60267755

[0101] <实施例4>

[0102] 在FA和FTC组中进行AIMP1蛋白质定量分析

[0103] 在上述实施例3中使用了所发现的区分FTC和FA的生物标志物中具代表性的AIMP1,证实了其检测能力。10例滤泡性腺瘤组织和10例甲状腺滤泡癌组织中的AIMP1蛋白质的量用蛋白质印迹法进行了分析,典型的分析结果如图5所示。导出波段强度后进行受试者工作特征曲线(ROC)分析,计算出ROC曲线下方的面积大小(AUC)。结果显示,AUC显示为0.770,显著水平为0.0195(参照图6)。如图7所示,交互式绘图分析结果显示,AIMP1可以区分甲状腺滤泡癌和滤泡性腺瘤,灵敏度为90%且特异性为70%。

[0104] 【产业应用性】

[0105] 正如上文所述,本发明公开的能简单并准确地诊断ARS或AIMP蛋白质种类的方法

作为一种用于诊断的标志物,不需通过手术提取组织就能将负载的甲状腺滤泡癌与滤泡性腺瘤等良性肿瘤区分开来,可有效地应用于体外诊断产业等领域。

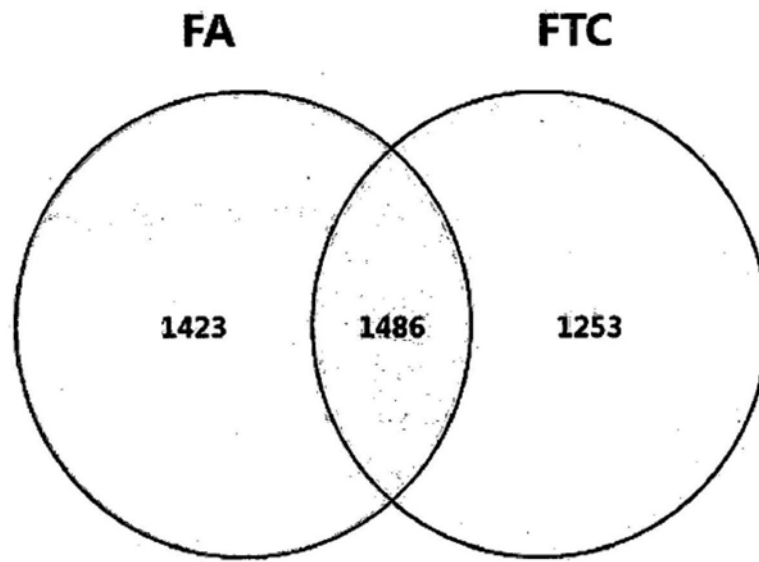


图1

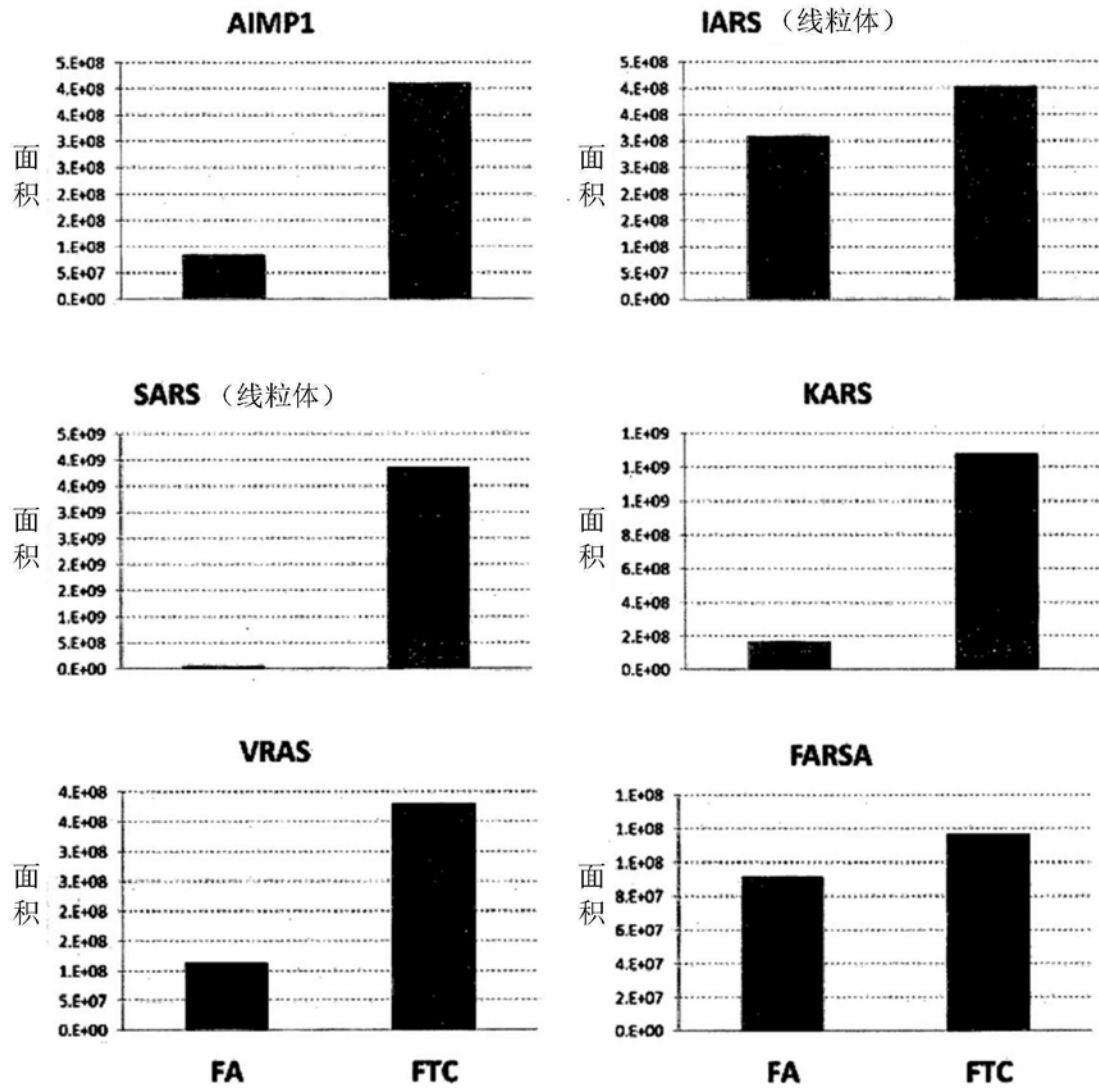


图2

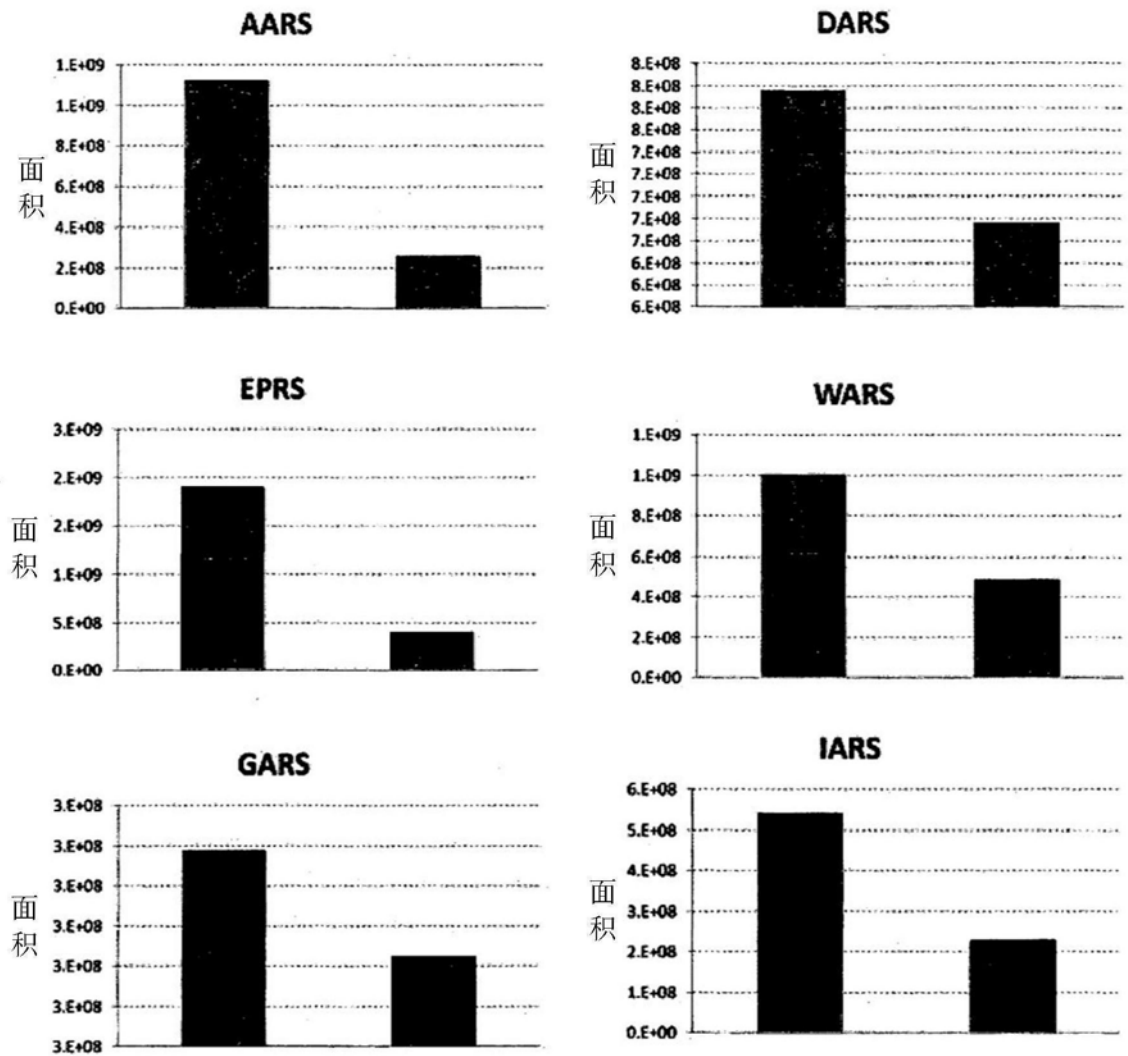


图3

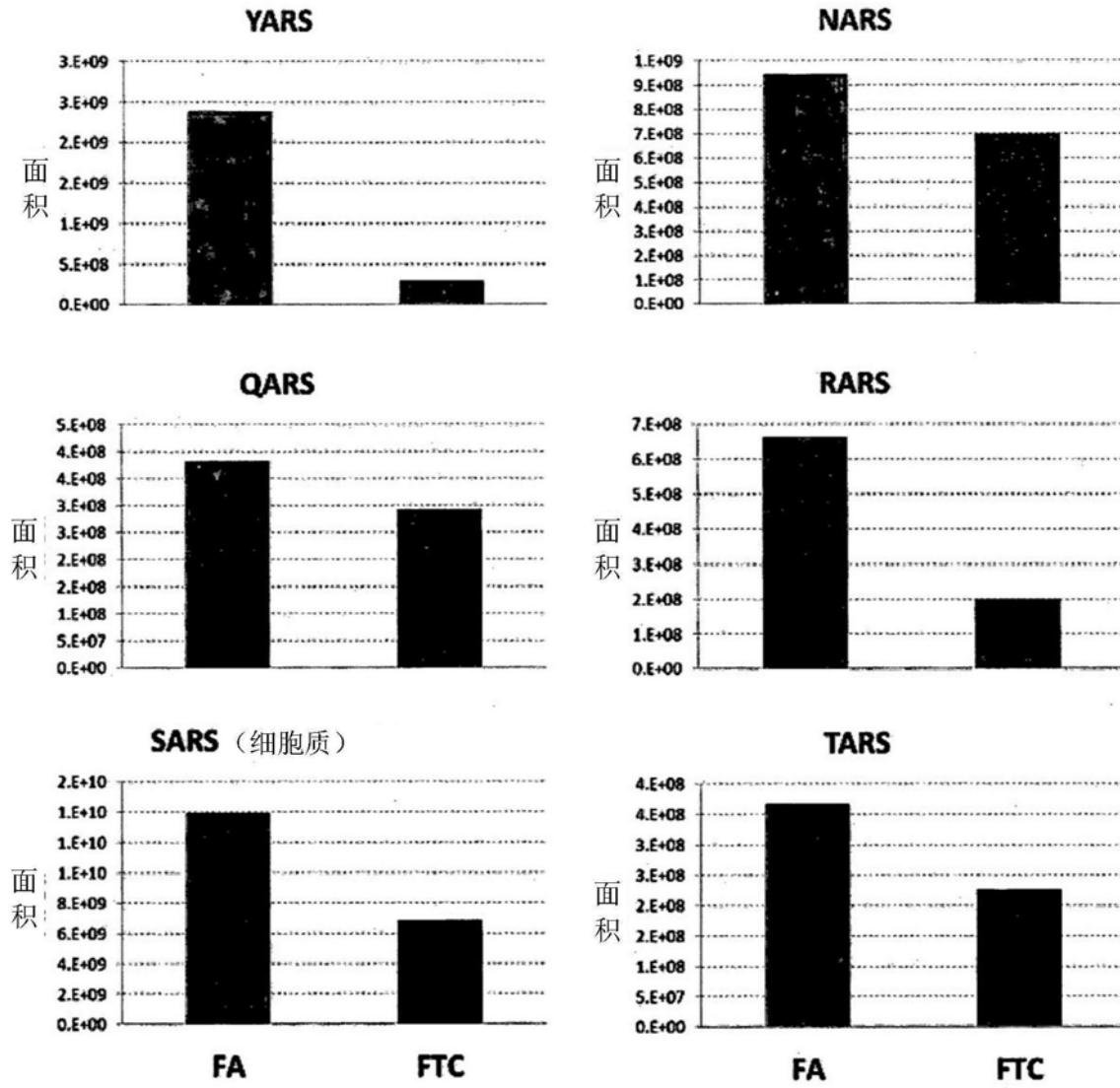


图4

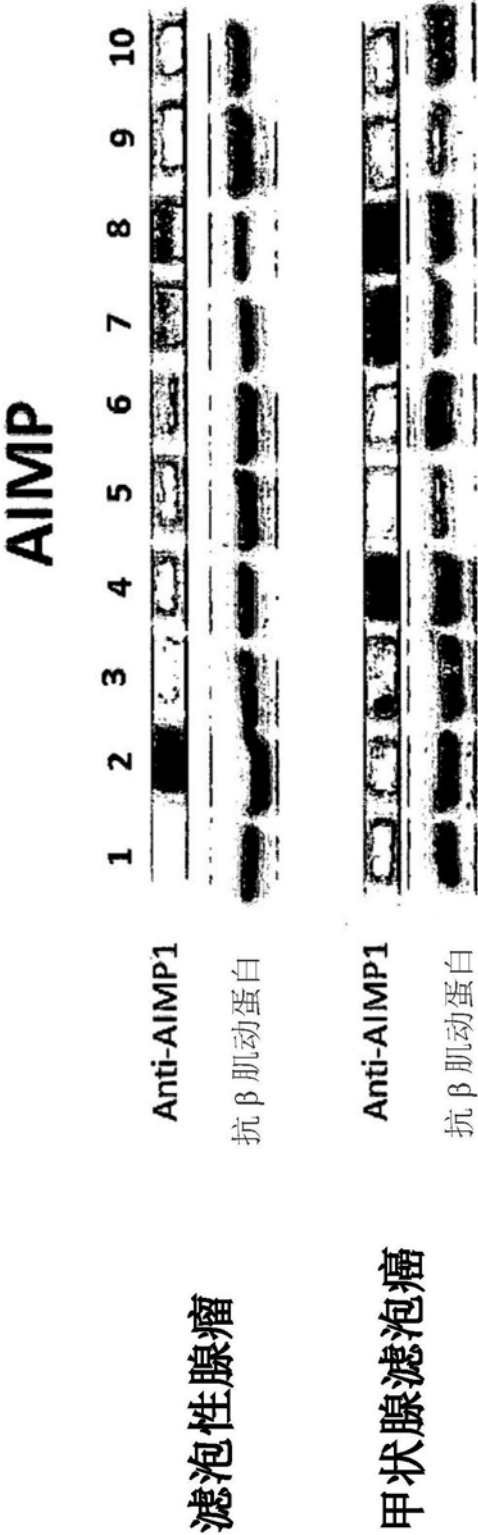
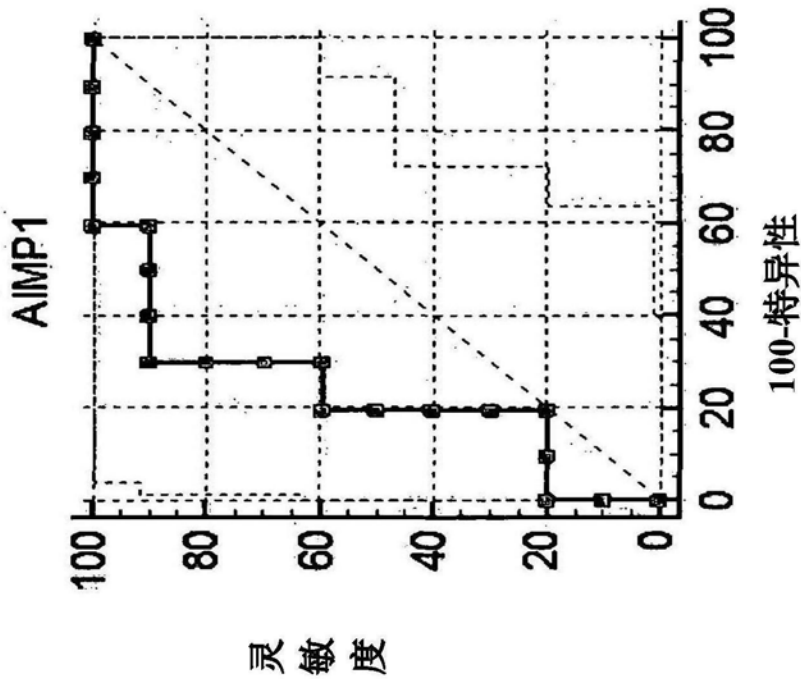


图5



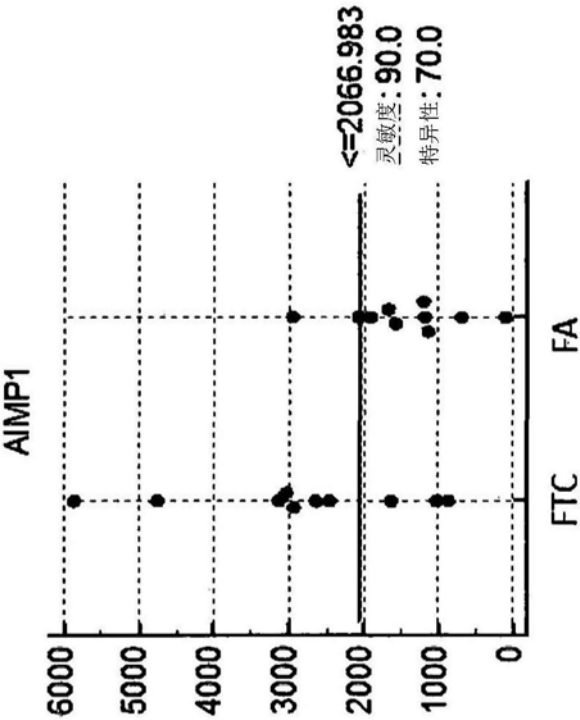
ROC 曲线下的面积 (AUC)

ROC 曲线下的面积 (AUC)	0.770
标准误差 ^a	0.116
置信区间 ^b	0.530 to 0.926
Z 统计量	2.336
显著水平 P(面积=0.5)	0.0195

^a DeLong et al., 1988

二项式准确

图6



尤登指数

尤登指数 J	0.6000
关联标准	<=2066.983
敏感度	90.00
特异性	70.00

ROC 曲线的标准值和坐标 (隐藏)

标准	灵敏度	95% CI	特异性	95% CI	+LR	-LR
<102.364	0.00	0.0 - 30.8	100.00	69.2 - 100.0	1.00	1.00
<686.506	20.00	2.5 - 55.6	100.00	69.2 - 100.0	0.80	0.80
<1021.506	20.00	2.5 - 55.6	80.00	44.4 - 97.5	1.00	1.00
<1573.134	60.00	26.2 - 87.8	80.00	44.4 - 97.5	3.00	0.50
<1617.841	60.00	26.2 - 87.8	70.00	34.8 - 93.3	2.00	0.57
<2066.983	90.00	55.5 - 99.7	70.00	34.8 - 93.3	3.00	0.14
<2917.246	90.00	55.5 - 99.7	40.00	12.2 - 73.8	1.50	0.25
<2948.861	100.00	69.2 - 100.0	40.00	12.2 - 73.8	1.67	0.00
<5865.602	100.00	69.2 - 100.0	0.00	0.0 - 30.8	1.00	1.00

图7